

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHESCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE**

N°d'ordre :77/DS/2021

Série : 06/CH/2021

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences

Spécialité : Chimie Organique

Option : Phytochimie

Par

BAATOUCHE Samia

**Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires
de l'espèce *Centaurea microcarpa* (Asteraceae)**

Sous la direction du Professeur : SEGHIRI Ramdane

Devant le jury :

Pr. R. Mekkiou	Université Frères Mentouri Constantine 1	Présidente
Pr. R. SEGHIRI	Université Frères Mentouri Constantine 1	Directeur de thèse
Pr. O. BOUMAZA	Université Frères Mentouri Constantine 1	Examinatrice
Pr. M. BELGHOUBSI	Université M ^{ed} Sadik Benyahia Jijel	Examinateur
Pr. F. BITAM	Université Mostefa Ben Boulaïd BATNA 2	Examinatrice
Pr. O. BENAÏSSA	Université Mostefa Ben Boulaïd BATNA 2	Examinatrice

Soutenu le : 08/07/2021

Dédicaces

*Dieu tout puissant merci d'être toujours
Auprès de moi.*

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de mes chers parents.

B. Samia

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout-puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche dans l'Unité de Recherche Valorisation des ressources naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physico-Chimiques et biologiques sous la direction du professeur **Ramdane Seghiri**, à qui j'adresse mes remerciements les plus sincères de m'avoir accueilli dans son laboratoire, et pour sa confiance, sa patience, sa gentillesse, sa rigueur, sa disponibilité, ses conseils et surtout pour la formation scientifique, les critiques constructives et le soutien humain, à la fois dans le développement de cette thèse comme dans tous les processus administratifs. Recevez ici mon profond attachement, ma gratitude et ma sincère reconnaissance & Merci pour tout

Je remercie sincèrement Madame et monsieur **Benayache**, professeurs à l'université des frères Mentouri, Constantine, pour leur aide et conseils précieux.

J'exprime mes sincères remerciements à Mme **R. Mekkiou** professeur à l'université des frères Mentouri, Constantine 1, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Je suis également très honoré de la présence de :

- ❖ Mme **O. BOUMAZA** professeur à l'université des frères Mentouri, Constantine 1.
- ❖ Mr **BELGHOUBSI** professeur à Université M^{ed} Sadik Benyahia Jijel.
- ❖ Mme **F. BITAM**, professeur à Université Mostefa Ben Boulaïd Batna 2.
- ❖ Mme **O. BENAÏSSA** professeur à Université Mostefa Ben Boulaïd Batna 2.

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

Je voudrais également remercier l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur disponibilité. Ainsi que mes amis et collègues, pour avoir simplement été eux-mêmes et pour les moments inoubliables qu'ils m'ont permis de partager.

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce que la réalisation de ce travail se soit déroulée dans les meilleures conditions.

Mes remerciements les plus forts reviennent également à ma famille qui m'a soutenu et qui a toujours été présente à chaque fois que cela était nécessaire, je remercie notamment mon mari pour sa sympathie chaleureuse, son appui inestimable et le sourire dans les moments difficiles.

Les abréviations

CDCl₃ : Chloroforme deutéré

CD₃OD : Méthanol deutéré

DMSO : diméthylsulfoxyde

DMSO-*d*6 : diméthylsulfoxyde deutéré

CHCl₃ : Chloroforme

EtOH : Ethanol

MeOH : Méthanol

AcOEt : Acétate d'éthyle

Hexane : Hexane

SiO₂ : Silice

NaOH : Hydroxyde de sodium

NaOAc : Acétate de sodium

H₃BO₃ : Acide borique

HCl : Acide chlorhydrique

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

CCM : Chromatographie sur couche mince

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

¹³C : Carbone 13

¹H : Proton

Glc : Glucose

DEPT : Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Coherence

HMBC : Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity

COSY : Correlated Spectroscopy

ESI : Electro-spray ionisation

ROESY : Rotating Fram Overhauser Effect Spectroscopy

UV : Ultra-Violet.

OH : Hydroxyle

OMe : Méthoxyle

ppm : Partie par million

δ : Déplacement chimique

J : Constante de couplage

s : Singulet

d : Doublet

dd : Doublet de doublet

ddd : Doublet de doublets dédoublet

m : Multiplet

t : Triplet

Cq : Carbone quaternaire

m/z : Masse / charge électrique

CC : Chromatographie sur colonne

CCM : Chromatographie sur couche mince

δ (ppm) : Déplacement chimique en partie par million

m : multiplet

m/z : Masse / charge électrique

h : Heure

°C : Température en degrés Celsius

MHz : Méga Hertz

Hz : Hertz

mg : Milligramme

% : Pourcentage

Liste des figures

CHAPITRE I

Figure I.1 : Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type germacranolide.....	10
Figure I.2 : Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type élémanolide.....	17
Figure I.3 : Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type eudesmanolide.....	23
Figure I.4 : Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type guaianolide.....	27
Figure I.5 : Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type héliangolide.....	32
Figure I.6 : Squelette de base des flavonoïdes.....	37
Figure I.7 : Quelques flavones les plus répandues dans le genre <i>Centaurea</i>	38
Figure I.8 : Quelques flavonols les plus répandues dans le genre <i>Centaurea</i>	38
Figure I.9 : Biosynthèse des flavonoïdes.....	47
Figure I.10 : Principaux types de lignanes	49
Figure I.11 : Biosynthèse des lignanes	55
Figure I.12 : Structure chimique d'un glycoside cyanogène.....	56
Figure I.13 : Glycosides cyanogènes dérivés de phénylalanine	57
Figure I.14 : Glycosides cyanogènes dérivés de tyrosine	58
Figure I.15 : Cyanogéniques glycosylés dérivés de leucine, isoleucine et valine	58
Figure I.16 : Cyanogéniques glycosylés à cycle pentoïde dérivés de l'acide L-2-(20-cyclopentenyl) glycine	59
Figure I.17 : β -hydroxynitrile glucoside dérivés de la valine, leucine et isoleucine	59
Figure I.18 : γ -hydroxynitrile glycosides dérivés de la valine, leucine et isoleucine	60
Figure I.19 : Structure chimique de la linamarine et le lotaustraloside.....	61
Figure I.20 : Structure chimique de la dhurrine.....	61
Figure I.21 : Structure chimique de la Prunasine.....	61
Figure I.22 : Structure chimique de l'amygdaline.....	62
Figure I.23 : Voie de biosynthèse des glycosides cyanogènes	63

CHAPITRE II

Figure II.1 : Présentation de <i>Centaurea microcarpa</i> Coss. & Dur.....	77
Figure II.2 : Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes de <i>C. microcarpa</i>	79
Figure II.3 : Schéma de séparation de l'extrait chloroforme de <i>C. microcarpa</i>	83
Figure II.4 : Schéma de séparation de l'extrait acétate d'éthyle de <i>C. microcarpa</i>	86

CHAPITRE III

Figure III-1: Structure plane du composé (F3)	94
Figure III-2 : Corrélations HMBC du composé F3.....	97
Figure III-3: Structure finale du composé (F3): 8 α -hydroxy-11 β , 13dihydroonopordaldehyde	98
Figure III-4: structure du mélange du F9 (β -sitostérol et Stigmastérol)	103
Figure III -5 : glycosides cyanogénétiques substitué en C-6'.....	112
Figure III-6: la structure plane du composé F28M.....	113
Figure III-7: La stéréochimie de F28M.....	114
Figure III -8: Corrélations HMBC: 6'-methacrylate prunasine (F28M).....	115
Figure III-7: génine du composé F33.....	119
Figure III-9: Structure de la 5, 7,3',4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone (Népétine).....	132
Figure III-10: squelette d'un lignane de type: 8'-hydroxydibenzylbutyrolactone.....	135
Figure III-11: Corrélations HMBC du composé F27mcf	145
Figure III-12: 4'-O- β -D-glucopyranosyl-nortrachelogenine.....	145
Figure III-13: Structure plane du composé F11	149
Figure III-14: la prunasine (F11)	150
Figure III-15: 3-O- β -D-glucosylkæmpferol (Astragaline).....	156
Figure III-16: résultats de la Co-chromatographie du sucre avec des échantillons de Référence.....	163
Figure III-17: 5,6-dihydroxy-3,3',4'-triméthoxy-7-O- β -D-glucopyranosylflavonol	164

Liste des tableaux

CHAPITRE I

Tableau I.1: Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type germacranolide isolées du genre <i>Centaurea</i>	11
Tableau I.2: Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type élémanolides isolées du genre <i>Centaurea</i>	18
Tableau I.3: Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type eudesmanolide isolées du genre <i>Centaurea</i>	24
Tableau I.4: Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type guaianolide isolées du genre <i>Centaurea</i>	28

Tableau I.5 : Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de du type héliangolide isolées du genre <i>Centaurea</i>	33
Tableau 1.6 : Groupes d'esters existant dans les lactones sesquiterpéniques du genre <i>Centaurea</i>	34
Tableau I.7 : Les flavonoïdes isolés du genre <i>Centaurea</i>	39
Tableau I.8 : Représente quelques lignanes isolés des espèces du genre <i>Centaurea</i>	50

CHAPITRE II

Tableau II-1 : Rendements de l'extraction.....	80
Tableau II.2 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait chloroforme de <i>C. microcarpa</i>	81
Tableau II.3 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle de <i>C. microcarpa</i>	84

CHAPITRE III

Tableau III-1 : Donnés spectroscopique RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz) du composé F3.....	99
Tableau III-2 : Donnés spectroscopique RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) du composé F3.....	100
Tableau III-3 : : Donnés spectroscopique RMN ¹ H (CDCl ₃ , 250 MHz) du mélange du composé F9.....	104
Tableau III-4 : Données de la RMN ¹³ C du β-sitostérol	105
Tableau III-5 : Données de la RMN ¹³ C du F28M.....	116
Tableau III-6 : Données de la RMN ¹ H et les corrélations COSY(¹ H- ¹ H) et HMBC du F28M.....	117
Tableau III-7 : Données RMN ¹³ C du daucostérol (F33-1).....	127
Tableau III-8 : données de la série spectrale UV du composé F7.....	130
Tableau III-9 : Données de la spectroscopie RMN ¹ H du composé F7.....	131
Tableau III-10 : Données de la RMN ¹ H, RMN ¹³ C et les corrélations COSY (¹ H- ¹ H) et HMBC du F27mcf.....	144
Tableau III-11 : Données de la RMN ¹ H du composé F11	150
Tableau III-12 : Données de la RMN ¹³ C du composé F11.....	151
Tableau III-13 : données de la série spectrale UV du composé F13.....	152
Tableau III-14 : Données de la spectroscopie RMN ¹ H du composé F13.....	155

Tableau III-15 : Données de la série spectrale UV du composé F21.....	157
Tableau III-16 : Données de la série spectrale UV après hydrolyse du composé F21.....	163

Liste des spectres

Spectre III-1 : Spectre <i>J</i> mod (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3.....	88
Spectre III-2 : Spectre <i>J</i> mod étalé 80-10 (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3.....	89
Spectre III-3 : Spectre RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3.....	90
Spectre III-4 : Spectre RMN ¹ H étalé 4.3-2.3 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3...	90
Spectre III-5 : Spectre RMN ¹ H étalé 1.90-0.75 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3	91
Spectre III-6 : Spectre COSY(¹ H- ¹ H) étalé 5.0-1.0 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3.....	92
Spectre III-7 : Spectre COSY(¹ H- ¹ H) (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3.....	92
Spectre III-8 : Spectre HSQC étalé 1.80-0.9 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3...	93
Spectre III-9 : Spectre HSQC étalé 4.0-1.0 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3.....	93
Spectre III-10 : Spectre HMBC étalé 1,85-0,9 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3...	95
Spectre III-11 : Spectre HMBC étalé 1,85-0,9 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3...	95
Spectre III-12 : Spectre HMBC (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3.....	96
Spectre III-13 : Spectre HMBC étalé 2,0 -0,9 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δppm) du composé F3.....	96
Spectre III-14 : Spectre RMN ¹ H (250 MHz, CDCl ₃ , δ ppm) du composé F9.....	101
Spectre III-15 : Spectre RMN ¹ H étalé 5,50- 3,25 (250 MHz, CDCl ₃ , δ ppm) du composé F9.....	101
Spectre III-16 : Spectre RMN ¹³ C (62.5 MHz, CDCl ₃ , δ ppm) du composé F9.....	102
Spectre III-17 : Spectre RMN ¹³ C étalé 60-10 (62.5 MHz, CDCl ₃ , δ ppm) du composé F9.....	102
Spectre III-18 : Spectre <i>J</i> mod (62.5 MHz, CDCl ₃ , δ ppm) du composé F9.....	103
Spectre III-19 : Spectre TOF-HRESI-MS (+) du composé F28M.....	106
Spectre III-20 : spectre IR du composé F28M.....	107
Spectre III-21 : Spectre RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F28M.....	107
Spectre III-22 : Spectre HSQC (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F28M.....	108

Spectre III-23 : Spectre HSQC (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F28M.....	109
Spectre III-24 : Spectre COSY(¹ H- ¹ H) (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F28M....	109
Spectre III-25 : Spectre RMN ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F28M.....	110
Spectre III-26 : Spectre DEPT135 (100 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F28M.....	111
Spectre III-27 : Spectre HMBC (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F28M.....	111
Spectre III-28 : Spectre ROESY (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F28M.....	115
Spectre III-29 : Spectre RMN ¹³ C et DEPT (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33	118
Spectre III-30 : Spectre RMN ¹³ C et DEPT étalé de 155 à170 ppm (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	118
Spectre III-31 : Spectre RMN ¹³ C et DEPT étalé de 60 à10 ppm (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	119
Spectre III-32 : Spectre RMN ¹³ C et DEPT étalé de 60 à 10 ppm (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	119
Spectre III-33 : Spectre RMN ¹ H étalé de 5,4 à 2,5 ppm (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	120
Spectre III-34 : Spectre RMN ¹ H étalé de 2,7 à 0,6 ppm (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , ppm) du composé F33.....	121
Spectre III-35 : Spectre COSY(¹ H- ¹ H) (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	123
Spectre III-36 : Spectre COSY(¹ H- ¹ H) étalé entre 5.5-2.5ppm (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	123
Spectre III-37 : Spectre COSY(¹ H- ¹ H) (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	124
Spectre III-38 : Spectre HSQC étalé entre 5.5-2.9 ppm (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	124
Spectre III-39 : Spectre HSQC étalé entre 2.8-0.5ppm (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	125
Spectre III-40 : Spectre ROESY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm) du composé F33.....	125
Spectre III-41 : Série spectrale UV du composé F7.....	129
Spectre III-42 : Spectre RMN ¹ H (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F7.....	130
Spectre III-43 : Spectre RMN ¹ H étalé entre 7,44 et 6,58 ppm (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F7.....	131
Spectre III-44 : Spectre <i>J</i> mod étalé entre 155 et 70 ppm (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	133

Spectre III-45 : Spectre <i>J</i> mod étalé entre 82 et 20 ppm (100 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	134
Spectre III-46 : Spectre <i>J</i> mod (100 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	134
Spectre III-47 : Spectre RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	136
Spectre III-48 : Spectre RMN ¹ H étalé entre 7.10 et 6.64 ppm (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	136
Spectre III-49 : Spectre HSQC étalé entre 7.40 et 2.40 ppm (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	137
Spectre III-50 : Spectre HSQC étalé entre 4.20 et 2.30 ppm (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	137
Spectre III-51 : Spectre HSQC étalé entre 4.05 et 3.35 ppm (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	138
Spectre III-52 : Spectre COSY (¹ H- ¹ H) étalé entre 4.20 et 2.20 ppm (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27m.....	139
Spectre III-53 : Spectre COSY(¹ H- ¹ H) étalé entre 7.14 et 6.66 ppm (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	139
Spectre III-54 : Spectre HMBC (400 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F27mcf.....	140
Spectre III-55 : Spectre RMN ¹ H (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F11.....	146
Spectre III-56 : Spectre RMN ¹ H étalé entre 5 et 8 ppm (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F11.....	147
Spectre III-57 : Spectre RMN ¹ H étalé entre 5 et 8 ppm (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F11.....	147
Spectre III-58 : Spectre RMN ¹³ C (62.5 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F11.....	148
Spectre III-59 : spectre RMN ¹³ C étalé entre 33.9et 130.0ppm (62.5 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F11.....	148
Spectre III-60 : spectre <i>J</i> mod (62.5 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F11.....	149
Spectre III -61 : série spectrale UV du composé F13.....	153
Spectre III-62 : spectre RMN ¹ H (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F13.....	154
Spectre III-63 : spectre RMN ¹ H étalé entre 8,5 et 5ppm (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F13.....	154
Spectre III -64 : spectre RMN ¹ H étalé entre 4 et 2 ppm (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F13.....	155
Spectre III -65 : Série spectrale UV du composé F21.....	158

Spectre III-66 : Spectre RMN ¹ H (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F21	159
Spectre III-67 : Spectre RMN ¹ H étalé entre 4.2 et 3.0 ppm (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F21	160
Spectre III-68 : Spectre RMN ¹ H étalé entre 4 et 8 ppm (250 MHz, CD ₃ OD, δ ppm) du composé F21	160
Spectre III-69 : Série spectrale UV du composé F21 après hydrolyse.....	162

SOMMAIRE

Introduction générale.....	01
Références bibliographiques.....	03

*CHAPITRE I : Aperçu bibliographique sur les Principaux métabolites secondaires du genre *Centaurea**

I.1. Introduction.....	05
I. 2. Description botanique du genre <i>Centaurea</i>	05
I.3. Principaux métabolites secondaires du genre <i>Centaurea</i>	06
I.3.1 Lactones sesquiterpéniques du genre <i>Centaurea</i>	06
I.3.1.1. Les germacranolides	09
I.3.1.2. Les élemanolides	17
I.3.1.3. Les eudesmanolides	23
I.3.1.4 Les guaianolides	27
I.3.1.5. Les héliangolides	32
I. 3.1.6. Intérêt thérapeutique des lactones sesquiterpéniques.....	36
I.3.2. Les flavonoïdes isolés du genre <i>Centaurea</i>	36
I.3.2.1. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes.....	45
I.3.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes.....	45
I.3.3. Les lignanes isolés du genre <i>Centaurea</i>	48
I.3.3.1. Intérêt thérapeutique des lignanes.....	54
I.3.3.2. Biosynthèse des lignanes.....	54
I.3.4 Les glycosides cyanogènes isolés du genre <i>Centaurea</i>	56
I.3.4.1 Classification des composés glycosides cyanogènes.....	57
I.3.4.1.1 Classification selon l'acide aminé précurseur	57
I.3.4.1.2 : Classification selon le produit d'hydrolyse.....	60
I.3.4.2: Biosynthèse des glycosides cyanogènes.....	62
I.3.4.3: Intérêt médical et biologique des glycosides cyanogènes.....	64
Références bibliographiques.....	65

Chapitre II : Partie expérimentale

II-1. Critère de choix de l'espèce.....	76
II.2. Place dans la systématique.....	76
II.3. Description botanique de l'espèce	76
II-4. Les travaux antérieurs sur <i>Centaurea microcarpa</i> . Coss. & Dur.....	77
II-5. Récolte de la matière végétale.....	78
II-6. Extraction de <i>Centaurea microcarpa</i> . Coss. & Dur	78
II-7. Séparation et purification de l'extrait chloroforme de <i>C. microcarpa</i>	80
II-8. Etude de fractions de l'extrait chloroforme de <i>Centaurea microcarpa</i>	82
II-8-1. Etude des fractions (F2 et F3)	82
II-8-2. Etude des fractions (F8-F10)	82
II-8-3. Etude des fractions (F17-F19)	82
II-8-4. Etude des fractions (F22 et F23)	82
Conclusion.....	83
II-9. Séparation chromatographique et purification des composés de l'extrait acétate d'éthyle de <i>Centaurea microcarpa</i>	83
II-10. Etude de fractions de l'extrait acétate d'éthyle de <i>Centaurea microcarpa</i>	85
II-10-1. Etude de la fraction F7.....	85
II-10-2. Etude de la fraction F10.....	85
II-10-3. Etude de la fraction F11.....	85
II-10-4. Etude de la fraction F13.....	85
II-10-5. Etude de la fraction F21.....	85
Conclusion.....	86
Références bibliographiques.....	87

Chapitre III : Résultats et discussion

III- Identification des produits isolés de <i>C. microcarpa</i>	88
III-1 : Identification des produits isolés de l'extrait chloroforme de <i>C. microcarpa</i>	88
III-1-1 : Elucidation structurale du composé F3	88
III.1.1. Elucidation structurale du composé F9.....	100
III.1.2. Elucidation structurale du composé F28M.....	106
III.1.3. Elucidation structurale du composé F33.....	117
III-2 : Identification des produits isolés de l'extrait acétate d'éthyle de <i>C. microcarpa</i>	128

III-2-1. Elucidation structurale du composé F7.....	128
III-2-2. Elucidation structurale du composé F27mcf.....	132
III-2-3. Elucidation structurale du composé F11.....	145
III-2-4. Elucidation structurale du composé F13.....	150
III-2-5. Elucidation structurale du composé F21.....	155
Conclusion.....	163
Références bibliographiques.....	164
Conclusion générale.....	168

Introduction Générale

Introduction Générale

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore, une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au Taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400 000 espèces végétales connues ont été étudiées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents [1]. En Algérie il en existe 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques [2].

Le genre *Centaurea* qui appartient à la famille Asteraceae, compte environ 700 espèces dans le monde. En Algérie, ce genre est représenté par 45 espèces [3] dont certaines sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour leurs activités antimicrobienne, antivirale [4], antifongique [5], cytotoxique [6] et anticancéreuse [7]. Des études chimiques de quelques espèces de ce genre ont montré leur richesse en métabolites secondaires tels que les lactones sesquiterpéniques, les stéroïdes [8] et les flavonoïdes [9].

Vu l'importance de ces plantes médicinales, plusieurs espèces du genre *Centaurea* ont été étudiées au sein de notre unité de Recherche Valorisation Des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives Et Analyses Physico-Chimiques t Biologiques (VARENBIOMOL), ces travaux ont mené à des résultats conformes à ceux de la littérature. En effet, ils ont montré la richesse importante de ce genre en composés sesquiterpéniques [10] et flavoniques [11].

Ce travail est une continuité de nos investigations sur des espèces de ce genre. Dans ce cadre nous avons entrepris la poursuite des travaux entamés dans notre programme de recherche sur *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur, une espèce endémique à l'Algérie et la Tunisie.

Ce travail est axé sur trois points essentiels :

- Une étude bibliographique sur les lactones sesquiterpéniques et les flavonoïdes isolés du genre *Centaurea* et leurs propriétés biologiques et les travaux antérieurs sur cette espèce.
- L'extraction, la séparation et la purification de la composante de la phase chloroforme et de la phase acétate d'éthyle de l'extrait hydro-alcoolique de *Centaurea microcarpa*.
- Dans la troisième partie, nous reportons les résultats de l'élucidation structurale des composés isolés suivis d'une discussion et d'une conclusion générale.

Références bibliographiques

- [1]. Hostettmann, K., Potteray, O. and Wolfender, J. L. (1998), The potential of higher plants as a source of new drugs. *Chimie*, 52, 10-17.
- [2]. Quezel P, Santa S. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris: Centre National de La Recherche Scientifique (CNRS) ; 1963(2) :1030-1032.
- [3]. Mabberley D.J., (1987), *The Plant Book*, Cambridge University Press.
- [4]. Skaltsa, H., Lazari, D., Panagouleas, C., Georgiadou, E., Garcia, B., Sokovic, M., (2000), sesquiterpene lactones from *Centaurea thessala* and *Centaurea attica*. Antifungal activity, *Phytochemistry*, 55(8), 903-908.
- [5]. Medjroubi, K., Benayache, F., Bermejo, J., (2005), sesquiterpene lactones from *Centaurea musimomum*. Antiplasmodial and cytotoxic activities, *Fitoterapia*, 76,744-746.
- [6]. Shoeb, M., Jaspars, M., MacManus, S.M., Celik, S., Nahar, L., Thoo-Lin, P.K., Sarker, S.D, (2007), Anti-colon cancer potential of phenolic compounds from the arial parts of *Centaurea gigantean* (Asteraceae), *Journa of Naural Medicine*, 61, 164-169.
- [7]. Djeddi, S., Argyropoulou, C., Skaltsa, H., (2008), secondary metabolites from *Centaurea Grisebachii* ssp. *grisebachii*, *Biochemical Systematic and Ecology*, 36,336-339.
- [8]. Flamini, G., Paridini, M., Morelli, I., Ertugrul, K., Dural, H., Bagci, Y., Kargioglu, M., (2002), flavonoid glycosides from *Centaurea pseudoscabiosa subsp pseudo scabiosa* from Turkey, *Phytochemistry*, 61, 433-437.
- [9]. Kolli, E., Leon, F., Benayache, F., Estevez, S., Quintana, J., Estevez, F., Brouard, I., Bermejo, J., Benayache, S., (2012), Cytotoxic sesquiterpene lactones and other constituents of *Centaurea omphalotricha*, *J. Braz. Chem. Soc.*,23, 977-983.
- [10]. Seghiri, R., Mekkiou, R., Boumaza, O., Benayache, S., Bermejo, J., Benayache, F., (2006), Phenolic compounds from *Centaurea africana*, *Chemistry of Natural Compounds*,42(6), 491-492.
- [11]. Medjroubi, K., Mezhoud, S., Benayache, F., Seguin, E. and Tillequin, F., (2005), flavonoids of the aerial parts of *Centaurea pullata*, *Chemistry of Natural Compounds*, 41(2),226-227.

CHAPITRE I

Aperçu

*bibliographique sur les
Principaux métabolites
secondaires du genre
Centaurea*

I.1. Introduction

La famille des Astéracées est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend près de 23000 espèces réparties en 1500 genres. Ce sont essentiellement des plantes herbacées même s'il peut exister des arbres, des arbustes ou des lianes dans cette famille.

Le genre *Centaurea* fait partie de la famille des Astéracées. Il compte environ 700 espèces et est très répandu aussi bien sur le territoire algérien qu'en Europe méridionale, le bassin méditerranéen, l'Ouest de l'Asie et le continent Américain [1].

Dans la nouvelle flore d'Algérie, Quezel et Santa ont reporté et décrit 45 espèces du genre *Centaurea* sur le sol Algérien [2].

I. 2. Description botanique du genre *Centaurea*

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

Leur observation est essentielle pour déterminer les espèces. Le réceptacle plan ou subi plan est garni de soies abondantes. Les fruits sont des akènes longs ou ovoïdes, lisses, à hile latéral, profond, barbu ou non, portant une aigrette assez courte, simple ou double, persistante ou caduque [3].

I.3. Principaux métabolites secondaires du genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* a fait l'objet d'un grand nombre d'études phytochimiques qui ont révélé la présence de sesquiterpènes [4-9], de triterpènes [10], de stéroïdes [5], d'alcaloïdes, de lignanes [11], de lactones sesquiterpéniques [12,13] et de composés phénoliques notamment les flavonoïdes [14,16].

I.3.1 Lactones sesquiterpéniques du genre *Centaurea*

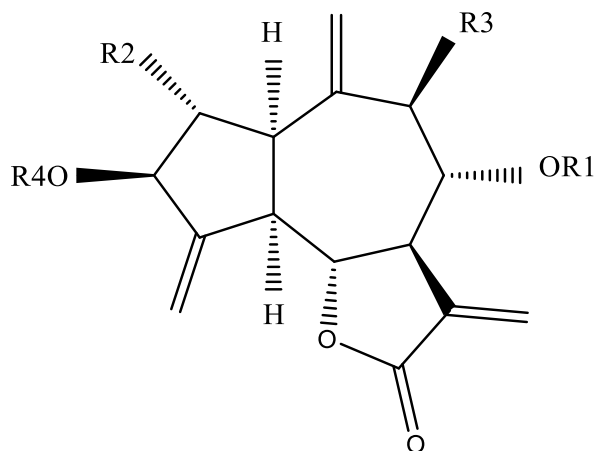
Les lactones sesquiterpéniques constituent un grand et divers groupes de métabolites secondaires, qui se distinguent dans leurs propriétés et leurs structures, elles sont appelées aussi les principes amers à cause de leur goût amer. Ils constituent un groupe très important de produits naturels largement répandus notamment chez les Astéracées, plus de 3000 structures ont été identifiés [1].

Le genre *Centaurea* est caractérisé par la présence des lactones sesquiterpéniques dont la majorité est de type guaiane et germacrane [17-20], cependant des élémanolides, des eudesmanolides ainsi que des héliangolides y ont été isolés [20-22]. On note également la présence de quelques sesquiterpènes de type élémane [17].

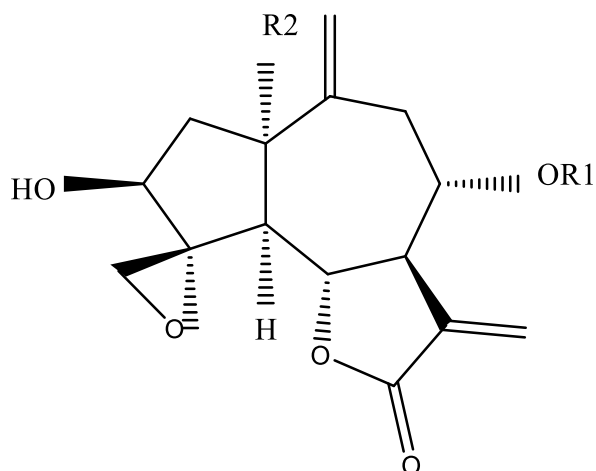
Les études ont montré également que les lactones sesquiterpéniques du type guaianolide les plus prédominantes sont : La cynaropicrine **1**, la répine **2**, la janérine **3**, l'acroptiline **4**, la centaurepénsine **5**, la chlorojanérine **6**, la cébelline D **7**, et celles de type germacranolide les plus rencontrées sont : la salonitenolide **8**, la cnicine **9** et l'acétoxycnicine **10**.

Pour les lactones du type élémanolide les plus fréquemment trouvées sont : la mélitensine **11**, la 11, 13 dihydromélitensine **12** et la 15-hydroxy-8 α -(1',2'-dihydroxy-ethyl)-acryloxy-elema-1, 3,11(13) -trien-6,12-olide **13**.

Les structures des lactones sesquiterpéniques les plus prédominantes dans le genre *Centaurea* de 1 à 13 sont représentées comme suite :



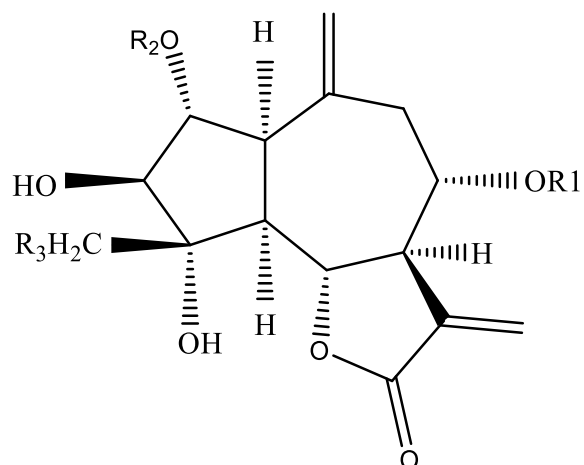
1-Cynaropicrine ; R1= 4'-hydroxyméthacrylate, R2= R3= R4 = H



2-Répine ; R1 = époxyméthacrylate, R2 = H

3-Janérine ; R1 = 4'- OH méthacrylate, R2 = H

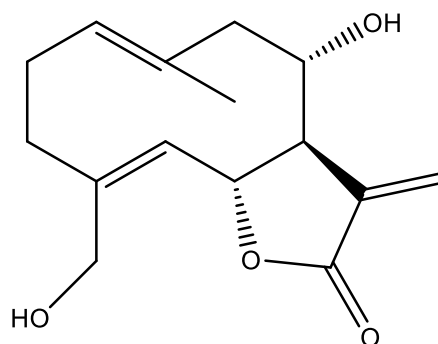
4- Acroptiline (Chlorohyssopifoline C); R1= (2'-OH- 4'-Cl) isobutyrate, R2 = OH



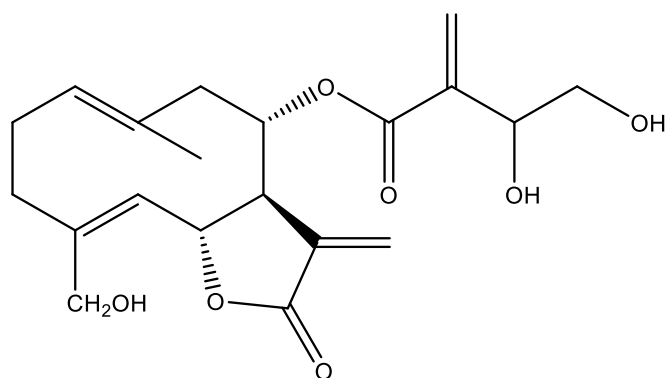
5-Centaurépinsine ; R₁ = (2'-β-OH-4'-Cl) isobutyrate, R₂= H, R₃= Cl

6-Chlorojanérine ; R₁= 4'-OH-méthacrylate, R₂= H, R₃= Cl

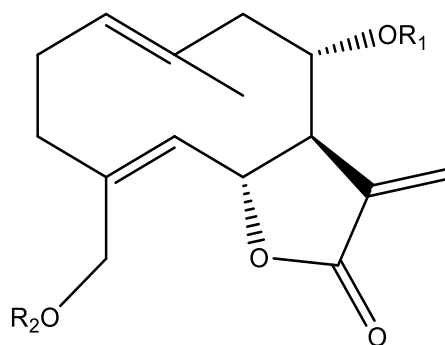
7-Cébelline D; R₁ = 4'-OH-tiglate, R₂= H, R₃= Cl



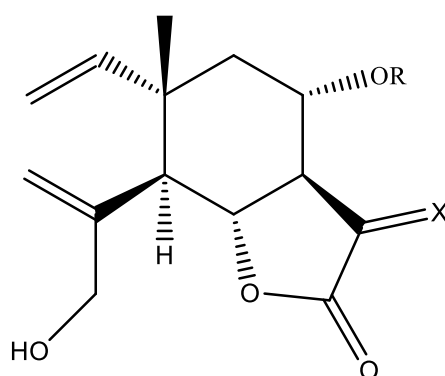
8- Saloniténolide



9- Cnicine.



10-Acétoxycnicine ; R1= (acétoxy-2'-hydroxyéthyl) acrylate, R2 = H.



11-Mélitensine ; R= H, X = β -H, α -Me

12-11 β ,13-dihydromélitensine ; R= H, X= CH₂

13-15-hydroxy-8 α -(1',2'-dihydroxy-éthyl)-déhydromélitensine ; R=(1',2'-dihydroxyéthyl) acrylate,
X= CH₂.

I.3.1.1. Les germacranolides du genre *Centaurea*

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

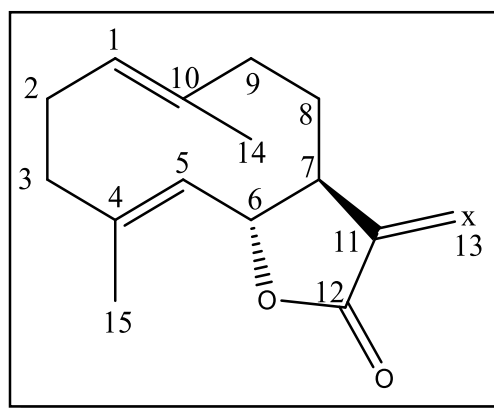


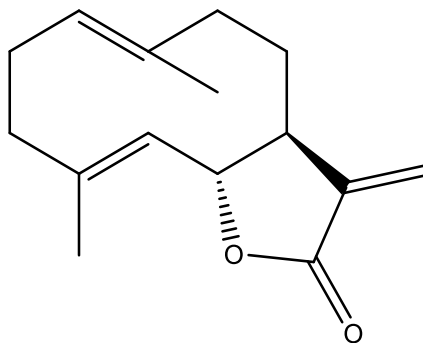
Figure I.1: Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type germacranolide

La plupart de ces structures contiennent deux doubles liaisons, une entre C-1 et C-10 et l'autre entre C-4 et C-5 de configuration (E, E). Ces doubles liaisons peuvent être remplacées par des fonctions époxydes avec les stéréochimies β C-1- β C-5. La double liaison exocyclique en C-11 peut être réduite en 11 α -H, 13 β -Me ou 11 β -H, 13 α -Me. Dans la plupart des composés de ce type, isolés du genre *Centaurea* le carbone C-4 porte le groupement CH₂OH. D'après notre étude concernant ce type de structures issues du genre *Centaurea*, la lactonisation se fait en C-6 ou en C-8. Les carbones C-8 ou C-6 sont souvent substitués par des groupes esters ou hydroxyles de stéréochimie α . Les hydrogènes H-6 et H-7 ont toujours des stéréochimies β et α respectivement. En général, les carbones C-9 et C-3 ne sont pas substitués à l'exception de quelques composés. Quelques lactones sesquiterpéniques de ce type, isolées du genre *Centaurea* sont reportées dans le tableau **I-1**.

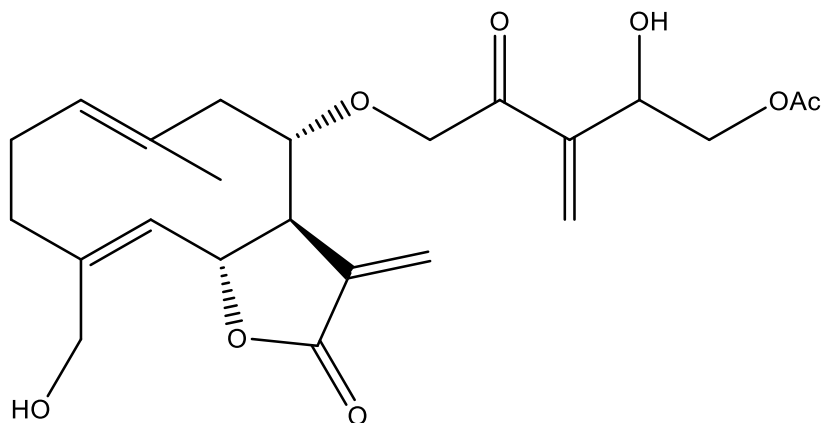
Tableau I.1: Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type germacranolide isolées du genre *Centaurea*

Espèces	Structures	références
<i>C. rhizantha</i>	14	[5]
<i>C. orphanidea</i>	15	[25]
<i>C. lusitanica</i>	16	[26], [27]
<i>C. kurdica</i>	17	[28]
<i>C. aspera</i>	18	[17]
<i>C. achaia</i>	19	[23]
<i>C. achaia</i>		[23]
<i>C. aspera</i>	20	[17]
<i>C. moesiaca</i>		[29]
<i>C. amara</i>		[30]
<i>C. malacitana</i>	21	[31]
<i>C. nicaensis</i>		[32]
<i>C. aspera</i> ssp.		[17]
<i>Stenophylla</i>	22	[29]
<i>C. moesiaca</i>		
<i>C. glomerata</i>	23	[33]
<i>C. aspera</i> ssp.	24	[17]
<i>stenophylla</i>		
<i>C. moesiaca</i>	25	[29]
<i>C. coronopifolia</i>	26, 27	[34]
<i>C. paui</i>	28, 29, 30	[24]
<i>C. sulphurea</i>	31	[35]

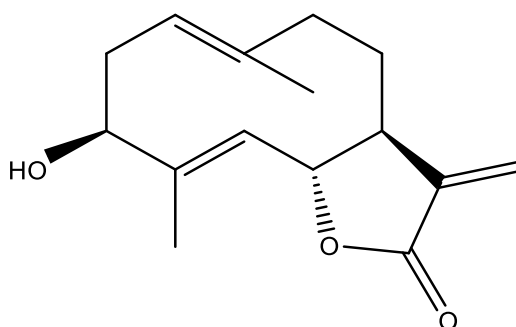
Les structures des différents germacranolide isolés des espèces du genre *Centaurea* cités dans le tableau **I.1** sont présentées dans les figures suivantes :



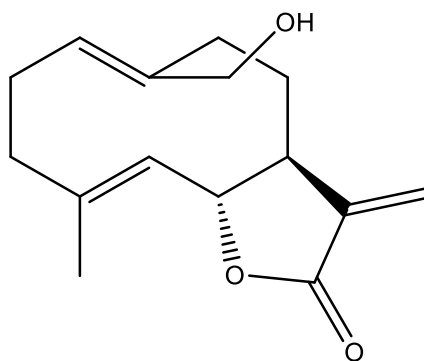
14- (+)-Costunolide



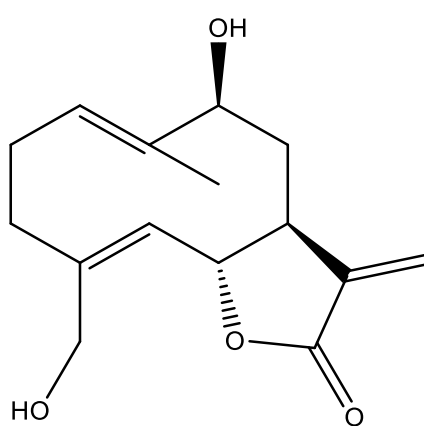
15- 4'-*O*-acetylnicine



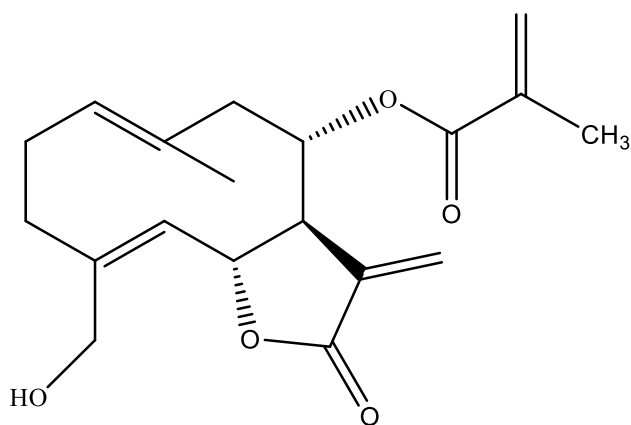
16- β -hydroxycostunolide



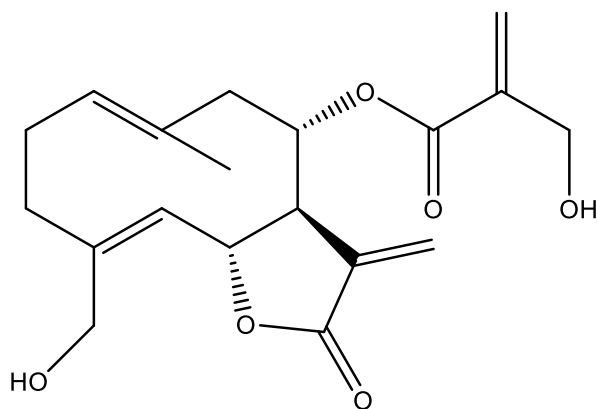
17-14-hydroxycostunolide



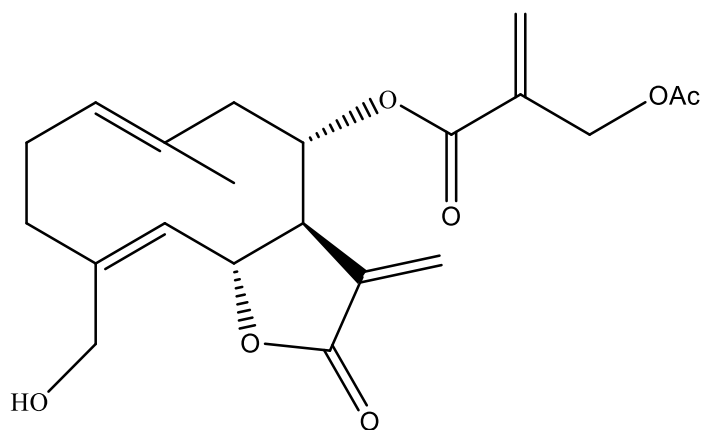
18- Sténophyllolide



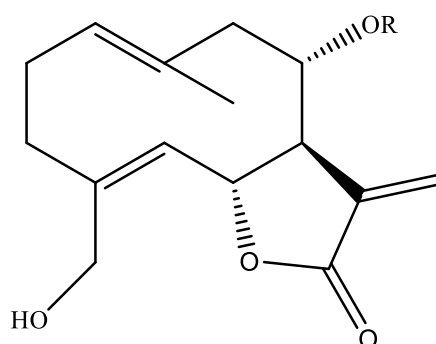
19- 8 α -O-(méthylacryloyl)-saloniténolide



20- Onopordopicrine



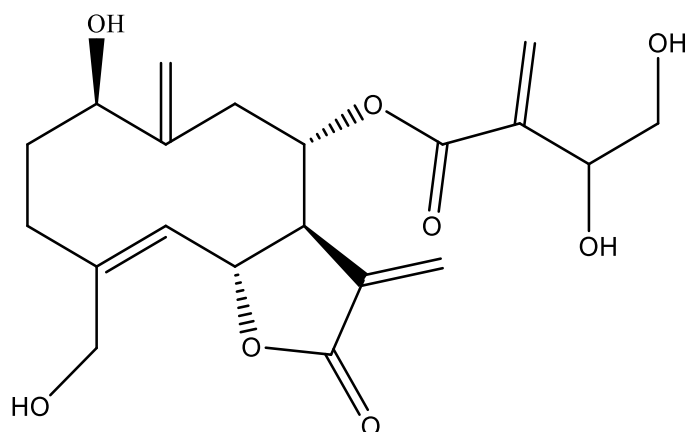
21- Amarine



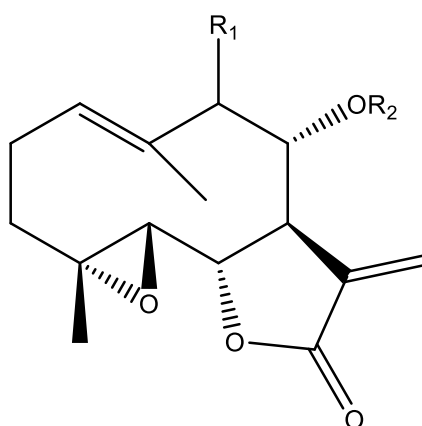
22- 8 α -O-(5'-hydroxyangéloyl)-salonitenolide ; R=5'-OH Ang

23- 8 α -O-(4'-acetoxy-5'-hydroxyangéloyl)-salonitenolide ; R=(4'-OAc-5'-OH) Tig

24- 8 α -O-(4'-acetoxyangéloyl)-saloniténolide ; R=(4'-OAc) Tig

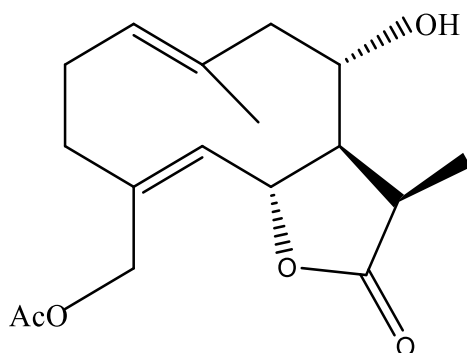


25- 1 β ,15-Dihydroxy-8 α -O-(3,4-dihydroxy-2-méthylènebutanoxy)-4E,10(14),11(13)-germacatriene-12,6 α -olide .

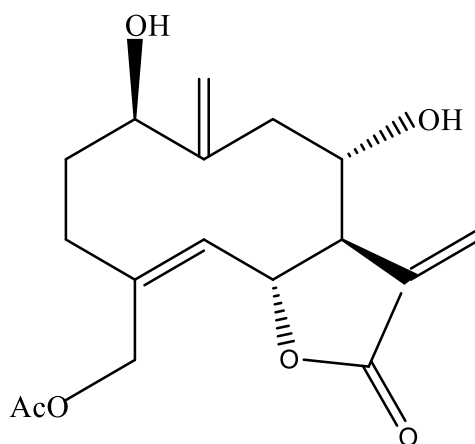


26- Balzamine ; R₁= β -OH, R₂= senecioate

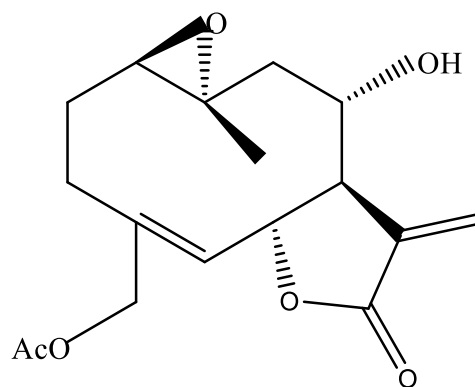
27- 8 α -4'-hydroxysencioyloxy-9 α -hydroxyparthenolide; R₁= α -OH, R₂= 4'-hydroxysenecioate



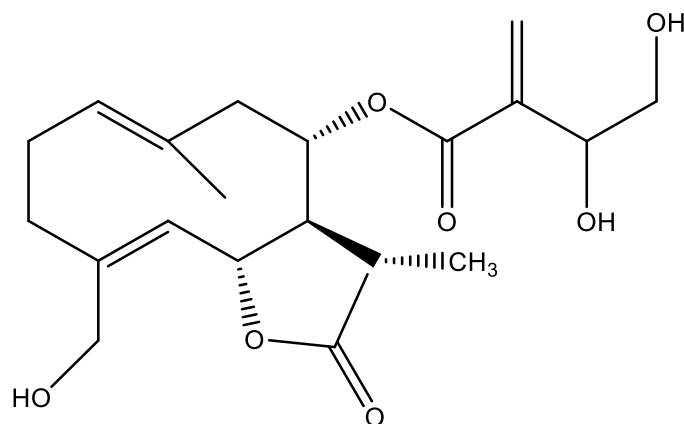
28- Cébeline M



29-15-acétoxy-1 β ,8 α -dihydroxy-7 α H,6 β H-germacra-4E,10(14),11(13)-trien-12,6-olide



30- 1-(10)-epoxy-15-hydroxy-germacr-4-ene-6,12-olide



31- 11 β ,13-dihydrocnicine.

I.3.1.2: Les élémanolides du genre *Centaurea*

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

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

Les carbones en C6 ou C8 portent toujours des groupements esters ou hydroxyles avec une stéréochimie α et la lactonisation se fait généralement en position 6, comme le montre le schéma dans la figure I.2 [36]

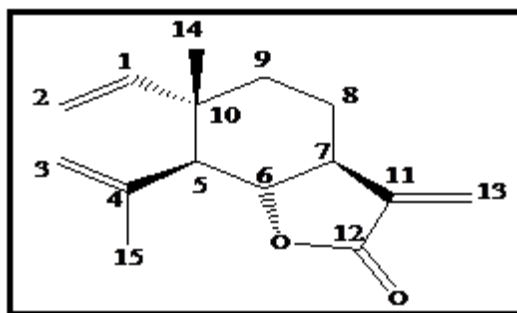


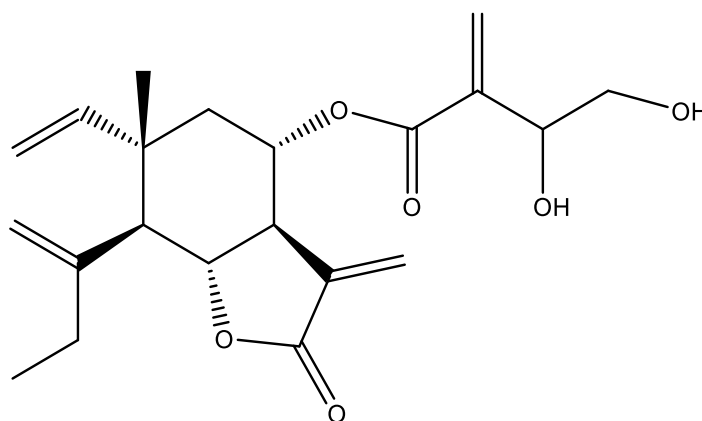
Figure I.2 : Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type élémanolides

Quelques lactones sesquiterpéniques de ce type, isolées du genre *Centaurea* sont reportées dans le tableau I-2.

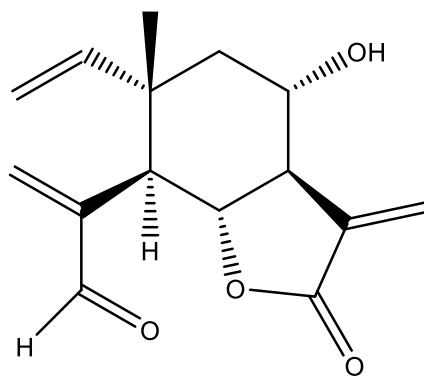
Tableau I.2: Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type élémanolides isolées du genre *Centaurea*

Espèces	structure	Références
<i>C. grisebachii</i>	32	[37]
<i>C. paui</i>	33, 34	[24],[25]
<i>C. bruguierana</i>	35	[38]
<i>C. pullata</i>	36	[21]
<i>C. salonitana</i>	37	[39]
<i>C. chilensis</i>	38	[40]
<i>C. hierapolitana</i>	39, 40	[20]
<i>C. achaia</i>	41	[23], [41]
<i>C. castellana</i>	42	[25]
<i>C. aspera</i> ssp. <i>Subinermis</i>	43	[42]
<i>C. aspera</i>	44	[17]
<i>C. aspera</i> ssp. <i>Subinermis</i>	45	[43]
<i>C. nicaensis</i>	46	[32], [44].

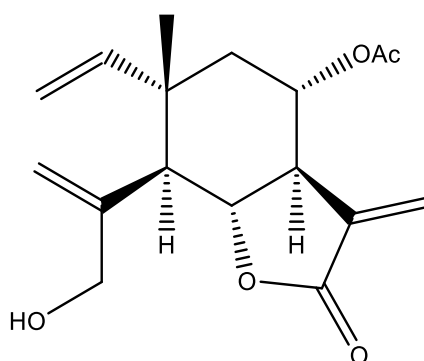
Les structures des différents élémanolides isolés des espèces du genre *Centaurea* cités dans le tableau I.2 sont présentées dans les figures suivantes :



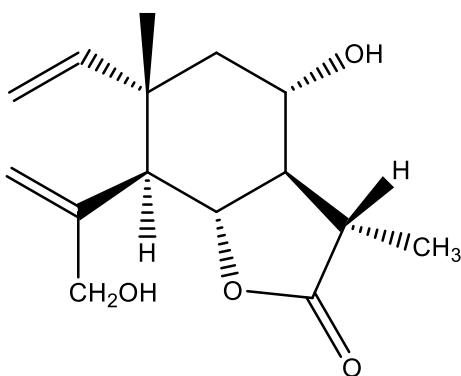
32- 8 α -O-(3,4-dihydroxy-2-methylene-butanoyloxy)-11 β ,13-dehydromelitensin



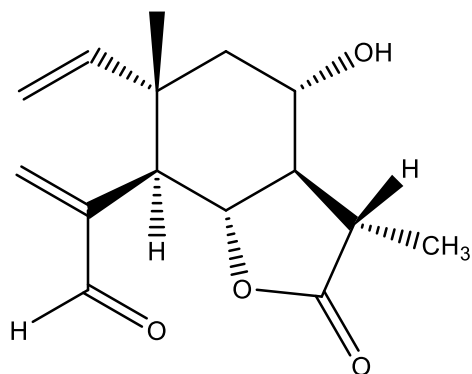
33- 8 α -hydroxy-15-oxo-5,7 α H,6 β H-elema-1,3,11(13)-trien,12,6-olide.



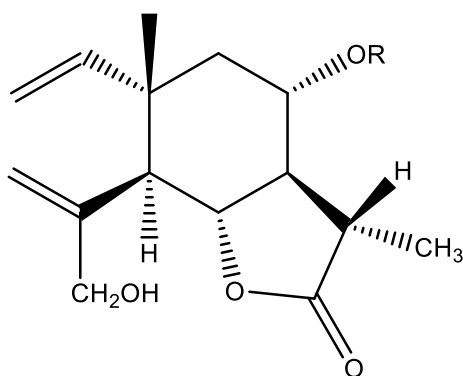
34- déhydromelitensin 8 α -acétate,



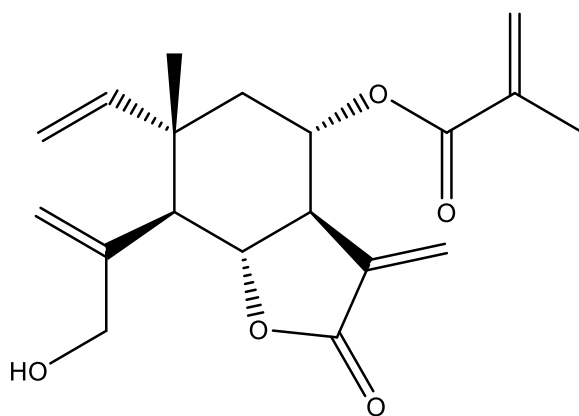
35- Melitensine



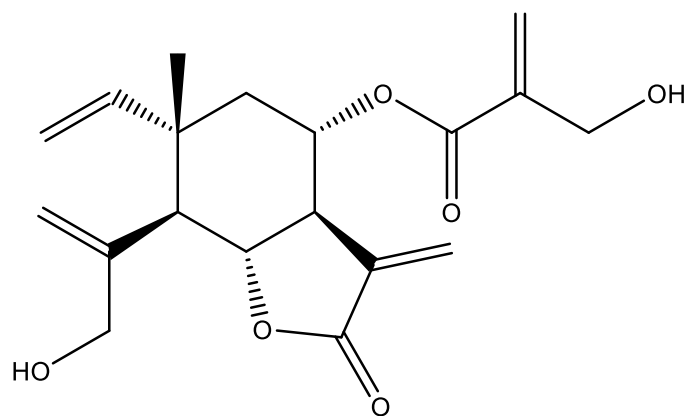
36- 8 α -hydroxy-15-oxo-5,7 α H,6 β H,11 β H-elema-1,3-dien- 6,12-olide.



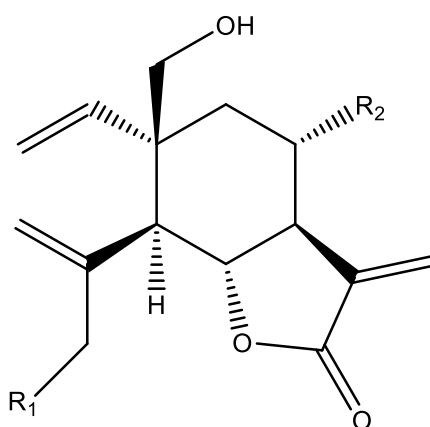
37- Melitensin-8 α -O- β -D-glucopyranoside ; R= O- β -Glucose



38- Dehydromelitensin 8 α -(2'-méthylénepropanoate)

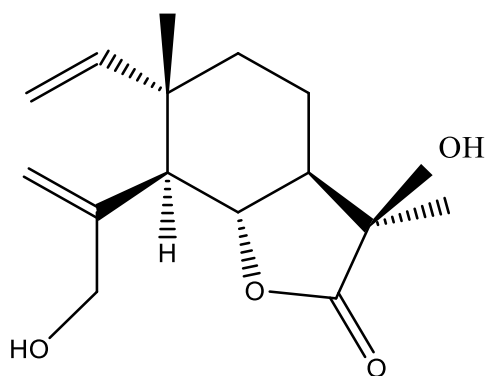


39- 8 α -(4'-hydroxy-méthacryloyl)-dehydromelitensin

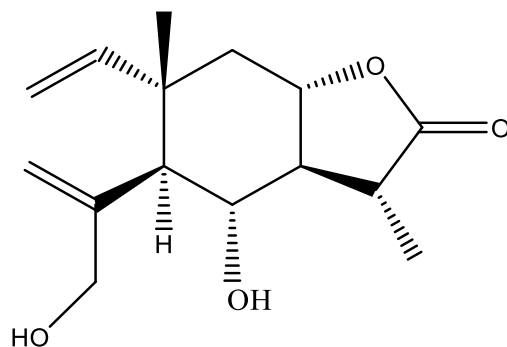


40- Hierapolitanin A; R1= OH, R2=Mac

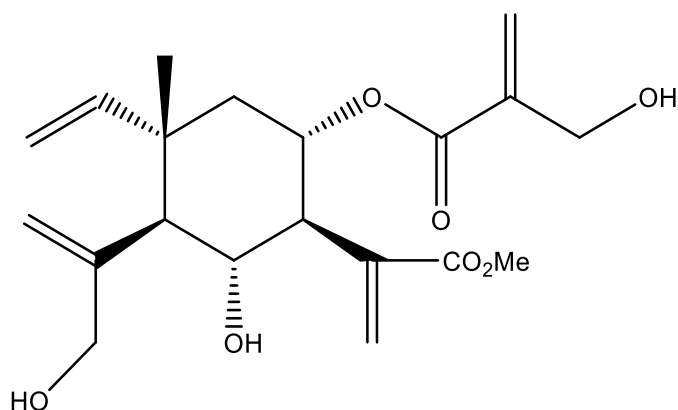
41- Hierapolitanin B; R1= OCOCH₃, R2=4'-OH Mac



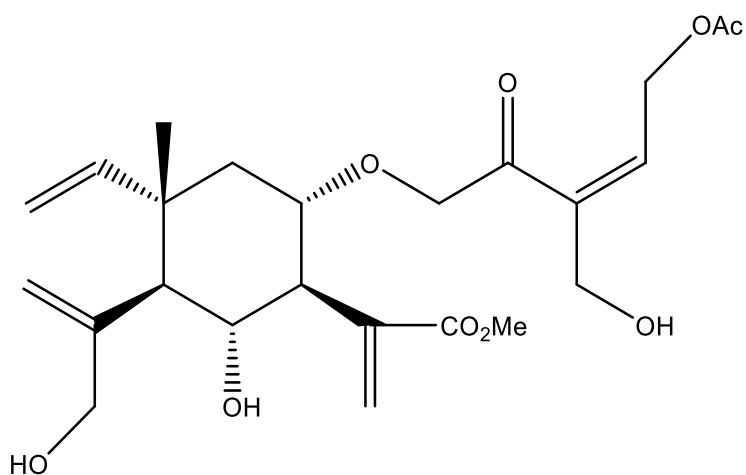
42- 11 β ,15-dihydroxysanssurealactone



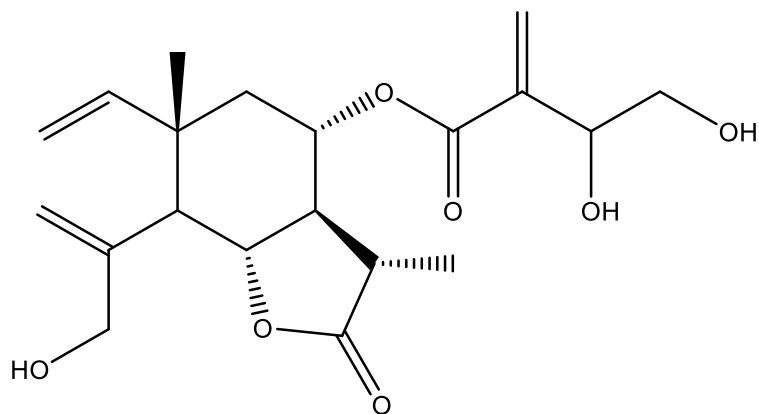
43- Isomelitensin



44- Elemacarmanin



45- Methyl 8 α -(Z-2-hydroxymethyl-4-acetoxybut-2-enyloxy)-6 α ,15-dihydroxyelema-1,3,11(13)-trien-12-oate



46- 5R,6R,7R,8S,10S,11S-15-hydroxy-8-(1,2-dihydroxyethyl)-acryloxyelema-1,3-dien-6,12-olide.

I.3.1.3 : Eudesmanolides du genre *Centaurea* :

Les eudesmanolides sont des composés qui ont un squelette de base formé par deux cycles hexagonaux attachés avec un pentacycle caractérisant la fonction γ -lactone avec deux méthyles comme des substitutions l'un sur la position 4 et l'autre sur la position 10 et un groupement méthylène porté par le carbone 11 du cycle lactonique. La fermeture de la fonction γ -lactone peut s'effectuer en 6 ou en 8 avec une jonction *cis* ou *trans*. Le méthyle porté par le carbone 10 est en position β et les deux hydrogènes portés par les carbones 5 et 7 sont toujours en configuration α comme représenté dans la figure I.3.

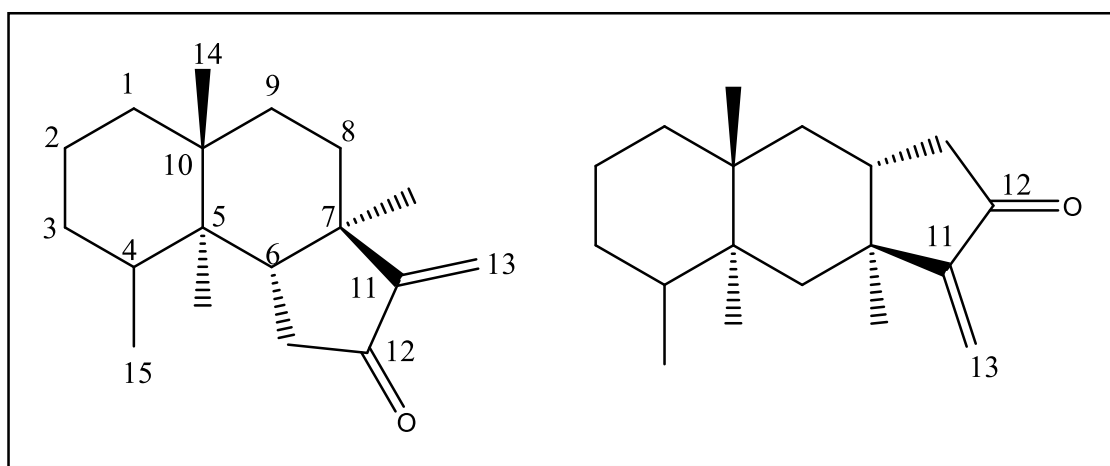


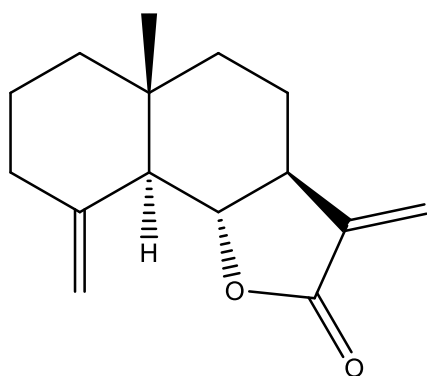
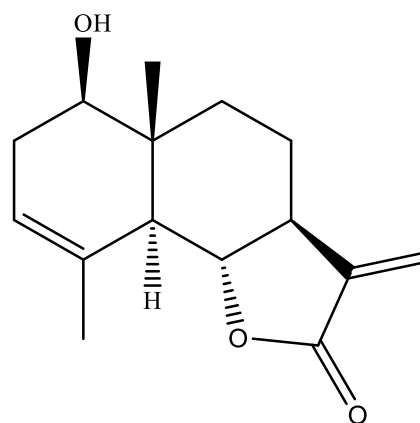
Figure I.3: Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type eudesmanolides.

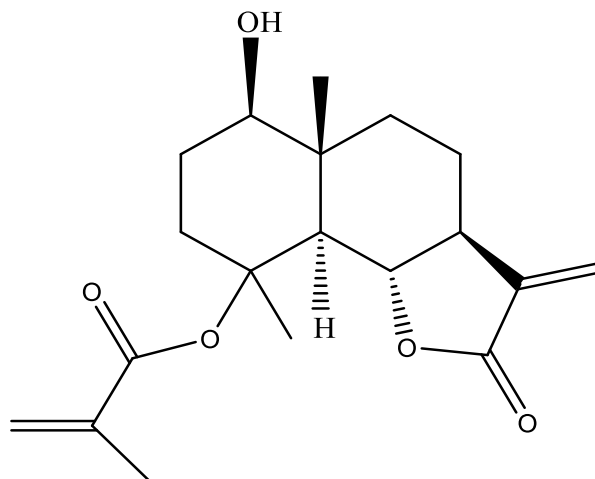
Quelques lactones sesquiterpéniques de type eudesmanolide, isolées du genre *Centaurea* sont reportées dans le Tableau I.3.

