

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

UNIVERSITE CONSTANTINE I  
FACULTE DES SCIENCES EXACTES  
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N°d'ordre :.....

N°Série :.....

## MEMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de Magister  
en Chimie Organique

Option : Chimie structurale-Synthèse organique et Substances Naturelles

Recherche et détermination structurale de métabolites  
secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae)  
Etude de la phase acétate d'éthyl

Par :  
M<sup>elle</sup>. BOUTAOUI NASSIMA

Sous la direction de :  
Dr. ZAITER LAHCENE

<u>Devant le jury :</u>		
M <sup>me</sup> F. BENAYACHE	Pr. Université Constantine I	Président
M <sup>r</sup> L. ZAITER	MC. Université Constantine I	Rapporteur
M <sup>r</sup> S. BENAYACHE	Pr. Université Constantine I	Examineur
M <sup>r</sup> A. BENTAMENE	Pr. Université Constantine I	Examineur
M <sup>r</sup> M. BOUHEROUM	MC. Université Constantine I	Examineur

Soutenu le :.../.../2012

## ***REMERCIEMENTS***

J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche dans le laboratoire de Phytochimie et analyses physicochimiques et biologiques sous la direction du professeur **Benayache Fadila**.

Tout d'abord, je tiens particulièrement à remercier Madame le Professeur **Benayache Fadila** pour avoir accepté de présider le jury, de m'avoir accueilli au sein du Laboratoire, pour m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Aussi pour son soutien et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.

Je remercie sincèrement Monsieur **Zaiter Lahcene** mètre de conférence à l'université Constantine, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail tout au long de ces années. Ses conseils, ses commentaires aussi sa bienveillance et son humour qui m'ont été fort utiles.

Je remercie sincèrement Monsieur le professeur **Samir Benayache** ; professeur à l'université Mentouri Constantine, pour son aide et ses conseils aussi pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie chaleureusement **Ali Bentamene** professeur à l'université Mentouri Constantine, pour son aide, sa gentillesse. Je remercie aussi **Mouhamed Bouheroum** maître de conférence à l'université Constantine pour le soutien, l'aide et l'encouragement pendant ma présence dans ce laboratoire et d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

J'aimerais également remercier Monsieur le Professeur **Khalili Ismail** professeur à l'université de Jijel pour son aide précieuse qui m'a permis de terminer mon travail.

Je remercie sincèrement Monsieur **Kerkatou**, **M<sup>elle</sup> S. Baatouche**, **M<sup>elle</sup>.Hamoud** et **M<sup>elle</sup>. Aissaoui** pour leurs aides, conseils et commentaires mais aussi leurs bienveillances et leurs humours qui ont été fort utiles.

Merci aussi à tous mes collègues et amis du laboratoire Khawla, Hanane, Halima, Tamer, Sara, Chahra, Widad, Wassila, Nawal ... et toute l'équipe de notre laboratoire, sans oublier ma chère amie Nouni.

Je tiens à remercier de tout cœur ma famille pour leur soutien sans faille et permanent qui a été essentiel tout au long de mes études, et tout particulièrement au cours de ce travail.

# *DÉDICACE*

*À mon dieu, le tout puissant qui m'a aidé à réaliser ce travail*

*À ma chère mère pour son soutien infatigable, sa patience admirable  
À mon