Tableau I.3: Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type eudesmanolide isolées du genre *Centaurea*

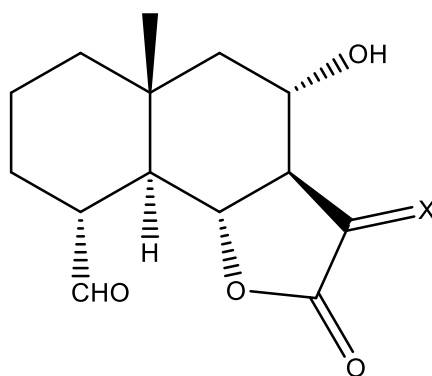
Espèces	Structures	références
<i>C. rhizantha</i>	47 48	[5]
<i>C. hyssopifolia</i>	49	[45]
<i>C. linifolia</i>		[46]
<i>C. granata</i>	50	[9]
<i>C. pullata</i>		[21]
<i>Centaurea canariensis ssp. subexpinnata</i>	51	[47]
<i>Centaurea arguta</i>	52	[48]
<i>Centaurea attica</i>	53	[49]
<i>Centaurea hierapolitana Boiss</i>	54, 55	[50]
<i>Centaurea pullata</i>	56	[6]

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

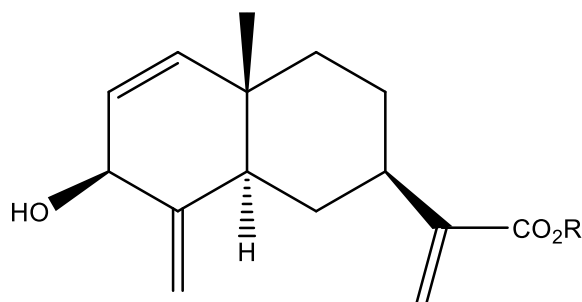
**47-** β -cyclocostunolide**48-** Santamarine



49- Vahlenin

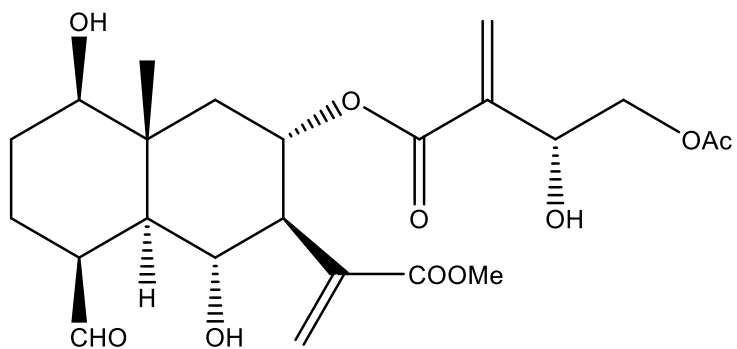


50- 8 α -hydroxy-11 β ,13-dihydroonopordaldéhyde; X= β -H, α -Me

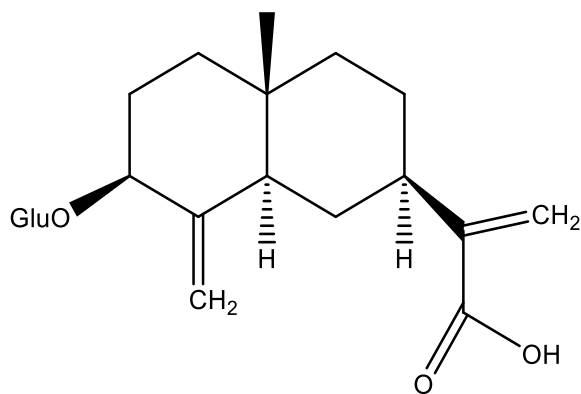


51- 3-hydroxy-1,2-déhydrocostique acide ; R=H

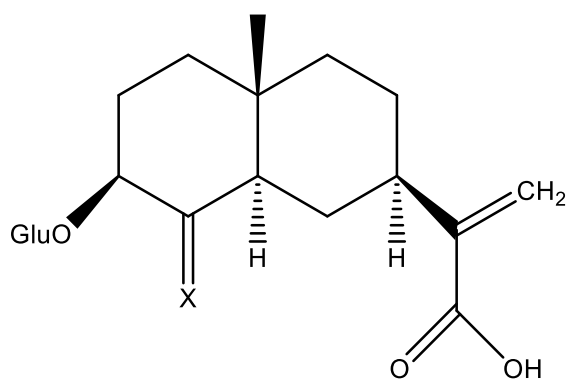
52- 3-hydroxy-1,2-déhydrocostique acide méthyl ester ; R=Me



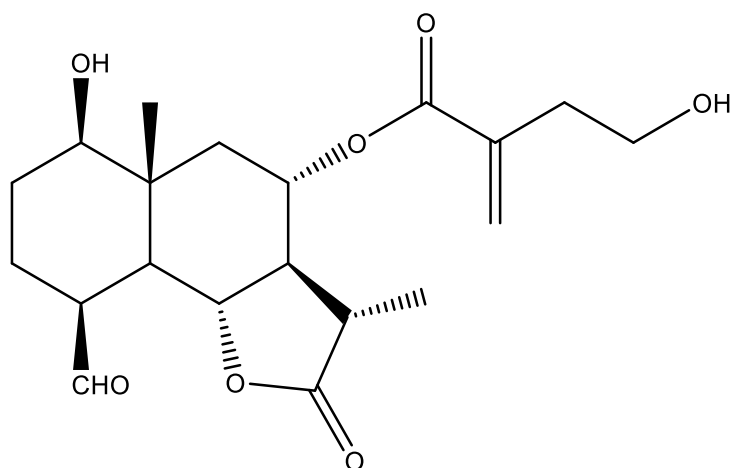
53- Atticine



54- Hierapolitanins C



55- Hierapolitanins D ; X=β-OH, α-Me



56- 8 α -O-(4-hydroxy-2-méthylène-butanoyloxy)-11 β ,13-dihydro-4-épi-sonchucarpolide.

I.3.1.4 : Les guaianolides du genre *Centaurea* :

Les lactones du type guaianolide ont comme squelette de base un cycle pentagonal et un autre heptagonal (Figure I.4), celles isolées du genre *Centaurea*, sont caractérisées par la stéréochimie α des protons H-1, H-5 et H-7 et la stéréochimie β des protons H-6 et H-8 dans le cas d'une substitution en C(8) et une fermeture du cycle lactonique en C(6).

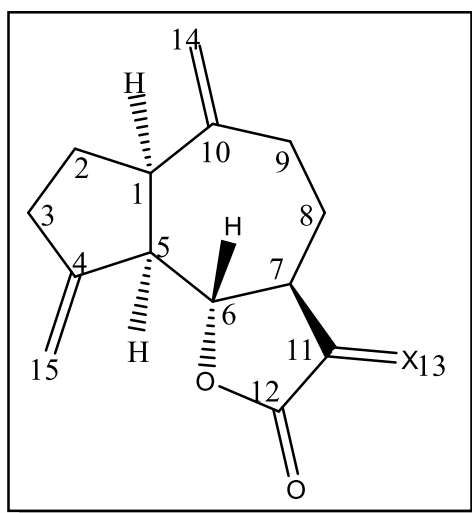


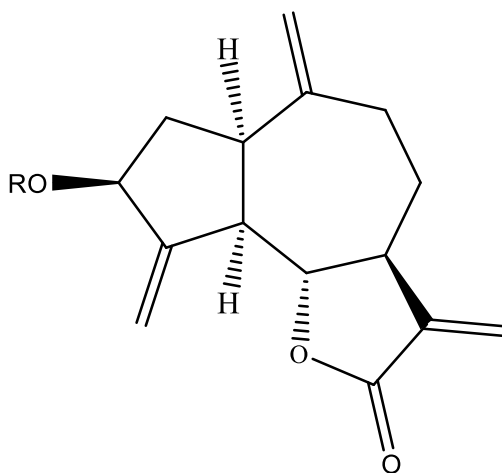
Figure I.4 : Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type guaianolide

Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type guaianolide isolées du genre *Centaurea* sont regroupées dans le tableau I.4.

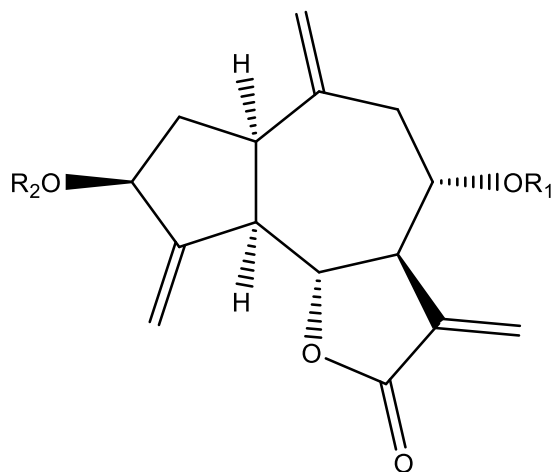
Tableau I.4: Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de type guaianolide isolées du genre *Centaurea*

Espèces	structures	références
<i>C. ptosimopappa</i>	57	[19]
<i>C. acaulis</i>	58, 60, 62	[5]
<i>Centaurea deflexa</i>	59	[51]
<i>Centaurea nicolai</i>	61	[52]
<i>Centaurea musimomum</i>	63, 68, 70	[8]
<i>Centaurea scoparia</i>	64	[53]
<i>Centaurea solstitialis</i>	65, 66, 67	[54]
<i>Centaurea babylonica</i>	69	[55]
<i>Centaurea hololeuca</i>	71	[56]

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

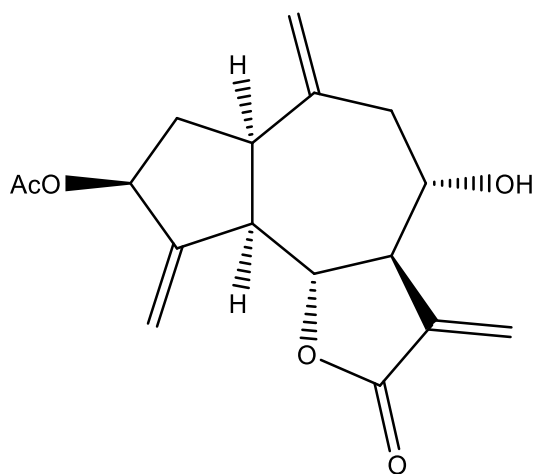


57- zaluzanin C; R= H
58- Zaluzanin D; R=COCH₃

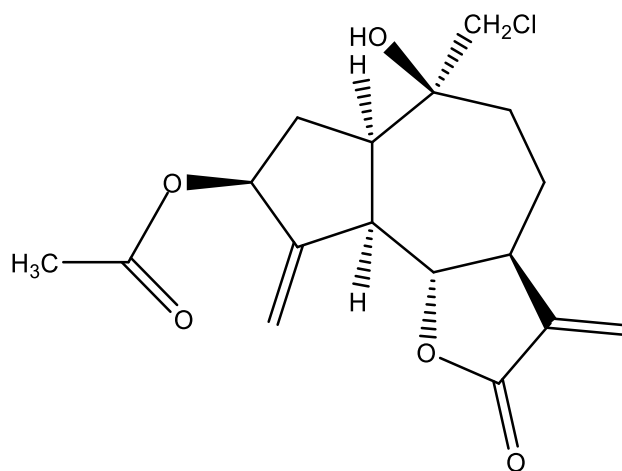


59- Desacylcynaropicrine ; $R_1 = R_2 = H$

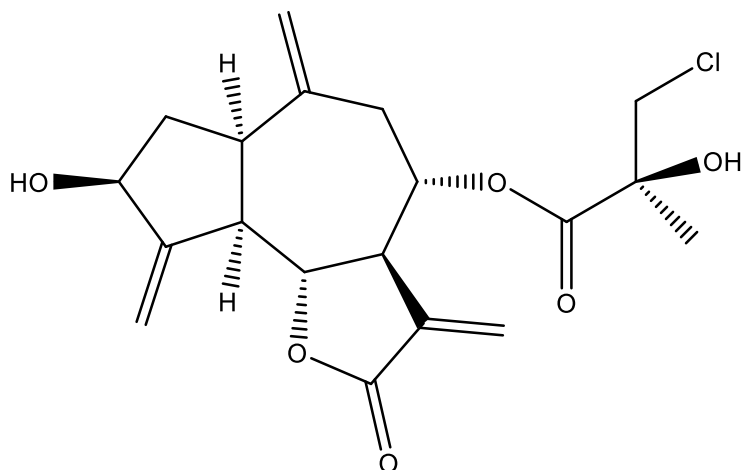
60- Kandavanolide ; $R_1 = H, R_2 = COCH_3$



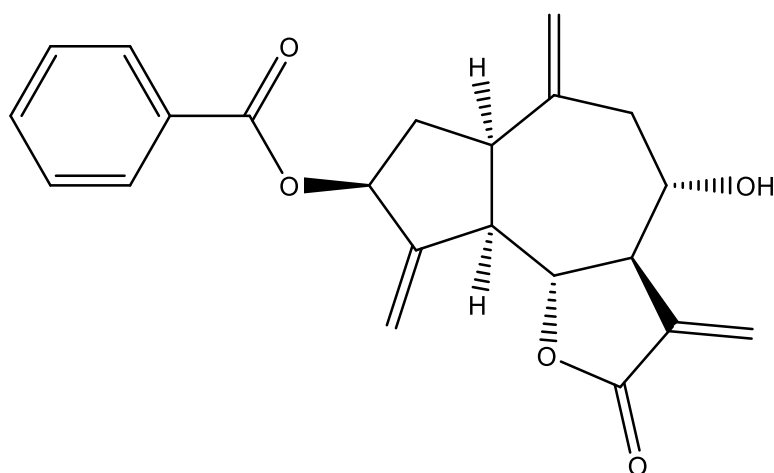
61- salograviolide B



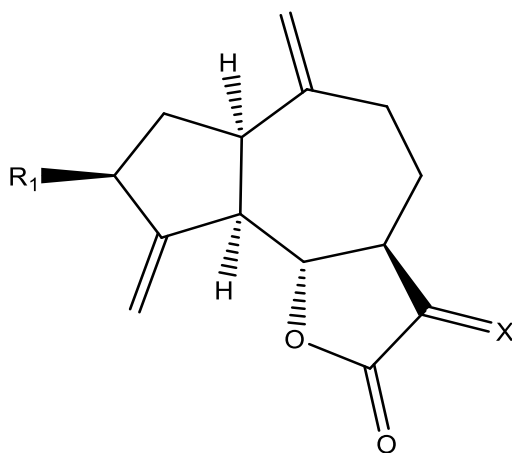
62-14-chloro-10 β -hydroxy-10(14)-dihydrozaluzanin D



63- Linichlorin B



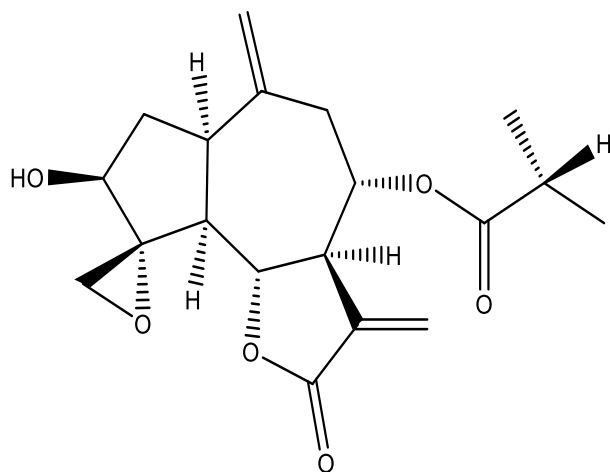
64- 8 α -hydroxy-3 β -(benzoyloxy)-1 α H,5 α H,6 β H,7 α H-guai-4(15),10(14),11(13)-trien-6,12-olide



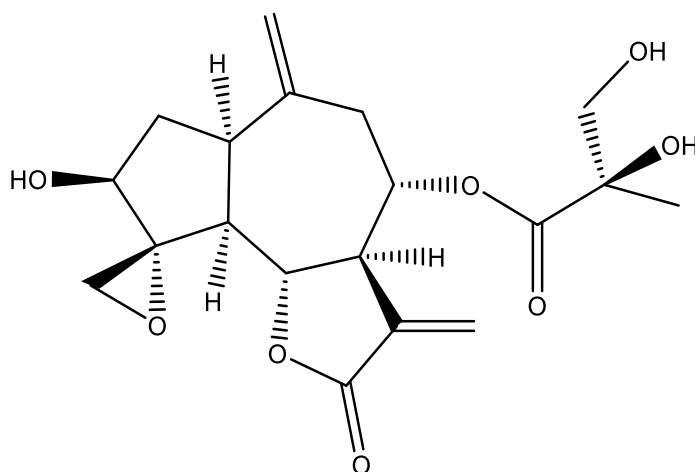
65- Solstitialin A; R₁=OH, X= α -OH, β -CH₂OH

66- 3-Acetylsolstitialin A; R₁=OAc, X= α -OH, β -OH

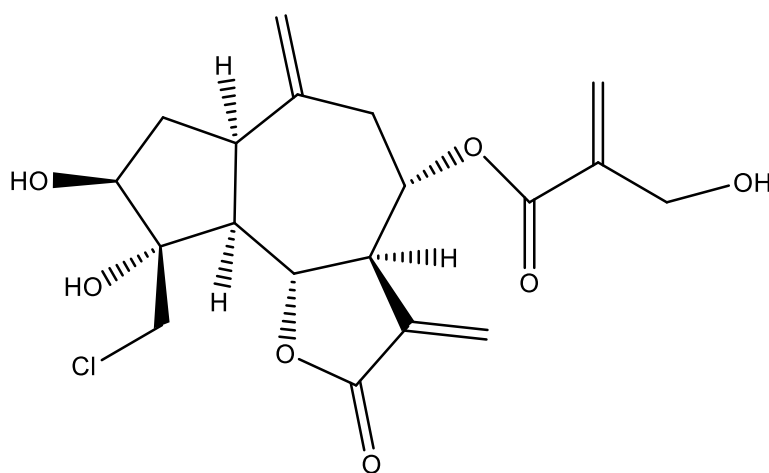
67- 13-Acetylsolstitialin A; R₁=OH, X= α -OH, β -CH₂OCOCH₃



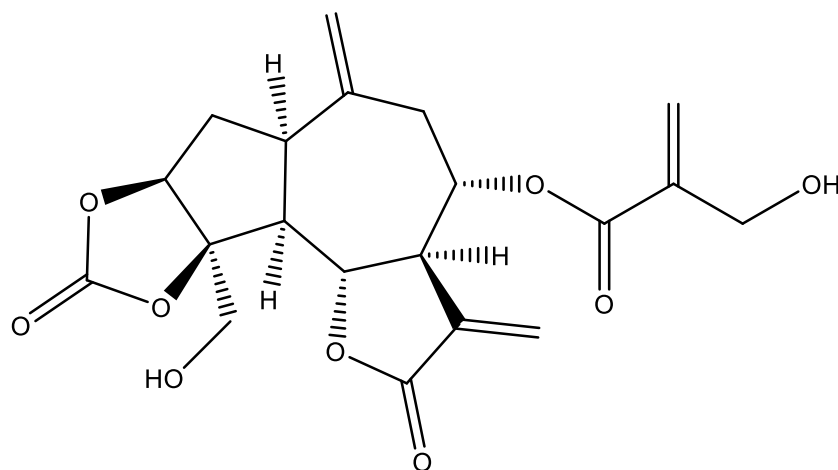
68- 17,18-Desoxyrepin



69- Babyline A



70- Chlorojanerin



71- Hololeucin

I.3.1.5 : Les héliangolides du genre *Centaurea*

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

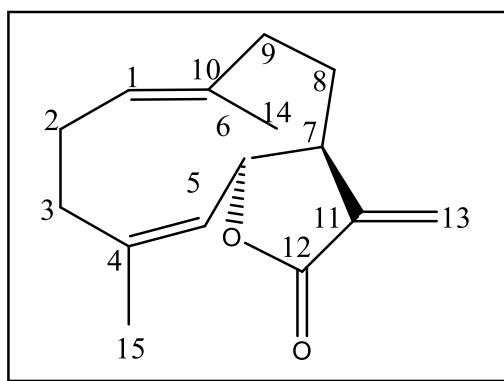


Figure I.5 : Squelette de base des lactones sesquiterpéniques de type héliangolide

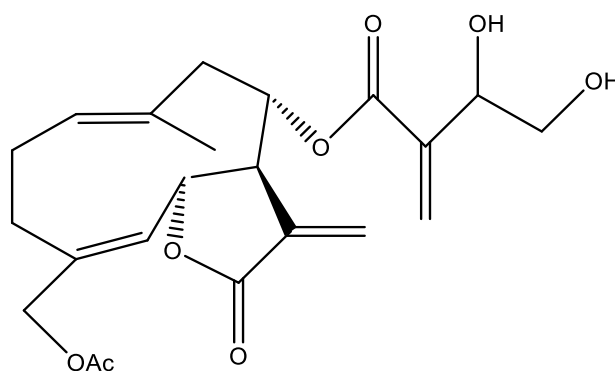
Les structures isolées de ce genre sont toutes fermées en C-6, présentent une stéréochimie β H-6, α H-7, β H-8, le substituant CH_2OAc en C-4 et une double liaison exocyclique en C-11. La double liaison C-4 et C-5 est permanente dans toutes les structures, par contre celle entre C-1 et C-10 peut être transformée en 1β , 10α -époxyde ou substituées par un β -OH ou un β -OH en C-1 avec une double liaison exocyclique en C-10. Toutes ces structures sont substituées en C-8. Ce substituant est souvent soit un hydroxyle, soit un (1',2'-dihydroxyéthyl) acrylate, soit un (1'-acétoxy-2'-hydroxyéthyl) acrylate. Quelques molécules

ayant le squelette héliangolide isolées d'espèces du genre *Centaurea* sont reportées dans le tableau I.5.

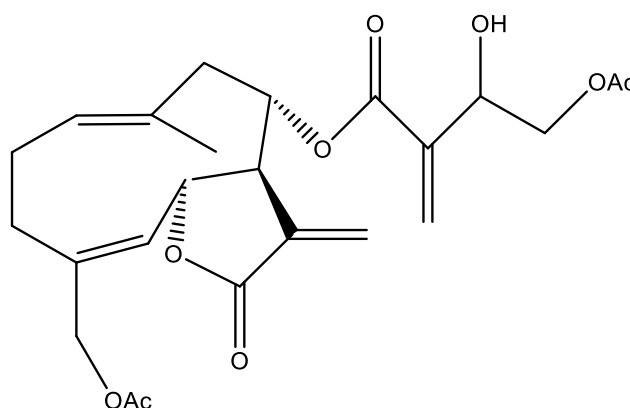
Tableau I.5 : Quelques structures de lactones sesquiterpéniques de du type héliangolide isolées du genre *Centaurea*

Espèces	Structures	Références
<i>Centaurea tougourensis</i> Boiss ;& Reut	72 , 73	[22]
<i>Centaurea tweediei</i>	74	[36]

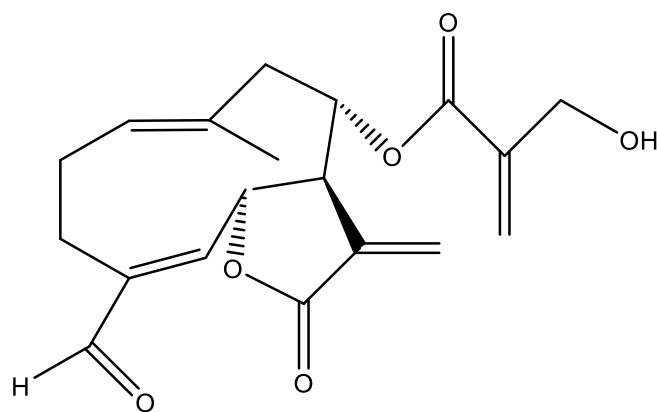
Les structures des différents héliangolide isolés des espèces du genre *Centaurea* cités dans le tableau I.5 sont présentées dans les figures suivantes:



72- (3'R)-15-acétoxy-8 α -O-(3,4-dihydroxy-2-méthylène-butanoloxy)-6 β H,7 α H-gérmacra-1E,4Z,11(13)-trien-6,12-olide

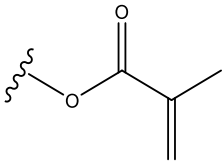
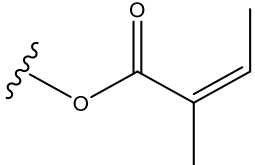
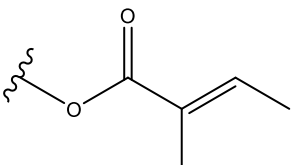
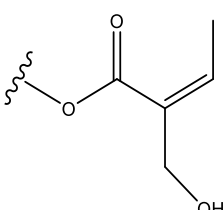
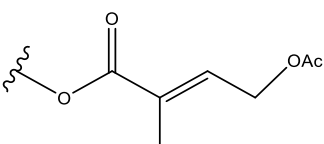
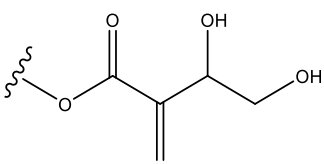
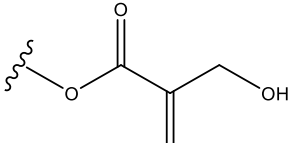
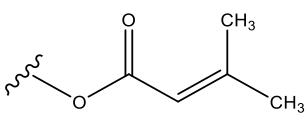


73- (3'R)-15- acétoxy -8 α -O-(4- acétoxy -3-hydroxy -2- méthylènebutanolxy- 6 β H,7 α H -gérmacra -1E,4Z,11(13)- trien -6,12- olide



74- (6S*,7R*,8S*)-8-(4'-Hydroxy méthacryloxy)-15-oxohelianga-1(10),4,11(13)-trien 6,12-olide

Tableau I.6 : Groupes d'esters existant dans les lactones sesquiterpéniques du genre *Centaurea*

Structure de la chaîne	Nomenclature
	Méthacrylate = (Mac)
	Angélate= (Ang)
	Tiglate (Tig)
	5'-hydroxyangélate= (5'-OH Ang)
	4'-acetoxytiglate= (4'-OAc) Tig
	1',2'-dihydroxyéthylacrylate= (1',2'-OH-Et) Acr ou 3',4'-dihydroxy-2' méthylènebutanoate
	(4'-OH Mac) ou 3'-hydroxy-2-méthylène- propanoate
	senecioate

I.3.1.6 : Intérêt thérapeutique des sesquiterpènes lactones

Les lactones sesquiterpeniques sont caractérisées par la présence d'une fonction γ -lactone. Dans plusieurs cas, à côté du groupement γ -lactone, on retrouve généralement une double liaison exocyclique α, β insaturée. Ces caractéristiques particulières rendent ces molécules de plus en plus actives [57,58].

Les lactones sesquiterpeniques, appelées aussi substances ou principes Amères, sont très utilisées dans les domaines biologiques et pharmacologiques. Des études effectuées dans ce domaine ont montré que certaines lactones sesquiterpeniques ont une activité antibactérienne [59], d'autres lactones ont montré diverses activités biologiques telles qu'anti-inflammatoire [60], antioxydante [61], antifongique [62] et cytotoxique [63].

Parmi les lactones sesquiterpéniques isolées des espèces du genre *Centaurea*, on peut citer les travaux reportés sur les neuf lactones sesquiterpéniques : Cnicine, onopordopicrine, tulipaline B, monoacetylcnicine, salonitenolide, stenofilloite et trois élemanolides, isolés de *C. malacitana*, *C. melitensis*, *C. aspera* subsp. *aspera*, *C. aspera* subsp. *Scorpiurifolia* et *C. aspera* subsp. *Stenophylla* testés sur les cellules cancéreuses P-388, A-549 et HT-29 et ont donné une activité cytotoxique importante [64].

I.3.2 : Les flavonoïdes isolés du genre *Centaurea*

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. Ils sont largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement dans l'alimentation. Ils sont retrouvés également dans les plantes médicinales [65].

Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de quinze atomes de carbones constitués de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par trois carbones formant une chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal [65,66] (Figure I.6).

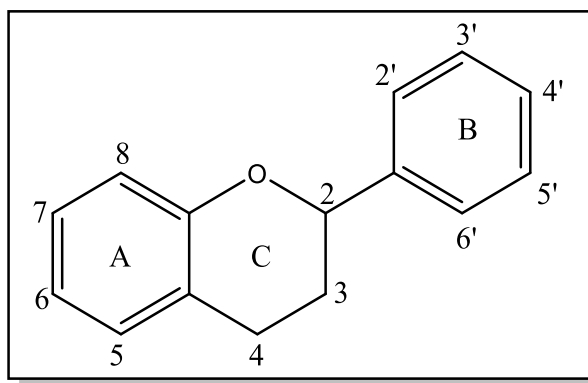


Figure I.6 : Squelette de base des flavonoïdes

Ils sont divisés en plusieurs classes qui incluent les flavones, flavonols, flavanones, flavanols, anthocyanidines et isoflavones [69,70].

Les espèces du genre *Centaurea* sont riches en flavonoïdes, elles ont permis l'isolement d'un bon nombre d'entre eux. Parmi les flavones les plus répandues dans ce genre l'apigénine, l'hispiduline et la jaceosidine (Figure I.7).

Concernant les flavonols, c'est la quercétine qui est la plus accumulée par ce genre suivie du kaempférol et de la centaureidine (Figure I.8).

Notant que les flavonoïdes *O*-glycosylés sont les plus rencontrés dans ces espèces à l'inverse, les *C*-glycosylés sont moins abondants dans ce genre. Les flavonoïdes glucosylés sont très majoritaires par rapport aux autres.

Quelques flavonoïdes isolés de ce genre sont regroupés dans le tableau I.7.

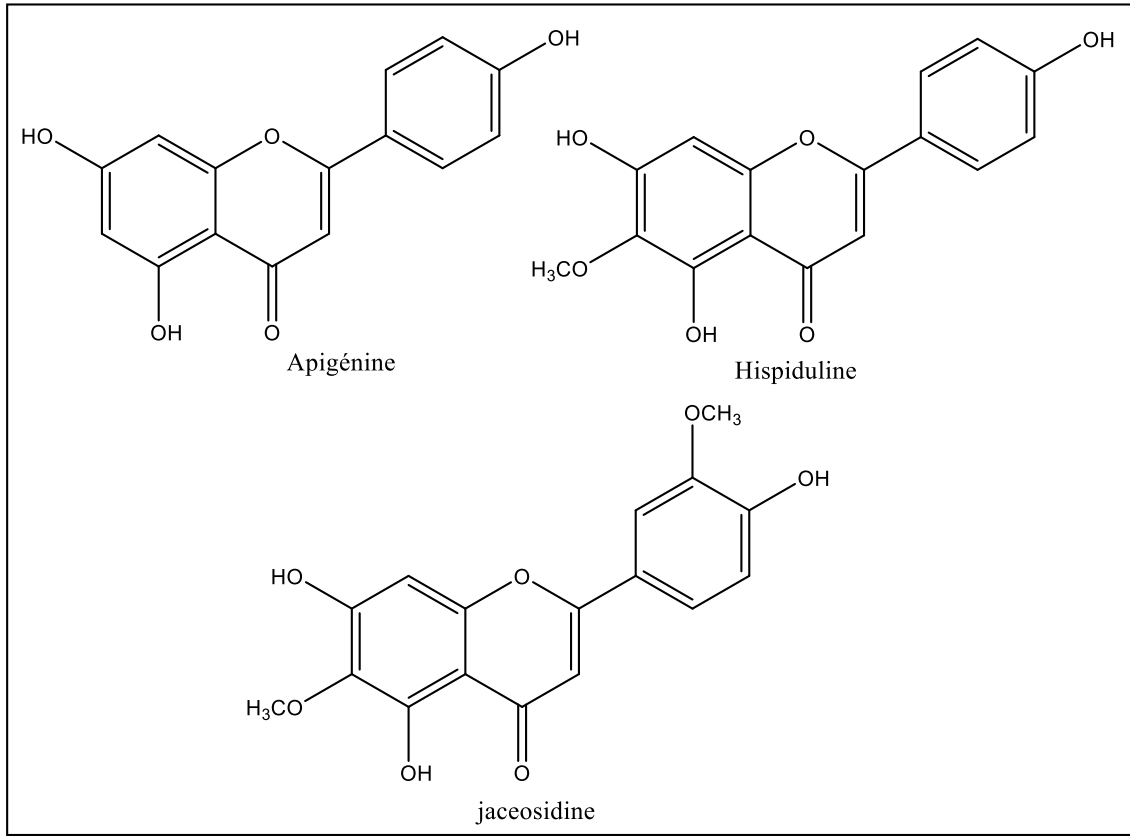


Figure I.7: Quelques flavones les plus répandues dans le genre *Centaurea*

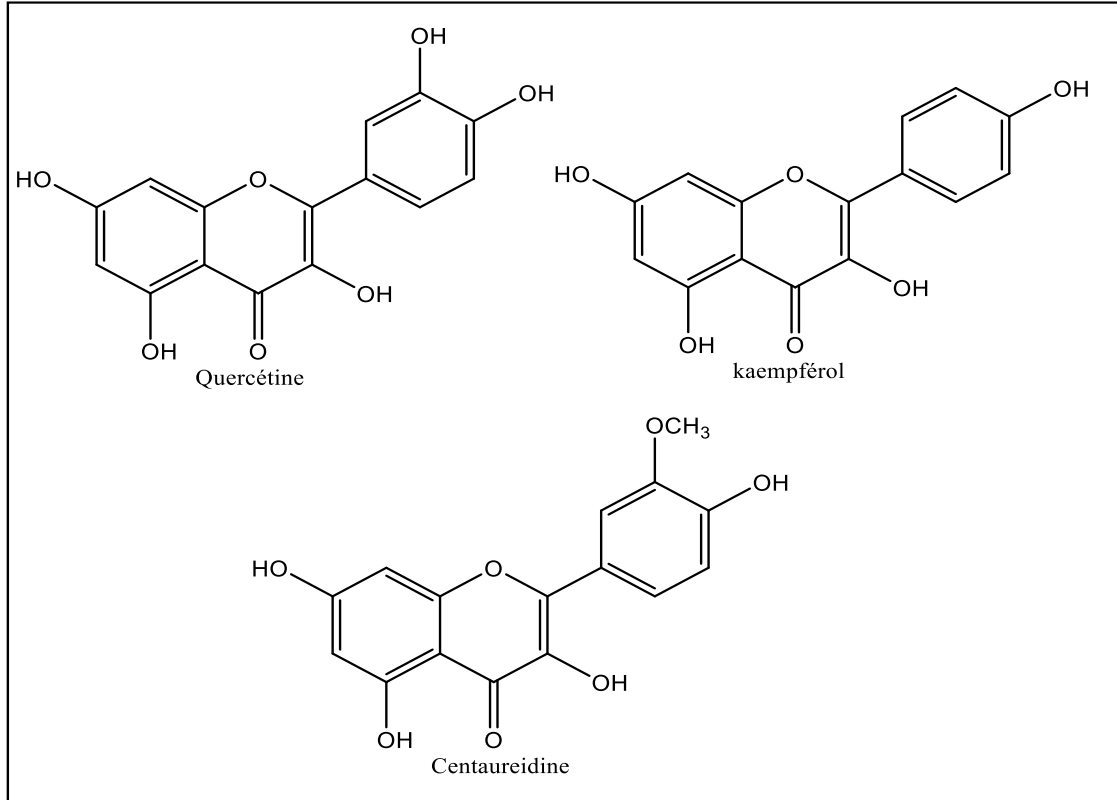
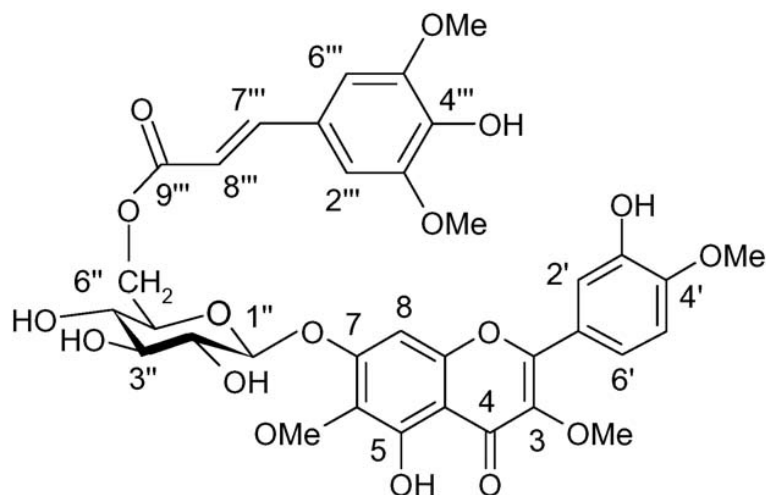


Figure I.8: Quelques flavonols les plus répandues dans le genre *Centaurea*.

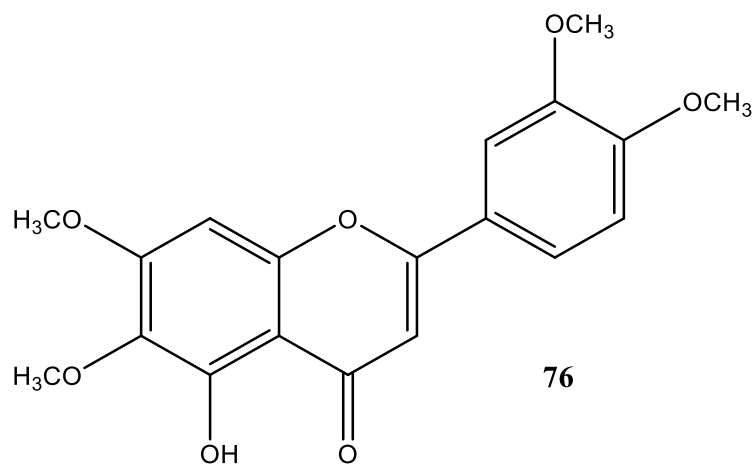
Tableau I.7: Les flavonoïdes isolés du genre *Centaurea*

Les flavonoïdes isolés	Les structures	<i>Les centaureées</i>	Réf
Algerianine	75	<i>C. africana</i>	[69]
Népétine 3',4',7-trimethylether	76	<i>C. brugurana</i> <i>C. montana</i> <i>C. napifolia</i> <i>C. nicaensis</i> <i>C. kilae</i> <i>C. chilensis</i>	[83] [77] [70] [79] [74] [88,89]
5,7,4'-trihydroxy-3,6-dimethoxyflavone 7-O- β -glucoside	77	<i>C. microcarpa</i>	[87]
Taxifoline	78	<i>C. floccosa</i> <i>C. glomerata</i>	[81] [72]
Hispiduline 7-sulphate	80	<i>C. bracteata</i>	[80]
Naringénine	81	<i>C. alexandria</i> <i>C. arguta</i> <i>C. behen</i> <i>C. calcitrapa</i> <i>C. glometaria</i> <i>C. pallescens</i>	[75] [84] [74] [72,75] [72,75] [72]
Tricétine 7,3',5'-trimethylether	82	<i>C. incana</i>	[90]
Dihydroquercétine	83	<i>C. alexandrina</i> <i>C. calcitrapa</i>	[75] [72]
Fisetine	84	<i>C. alexandrina</i> <i>C. calcitrapa</i> <i>C. melitensis</i> <i>C. pallescens</i>	[75] [72] [82] [72]
Myrécétine 3,5'-dimethylether 7-glucoside	85	<i>C. melitensis</i>	[78]
Myrécétine 3-methylether 7-glucoside	86	<i>C. melitensis</i>	[78]
Eriodictyol	87	<i>C. glomerata</i>	[82]
Pinocembrine 7-di-O-glucoside	88	<i>C. ragusina</i>	[91]
Myricétine 3-methylether 7-O-glucoside	89	<i>C. malitensis</i>	[78]
Scutéllarine-5-O- β -D-glucuronide	90	<i>C. macrocephala</i>	[86]
Salvigénine	79	<i>C. affinis</i> <i>C. cornopifolia</i> <i>C. cuneifolia</i> <i>C. solsititalis</i> <i>C. urivillei</i> <i>C. pulluta</i>	[73] [85] [71] [92] [76] [21]
Tenaxine II	91	<i>C. omphalotricha</i>	[67]

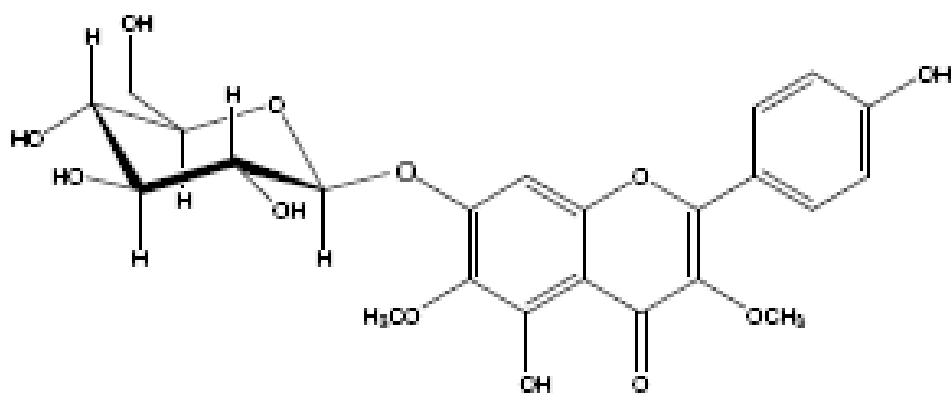
Les structures des différents flavonoïdes isolés des espèces du genre *Centaurea* cites dans le tableau I.7 sont présentées dans les figures suivantes :



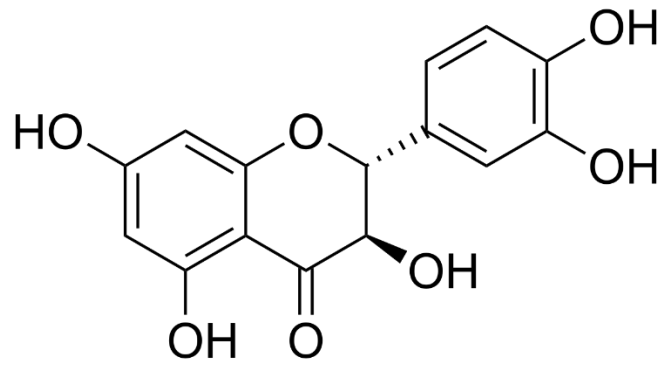
75



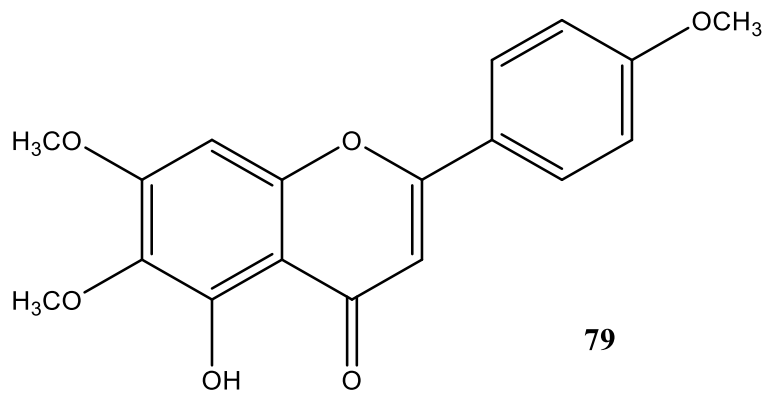
76



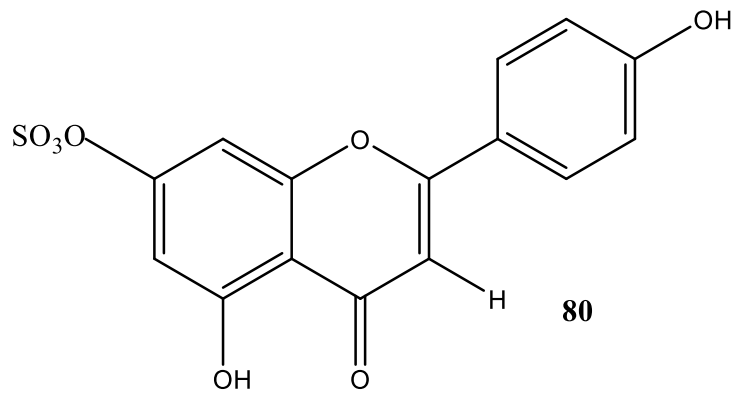
77



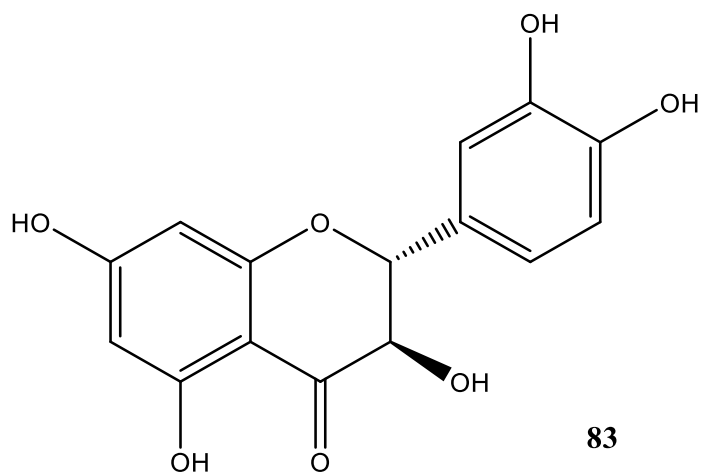
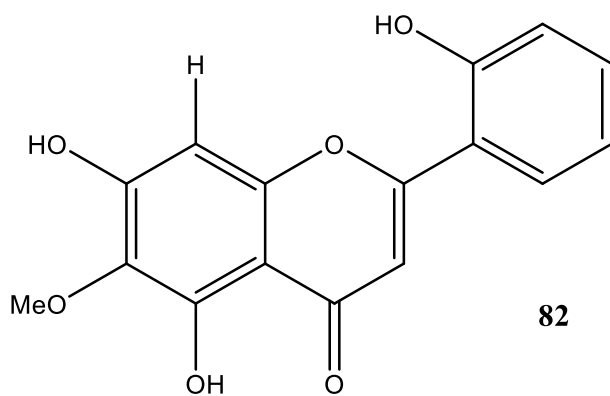
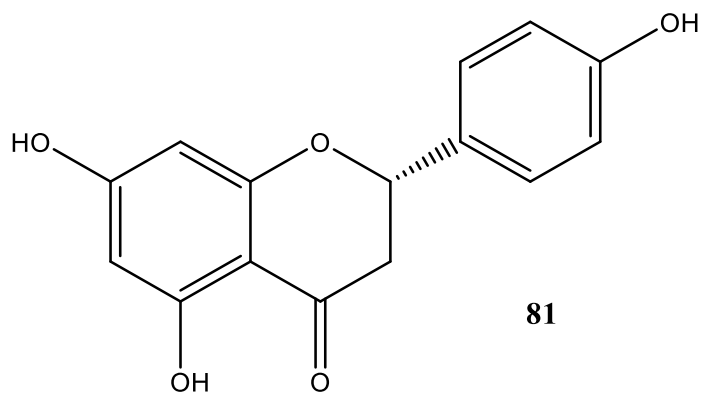
78

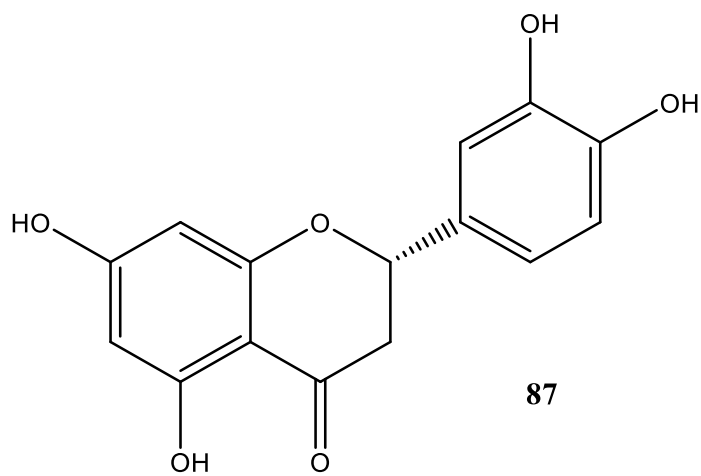
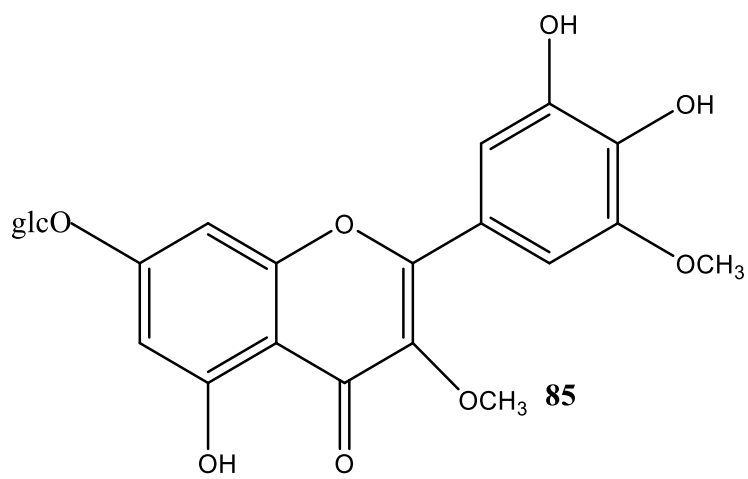
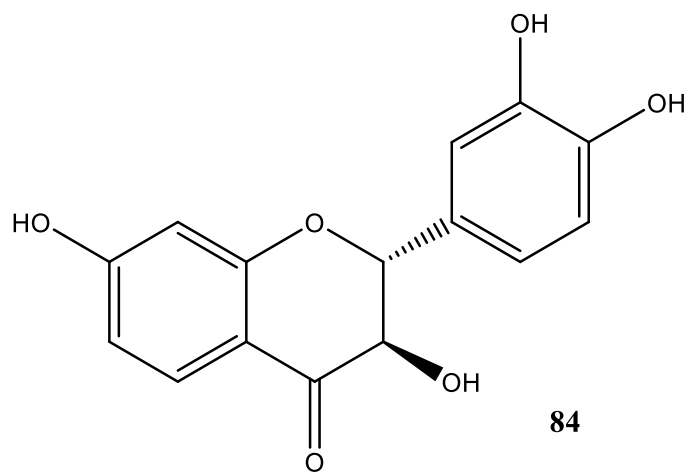


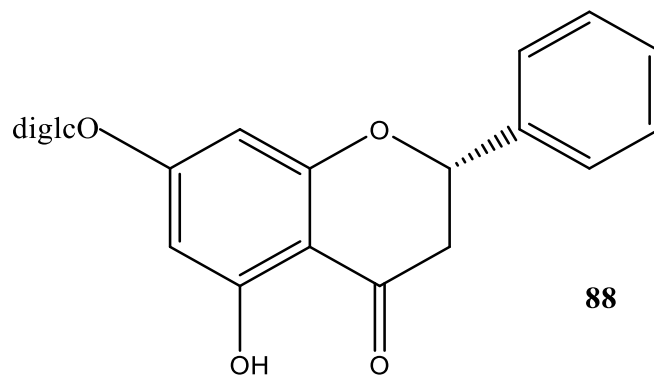
79



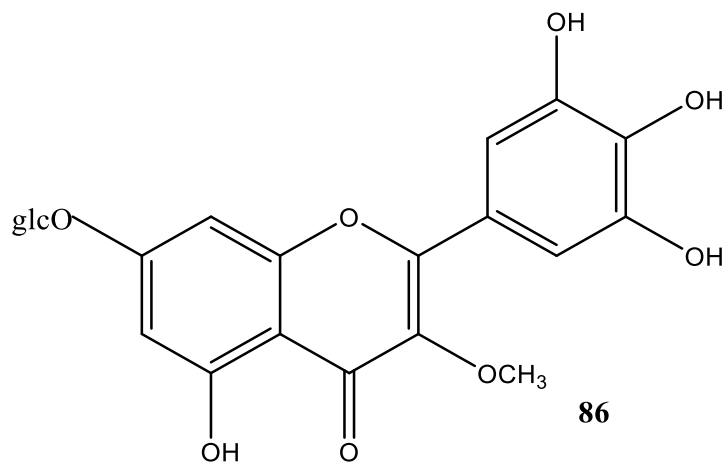
80



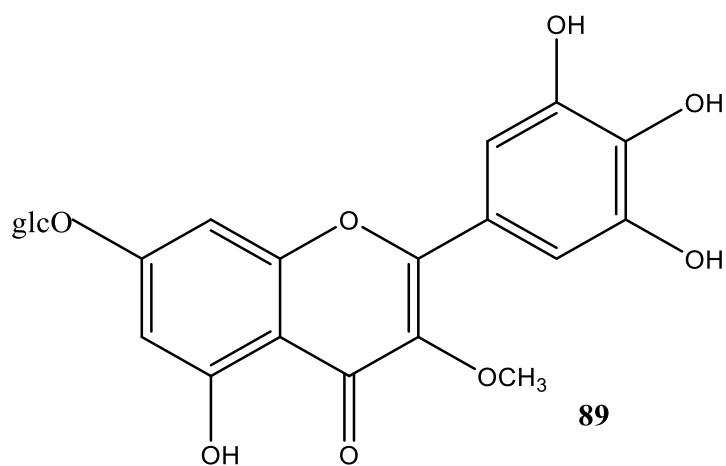




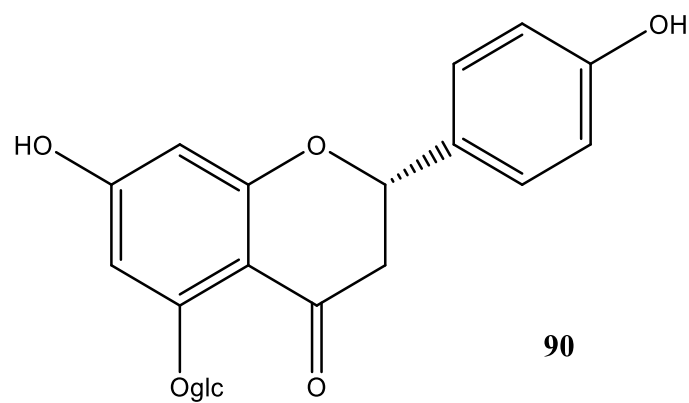
88



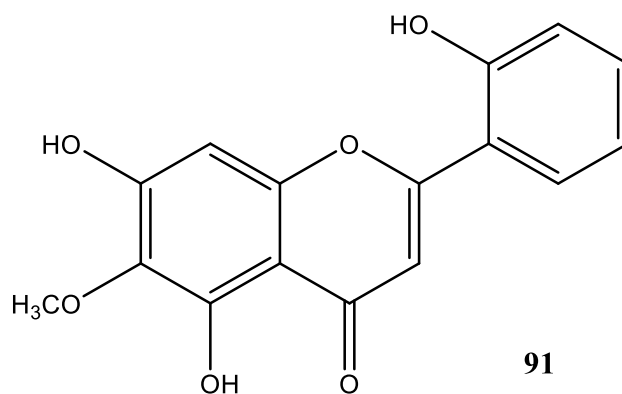
86



89



90



I.3.2.1. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes dont la principale raison de leur biosynthèse est de lutter contre les agressions de leur environnement extérieur.

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antioxydante [93-96], antiulcéreux, antiallergique, anti-inflammatoire [93, 97, 98], anti-tumorale, antivirale [94], antispasmodique, cytotoxique, anticarcinogène [99] et antidépressive [100].

Parmi les flavonoïdes isolés des espèces du genre *Centaurea*, on peut citer l'Algérianine isolé de *Centaurea africana* qui a donné une activité cytotoxique sur les cellules humaines myéloïde de leucémie (HL-60) (IC₅₀=26,1 μM) [101].

La Centaureidine isolé de *C. jacea L* [102], et la Montanoside isolé de *C. Montana* [103] ont montré une activité antiproliférative et cytotoxique.

I.3.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes

L'origine des flavonoïdes est inscrite en filigrane dans leur structure. Elle apparaît bien dans celle des chalcones : condensation d'un tri-acétate (cycle A) et d'un acide cinnamique (cycle B), la cyclisation engendrant le cycle pyranique central. Cette hypothèse a été confirmée par l'utilisation de précurseurs radio marqués et par des études au niveau enzymatique, aussi bien sur des cultures de tissus que sur la plante entière (les pétales en particulier). L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone-synthase, de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester de la co-enzyme A et d'un acide hydroxycinnamique. En règle générale, le 4-coumaroyl-coenzyme A (l'incorporation de caféoyl-CoA semble limitée à quelques espèces, l'hydroxylation supplémentaire du noyau B

se faisant tardivement). Le produit de la réaction est une chalcone, la 4,2',4', 6'-tétrahydroxychalcone ou, si la condensation a lieu en présence d'une polyacétate-réductase à NADPH, une 6'-désoxychalcone, la 4,2',4'-trihydroxychalcone. Dans les conditions physiologiques normales, la chalcone tend à s'isomériser spontanément en flavanone racémique. En fait, la cyclisation de la chalcone est catalysée par une enzyme, la chalcone isomérase, qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à la seule (2S)-flavanone, la naringénine. Cette dernière divergera vers plusieurs voies conduisant aux différentes classes flavoniques : les isoflavones, les flavones et les dihydroflavonols. On notera en particulier le rôle important des dihydroflavonols à partir des quels deux grandes classes sont synthétisées : les anthocyanes et les flavonols. Le schéma suivant illustre la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes [59].

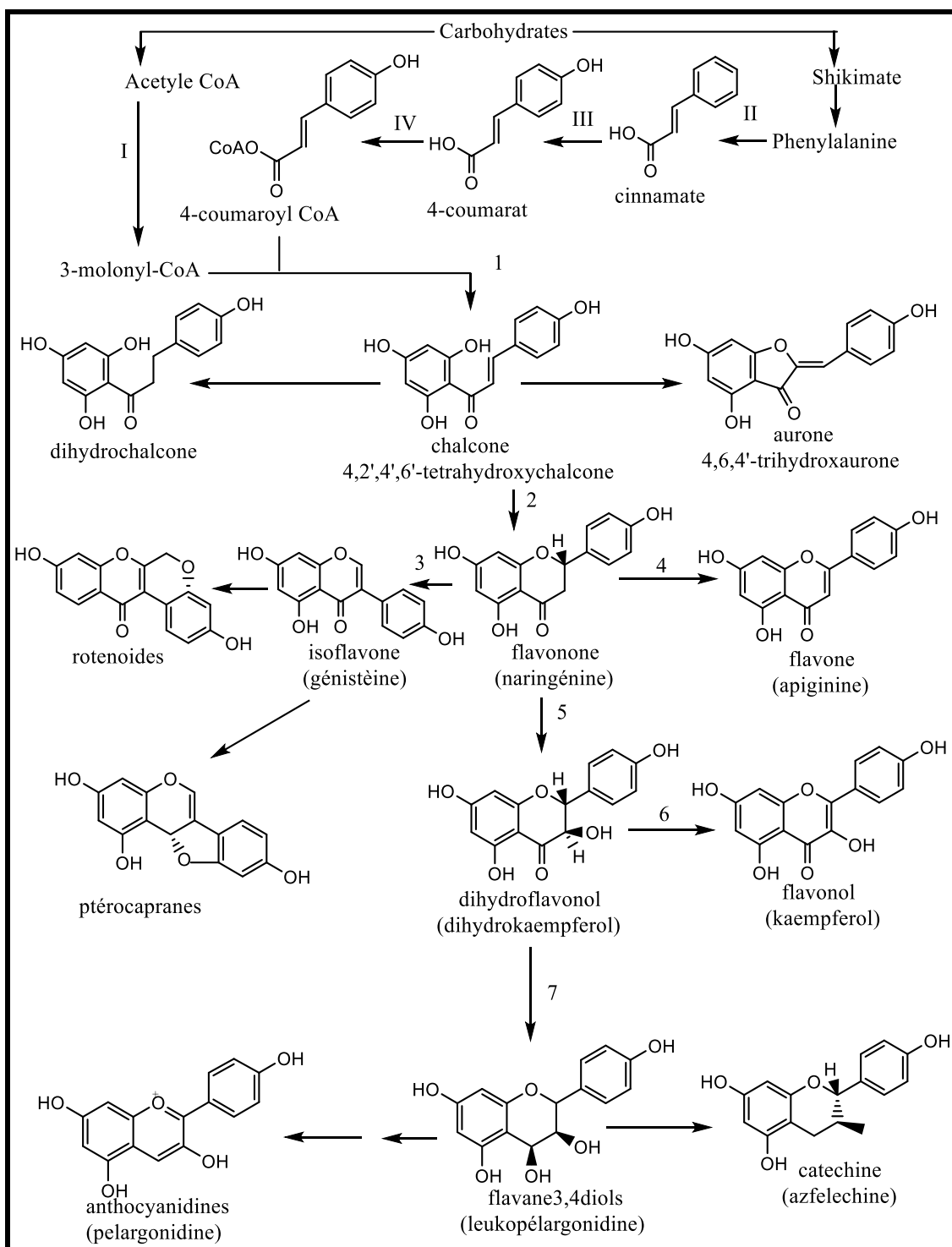


Figure I.9: Biosynthèse des flavonoïdes

- I : Acetyl CoA1 : Chalcone synthase
- II : Phenylalanine ammonia2 : polyketide réductase
- III : Cinnamate 4-hydroxylase3 : Chalcone isomérase
- IV : 4-Coumrate : CoA ligase4 : 2-Hydroxyisoflavonesynthase
- 5 : 2-Hydroxyisoflavondehydratase
- 6 : Flavone synthase
- 7 : Flavanone 3-hydroxylase

I.3.3. Lignanes isolés du genre *Centaurea*

Les lignanes sont issus de la condensation de deux unités phénylpropanoïques. Ces composés sont très répandus dans le règne végétal [104] et possèdent de nombreuses activités biologiques, qui leur confèrent une importance non négligeable en phytothérapie. Ils ont montré des propriétés : antibactérienne, antifongique, antioxydante, antitumorale, antivirale, antihépatotoxique, anti-PAF, insecticides et oestrogéniques [105-107].

Six groupes structuraux fondamentaux de lignanes (Figure I.10) ont été caractérisés chez différentes familles du règne végétal. Les plus simples sont les dibenzylbutanes (liaison 8-8' (92)) qui, par cyclisation, peuvent engendrer trois types de lignanes monofuraniques (cyclisation 9-O-9', 7-O-9', ou 7-O-7' (93-95) et des butyrolactones (96), la cyclisation peut impliquer un carbone aromatique (aryl-naphtalène) (97-98) ou deux dibenzocyclooctanes (99). La double cyclisation 7-O-7' et 9-O-9' conduit aux lignanes furanofuraniques (100).

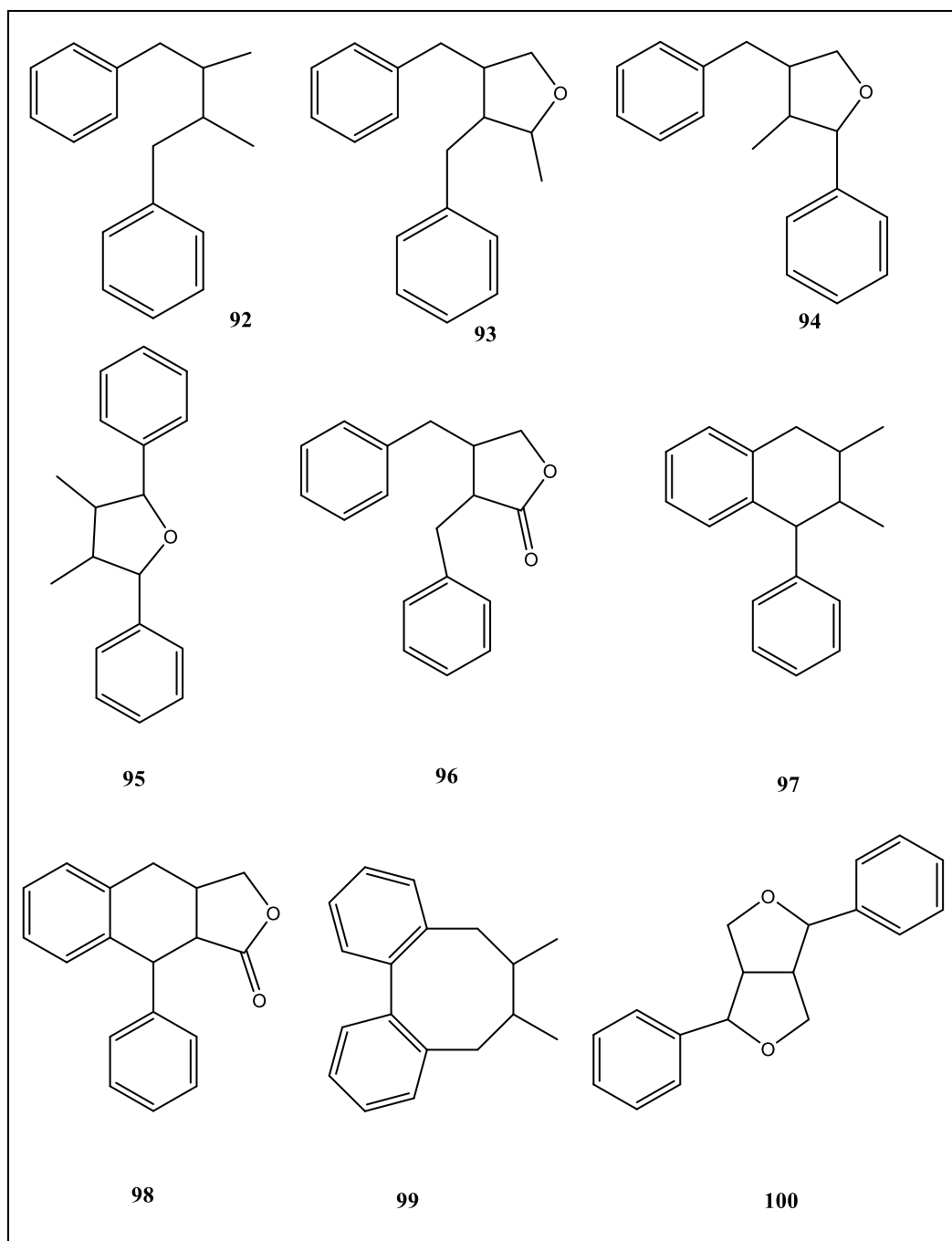


Figure I.10 : Principaux types de lignanes

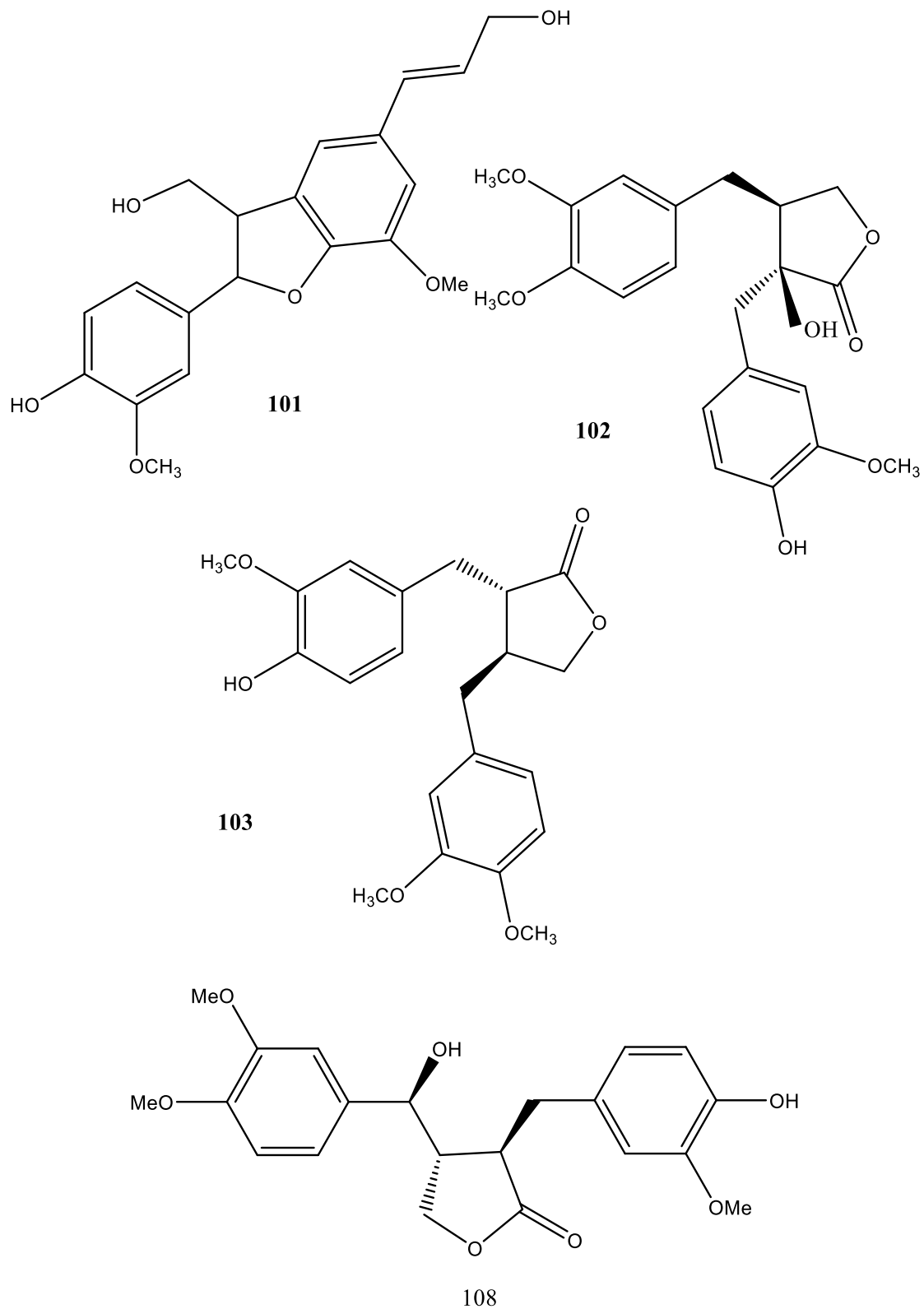
Les études phytochimiques effectuées sur les espèces du genre *Centaurea* ont montré la présence de ces substances dans de nombreuses espèces.

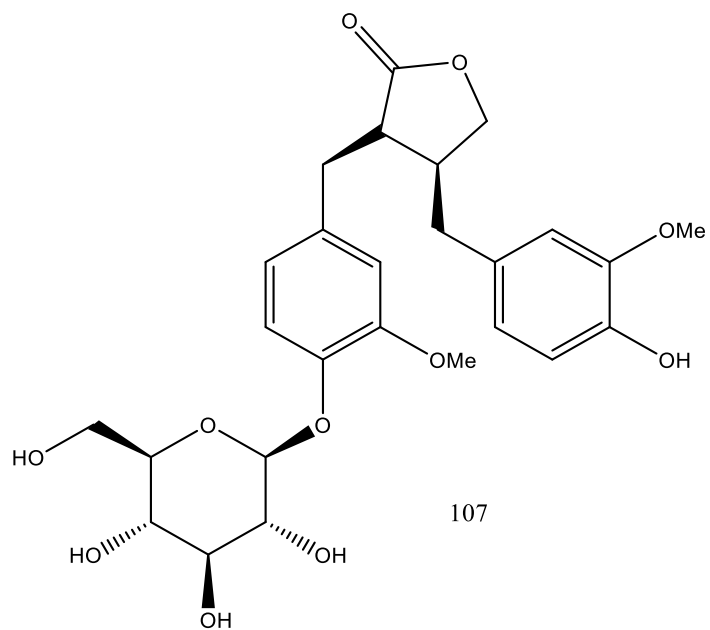
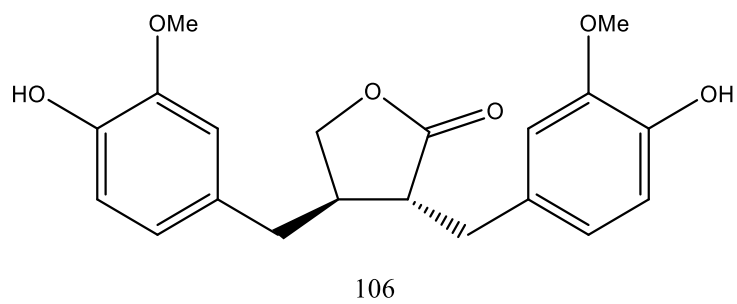
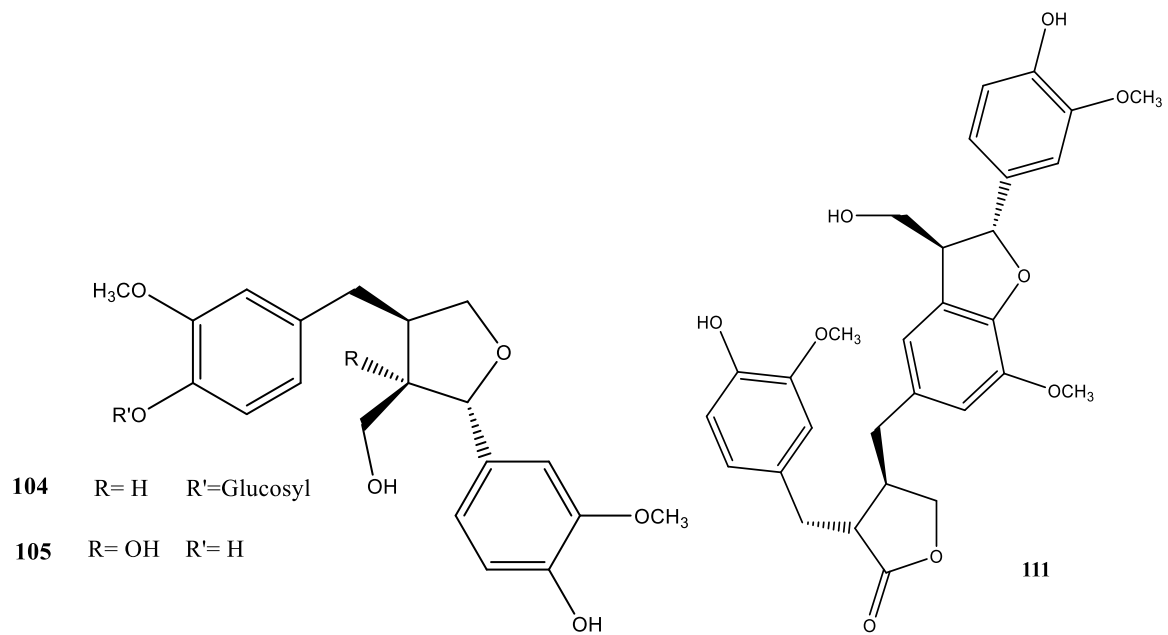
Quelques lignanes isolés de ce genre sont regroupés dans le tableau I.8.

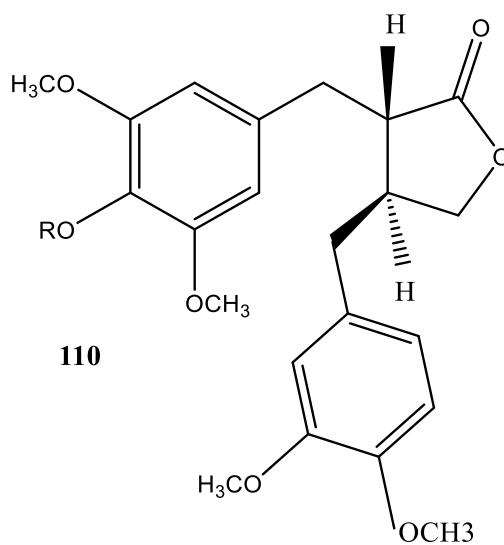
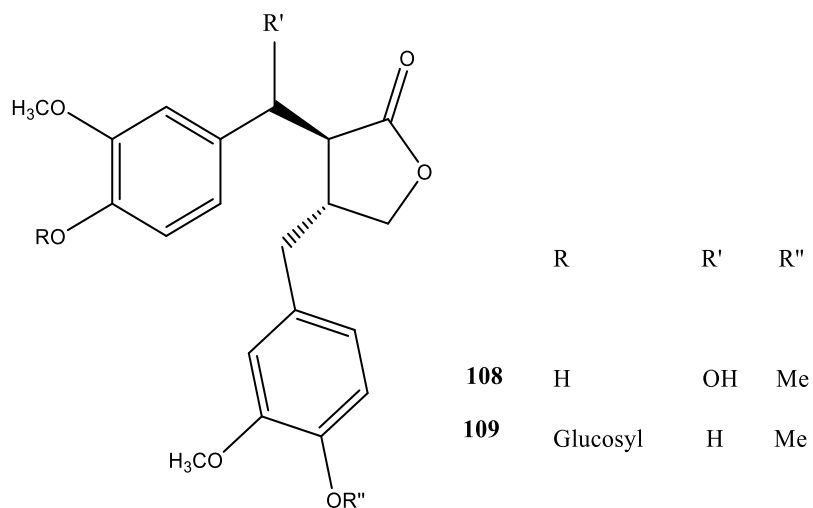
Le tableau I.8 : Représente quelques lignanes isolés des espèces du genre *Centaurea*.

Composé	Structure	Plante	Réf
Matairesinol	106	<i>C. aspera</i>	[17]
dehydrodiconiferyl alcohol	101	<i>C. hierapolitana</i>	[20]
Trachelogenin	102	<i>C. moesiaca</i>	[112]
Matairesinol	106	<i>C. affinis</i>	[73],[113]
arctigenin	103		
lariciresinol 4'-O-β-Dglucopyranoside	104	<i>C. cyanus</i>	[107]
Berchemol	105		
Arctigenin	103	<i>C. scabiosa</i>	[108]
matairesinol	106		
matairesinoside	107		
7'(S)-hydroxyarctigenin	108		
Matairesinoside	107	<i>C. americana</i>	[109], [110] [116] [103]
arctiin	109		
Americanin	110		
arctigenin	103		
matairesinol	106		
lappaol A	111		
arctiin	109	<i>C. schischkinii</i>	[120]
matairesinoside	107		
matairesinol	106		
arctigenin	103		
arctiin	109	<i>C. nigra</i>	[111]
matairesinoside	107		
Matairesinol	106		
arctigenin	103		
thujaplicatin méthyléther	112		

Les structures des différents lignanes isolés des espèces du genre *Centaurea* cités dans le tableau I.8 sont présentées dans les figures suivantes :

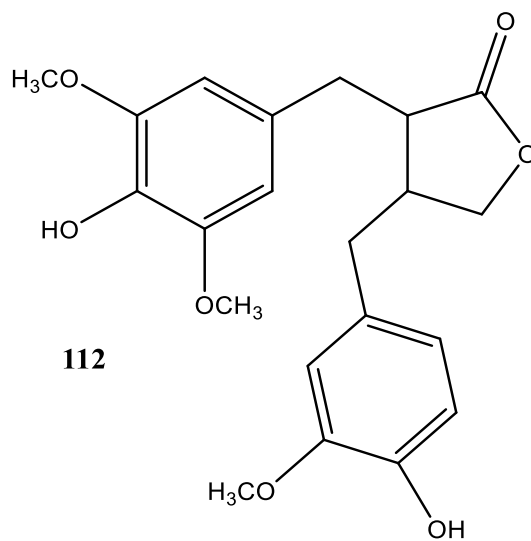






110

R=β-D-(3-O-Caffeoyl)-Glucopyranosyl



112

I.3.3.1. Intérêt thérapeutique des lignanes

Des études effectuées dans les domaines biologique et pharmacologique ont montré que nombreuses molécules de ce groupe ont des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antioxydantes [114,115], antivirales [116-118], et anti-tumorales [118, 119, 114].

L'arctiine isolé de plusieurs *Centaurees* tels que *C. alexandria*, *C. americana* [116], *C. isaurica* [119], *C. melitensis*, *C. albonitens* [122], *C. sphaerocephala* [121] et *C. pamphylica* a montré une activité antioxydante très puissante [120].

I.3.3.2. Biosynthèse des lignanes

Les lignanes se trouvent dans les différentes parties des plantes : l'écorce, les racines, les fleurs et les graines. Biosynthétiquement, ils sont élaborés comme tous les dérivés des phénylpropanoïdes par la voie du shikimate *via* l'alcool coniférylique. La biosynthèse de ce dernier à partir de la phénylalanine n'est pas une voie simple et droite, mais une grille métabolique complexe (Figure II.11) [123, 124]. L'alcool coniférylique est également précurseur des lignines.

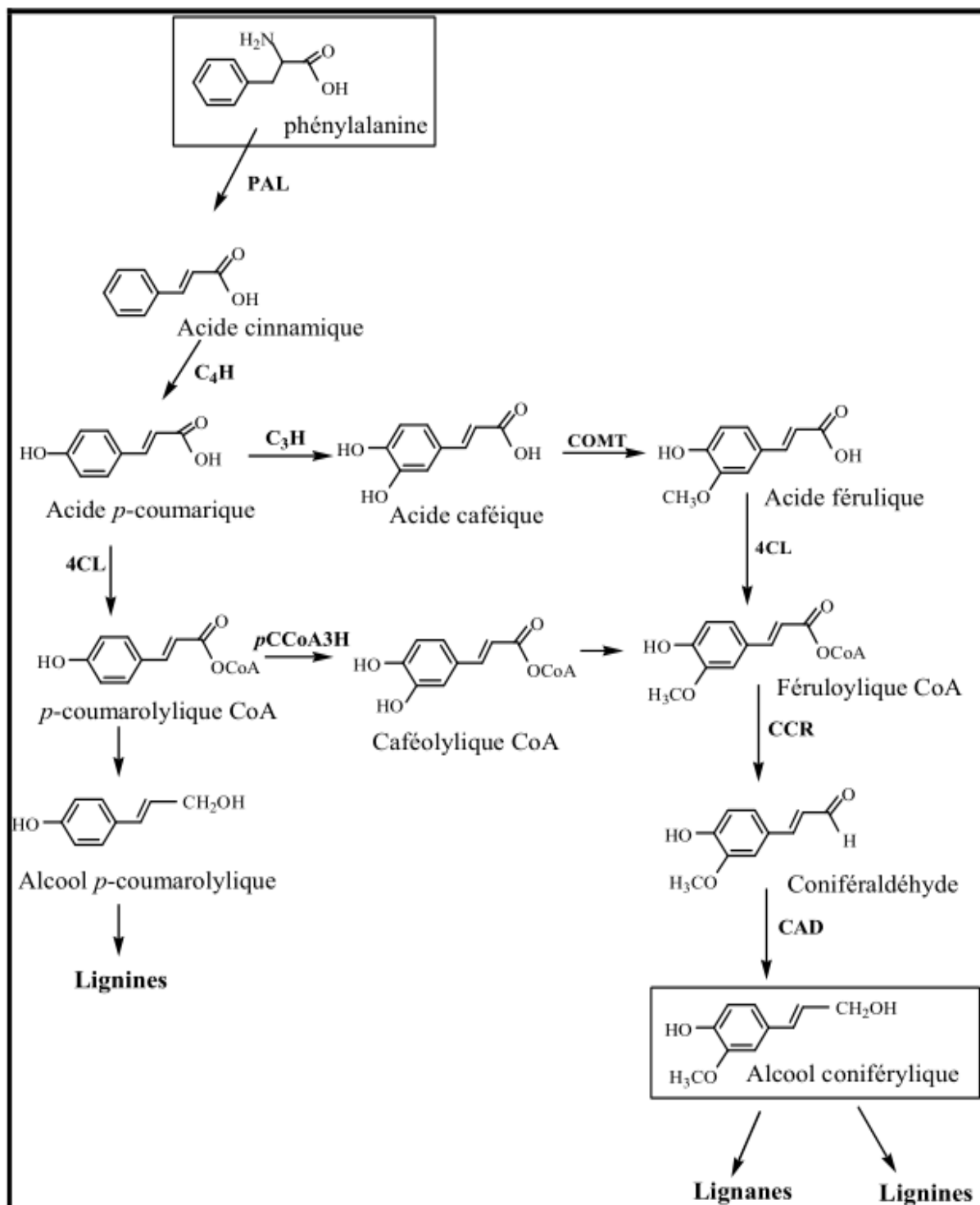


Figure I-11 : Biosynthèse des lignanes

PAL : phénylalanine ammonia lyase, **C₄H** : cinnamate 4-hydroxylase, **C₃H** : *p*-coumarate 3-hydroxylase, **COMT** : acide caféique *O*-méthyltransférase. **4CL** : 4-(hydroxyl) cinnamoyl CoA ligase, **pCCoA3H** : *p*-coumaroyl CoA 3-hydroxylase, **CCR** : cinnamoyl CoA réductase, **CAD** : cinnamoyl alcool déhydrogénase.

I.3.4 Les glycosides cyanogènes isolés du genre *Centaurea*

Les composés glycosides cyanogènes sont des métabolites secondaires des plantes, ils sont distribués au sein de plus de 2500 plantes appartenant à des familles différentes telles que la famille des Rosacées, des Euphorbiacées, des Linacées, des Fabacées, compositae et autres [8]. Ils dérivent de cinq acides aminés hydrophobes ; L-valine (val), L-isoleucine (ile), L-leucine (leu), L-phénylalanine (phe), L-tyrosine (tyr), les composés Cyclopentenoides proviennent vraisemblablement d'un acide aminé non protéique, l'acide L-2-(20-cyclopentenyl) glycine (cpg) [125].

Leur structure chimique de base, comme le montre la figure suivante (Figure I-12), est composée ; d'une partie osidique branchée sur le carbone central par une liaison éther et d'une partie non osidique : aglycone et d'un groupement cyanure $-C\equiv N$.

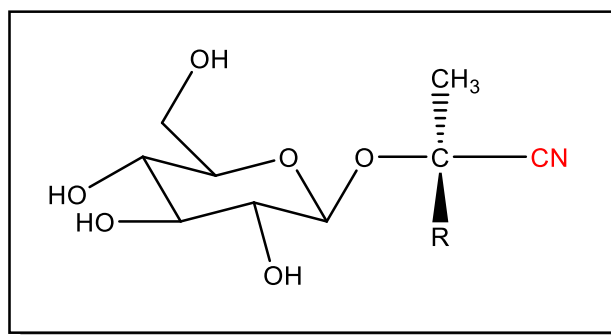


Figure I-12 : Structure chimique d'un glycoside cyanogène. [126]

La plupart des glycosides cyanogènes sont des composés glycosides monosaccharidiques, dans lesquels le fragment cyanhydrique est stabilisé par une liaison glycosidique à un résidu sucre simple, du glucose le plus souvent.

Pour les glycosides cyanogènes disaccharidiques par exemple : (R) –Amygdaline, (R)-Vicianine et linustatine ou trisaccharidiques par exemple : Xeranthine, deux ou trois sucres sont impliqués respectivement dans cette stabilisation.

Un même glycoside peut être élaboré par des espèces de plantes très éloignées phylogénétiquement. En revanche, une seule espèce peut synthétiser plusieurs différents glycosylés [127].

I.3.4.1 Classification des composés glycosides cyanogènes

Environ 75% de ces composés étudiés sont des dérivés α -hydroxynitrile glycosides. A côtés des α -hydroxynitrile glycosides, il existe des composés de structures β - et γ -hydroxynitrile glycosides qui sont structurellement liés aux α -hydroxynitrile glycosides mais ces derniers ne libèrent pas l'acide cyanhydrique après hydrolyse enzymatique.

En fonction de leurs acides aminés précurseurs, les glycosides cyanogènes peuvent être classés en glycosides cyanogènes aliphatiques, aromatiques ou de nature cyclopentoïde. [125]

Deux types de classifications sont proposés par les auteurs, selon l'acide aminé précurseur, ou en fonction du produit d'hydrolyse.

I.3.4.1.1 Classification selon l'acide aminé précurseur

Il s'agit de la classification la plus utilisée.

I.3.4.1.1.a : α -hydroxynitriles glycosides

Nous illustrons ci-dessous les glycosides cyanogènes, associés de leurs structures chimiques correspondantes.

I.3.4.1.1.a.1: Glycosides cyanogènes dérivés de phénylalanine

Exemple : Prunasine, Sambunigrine, Amygdaline, Vicianine, Lucumine... [128]

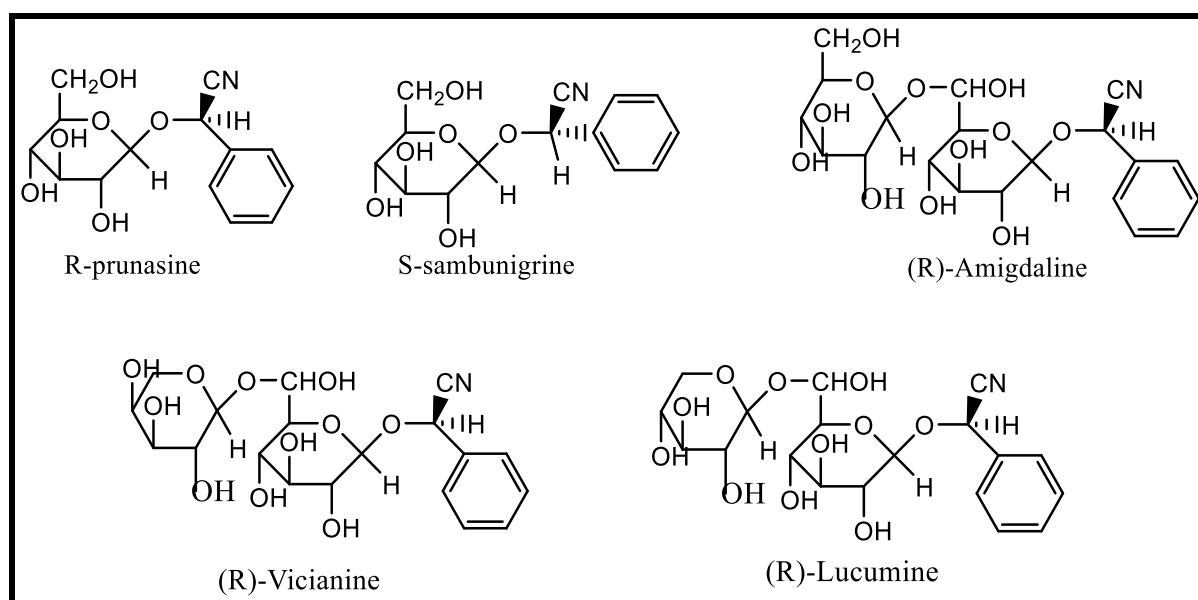


Figure I.13: Glycosides cyanogènes dérivés de phénylalanine

I.3.4.1.1.a.2 : Glycosides cyanogènes dérivés de tyrosine

Exemple : Taxiphylline, Dhurrine, *p*-glucosyloxymandélonitrile, Proteacine. [128]

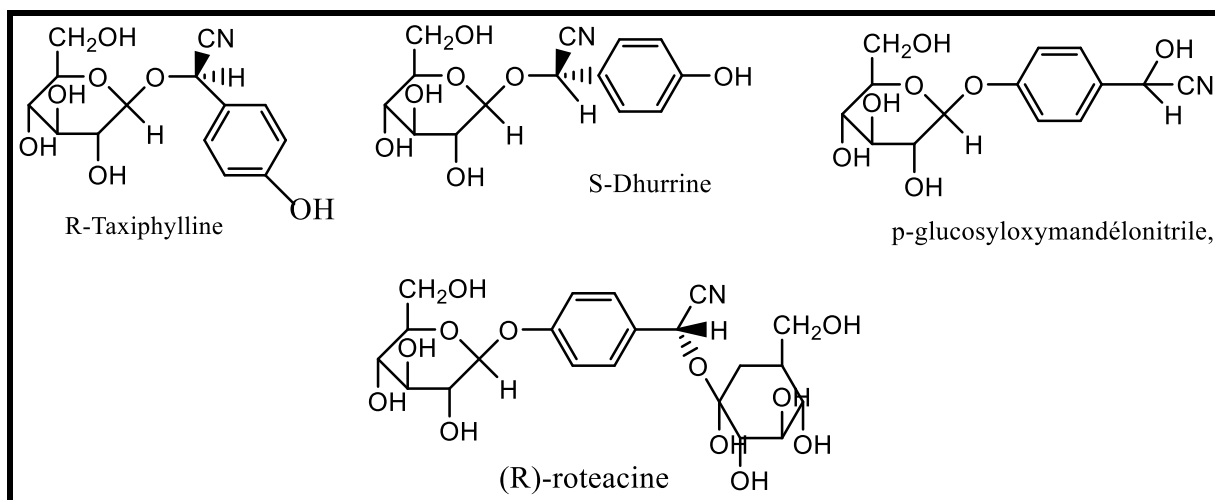


Figure I.14 : Glycosides cyanogènes dérivés de tyrosine

I.3.4.1.1.a.3: Glycosides cyanogènes dérivés de leucine, isoleucine et valine

Exemple : Linamarine, Lotaustraline, Acocipetaline, Cardiospermine [126].

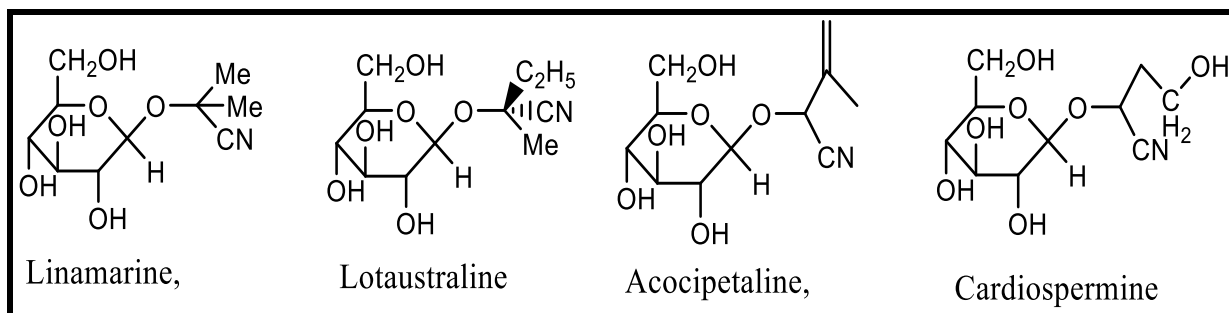


Figure I.15 : Cyanogéniques glycosylés dérivés de leucine, isoleucine et valine

I.3.4.1.1.a.4: Glycosides cyanogènes à cycle pentoïde dérivés de l'acide L-2-(20-cyclopentenyl) glycine

Exemple : Gynocardine, Barterine, Deldacline [128].

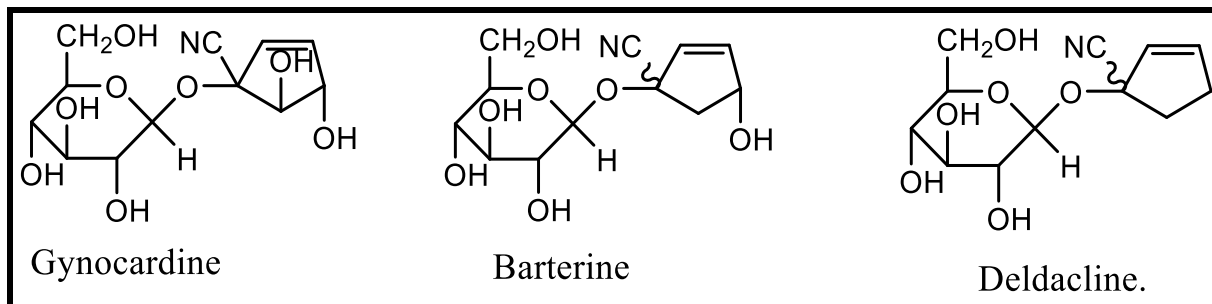


Figure I.16: Cyanogéniques glycosylés à cycle pentoïde dérivés de l'acide L-2-(20-cyclopentenyl) glycine

I.3.4.1.1.b : β -hydroxynitrile glycosides

I.3.4.1.1.b.1: β -hydroxynitrile glucoside dérivés de la valine, leucine et isoleucine

Exemple : Rhodiocyanoside D, RhodiocyanosideE, Ribesuvanine, Epidermine [129].

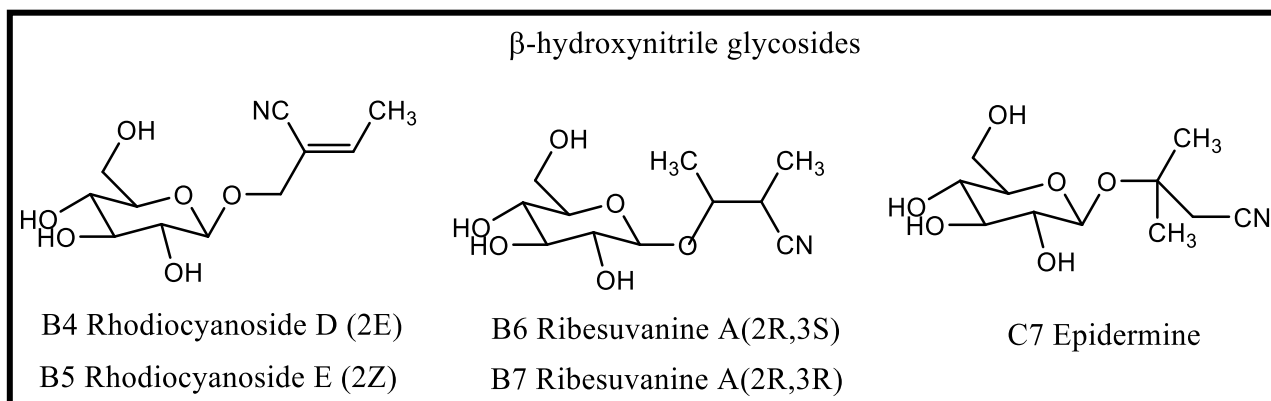


Figure I.17: β -hydroxynitrile glucoside dérivés de la valine, leucine et isoleucine

I.3.4.1.1.c : γ -hydroxynitrile glycosides**I.3.4.1.1.c.1 : γ -hydroxynitrile glycosides dérivés de la valine, leucine et isoleucine**

Exemple : Rhodiocyanoside A, Samentosine, Osmaronine ... [129].

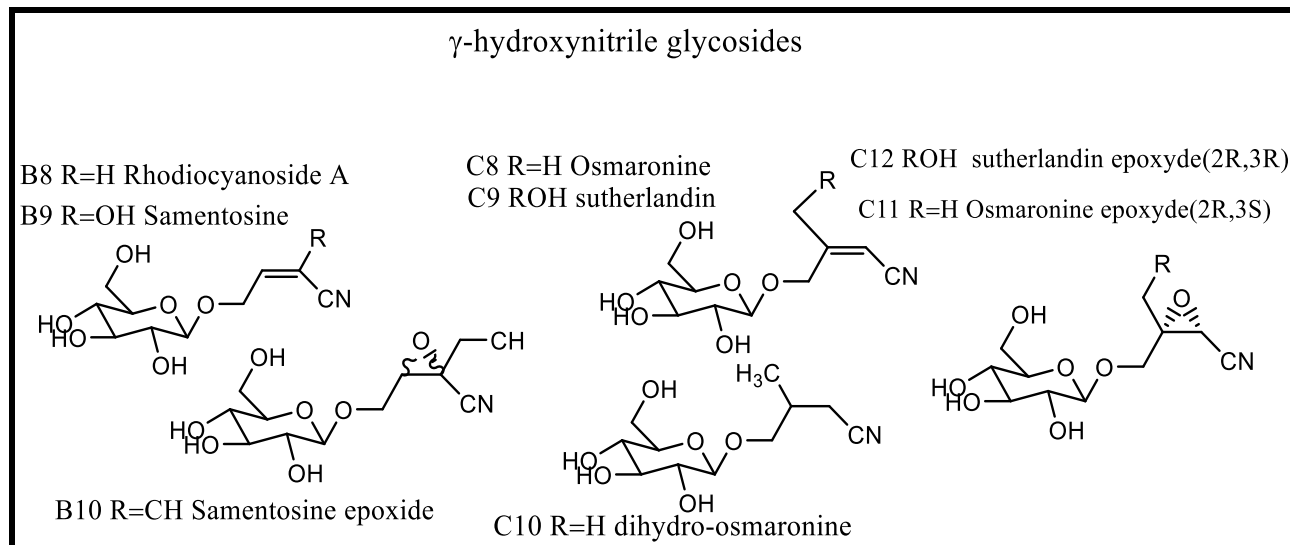


Figure I.18: γ -hydroxynitrile glycosides dérivés de la valine, leucine et isoleucine

Selon les auteurs, les β -et γ -hydroxynitrile glycosides pourraient servir comme composés de stockage de l'azote, qui ne libèrent pas de l'acide cyanhydrique toxique pendant la ré-assimilation de l'azote par la plante. Ils permettraient également de réduire la valeur nutritive des plantes pour les parasites qui ont développé leurs capacités d'exploiter l'HCN dans leurs métabolismes [130].

I.3.4.1.2 : Classification selon le produit d'hydrolyse**I.3.4.1.2.a : Hétéroside libérant par hydrolyse une cétone**

Exemple : Linamarine, Lotaustraline :

La Linamarine et son dérivé méthylé, la Lotaustraline (Figure I.19) sont deux Cyanogéniques glycosylés rencontrés principalement au niveau des racines du manioc et au niveau des grains de lin [126].

R₁=R₂=H Linamarine

R₁=H, R₂=CH₃ Lotaustraloside

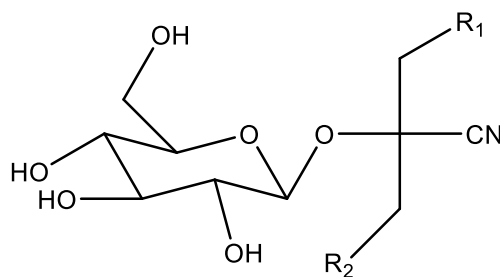


Figure I.19: Structure chimique de la linamarine et le lotaustraloside [129]

I.3.4.1.2.b : Hétéroside libérant par hydrolyse un benzaldéhyde

1. Ose : Glucose

➤ Dhurrine

C'est le *p*-hydroxy-(S)- β -mandélonitrile-D-glucoside, glycosides cyanogènes rencontré principalement dans le sorgho, en tant que substrat de son système défensif secondaire, capable de libérer du cyanure d'hydrogène suite à des lésions tissulaires [131]. Sa structure comprend un oligoside : β -D-glucoside et l'isomère D du mandélonitrile formé d'un benzaldéhyde lié à un cyanure comme le montre la figure ci-dessous : [132]

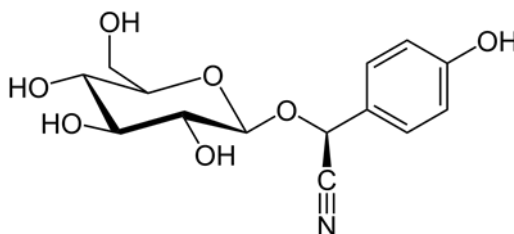


Figure I.20: Structure chimique de la dhurrine.

➤ Prunasine

La prunasine est un glycoside cyanogène mono saccharidique, qui constitue le métabolite principal de l'amygdaline [133,134]. La figure I.21 illustre la structure chimique de la prunasine qui est constituée d'un β -D glucose lié à un benzaldéhyde et au cyanure.

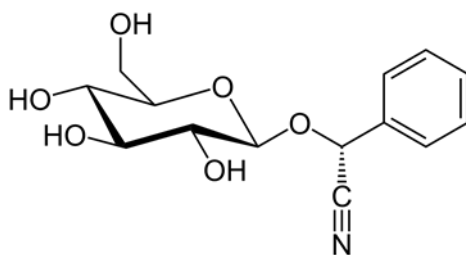


Figure I.21: Structure chimique de la Prunasine.

I.3.4.1.2.c : Ose : Gentibiose**➤ Amygdaline**

L'amygdaline (du mot grec amygdale : amande) ou amygdaloside est le premier composé à être isolé parmi cette nouvelle classe de produits naturels (glycosides cyanogènes) [135]. Communément appelé laetrile [136], l'amygdaline est un di glycoside cyanogène ; sa structure, illustrée par la figure I.22, comprend un oligoside : gentibiose (β -D-glucosido-1,6- β -D-glucoside) et l'isomère D du mandélonitrile formé d'un benzaldéhyde lié à un cyanure. [136]

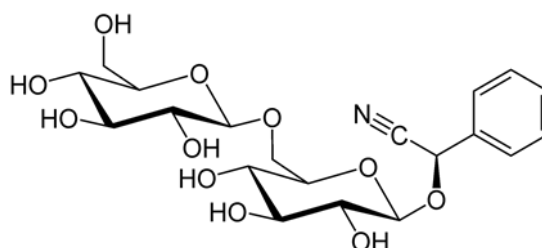


Figure I.22: Structure chimique de l'amygdaline.

I.3.4.2: Biosynthèse des glycosides cyanogènes

Une voie de biosynthèse des glycosides cyanogènes, basée sur un traceur radioactif *in vivo*, a été initialement proposée puis confirmée par des études approfondies sur des systèmes acellulaires. La biosynthèse des glycosides cyanogènes comprend généralement quatre étapes, qui comme illustrée dans la figure ci-dessous, commence, par l'hydroxylation de l'acide aminé précurseur spécifique à chaque composé, puis par une déshydratation aboutit à un aldoxime puis à un nitrile. La dernière hydroxylation donne un α -hydroxynitrile, qui par l'UDP glycosyl-transférase aboutit au glycoside cyanogène correspondant. [126]

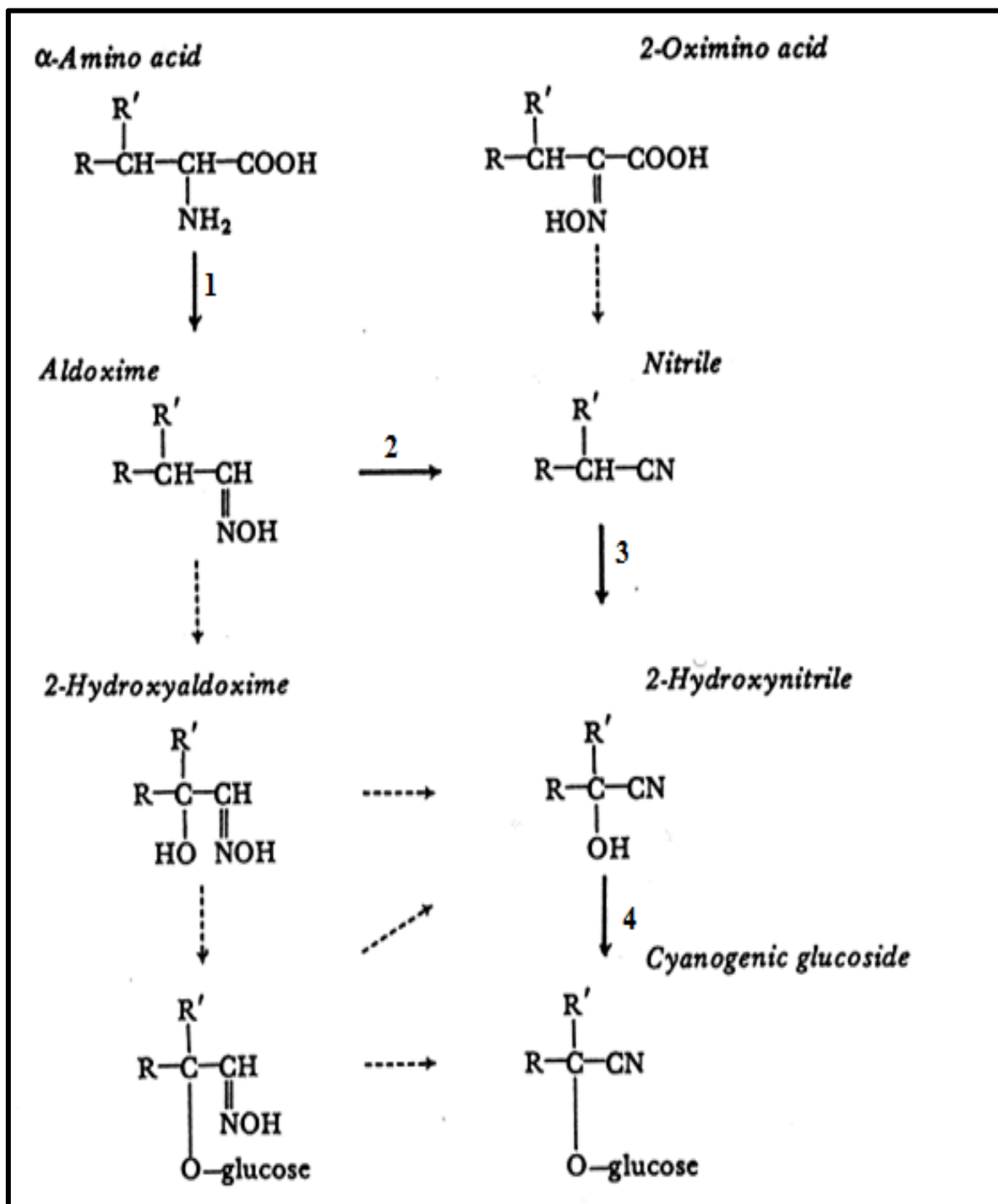


Figure I.23 : Voie de biosynthèse des glycosides cyanogènes [126]

(Les flèches en pointillées indiquent des voies alternatives)

I.3.4.3: Intérêt médical et biologique des glycosides cyanogènes

La fonction biologique principale des glycosides cyanogènes est son rôle dans le système de défense des plantes contre les effets d'animaux distincts (attaques d'insectes ou d'animaux herbivores).

L'empoisonnement aigu des animaux et des humains, provenant de la consommation de plantes ou de produits alimentaires cyanogènes, peut provoquer une inhibition rapide et radicale du système respiratoire dans les mitochondries, et les conséquences peuvent être fatales. L'apport continu de plantes à faible teneur en glycosides cyanogènes (cyanure) peut causer principalement des dommages spécifiques au système nerveux [137].

Bien que ces substances soient à base de cyanure, un poison très violent, elles sont prises à petites doses et donc montre un effet sédatif et relaxant sur le cœur et les muscles.

L'écorce du cerisier sauvage et les feuilles du sureau noir, qui en contiennent toute deux, permettent de supprimer ou de calmer les toux sèches et irritantes. De nombreux noyaux de fruits (par exemple ceux de l'abricotier) contiennent de fortes quantités de glycosides cyanogènes [138].

Références bibliographiques

- [1]. Mabberley, D. J, (1987). The plant book, Combridge University Press, 110.
- [2]. Quezel, P., Santa, S., nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales tome II.
- [3]. Herz, W, in: V.H. Heywood, J.B. Harbone, B.L. Turner (Eds.), (1977), « The biology and chemistry of the compositae », Academic Press, london, P.337, Chapter11.
- [4]. Demir. S, karaalp. C, bedir. E, (2016), Unusual sesquiterpenes from *Centaurea athoa* DC, Phytochemistry Letters, 15, 245-250.
- [5]. Bentamene, A., Benayache, S., Creche, J., Geneviève, P., Bermejo, J., Leon, F. and Benayache, F., (2005), a new guaianolide and other sesquiterpene lactones from *Centaurea acaulis* L. (Asteraceae), Biochemical Systematic and Ecology, 33, 1061-1065.
- [6]. S. Djeddi, A. Karioti, M. Sokovic, D. Stojkovic, R. Seridi, H. Skaltsa, (2007), Minor sesquiterpene lactones from *Centaurea pullata* and their antimicrobial activity, J Nat Prod, 70 (11), 1796-1799
- [7]. Picman, A., K., 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. Biochem. Syst. Ecol. 14, 255-281
- [8]. Medjroubi, K., Benayache, F., Bermejo, J., (2005), Sesquiterpene lactones from *Centaurea musimomum*. Antiplasmodial and cytotoxic activities, Fitoterapia, 76, 744-746
- [9]. Fakhfakh. J. A., Damak.M, (2007), Sesquiterpene lactones from the flowers of *Centaurea furfuracea*, Coss. et Dur. (Asteraceae), Nat Prod Res, 21 (12), 1037-1041
- [10]. Medjroubi, K., Benayache, F., Benayache, S., Akkal, S., Kaabeche, M., Tillequin, F., Seguin, E. (1998), Eudesmanolide from *Centaurea granata*. Phytochemistry 49,2425–2427.
- [11]. Grafakou, ME, Djeddi, S., Tarek., H, Skalts., H. (2018). Secondary metabolites from the aerial parts of *Centaurea papposa* (Coss.) Greuter. Biochem Syst & Eco. 76 :15–22.
- [12]. Bruno, M., Modica, A., Catinella, G., Canlı, C., Arasoglu, T, C., elik, S., (2018), Chemical composition of the essential oils of *Centaurea tomentella* Hand. -Mazz. and *C. haussknechtii* Boiss. (Asteraceae) collected wild in Turkey and their activity on microorganisms affecting historical art craft. Nat Prod Res. 18 :1–9.
- [13]. Djeddi. S, Argyropoulou. C, Chatter. R, (2012), Analgesic properties of secondary metabolites from Algerian *Centaurea pullata* and Greek *C. grisebachii* ssp. *Grisebachii*, J Appl Sci Res, 8 (6), 2876-2880
- [14]. Mezaache, N., Bendjeddou, D., Satta, D., Mekkiou, R., Benayache, S., Benayache, F.,

- (2010), secondary metabolites from *Centaurea lippii*, Chemistry of Natural Compounds, 46, (5), 801-802
- [15]. Kamanzi, K., Raynaud, J., Voirin, B., (1982) Les aglycones flavoniques de fleurs de *Centaurea collina* L. (Composées). Die Pharmazie, 37, 454.
- [16]. Boudjerda. A, Zater. H, Benayache. S, Chalchat. J.C, Gonzalez-Platas. J, Leon. F, *et al.* (2008), A new guaianolide and other constituents from *Achillea ligustica*, Biochem Syst Ecol, 36 pp. 461-466
- [17]. Marco, J., A., Sanz-Cervera, J., F., Yuste, A., Sancenón, F., Carda, M., (2005), Sesquiterpenes from *Centaurea aspera*. Phytochemistry66, 1644-1650.
- [18]. López-Rodríguez. M, García V.P, Zater. H., Benayache S. and Benayache. F, (2009), Cynaratriol, a sesquiterpene lactone from *Centaurea musimomum* Acta Cryst, 65, 1867-1868
- [19]. Çelik, S., Rosselli, S., Maggio, A., M., Raccuglia, R., A., Uysal, I., Kisiel, W., Michalska, K., Bruno, M., (2006), Guaianolides and lignans from the aerial parts of *Centaurea ptosimopappa*, Biochemical Systematics and Ecology34, 349-352.
- [20]. Karamenderes, C., Bedir, E., Pawar, R., Baykan, S., Khan, I., A., (2007), Elemanolide sesquiterpenes and eudesmane sesquiterpene glycosides from *Centaurea hierapolitana*. Phytochemistry68, 609-615.
- [21]. Djeddi, S., Karioti, A., Sokovic, M., Koukoulitsa, C., Skaltsa, H., (2008), A novel sesquiterpene lactone from *Centaurea pullata*: Structure elucidation, antimicrobial activity, and prediction of pharmacokinetic properties. Bioorganic & Medicinal Chemistry 16, 3725-3731.
- [22]. Nacer, A., Merza, J., Kabouche, Z., Rhouati, S., Boustie, J., Richomme, P., (2012), Sesquiterpene lactones from *Centaurea tougourensis*. Biochemical Systematics and Ecology 43, 163-165.
- [23]. Skaltsa, H., Lazari, D., Garcia, B., Pedro, J.R., Sokovic, M., Constantinidis, T., (2000a). Sesquiterpene lactones from *Centaurea achaia*, a Greek endemic species. Antifungal activity. Z. Naturforsch. C 55c, 534–539.
- [24]. Cardona, L., Garcia, B., Munoz, M.C., Navarro, F.I., Pedro, J.R., (1997), New sesquiterpene lactones and other constituents of *Centaurea paui*. Liebig. Ann., 527–532.
- [25]. Gousiadou, C., Skaltsa, H., (2003), Secondary metabolites of *Centaurea orphanidea*. Biochem. Syst. Ecol. 31, 389–396.
- [26]. Nowak, G., Holub, M., Budešinsky', M., (1989a), Sesquiterpene lactones. XXXVI. Sesquiterpene lactones in several subgenera of the genus *Centaurea*. Acta Soc. Bot. Pol. 58, 95–102.

- [27]. Nowak, G., (1992), A chemotaxonomic study of sesquiterpene lactones from subtribe *Centaureinae* of the Compositae. *Phytochemistry* 31, 2363–2368.
- [28]. Appendino, G., Ozen, H.C., (1993), Sesquiterpene lactones of *Centaurea kurdica*. *Gaz. Chim. Ital.* 123, 93–94.
- [29]. Trendafilova, A., Todorova, M., Bancheva, S., (2007), Secondary metabolites from *Centaurea moesiaca*. *Biochem. Syst. Ecol.* 35, 544–548.
- [30]. Gonzalez, A.G., Bermejo, J., Zaragoza, T., Velasquez, R., (1980a), Quimica de las compuestas. XLIII. Lactonas sesquiterpénicas de la *Centaurea amara*. *An. Quim.* 76, 296–297.
- [31]. Barrero, A.F., Sancez, J.F., Rodriguez, I., Soria Sanz, C., (1988), Germacranolidas de *Centaurea malacitana*. *An. Quim.* 84, 344–347.
- [32]. Bruno, M., Paternostro, M.P., Gedris, T.G., Herz, W., (1996), Sesquiterpene lactones and other constituents of *Centaurea nicaensis*. *Phytochemistry* 41, 335–336.
- [33]. El-Marsy, S., Darwish, F.A., Abou-Donia, A., Abou-Karam, M.A., Grenz, M., (1985), Sesquiterpene lactones from *Centaurea glomerata*. *Phytochemistry* 24, 999–1001.
- [34]. Oksuz, S., Ayyildiz, H., (1986), Sesquiterpene lactones from *Centaurea coronopifolia*. *Phytochemistry* 25, 536–537.
- [35]. Lakhal. H, Boudiar.T., Kabouche. A., Kabouche. Z, Touzani. R, Bruneau.C, (2010), New sesquiterpene lactone and other constituents from *Centaurea sulphurea* (Asteraceae). *Nat. Prod. Commun.* 5, 849–850.
- [36]. Fortuna, A. M., Riscala, E. C., Catalan, C. A. N., Gedris, T. E. And Herz, W. (2001), Sesquiterpene Lactones From *Centaurea tweediei*, *Biochemical Systematics And Ecology*, 29, 967-971.
- [37]. Djeddi, S., Argyropoulou, C., Skaltsa, H., (2008a), Secondary metabolites from *Centaurea grisebachii ssp. grisebachii*. *Biochem. Syst. Ecol.* 36, 336–339.
- [38]. Harraz, F.M., Kassem, F.F., El-Shaer, N.S., (1994), Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Centaurea bruguierana*. *Alexandria J. Pharm. Sci.* 8, 219–222, C.A. 123, 193614t.
- [39]. Salan, U., Oksuk, S., (2003), Sesquiterpene lactones, a cyclohexenone and aromatic compounds from *Centaurea salonitana*. *J. Pharm. Istanbul Univ.*, 77–82.
- [40]. Negrete, R.E., Backhouse, N., Cajigal, I., Delporte, C., Cassels, B.K., Breitmaier, E., Eckhardt, G., (1993), Two new antiinflammatory elemanolides from *Centaurea chilensis*. *J. Ethnopharmacol.* 40, 149–153.

- [41]. Koukoulitsa, E., Skaltsa, H., Karioti, A., Demetzos, C., Dimas, K., (2002), Bioactive Sesquiterpene lactones from *Centaurea species* and their cytotoxic/cytostatic activity against human cell lines in vitro. *Planta Med.* 68, 649–652.
- [42]. Cardona, L., Fernandez, I., Pedro, J.R., Perez, B., (1991), Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Centaurea aspera*. *Phytochemistry* 30, 2331–2333.
- [43]. Cardona, L., Fernandez, I., Pedro, J.R., Vidal, R., (1992), Polyoxygenated terpenes and cyanogenic glucosides from *Centaurea aspera* var. *subinermis*. *Phytochemistry* 31, 3507–3509.
- [44]. Medjroubi, K., Bounderara, N., Benayache, F., Akkal, S., Seguin, E., Tillequin, F., (2003a). Sesquiterpene lactones of *Centaurea nicaensis*. *Chem. Nat. Comp.* 39, 506–507.
- [45]. Gonzalez, A.G., Bermejo, J., Breton, J.L., Triana, J., (1974b), Chlorohyssopifolin C, D, E and vahelin, four new sesquiterpene lactones from *Centaurea hyssopifolia*. *Phytochemistry* 13, 1193–1197.
- [46]. Gonzalez, A.G., Bermejo, J., Massanet, G.M., Galindo, A., and Cabrera, I., (1978b), Sesquiterpene lactones from *Centaurea linifolia* Vahl. *Can. J. Chem.* 56, 491–494.
- [47]. Bohlmann, F., Gupta, R.K., (1981), Guaianolides from *Centaurea canariensis*. *Phytochemistry* 20, 2773–2775.
- [48]. Gadeschi, E., Jorge, Z.D., Massanet, G.M., Luis, F.R., (1989), Two derivatives of costic acid from *Centaurea arguta*. *Phytochemistry* 28, 2204–2206.
- [49]. Skaltsa, H., Lazari, D., Panagouleas, C., Georgiadou, E., Garcia, B., Sokovic, M., (2000b), Sesquiterpene lactones from *Centaurea thessala* and *C. attica*, antifungal activity. *Phytochemistry* 55, 903–908.
- [50]. Canan, K.; Erdal, B.; Rahul, P.; Sura, B. ET Ikhlas, A. K., (2007), Elemanolide sesquiterpenes and eudesmane sesquiterpene glycosides from *Centaurea hierapolitana*. *Phytochemistry*, 68, 609–615
- [51]. Chicca, A., Tebano, M., Adinolfi, B., Ertugul, K., Flamini, G., Neri, P., (2011), Antiproliferative activity of aguerin B and a new rare nor-guaianolide lactone isolated from the aerial parts of *Centaurea deflexa*. *Eur. J. Med. Chem.* 46, 3066–3070.
- [52]. Vajs, V., Todorovic, N., Ristic, M., Tešević, V., Todorovic, B., Janac'kovic, P., Marin, P., Milosavljevic, S., (1999), Guaianolides from *Centaurea nicolai*, antifungal activity. *Phytochemistry* 52, 383–386.
- [53]. Youssef, D., (1998), Sesquiterpene lactones of *Centaurea scoparia*. *Phytochemistry* 49, 1733–1737.

- [54]. Hamburger, M., Wang, Y., Cheng, C.H.K., Costall, B., Naylor, R.J., Jenner, P., Hostettmann, K., (1991), Neurotoxic sesquiterpene lactones from the yellow starthistle *Centaurea solstitialis*, large scale isolation and biological activity. *Planta Med.* 57 (Sup.2), A8–A9.
- [55]. Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., Raccuglia, R.A., Arnold, N.A., (2005a), Guaianolides from *Centaurea babylonica*. *Biochem. Syst. Ecol.* 33, 817–825.
- [56]. Rosselli, S., Maggio, A., Bellone, G., Bruno, M., (2006b), The first example of natural cyclic carbonate in terpenoids. *Tetrahedron Lett.* 47, 7047–7050.
- [57]. T. J. Schmidt, *Stud.* (2006), Structure-Activity Relationships of Sesquiterpene Lactones *Nat. Prod. Chem.* 33, 309–392
- [58]. Catherine. K., George. D. G. et Helen. S, (2005), VolSurf analysis of pharmacokinetic properties for several antifungal sesquiterpene lactones isolated from *Greek Centaurea sp.* *Journal of Molecular Structure: Theochem*, 759, 215–224.
- [59]. Barnes. E. C, Kavanagh. A. M, Ramu. S, Blaskovich. M.A, Cooper. M. A, Davis. R.A, (2013), Antibacterial serrulatane diterpenes from the Australian native plant *Eremophila microtheca*, *Phytochemistry*, 93, 162-169
- [60]. Zidron. C., Diesch. V. M., Rüngeler. P., Sosa. S., Loggia. R. D., Merfort. I., Pahl. H. L., Vollmar. A. M. Et Stuppner. H, (1999), Anti-inflammatory activities of hypocretenolides from *Leontodon hispidus* *Planta Med*, 65, 704-708.
- [61]. Aktumsek. A, Zengin. G, Guler. G.O, Cakmak. Y. S, Duran. A. (2013), Assessment of the antioxidant potential and fatty acid composition of four *Centaurea L.* taxa from Turkey *Food Chem*, 141 (1), 91-97
- [62]. Koukoulitsa. C, Geromichalos. G.D, Skaltsa. H. (2005), VolSurf (2005), analysis of pharmacokinetic properties for several antifungal sesquiterpene lactones isolated from *Greek Centaurea sp*, *J. Comput Aid Mol Des*, 19 (8), 617-623.
- [63]. Kolli. E.H, León. F, Benayache. F, Estévez. S, Quintana. J, Estévez.F, *et al.* (2012), Cytotoxic sesquiterpene lactones and other constituents from *Centaurea omphalotricha*, *J Braz Chem Soc*, 23 (5), 977-983
- [64]. Barrero, A. F., Oltra, J. E., Rodriguez, I., Barragan, A., Gravalos, D. G., Ruiz, P., (1995), Lactones from species of *Centaurea*. Cytotoxic and antimicrobial activities, *Fitoterapia*, 66(3), 227-230.
- [65]. Bicha, S., Bentamène, A., Benaissa, O., Benayache, S., Garcia, V. P., Leon, F., Brouard, I., Bermejo, J. and Benayache, F., (2011), flavonoid aglycones from *Centaurea maroccana*. *Chemistry of Natural compounds*, 47(1),105-106.

- [66]. Louaar, S., Achouri, A., Lefahal, M., Laouer, H., Medjroubi, K., Duddeck, H., Akkal, S., (2011), Flavonoids from Algerian endemic *Centaurea microcarpa* and their chemotaxonomical significance. *Natural product communications*, 6(11), 1603-1604.
- [67]. Mouffok, S., Haba, H., Lavaud, C., Long, C., Benkhaled, M., (2012). Chemical constituents of *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu ex Batt. & Trab. *Rec. Nat. Prod.*6(3), 292-295.
- [68]. Akkal, S., Benayache, F., Medjroubi, K. and Tillequin, F., (2007), flavonol glycosides from *Centaurea furfuracea* antiplasmodial and cytotoxic activities, *Chemistry of Natural Compounds*, 43(3), 319-320.
- [69]. Seghiri, R., Boumaza, O., Mekkiou, R., Benayache, S., Mosset, P., Quintana, J., Estévez, F., León, F., Bermejo, J., Benayache, F., (2009), A flavonoid with cytotoxic activity and other constituents from *Centaurea africana* *Phytochemistry Letters*, Volume 2, Issue 3(24), 114-118
- [70]. Akkal, S., Benayache, F., Bentamene, A., Medjroubi, K., Seguin, E. and Tillequin, F., (2003), flavonoids aglycones from *Centaurea napifolia*, *Chemistry of Natural Compounds*, 39(2), 165-166
- [71]. Oksuz, S., B. Halfon and B. Terem, (1988), flavonoids of *Centaurea cuneifolia*, *Planta Medica*, 54(1), 89.
- [72]. Ahmed, Z. F., Rimpler, H., Hamouda, F. M., Rizk, A. M and Ismail, S. I, (1970), the flavonoid constituents of certain *Centaurea species* grown in Egypt, *Phytochemistry*., 9(7), 1595-1601.
- [73]. Pedja, J. k., Vele, T., Slobodan, M., Vlatka V. and Petar, D., (2004), *Marin Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 355–357.
- [74]. Oksuz, S. and Johansson, C., (1984), 6-metoxylated and C-glycosyl flavonoids from *Centaurea species*, *Journal of Natural Products*, 47(5), 902-903.
- [75]. Amer, M.M.A., Salama, O.M., Omar, A.A., (1984), methylated flavonoid aglycones from *Centaurea alexandrina*, *Acta Pharmaceutica Jugosavial*, 34, 257-259.
- [76]. Ulubelen, A. and Oksuz, S., (1982), cytotoxic flavones from *Centaurea urvillei*, *Journal of Natural Products*, 45(3), 373.
- [77] Gonnet, J. F., (1996), flavonoid variation in wild specimens of *Centaurea Montana*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(5), 447-460.
- [78]. Kamanzi, K., Raymond, J. and Voirin, B., (1983), the C-glycosyl flavonoids from flowers of *Centaurea melitensis*, *Plantes Medicinal et Phytotherapie*.,17(1), 47-51.

- [79]. Hammoud, L., Seghiri, R., Benayache, S., Mosset, P., Lobstein, A., Chaabi, M., León, F., Brouard, I., Bermejo, J., Benayache, F., (2012). A new flavonoid and other constituents from *Centaurea nicaeensis* All. var. walliana M. Nat. Prod. Res. 26, 203–208.
- [80]. Flamini, G., Pardini, M. and Morelli, I., (2001), a flavonoid sulphate and other compounds from the roots of *Centaurea bracteata*, Phytochemistry, 58, 1229–1233.
- [81]. Negrett, R. E., Lator. I., Backhouse, N., Pena, R., and Delporte, C., (1988), some flavonoids of *Centaurea floccose* Hook and Arn, Plantes Medicinales et Phytotherapie, 22(1), 1-10.
- [82]. Negrete, R. E. ; Backhouse, N. ; Prieto, P. ; Mejias, H. ; Camargo, R. C. ; Cassels, B. K. ; Breitmaier, E. ; Hartmann, R. (1989), Steroids, a lignan and a flavonoid from *Centaurea melitensis* L., 23(4) ,293-204.
- [83]. Fathallah, H. M., Kassem, F. F., El-Shaer, N. S., (1994), Sesquiterpene lactones and Flavonoids from *centaurea bruguierana*, Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences, 8(3), 219-222.
- [84]. Gadeschi, E., Jorge, Z. D., Massanet, G. M. and Lurs, F. R., (1989), two derivatives of costic acid from *Centaurea arguta*, Phvtochemistry., 28(8), 2204-2206.
- [85]. Oksuz, S. and Ayyildiz, H., (1986), sesquiterpene lactones from *Centaurea cornopifolia*, Phytochemistry, 25(2), 535-537.
- [86]. Ribeiro, N. L., Nahar, L., Kumarasamy, Y., Mir-Babayev, N. and Sarker, S.D., (2002), Flavonoid glucosides and lignan from *Centaurea macrocephala*, Biochemical Systematics and Ecology, 30, 1097–1100.
- [87]. Louaar, S., Zellagui, A., Gherraf, N., Medjrubi, K., Derbre, S., Seguin, E., Laouer, H. Akkal, S. ; (2014) Antiradical Activity of Flavonoids from the Algerian Native Plant : *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur. Journal of Biologically Active Products from Nature, 4 :3, 249-253
- [88]. Orallo, F., Lamella, M. and Carnica, M., (1988), two flavonoids from *Centaurea corcubionensis*, Planta Medica, 64, 116-119.
- [89]. Kamanzi, K., Raynaud, J., Voirin, B., (1982), flavone glycosides of *Centaurea melitensis* Compositae, Die.Pharmazie, 37, 454-455.
- [90]. Kamanzi, K., Voirin, B. and Raynaud, J., (1983), the C-glycosyl flavonoids from flowers of *Centaurea melitensis*, Plantes Medicinal et Phytotherpie. 17, 47- 51.
- [91]. Bandyukova, V.A., (1967), Khimiya Prirodnykh Soedinii, 3(1), 58-59.

- [92]. Özçelik, B., Gübüz, I., Karaoglu, T. and Yeşilada. E, (2007), antiviral and antimicrobial activities of three sesquiterpene lactones from *centaurea solstitialis* L., Microbiological Research, 10, 1016.
- [93]. Kubacey. T. M, Haggag. E. G, El-Toumy. S. A, Ahmed. A. A, El Ashmawy. I. M, Youns M. M, (2012), Biological activity and flavonoids from *Centaurea alexandrina* leaf extract, J. Pharm. Res., 5 (6), 3352-3361.
- [94]. Aliouche, L., Mosset, P. , León, F., Benayache, F.,(2019), Chemical compounds and antioxidant activity of *Centaurea solstitialis ssp. schouwii* (DC.) Q. et S. (Asteraceae).Current Bioactive Compounds
- [95]. Bouzghaia, B. Ben Moussa, Md. T ., Goudjil, R, Pale, P., (2020), Chemical composition, in vitro antioxidant and antibacterial activities of *Centaurea resupinata subsp. dufourii* (dostál) greuter, Natural Product Research.
- [96]. Labeled, F., Masullo, M., Mirra ,V., Piacente, S., (2018), Amino acid-sesquiterpene lactone conjugates from the aerial parts of *Centaurea pungens* and evaluation of their antimicrobial activity, Fitoterapia
- [97]. Middleton, E., Et Kandaswami, C., (1994), “The impact of plant flavonoids on mammalian biology: Implications for immunity, inflammation and cancer, J of Indian medicine, p. 619-652.
- [98]. Hope, W.C., Welton, A.F., Fielder-Nagy, C., Batula-Bernardo, C., Et Coffey, J.W., (1983), In vitro inhibition of the biosynthesis of slow reacting substance of anaphylaxis (SRSA) and lipoxygenase activity by quercetin, Biochem. Pharmacol. 32, 367-371.
- [99]. Bulut,F., Demirtas,I., Koldaş,S.,Oke-Altuntas, F., (2019), The cytotoxicity and antioxidant activity analysis of the isolated constituents and extracts from endemic *Centaurea derderiifolia*, Natural Product Research.
- [100]. Butterweck, V., Jurgenliemk, G., Nahrstedt, A., Et Winterhoff, H., (2000), Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test, Planta Med, 66, 3–6.
- [101]. Mohammad, S., Marcel, J., Stephen, M.M.M., Sezgin, C., Lutfun, N., Paul, K.T.L. and Stayajit, S., (2007), anti-colon cancer potential of phenolic compounds from the aerial parts of *Centaurea gigantean*, Journal of Natural Medicines, 61, 164-169.
- [102]. Forgo, P., Zupkó, I., Molnár, J., Vasas, A., Dombi, G., Hohmann, J., (2012), Bioactivity-guided isolation of antiproliferative compounds from *Centaurea jacea* L. Fitoterapia 83, 921-925.

- [103]. Shoeb, M., MacManus, S. M., Jaspars, M., Trevidu, J., Nahar, L., Kong-Thoo-Lin, P., Sarker, S. D., (2006), Americanin, a bioactive dibenzylbutyrolactone lignan, from the seeds of *Centaurea Americana*. *Tetrahedron* 62, 11172-11177.
- [104]. Pengelly. A., (2004), *The constituents of Medicinal Plants: An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine*, CABI publishing.
- [105]. Ayres, D. C., Loike, J. D. (1990). *Lignans: Chemical, Biological and Clinical Properties* (1), Cambridge University Press, Cambridge.
- [106]. Bruneton, J. (1999), *Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed* Techniques et documentations. Paris. pp : 227-310-312-313-314.494.
- [107]. Mohammad, S., Marcel, J., Stephen. M. M., Runner, R.T. M et Satyajit, D. S., (2004), Epoxy lignans from the seeds of *Centaurea cyanus* (Asteraceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 1201-1204.
- [108]. Charles, A. F., Lutfun, N., Douglas, F., Yashodharan, K., Raymond, R., Namik, F. M et Satyajit, D. S., (2003), *Centaurea scabiosa*: a source of dibenzylbutyrolactone lignans, *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 303-305.
- [109]. Graeme, C., Anuszka, L., Lutfun, N et Satyajit, D. S., (2002), Lignan glucosides from the seeds of *Centaurea americana* (Compositae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 65-67.
- [110]. Mohammad, S., Stephen, M. M., Yashodharan, K., Marcel, J., Lutfun, N., Paul Kong, T., Hossein N et Satyajit, D. S., (2006), Americanin, a bioactive dibenzylbutyrolactone lignan, from the seeds of *Centaurea americana*, *Phytochemistry*, 67, 2370-2375.
- [111]. Moira, M; Philip, J. C.; Marce, J; Yashodharan, K., Lutfun N., Raymond R et Satyajit, D.S., (2003), Dibenzylbutyrolactone lignans and indole alkaloids from the seeds of *Centaurea nigra* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 653-656.
- [112]. Antoaneta, T., Milka, T et Svetlana, B., (2007), *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 544-548.
- [113]. Ribeiro, N. L., Nahar, L., Kumarasamy, Y., Mir Babayev, N., & Sarker, S. D. (2002). Flavonoid C-glucosides and a lignan from *Centaurea macrocephala* (Compositae). *Biochem. Syst. Ecol*, 30(11), 1097-1100.
- [114]. Hodaj, E, Tsiftoglou, O, Abazi, S, Hadjipavlou-Litina, D & Lazari, D, (2017), lignans and indole alkaloids from the seeds of *Centaurea vlachorum* Hartvig (Asteraceae), growing wild in Albania and their biological activity *Natural Product Research* 31(10)

- [115]. Pan, J. Y., Chen, S. L., Yang, M. H., Wu, J., Sinkkonen, J., Zou, K., (2009), An update on lignans: natural products and synthesis. *Natural Products Reports*, 26, 10, pp. 1251-1292, 1460-4752.
- [116]. Shoeb, M., MacManus, S. M., Kumarasamy, Y., Jaspars, M., Nahar, L., Thoo-Lin, P.K., et al. (2006), Americanin, a bioactive dibenzylbutyrolactone lignan, from the seeds of *Centaurea americana*, *Phytochemistry*, 67 (21), 2370-2375.
- [117]. Cos, P., Maes, L., Vlietinck, A., Pieters, L., (2008), Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection - an update (1998-2007). *Planta Medica*, 74, (11) 1323-1337, 0032-0943
- [118]. Saleem, M., Kim, H. J., Ali, M. S., Lee, Y. S., (2005), An update on bioactive plant lignans. *Natural Product Reports*, 22, 6, pp. 696-716, 0265-0568.
- [119]. Yousefzadi, M., Sharifi, M., Behmanesh, M., Moyano, E., Bonfill, M., Cusido, R. M., Palazon, J., (2010), Podophyllotoxin: Current approaches to its biotechnological production and future challenges. *Engineering in Life Sciences*, 10, 4, pp. 281-292, 1618-2863.
- [120]. Shoeb, M., Macmanus, S., Kong-Thoo-Lin, P., Celik, S., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S., (2007), Bioactivity of the extracts and isolation of lignans and a sesquiterpene from the aerial parts of *Centaurea pamphylica* (Asteraceae). *Daru*. 15(3), 118-122.
- [121]. Bastos, M M., Kijjoa, A., Cardoso, J M., Gutiérrez, A B., Herz, W., (1990), Lignans and other constituents of *Centaurea sphaerocephala* ssp. *Polyacantha*. *Planta Med.* 56(4): 403-405.
- [122]. Hamedeyazdan, S., Niroumand, F., Fathiazad, F., (2017), Phytochemical analysis and antioxidative properties of *Centaurea albonitens*. *Research Journal of Pharmacognosy (RJP)* 4(4), 57-64.
- [123]. Humphreys, J. M., Hemm, M.R et Chpple, C., (1999), New routes for lignin biosynthesis defined by biochemical characterization of recombinant ferulate 5-hydroxylase, a multifunctional cytochrome P450-dependent monooxygenase, *Prod. Natl. Acad. Sci. USA*, 96,10045-10050.
- [124]. Whetten, R.W., Mackay, J.J et Sederoff, R.R., (1998), *Ann. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol*, 49, 585-609.
- [125]. Poulton, JE. (1990), Cyanogenesis in plants. *Plant physiology* .94 :401-405.
- [126]. Vetter, J., (2000), Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon*.38 :11-36.
- [127]. Jones. DA., (1988), Why are so many plants cyanogenic. *Phytochemistry*. 47(2): 155-162.

- [128]. Seigler, DS., (1975), Isolation and characterization of naturally occurring cyanogenic compounds. *Phytochemistry* ;14 :9-29.
- [129]. Bjarnholt, N., Moller, BL., (2008), Hydroxynitrileglycosides. *Phytochemistry* ;1947-1961.
- [130]. Engler, HS., Spencer, KC., Gilbert, LE., (2000), Preventing cyanide release from leaves. *Nature* ; 406 :144-145.
- [131]. Blain, JC., Grisvard, M., (1973), *Plantes vénéneuses*. Paris : la maison Rustique.
- [132]. Dirk, S., Zeinolabedin, I., Wray, V., (1996), Dhurine -6-glucoside a cyanogenic diglucoside from *Sorghum bicolor*. *Phytochemistry*; 43 :569-572.
- [133]. Shim, SM., Kwon, H., (2010), Metabolites of amygdalin under simulated human digestive fluids. *Int J. Food Sci Nutr* ; 61(8) :770-779.
- [134]. Viala, A., Botta, A., (2005), *Toxicologie*. 2^{ème} édition. Paris: Lavoisier.
- [135]. Newmark, J., Brady, RO., Grimley, PM., Gal, AE., Waller, SG., Thistlethwaite, JR., (1981), Amygdalin (Laetrile) and prunasin β -glucosidases distribution in germ-free rat and in human tumor tissue. *Proceeding of the National Academy of Sciences of USA* ;78(10): 6513-6516.
- [136]. Sharma, M., Sharma, NN., (2005), Hydroxynitrilelyases: At the interface of biology and chemistry. *Enzyme and Microbial Technology*; 37 :279–294.
- [137]. Chillawar, RG., Rathod, OS., (2015), A note on cyanogenic plants of Marathwada. *J. Basic Sci.* 2: 37–41.
- [138]. Iserin, P., (2001), *Encyclopédie des plantes médicinales*. London, *ypogly Edith Ybert*, Tatiana Delasalle- Feat; 01, 335.

Chapitre II

Partie expérimentale

II-1 Critères de choix de l'espèce *Centaurea microcarpa*

Le choix de cette espèce, repose sur trois critères essentiels :

- L'endémicité de l'espèce nous a poussée à découvrir leurs métabolites secondaires.
- Les résultats des études phytochimiques obtenus des autres espèces de même genre *Centaurea*, en particulier, et de la famille *Compositae*, d'une façon générale (la richesse en métabolites secondaires : acides phénoliques, flavonoides, lignanes et saponines).
- Les activités biologiques attribuées aux plantes de cette famille [1-4] : anti-diabétiques, anti-oxydantes, anti-fongiques, anti-microbiennes, anti-virales, anti- HIV, anti-tumorales et cytotoxiques ; nous ont encouragées à rechercher et isoler les métabolites secondaires de cette espèce.

II-2 Place dans la systématique (botanique)

Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Astérales
Famille	Asteraceae
Sous-famille	Tubiflores
Tribu	Cynarées
Genre	<i>Centaurea</i>
Espèces	<i>Centaurea microcarpa</i> Coss. & Dur.

II-3 Description botanique de l'espèce

Centaurea microcarpa est une plante annuelle ou bisannuelle, vivace. Elle est endémique pour l'Algérie et la Tunisie. Fleurs blanches ou blanchâtres. Bractées de l'involucre à épines faibles et courtes (5-7 mm de long au plus). Akènes à aigrette courte mais nette de 20-30 cm. Les Feuilles non décurrentes sur la tige, sessiles, semi amplexicaules. Petits capitules de 1-1,2 cm de large sur 1,5 cm de long (fleurons non compris). Tiges et feuilles tomenteuses. Appendice des bractées souvent récurvé, comportant à la base 2-4 petites épines auxiliaires. Akènes très petits (2-3 mm) à aigrette 2-3 fois plus courte qu'eux. Aigrette peu fournie [5].



Figure II.1 : Présentation de *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur.

II-4 Les travaux antérieurs sur *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur

Une étude faite sur l'extrait *n*-butanol de *Centaurea microcarpa* permis d'isoler six flavonoïdes [6] :

- ✓ 6-méthoxykaempférol,
- ✓ 6-méthoxykaempférol 7-*O*-glucoside,
- ✓ kaempférol 7-*O* glucoside,
- ✓ 6-méthoxylutéoline,
- ✓ patulétine 7-*O*-glucoside
- ✓ hispiduline 7-*O*-glucoside.

Des résultats du test au DPPH ont montré que deux flavonoïdes isolés de *C. microcarpa* : le 5,7,4'-trihydroxy-3,6-diméthoxyflavone-7-*O*- β -glucoside, et le 6-méthoxykaempférol présentent une activité anti-oxydante remarquable [7].

II-5. Récolte de la matière végétale :

La récolte du matériel végétal a été effectuée dans la région de M'sila « Hourane » (Est Algérien), en période de floraison au mois de mai 2011.

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

La détermination botanique a été réalisée par le Docteur Sarri Djamel (Département de biologie, université Mohammed Boudiaf, M'Sila).

II-6. Extraction de *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur

La poudre du matériel végétal (fleurs, feuilles et tiges) (660 g) est mise à macérer à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (Méthanol/Eau ; 80/20 ; v/v). Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant et duré dans chaque cas de 24 à 48 heures. Après concentration à une température n'excédant pas 35⁰C, l'extrait méthanolique est dilué avec de l'eau distillée à raison de 400 ml pour 1kg de matière sèche, après filtration, le filtrat a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol (Figure II.2).

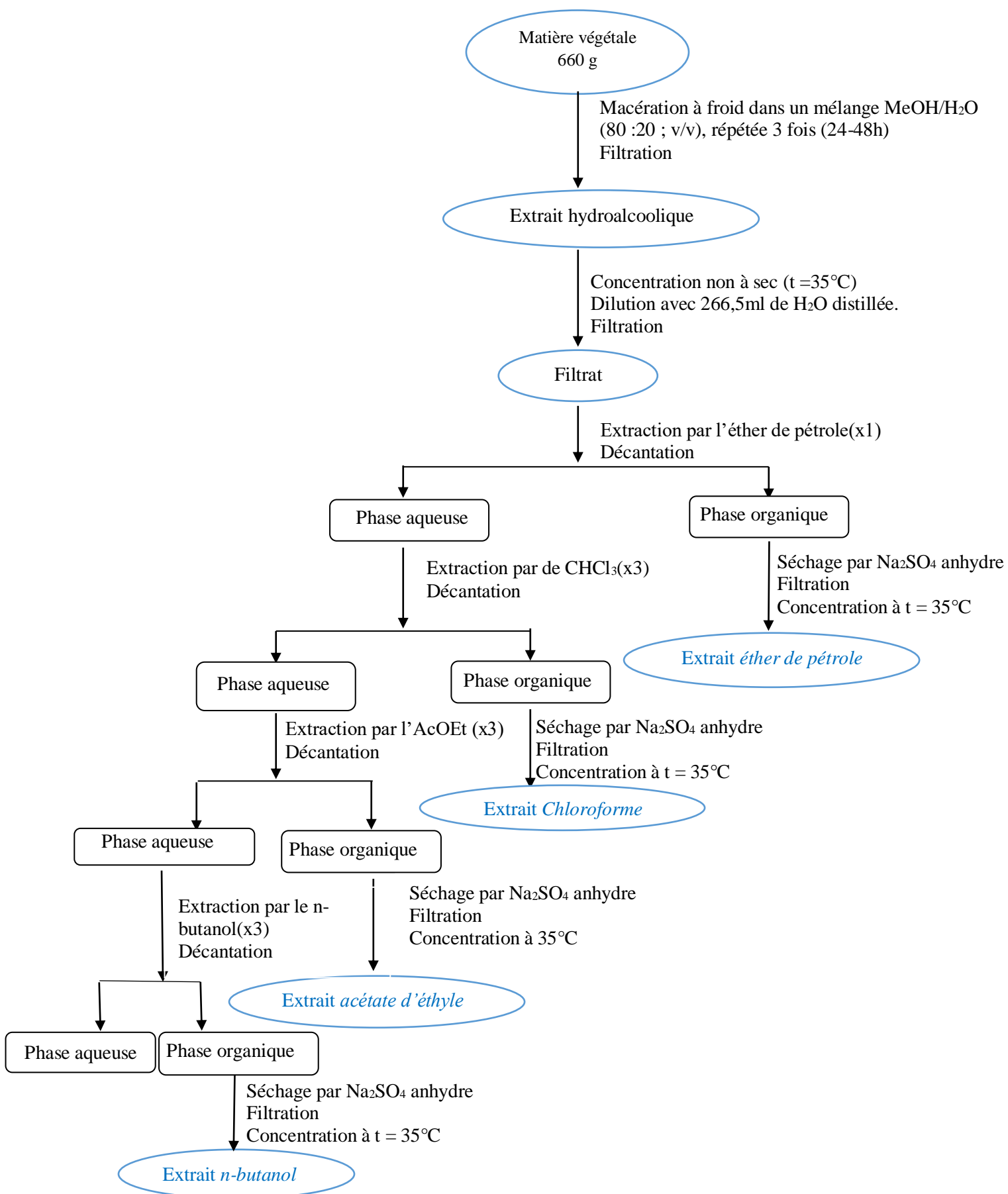


Figure II.2 : Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes de *Centaurea microcarpa*

Les quatre phases organiques ainsi obtenus (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) sont séchées par du sulfate de sodium anhydre, puis filtrées, concentrés à sec sous pression réduite, pesées et les rendements sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau II-1 : Rendement de l'extraction

Matériel végétal	Extrait	Masse	Rendement
660 g	Ether de pétrole	2,40g	0,36 %
	Chloroforme	2,54g	0,37 %
	Acétate d'éthyle	485 mg	0,072 %
	<i>n</i> -butanol	7g	1,05%

II-7. Séparation et purification de l'extrait chloroforme de *Centaurea microcarpa*

Avant d'entamer la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait chloroforme, nous avons procédé à des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice déposées sur une feuille d'aluminium, la meilleure séparation obtenue était avec le système de solvant hexane/ acétate d'éthyle 1/1, et en terminant par le méthanol.

L'extrait chloroforme qui pèse 2,54 g a subi une chromatographie sur colonne de gel de silice avec le système de solvant hexane/ acétate d'éthyle à gradient de polarité croissante.

Les plaques sont visualisées sous lumière UV ($\lambda=254$ et 365 nm) puis révélées par les vapeurs de l'ammoniac ou par l'anisaldéhyde. Les pots de même composition sont rassemblés, on obtient ainsi 28 fractions. Le tableau II-2 rassemble les résultats de cette colonne.

Tableau II.2 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait chloroforme de *Centaurea microcarpa*

Lot de fractions	N° de la fraction	Système d'élution			Observations
		% hexane	% Acétate d'éthyle	% MeOH	
1-48	F1	100	0	0	Mélange complexe
49-67	F2	95	5	0	Mélange séparable + précipité
68-97	F3	95	5	0	"
98-110	F4	90	10	0	Mélange séparable
111-135	F5	90	10	0	"
136-146	F6	90	10	0	"
147-166	F7	85	15	0	"
167-176	F8	85	15	0	Mélange séparable
177-195	F9	85	15	0	"
196-243	F10	80	20	0	"
244-267	F11	75	25	0	Mélange séparable mai à faible quantité
268-283	F12	75	25	0	"
284-292	F13	75	25	0	"
293-330	F14	70	30	0	"
331-341	F15	70	30	0	"
342-390	F16	65	35	0	"
391-410	F17	60	40	0	Mélange séparable
411-439	F18	60	40	0	"
440-450	F19	50	50	0	"
451-488	F20	50	50	0	Mélange complexe
489-499	F21	40	60	0	"
500-537	F22	30	60	0	Mélange séparable + précipité
538-585	F23	30	70	0	"
586-634	F24	20	80	0	"
635-644	F25	10	90	0	Mélange complexe
645-698	F26	0	100	0	"
699-746	F27	0	100	0	"
747-755	F28	0	0	100	Trainée

II-8. Etude de fractions de l'extrait chloroforme de *Centaurea microcarpa***II-8-1. Etude des fractions (F2 et F3)**

Dans le mélange des deux fractions F2 et F3 (7.7mg), on a observé la présence d'un précipité blanc après filtration et lavage avec plusieurs solvants de différentes polarités, on a pu obtenir 3 mg du produit **F3**. Sous forme d'une poudre blanche amorphe soluble que dans le DMSO.

II-8-2. Etude des fractions (F8-F10)

Le mélange des trois fractions F8, F9 et F10 de masse 39 mg a été soumis à la chromatographie sur plaques préparatives de gel de silice HF254 éluées par le système *n*-hexane/acétate d'éthyle (9/1), donne (15mg) d'un produit pur que nous notons **F-9**. Celui-ci se présente sous forme d'une poudre blanche amorphe, soluble dans le chloroforme et dans les solvants apolaires, Ce produit n'absorbe pas sous la lumière UV, sa couleur après révélation avec l'anisaldéhyde est violette.

II-8-3. Etude des fractions (F17-F19)

La chromatographie sur des plaques préparatives de gel de silice avec comme système d'élution acétate d'éthyle/ *n*-hexane (9/1) du mélange des trois fractions F17, F18 et F19, a permis l'obtention d'un produit pur sous forme d'une poudre blanche **F28-M** (14 mg).

II-8-4. Etude des fractions (F22 et F23)

Dans le mélange des deux fractions F22 et F23 (125mg) on a observé la présence d'un précipité blanc, après filtration et lavage avec plusieurs solvants de différente polarité, on a pu obtenir un produit pur **F33** (10mg).

L'organigramme suivant rassemble les étapes de séparation et de purification.

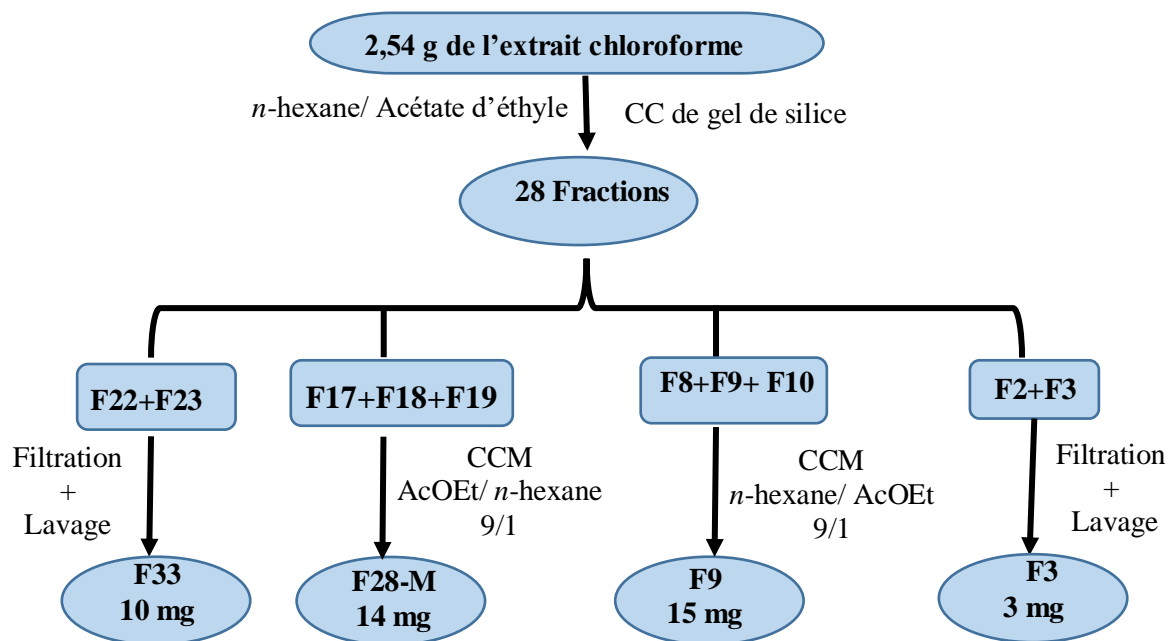


Figure II.3: Schéma de séparation de l'extrait chloroforme de *C. microcarpa*

Conclusion :

L'extrait chloroforme des parties aériennes de *Centaurea microcarpa* a mené à la séparation et la purification de 4 produits à l'état natif, ces produits sont : **F3**(3 mg), **F9** (4,3 mg), **F28-M**(14mg) et **F33**(10 mg).

II-9. Séparation chromatographique et purification des composés de l'extrait acétate d'éthyle de *Centaurea microcarpa*

L'extrait acétate d'éthyle est soumis à des fractionnements successifs par différentes méthodes chromatographiques conduisant à l'isolement de plusieurs produits purs. Dans la première étape, l'extrait a été soumis à une chromatographie d'absorption sur colonne de gel de silice 60 (70-230 mesh).

Une masse de 485 mg de l'extrait est dissoute dans le méthanol puis additionné à quelques grammes de gel de silice puis évaporé à sec afin d'obtenir un solide sous forme de poudre. Le mélange est déposé sur une colonne de gel de silice avec comme système d'élution chloroforme/méthanol avec un gradient croissant de polarité. Les fractions sont recueillies et analysées par chromatographie sur couche mince CCM, en utilisant divers systèmes d'élution.

Les plaques sont examinées sous UV (254 et 365 nm), puis révélées à l'ammoniac ou l'anisaldéhyde additionné à l'acide sulfurique et chauffées à plus de 100°C, pendant quelques minutes. Les fractions similaires sont réunies, évaporées et pesées, donnant ainsi 33 fractions. Les résultats de l'opération sont regroupés dans le tableau II-3

Tableau II.3 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle de *C. microcarpa*

Lot de fractions	N° de la fraction	Système d'éluion		
		% CHCl ₃	% MeOH	Observations
1-44	F1	100	0	Mélange complexe
45-70	F2	95	5	"
71-99	F3	95	5	"
100-120	F4	90	10	"
121-130	F5	90	10	"
131-149	F6	90	10	"
150-195	F7	85	15	Mélange séparable
196-215	F8	80	20	Mélange séparable
216-255	F9	80	20	"
256-305	F10	75	25	Mélange séparable
306-349	F11	70	30	"
350-355	F12	70	30	Mélange complexe
356-399	F13	65	35	Mélange séparable
400-405	F14	65	35	Mélange complexe
406-422	F15	60	40	"
423-456	F16	60	40	Mélange séparable
457-470	F17	55	45	"
471-506	F18	55	45	"
507-555	F19	50	50	"
556-565	F20	50	50	"
567-600	F21	45	55	Mélange séparable
601-617	F22	45	55	Mélange complexe
618-650	F23	40	60	"
651-667	F24	40	60	Mélange complexe
668-699	F25	35	65	"
700-717	F26	35	65	"
718-755	F27	30	70	"
756-767	F28	30	70	"
768-819	F29	25	75	"
820-870	F30	20	80	Mélange complexe
871-920	F31	15	85	"
921-970	F32	10	90	"
971-1020	F33	0	100	Traînée

II-10. Etude de fractions de l'extrait acétate d'éthyle de *Centaurea microcarpa***II-10-1. Etude de la fraction F7**

La fraction F7 (8,2 mg) a subi une séparation sur plaque de gel de silice 60 sur support aluminium élué par le système CHCl₃/ MeOH (9/1) menant au composé F7 (3,2 mg), lequel révélé avec de l'ammoniac, donne une coloration jaune caractéristique d'un flavonoïde.

II-10-2. Etude de la fraction F10

La fraction F10 (7,8 mg) renferme un produit majoritaire mais à faible quantité. Pour cette raison, cette fraction a été chromatographiée sur une plaque analytique de gel de silice 60 avec le système CHCl₃/ MeOH dans les proportions respectives (8/2), cette étude a mené à (4,3 mg) du produit **F27mcf** à l'état pur et natif. Il donne une coloration jaune orange sous lumière de Wood. Sa révélation par l'ansaldehyde donne une coloration orange.

II-10-3. Etude de la fraction F11

Environ 8,7 mg de la fraction F11 ont subi une séparation sur plaque analytique de gel de silice 60 éluées par le système CHCl₃/ MeOH (8/2), pour donner 4 mg du produit **F27mcf** sous forme de poudre blanche. Ce dernier montre une coloration jaune noire sous la lampe de Wood. Sa révélation par l'ansaldehyde donne une coloration verte.

II-10-4. Etude de la fraction F13

L'étude de la fraction F13 (9,7 mg) par chromatographie sur plaque de gel de silice 60 sur support aluminium avec le système d'éluion CHCl₃/ MeOH (7/3), a permis l'obtention d'un produit **F13** à l'état pur et natif (3,9 mg), révélé avec de l'ammoniac, il donne une coloration jaune caractéristique d'un flavonoïde.

II-10-5. Etude de la fraction F21

La chromatographie sur plaque de gel de silice 60 sur support aluminium de la fraction F21 (10,9 mg) par le système CHCl₃/ MeOH (8/2), a permis d'isoler un produit pur **F21** (4,8 mg), testé par l'ammoniac, il donne une coloration jaune caractéristique d'un flavonoïde.

L'organigramme suivant rassemble les étapes de séparation et de purification.

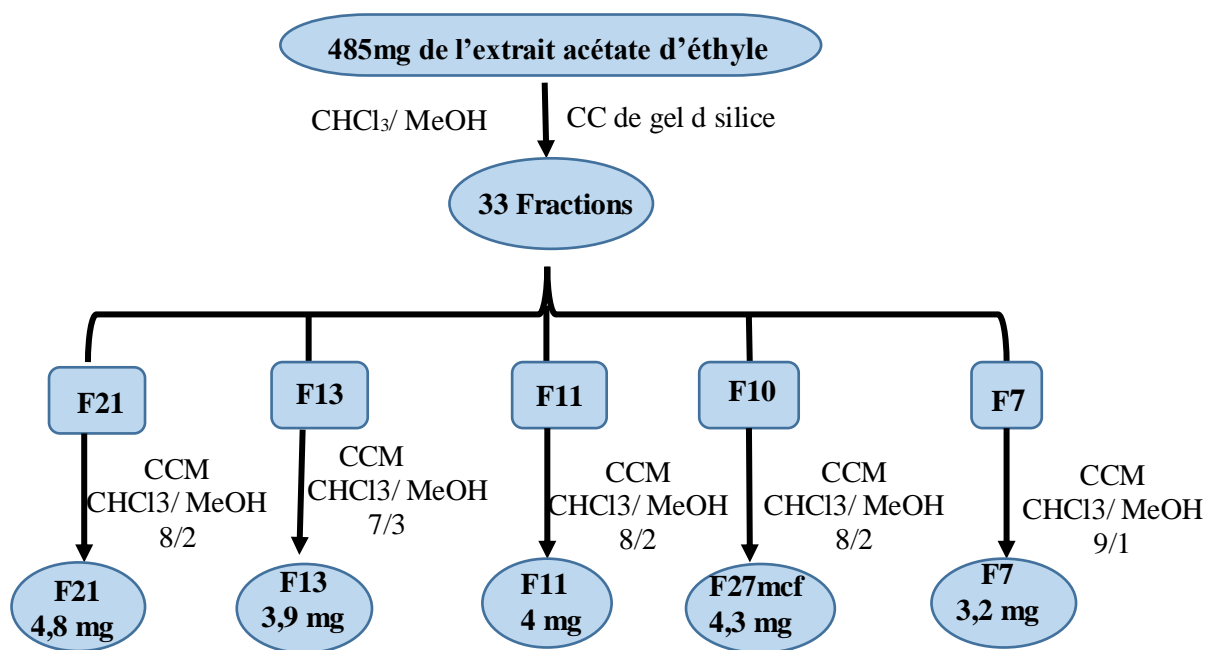


Figure II.4: Schéma de séparation de l'extrait acétate d'éthyle de *C. microcarpa*

Conclusion :

L'extrait acétate d'éthyle des feuilles et fleurs de *Centaurea microcarpa* a mené à la séparation et la purification de 5 produits à l'état natif, ces produits sont : **F7** (3,2 mg), **F27mcf** (4,3 mg), **F11** (4 mg), **F13** (5 mg), et **F21** (4,8 mg).

Les produits isolés des extraits chloroforme et acétate d'éthyle de cette espèce ont été soumis aux analyses spectroscopiques afin d'élucider leurs structures.

Références bibliographiques

- [1]. Chritensen, L. P. and Lam, J. (1991). *Phytochemistry*, 30, 2663
- [2]. Seghiri, R. Mekkiou, O. Boumaza, S. Benayache F., P. Mosset, J. Quintana, F. Estéver, F. Leon, J. Bermejo and F. Benayache. (2009). Flavonoid with Cytotoxic Activity and other constituents from *Centaurea africana*. *Phytochem. Lett.*
- [3]. Karamenderes, C., Bedir, E., Pawar, R., Baykan, S., Khan, I., A., (2007), Elemanolide sesquiterpenes and eudesmane sesquiterpene glycosides from *Centaurea hierapolitana*. *Phytochemistry*68, 609-615
- [4]. Bentamène, A., Crech, J., Petit, G., Bermejo-Barrera, J., Benayache, S., Benayache, F. (2005). A new guaianolide and other sesquiterpene lactones from *Centaurea caulis* L. (Asteraceae). *Bioche. Syst. Ecol.* 33, 1061.
- [5]. Quezel, P. and Santa, S. (1963), Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1 C.N.R.S. Paris.
- [6]. Louaar, S., Achouri, A., Lefahal, M., Laouer, H., Medjroubi, K., Duddeck, H., Akkal, S., (2011). Flavonoids from Algerian endemic *Centaurea microcarpa* and their chemotaxonomical significance. *Natural product communications.* 6(11), 1603-1604.
- [7]. Louaar, S., Zellagui, A., Gherraf, N., Medjroubi, K., Derbre, S., Seguin, E., Laouer, H., Akkal, S., (2014). Antiradical Activity of Flavonoids from the Algerian Native Plant: *Centaurea microcarpa* Coss. et Dur., *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 4:3, 249-253.

Chapitre III

Résultats et discussion

III- Identification des produits isolés de *Centaurea microcarpa*

III-1 : Identification des produits isolés de l'extrait chloroforme de *C. microcarpa*

III-1-1 : Elucidation structurale du composé F3

Le spectre *J*mod (Spectre III-1) du produit F3 montre la présence de 15 atomes de carbone que nous pouvons répartir comme suit :

2 carbonyles dont :

- un à $\delta_C = 203,8$ ppm caractéristique d'un aldéhyde.
- un à $\delta_C = 178,6$ ppm caractéristique d'un carbonyle d'une γ -lactone sesquiterpénique α, β -saturée.

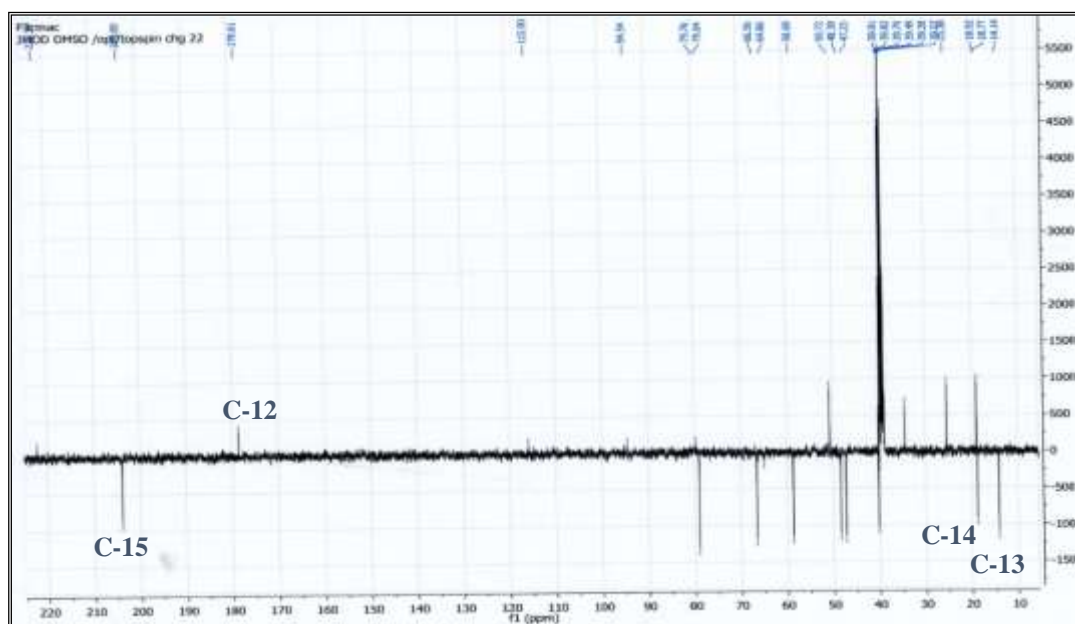
1 carbone quaternaire à $\delta_C = 34,4$ ppm attribuable à un carbone hybridé sp^3 et non oxygéné.

6 groupements CH dont :

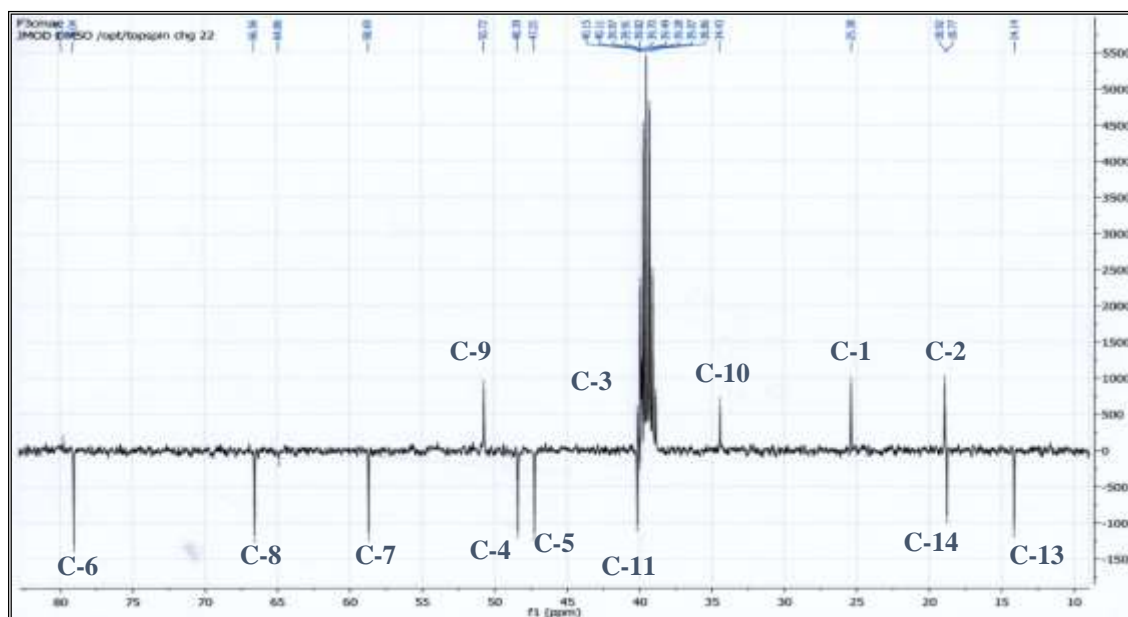
- deux oxygénés à $\delta_C = 66,5$ et $79,0$ ppm.
- quatre non oxygénés à $\delta_C = 58,6$; $48,3$; $47,2$; $40,1$ ppm.

4 groupements CH_2 non oxygéné à $\delta_C = 50,7$; $40,1$; $25,3$; $18,9$ ppm.

2 groupements CH_3 à $\delta_C = 18,7$ et $14,1$ ppm.



Spectre III-1 : Spectre *J*mod (100 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) du composé F3

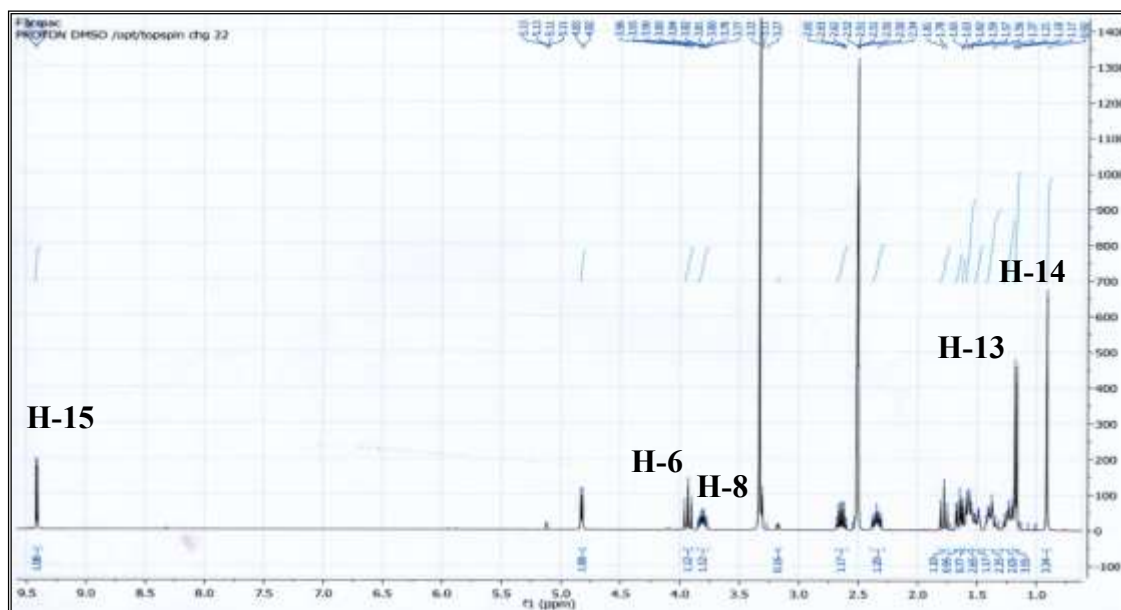


Spectre III-2 : Spectre J_{mod} étalé 80-10 (100 MHz, DMSO- d_6 , δ_{ppm}) du composé F3

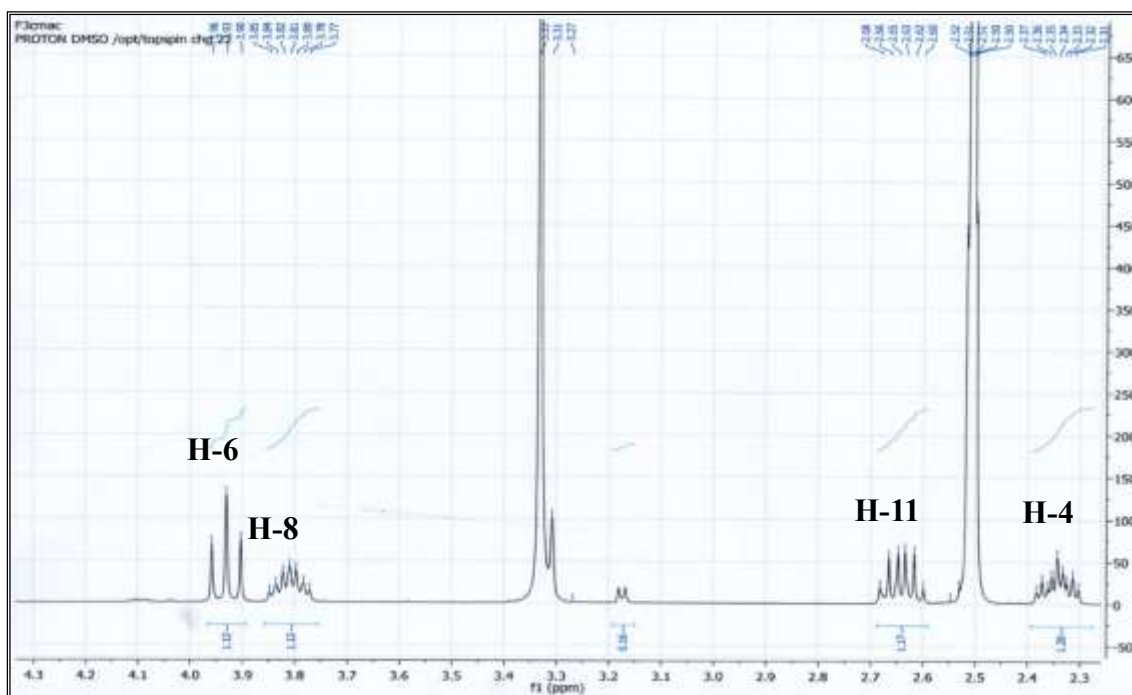
Un décompte de l'ensemble des noyaux formant ces groupements mène à une formule brute partielle de $C_{15}H_{21}O_4$. Comme cette molécule ne comporte que 15 atomes de carbone, cela suppose qu'ils sont tous engagés dans le squelette sesquiterpénique, par conséquent, un des deux groupements CH oxygénés précédemment signalés, est porteur d'un groupement hydroxyle, et l'autre appartient au cycle lactonique, cette observation mène à une molécule de formule brute totale $C_{15}H_{22}O_4$ comportant 5 insaturations. Comme elle comporte une fonction lactone et une fonction aldéhyde, il en résulte que cette lactone sesquiterpénique admet un squelette à deux cycle.

L'examen du spectre RMN ^1H (Spectre III-3) montre un singulet d'intégration 3H à $\delta_{\text{H}} = 0,92$ ppm, cette donnée ajoutée à la présence du carbone quaternaire à $\delta_{\text{C}} = 34,4$ ppm, attribuable par conséquent au carbone de la position C-10, oriente vers une structure portant un méthyle angulaire. Comme il s'agit d'un squelette sesquiterpénique bicyclique, il ne peut être que de type eudesmanolide.

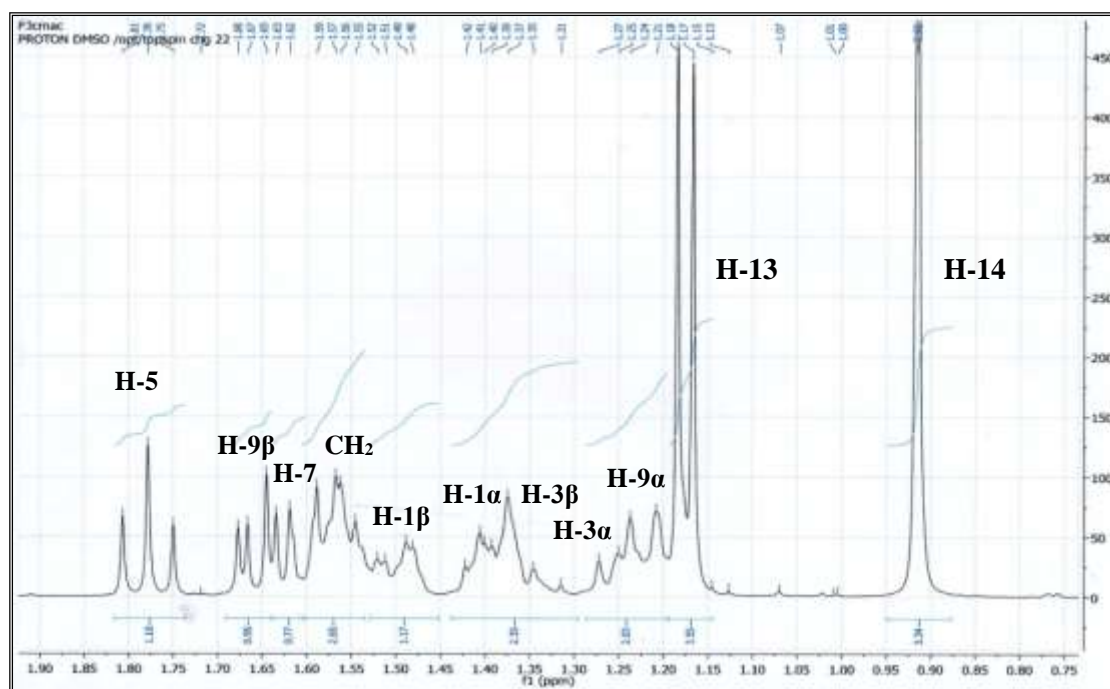
Le triplet à $\delta_{\text{H}} = 3,93$ ppm ($J = 12,0$ Hz) attribuable à H-6 et le doublet de triplet à $\delta_{\text{H}} = 3,81$ ppm ($J = 16,0 ; 4,0$ Hz) assigné à H-8 (Spectre III-4) confirme cette hypothèse [1-2].



Spectre III-3 : Spectre RMN¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆, δppm) du composé F3



Spectre III-4 : Spectre RMN¹H étalé 4.3-2.3 ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆, δppm) du composé F3



Spectre III-5 : Spectre RMN¹H étalé 1.90-0.75ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆, δppm)
du composé F3

L'attribution de H-6 permet grâce au spectre COSY (¹H-¹H) (Spectre III-6) de localiser le H-5 à δ_H = 1,78 ppm sous forme d'un triplet ($J = 12,0$ Hz), lequel mène à H-4 à δ_H = 2,34 ppm sous forme d'un multiplet, dont la corrélation avec le proton aldéhydique qui apparaît à δ_H = 9,43 ppm sous forme d'un doublet ($J = 4,0$ Hz) est nette sur ce spectre. Cette constatation placera le groupe aldéhyde en C-4, l'orientation α de ce groupe est déduite de la valeur de la constante de couplage $J_{4,15} = 4,0$ Hz [3]. Cette stéréochimie est également justifiée par l'allure du signal de H-5 sous forme de triplet de constante de couplage $J = 12,0$ Hz, montrant des orientations trans H-4/H-5 et H-5/H-6.

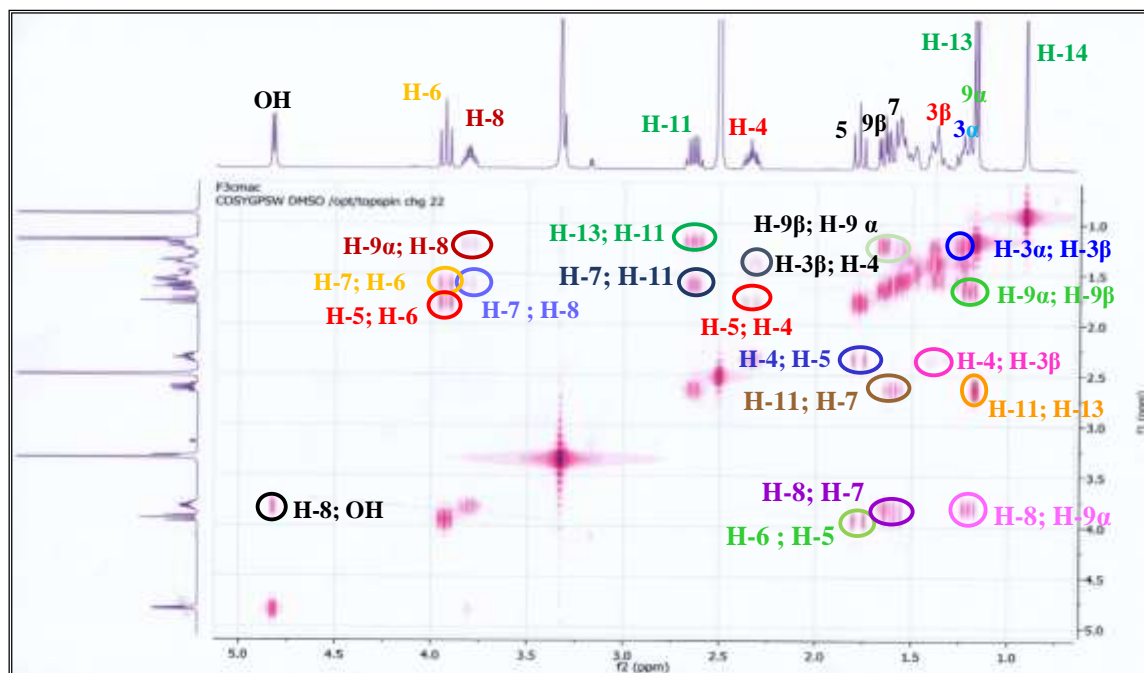
L'orientation H-6/ H-7 quant à elle est claire d'après le signal de H-6, l'orientation H-7/ H-11 est donnée par la valeur de la constante de couplage $J_{7,11} = 12$ Hz.

La multiplicité de H-11 sous forme d'un doublet de quadruplet à δ_H = 2,65 ppm (dq, $J = 12,0 ; 8,0$ Hz) localisée par l'intermédiaire de H-7 sur le spectre COSY (¹H-¹H) (Spectre III-6), montre qu'il est voisin d'un groupement méthyle. Soit les protons du carbone C-13 qui apparaissent par ailleurs sous forme d'un doublet à δ_H = 1,17 ppm ($J = 4,0$ Hz) [4].

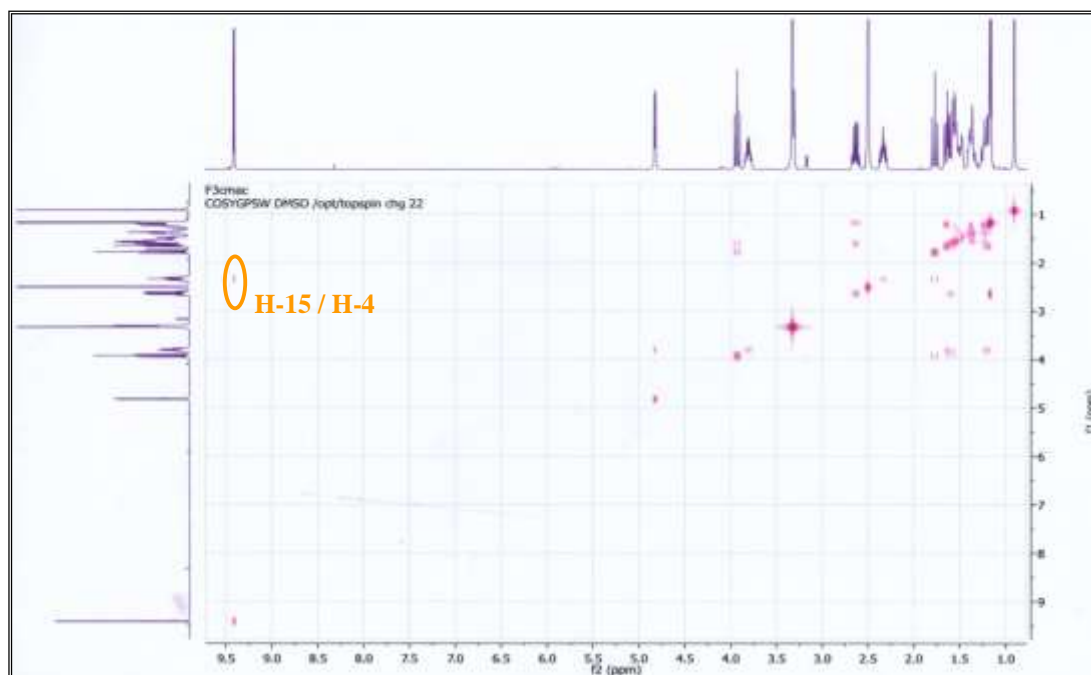
Le déplacement chimique de H-8 à δ_H = 3,81 ppm (ddd, $J = 16,0 ; 12,0 ; 4,0$ Hz) localisé par l'intermédiaire de H-7 sur le spectre COSY (¹H-¹H) (Spectre III-6) montre que ce proton est porté par un atome de carbone oxygéné. Le signal de ce carbone à δ_C = 66,5 ppm dans le spectre

J_{mod} justifie cette hypothèse. La disposition trans H-7/H-8 est déduite de la valeur de la constante de couplage $J_{7,8} = 12,0$ Hz.

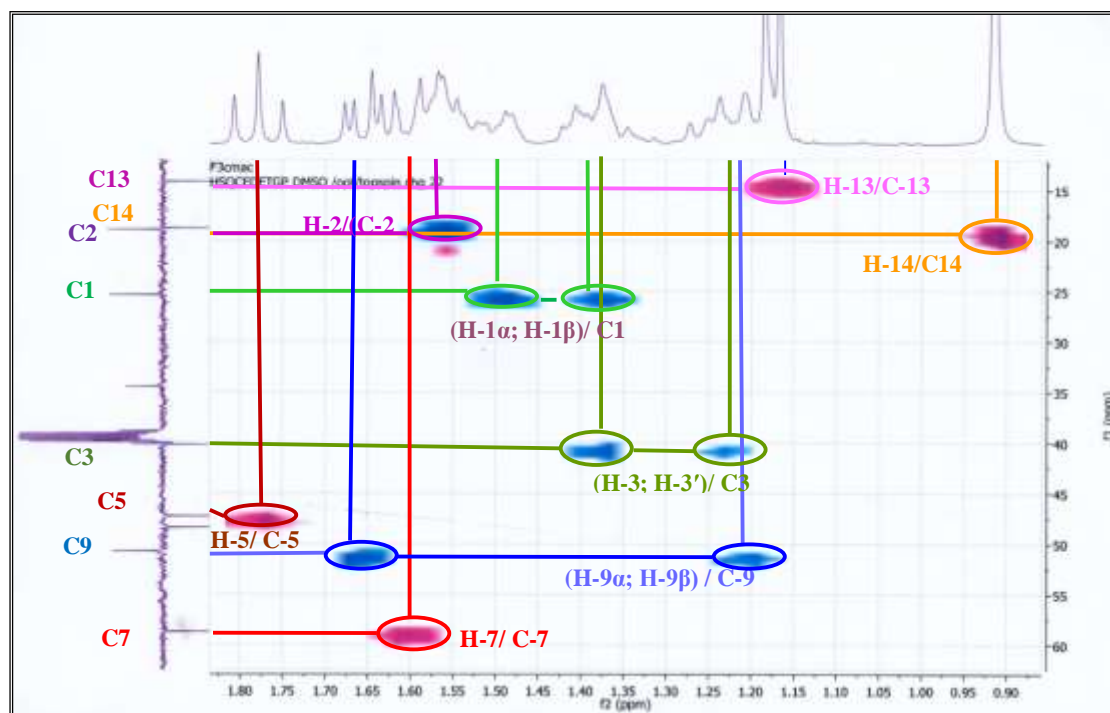
L'attribution de H-8 permet grâce au spectre COSY (^1H - ^1H) (Spectre III-6) de localiser H-9 α (H-9 α) à $\delta_{\text{H}} = 1,22$ ppm sous forme de doublet dédoublé ($J = 12,0 ; 4,0$ Hz) et H-9 β (H-9 β) à $\delta = 1,66$ ppm sous forme de doublet large ($J = 12,0$ Hz).



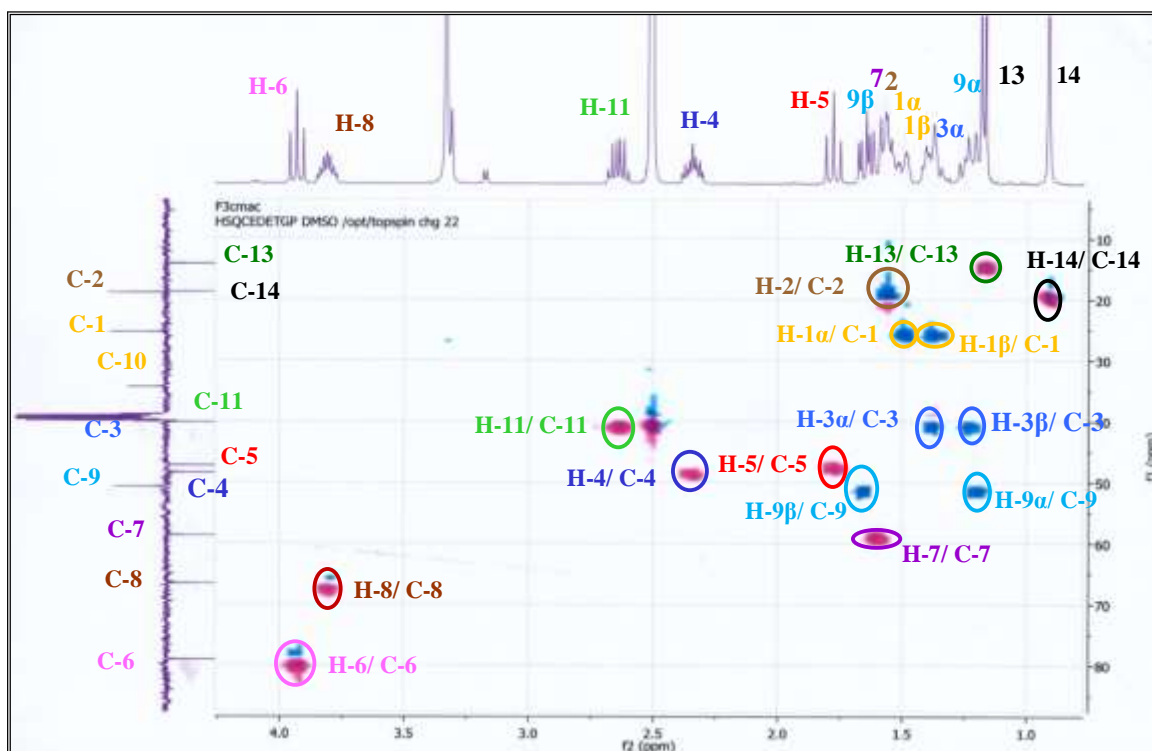
Spectre III-6 : Spectre COSY (^1H - ^1H) étalé 5.0-1.0 ppm (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé F3



Spectre III-7 : Spectre COSY (^1H - ^1H) (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé F3



Spectre III-8 : Spectre HSQC étalé 1.80-0.9 ppm (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm)
du composé F3



Spectre III-9 : Spectre HSQC étalé 4.0-1.0 ppm (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm)
du composé F3

La combinaison de l'ensemble de ces données mène à la formule plane reportée dans la figure III-1 :

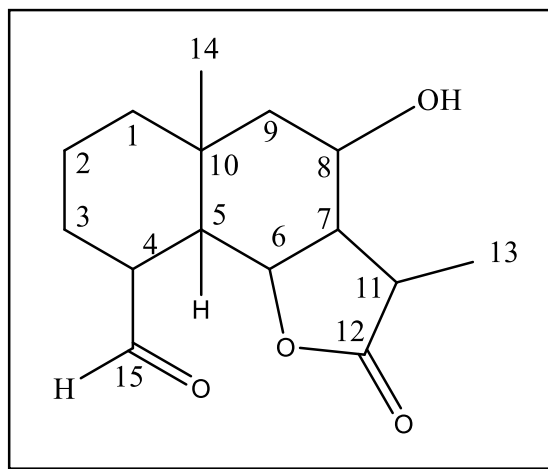
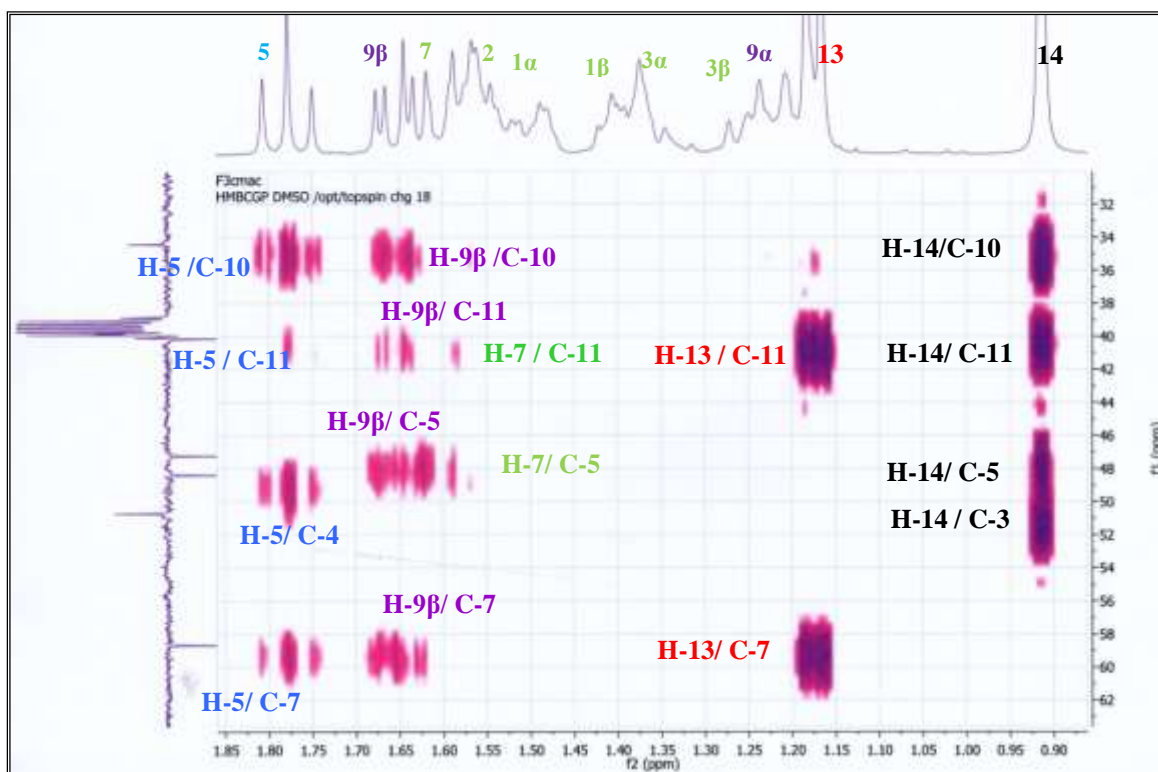


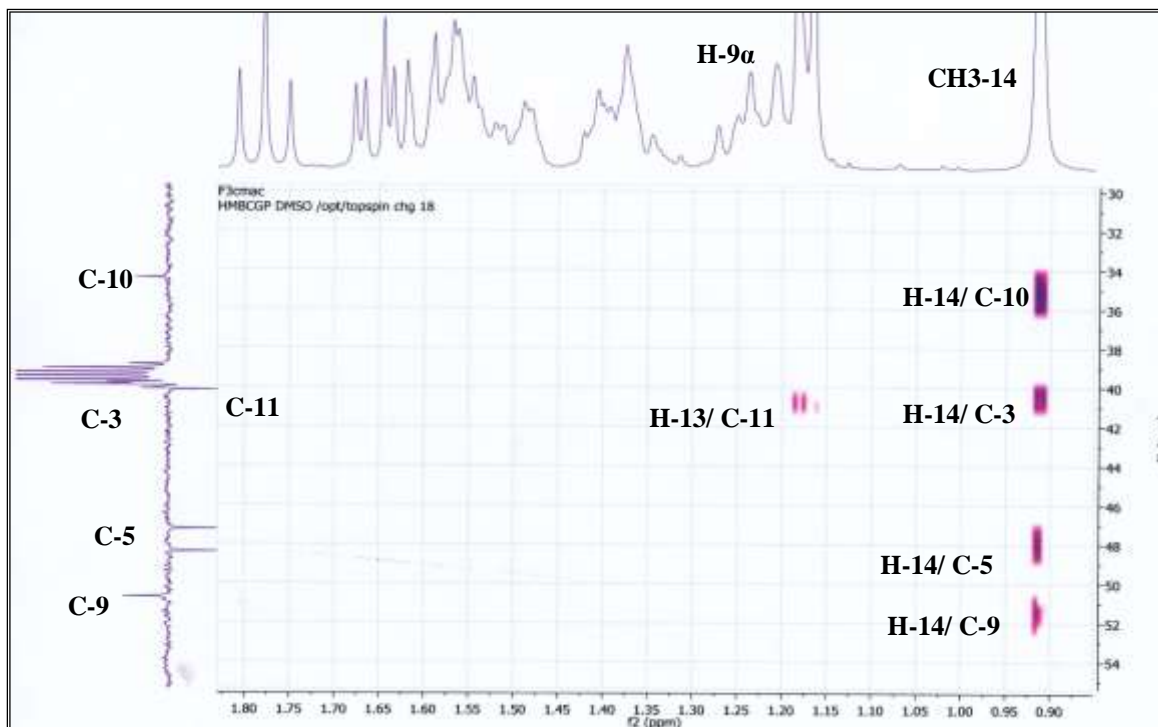
Figure III-1: Structure plane du composé (F3)

Selon le spectre HMBC et ses étalements (Spectre III-10, III-11, III-12, III-13), nous avons noté les signaux de corrélations entre :

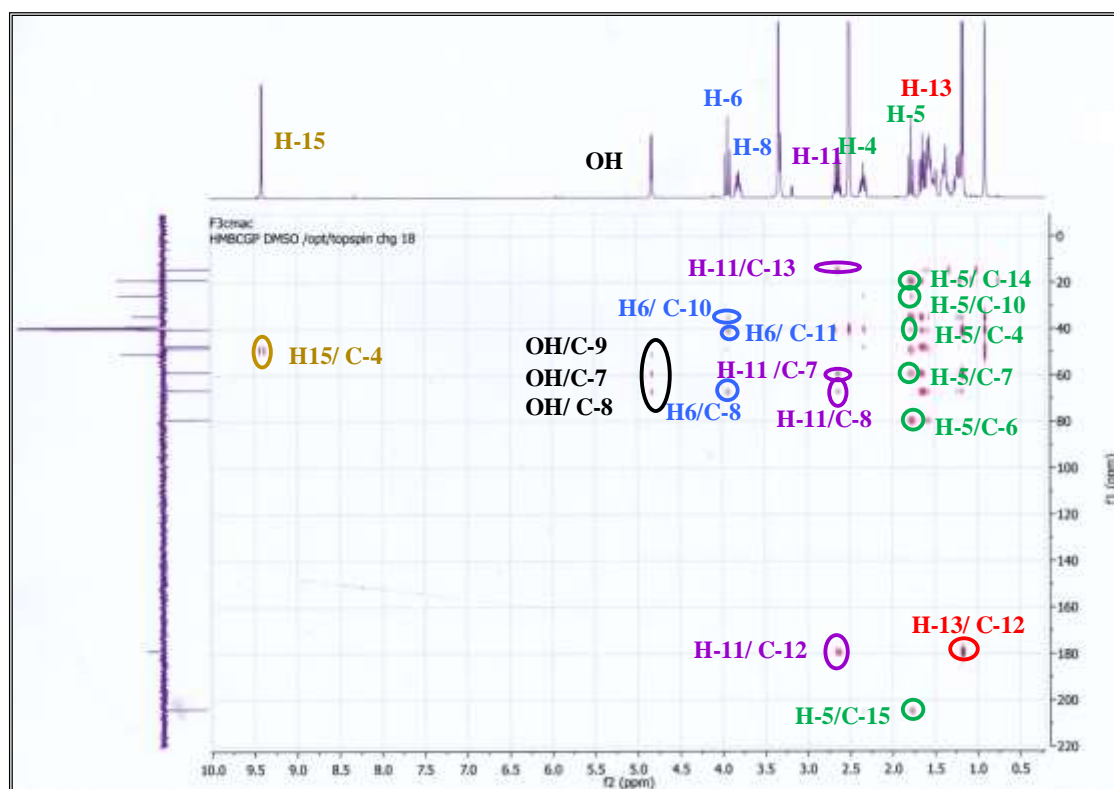
- ✓ Le méthyle CH₃-14 à $\delta_H = 0,92$ ppm avec les carbones C-5, C-9 et C-10 résonnants à $\delta_C = 47,2 ; 50,7 ; 34,4$ ppm respectivement.
- ✓ Le méthyle CH₃-13 à $\delta_H = 1,17$ ppm avec les carbones C-7, C-11 et C-12 résonnants à $\delta_C = 58,6 ; 40,1 ; 178,6$ ppm respectivement.
- ✓ Le proton H-4 à $\delta_H = 2,34$ ppm avec les carbones C-1, C-3, C-5, C-15 résonnants à $\delta_C = 25,3 ; 40,1 ; 47,2 ; 203,8$ ppm respectivement.
- ✓ Le proton H-5 à $\delta_H = 1,78$ ppm avec les carbones C-4, C-6, C-7, C-10, C-14 et C-15 résonnants à $\delta_C = 48,3 ; 79,0 ; 58,6 ; 34,4 ; 18,7 ; 203,8$ ppm respectivement.
- ✓ Le proton H-6 à $\delta_H = 3,93$ ppm et les trois carbones C-8, C-10 et C-11 résonnants à $\delta_C = 66,5 ; 34,4 ; 40,1$ ppm respectivement.
- ✓ Le proton H-7 à $\delta_H = 1,62$ ppm avec les carbones C-5, C-6, C-8, C-11 et C-13 résonnants à $\delta_C = 47,2 ; 79,0 ; 66,5 ; 40,1 ; 14,1$ ppm respectivement.
- ✓ Les protons H-9 β (équatorial) à $\delta_H = 1,66$ ppm avec les carbones C-5, C-7, C-8, C-10 et C-14 résonnants à $\delta_C = 47,2 ; 58,6 ; 66,5 ; 34,4 ; 18,7$ ppm respectivement.
- ✓ Le proton H-9 α (axial) à $\delta_H = 1,22$ ppm avec les carbones C-8, C-10 et C-14 résonnants à $\delta_C = 47,2 ; 58,6 ; 66,5 ; 34,4 ; 18,7$ ppm respectivement.
- ✓ Le proton H-11 à $\delta_H = 2,64$ ppm avec les carbones C-7, C-8, C-12, C-13 résonnants à $\delta_C = 58,6 ; 66,5 ; 178,6 ; 14,1$ ppm respectivement.



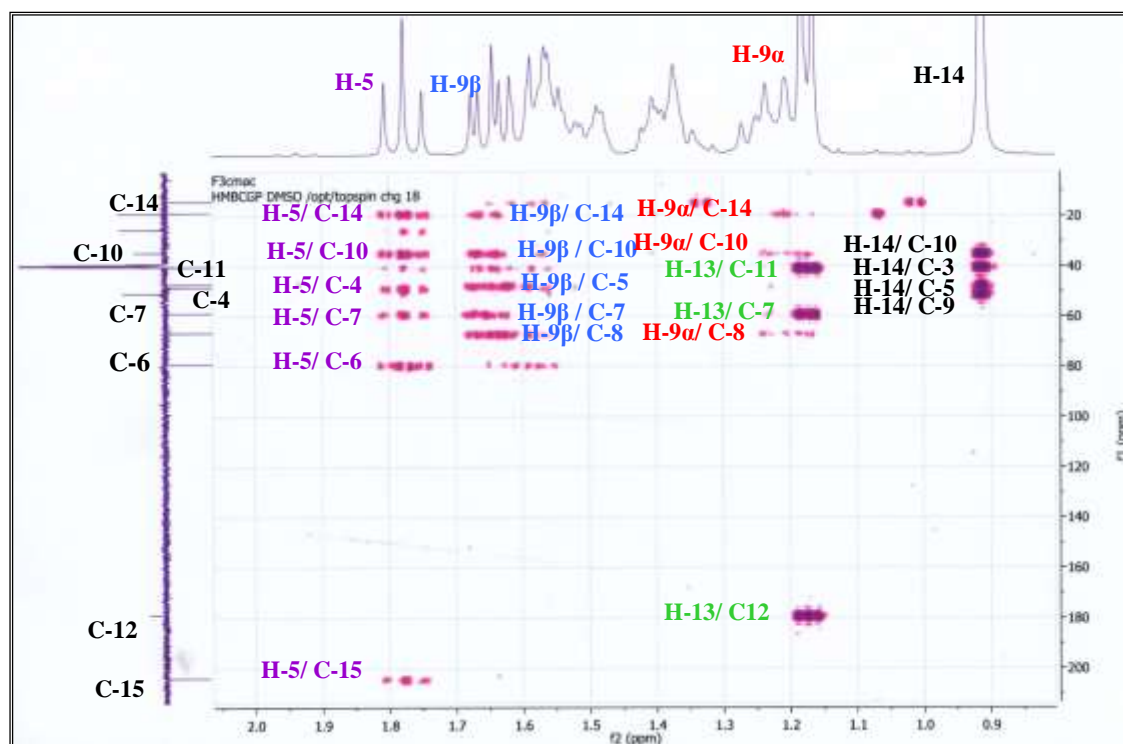
Spectre III-10 : Spectre HMBC étalé 1,85-0,9 ppm (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé F3



Spectre III-11 : Spectre HMBC étalé 1,85-0,9 ppm (400 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé F3



Spectre III-12 : Spectre HMBC (400 MHz, DMSO-*d*₆, δppm) du composé F3



Spectre III-13 : Spectre HMBC étalé 2,0 -0,9 ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆, δppm) du composé F3

La figure III-2 montre les corrélations HMBC du composé F3

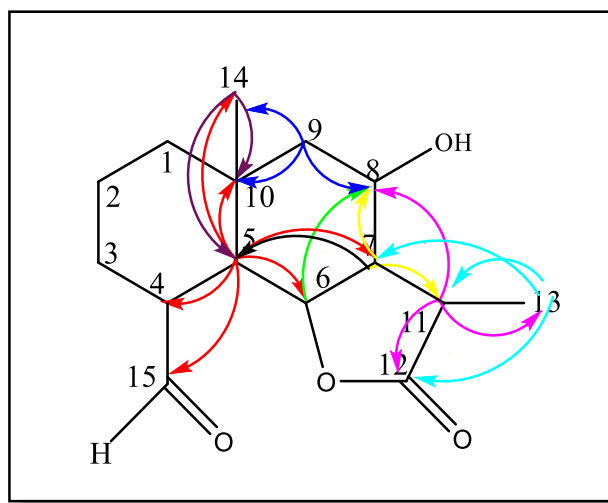


Figure III-2 : Corrélations HMBC du composé F3

Cette molécule renferme 7 centres asymétriques qui sont : C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-10 et C-11 :

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

- La stéréochimie de C-10 est déduite de la valeur du déplacement chimique du CH₃-14 (0,92 ppm) qui indique une position axiale de ce méthyle soit une orientation β de la liaison C-10 – C-14.

- La stéréochimie de C-8 est déduite de la valeur de la constante de couplage relevée dans le signal de H-9 axial (orientation α) qui montre une interaction de couplage vicinal de type axia-axial, orientant ainsi vers une stéréochimie β -H-8.

- La stéréochimie de C-4 est déduite de la valeur de la constante de couplage relevées dans le signal de H-5 sur forme de triplet $J = 12,0$ Hz, montrant des orientations *trans* H-4/H-5 et H-5/H-6 qui lui confère une orientation β .

- La stéréochimie de C-11 est déduite du signal de H-11 (dq, $J = 16,0 ; 8,0$ Hz), où il apparait clairement que H-11 et H-7 admettent une disposition *trans*, orientant ainsi vers une stéréochimie β -H-11.

- La stéréochimie de C-5, C-6 et C-7 est déduite des valeurs des constantes de couplage relevées dans les signaux de H-5, H-6 qui montrent des interactions *trans* diaxiales entre H-5, H-6 et H-6, H-7. Ceci confère des orientations α pour H-5, β pour H-6 et α pour H-7.

Ces dernières informations mènent à la structure finale du composé **F3** reportée dans la Figure III-3 : c'est une lactone sesquiterpénique de type eudesmanolide, portant un groupement hydroxyle en C-8 avec un C-15 sous forme de groupement formyle. Il est connu sous le nom de « 8 α -hydroxy-11 β , 13-dihydroonopordaldehyde » [5]. Ce produit a été isolé la première fois comme produit original de *Centaurea granata* L. [6] et nous l'avons isolé pour la première fois de *C. microcarpa*.

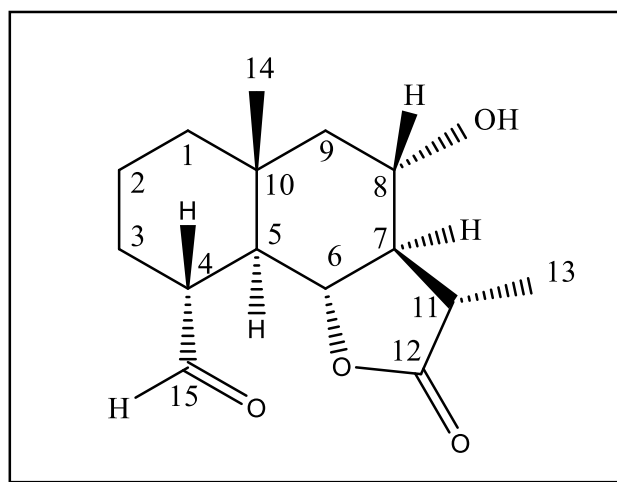


Figure III-3: Structure finale du composé (F3): 8 α -hydroxy-11 β , 13-dihydroonopordaldehyde

L'ensemble de ses éléments sont résumés dans les tableaux III-1 et III-2.

Tableau III-1 : Données spectroscopique RMN¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) du composé F3

¹³ C	Déplacement chimique δ _c (ppm)	DEPT et HSQC
1	25,3	CH ₂
2	18,9	CH ₂
3	40,1	CH ₂
4	48,3	CH
5	47,2	CH
6	79,0	CH
7	58,6	CH
8	66,5	CH
9	50,7	CH ₂
10	34,4	C _q
11	40,1	CH
12	178,6	CO
13	14,1	CH ₃
14	18,7	CH ₃
15	203,8	CHO

Tableau III-2 : Données spectroscopiques RMN¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) du composé F3

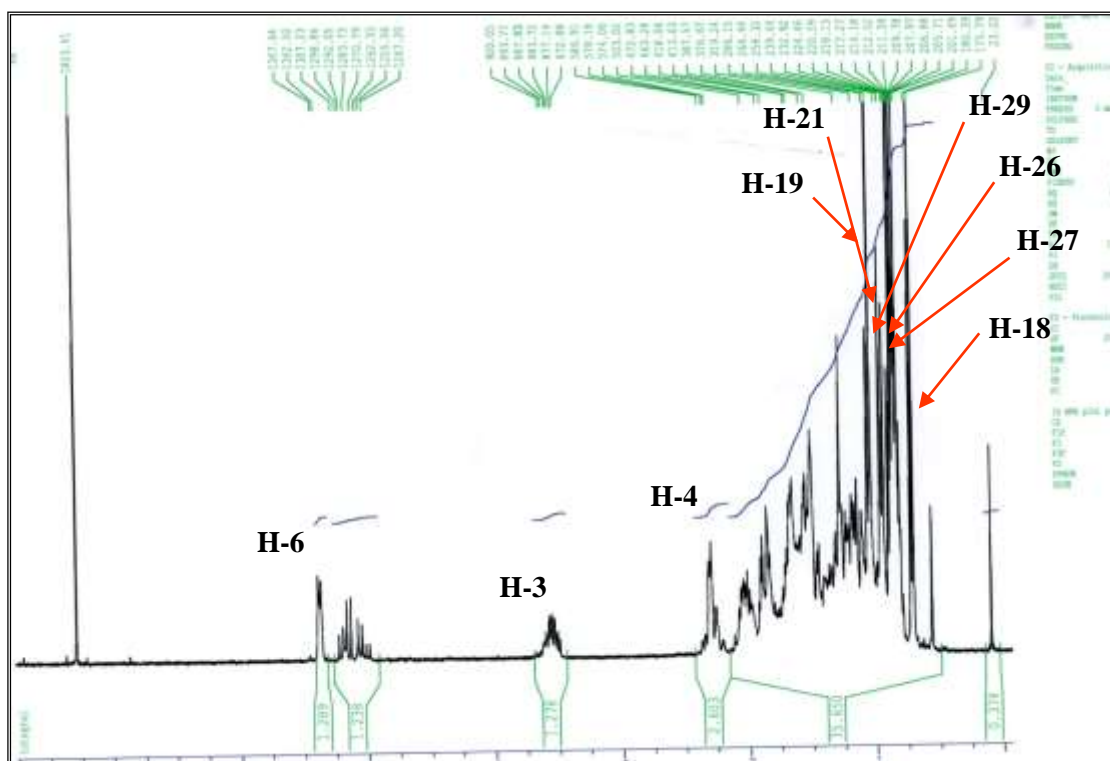
Position	Déplacement chimique δ_c (ppm)	Déplacement chimique δ_c (ppm) (J Hz) Multiplicité	HMBC	Couplage COSY (¹ H- ¹ H)
1 α	1,40	<i>m</i>	-	H-1 β
β 1	1,50	<i>dd</i> (12,0; 4,0)	-	H-1 α
2 α ,2 β	1,55	<i>m</i>	-	-
3 α	1,30	<i>m</i>	-	H-3 β
3 β	1,37	<i>m</i>	-	H-3 α , H-4
4	2,34	<i>m</i>	C1 C3C5C15	H-3 β , H-5, H-3 α
5	1,78	<i>t</i> (12,0)	C4 C6 C7 C10 C14 C15	H-4, H-6
6	3,93	<i>t</i> (12,00)	C8 C10 C11	H-5, H-7
7	1,62	<i>d</i> (12,0)	C5C6C8C11C13	H-8, H-11
8	3,81	<i>ddd</i> (16,00;12,0;4,0)	-	H-7, H-9 α , H-9 β
9 α	1,22	<i>dd</i> (12,0; 4,0)	C8 C10 C14	H-8, H-9 β
9 β	1,66	<i>dl</i> (12,0)	C5C7C8 C10 C14	H-8, H-9 α
11	2,64	<i>dq</i> (16,0; 8,0)	C7 C8 C12C13	H-13 ; H-7
13	1,17	<i>d</i> (4,0)	C7C11 C12	H-11
14	0,92	<i>s</i>	C5 C9 C10	-
15	9,41	<i>d</i> (4,0)	C4	H-4
OH-8	4,81	<i>d</i> (4,0)	C7 C8 C9	H-8

III-1-2 : Elucidation structurale du composé F9

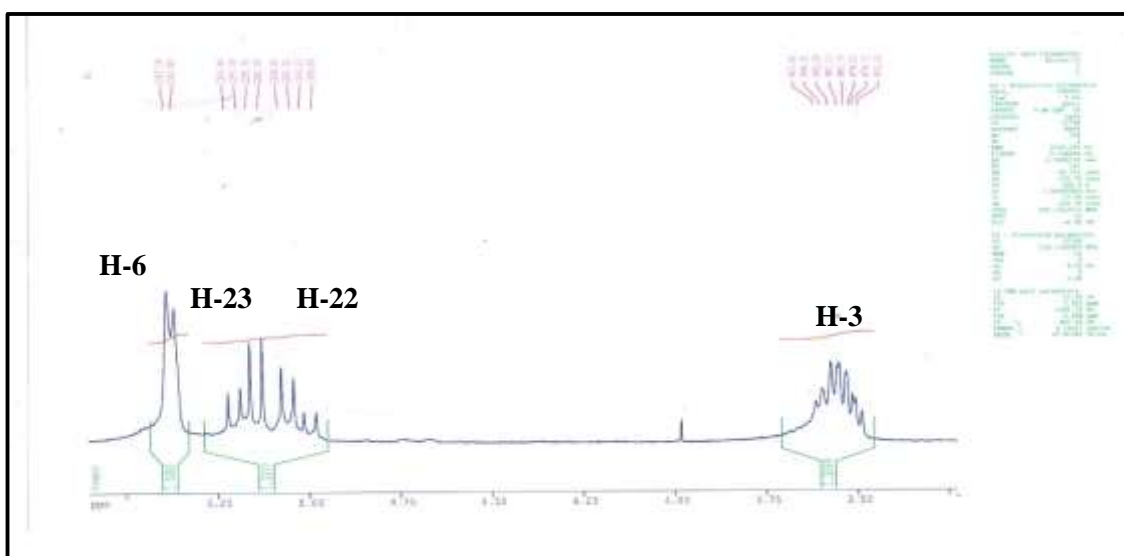
L'examen du spectre RMN ¹H de ce produit (Spectre III-14) et son étalement (Spectre III-15) enregistré dans CDCl₃ montre :

- ✓ Un singulet large à $\delta_H = 5,37$ ppm d'intégration 1H correspondant au proton éthylénique connu avec la numérotation H-6.
- ✓ Un multiplet d'intégration 1H à $\delta_H = 3,35$ ppm correspondant à un proton sur un carbone oxygéné, notamment le H-3 d'un stérol.
- ✓ Un singulet à $\delta_H = 0,70$ ppm d'intégration 3H attribuable au méthyle 18.

Deux doublets et un triplet superposés d'intégration 9H centrés à 0.80 ppm, 0.86 ppm et 0.94 ppm correspondant aux deux méthyles isopropyliques (CH₃-27, CH₃-26) qui sont diastéréotopiques et par conséquent magnétiquement non équivalents et au méthyle du groupement éthyle (CH₃-29) respectivement.



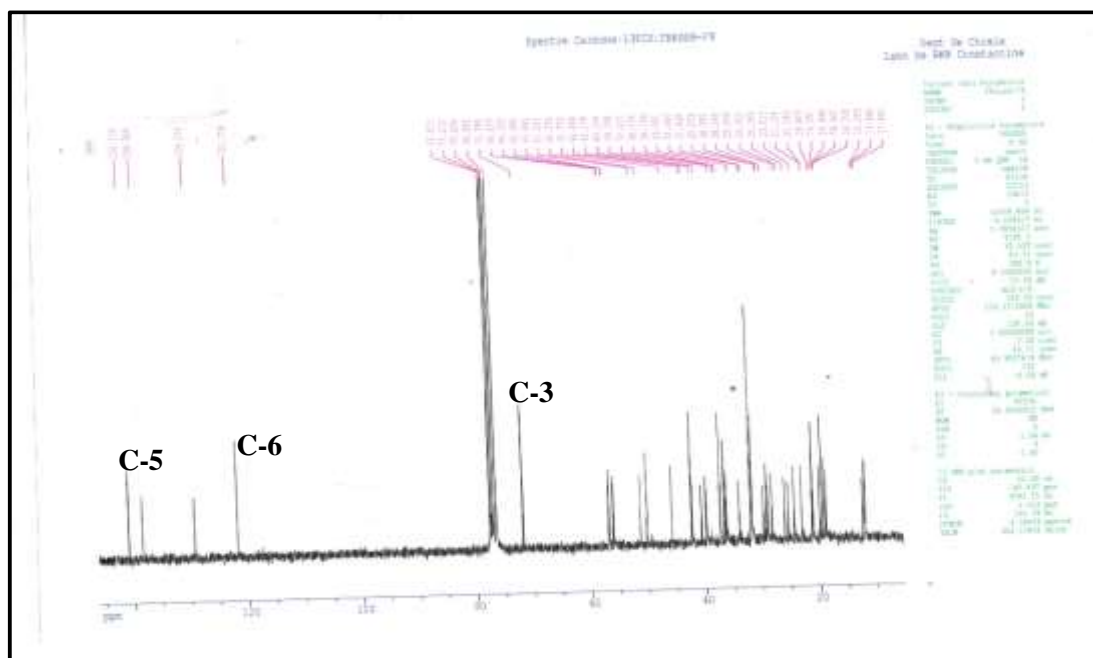
Spectre III-14 : Spectre RMN¹H (250 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F9



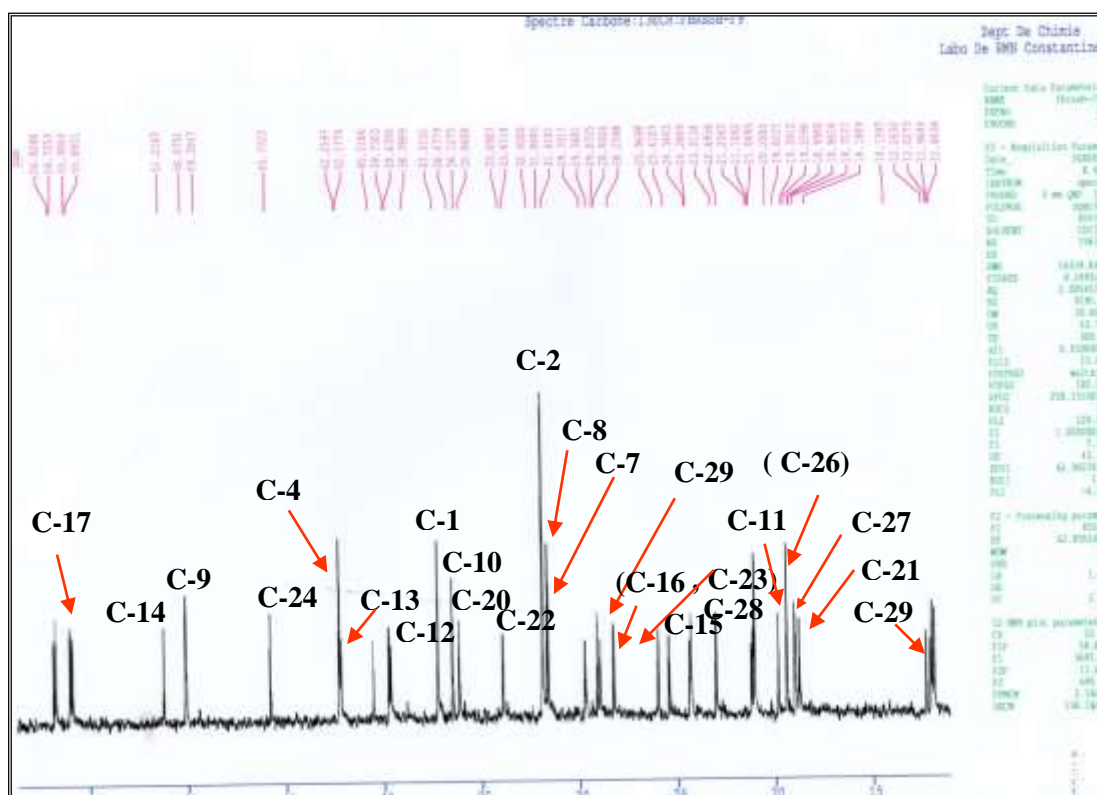
Spectre III-15 : Spectre RMN¹H étalé 5,50- 3,25 ppm (250 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F9

Le spectre RMN ¹³C et son étalement confirment la présence de la double liaison trisubstituée par les signaux à $\delta_c = 140,7$ ppm, relatif à un carbone éthylénique quaternaire (C-5) et à $\delta_c = 121,7$ ppm relatif à un CH éthylénique (C-6), ainsi que la présence d'un CH oxygéné à $\delta_c = 71,8$ ppm relatif au carbone portant la fonction alcool (C-3). Les valeurs des déplacements

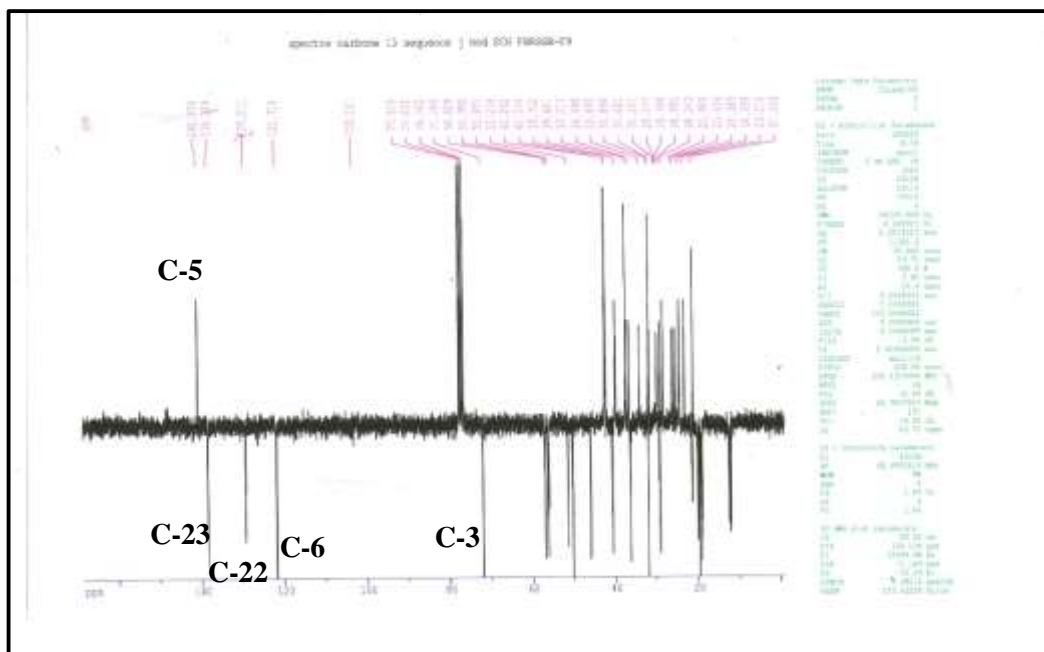
chimique sont caractéristiques des positions attribuées.



Spectre III-16 : Spectre RMN¹³C (62.5 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F9



Spectre III-17 : Spectre RMN¹³C étalé 60 -10 ppm (62.5MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F9



Spectre III-18 : Spectre *J* mod (62.5 MHz, CDCl₃, δ ppm) du composé F9

Une lecture attentive du spectre proton (Spectre III-15) montre une intégration d'environ 1.52 pour le signal relatif à H-6, alors que cette intégration est d'environ 1.33 pour les deux signaux relatifs à H-22 et H-23. Un simple calcul mené sur les intégrales des signaux des protons montre qu'il s'agit d'un mélange d'environ 56 % de β-Sitostérol et 44 % stigmastérol.

Ceci est confirmé par l'étude du spectre RMN ¹³C (Spectre III-17) et *J* mod (Spectre III-18) qui montre la présence de signaux correspondants aux 4 carbones oléfiniques C-5 et C-6 des deux stéroïdes ainsi qu'à ceux présents dans la chaîne latérale en position C-22 et C-23 du stigmastérol à δ_C= 140,7 ; 121,7 ; 129,2 et 138,3 ppm respectivement. Les autres valeurs de tous les signaux comparés à celles trouvées dans la littérature ont conduit à un mélange de deux stéroïdes : le β-sitostérol et le stigmastérol. [7-9]

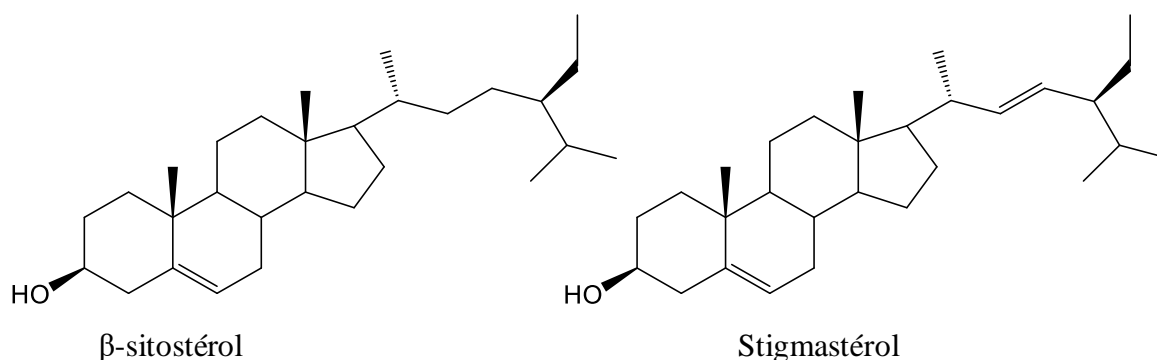


Figure III-4: structure du mélange du F9 (β-sitostérol et Stigmastérol.)

Ces composés font partie des stérols largement répandus dans le règne végétal [9]. Le stigmastérol a été isolé à partir de nombreuses plantes jusqu'à ce jour et évalués pour de nombreuses activités pharmacologiques et biologiques, à savoir : L'activité anti-arthrosique, l'activité antihypercholestérolémiques, la cytotoxicité, l'anti-tumorale, l'activité antioxydante, l'activité hypoglycémique et l'effet sur la thyroïde, l'activité antimutagène, l'activité antiinflammatoire [10]. De nombreuses études pharmacologiques devraient être menées pour évaluer le potentiel inexploité de ce constituant.

Les tableaux III-3 et III-4 rassemblent les données de la RMN¹H et RMN¹³C du mélange du composé F9.

Tableau III-3 : : Donnés spectroscopique RMN¹H (CDCl₃, 250 MHz) du mélange du composé F9

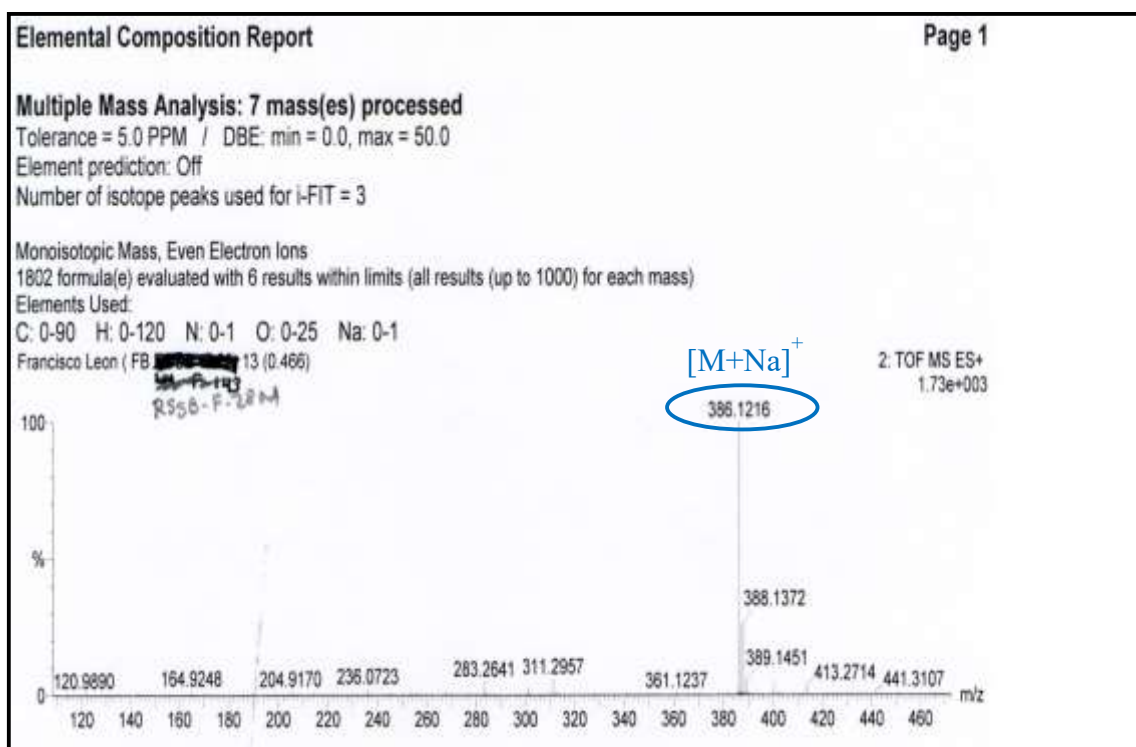
Déplacement chimique δ_c (ppm)	Intégration	Multiplicité (J HZ)	Attribution
5.37	1H	<i>s</i> large (5.14)	H-6
3.35	1H	<i>m</i>	H-3
2.32	2H	<i>d</i> large (6.65)	H-4
1.27	3H	<i>s</i>	CH ₃ -18
0.80	3H	<i>d</i> (5.87)	CH ₃ -27
0.86	3H	<i>d</i> (6.75)	CH ₃ -26
0.94	3H	<i>t</i> (6.48)	CH ₃ -29
1.05	3H	<i>d</i> (6.27)	CH ₃ -21
0.70	3H	<i>s</i>	CH ₃ -19
5.17	1H	<i>dd</i> (15.15, 8.3)	H-23
5.03	1H	<i>dd</i> (15.19, 8.4)	H-22

Tableau III-4 : Données de la RMN¹³C du β -sitostérol

Attribution	Déplacement chimique δ_c (ppm)	Attribution	Déplacement chimique δ_c (ppm)
C1	37,2	C16	28,2
C2	31,8	C17	56,7
C3	71,7	C18	11,8
C4	42,6	C19	19,8
C5	140,7	C20	36,1
C6	121,7	C21	18,7
C7	31,6	C22	33,8
C8	31,8	C23	28,2
C9	50,0	C24	45,7
C10	36,7	C25	29,0
C11	21,0	C26	19,8
C12	39,7	C27	19,3
C13	42,1	C28	23,0
C14	51,2	C29	12,2
C15	24,2		

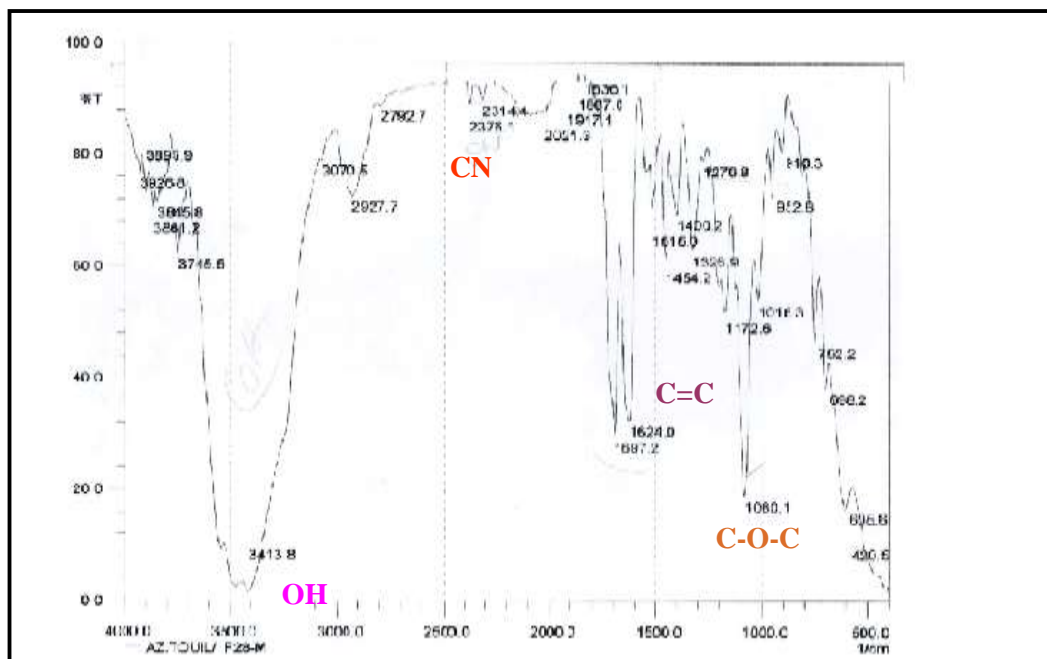
III-1-3 : Elucidation structurale du composé F28M

Le spectre de masse à haute résolution enregistré en mode électroébulisaison positive (TOF-HRESI-MS positive) de ce composé (Spectre III-19), présente un pic quasi moléculaire de masse exacte 386,1216 Da correspondant à la formule brute $C_{18}H_{21}NO_7Na$. Ce résultat mène à une molécule d'une formule brute $C_{18}H_{21}NO_7$ de masse 363 Da, comportant 9 insaturations.



Spectre III-19 : Spectre TOF-HRESI-MS (+) du composé F28M

Le spectre IR (Spectre III-20) montre des bande d'absorption relatives aux vibrations de valence des fonctions : hydroxyle à 3413 cm^{-1} , nitrile à $2376,1\text{ cm}^{-1}$, carbonyle à $1697,2\text{ cm}^{-1}$, une double liaison à 1624 cm^{-1} et éther à 1080 cm^{-1} .

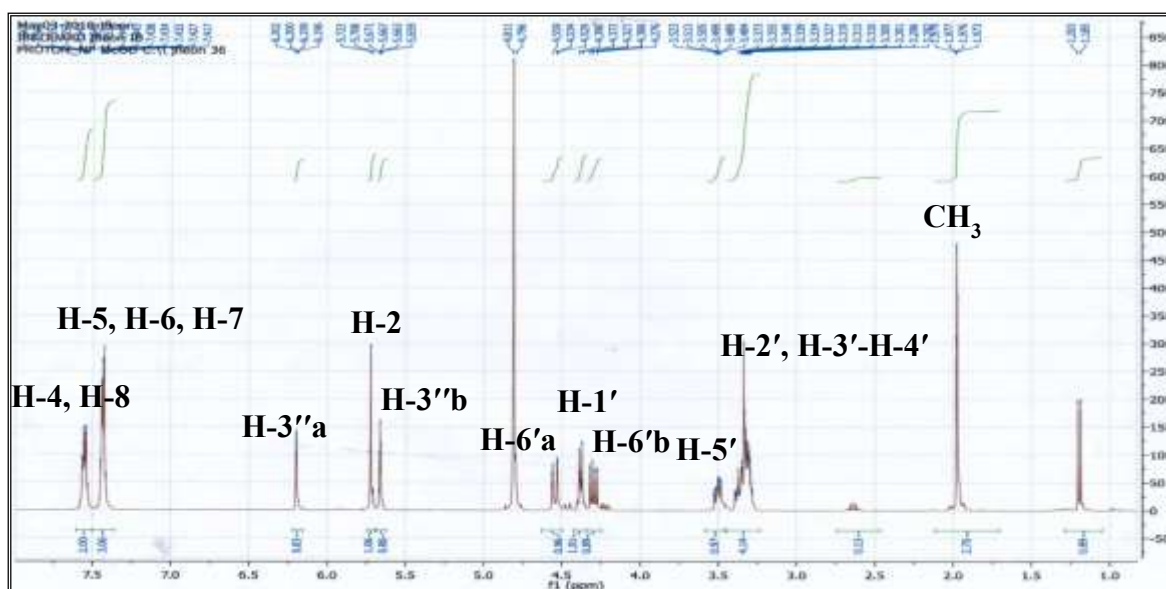


Spectre III-20 : spectre IR du composé F28M

L'examen du spectre RMN¹H (Spectre III-21) montre la présence de 18 (protons) localisés comme suite :

Deux signaux caractéristiques d'un noyau aromatique monosubstitués dont :

- Un signal d'intégration 2H sous forme d'un multiplet à $\delta_H = 7,55$ ppm et un autre d'intégration 3H sous forme également d'un multiplet à $\delta_H = 7,43$ ppm.
- Un signal d'intégration 1H à $\delta_H = 5,71$ ppm sous forme d'un sigulet porté d'après le spectre HSQC (Spectre III-21) par le carbone C-2 à $\delta_C = 67,9$ ppm.

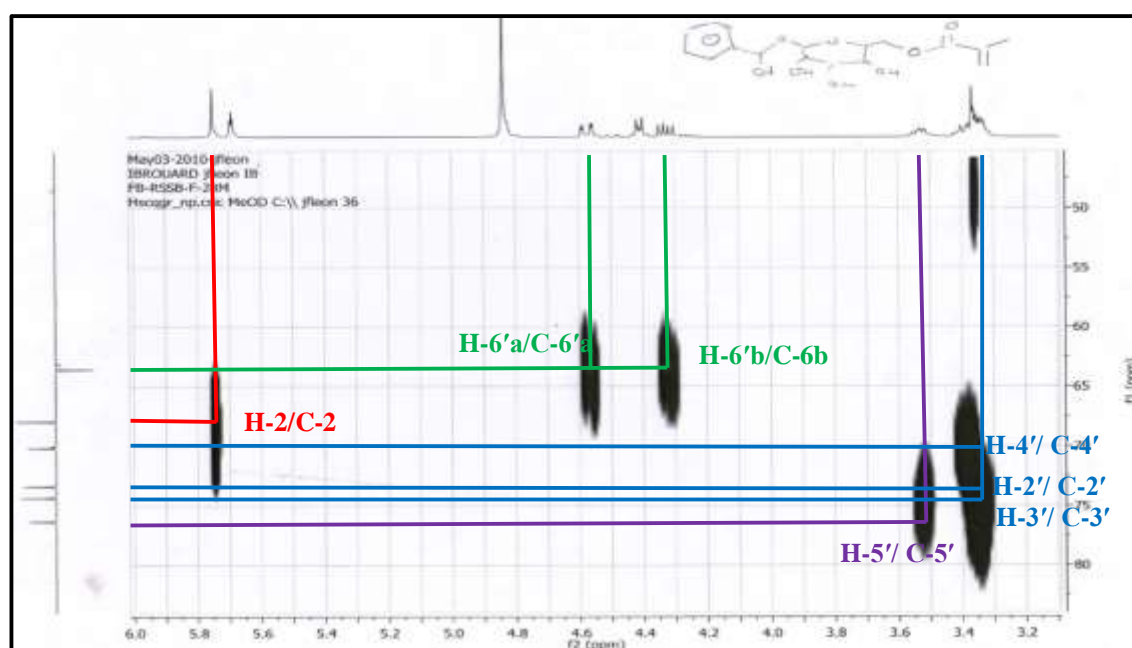


Spectre III-21 : Spectre RMN¹H (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F28M

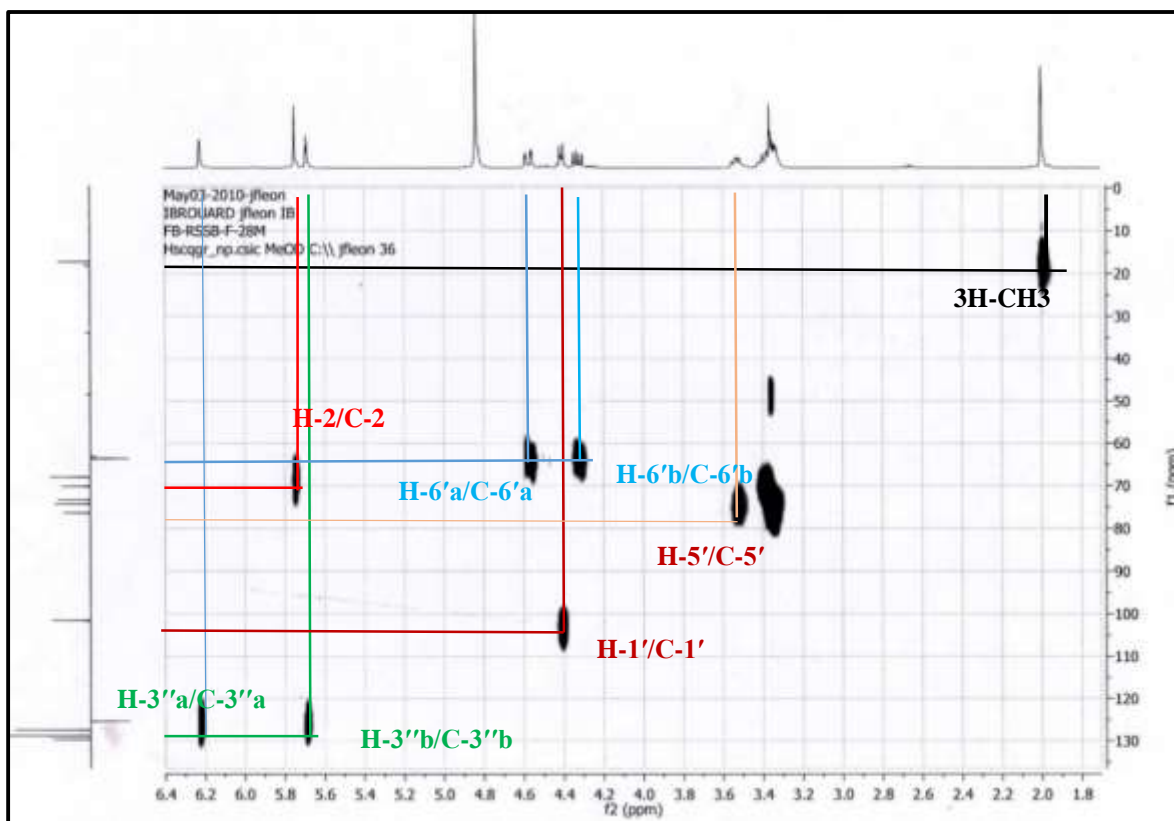
Le même spectre (Spectre III-21) montre un ensemble de signaux caractéristiques d'un hexose notamment le signal à $\delta_H = 4,38$ ppm sous forme d'un doublet ($J = 7,2$ Hz) attribuable au proton anomérique (H-1') de l'hexose, l'examen du spectre de l'expérience HSQC (Spectre III-22) relatif à ce composé permet de localiser le carbone anomérique C-1' de ce sucre grâce à sa corrélation avec son proton à $\delta_C = 101,5$ ppm. La valeur de ce déplacement chimique indique que cet hexose est relié à l'aglycone par une jonction oxygénée.

Deux signaux d'intégrations 1H chacun attribuable respectivement à H-6'a, H-6'b à $\delta = 4,54$ ppm (dd, $J = 12,0 ; 2,0$ Hz) et $\delta_H = 4,30$ ppm (dd, $J = 12,0 ; 6,0$ Hz)

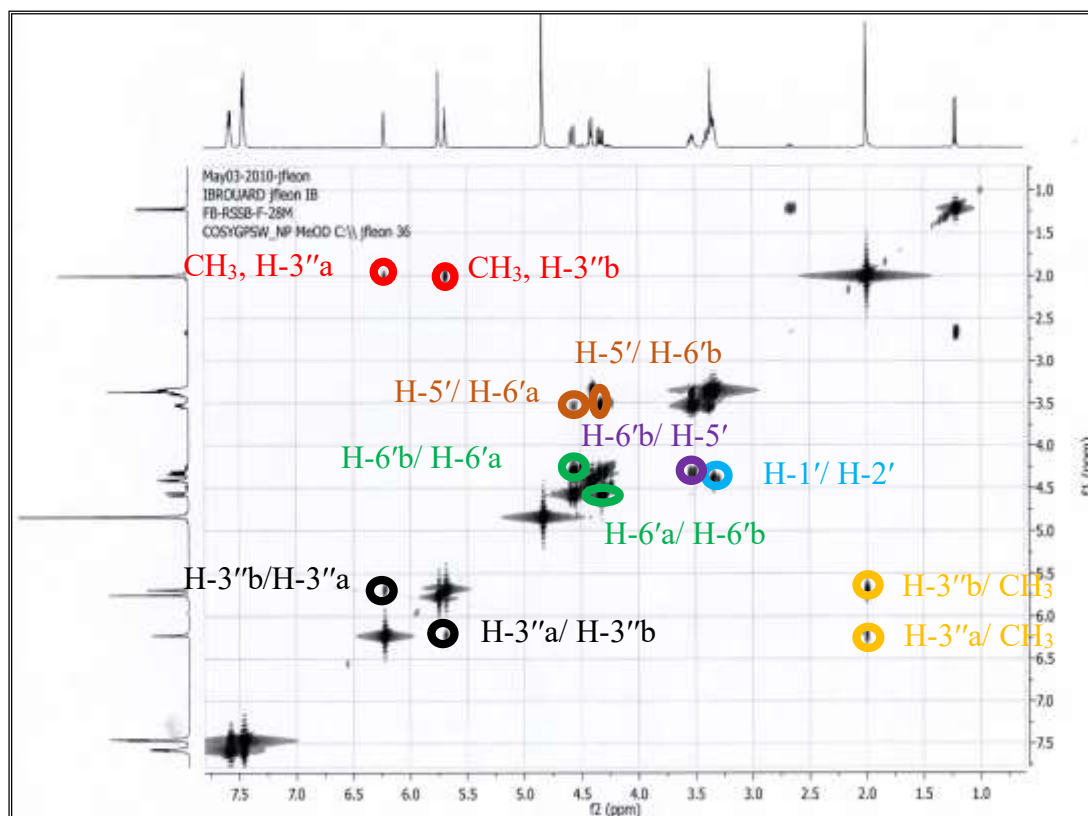
Un ensemble de multiplet dans l'intervalle [3,37- 3,29] ppm attribuable aux protons 2', 3', 4' du substituant sucre, et le H-5' apparaît sous forme d'un doublet de doublet dédoublé ($J = 8,4 ; 6,0 ; 2,0$ Hz) à $\delta_H = 3,49$ ppm d'intégration 1H son déplacement chimique est localisé par sa corrélation avec les deux protons H-6'a et H-6'b sur le spectre COSY ($^1H-^1H$) (Spectre III-24).



Spectre III-22 : Spectre HSQC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F28M



Spectre III-23 : Spectre HSQC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F28M



Spectre III-24 : Spectre COSY (¹H-¹H) (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F28M

L'étude simultanée des spectres de RMN¹³C (Spectre III-25) et DEPT135 (Spectre III-26) du composé F28M montre la présence de 18 atomes de carbones que nous pouvons répartir comme suite :

- 5 groupement méthyne (CH) dont quatre d'entre eux à $\delta_C = 76,3 ; 74,3 ; 73,3, 70,1$ ppm le 5^{ème} étant le carbone anomérique à $\delta_C = 101,5$ ppm.

- 1 groupement méthylène (CH₂) oxygéné à $\delta_C = 63,6$ ppm.

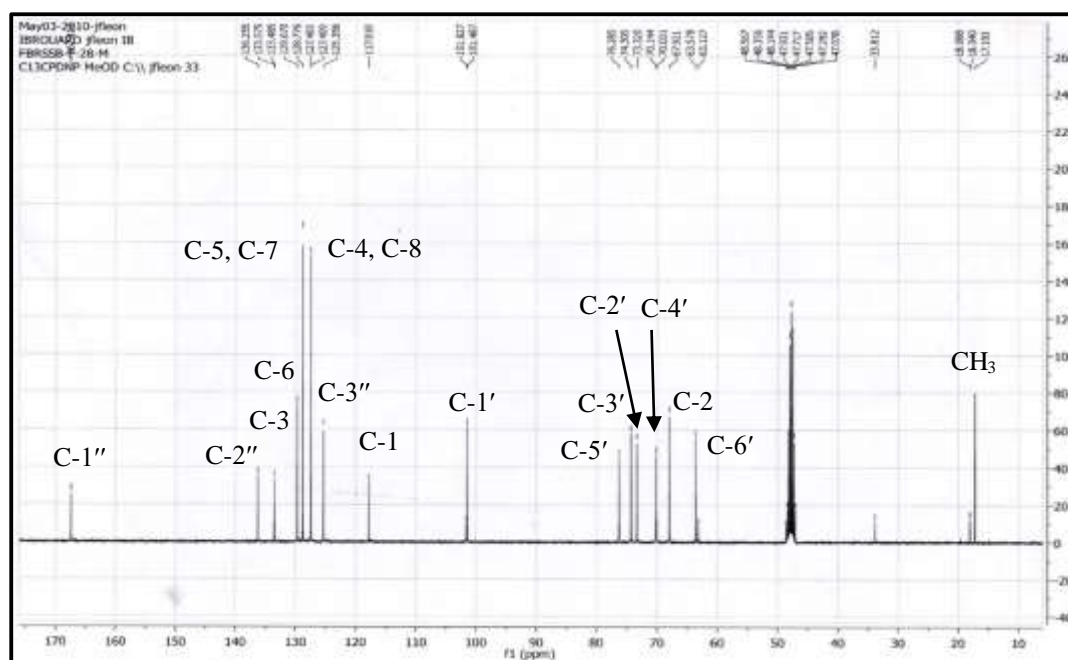
Ces données notamment les valeurs des déplacements chimique des carbones comparées à celle de la littérature nous orientent vers un substituant de type glucosyle [1].

Le même spectre montre également la présence de :

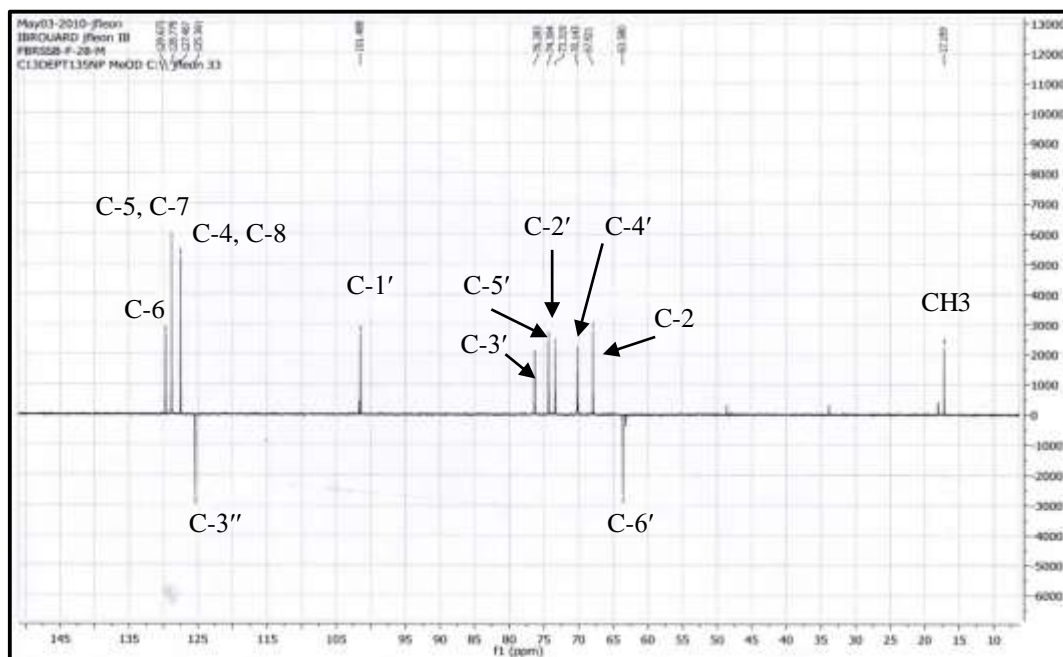
- 1 atome de carbone quaternaire C-3 à $\delta_C = 133,6$ ppm attribué à un carbone du noyau aromatique.

- 5 groupement (CH) correspondant aux autres carbones du noyau aromatique mono substitué notamment les C-4 et C-8 à $\delta_C = 127,5$ ppm et les C-5 et C-7 à $\delta_C = 128,8$ ppm et le C-6 à $\delta_C = 129,7$ ppm

Ce spectre montre également un signal correspondant à un carbone quaternaire à $\delta_C = 117,8$ ppm. Le déplacement chimique de ce carbone est caractéristique du carbone d'un groupement nitrile, la présence de ce groupement justifie l'abaissement du déplacement chimique du groupement CH oxygéné (C-2) à $\delta_C = 67,9$ ppm explicable par la proximité de ce noyau de la zone positivante de la triple liaison du groupement nitrile voisin.

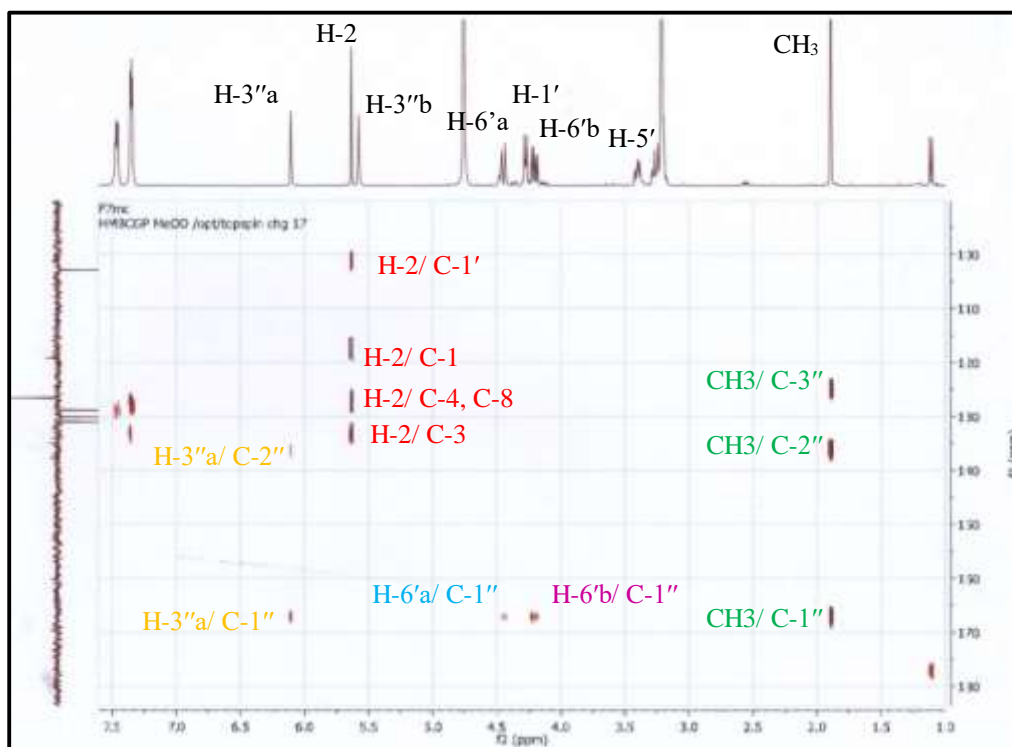


Spectre III-25 : Spectre RMN¹³C (100 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F28M



Spectre III-26 : Spectre DEPT135 (100 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F28M

L'examen du spectre HMBC (Spectre III-27) permet la localisation de proton H-2 grâce à sa corrélation avec le carbone anomérique C-1' et le carbone du groupement nitrile C-1 et les carbones aromatique C-3, C-8 et C-4.



Spectre III-27 : Spectre HMBC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F28M

Ces données permettent de proposer un squelette pour cette molécule de type glycosides cyanogéniques substitué en C-6' [10,11].

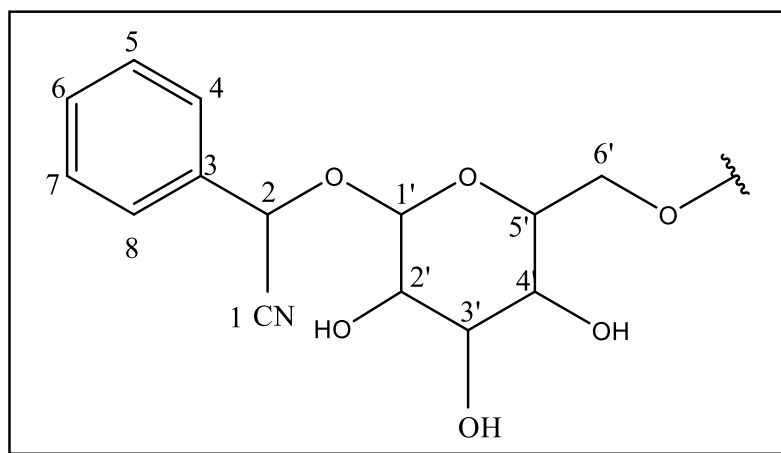
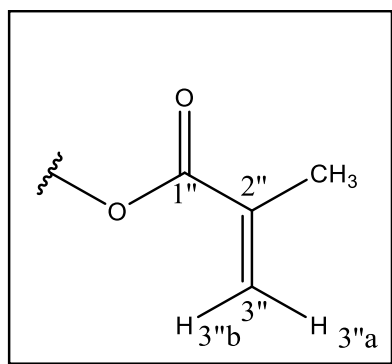


Figure III-5: glycosides cyanogéniques substitué en C-6'

Pour déterminer la structure totale du substituent en C-6', un retour vers les données précédemment déduites des spectres de RMN¹H, DEPT135, la masse ESI, RMN 2D et IR, qui nous orientent vers la présence dans ce substituant d'un ester α , β -insaturé, dont la double liaison doit être délimitée par un carbone quaternaire (C-2'') et un groupement CH₂, Sachant que la forme brute de ce substituant doit être C₄H₅O₂, il vient par conséquent que ce substituant doit être de la forme : méthacrylate.



méthacrylate

La présence de cette entité dans cette molécule est parfaitement appuyée par :

Le spectre RMN¹H (Spectre III-21) qui montre la présence de deux signaux sous forme de singulet d'intégration 1H chacun : le premier à $\delta_H = 6,20$ ppm correspondant au protons H-3''a

et le deuxième à $\delta_H = 5,67$ ppm correspondant au proton H-3''b, porté d'après le spectre HSQC (Spectre III-23) par le même carbone éthylénique (C-3'') à $\delta_C = 125,4$ ppm.

Un signal d'un groupement méthyle sous forme d'un singulet d'intégration 3H à $\delta_H = 1,97$ ppm, qui donne d'après le spectre COSY (1H - 1H) (Spectre III-24) une tache de corrélation lointaine entre ces protons et les deux protons éthyléniques H-3''a et H-3''b.

Le spectre de RMN ^{13}C montre également :

Deux carbones quaternaire : le premier est un carbone quaternaire éthylénique (C-2'') à $\delta_C = 136,3$ ppm, le deuxième est un carbonyle d'ester (C-1'') à $\delta_C = 167,4$ ppm.

Un carbone éthylénique (C-3'') à $\delta_C = 125,4$ ppm.

La présence de l'entité méthacrylate dans cette molécule est vérifiée aussi par le spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre III-27) qui montre : trois taches de corrélation entre les protons de groupement méthyle à $\delta_H = 1,97$ ppm précédemment signalé et les carbones (C-1''), (C-2''), (C-3'').

Le spectre HMBC (Spectre III-27) montre également deux taches de corrélation entre les deux protons H-6'a et H-6'b du glucose et le carbonyle (C-1''), Cela oriente vers une jonction oxygène entre le carbone (C-6') de l'entité cyanogénique glucosylé et le carbone (C-1'') de l'entité méthacrylate.

Sans oublier que l'examen du spectre HMBC (Spectre III-27) montre aussi des taches de corrélation entre le protons H-2 et le carbone porteur du groupement nitrile C-1 à $\delta_C = 117,8$ ppm, le carbone anomérique C-1' à $\delta_C = 101,5$ ppm, et les deux carbones aromatiques C-4 et C-8 à $\delta_C = 127,5$ ppm.

L'ensemble de ces données mène à la structure plane rapporter dans la Figure III-6.

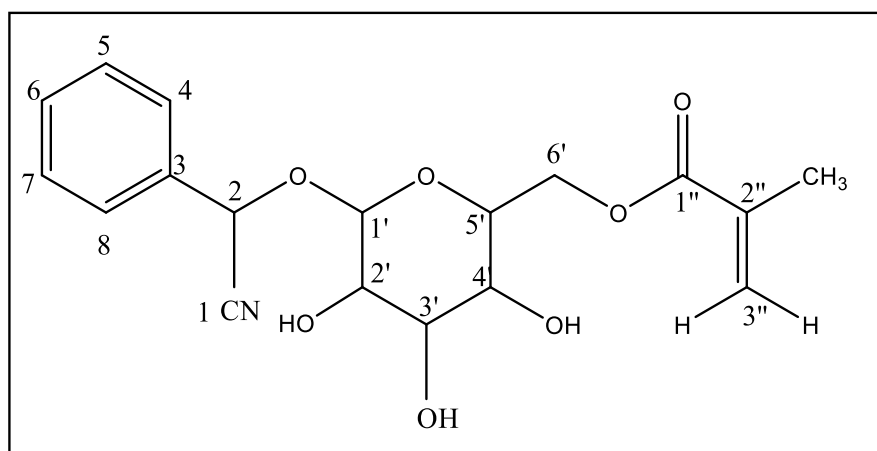


Figure III-6: la structure plane du composé F28M

La configuration absolue du centre chirale de la position C-2 du composé F28M a été suggéré comme étant R par comparaison des déplacements chimiques des protons H-2 ($\delta_H = 5,71$ ppm) et H-1' ($\delta_H = 4,38$ ppm) de ce composé avec ceux de la R-prunasine H-2 ($\delta_H = 5,89$ ppm) et H-1' ($\delta_H = 4,23$ ppm) et la S-sambunigrine H-2 ($\delta_H = 6,03$ ppm) et H-1' ($\delta_H = 4,67$ ppm) rapportées dans la littérature [12-15]. Cela est confirmé aussi par l'expérience ROESY (Spectre III-28) qui montre des taches de corrélations entre les deux protons H-2 et H-1' ; le proton H-2 et les protons aromatiques H-4, H-8[13].

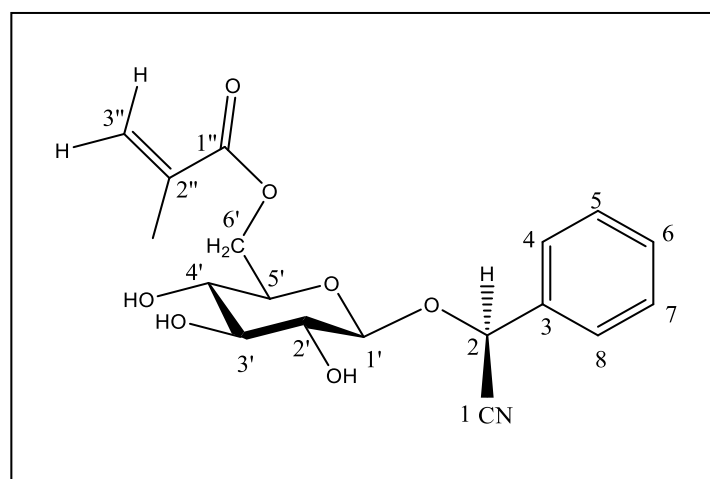


Figure III-7: La stéréochimie de F28M

L'ensemble de ces éléments est résumé dans les tableaux III-5 et III-6 et nous a conduit à la structure du composé F28M. Ce composé est totalement original, nous lui avons attribué le nom de "6-méthacrylate prunasine" par analogie aux structures similaires décrite dans la littérature [15-16].

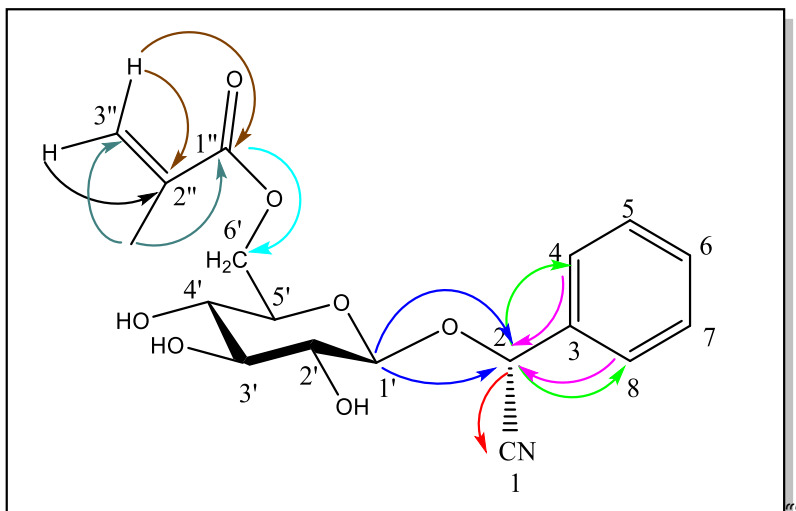
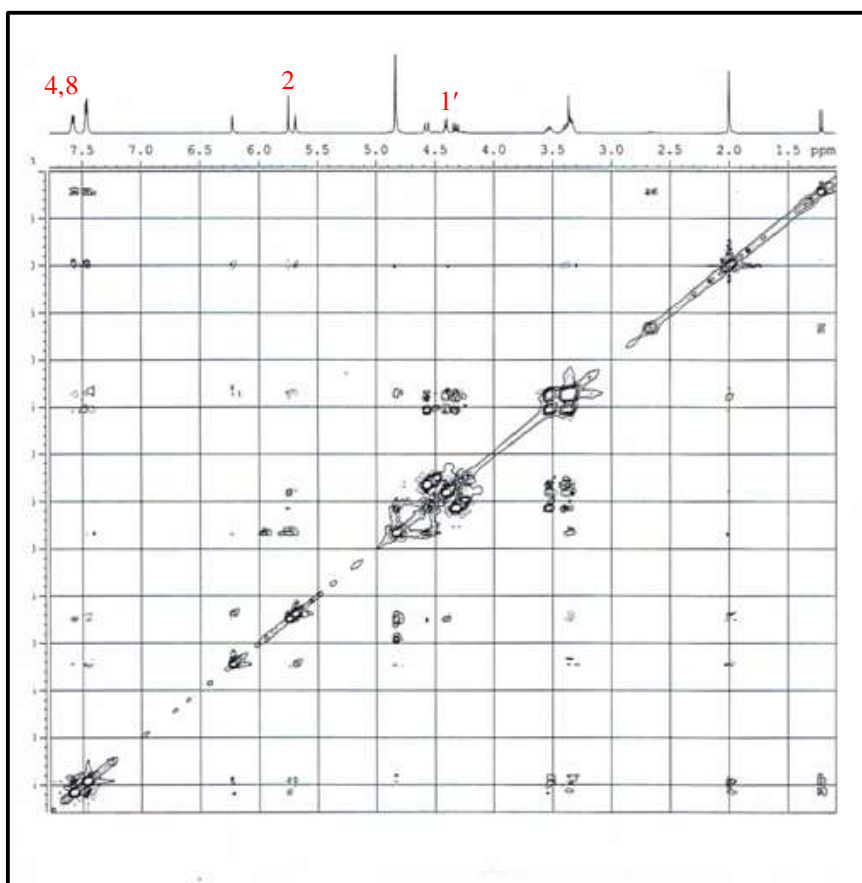


Figure III-8: Corrélations HMBC: 6'-méthacrylate prunasine (F28M)



Spectre III-28 : Spectre ROESY (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé

F28

Tableau III-5 : Données de la RMN¹³C du F28M.

¹³ C	Déplacement chimique δ_c (ppm)
1''	167,4
2''	136,3
3	133,6
6	129,7
5, 7	128,8
4,8	127,5
3''	125,4
1	117,8
1'	101,5
3'	76,3
5'	74,3
2'	73,3
4'	70,1
6'	63,6
2	67,9
CH ₃	17,2

Tableau III-6 : Données de la RMN¹H et les corrélations COSY(¹H-¹H) et HMBC du F28M

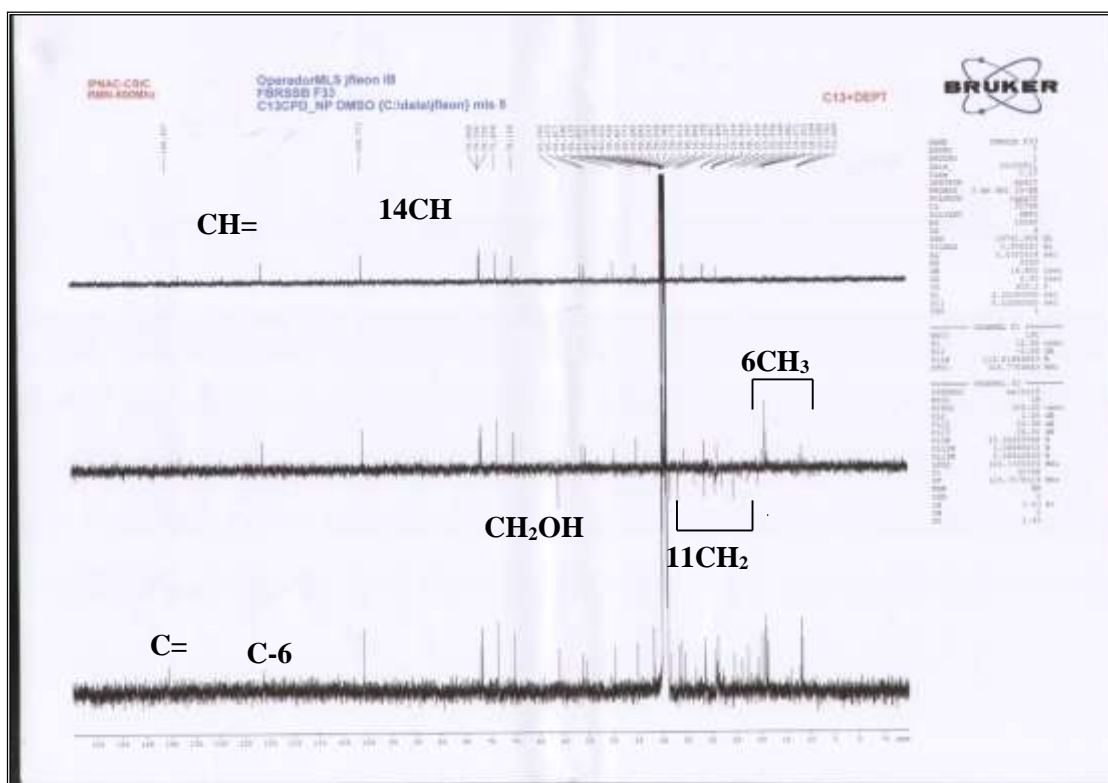
Position	Déplacement chimique δ_c (ppm)	Déplacement chimique δ_c (ppm) (J Hz) multiplicité	HMBC	Couplage COSY ¹ H- ¹ H
1	117,8	-	-	-
2	67,9	5,71s	C1C1'C3 C4C8	-
3	133,6	-	-	-
4,8	127,5	7,55 m	C5 C7	-
5,7	128,8	7,43 m	C3 C4 C8	-
6	129,7	7,43 m	C4 C8	-
1'	101,5	4,38 d (7,20)	-	H-2'
2'	73,3	3,37- 3,29 m	-	H-1'
3'	74,3	3,37- 3,29 m	-	-
4'	70,1	3,37- 3,29 m	-	H-5'
5'	76,3	3,49 ddd (8,4;6,0; 2,0)	-	H-4', H-6'a H-6'b
6'a	63,6	4,54 dd (12,0; 2,0)	C1''	H-5' H-6'b
6'b	63,6	4,30 dd (12,0; 6,0)	C1''	H-5' H-6'a
CH ₃	17,2	1,97 s	C2''C3'' C1''	H-3''b H-3'' a
1''	167,4	-	-	-
2''	136,3	-	-	-
3''a	125,4	6,20 s	C1'' C2''	H-3''b, CH ₃
3''b	125,4	5,67 s	-	H-3''a, CH ₃

III-1-4 : Elucidation structurale du composé F33

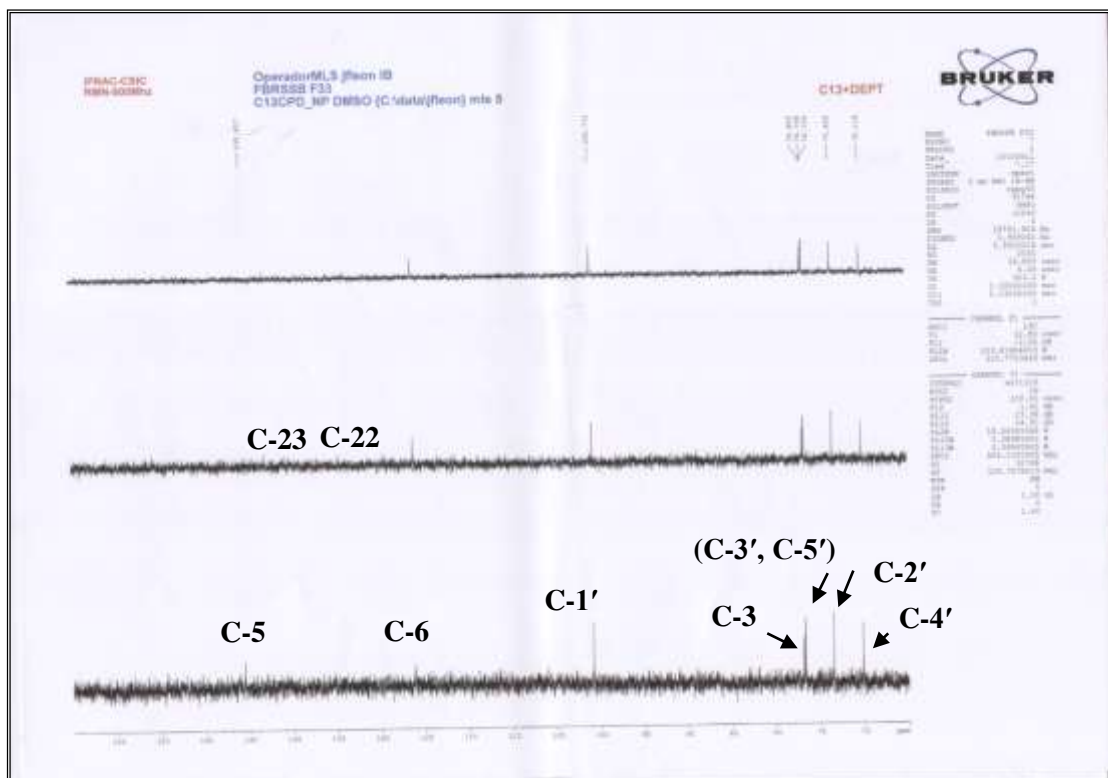
L'étude des spectres RMN¹³C et les séquences DEPT90 et 135 (et ses étalements de ce composé) (Spectre III-29-32) montre la présence de 35 atomes de carbone dans cette molécule localisée comme suit :

- 6 groupements CH₃
- 12 groupements CH₂ dont un oxygéné à $\delta_c = 61,5$ ppm.
- 14 groupements CH dont un éthylénique à $\delta_c = 121,6$ ppm
- 3 carbones quaternaires dont un éthylénique à $\delta_c = 140,89$ ppm.

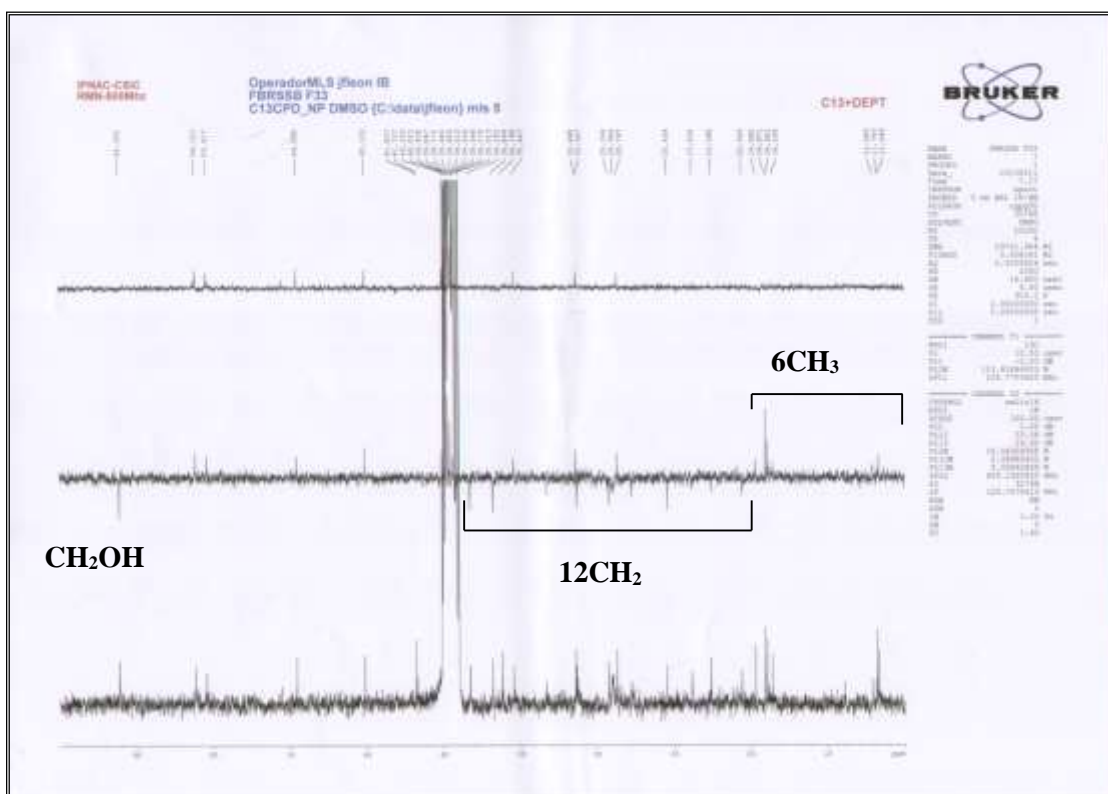
Les valeurs des déplacements chimiques des deux carbones éthyléniques, le premier correspondant à un CH à $\delta_c = 121,64$ ppm et le second à un atome de carbone quaternaire à $\delta_c = 140,89$ ppm sont caractéristiques des positions C-6 et C-5 d'un stérol.



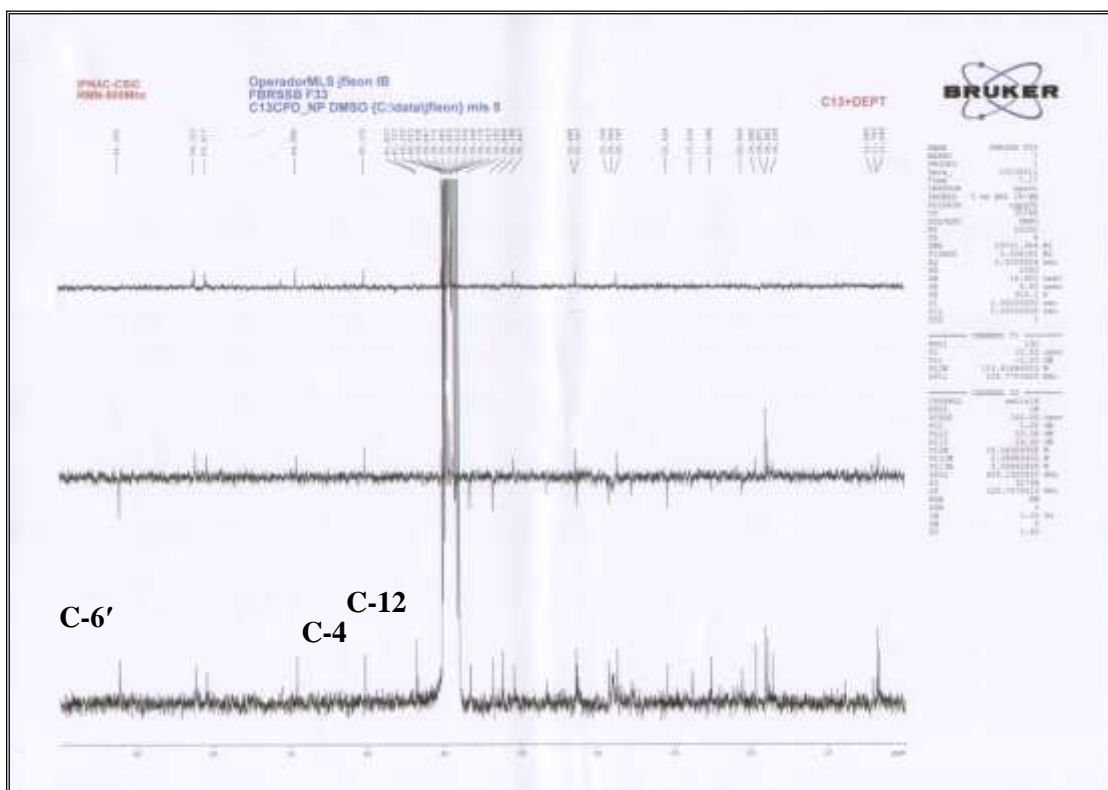
Spectre III-29 : Spectre RMN¹³C et DEPT (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) du composé F33



Spectre III-30 : Spectre RMN¹³C et DEPT étalé de 155 à 170 ppm (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) du composé F33



Spectre III-31 : Spectre RMN¹³C et DEPT étalé de 60 à 10 ppm (125MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) du composé F33



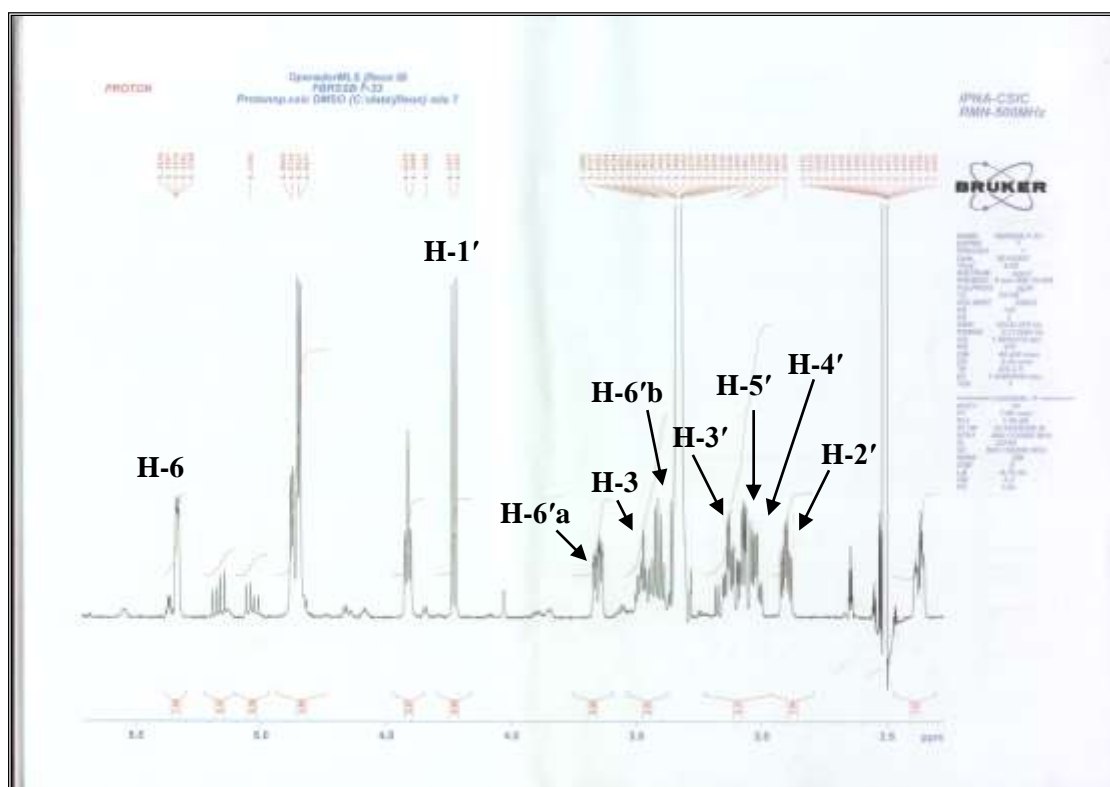
Spectre III-32 : Spectre RMN¹³C et DEPT étalé de 60 à 10 ppm (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) du composé F33

L'examen des spectres RMN¹H étalés (Spectre III-33-34) enregistrés dans le DMSO montre :

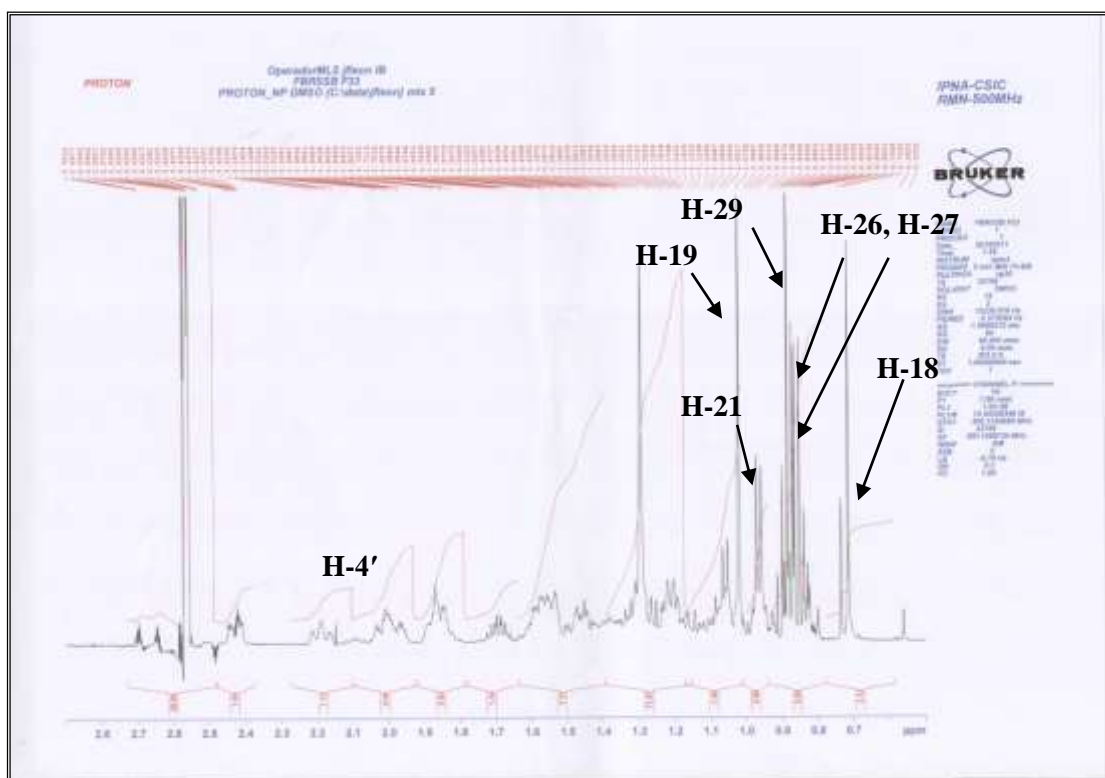
- Des signaux résonants à champ fort entre $\delta_H = 1,31-0,71$ ppm, confirmant la présence des groupements méthyles.
- Un signal sous forme d'un singulet large d'intégration 1H à $\delta_H = 5,33$ ppm indiquant la présence d'un proton éthylénique. Celui-ci corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à $\delta_c = 121,0$ ppm caractéristique du carbone C-6 d'un stérol.
- Un signal sous forme d'un multiplet à $\delta_H = 3,43$ ppm caractéristique d'un proton porté par un carbone oxygéné typique du proton H-3 d'un stérol. Ce dernier montre une tache de corrélation avec le carbone à $\delta_c = 76,9$ ppm sur le spectre HSQC.

Ces observations confirment la nature stéroïdienne de ce composé.

- En outre, l'observation d'un ensemble de signaux entre $\delta_H = 2,95$ et $4,22$ ppm et d'un signal sous forme d'un doublet ($J = 7,8$ Hz) d'intégration 1H localisé à $\delta_H = 4,22$ ppm C'est le proton anomérique du glycosyle, suggère l'existence d'une unité osidique dans la molécule.



Spectre III-33 : Spectre RMN¹H étalé de 5,4 à 2,5 ppm (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm) du composé F33



Spectre III-34 : Spectre RMN¹H étalé de 2,7 à 0,6 ppm (500 MHz, DMSO-*d*₆, δppm) du composé F33

La valeur de déplacement chimique du proton anomérique oriente vers une jonction de type β du glycosyle et une orientation axiale de H-2' du sucre ce qui exclut le mannose comme substituant, le rhamnose n'étant pas mis en cause car ce sucre admet le C-6' sous forme de CH₂OH à δ_C = 61,1 ppm. Par ailleurs, un réexamen du spectres COSY (¹H-¹H) (Spectre III-35) permet la localisation de H-2' à δ_H = 2,95 sous forme d'un triplet dédoublé ($J = 8,3 ; 4,5$ Hz) grâce à sa corrélation avec le proton anomérique. La multiplicité de H-2' confirme sa position axiale ainsi que celle de H-3', à noter que la petite constante de couplage $J = 4,5$ Hz résulte du couplage vicinal entre ce noyau et le proton du groupement hydroxyle dont le signal apparaît sous forme d'un doublet ($J = 4,5$ Hz) à δ_H = 5,66 ppm. L'attribution de H-2' mène à celle de H-3' grâce à leur corrélation dans le même spectre COSY(¹H-¹H) (Spectre III -35). En effet H-3' apparaît sous forme d'un triplet dédoublé ($J = 8,3 ; 4,5$ Hz) à δ_H = 3,13 ppm. La valeur $J = 8,3$ Hz de la constante de couplage entre H-2' et H-3' ; H-3' et H-4' (δ_H = 3,10) indique des interactions de type axiale-axiale entre ces trois noyaux, on en déduit par conséquent que le groupement hydroxyle en position C-4' est équatoriale ce qui est en faveur d'un groupement β-D-glucosyle comme substituant. Cela est confirmé par le spectre ROESY (Spectre III-40), qui montre des taches de corrélation entre H-1', H-3' et H-5' (δ_H = 3,15 ppm).

L'expérience HSQC (Spectre III-38 et 39) permet d'attribuer tous les déplacements chimiques des carbones du glucose à $\delta_c=100,7$ (C-1'), 73,4 (C-2'), 76,7 (C-3'), 70,1 (C-4'), 76,7 (C-5'), 61,10 (C-6').

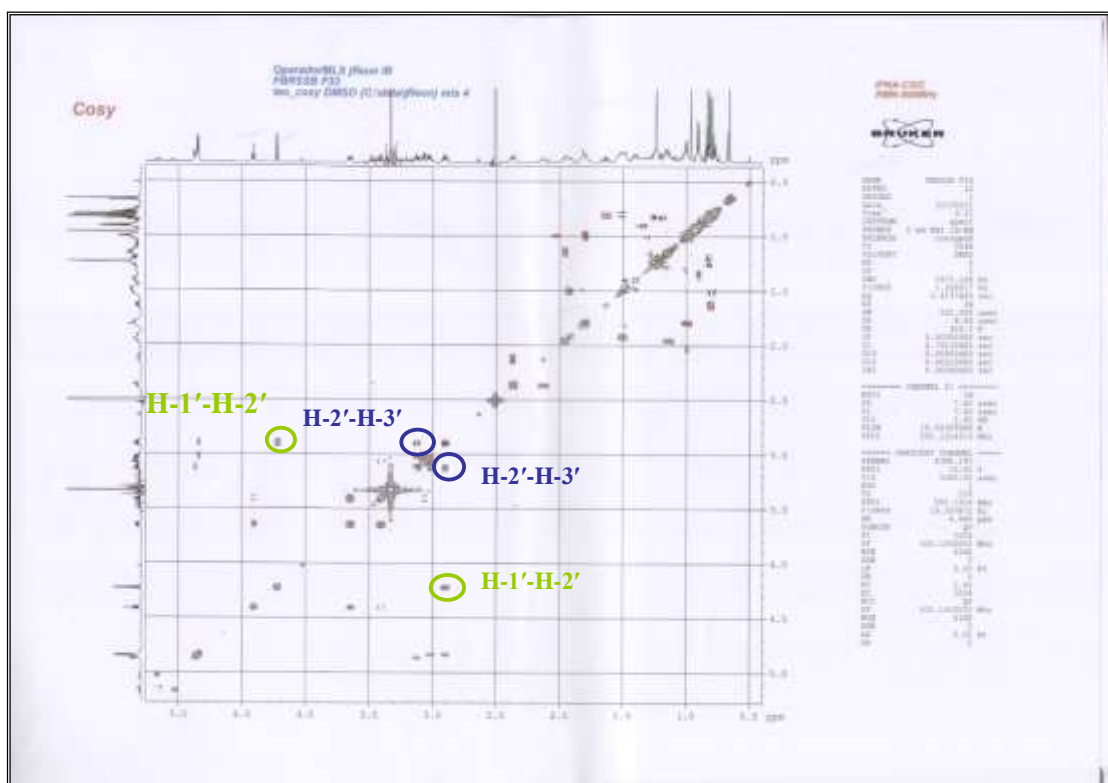
Ces données mènent au sitostérol glycosylé en position 3. Le pont oxygéné entre le stérol et le sucre est confirmé par le signal à $\delta_c = 100,7$ ppm sur le spectre RMN¹³C (Spectre III-30) attribuable au carbone anomérique du sucre.

On note également sur le spectre RMN¹H (Spectre III-33) la présence de deux signaux résonant à 5,03 et 5,18 ppm sous forme de doublet de doublet caractéristiques des deux protons oléfiniques des positions C-22 et C-23 du stigmastérol respectivement

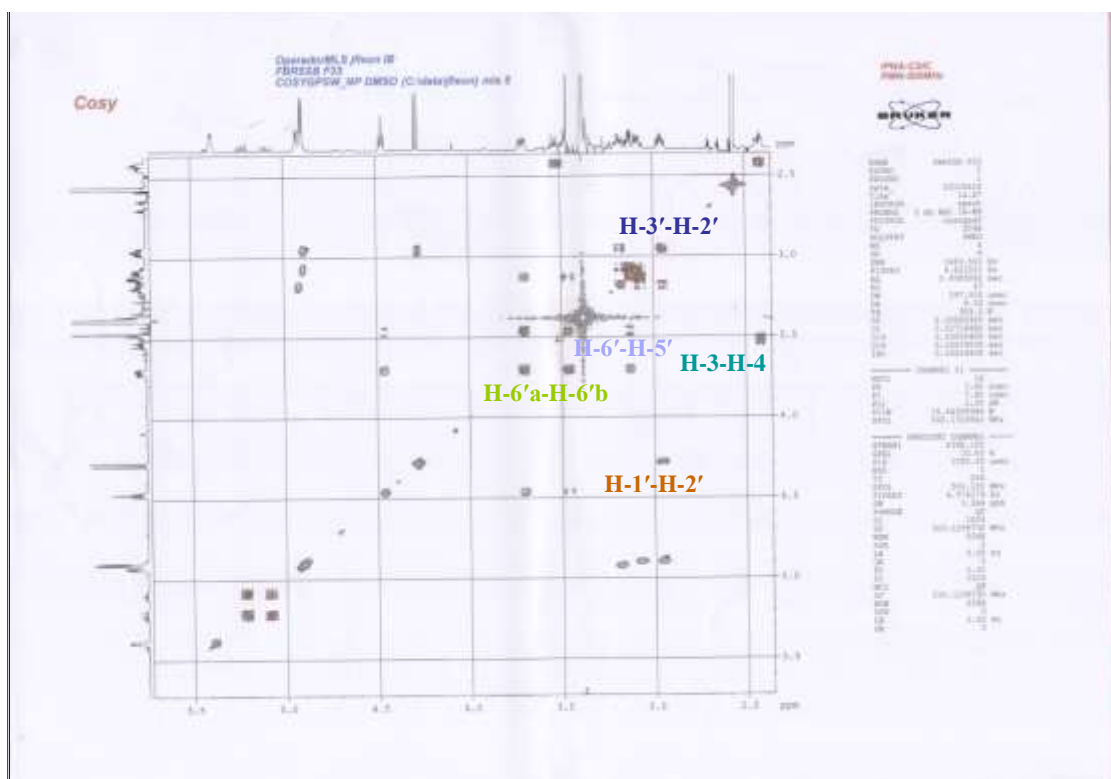
Une deuxième lecture attentive du spectre proton (Spectre III-33) montre une intégration d'environ l'unité pour chacun des signaux relatifs à H-6 et H-3, alors que cette intégration est d'environ 0,32 pour le H-22 et 0.26 pour le H-23. Cette observation permet de déduire qu'on est en présence d'un mélange de stigmastérol glucosylé (F33-2) et le β -Sitostérol glucosylé (F33-1).

Un simple calcul mené sur les intégrales des signaux des protons montre qu'il s'agit d'un mélange d'environ 64-52% en faveur du β -Sitostérol glucosylé (F33-1). La nature glucosidique des deux composés du mélange est confirmée par la valeur de l'intégrale du proton anomérique H-1'. En effet, cette intégrale ainsi que l'intégrale des autres protons du sucre sont pratiquement égale à celle des protons H-6 et H-3.

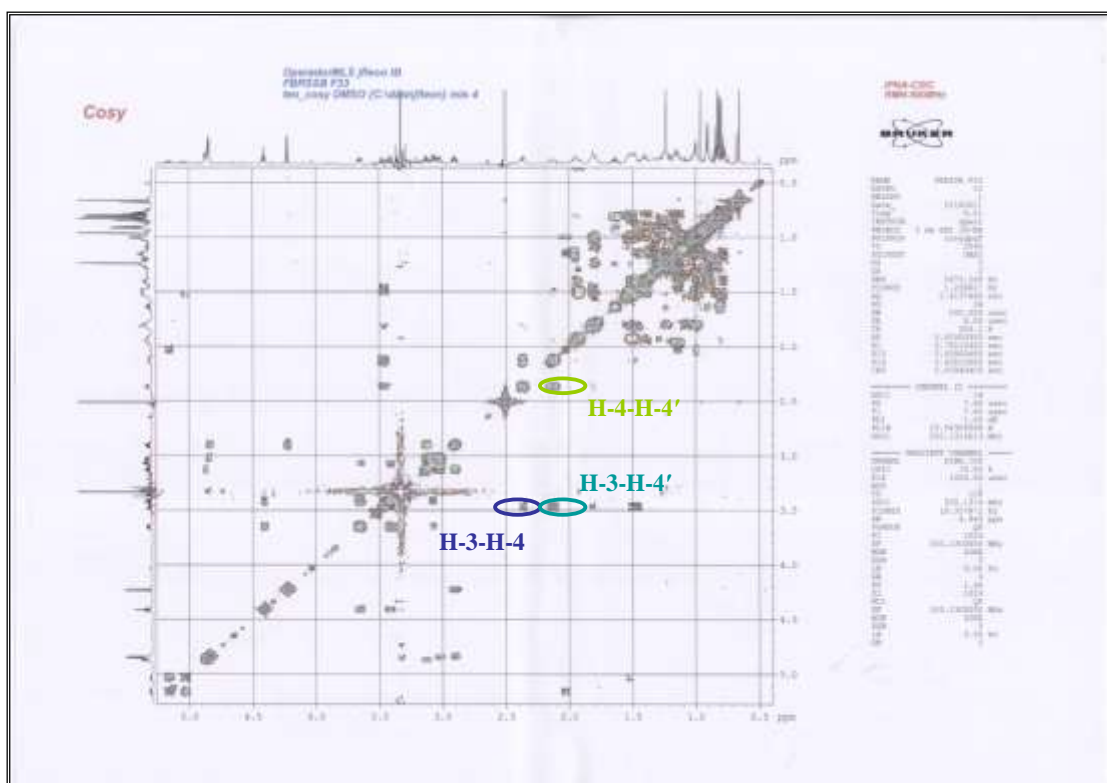
Ceci est confirmé par l'étude du spectre RMN¹³C (Spectre III-30) qui montre la présence des signaux de deux atomes de carbone éthyléniques résonant à $\delta_c = 129,3$ et 138,4 ppm attribuable à C-22 et C-23 respectivement.



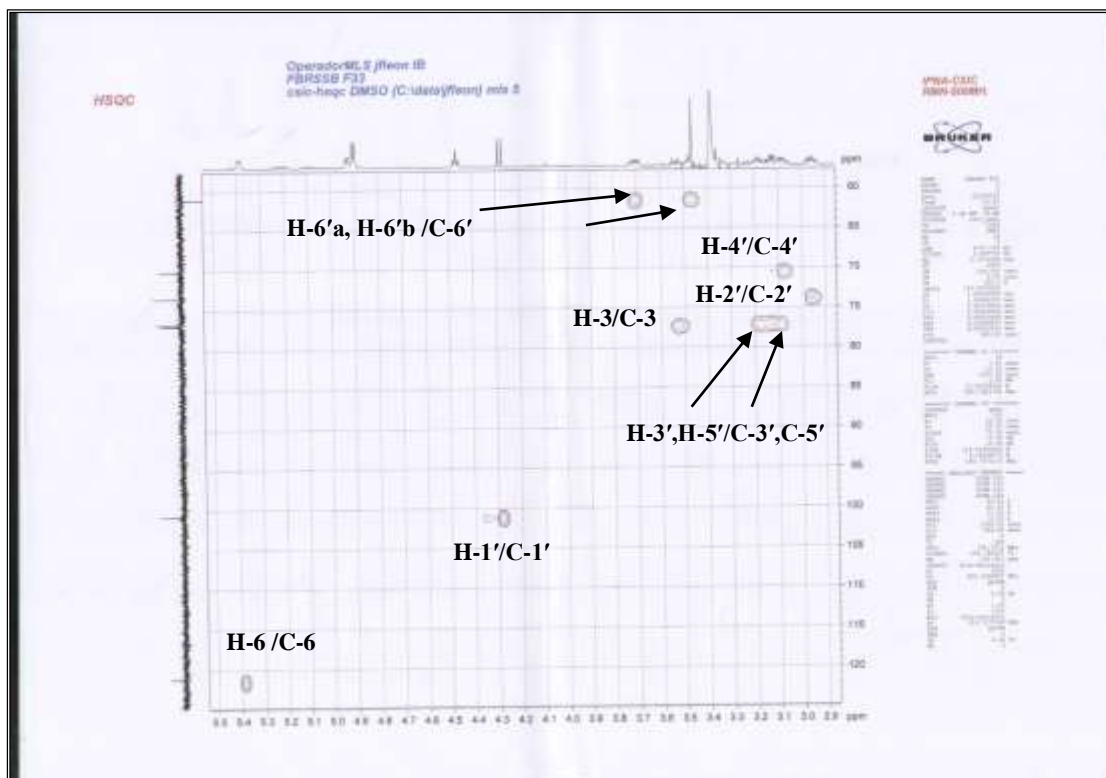
Spectre III-35 : Spectre COSY (^1H - ^1H) (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ ppm) du composé F33



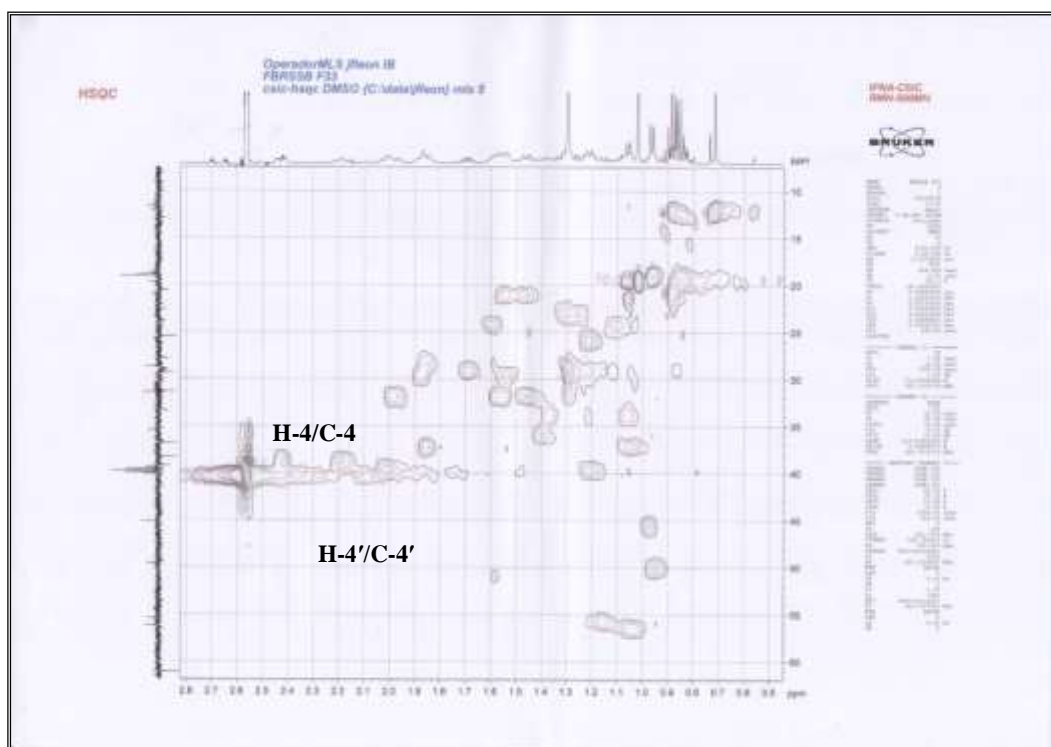
Spectre III-36 : Spectre COSY (^1H - ^1H) étalé entre 5.5-2.5 ppm (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ ppm) du composé F33



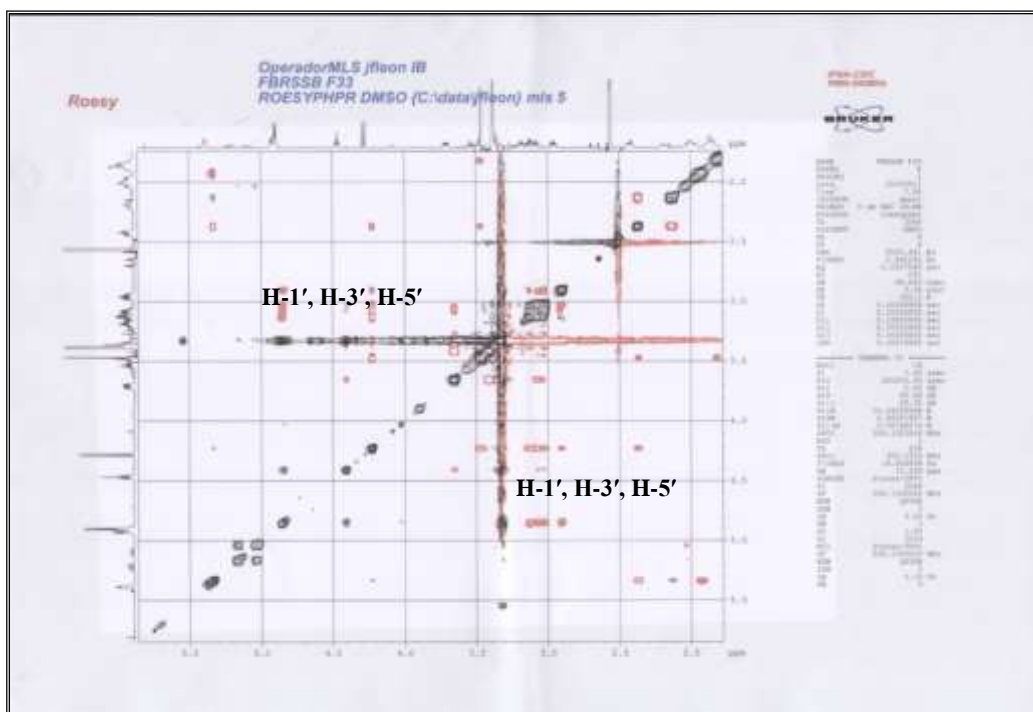
Spectre III-37 : Spectre COSY (^1H - ^1H) (500 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé F33



Spectre III-38 : Spectre HSQC étalé entre 5.5-2.9 ppm (500 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé F33

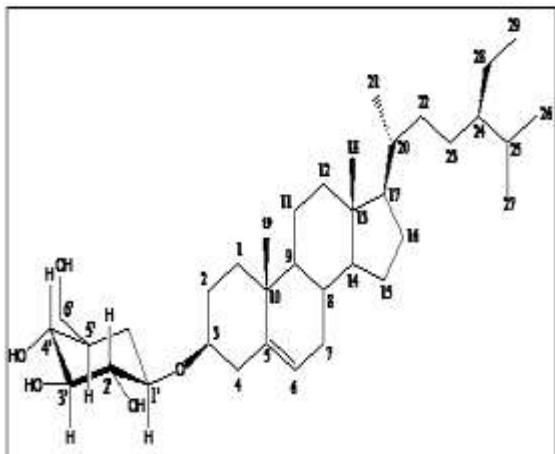


Spectre III-39 : Spectre HSQC étalé entre 2.8-0.5 ppm (500 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé F33

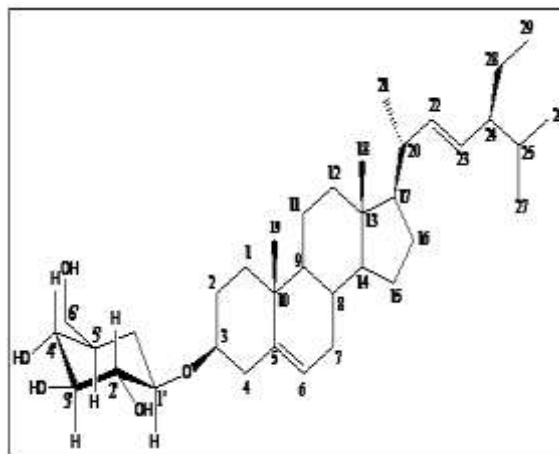


Spectre III-40 : Spectre ROESY (500 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm) du composé F33

L'ensemble de ces données ainsi que la comparaison avec la littérature [17] indique clairement que le composé **F33** est un mélange de deux composés, le daucostérol (**F33-1**) et le 3-*O*- β -glucopyranosyl Stigmastérol (**F33-2**) comme reporté ci-dessous



**3-*O*- β -D-glucopyranosyl β -Sitostérol
(Daucostérol)**



3-*O*- β -D-glucopyranosyl Stigmastérol

Le daucostérol est commun à toutes les plantes. Il a été isolé antérieurement de plusieurs espèces du genre *Centaurea*. On citera à titre d'exemple *Centaurea africana* [18] et *Centaurea omphalotricha* [19]. Ce composé possède des activités biologiques intéressantes : anti-inflammatoire, anti-pyrétique, anti-néoplasique [20] et anti-mutagénique [21].

Une analyse complète des spectres RMN mono et bidimensionnelle a permis de compléter les attributions des carbones restant du daucostérol (Tableau III-7).

Tableau III-7 : Données RMN¹³C du daucostérol (F33-1)

Carbone	Déplacement chimique δ_c (ppm)
C-5	140,4
C-6	121,0
C-1'	100,7
C-3	76,9
C-3'	76,7
C-5'	76,7
C-2'	73,4
C-4'	70,1
C-6'	61,1
C-14	56,1
C-17	55,4
C-9	49,5
C-24	45,1
C-13	41,8
C-4	41,7
C-12	39,2
C-1	36,8
C-10	36,1
C-20	35,4
C-22	33,5
C-8	31,4
C-7	31,3
C-2	29,2
C-25	28,9
C-16	28,7
C-23	25,4
C-15	23,8
C-28	22,5
C-11	20,5
C-27	19,6
C-19	19,0
C-26	18,9
C-21	18,5
C-18	11,7
C-29	11,6

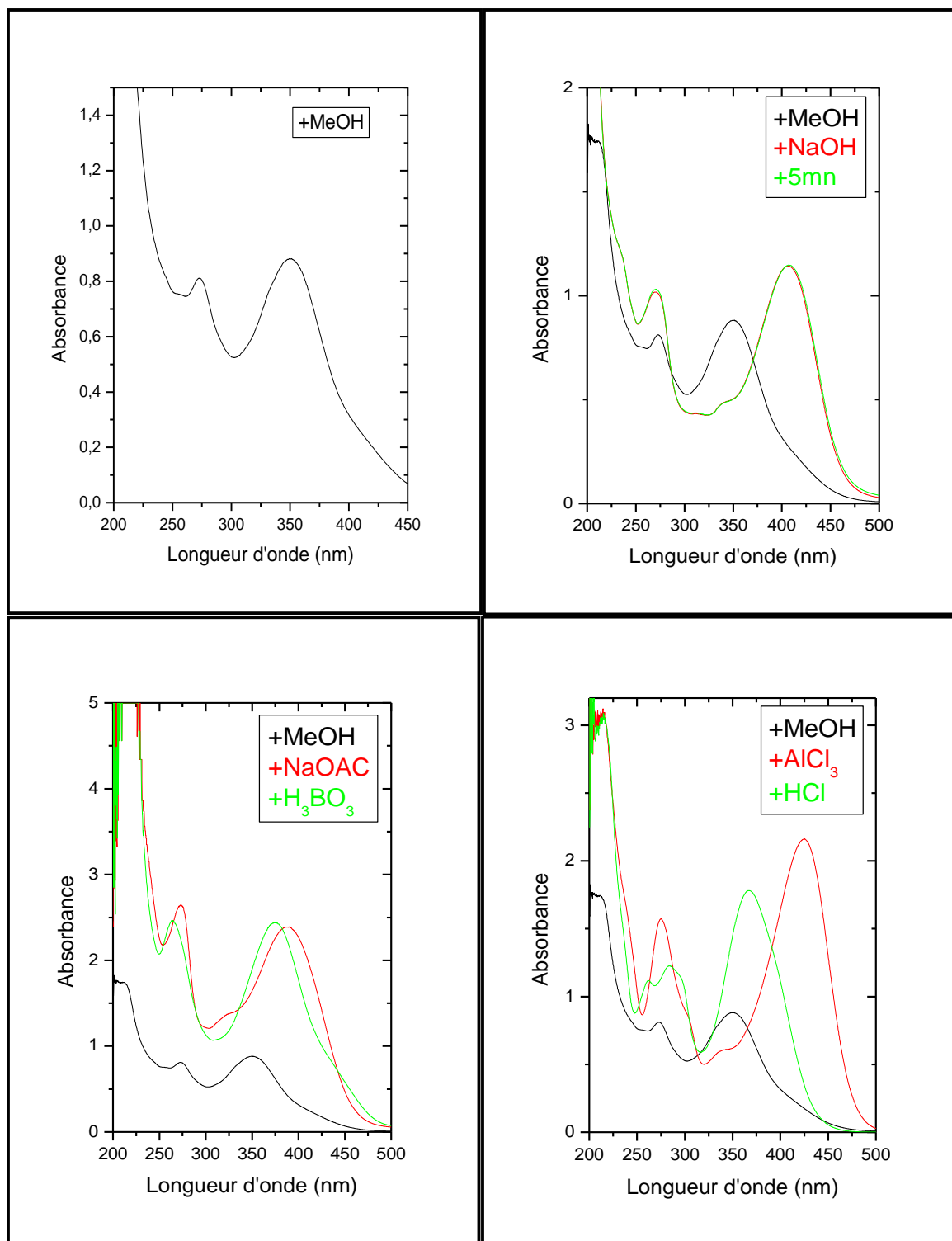
III-2 : Identification des produits isolés de l'extrait acétate d'éthyle de *C. microcarpa***III-2-1 : Elucidation structurale du composé F7**

La fluorescence noire violette de ce composé sous lumière de Wood laisse supposer la structure d'une flavone ou flavonol 3-OR (C-3).

L'examen du spectre UV (Spectre III-41) montre :

- L'observation de la valeur de la longueur d'onde maximale de la bande I enregistré dans le MeOH à 348 nm laisse supposer la structure de type flavone ou flavonol 3-OR.
- L'addition du réactif NaOH, conduit à un déplacement bathochrome + 58 nm de la bande I, avec une augmentation de l'intensité, ce qui prouve l'existence d'un OH libre en position 4'. L'apparition d'une nouvelle bande à 340 nm prouve l'existence d'un OH libre en position 7, ceci est confirmé par le spectre enregistré en présence de NaOAc, où la bande II subit un déplacement bathochrome de + 6 nm par rapport au spectre enregistré dans le MeOH.
- L'addition du réactif (AlCl₃+HCl), conduit à un déplacement bathochrome de + 20 nm de la bande I, par rapport au spectre enregistré dans le MeOH ce qui prouve l'existence d'un OH libre en position 5 avec une oxygénation en C-6 du noyau A.
- L'apparition d'un effet bathochrome de la bande I dans le spectre enregistré dans le milieu (NaOAc+H₃BO₃) ($\Delta\lambda I = + 22$ nm) comparativement au spectre enregistré dans le MeOH indique la présence d'un ortho di-OH sur le noyau B.

Les données relatives à la série spectral UV sont rassemblées dans le Tableau III -8.



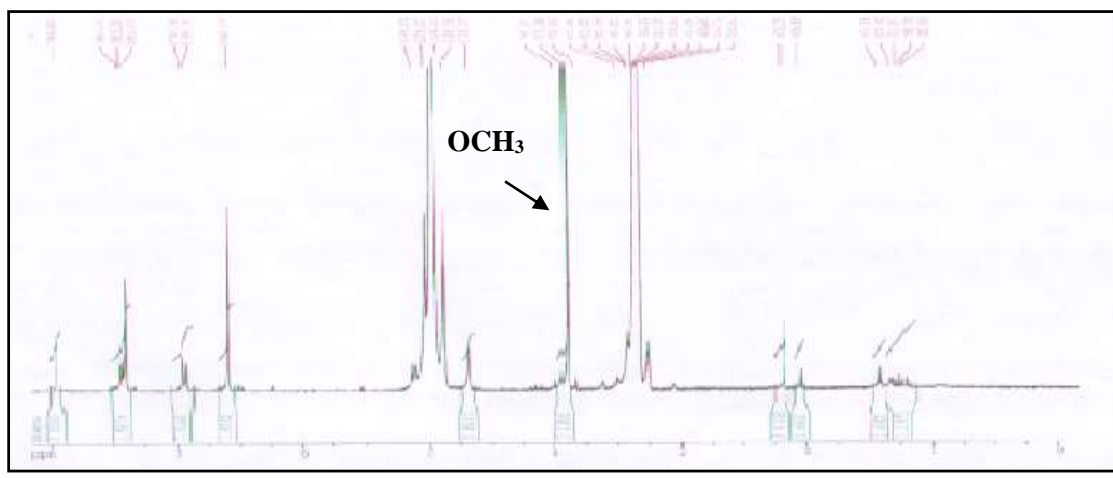
Spectre III-41 : Série spectrale UV du composé F7

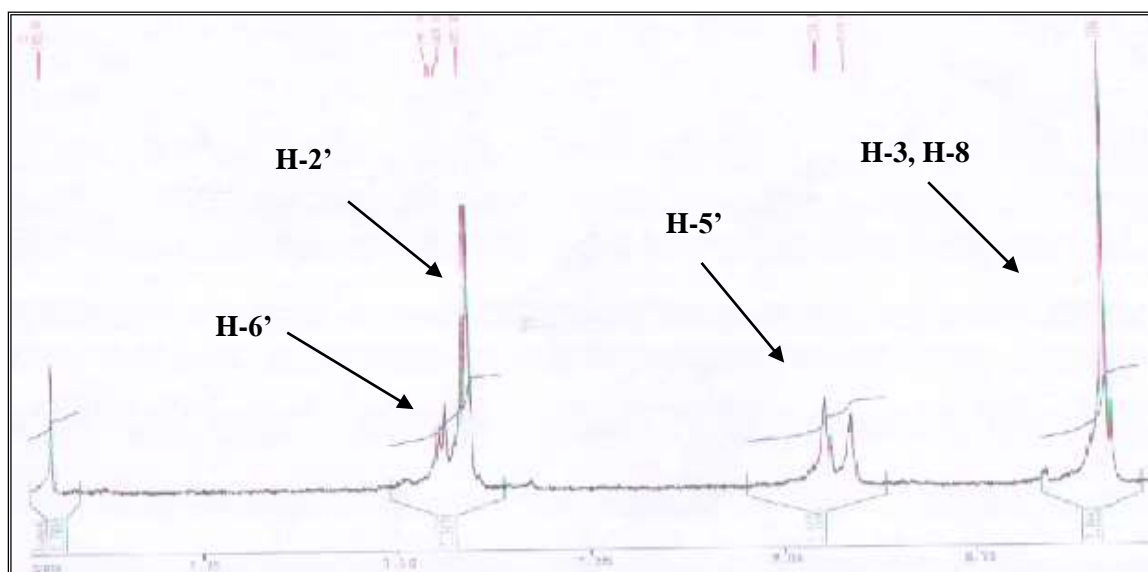
Tableau III -8 : données de la série spectrale UV :

RÉACTIFS	BANDE I	AUTRES BANDES	BANDE II	COMMENTAIRES
MeOH	348	-	269	Flavone ou flavonol 3-OR
+ NaOH	406	340	267	OH en C-4' OH en C-7
+AlCl ₃	368	295	270	OH en C-5 OR en C-6
+AlCl ₃ /HCl	368	292	276	
+NaOAc	364	323	275	OH en C-7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	370	-	263	3', 4' ortho di OH
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				

L'étude du spectre RMN¹H et son étalement donne les indications suivantes (Spectre III-42, Spectre III-43) :

- Un doublet ($J = 2,2$ Hz) d'intégration 1H à $\delta = 7,40$ ppm attribuables à H-2'.
- Un doublet dédoublé ($J = 8,6 ; 2,2$ Hz) d'intégration 1H à $\delta = 7,44$ ppm attribuable à H-6'.
- Un doublet ($J = 8,6$ Hz) d'intégration 1H à $\delta = 6,90$ ppm attribuable à H-5'.
- Un singulet d'intégration 2H à $\delta = 6,58$ ppm attribuable à H-8 et H-3 vu l'oxygénation de la position 6.
- Un singulet d'intégration 3H à $\delta = 3,83$ ppm, attribuable à un groupement méthoxyle.

Spectre III-42 : RMN¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F7



Spectre III-43 : RMN¹H étalé entre 7,44 et 6,58 ppm (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F7

Les données de la spectroscopie RMN¹H rapporté dans le tableau suivant :

Tableau III-9 : Données de la spectroscopie RMN¹H du composé F7

Attribution	Multiplicité (J HZ)	Intégration	Déplacement chimique δ_c (ppm)
H-6'	<i>dd</i> (8.6- 2,2)	1H	7,44
H-2'	<i>d</i> (2.2)	1H	7,40
H-5'	<i>d</i> (8.6)	1H	6,90
H-8, H-3	-	2H	6,58
OCH ₃	<i>s</i>	H 3	3,83

Les données de la spectroscopie RMN¹H complétées par celle de la spectrophotométrie UV sont en accord avec les données de la littérature [22,23] et mènent à la structure de la 5, 7,3',4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone connue sous le nom de Népétine.

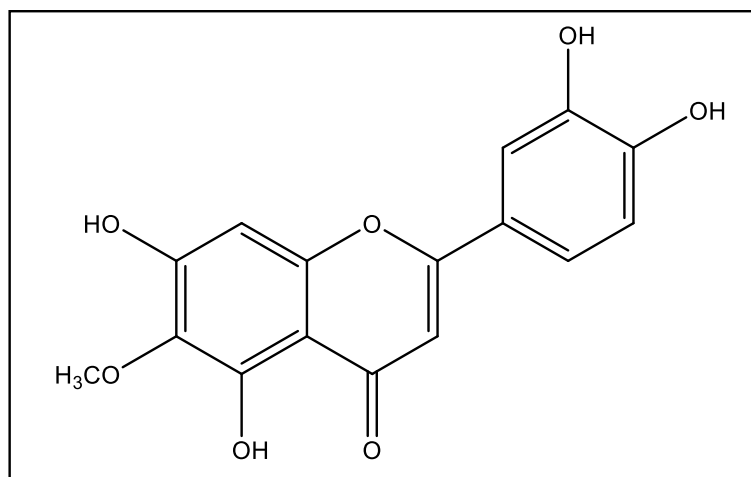


Figure III-9: Structure de la 5, 7,3',4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone (Népetine)

La Népetine a été isolé antérieurement de plusieurs espèces du genre *Centaurea*. On citera à titre d'exemple *Centaurea africana* [18] et *Centaurea microcarpa* [24].

III-2-2 : Elucidation structurale du composé F27mcf

L'analyse du spectre *J* mod et ces étalements (Spectre III-44, Spectre III-45, Spectre III-46) confirment la présence de 26 atomes de carbone :

8 carbones quaternaires (8 Cq) dont :

- 1 carbone à $\delta_c = 180,0$ ppm caractéristique d'un carbonyle d'une γ -lactone α, β -saturée ou d'une fonction acide d'après la valeur de son déplacement chimique.
- 2 carbones aromatiques non oxygénés à $\delta_c = 133,3$ et $131,7$ ppm, de deux noyaux aromatique.
- 4 carbones aromatiques oxygénés à $\delta_c = 150,6, 147,9, 147,2, 146,6$ ppm de deux noyaux aromatique.
- 1 carbone hybridé sp^3 et oxygéné à $\delta_c = 77,2$ ppm.

12 groupements méthynes (12CH) dont :

- 6 carbones aromatique à $\delta_c = 124,1, 122,2, 117,8, 115,9, 113,9, 113,2$ ppm de deux noyaux aromatique.
- 1 carbone à $\delta_c = 44,6$ ppm correspondant à un carbone hybridé sp^3 et non oxygéné.
- 5 carbones hybridés sp^3 et oxygéné à $\delta_c = 78,2, 77,8, 74,9, 71,3, 102,8$ ppm respectivement correspondent aux carbones d'un hexose.

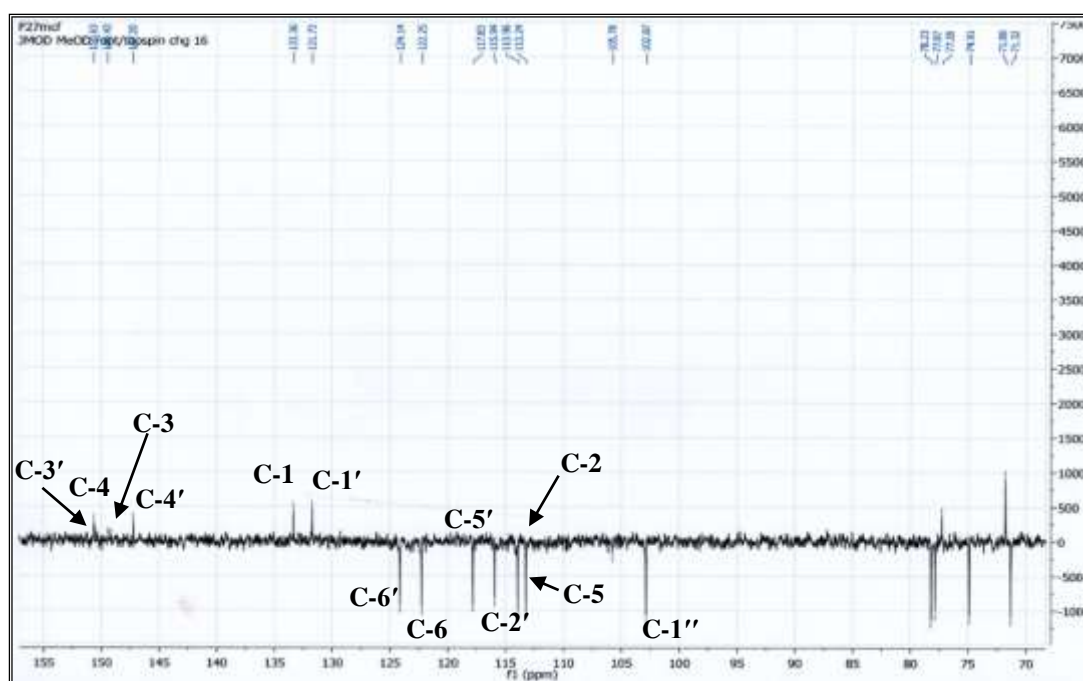
4 groupements méthylènes (CH_2) sp^3 dont :

- 1 carbone oxygéné à $\delta_c = 71,8$ ppm, la valeur du déplacement chimique de ce groupement CH_2 oriente vers un CH_2 de fermeture d'une γ -lactone ce qui exclut la présence de la fonction acide de cette molécule.
- 1 carbone oxygéné à $\delta_c = 62,4$ ppm.
- 2 carbones non oxygéné à $\delta_c = 41,8$ et $30,1$ ppm.

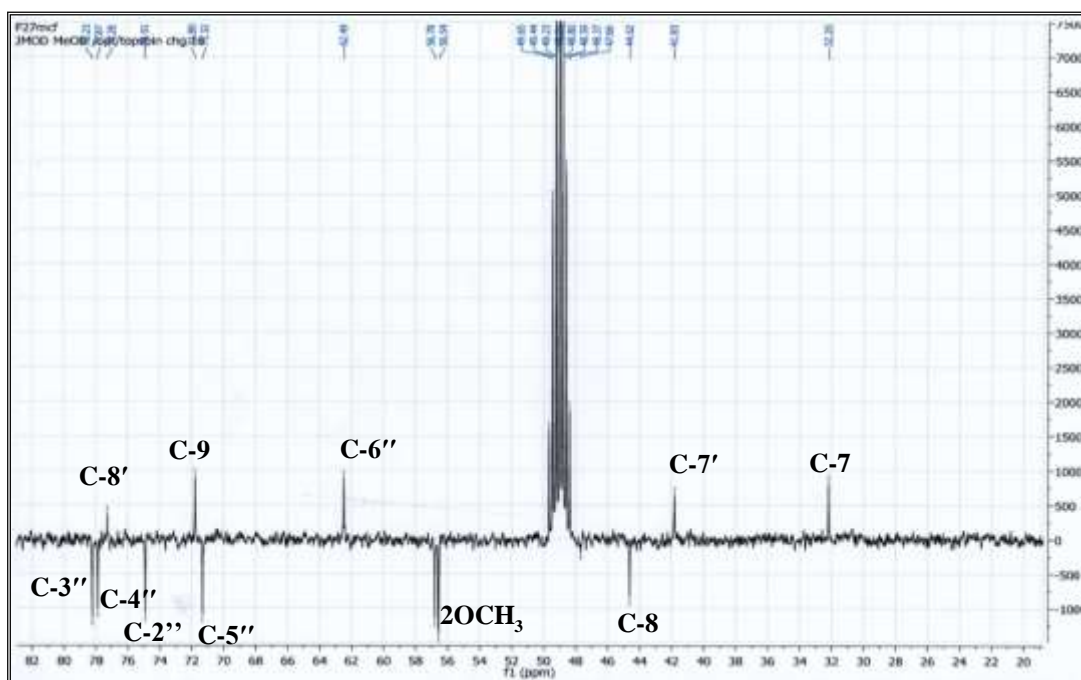
2 groupements méthoxy à $\delta_c = 56,5$ ppm.

Ces données permettent de déduire une formule brute $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{12}$ pour ce composé, cette formule indique alors la présence de 11 degrés d'insaturations dans cette molécule, que nous pouvons répartir comme suit :

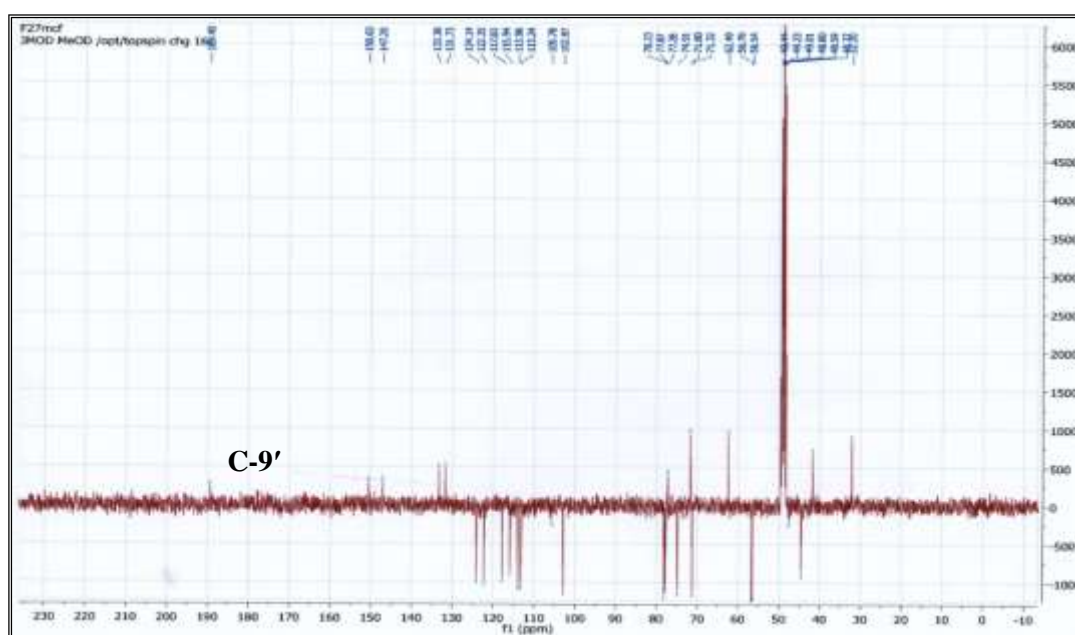
- Une fonction carbonyle et le cycle lactone.
- Deux cycles benzéniques tri-substitués.
- Il restera une insaturation qu'on attribuera au cycle du sucre.



Spectre III-44 : Spectre *J*mod étalé entre 155 et 70 ppm (100 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F27mcf



Spectre III-45 : Spectre J_{mod} étalé entre 82 et 20 ppm (100 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F27mcf



Spectre III-46 : Spectre J_{mod} (100 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F27mcf

Vu la formule brute de cette molécule $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$ et la présence de deux groupements méthoxyle et deux groupements hydroxyle et un sucre, il apparait, clairement que le squelette de cette molécule admet comme formule brute $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{O}_3$. Par ailleurs nos données montrent la présence

de 2 noyaux aromatiques trisubstitués et la présence de 6 groupements carbonés dont ceux faisant partie de la γ -lactone α , β -saturée ce qui nous orientent vers un squelette de type $(C_6-C_3)_2$ soit donc un squelette résultant de la combinaison de deux acides phénoliques et donc un lignane, avec la présence d'un carbone hybridé sp^3 et oxygéné à $\delta_c = 77,2$ ppm indique donc que ce lignane est de type 8'-hydroxydibenzylbutyrolactone (Figure III-10) [25].

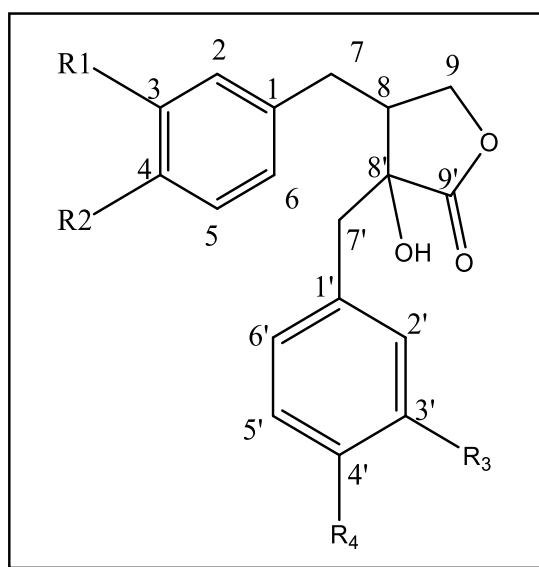
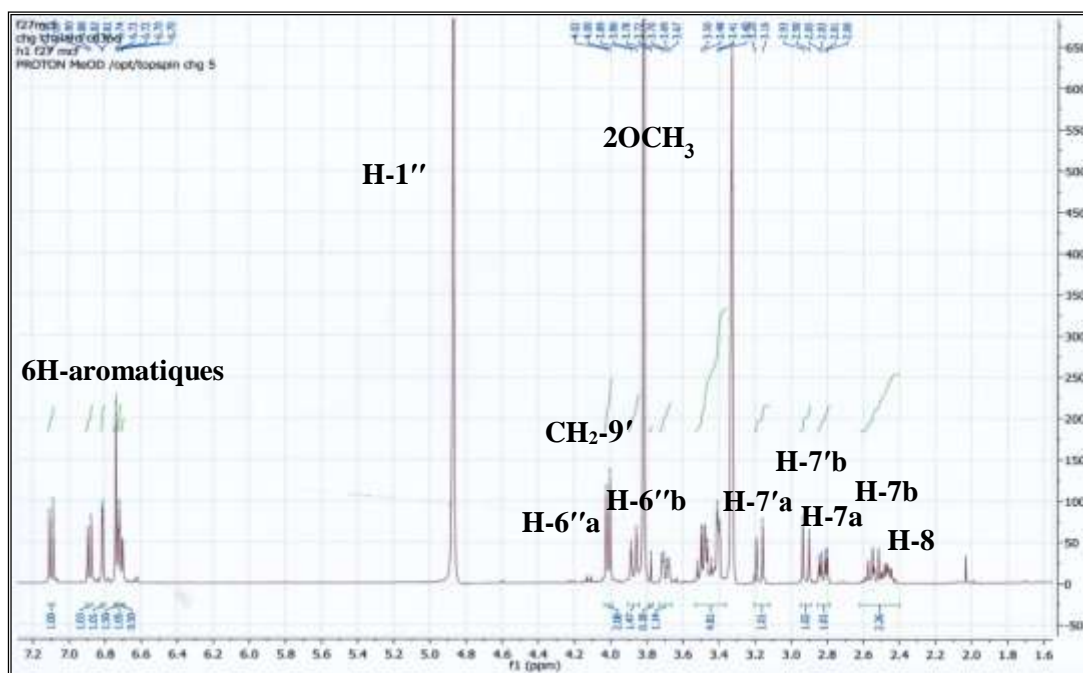
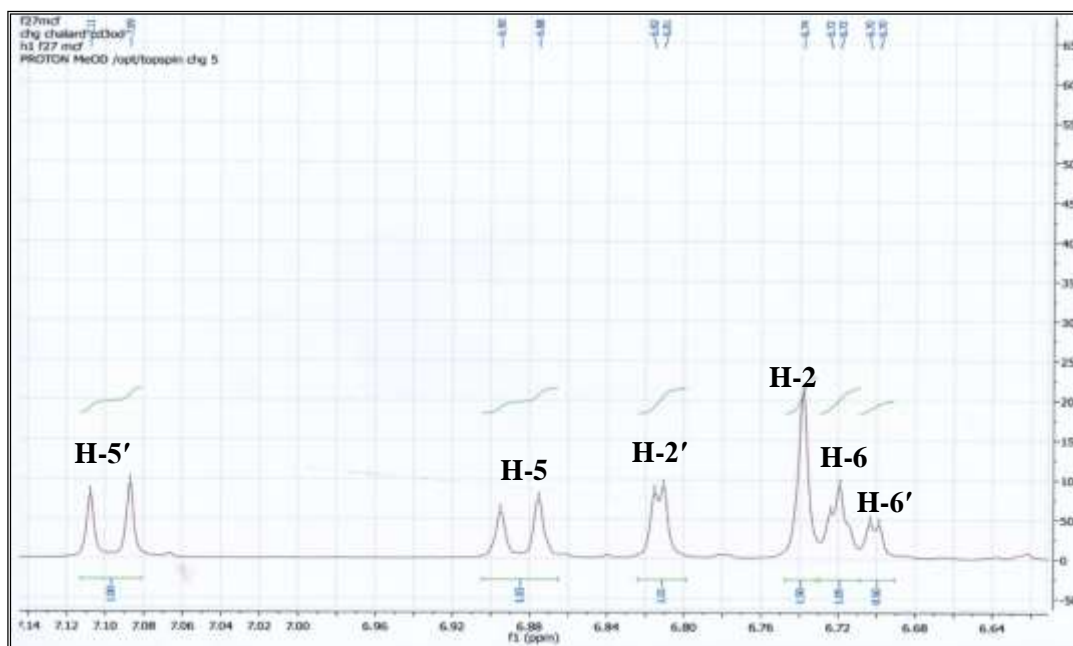


Figure III-10: squelette d'un lignane de type: 8'-hydroxydibenzylbutyrolactone

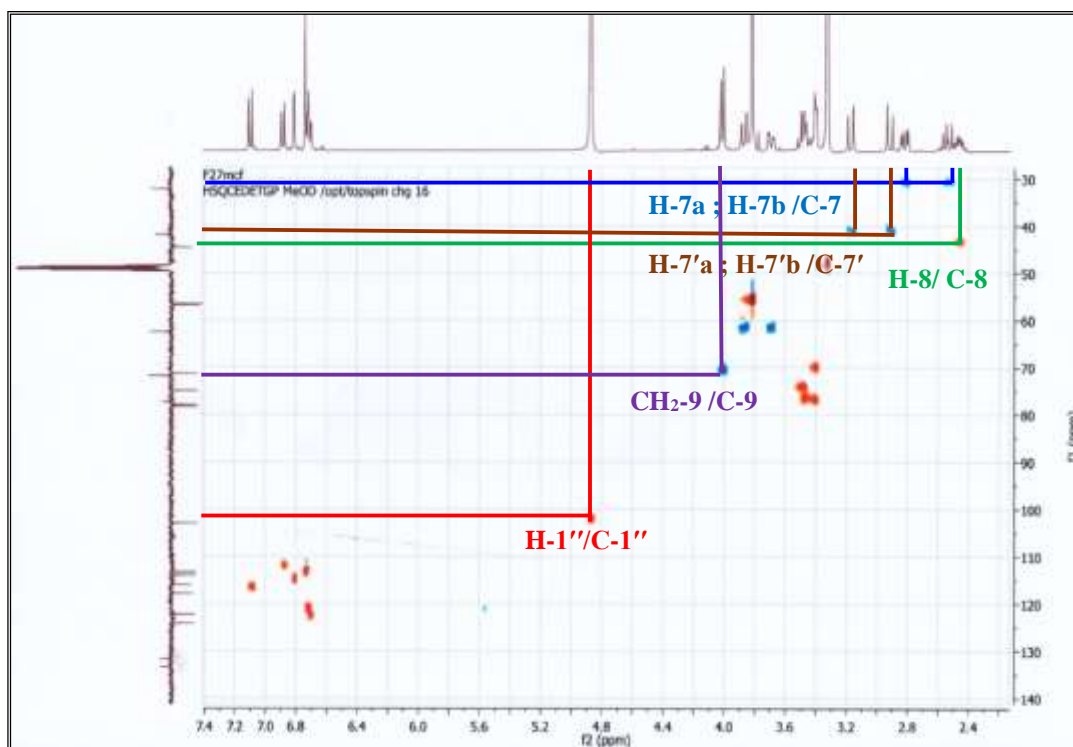
Le spectre RMN¹H de cette molécule (Spectre III-47) montre : un signal d'intégration 2H manifeste comme un doublet à $\delta_H = 4,04$ ppm (d, $J = 8,0$ Hz) ces deux protons corrélient sur les spectres HSQC (Spectre III-49) au carbone du groupement méthylène à $\delta_c = 71,8$ ppm. Sachant que ce carbone n'est autre que le carbone de fermeture de la γ -lactone α , β -saturée et tenant compte de la numérotation propre aux lignanes de ce type, ces deux protons sont attribués aux noyaux H-9a et H-9b du groupement méthylène lactonique oxygéné de la position 9 (CH₂-9) et par conséquent le carbone qui les porte sera attribué au C-9. Sur le spectre RMN¹H (Spectre III-47) et grâce au spectre HSQC (Spectre III-49) on observe bien la présence :



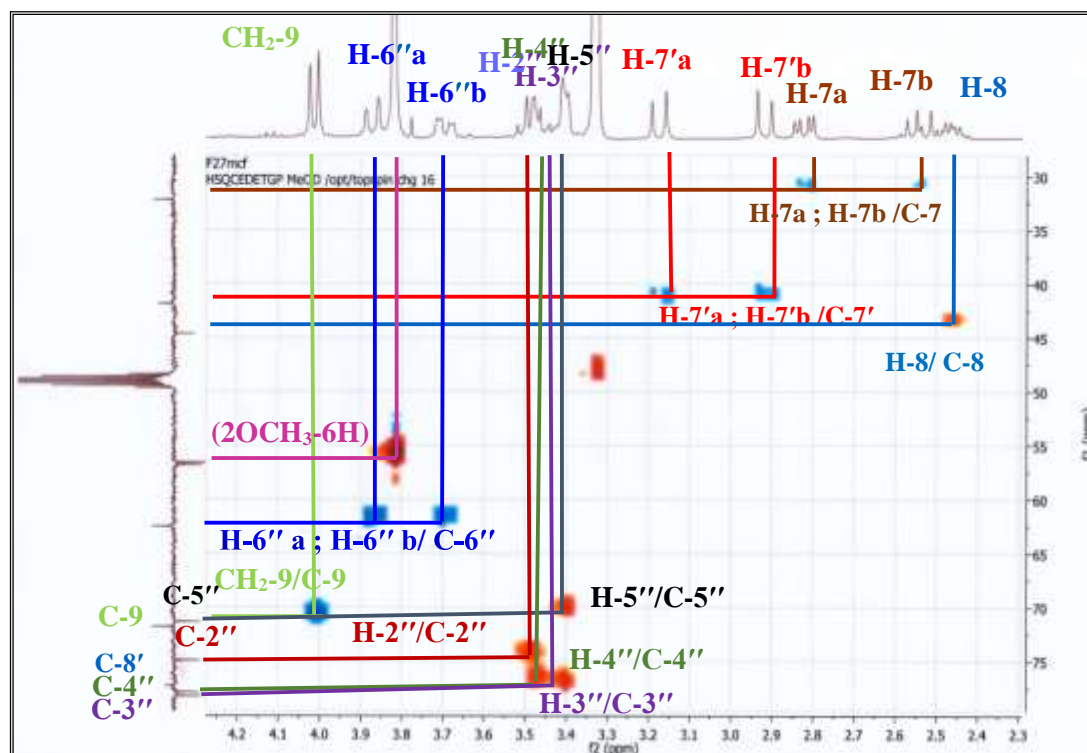
Spectre III-47 : Spectre RMN¹H (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F27mcf



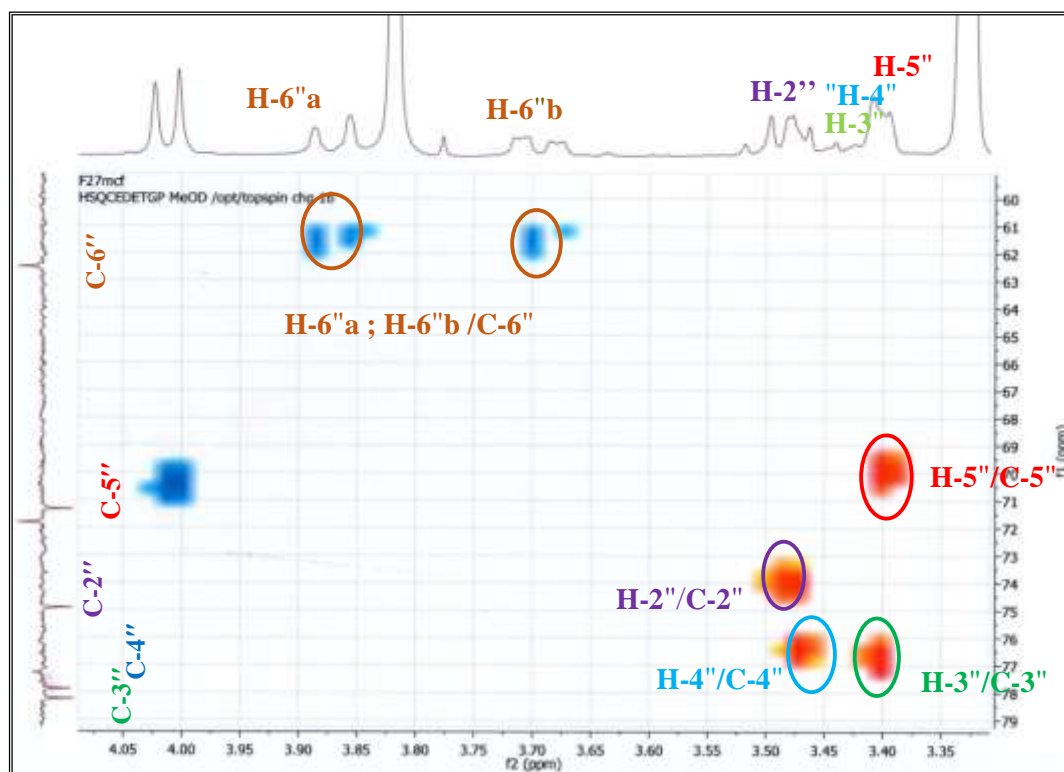
Spectre III-48 : Spectre RMN¹H étalé entre 7.10 et 6.64 ppm (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F27mcf



Spectre III-49 : Spectre HSQC étalé entre 7.40 et 2.40 ppm (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F27mcf

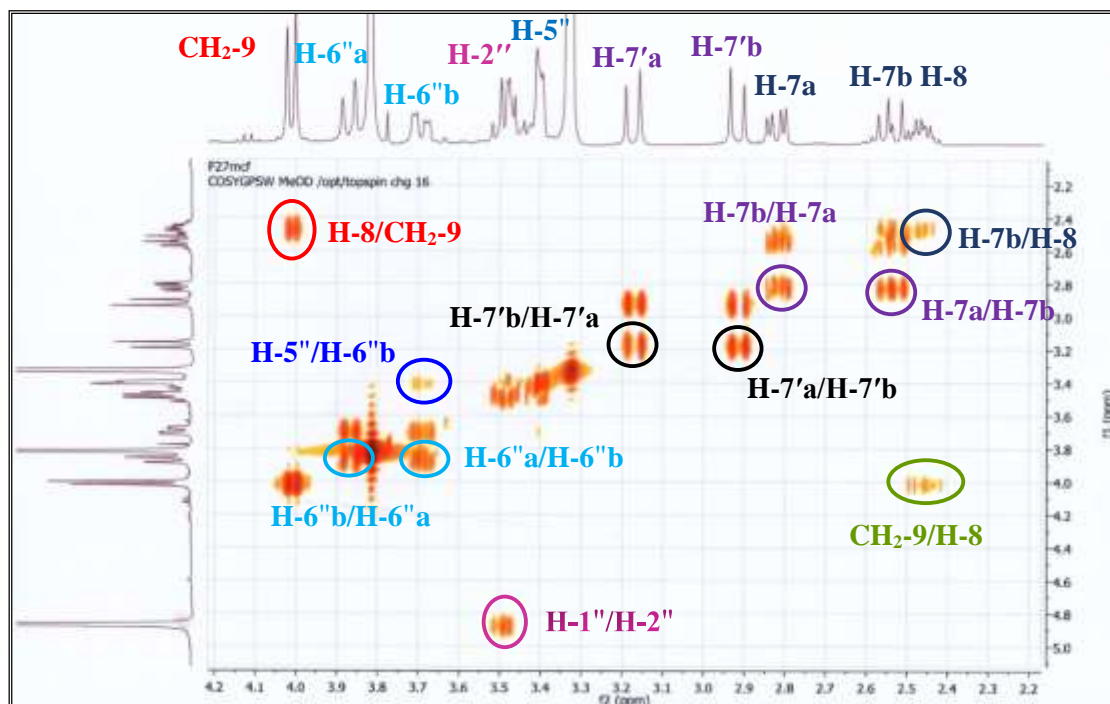


Spectre III-50 : Spectre HSQC étalé entre 4.20 et 2.30 ppm (400 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F27mcf

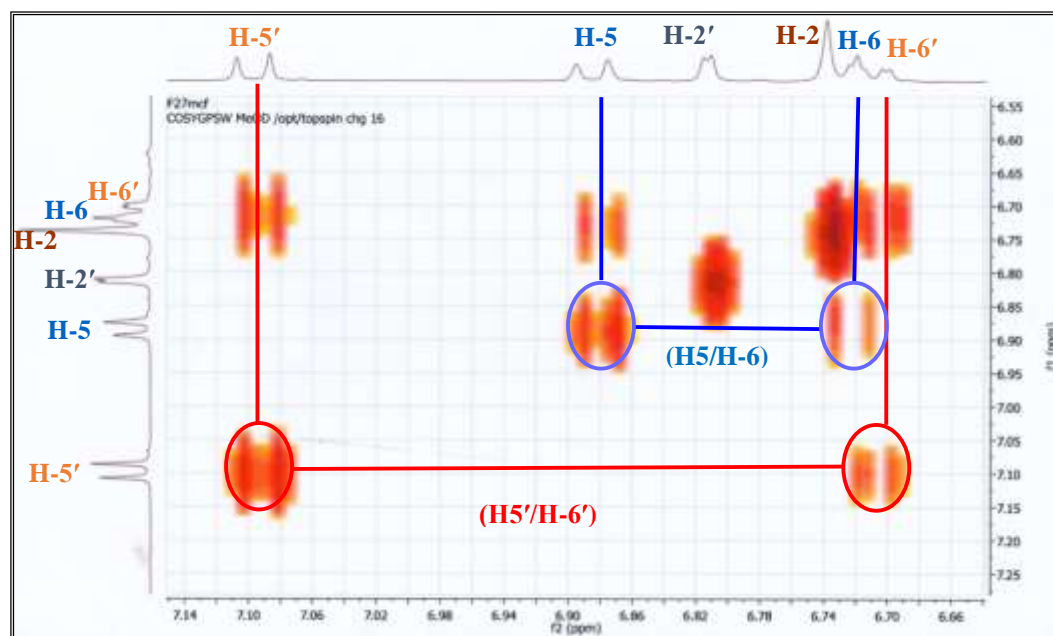


Spectre III-51 : Spectre HSQC étalé entre 4.05 et 3.35 ppm (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F27mcf

- Un signal sous forme de multiplet d'intégration 1H à $\delta_H = 2,46$ ppm. Ce proton corrèle sur le spectre HSQC (Spectre III-50) au carbone à $\delta_C = 44,6$ ppm et sur le spectre COSY (Spectre III-52) aux deux protons du groupement méthylène lactonique oxygéné de la position 9 (CH₂-9). Cette observation permet d'attribuer ce proton au noyau H-8 du lignane en question, le carbone à $\delta_C = 44,6$ ppm sera donc attribuée à C-8.



Spectre III-52 : Spectre COSY (^1H - ^1H) étalé entre 4.20 et 2.20 ppm (400 MHz, CD_3OD , δ ppm du composé F27m



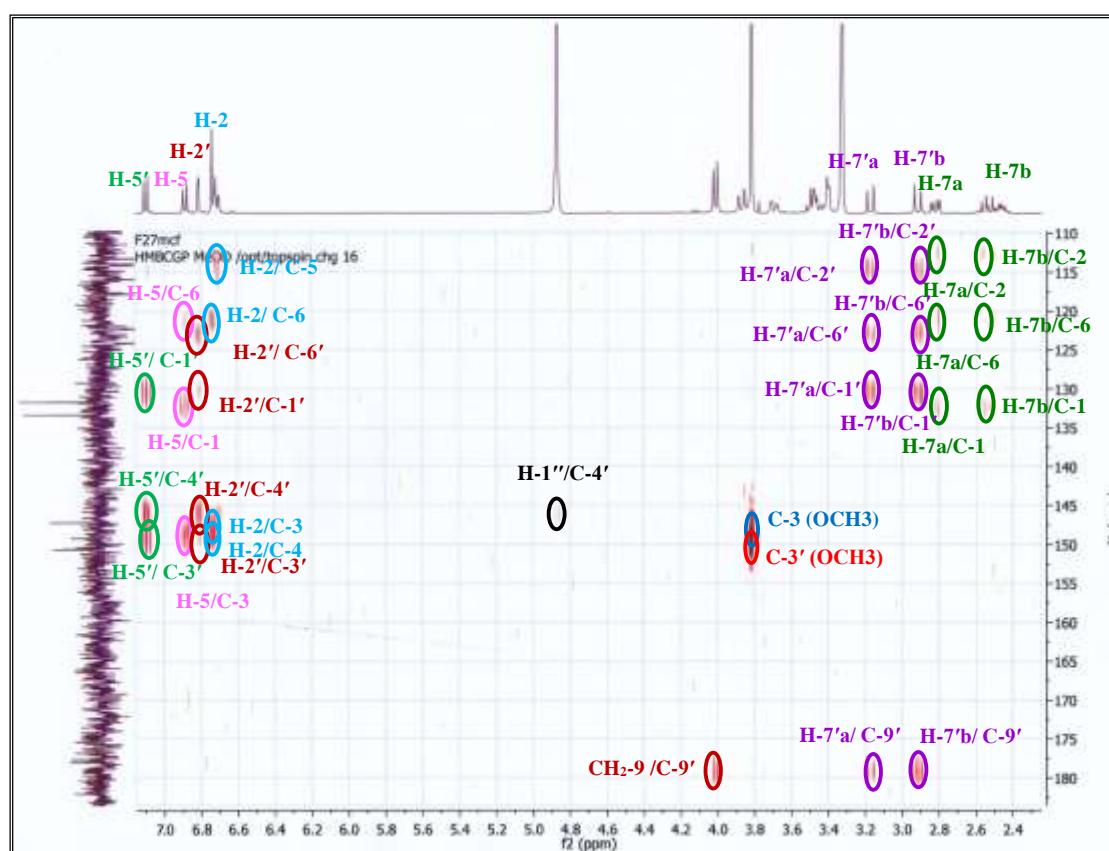
Spectre III-53 : Spectre COSY (^1H - ^1H) étalé entre 7.14 et 6.66 ppm (400 MHz, CD_3OD , δ ppm du composé F27mcf.

- Deux signaux d'intégration 1H chacun, le premier sous forme de doublet de doublet à $\delta_{\text{H}} = 2,82$ ppm ($J = 14,0 ; 4,0$ Hz) et le second à $\delta_{\text{H}} = 2,56$ ppm sous forme de doublet de doublet (J

= 14,0 ; 4,0 Hz). Ces deux protons corrélient sur les spectres HSQC (Spectre III-50) avec le carbone du méthylène à $\delta_c = 32,2$ ppm (C-7) et sur le spectre COSY (^1H - ^1H) (Spectre III-52) au proton H-8, cette donnée permet d'attribuer ces deux protons aux noyaux H-7a et H-7b. Ces deux derniers protons appartiennent au même groupement méthylène non oxygéné du premier système AB selon le spectre COSY (^1H - ^1H) (Spectre III-52).

Le spectre RMN ^1H (Spectre III-47) nous montre les deux autres protons de groupement méthylène non oxygéné du deuxième système AB qui se manifestent comme deux doublets, un à $\delta_H = 3,17$ ppm relatif au proton H-7'a (d, $J = 12,0$ Hz) et l'autre à $\delta_H = 2,91$ ppm (d, $J = 12,0$ Hz) relatif au proton H-7'b. Ces deux protons corrélient sur le spectre HSQC (Spectre III-50) au carbone du méthylène à $\delta_c = 41,8$ ppm qui sera donc attribuée à C-7'.

Sur le spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre III-54), les deux protons (CH₂-9) montrent une tache de corrélation avec le carbone du carbonyle de la γ -lactone (C-9') ($\delta_c = 180,0$ ppm) confirmant ainsi son point de fermeture en C-9. Toujours sur le même spectre les protons H-7'a, H-7'b montrent également des taches de corrélation avec le carbone de ce carbonyle, confirmant ainsi le cycle γ -lactonique.



Spectre III-54 : Spectre HMBC (400 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F27mcf.

Par ailleurs, ce spectre HMBC (Spectre III-54) montre des taches de corrélation entre les protons H-7a et H-7b et le carbone aromatique quaternaire à $\delta_C = 133,3$ ppm permettant ainsi son attribution au carbone C-1 du premier noyau aromatique du lignane, et montrent aussi des taches de corrélation nettes avec les deux carbones des méthynes aromatiques : le C-2 à $\delta_C = 113,9$ ppm et le C-6 à $\delta_C = 122,2$ ppm. Sur le spectre relatif à l'expérience HSQC (Spectre III-49), ces deux derniers carbones corrélaient respectivement avec leurs protons : le H-2 qui résonne sous forme d'un singulet large à $\delta_H = 6,74$ ppm, et le H-6 qui résonne sous forme d'un doublet à $6,72$ ppm ($J = 8,0$ Hz) partiellement recouvert par le signal du H-2.

Ces données permettent aussi de déduire que ce noyau aromatique est substitué en C-3 et C-4.

Le proton H-5 de ce noyau aromatique est attribué au signal à $\delta_H = 6,89$ ppm (d, $J = 8,0$ Hz) grâce à sa corrélation sur le spectre COSY ($^1\text{H}-^1\text{H}$) (Spectre III-53) avec H-6. Le carbone C-5 apparaît à $\delta_C = 113,2$ ppm selon l'expérience HSQC (Spectre III-49).

L'attribution de ce proton (H-5) permet la localisation de C-3 de ce noyau aromatique à $\delta_C = 147,2$ ppm grâce à leur tache de corrélation relevée sur le spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre III-54). Ce carbone C-3 montre aussi une tache de corrélation avec les protons du groupement méthoxyle à $\delta_H = 3,82$ ppm indiquant également sa méthylation.

Un retour vers le spectre HMBC (Spectre III-54) où les protons H-7'a, H-7'b montrent des taches de corrélation avec le carbone aromatique quaternaire à $\delta_C = 131,7$ ppm permettant ainsi son attribution au carbone C-1' du deuxième noyau aromatique du lignane, et montrent aussi des taches de corrélation nettes avec les deux carbones des méthynes aromatiques : le C-2' à $\delta_C = 115$, ppm et le C-6' à $\delta_C = 124,1$ ppm. Sur le spectre relatif à l'expérience HSQC (Spectre III-49), ces deux derniers carbones corrélaient respectivement avec leurs protons : le H-2' qui résonne sous forme d'un doublet à $\delta_H = 6,81$ ppm ($J = 4,0$ Hz), et le H-6' qui résonne sous forme d'un doublet de doublet à $\delta_H = 6,70$ ppm ($J = 8,0 ; 2,0$ Hz) partiellement recouvert par le signal du proton H-6.

Ces données permettent aussi de déduire que ce noyau aromatique est substitué en C-3' et C-4'. Le proton H-5' de ce noyau aromatique est localisé à $\delta_H = 7,10$ ppm (d, $J = 8,0$ Hz) grâce à sa corrélation sur le spectre COSY ($^1\text{H}-^1\text{H}$) (Spectre III -53) avec H-6'. Le spectre HSQC (Spectre III-49) permet la localisation de C-5' à $\delta_C = 117,8$ ppm.

L'attribution de ce proton (H-5') permet la localisation de C-3' de ce noyau aromatique à δ_C

=150,6 ppm grâce à leur tâche de corrélation relevée sur le spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre III-54). Ce carbone C-3' montre une tâche de corrélation avec les protons du méthoxyle à $\delta_H = 3,82$ ppm indiquant également sa méthylation.

Cela permet de localiser les deux groupements méthoxyle qui apparaissent dans le spectre RMN 1H (Spectre III-47) sous forme d'un singulet d'intégration 6H à $\delta_H = 3,82$ ppm, l'un sur le carbone C-3 et l'autre sur le carbone C-3' (HMBC) (Spectre III-54).

Le spectre RMN 1H (Spectre III-47) suggère aussi l'existence d'une unité osidique dont le proton anomérique H-1'' recouvert par le signal du solvant à $\delta_H = 4,85$ ppm, ce signal porté d'après le spectre HSQC (Spectre III-49) par le carbone C-1'' à $\delta_C = 102,8$ ppm dû au proton anomérique du sucre H-1'' et son carbone relatif. La valeur de ce déplacement chimique indique que cette unité osidique est reliée à l'aglycone par une jonction oxygénée de configuration β . [25], [23].

L'examen du spectre COSY (1H - 1H) enregistré dans CD_3OD (Spectre III-52) permet en effet de mettre en évidence :

- La présence de H-2'' à $\delta_H = 3,49$ ppm (t, $J = 8.8$ Hz) par sa corrélation avec le H-1''. Le carbone C-2'' apparaît à $\delta_C = 74,9$ ppm, HSQC (Spectre III-51).
- La localisation de H-2'' permet d'attribuer H-3'' et H-4'' sous forme d'un multiplet à $\delta_H = 3,48$ ppm. Ces signaux portés d'après le spectre HSQC (Spectre III-51) par les deux carbones C-3'' et C-4'' à $\delta_C = 78,2$ et $77,8$ ppm.
- L'attribution de H-6''b à $\delta_H = 3,70$ ppm sous forme d'un doublet de doublet ($J = 12,0 ; 2,4$ Hz) permet à son tour de localiser H-5'' à $\delta_H = 3,41$ ppm de l'entité sucre comme précédemment signalé sous forme de multiplet, cette attribution mène aussi à localiser le H-6''a à $\delta_H = 3,87$ ppm, son signal apparaissant sous forme d'un doublet large ($J = 12,0$ Hz). Les deux protons (H-6''a, H-6''b) corrélient sur les spectres HSQC (Spectre III-51) au carbone du méthylène à C-6'' à $62,4$ ppm, et le proton H-5'' corréle au carbone C-5'' à $\delta_H = 71.3$ ppm.

La comparaison des déplacements chimiques des carbones du sucre avec ceux de la littérature montre que ce sucre ne peut être qu'un groupement glucosyle. [23], [26,27].

Toujours dans le spectre HMBC (Spectre III-54), le proton H-2' donne une tâche de corrélation avec le carbone quaternaire à $\delta_C = 146,6$ ppm qui ne peut être que C-4', la valeur de son déplacement chimique indique qu'il est oxygéné. Cette oxygénation est claire sur ce spectre car

ce carbone montre une tache de corrélation avec le proton anomérique H-1'' ($\delta_H = 4,85\text{ppm}$), ce qui indique que l'entité sucre de ce produit est placé en C-4'.

Ces données permettent de dire que le deuxième cycle aromatique est substitué par un glucose en C-4' et un groupement méthoxyle en C-3'.

L'examen du spectre HMBC enregistré dans CD_3OD (Spectre III-53) montre que le proton H-2 donne une tache de corrélation avec le carbone C-4 à $\delta_C = 147.9\text{ ppm}$. Cela laisse à C-4 la seule possibilité de porter un groupement OH.

Donc on peut dire que le premier cycle aromatique est substitué par un groupement OH en C-4 et un groupement méthoxyle en C-3.

Toutes ces données confirment la formule brute de ce composé $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$ qui indique la présence de 12 atomes d'oxygène :

- 6 parmi eux sont, sans ambiguïté sur l'entité glucose.
- 2 de deux groupements méthoxyle.
- 2 dans le cycle lactonique.
- 1 sur le carbone quaternaire lactonique C-8'.
- 1 groupement OH porté par le carbone C-4.

Les données relatives aux spectres : RMN¹H, RMN¹³C, DEPT-135 et les corrélations COSY (¹H-¹H) et HMBC de ce composé sont reportées dans les (Tableau III-10).

Tableau III-10 : Données de la RMN¹H, RMN¹³C et les corrélations COSY (¹H-¹H) et HMBC du F27mcf

Position	Déplacement chimique δ_c (ppm)	Déplacement chimique δ_H (ppm) (J Hz) multiplicité	HMBC	Couplage COSY (¹ H- ¹ H)
1'	131.7	-	-	-
2'	115.9	6.81 (1H, <i>d</i> , 4,0)	C-1', C-6', C-4', C-3'	-
3'	150.0	-	-	-
4'	146.6	-	-	-
5'	117.8	7,10 (1H, <i>d</i> , 8,0)	C-3', C-1', C-4'	H-6'
6'	124.1	6.70 (1H, <i>dd</i> , 8,0 ; 2,0)	-	H-5'
7'a	41.8	3.17 (1H, <i>d</i> , 12,0)	C-6', C-2', C-1' C-9	H-7'b
7'b	41.8	2.91(1H, <i>d</i> , 12,0)	C-6', C-2', C-1' C-9'	H-7'a
8'	77.2	-	-	-
9'	180.0	-	-	-
1	133.3	-	-	-
2	113.9	6.74 (1H, <i>sl</i>)	C-6, C-1, C-3, C4	-
3	147.2	-	-	-
4	147.9	-	-	-
5	113.2	6.89 (1H, <i>d</i> , 8,0)	C-3, C-1, C-6	H-6
6	122.2	6.72 (1H, <i>d</i> , 8,0)	-	H-5
7a	30.1	2.82 (1H, <i>dd</i> , 14,0 ; 4,0)	C6, C2, C1	H-7b
7b	30.1	2.56 (1H, <i>dd</i> , 14,0 ; 4,0)	C6, C1, C2	H-7a; H-8
8	44.6	2.46 (1H, <i>m</i>)	-	H-7b; (CH ₂)-9
9	71.8	4.04 (2H <i>d</i> , 8,0)	C-9'	H-8
OCH ₃	56.5	3.82 (6H, <i>s</i>)	C3', C3	-
1"	102.8	4.85 (sous le pic du solvant)	C4'	H-2"
2"	74.9	3.49(1H, <i>t</i> , 16,0)	-	H-1"; H-3" H-4"
3"	78.2	3.48 (1H <i>m</i>)	-	H-4"
4"	77.8	3.48 (1H <i>m</i>)	-	H-3"
5"	71.3	3.41 (1H <i>m</i>)	-	H-6"b
6"a	62.4	3.87 (1H, <i>dl</i> , 12,0)	-	H-5", H-6"b
6"b	62.4	3.70 (1H, <i>dd</i> , 12,0 ; 2,4)	-	H-5", H-6"a

L'ensemble de ces données mènent à la structure reportée dans la Figure III-11 :

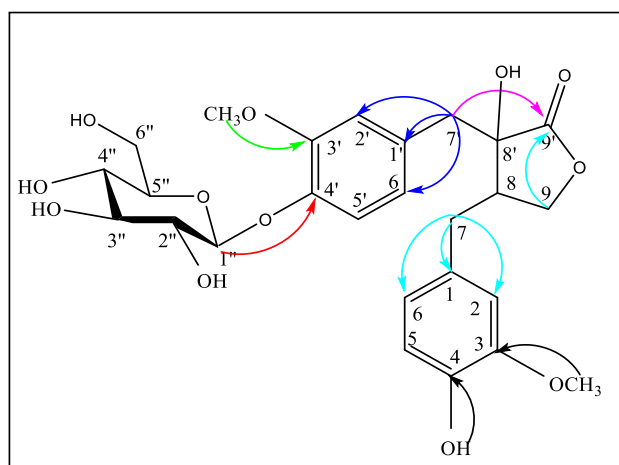


Figure III-11: Corrélations HMBC du composé F27mcf

La configuration absolue des centres chiraux des positions C-8 et C-8' du composé F27mcf a été suggéré comme étant 8S et 8'S, par la comparaison des déplacements chimiques des carbones C-7' ($\delta_C = 41,8$ ppm) et C-8 ($\delta_C = 44,6$ ppm) de ce composé avec ceux des isomères optiques cis (C-7' ($\delta_C = 38,3$ ppm), C-8 ($\delta_C = 48,1$ ppm)) et trans (C-7' ($\delta_C = 42,0$ ppm), C-8 ($\delta_C = 43,7$ ppm)) des lignanes de type 8-hydroxydibenzylbutyrolactone rapporté dans la littérature [28-29].

Cela nous oriente vers le : (8S, 8'S)-4,8'-dihydroxy-3,3'-diméthoxylignan-9-9'-olide-4'-O- β -D-glucopyranoside connu par le : ''4'-O- β -D-glucopyranosyl-nortrachélogénine'' [30] (Figure III-12).

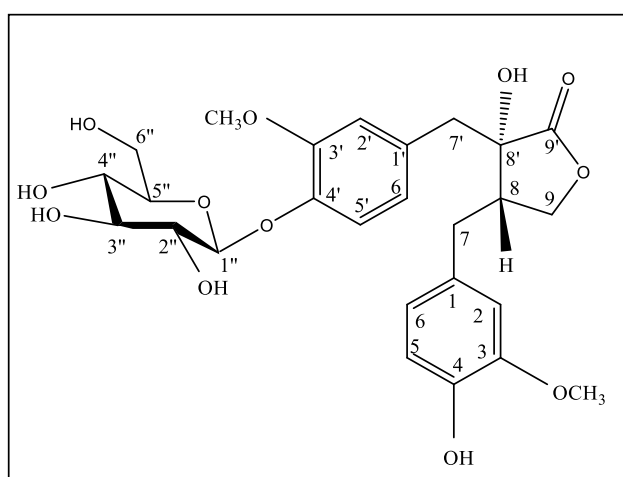


Figure III -12: 4'-O- β -D-glucopyranosyl-nortrachélogénine

Il a été isolé pour la première fois de *Centaurea microcarpa*, Coss. & Dur.

III-2-3 : Elucidation structurale du composé F11

L'examen des spectres RMN¹H (Spectre III-55, Spectre III-56, Spectre III-57) montrent la présence de deux signaux caractéristiques d'un noyau aromatique monosubstitué dont :

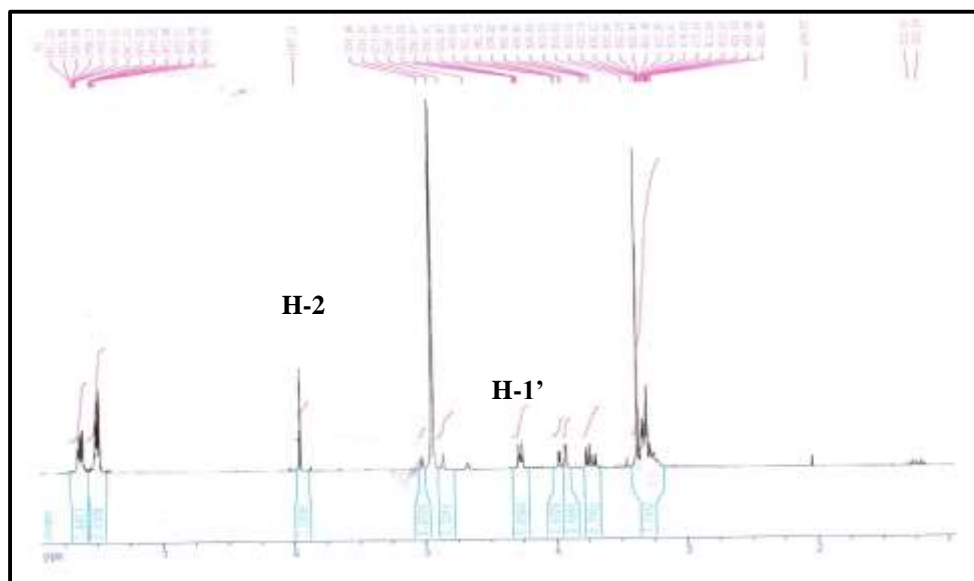
-Un signal d'intégration 3H sous forme d'un multiplet à $\delta_H = 7,50$ ppm et un autre signal d'intégration 2H sous forme également d'un multiplet à $\delta_H = 7.62$ ppm.

Le même spectre montre un ensemble de signaux caractéristiques d'un hexose notamment le signal à $\delta_H = 4,26$ ppm sous forme d'un doublet ($J = 7,36$ Hz) attribuable au proton anomérique (H-1') de l'hexose.

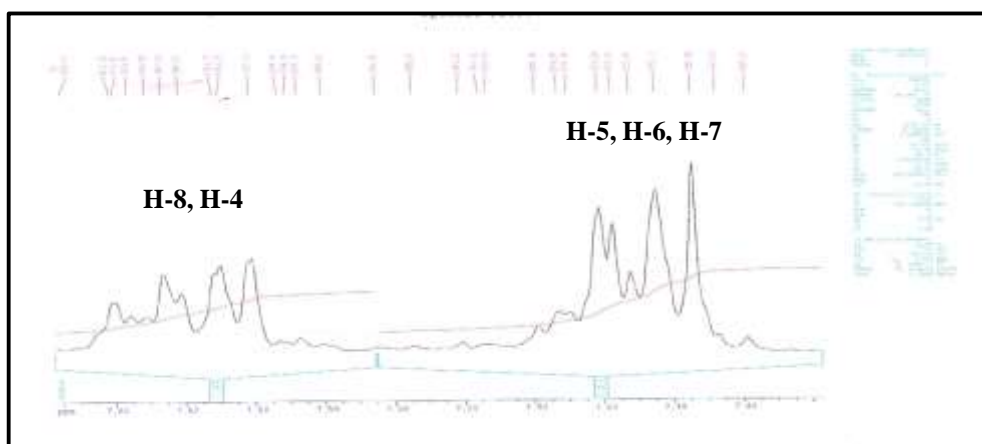
-Deux signaux d'intégration 1H chacun à $\delta_H = 3,94$ ppm (dd, $J = 11,9 ; 2,1$ Hz) et $\delta = 3,72$ ppm (dd, $J = 11,9 ; 5,8$ Hz) attribuables respectivement à H-6'a, H-6'b.

-Un signal d'intégrations 1H sous forme d'un singulet à $\delta_H = 5,94$ ppm attribuable au proton H-2.

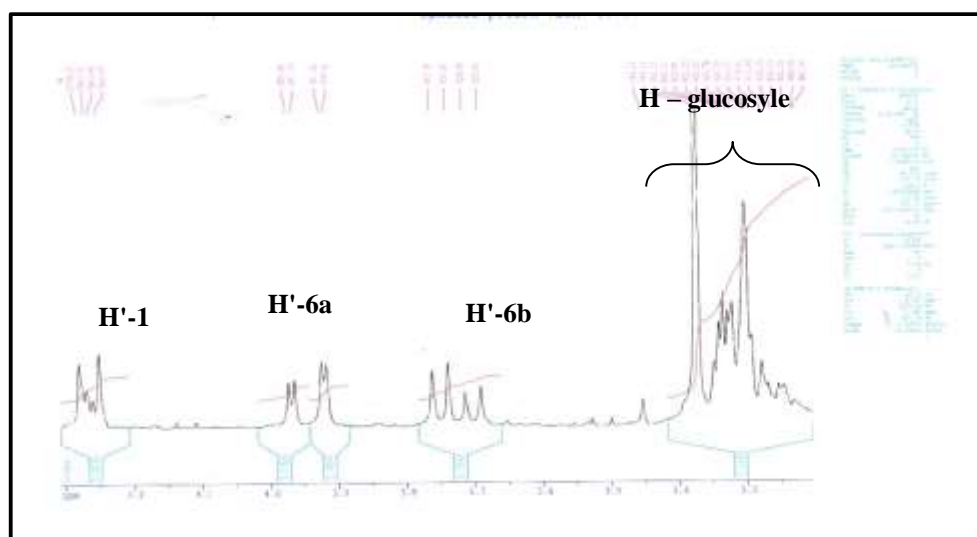
-Un ensemble de multiplet dans l'intervalle [3,34 – 3,24] ppm attribuable aux protons 2', 3', 4', 5' du substituant sucre.



Spectre III-55 : RMN¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F11



Spectre III-56 : Spectre RMN¹H étalé entre 5 et 8 ppm (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F11



Spectre III-57 : Spectre RMN¹H étalé entre 5 et 8 ppm (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F11

La combinaison des analyses des spectres RMN¹³C (Spectre III-58 et Spectre III-59) et *J* mod (Spectre III-60) montre la présence dans cette molécule de :

- 5 groupements méthyne (CH) dont quatre d'entre eux à $\delta_c = 76,9 ; 76,3 ; 73,3 ; 70,0$ ppm le 5^{ème} étant le carbone anomérique à $\delta_c = 100,4$ ppm.

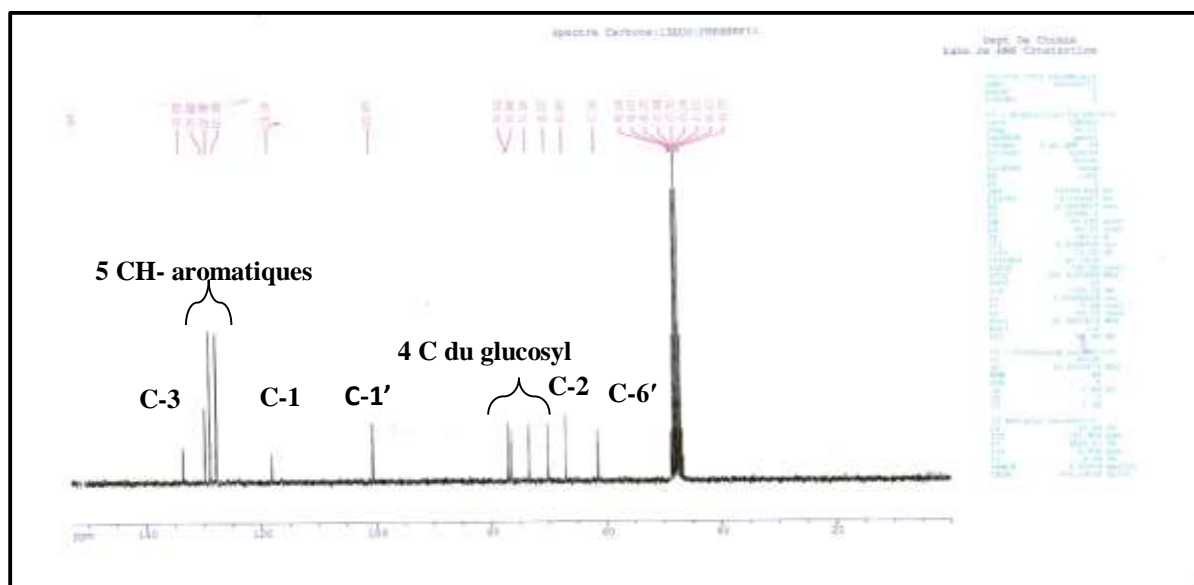
Ces données, notamment les valeurs des déplacements chimique des carbones comparées à celle de la littérature orientent vers un substituant de type glucosyle [11].

Les mêmes spectres montrent également la présence de :

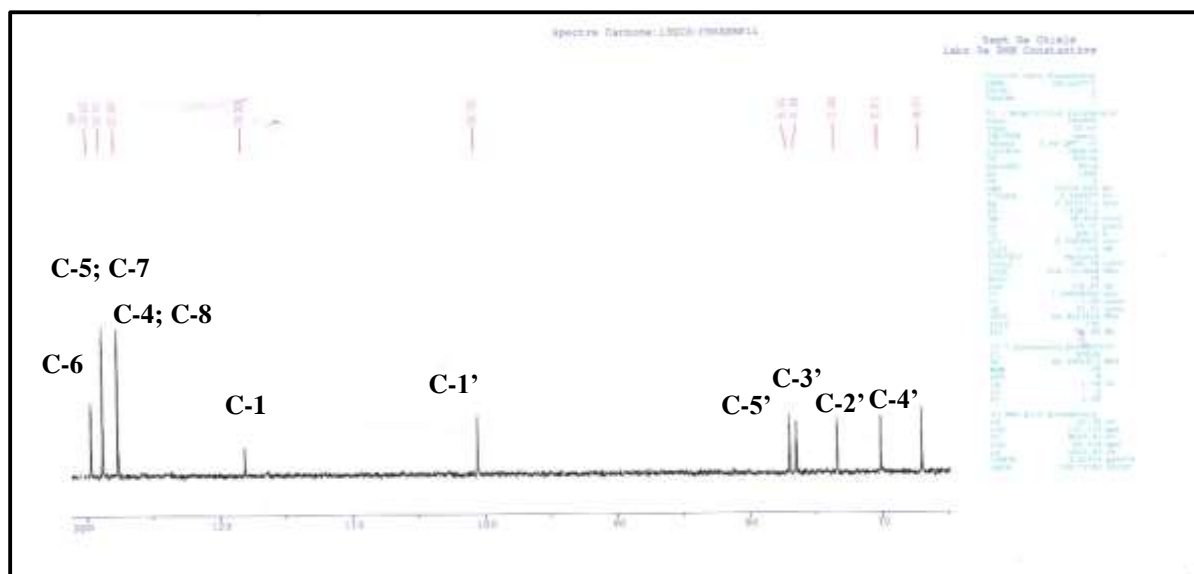
- un atome de carbone quaternaire à $\delta_c = 133,4$ ppm attribué à un atome de carbone du noyau aromatique.

- 3 groupements (CH) correspondant aux autres carbones du noyau aromatique notamment les C-4 et C-8 à 127,5 ppm et les C-5 et C-7 à $\delta_c = 128,7$ ppm et le C-6 à $\delta_c = 129,6$ ppm.

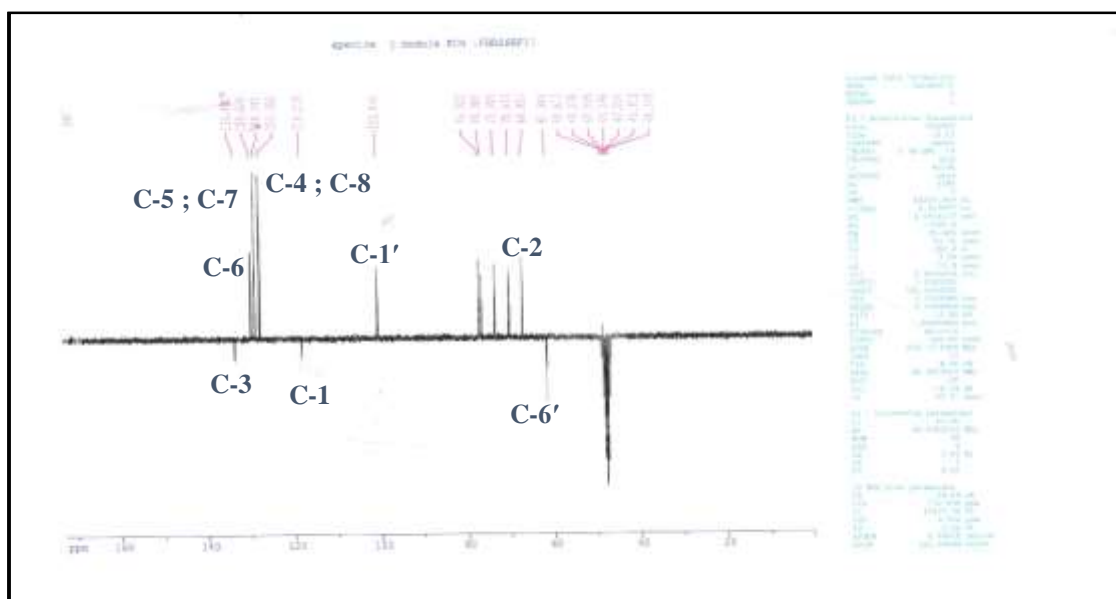
Ce spectre montre également un signal correspondant à un carbone quaternaire à $\delta_c = 118,0$ ppm. Le déplacement chimique de ce carbone est caractéristique du carbone d'un groupement nitrile. La présence de ce groupement justifie l'abaissement du déplacement chimique du groupement CH oxygéné à $\delta_c = 66,9$ ppm explicable par la proximité de ce noyau de la zone positivante de la triple liaison de ce groupement nitrile.



Spectre III-58 : Spectre RMN¹³C (62.5 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F11



Spectre III-59 : spectre RMN¹³C étalé entre 33.9 et 130.0 ppm (62.5 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F11.



Spectre III-60 : Spectre J_{mod} (62.5 MHz, CD_3OD , δ ppm) du composé F11

L'ensemble de ces données reporté dans les tableaux mène à la structure plane reportée dans la Figure III-13.

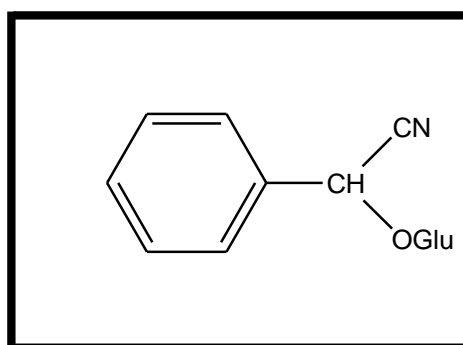


Figure III-13: Structure plane du composé F11

La comparaison des déplacements chimiques de H-2 ($\delta_{\text{H}} = 5,94$ ppm) et H-1' ($\delta_{\text{H}} = 4,26$ ppm) de ce composé avec celles de la prunasine rapporté dans la littérature : H-2 ($\delta_{\text{H}} = 5,89$ ppm) et H-1' ($\delta_{\text{H}} = 4,23$ ppm) a permis de donner la stéréochimie (R) du centre asymétrique de cette molécule [14]. En effet, nos résultats sont en parfait accord avec ceux d'une molécule naturelle isolé de *Centaurea Aspera* var. *Subinermis* [31], de *Perilla Frutescens* var. *Acuta* [32] et d'*Eucalyptus L'Hérit* [33] et de *Centaurea nicaensis* [34] connu sous le nom de prunasine. Cette molécule est commune pour le genre *Centaurea* (Compositae) [31,34] est reporté dans la figure III-14 :

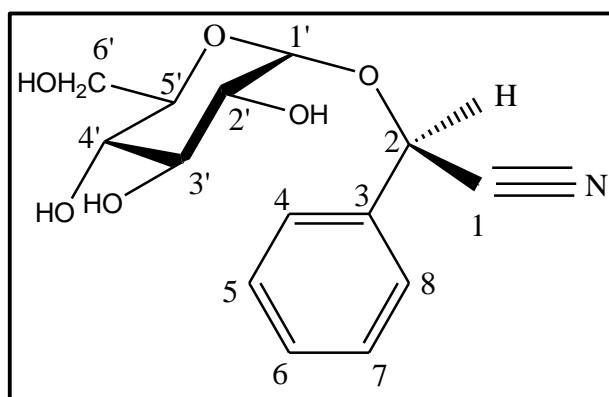


Figure III-14: la prunasine (F11)

Les données relatives à la spectroscopie RMN¹H de ce composé sont rassemblées dans le tableau III-11.

Tableau III-11 : Données de la RMN¹H du composé F11

Attribution	Multiplicité (J HZ)	Intégration	Déplacement chimique δ_c (ppm)
H 1'	<i>d</i> (7, 3)	1H	4,26
H-6'a	<i>dd</i> (11,9- 2,1)	1H	3,94
H-6'b	<i>dd</i> (11,9- 5,8)	1H	3,72
H-2', H-3', H-4', H-5'	<i>m</i>	4H	3,34- 3,24
H-4, H-8	<i>m</i>	2H	7,62
H-5, H-6, H-7	<i>m</i>	3H	7,50
H-2	<i>s</i>	1H	5,94

Tableau III-12 : Données de la RMN¹³C du composé F11

¹³ C	Déplacement chimique δ_c (ppm)
1	118,0
2	66,9
3	133,4
4, 8	127,5
5, 7	128,7
6	129,6
1'	100,4
2'	73,3
3'	76,3
4'	70,0
5'	76,9
6'	61,3

III-2-4 : Elucidation structurale du composé F13

La fluorescence noire violette de ce composé sous lumière de Wood laisse supposer la structure d'une flavone ou d'un flavonol substitué en position 3.

Les données de la série spectrale UV (tableau III-13) montre :

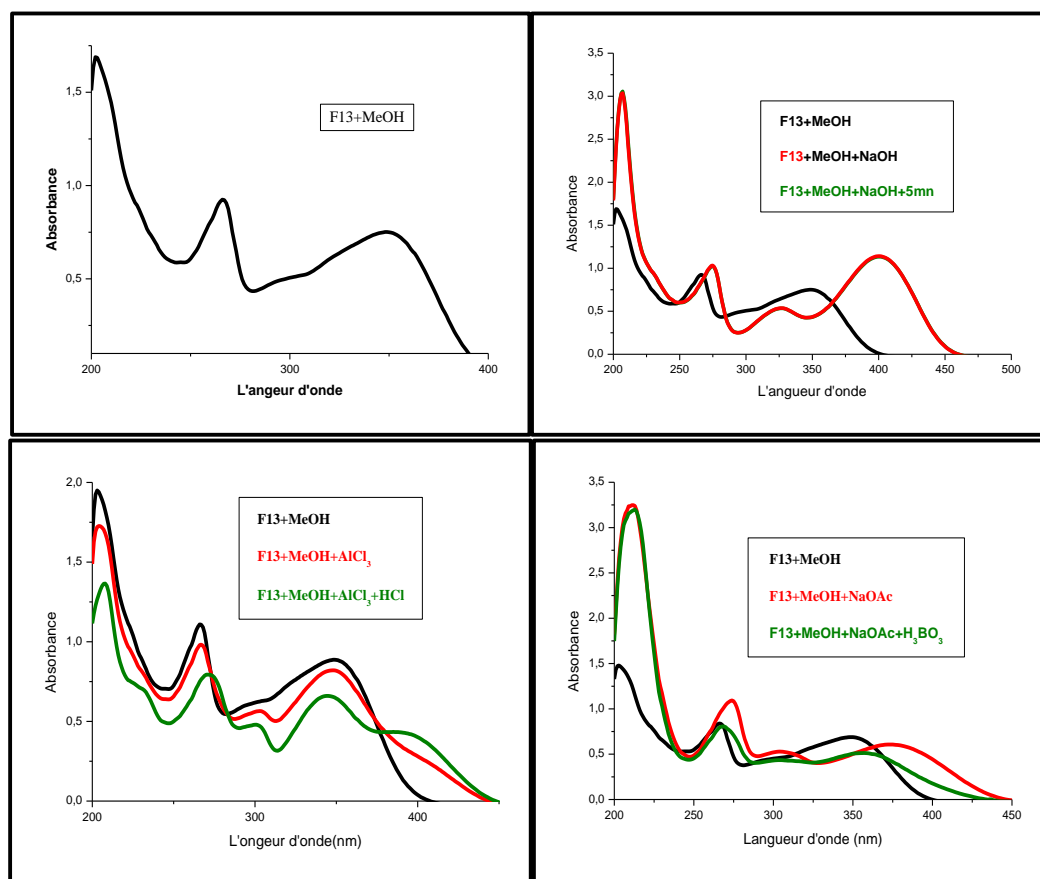
- Les valeurs des longueurs d'ondes de la bande I et la bande II en présence du méthanol respectivement à 350 nm et 266 nm orientent vers la structure d'une flavone ou d'un flavonol substitué en position 3.
- L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda_I = + 50$ nm) avec une augmentation de l'intensité, ce qui prouve l'existence d'un OH libre en position 4'.
- L'apparition d'une nouvelle bande à 326 nm prouve l'existence d'un OH libre en position 7, ceci est confirmé par le spectre enregistré en présence de NaOAc, où la bande II subit un déplacement bathochrome de ($\Delta\lambda_{II} = + 5$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH.

- Un effet bathochrome de la bande I dans le spectre enregistré dans le milieu AlCl_3+HCl , comparativement à celui enregistré dans le MeOH ($\Delta\lambda_I = +40 \text{ nm}$) indique la présence d'un OH libre en C-5.

Les données relatives à la série spectral UV sont rassemblées dans le tableau III-13

Tableau III-13 : données de la série spectrale UV du composé F13

REACTIFS	BANDE I	AUTRES BANDES	BANDE II	COMMENTAIRES
MeOH	350	-	266	Flavonol (3-OR)
+ NaOH	400	326	275	OH en C-4' OH en C-7
+AlCl ₃	349	302	267	OH en C-5
+AlCl ₃ /HCl	390	300	271	
+NaOAc	365	-	261	OH en C-7
Spectre stable avec NaOH après 5 min				



Spectre III-61 : série spectrale UV du composé F13.

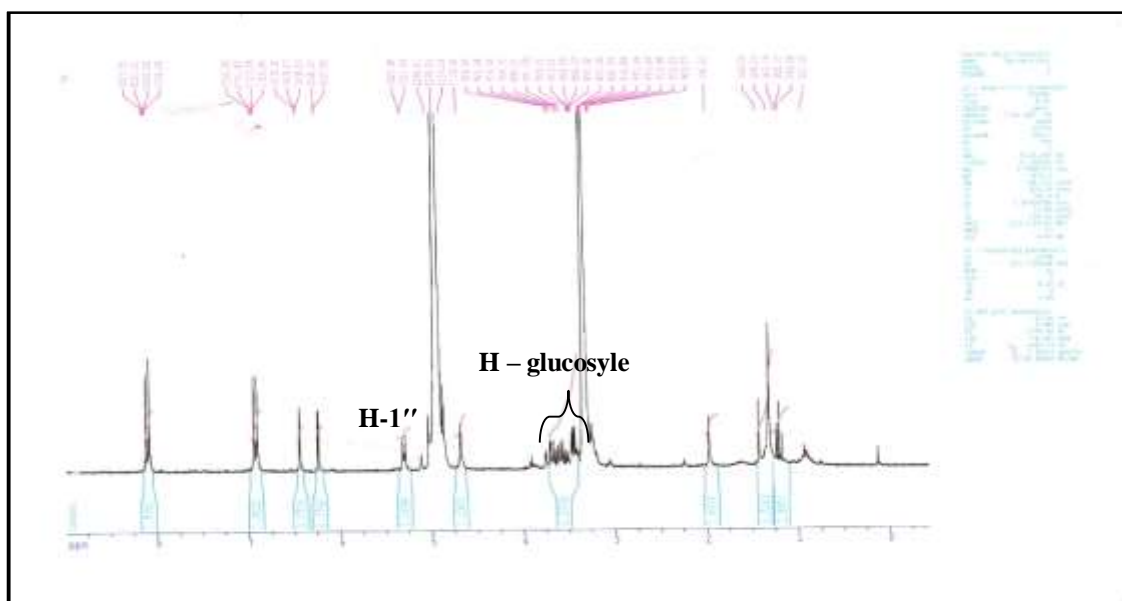
L'examen des spectres RMN¹H (Spectre III-62 ; III-63 ; III-64) de ce composé montre qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavone substitué en position 3 caractérisé par

- Un doublet dédoublé d'intégration 2H à $\delta_H = 8,10$ ppm ($J = 6,9 ; 2,1$ Hz) attribuable à H-2' et H-6'.
- Un doublet dédoublé d'intégration 2H à $\delta_H = 6,91$ ppm ($J = 6,9 ; 2,1$ Hz) attribuable à H-5' et H-3'.
- Un doublet d'intégration 1H à $\delta_H = 6,42$ ppm ($J = 1,0$ Hz) attribuables à H-8.
- Un doublet d'intégration 1H à $\delta_H = 6,22$ ppm ($J = 2,0$ Hz) attribuables à H-6.

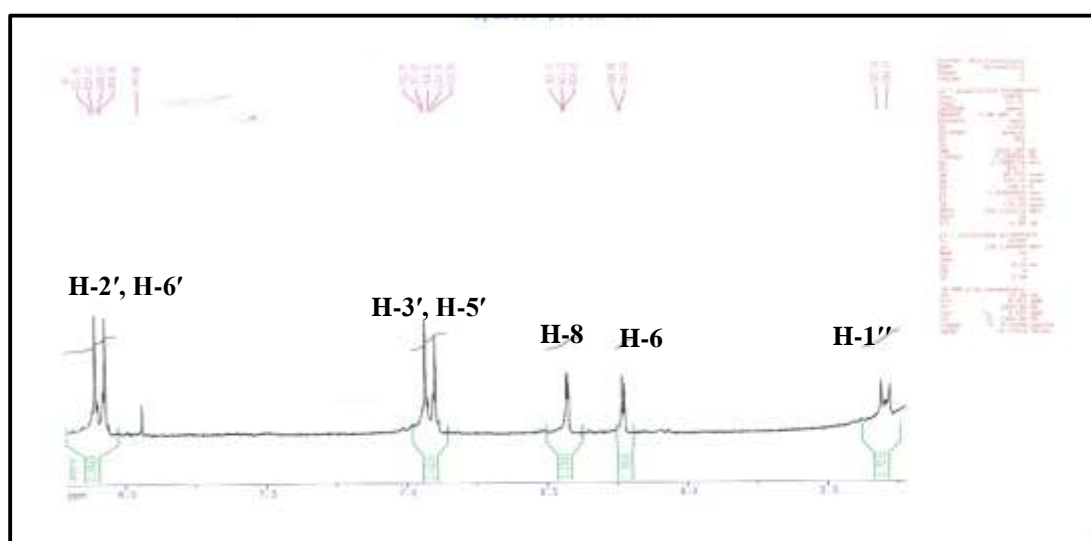
Ce spectre montre aussi un signal sous forme de doublet ($J = 7,6$ Hz) à $\delta_H = 5,29$ ppm caractéristique d'un proton anomérique (H-1'') d'un sucre lié à l'aglycone par une jonction de type C-O de stéréochimie β .

- Un doublet dédoublé ($J = 11,8 ; 2,2$ Hz) d'intégration 1H, à $\delta_H = 3,72$ ppm attribuable à H-6''a.
- Un doublet dédoublé ($J = 13,0 ; 4,3$ Hz) d'intégration 1H, à $\delta_H = 3,63$ ppm attribuable à H-6''b.

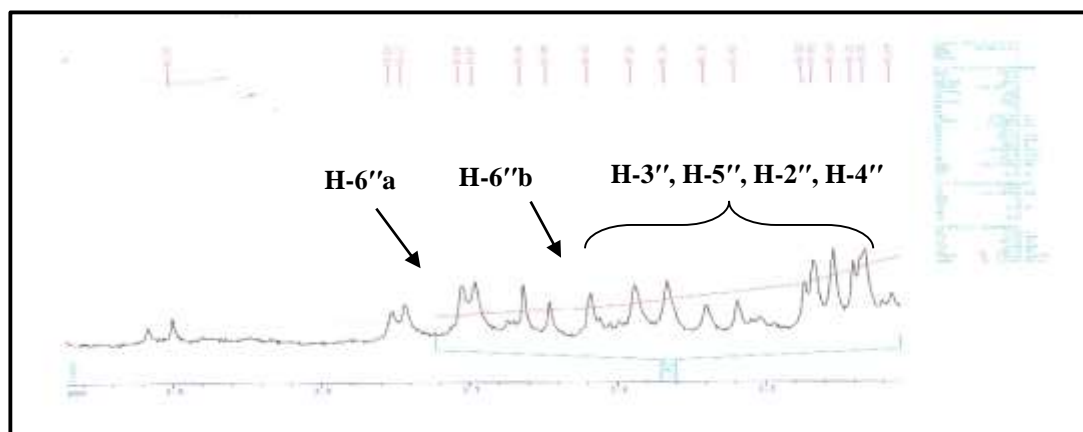
Un ensemble de signaux d'intégration 4 H attribuables aux protons du sucre dans la zone comprise entre $\delta_H = 3,56$ ppm et $\delta_H = 3,41$ ppm.



Spectre III-62 : Spectre RMN¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F13



Spectre III-63 : Spectre RMN¹H étalé entre 8,5 et 5 ppm (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F13



Spectre III-64 : Spectre RMN¹H étalé entre 4 et 2 ppm (250 MHz, CD₃OD, δ ppm)
du composé F13

Les données relatives à la spectroscopie RMN¹H de ce composé sont rassemblées dans le tableau III-14.

Tableau III-14 : Données de la spectroscopie RMN¹H du composé F13

Attribution	Multiplicité (J HZ)	Intégration	Déplacement chimique δ _H (ppm)
H-2' H-6'	<i>dd</i> (6,9; 2,1)	2H	8,10
H-5', H-3'	<i>dd</i> (6,9; 2,1)	2H	6,91
H-8	<i>d</i> (1,0)	1H	6,42
H-6	<i>d</i> (2,0)	1H	6,22
H-1''	<i>d</i> (7,6)	1H	5,29
H-6''a	<i>dd</i> (11,8, 2,2)	1H	3,72
H-6''b	<i>dd</i> (13,0; 4,3)	1H	3,63
H-2'', H-3'', H-4'' H-5''	<i>m</i>	4H	3,56- 3,41

L'hydrolyse acide du composé F13 et la Co-chromatographie avec des échantillons de référence, a conduit à un flavonol correspondant (montre une fluorescence jaune sous la lampe UV (356 nm)) confirmant que le sucre est un glucose lié à l'aglycone par un pont oxygéné C-O [34-37].

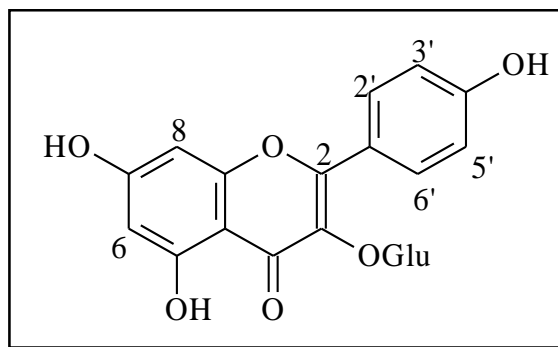


Figure III-15: 3-O- β -D-glucosylkæmpferol (Astragaline)

III-2-5 : Elucidation structurale du composé F21

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

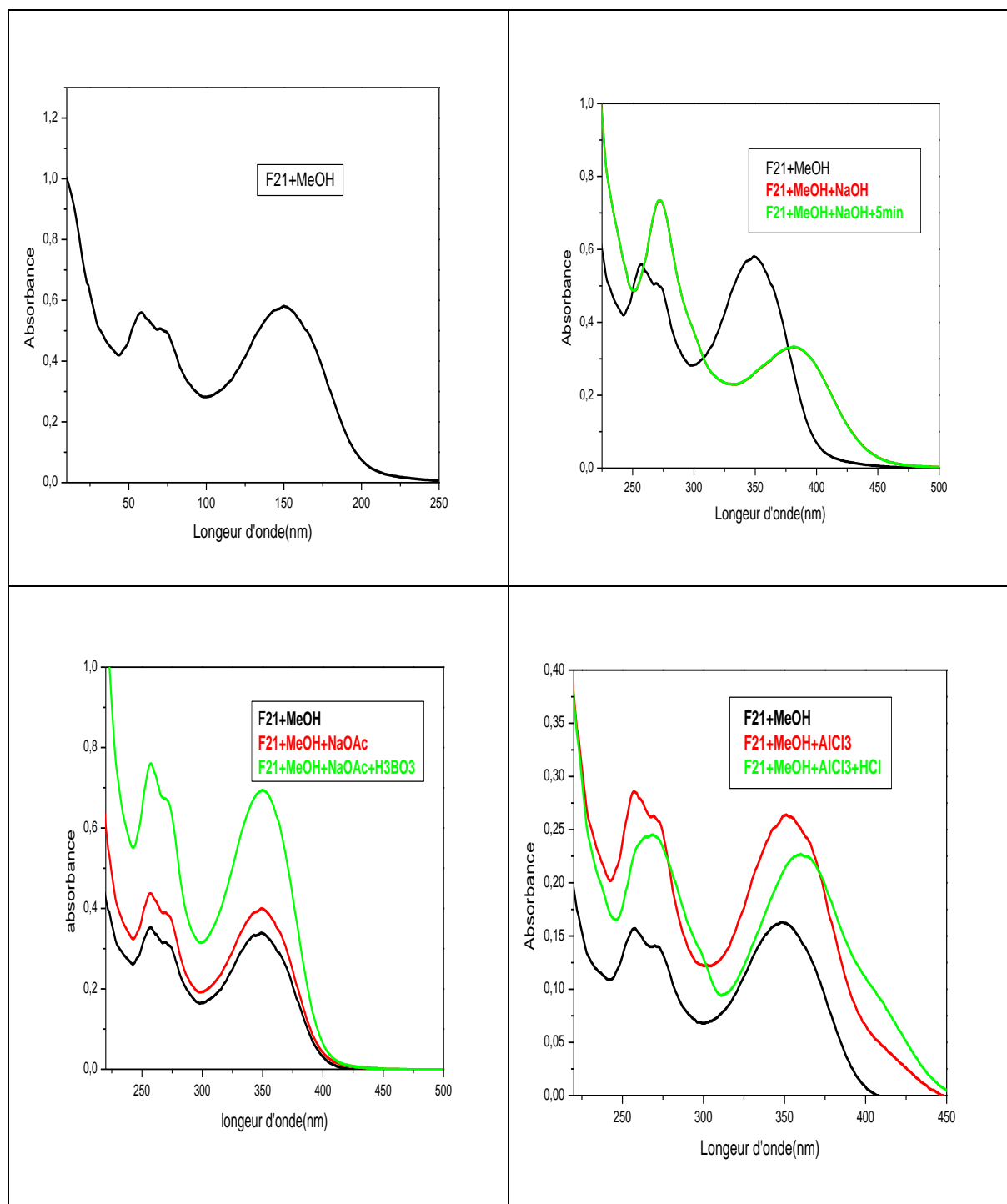
- Le spectre d'absorption UV (Spectre III-65) de ce composé enregistré dans le méthanol montre deux bandes d'absorption maximale la première à 349 nm et la seconde à 270 nm orientant vers la structure d'un flavonoïde de type flavonol substitué en position 3 (3-OR).

-L'addition de NaOH provoque un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda_I = + 33$ nm) comparativement avec le spectre enregistré dans le méthanol avec diminution de l'intensité lumineuse indique une substitution en position C-4' (4'-OR), l'absence d'une nouvelle bande dans l'intervalle [320-335nm] indique une substitution de type OR en position 7. Cela est confirmé par la stabilité de la bande II après ajout de NaOAc ($\Delta\lambda_{II} = + 0$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH.

-Le déplacement bathochrome de la bande I du spectre enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le MeOH ($\Delta\lambda_I = + 17$ nm) indique la présence d'un OH libre en position 5 et une oxygénation en C-6.

Tableau III-15 : Données de la série spectrale UV du composé F21

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaires
MeOH	349	270	–	flavonol (3-OR)
+ NaOH	382	273	–	OR en C-4' Pas de OH libre en 7
+AlCl ₃	351	273	–	OH libre en 5 OH (OR) sur C-6
+AlCl ₃ /HCl	366	269	–	
+NaOAc	349	271	–	OR en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	350	271	–	
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				



Spectre III-65 : Série spectrale UV du composé F21

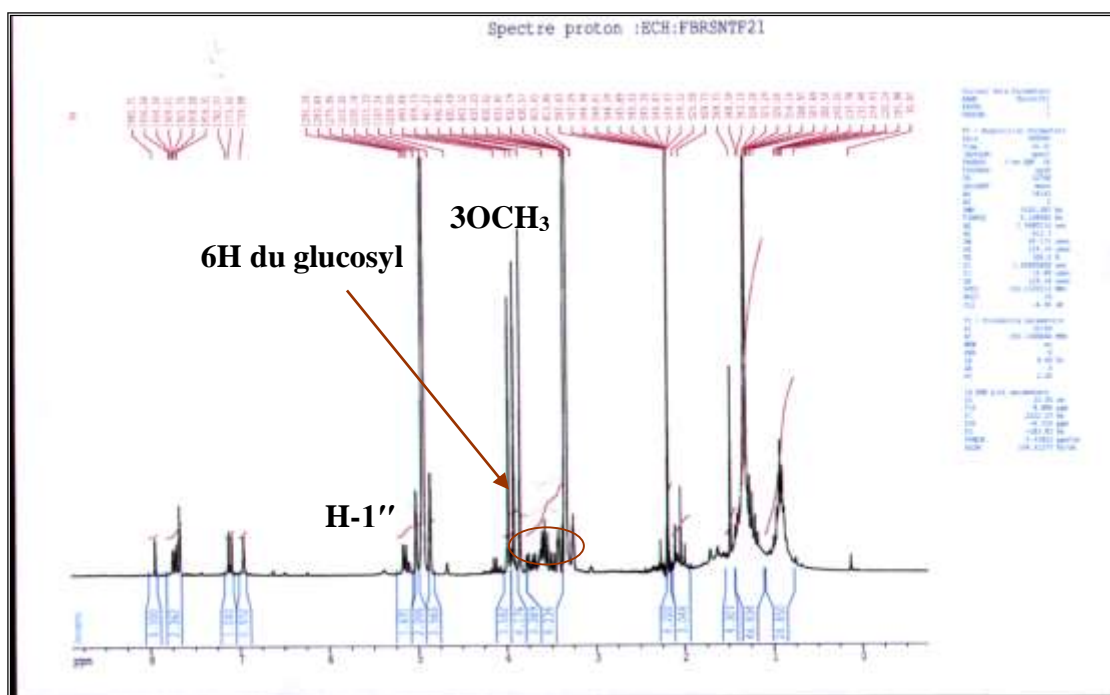
L'examen du spectre RMN¹H (Spectre III-66) ainsi que ses spectres d'étalement (Spectre III-67 et III-68) montrent des signaux caractérisant un flavonoïde :

- Un doublet dédoublé ($J = 8,6 \text{ Hz} ; 2,2 \text{ Hz}$) d'intégration 1H, à $\delta_{\text{H}} = 7,72 \text{ ppm}$ attribuable à H-6'.
- Un doublet ($J = 2,2 \text{ Hz}$) d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 7,66 \text{ ppm}$ attribuable à H-2'.

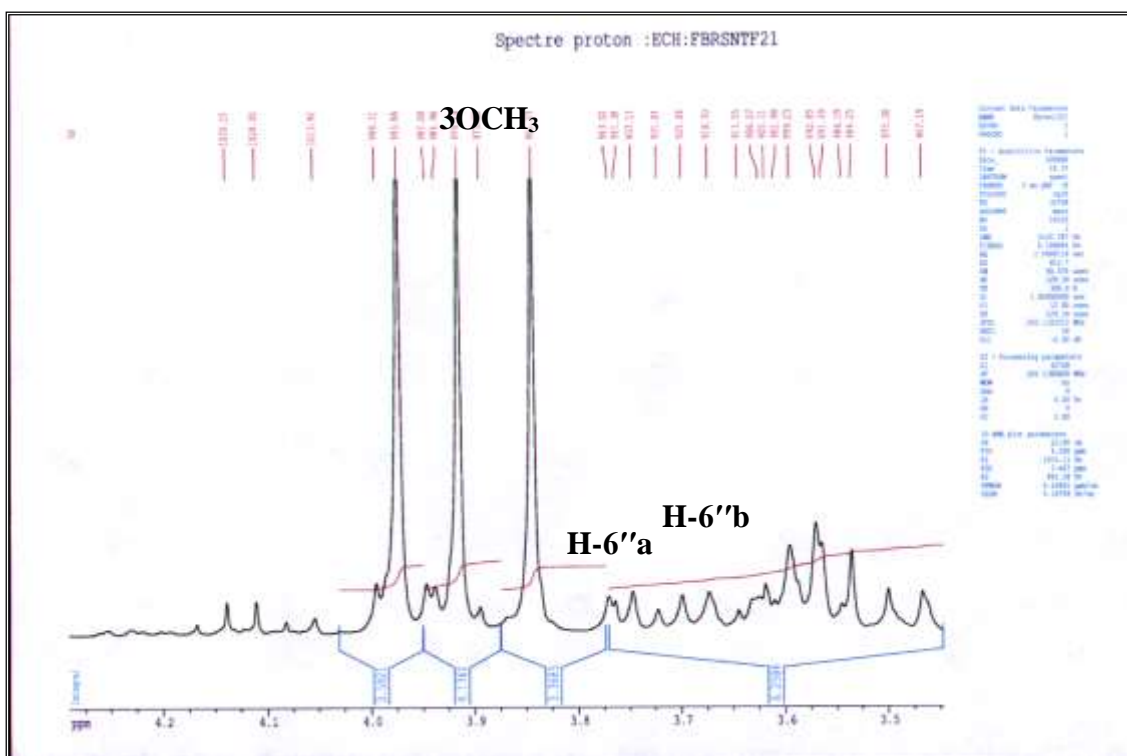
- Un autre signal sous forme d'un doublet ($J = 8,6$ Hz) à $\delta_H = 7,11$ ppm avec d'intégration 1H attribuable à H-5'.

Ces trois signaux montrent une ortho substitution du noyau B.

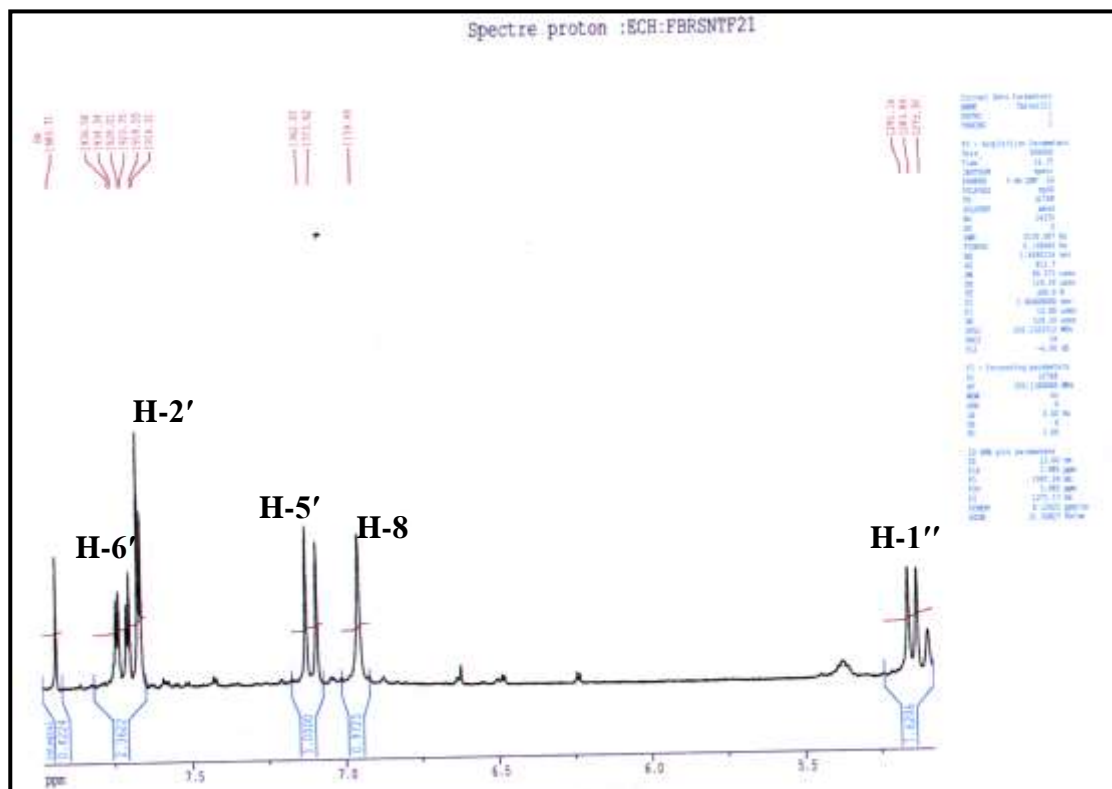
- Un singulet d'intégration 1H à $\delta_H = 6,95$ ppm attribuable à H-8.
- Trois singulets d'intégration 3H chacun à des déplacements chimiques $\delta_H = 3,97$; 3,90 et 3,84 ppm, attribuables à trois groupements méthoxyles.
- Un doublet à $\delta_H = 5,15$ ppm ($J = 7,3$ Hz) caractérisant un proton anomérique H-1'' d'un sucre lié à l'aglycone par une jonction de type C-O de stéréochimie β .
- Un doublet dédoublé ($J = 8,6$ Hz ; 2,2 Hz) d'intégration 1H, à $\delta_H = 3,97$ ppm attribuable à H-6''a.
- Un ensemble de signaux (multiplet) dans la zone comprise entre $\delta_H = 3,46$ ppm et $\delta_H = 3,76$ ppm attribuables aux autres protons du glycosyl.



Spectre III-66 : Spectre RMN¹H (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F21



Spectre III-67 : Spectre RMN¹H étalé entre 4.2 et 3.0 ppm (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F21



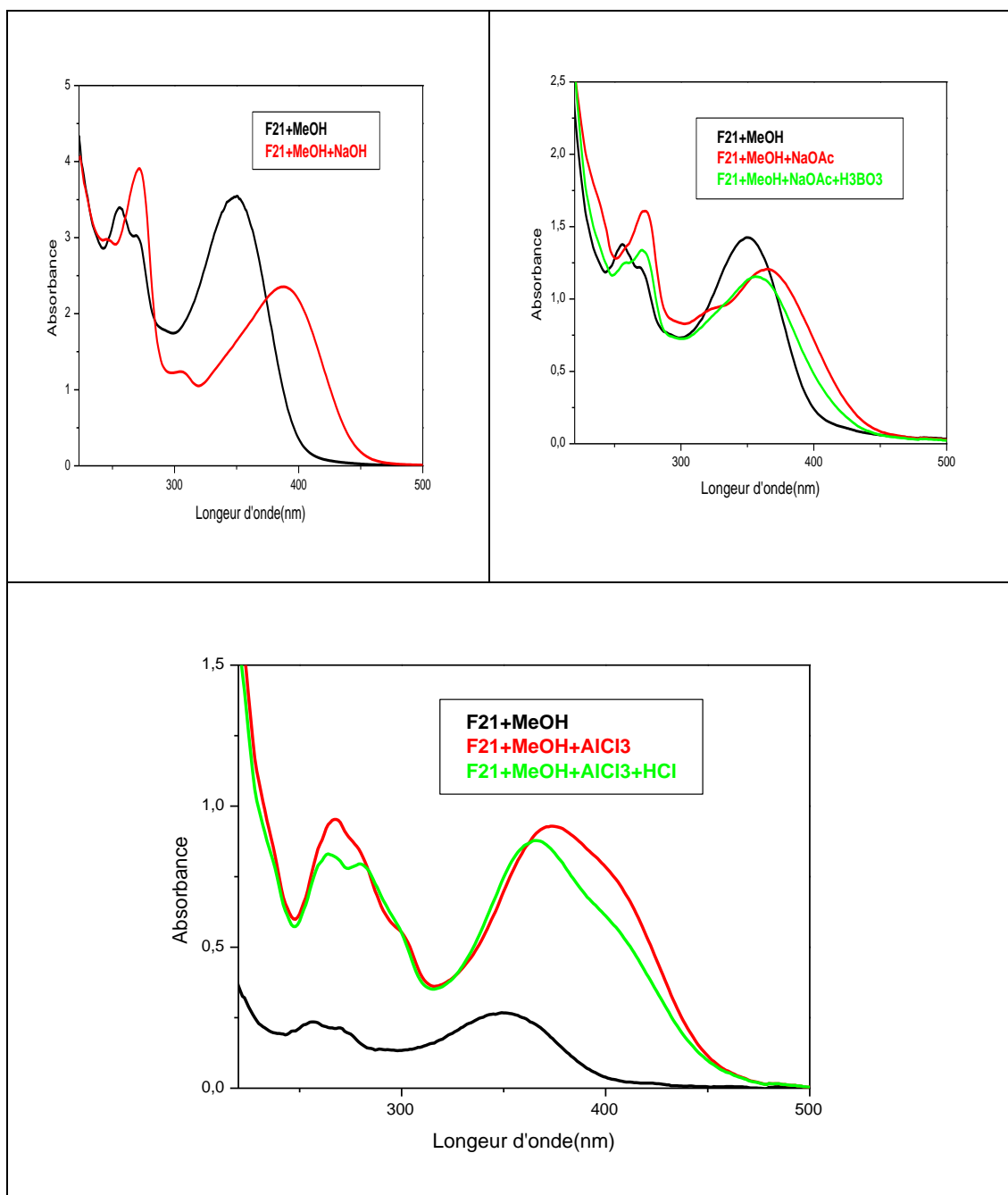
Spectre III-68 : Spectre RMN¹H étalé entre 4 et 8 ppm (250 MHz, CD₃OD, δ ppm) du composé F21

Le spectre RMN¹H (Spectre III-66) montre la présence d'un groupement glycosylé, pour l'identifier et positionner ce dernier sur la génine, on a eu recours à l'hydrolyse acide du composé F21.

- ✓ L'examen du spectre UV de la génine extraite après hydrolyse acide (Spectre III-69) après addition de NaOH provoque un déplacement bathochrome de la bande I comparativement avec celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda_I = +38$ nm) avec une diminution de l'intensité optique ce qui suppose une substitution (OMe) en 4'.
- ✓ L'ajout de NaOAc donne un déplacement bathochrome de la bande II par rapport au spectre enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda_{II} = +5$ nm) permettant de mettre un OH libre en position 7 et de positionner le sucre sur ce carbone.
- ✓ L'examen du spectre NaOAc + H₃BO₃ donne un déplacement bathochrome de la bande I comparativement avec celui enregistré dans le méthanol ($\Delta\lambda_I = +6$ nm) indiquant un ortho di OH sur le noyau A, à ce stade-là après hydrolyse on a un OH libre en C-7 et une oxygénation en C-6 donc la C-6 est occupé par un OH libre.

Ces données permettent de placer :

- Le groupement glycosylé est en position C-7.
- Le proton restant est en position 8.



Spectre III-69 : Série spectrale UV du composé F21 après hydrolyse

Tableau III-16 : Données de la série spectrale UV après hydrolyse du composé F21

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres bandes	Commentaires
MeOH	350	270	–	
+ NaOH	388	272	305	OR en C-4'
+AlCl ₃	373	274	–	OH libre en 5 OH (OR) sur C-6
+AlCl ₃ /HCl	365	264	–	
+NaOAc	365	275	–	OH en 7
+NaOAc/H ₃ BO ₃	356	271	–	Ortho di OH sur A(6,7)
Spectre stable en présence de NaOH après 5 mn				

L'hydrolyse acide du composé F21 et la Co-chromatographie de la phase aqueuse avec des échantillons de références, montrent que le sucre est un glucose lié à l'aglycone par un pont oxygéné C-O (Figure III-16).



Figure III-16: résultat de la Co-chromatographie du sucre avec des échantillons de références

L'ensemble de ces données mène à la structure finale

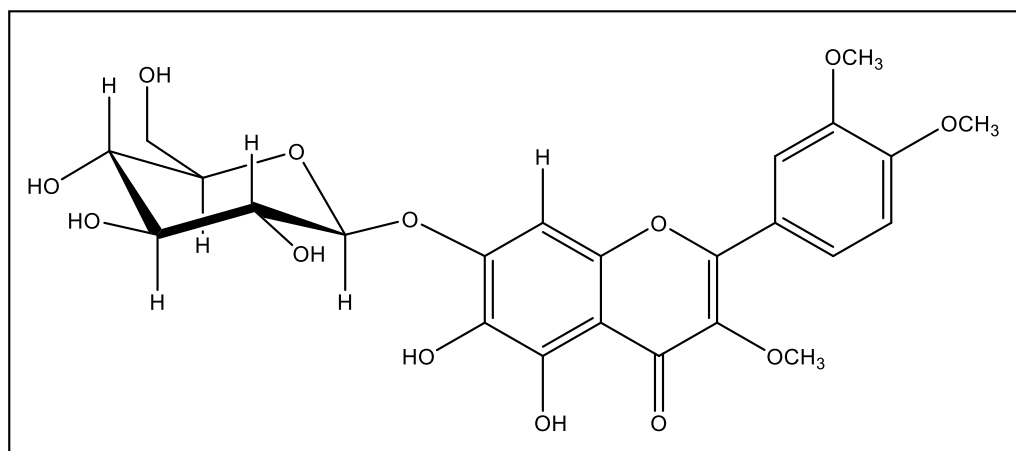


Figure III-17: 5,6-dihydroxy-3,3',4'-triméthoxy-7-O- β -D-glucopyranosylflavonol

Conclusion :

Les criblages phytochimique de la phase acétate d'éthyle et de la phase chloroforme de l'extrait hydro alcoolique des parties aériennes (feuilles et fleurs) de *Centaurea microcarpa*. Coss. & Dur ont mené à la séparation et la purification de 9 produits.

L'investigation phytochimique de la phase chloroforme de l'extrait hydro alcoolique des parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de *Centaurea microcarpa*. Coss. & Dur. a permis l'isolement et la détermination structurale d'un nouveau cyanogénique glucosylé (**F28M**) que nous avons nommé 6'-methacrylate prunasine, Une lactone sesquiterpénique (**F3**) type eudesmanolide : 8 α -hydroxy-11 β , 13-dihydroonopordaldehyde ainsi que deux stérols: le (**F9**) sous forme d'un mélange de β -sitostérol et stigmastostérol et le (**F33**) : sous forme d'un mélange de 3-O- β -D-glucopyranosyl β -Sitostérol (Daucosterol) et le 3-O- β -glucopyranosyl Stigmastérol.

La deuxième partie de ce travail a porté sur l'investigation phytochimique de la phase acétate d'éthyle de l'extrait hydro alcoolique des parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de *Centaurea microcarpa*. Coss. & Dur. Cette étude a permis l'isolement de cinq produits. Il s'agit d'un composé cyanogénique (**F11**) : la prunasine, un lignane (**F27cmf**) : 4'-O- β -D-glucopyranosyl-nortrachélogénine., une flavone aglycone (**F7**) : 5, 7,3',4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone (Népétine) et deux flavones glycosylées (**F21**), (**F13**) : 5,6-dihydroxy-3,3',4'-triméthoxy-7-O- β -D-glucopyranosylflavonol et 3-O- β -D-glucosylkæmpferol (Astragaline).

Références bibliographiques

- [1]. Stevens, K.L., (1982), *Phytochemistry*, 21, 1093.
- [2]. Alberto Marco, J., Sanz-Cervera, J.F., Pareja, J.M., Sancenon, F. and valles-xirau, J., (1994), Sesquiterpene lactones from North African *Artemisia* species, *Phytochemistry*, 37, 477.
- [3]. Rustaiyan, A., Ahmadi, B., Jakupovic, J. and Bohalmann, F., (1986), Sesquiterpene lactones and eudesmane derivatives from *Onopordon carmanicum*, *Phytochemistry*, 25, 1659.
- [4]. Gonzalez, A.G., Bermejo, J., Méndez, J.T., Lopéz Sanchez, M. and Eiroa Martinez, J.L., (1992), Sesquiterpene lactones and other constituents of *Tanacetum species*, *Phytochemistry*, 31, 1821.
- [5]. Spichiger, R.E., Savolainen, V.V., Figeat-Hug, M., Jeanmonod, D., (2002) *Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*. 3ème édition PPUR presses polytechniques 413 pages, (3) :348.
- [6]. Medjroubi, K., Benayache, F., Benayache, S., Akkal, S., Kaabeche, M., Tillequin, F., Seguin, E. (1998), Eudesmanolide from *Centaurea granata*. *Phytochemistry* 49,2425–2427.
- [7]. González, A.G., Rodríguez Pérez, E. M., Padrón, C. H., and Bermejo, J., (1997), *Phytochemical Investigation of Canary Island lichens. Virtual activity, and Pharmacology*. 49-60.
- [8]. Mitaine-Offer, A. C., Tapondjou, L. A., Djoukeng, J. D., Bouda, H. and Lacaille-Dubois, M. A., (2003), *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 227-228.
- [9]. De-Eknamkul, W., Potduang, B., (2003), Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units, *Phytochemistry*, 62, 389-398.
- [10] Kaur, K., Chaudhary, J., Jain, A., Kishore, L., (2011), Stigmasterol : A comprehensive review, *international journal of pharmaceutical sciences and research*, 630 (2) : 2259-2265.
- [11]. Pawan K. Al, (1992), *NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides*, *Phytochemistry*, 31, 3307-3330.
- [12]. Seigler, D. S., Pauli, G.F., Nahrstedt, A., Leen, R., (2002), cyanogenic allosides and glucosides from *passiflora edulis* and *carica papaya*. *Phytochemistry*, 60, 873-882.
- [13]. Seigler, D.S., Pauli, G.F., Frolich, R., Wegelius, E., Nahrstedt, A., Glander, K.E., Ebinger, J.E., (2005). Cyanogenic glycosides and menisdaurin from *Guazuma ulmifolia*, *Ostrya virginiana*, *Tiquilia plicata* and *Tiquilida canescens*. *Phytochemistry*, 66, 1567–1580.
- [14]. Seukou, N., Zhibin, W., Fengming, Xu., Hisashi, M., Lijun, W., Masayuki, Y., (2009). The absolute stereostructures of cyanogenic glycoside, hydracyanosides A, B and C, from the leaves and stems of *Hydrangea macrophylla*. *Tetrahedron Letters* 50, 4639-4642.

- [15]. Ling, SK., Tanaka, T., Kouno, I. (2002). New cyanogenic and alkyl glycoside constituents from *Phyllagathis rotundifolia*. *J Nat Prod.* 65:131–135.
- [16]. Rebecca, E., Miller, Michael, S., Robert, J. C., Ian E. W., (2006), A galloylated cyanogenic glycoside from the Australian endemic rainforest tree *Elaeocarpus sericopetalus* (Elaeocarpaceae). *Phytochemistry*, 67, 1365–1371.
- [17]. Khatun, M., Billah, M., Quader, M.A., (2012), Sterols and Sterol Glucoside from *Phyllanthus* Species, *J. Sci.*, 60(1) : 5-10.
- [18]. Ramdan, S., Ouahiba, B., Ratiba, M., Samir, B., Paul, M., Jose, Q., Francisco, E., Francisco, L., Jaime, B., Fadila, B., (2009), A flavonoid with cytotoxic activity and other constituents from *Centaurea Africana*, *Phytochemistry*, 2, 112-118.
- [19]. Mouffok, S., Haba, H., Lavaud, C., Long, C., Benkhaled, M., (2012), Chemical constituents of *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu ex Batt. & Trab, *Rec. Nat. Prod*, 6(3): 292-295.
- [20]. Kun-Young, P., Jung, K.O., Rhee, S.H., Yung, H.C., (2003), Antimutagenic effects of Doenjang (Korean fermented soypaste) and its active compounds, *Mutation research*, 523-524.
- [21]. Klippel, K.F., Hiltl, D.M., Schipp, B., (1997), A multicentric placebocontrolled, doubleblind clinical trial of sitosterol for the treatment of benign prostate hyperplasia, *British journal of urology*, 80, 427-432.
- [22]. Nezhun Ates, N., Ulubelen, A., Dennis, C. W., Gregory, K., Brown, T., Mabry, J., Dellamonica, G., and Chopin, J., (1982), Flavonoids of *Haplopappus scrobiculatus* and *Haplopappus sericeus*. *Journal of Natural Products*, 45(2) : 189-190.
- [23]. Agrawal P. K., and Markham K.R., (1989), *Carbon-13 NMR of flavonoids*. Elsevier. Amsterdam.
- [24]. Louaar, S., Zellagui, A., Gherraf, N., Medjroubi, K., Derbre, S., Seguin, E., Laouer, H. Akkal, S. ; (2014), Antiradical Activity of Flavonoids from the Algerian Native Plant : *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 4 :3, 249-253.
- [25]. Ayres, D.C and Loike, J.D., (1990), *Lignans, chemical, biological and clinical proprieties*, Cambridge University press (GB).
- [26]. Fakhfakh, J.A., Martinb, M.T., Damak, M. (2005), RMN 2D de lignanes et de flavonoides isolés de *Centaurea furfuracea* (asteraceae). *Journal de la Société Chimique de Tunisie*. 7, 11-18

- [27]. Nishibe, S. ; Hisada, S. ; Inagaki, I. (1973), Lignans of *Trachelospermum asiaticum* var. *intermedium*. V. Isolation of nortrachelogenin-4,4'-di-O- β -D-glucopyranoside. Chem. Pharm. Bull., 21, 1114–1117.
- [28]. Khamlach, K., Dhal, R., Brown, E. (1989), Total syntheses of (-)-trachelogenin, (-)-nortrachelogenin and (+)-wikstromol. Tetrahedron Lett. 30, 2221–2224.
- [29]. Peuhu, E. ; Eriksson, J. ; Holmbom, T. ; Eklund, P. ; Sjöholm, R. (2013), Pharmaceutical compositions comprising 8-substituted dibenzylbutyrolactone lignans. U.S. Patent 2013/0281381 A1,24.
- [30]. Chencheng Z., Ling, J., Nengjiang, Y., Xuedong, Y., Yimin, Z., (2013), A new lignan and active compounds inhibiting NF- κ B signaling pathway from Caulis *Trachelospermi*. Pharmaceutica Sinica B. 3(2) :109–112.
- [31]. Cardona, L., Fernandez, I., Pedro, J.R., and Vidal, R., (1992), Polyoxygenated terpenes and cyanogenic glucosides from *Centaurea Aspera* var. *Subinermis*, *Phytochemistry*,31(10), 3507-3509.
- [32]. Aritomi, M., Kumori, T., and Kawasaki, T., (1985), Cyanogenic glucosides in leaves of *Perilla Frutescens* var. *Acuta*, *Phytochemistry*, 24 (10), 2438-2439.
- [33]. Gleadow, R. M., Dunn Haburjak, J.E., Conn, M.E., Conn Eric H. (2008), Frequency and distribution of cyanogenic glycosides in *Eucalyptus L'Hérit*, *Phytochemistry* ,69, 1870-1874.
- [34]. Hammoud, L., Seghiri, R., Benayache, S., Mosset, P., Lobstein, A., Chaabi, M., León, F., Brouard, I., Bermejo, J., Benayache, F., (2012). A new flavonoid and other constituents from *Centaurea nicaeensis* All. var. *walliana* M. Nat. Prod. Res. 26, 203–208.
- [35] Akkal S, Benayache F, Benayache S, Jay M. (1997) Flavonoids from *Centaurea incana*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 25, 361-362.
- [36]. Ahmed, Z.F., Rimpler, H, Rizk, A.M., Hammouda, F.M, Ismail, S.I,(1970), Flavonoid constituents of certain *Centaurea species* grown in Egypt, *Phytochemistry*, 9(7), 1595-1601.
- [37]. Beninger, C. W., Hosfield, G. L., and Nair, M. G., (1998), Flavonol glycosides from the seedcoat of a *Manteca rmarket* class of dry bean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2906-2910.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif de notre travail était, d'une part la recherche et la détermination de nouvelles molécules présentant des sites à activité biologique potentielle et d'autre part, pouvant servir de modèles moléculaires à la synthèse et à l'hémi-synthèse de molécules bioactives. Pour cela, nous avons sélectionné une espèce du genre *Centaurea* (Asteraceae) sur la base de la richesse de ce genre en métabolites secondaires ayant des activités biologiques intéressantes.

Après extraction hydro-alcoolique des parties aériennes de *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur, concentration et affrontement par des solvants de polarité croissante (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol), nos analyses ont débuté par l'utilisation des techniques chromatographiques classiques pour le fractionnement des extraits chloroforme et acétate d'éthyle.

Nos travaux de séparation et de purification ont conduit à l'isolement de 9 composés natifs de *C. microcarpa*. L'extrait chloroforme de cette plante a permis d'isoler et d'identifier, grâce à la combinaison des données physico-chimiques modernes, notamment la spectrophotométrie UV, la spectroscopie de résonance magnétique RMN mono et bidimensionnelle (¹H, ¹³C, DEPT, COSY, HSQC, HMBC et ROESY) ainsi que la spectrométrie de masse à haute et basse résolution sous impact électronique et en mode d'ionisation par électronebulisation. Ainsi par la comparaison avec les données de la littérature six composés :

- ✓ Une lactone sesquiterpénique de type eudesmanolide : **8 α -hydroxy-11 β , 13-dihydroonopordaldehyde.**
- ✓ Un nouveau cyanogénique glucosylé décrit pour la première fois dans la littérature : **6'-methacrylate prunasine.**
- ✓ Deux stérols sous forme de mélange : **β -sitostérol et stigmastérol.**
- ✓ Deux autres stérols glucosylés sous forme de mélange : **3-O- β -D-glucoopyranosyl β -Sitostérol (Daucosterol) et 3-O- β -glucoopyranosyl Stigmastérol**

Alors que l'extrait acétate d'éthyle a donné cinq composés :

- ✓ Une flavone aglycone : **5, 7, 3', 4'-tetrahydroxy-6-méthoxyflavone (Népétine).**
- ✓ Deux flavones glycosylées : **3-O- β -D-glucoylkæmpferol (Astragaline).**
- ✓ Un flavonol : **5,6-dihydroxy-3,3',4'-triméthoxy-7-O- β -D-glucoopyranosyl flavonol.**
- ✓ Un composé cyanogénique : **la prunasine.**
- ✓ Un lignane : **4'-O- β -D-glucoopyranosyl-nortrachélogénine.**

Les résultats de ces travaux confirment la richesse des espèces du genre *Centaurea* en lactones sesquiterpéniques, et en flavonoïdes qui sont des marqueurs chimio-taxonomiques pour la famille Asteraceae en général et le genre *Centaurea* en particulier.

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication internationale, et d'une communication internationale dans un congrès de spécialité.

Article

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/329028219>

Centaurea microcarpa Coss. & Dur. (Asteraceae) extracts: New cyanogenic glucoside and other constituents

Article in *Natural product research* · November 2018

DOI: 10.1080/14786419.2018.1517343

CITATIONS

0

READS

201

10 authors, including:



Thamer Cheriet

Université de M'sila

25 PUBLICATIONS 34 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Sarri Djamel

Université de M'sila

38 PUBLICATIONS 142 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Ratiba Mekkiou

University of Constantine 1

68 PUBLICATIONS 228 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Benayache Samir

University of Constantine 1

417 PUBLICATIONS 1,105 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

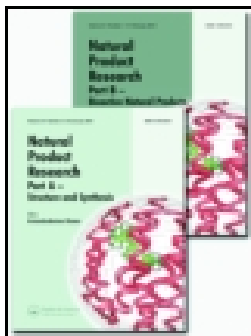
Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Ethnopharmacological study of medicinal plants of the steppe ecosystem - case of the El Hodna region, M'sila / (F05620110004) [View project](#)



Extraction, identification and biological activities of the active ingredients of medicinal plants in the El Hodna region. [View project](#)



Natural Product Research

Formerly Natural Product Letters

ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>


Centaurea microcarpa Coss. & Dur. (Asteraceae) extracts: New cyanogenic glucoside and other constituents

Samia Baatouche, Thamere Cheriet, Djamel Sarri, Ratiba Mekkiou, Ouahiba Boumaza, Samir Benayache, Fadila Benayache, Ignacio Brouard, Francisco León & Ramdane Seghiri

To cite this article: Samia Baatouche, Thamere Cheriet, Djamel Sarri, Ratiba Mekkiou, Ouahiba Boumaza, Samir Benayache, Fadila Benayache, Ignacio Brouard, Francisco León & Ramdane Seghiri (2018): *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur. (Asteraceae) extracts: New cyanogenic glucoside and other constituents, Natural Product Research, DOI: [10.1080/14786419.2018.1517343](https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1517343)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1517343>

 View supplementary material 

 Published online: 16 Nov 2018.


 Submit your article to this journal 

 Article views: 25

 View Crossmark data 



Centaurea microcarpa Coss. & Dur. (Asteraceae) extracts: New cyanogenic glucoside and other constituents

Samia Baatouche^a, Thamere Cheriet^{a,b}, Djamel Sarri^c , Ratiba Mekkiou^a,
Ouahiba Boumaza^a, Samir Benayache^a, Fadila Benayache^a, Ignacio Brouard^d,
Francisco León^d and Ramdane Seghiri^a

^aUnité de recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL), Université des Frères Mentouri Constantine, Constantine, Algérie; ^bDépartement de chimie, Faculté des sciences, Université Mohammed Boudiaf-M'sila, M'sila, Algérie; ^cDépartement de Biologie, Faculté des sciences, Université Mohammed Boudiaf-M'sila, M'sila, Algérie; ^dInstituto de Productos Naturales y Agrobiología-CSIC, Instituto Universitario de Bio-Orgánica 'Antonio González', Universidad de La Laguna, La Laguna, Tenerife, Spain

ABSTRACT

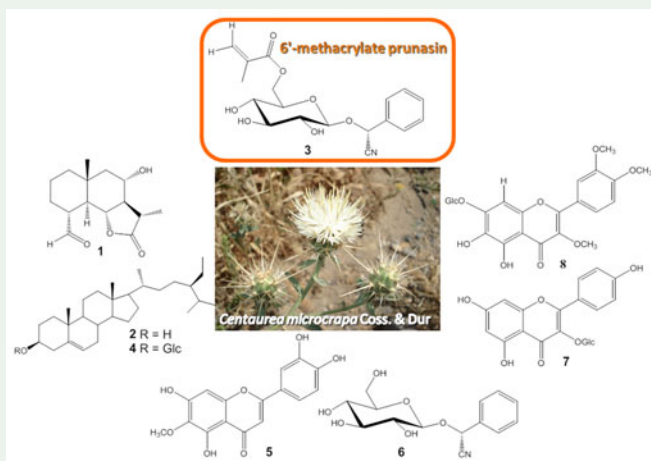
The phytochemical investigation of both chloroform and ethyl acetate extracts of *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur. led to the isolation of a new cyanogenic glucoside 6'-methacrylate prunasin (**3**) together with seven known compounds: hydroxy-11 β , 13-dihydro onopordaldehyde (**1**), β -sitosterol (**2**), daucosterol (**4**), nepetin (**5**), prunasin (**6**), astragalín (**7**) and 7-O- β -D-glucopyranosyl centaureidin (**8**). Their structures were established by spectral analysis, mainly UV, IR, ESI-MS, 1D & 2D-NMR experiments (COSY, HSQC, HMBC and ROESY).

ARTICLE HISTORY


Received 30 April 2018
Accepted 26 August 2018

KEYWORDS

Centaurea microcarpa;
eudesmanolide; cyanogenic
glucoside; sterol; flavonoids



CONTACT Ramdane Seghiri  seghiriomar25000@gmail.com

 Supplemental data for this article can be accessed at <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1517343>.

© 2018 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

1. Introduction

Many *Centaurea* species are used in folk medicine to treat different diseases such as coughs, liver-strengthening, peptic ulcer as well as malaria (Yeşilada et al. 1995). Being used in common colds, stomach upset, abdominal pain (Honda et al. 1996), herpes infections around the lips (Fujita et al. 1995), coughs, ophthalmic remedies (Poletti 1978); they are also used as antirheumatic, astringent, hypoglycemic, hypotensive, (Shoeb et al. 2006; Flamini et al. 2002), digestive, tonic, expectorant, stomachic, antipyretic and anti-diarrheic, anti-dandruff, in addition to treat hemorrhoid and abscess (Baytop 1999), diuretic (Sokolov and Zamotaev 1984), anti-inflammatory, antimicrobial, antibacterial, choleric, cytotoxic as well as immunological agents (Arif et al. 2004) and as antidiabetic (Twajj et al. 1983). The phytochemical investigations on *Centaurea* species led to the isolation of sesquiterpenes lactones, flavonoids, lignans, cyanogenic glucosides, sterol and triterpenes (Flamini et al. 2001, 2002; Djeddi et al. 2008; Hammoud et al. 2012; Hodaj et al. 2017; Shakeri et al. 2018a, b; Grafakou et al. 2018; Bruno et al. 2018; Mirzahosseini et al. 2018; Zengin et al. 2018).

In continuation of our previous investigations of Algerian *Centaurea* species (Medjroubi et al. 1997, 1998; Akkal et al. 1999, 2003; Bentaméne et al. 2005; Seghiri et al. 2009; Kolli et al. 2012; Hammoud et al. 2012), we investigated the endemic Algerian *C. microcarpa*, which is a rare plant, mostly found in the Algerian southern eastern parts, especially in El-Hodna sub-sector, previously reported to contain flavonoids: 6-methoxykaempferol, 6-methoxykaempferol 7-*O*-glucoside, kaempferol 7-*O*-glucoside, 6-methoxyluteolin, patuletin 7-*O*-glucoside, hispidulin 7-*O*-glucoside and 5,7,4'-trihydroxy-3,6-dimethoxyflavone 7-*O*- β -glucoside (Louaar et al. 2011, 2014). We embarked upon a phytochemical study of *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur.

2. Results and discussion

The subjection of *C. microcarpa* chloroform and ethyl acetate extracts to a column and a TLC chromatography using different eluents, led to the isolation of eight compounds: hydroxy-11 β ,13-dihydro onopordaldehyde (**1**), β -sitosterol (**2**), 6'-methacrylate prunasin (**3**), daucosterol (**4**) from the chloroform extract, and nepetin (**5**), prunasin (**6**), astragalin (**7**), 7-*O*- β -D-glucopyranosyl centaureidin (**8**) from the ethyl acetate extract. All the structures were established by chemical and spectral analysis, mainly HRESI-MS, IR, UV, 1D & 2D-NMR spectroscopy (COSY, HSQC, HMBC and ROESY).

The new compound (**3**) was obtained as a white amorphous powder. The IR spectrum revealed the presence of hydroxyl (3413 cm^{-1}), cyano (2376 cm^{-1}), ester (1697 cm^{-1}), double band (1624 cm^{-1}) and ether (1080 cm^{-1}) groups. The HRESI-MS spectrum showed a quasi-molecular ion at m/z 386.1216 [$M + \text{Na}]^+$ corresponding to the molecular formula $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_7$ (calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_7\text{Na}$: 386.1216).

The ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , δ in ppm, J in Hz) and ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) data of compound **3** indicate the presence of single-substituted benzene ring [δ_{H} 7.55 (2H, m, H-4 & H-8) and δ_{H} 7.43 (3H, m, H-5, H-6 & H-7), δ_{C} 127.5 (C-4 & C-8), 128.8 (C-5 & C-7) and 129.7 (C-6)], a methine bearing an oxygen function [δ_{H} 5.72 (1H, s, H-2; δ_{C} 67.9, C-2)], a β -D-glucopyranosyl moiety [δ_{H} 4.38 (1H, d, $J = 7.2$, H-1'; δ_{C} 101.5, C-1'), δ_{H} 3.29-3.37 (3H, m, δ_{C} 77.7, 74.7 & 71.6; C-3', C-2' & C-4'), δ_{H} 3.50 (1H, ddd, $J = 8.4, 6.0,$

2.0; H-5'; δ_C 75.7, C-5'), δ_H 4.54 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$; H-6'a, δ_C 63.6, C-6'), δ_H 4.30 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$; H-6'b, δ_C 63.6, C-6')] (Agrawal 1992) and a nitrile function (δ_C 117.8, C-1). These NMR data and by comparison with those of literature gave a partial structure similar to that of prunasin (Seigler et al. 2002; Olafsdottir et al. 2002; Hammoud et al. 2012). The inspection of ^1H and ^{13}C -NMR spectra of **3** showed characteristic signals of methacryloyl moiety, an exomethylene group (δ_H 6.2, brs; H-3''a and 5.67, brs, H-3''b, δ_C 125.4, C-3''), an olefinic methyl (δ_H 1.97 ppm, brs, CH_3 ; δ_C 17.2, C-4'') and an ester carbonyl (δ_C 167.1, C-1'').

The structure was finally established by HMBC experiment (Figure 1), where many correlations were observed between the following protons and carbons: H-2 \rightarrow C-1', C-1; H-1' \rightarrow C-2; H-6'a, H-6'b \rightarrow C-1'' (Figure 1). So the methacryloyl moiety was attached at C-6' of prunasin. Thus, **3** was characterized to be prunasin skelton with a methacryloyl.

The absolute configuration of the chiral center in the aglycone part of the C-2 position of compound (**3**) was suggested to be *R* by comparison of chemical shifts of H-2 and H-1' (CD_3OD) of this compound (δ_H 5.72, H-2; 4.38, H-1') with those of prunasin and sambunigrin reported in the literature (Seigler et al. 2002, 2005; Ling et al. 2002). Also, the configuration at the C-2 position was confirmed to be *R* by the ROESY experiment. Seigler et al. (2005) reported that a ROE correlation was observed between the aromatic protons (H-4 & H-8) and the anomeric proton (H-1') in the ROESY spectrum of the analogue of *S* orientation at C-2, and *R* orientation at C-2 was based on the observation of ROE interactions between the following protons: H-2 and H-1'; H-2 and the aromatic protons (H-4 & H-8). The ROE interactions of **3** were observed as shown in the Figure 1, C-2 orientation of **3** was determined to be *R* by comparison of the ROE interactions. Finally, **3** was determined as 6'-methacrylate prunasin. To the best of our knowledge, this compound is new in the literature.

The known compounds were identified by comparing their spectroscopic data with those reported in the literature: hydroxy-11 β ,13-dihydro onopordaldehyde (**1**) (Medjroubi et al. 1998), β -sitosterol (**2**) (Dan and Dan 1982), daucosterol (**4**) (Flamini et al. 2001), nepetin (**5**) (Nezhun Ates et al. 1982), prunasin (**6**) (Gleadow et al. 2008),

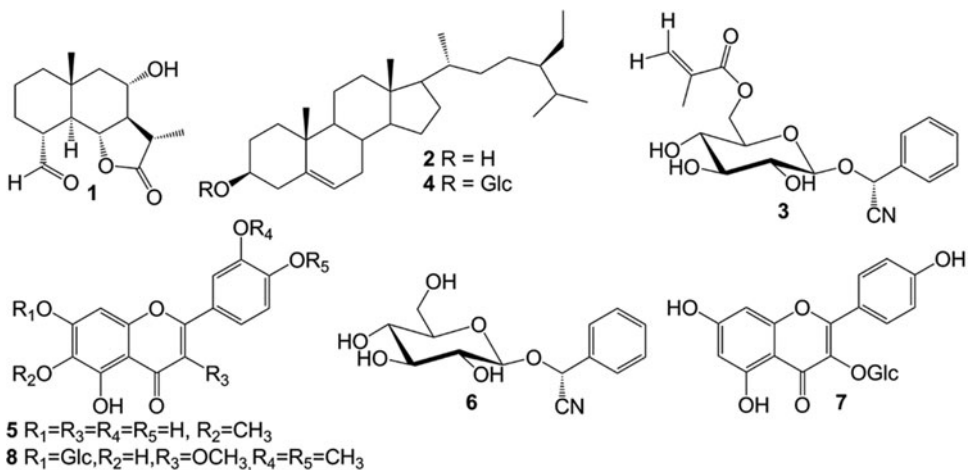


Figure 1. Constituents of *Centaurea microcarpa*.

astragalin (**7**) (Budzianowski 1990) and 7-O- β -D-glucopyranosyl centaureidin (**8**) (Seghiri et al. 2009).

3. Experimental

3.1. General experimental procedure

TLC was carried out using Merck pre-coated silica gel 60 plates (F₂₅₄; layer thickness 0.20 mm for analytical TLC and 0.25 mm for prep. TLC, Merck). Compounds on the TLC plates were detected under UV light (wave length 365 and 254 nm). Flash column chromatography: silica gel 9385 (Merck, 0.040–0.063 mm). IR: Infrared spectra were recorded for KBr disk on a Bruker Vector 22 spectrophotometer. NMR spectra (CD₃OD, 400 MHz for ¹H and 100 MHz for ¹³C NMR) were recorded on a Bruker AV 400 spectrophotometer; chemical shifts (δ) are given in ppm using TMS as internal standard and coupling constant (J) are given in Hz. HRESI-MS and ESI-MS was recorded on a Micro mass ZAB-spectrometer.

3.2. Plant material

Aerial parts of *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur. were collected during the flowering phase in May 2011 from Bordj Bou Arreridj, eastern Algeria. The plant was authenticated by Dr. Sarri D. (Biology Department, University of Mohammed Boudiaf-M'sila, Algeria) on the basis of Quezel and Santa 1963. A voucher specimen (CM18/05/11) has been deposited in the Herbarium of the VARENBIOMOL research, Frères Mentouri University of Constantine, Algeria.

3.3. Extraction and isolation

Air-dried aerial parts (660 g) of *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur. were macerated using a hydroalcoholic solution containing MeOH-H₂O (80:20 v/v) at room temperature for three times during 72 h. After filtration, the filtrate was concentrated and diluted with 270 ml H₂O. The remaining aqueous solution was extracted successively with petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol.

The organic layers were dried with Na₂SO₄, giving, after removal of solvents under reduced pressure, 2.40 g of petroleum ether extract, 2.50 g of chloroform extract, 0.50 g of ethyl acetate extract and 7g of *n*-butanol extract respectively. The chloroform one was chromatographed over silica gel column eluted with *n*-hexane-EtOAc in increasing polarity to afford 28 fractions (F1 to F28). Based on TLC profiles, the fractions were selected for further purification. The combined fractions F2 and F3 (7.7 mg) which appeared as a white powder gave after crystallization in methanol compound (**1**), 8 α -hydroxy-11 β ,13-dihydro onopordaldehyde (3 mg). The fractions F8, F9 and F10 (28 mg) have the same TLC profile, their mixture was purified by analytical TLC using *n*-hexane-EtOAc (9/1) afforded compound (**2**) white needles, β -sitosterol (15 mg). The mixture of fractions F17, F18 and F19 (39 mg) was purified on preparative plates of silica gel eluted with *n*-hexane-EtOAc (9/1) to yield compound (**3**) as a white powder, 6'-methacrylate prunasin (14 mg). The crystallization of mixture of fractions F22 and

F23 (125 mg) in methanol afforded compound (**4**) as a white powder, daucosterol (10 mg). The ethyl acetate extract was chromatographed on a silica gel column eluted with gradient of CHCl_3 -MeOH to yield 40 fractions (F1 to F40). The separation of fractions F7 (8.2 mg), F11 (8.7 mg), F13 (9.7 mg) and F21 (10.9 mg) on analytical TLC plates using CHCl_3 /MeOH as elution system with different proportions (9/1, 8/2, 7/3 and 8/2, respectively) led to isolation of compound (**5**), nepetin (3.2 mg), compound (**6**), prunasin (4 mg), compound (**7**), astragalol (3.9 mg) and compound (**8**), 7-O- β -D-glucopyranosyl centaureidin (4.8 mg), respectively.

3.4. 6'-methacrylate prunasin (**3**)

Amorphous white powder, IR (KBr): 3413 (OH), 2376.1 (CN), 1697.2 (ester C=O), 1624 (C=C), 1080 (ether C-O); HRESI-MS: m/z 386.1216 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_7$ Na, 387.1249; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , δ in ppm, J in Hz) δ_{H} 7.55 (2H, m, H-4 and H-8); 7.43 (3H, m, H-5, H-6 and H-7); 6.20 (1H, brs, H-3''a); 5.72 (1H, s, H-2); 5.67 (1H, brs, H-3''b). 4.54 (1H, dd, 12.0; 2.0, H-6'a); 4.38 (1H, d, $J = 7.2$, H-1'); 4.30 (1H, dd, $J = 12.0$; 6.0, H-6'b); 3.49 (1H, ddd, 8.4; 6.0; 2.0, H-5'), 3.37-3.29 (3H, m, H-2', H-3', H-4'); 1.97 (3H, brs, CH_3). ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD , δ in ppm) δ_{C} : 167.4 (C-1''); 136.3 (C-2''); 133.6 (C-3); 129.7 (C-6); 128.8 (C-5, C-7); 127.5 (C-4, C-8); 125.4 (C-3''); 117.8 (C-1); 101.5 (C-1'); 77.7 (C-3'); 76.3 (C-5'), 74.7 (C-2'); 71.6 (C-4'); 67.9 (C-2); 63.6 (C-6'); 17.2 (CH_3).

4. Conclusion

The extensive phytochemical investigation of the chloroform and ethyl acetate extracts of *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur. aerial parts led to the isolation and the characterization of eight compounds of various classes, among them two cyanogenic glucoside (one is new), one eudesmanolide, two sterols and three flavonoids. All these compounds are new for the studied plant.

Disclosure statement

No potential conflict of interests was reported by the authors.

ORCID

Djamel Sarri  <http://orcid.org/0000-0003-3617-1162>

References

- Agrawal PK. 1992. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochem.* 31:3307–3330.
- Akkal S, Benayache F, Benayache S, Medjroubi K, Jay M, Tillequin F, Seguin E. 1999. A new flavone glycoside from *Centaurea furfuracea*. *Fitoterapia.* 70:368–370.
- Akkal S, Benayache F, Medjroubi K, Tillequin F, Seguin E. 2003. Flavonoids from *Centaurea furfuracea* (Asteraceae). *Biochem Sys & Eco.* 31:641–643.

- Arif R, Küpeli E, Ergun F. 2004. The biological activity of *Centaurea* L. species. G.U.J. Sci. 17: 149–164.
- Baytop T. 1999. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, Gecmiste ve Bugun. Nobel Tip Kitabevi, İstanbul.
- Bentaméne A, Creche J, Petit G, Bermejo-Barrera J, Benayache S, Benayache F. 2005. A new guaianolide and other sesquiterpene lactones from *Centaurea acaulis* L. (Compositae). Biochem Sys & Eco. 33:1061–1065.
- Bruno M, Modica A, Catinella G, Canlı C, Arasoglu T, Çelik S. 2018. Chemical composition of the essential oils of *Centaurea tomentella* Hand.-Mazz. and *C. haussknechtii* Boiss. (Asteraceae) collected wild in Turkey and their activity on microorganisms affecting historical art craft. Nat Prod Res. 18:1–9. DOI: 10.1080/14786419.2018.1463531
- Budzianowski AJ. 1990. Kaempferol glycosides from *Hosta ventricosa*. Phytochem. 29:3643–3647.
- Dan S, Dan SS. 1982. Triterpenoids of the bark of *Ehretia laevis*. Fitoterapia. 53:51–52.
- Djeddi S, Karioti A, Sokovic M, Koukoulitsa C, Skaltsa H. 2008. A novel sesquiterpene lactone from *Centaurea pullata*: Structure elucidation, antimicrobial activity, and prediction of pharmacokinetic properties. Bioorg Med Chem. 16:3725–3731.
- Flamini G, Antognoli E, Morelli I. 2001. Two flavonoids and other compounds from the aerial parts of *Centaurea bracteata* from Italy. Phytochem. 57:559–564.
- Flamini G, Pardini M, Morellia I, Ertugrulb K, Duralb H, Bagcib Y, Kargiogluc M. 2002. Flavonoid glycosides from *Centaurea pseudoscabiosa* subsp. *pseudoscabiosa* from Turkey. Phytochem. 61:433–437.
- Fujita T, Sezik E, Tabata M, Yesilada E, Honda G, Takeda Y, Tanaka T, Takaishi Y. 1995. Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and West Black Sea Regions. Economic Bot. 49:406–422.
- Gleadow RM, Dunn Haburja JE, Conn Eric ME. 2008. Frequency and distribution of cyanogenic in *Eucalyptus* L’Hérit. Photpchem. 69:1870–1874.
- Grafakou ME, Djeddi S, Tarek H, Skalts H. 2018. Secondary metabolites from the aerial parts of *Centaurea papposa* (Coss.) Greuter. Biochem Syst & Eco. 76:15–22.
- Hammoud L, Seghiri R, Benayache S, Mosset P, Lobstein A, Chaabi M, León F, Brouard I, Bermejo J, Benayache F. 2012. A new flavonoid and other constituents from *Centaurea nicaeensis* All. var. *walliana* M. Nat Prod Res. 26:203–208.
- Honda G, Yeşilada E, Tabata M, Sezik E, Fujita T, Takeda Y, Takaishi Y, Tanaka T. 1996. Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydin provinces. J Ethnopharmacol. 53:75–87.
- Hodaj E, Tsiftoglou O, Abazi S, Hadjipavlou-Litina D, Lazari D. 2017. Lignans and indole alkaloids from the seeds of *Centaurea vlachorum* Hartvig (Asteraceae), growing wild in Albania and their biological activity. Nat Prod Res. 31:1195–1200.
- Kolli EH, León F, Benayache F, Estévez S, Quintana J, Estévez F, Brouard I, Bermejo J, Benayache S. 2012. Cytotoxic Sesquiterpene Lactones and other constituents of *Centaurea omphalotricha*. J Braz Chem Soc. 23:977–983.
- Ling SK, Tanaka T, Kouno I. 2002. New cyanogenic and alkyl glycoside constituents from *Phyllagathis rotundifolia*. J Nat Prod. 65:131–135.
- Louaar S, Achouri A, Lefahal M, Laouer H, Medjrroubi K, Duddeck H, Akkal S. 2011. Flavonoids from Algerian Endemic *Centaurea microcarpa* and their chemotaxonomical significance. Nat Prod Commun. 6:1603–1604.
- Louaar S, Zellagui A, Gherraf N, Medjrroubi K, Derbre S, Seguin E, Laouer H, Akkal S. 2014. Antiradical activity of flavonoids from the Algerian native plant: *Centaurea microcarpa* Coss. et Dur. J Bio Act Prod Nat. 4:249–253.
- Medjrroubi K, Benayache F, Benayache S, Akkal S, Khalfallah N, Aclinou P. 1997. Guaianolides from *Centaurea musimomum*. Phytochem. 45:1449–1451.
- Medjrroubi K, Benayache F, Akkal S, Kaabeche M, Tillequin F, Seguin E. 1998. Eudesmanolide from *Centaurea granata*. Phytochem. 49:2425–2427.
- Nezhun Ates N, Ulubelen A, Dennis CW, Gregory K, Brown T, Mabry J, Dellamonica G, Chopin J. 1982. Flavonoids of *Haplopappus scrobiculatus* and *Haplopappus sericeus*. J Nat Prod. 45: 189–190.

- Mirzahosseini G, Manayi A, Khanavi M, Safavi M, Salari A, Ansari AM, San'ati H, Vazirian M. 2018. Bio-guided isolation of *Centaurea bruguierana* subsp. *belangerana* cytotoxic components. *Nat Prod Res.* 19:1–4. DOI: [10.1080/14786419.2018.1428590](https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1428590)
- Olafsdottir ES, Jørgensen LB, Jaroszewski JW. 2002. Cyanogenesis in glucosinolate-producing plants: *Carica papaya* and *Carica quercifolia*. *Phytochem.* 60:269–273.
- Poletti A. 1978. Fiori e piante medicinali. Musumeci Ed. Sokolov SJ, Zamotaev IP. 1984. Handbook of Medicinal Plants Phytotherapy, Moscow: Publishing House Medicina; P. 53–54.
- Quezel P, Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris: Editions du CNRS.
- Seghiri R, Boumaza O, Mekkiou R, Benayache S, Mosset P, Quintana J, Estévez F, León F, Bermejo J, Benayache F. 2009. A flavonoid with cytotoxic activity and other constituents from *Centaurea africana*. *Phytochem Lett.* 2:114–118.
- Seigler DS, Pauli GF, Nahrstedt A, Leen R. 2002. Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya*. *Phytochem.* 60:873–882.
- Seigler DS, Pauli GF, Fröhlich R, Wegelius E, Nahrstedt A, Glander KE, Ebinger JE. 2005. Cyanogenic glycosides and menisdaurin from *Guazuma ulmifolia*, *Ostrya virginiana*, *Tiquilia plicata* and *Tiquilia canescens*. *Phytochem.* 66:1567–1580.
- Shakeri A, Amini E., Asili J, Masullo M, Piacente S, Iranshahi M. 2018. Screening of several biological activities induced by different sesquiterpene lactones isolated from *Centaurea behen* L. and *Rhaponticum repens* (L.) Hidalgo. *Nat Prod Res.* 32:1436–1440
- Shakeri A, Masullo M, Bottone A, Asili J, Emami SA, Piacente S, Iranshahi M. 2018. Sesquiterpene lactones from *Centaurea rhizantha* C.A. Meyer. *Nat Prod Res.* 18:1–8. DOI: [10.1080/14786419.2018.1483926](https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1483926)
- Shoeb M, MacManus SM, Jaspars M, Trevidu J, Nahat L, Thoo-Lin PK, Sarker SD. 2006. Montamine, a unique dimeric indole alkaloid, from the seeds of *Centaurea montana* (Asteraceae), and its in vitro cytotoxic activity against the CaCo₂ colon cancer cell. *Tetrahed.* 62:11172–11177.
- Sokolov SY, Zamotaev IP. 1984. Handbook on Medicinal Plants (Phytotherapy) [in Russian], Moscow p. 121.
- Twajj HA, Kery A, Al-Khazraji NK. 1983. Some pharmacological, toxicological and phytochemical investigations on *Centaurea phyllocephala*. *J Ethnopharmac.* 9:299–314.
- Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y, Takaishi Y. 1995. Traditional medicine in Turkey V. Folk medicine in inner Taurus Mountains. *J Ethnopharmac.* 46: 133–152.
- Zengin G, Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Nedialkov P, Mocan A, Ciric A, Glamoclija J, Sokovic M, Aktumsek A, Mahomoodally MF. 2018. Identification of phenolic components via LC–MS analysis and biological activities of two *Centaurea* species: *C. drabifolia* subsp. *drabifolia* and *C. lycopifolia*. *J Pharma Biomed Anal.* 149:436–441.

Résumé

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique d'une espèce du genre *Centaurea* (Asteraceae), endémique à l'Algérie et la Tunisie, Il s'agit de *Centaurea microcarpa*, Coss. & Dur.

L'investigation phytochimique des extraits chloroforme et acétate d'éthyle des parties aériennes de *C. microcarpa* a permis la séparation et l'identification de neuf produits.

L'extrait chloroforme de cette plante a donné quatre composés dont : un glycoside cyanogénique, un eudesmanolide, deux stéroïdes sous forme de mélange chacun. Tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle a donné cinq composés dont trois sont des flavonoïdes, un lignane et un cyanogénique.

L'élucidation structurale de tous ces composés a été effectuée grâce à des techniques spectroscopiques modernes notamment la spectrophotométrie UV, la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire RMN (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC, HMBC et ROESY) et la spectrométrie de masse à haute résolution ESI (+) et en mode d'ionisation par impact électronique (IE) et par la comparaison avec les données de la littérature.

Mots clés : Astéracées ; *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur., flavonoïdes, sesquiterpènes lactones, glycosides cyanogéniques et lignanes.

Abstract

This work is devoted to the phytochemical study of *Centaurea microcarpa* Coss. and Dur. of the genus *Centaurea* (Asteraceae), endemic to Algeria and Tunisia.

The phytochemical investigation of chloroform and ethyl acetate extracts obtained from the aerial parts of *C. microcarpa*, led to the isolation and identification of nine products.

The chloroform extract of this plant has permitted to isolate and identify four compounds which were: one cyanogenic glycoside, an eudesmanolide and two steroids as a mixture each.

While the ethyl acetate extract gave five compounds which were three flavonoids, one lignane and one cyanogenic.

The structural elucidation of these compounds were established by modern spectroscopic methods including ultraviolet spectrophotometer, NMR spectroscopy (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC, HMBC and ROESY) and mass spectrometry HESI (+) and IEMS, and by comparison with the literature data.

Key words : Asteraceae ; *Centaurea microcarpa* ; flavonoids ; sesquiterpene lactones ; cyanogenic glycoside, lignanes.

ملخص

يهدف هذا العمل لدراسة الكيمياء النباتية لـ *Centaurea microcarpa*. Coss. & Dur. من جنس *Centaurea* الذي ينتمي للعائلة المركبة، المستوطنة في الجزائر وتونس. أدى الفحص الكيميائي النباتي لمستخلص الكلوروفورم وخلات الإيثيل من الأجزاء الهوائية من *C. microcarpa* إلى عزل وتحديد تسع مركبات.

حيث سمح مستخلص الكلوروفورم لهذا النبات بعزل وتحديد أربع مركبات: جليكوسيد السيانوجينيك، eudesmanolide، واثنان من الستيرويدات. في شكل مزيج، بينما أعطى مستخلص خلات الإيثيل خمسة مركبات: ثلاثة مركبات فلافونيدية، ليجنان ومركب سيانوجينيك.

تم تحديد البنى الكيميائية لهذه المركبات بواسطة طرق التحليل الطيفي الحديث بما في ذلك التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية UV، مطيافية الرنين المغناطيسي النووي RMN (^{13}C ، ^1H)، COSY، HSQC، HMBC و ROESY) وقياس الطيف الكتلي عالي الدقة (+) ESI و (IE) وبالمقارنة مع المراجع البيبليوغرافية.

الكلمات المفتاح: العائلة المركبة، *Centaurea microcarpa*، الفلافونيدات،

السيكويتربينات اللاكتونية، السيانوجينيك جلوكوزيد، الليجنانات.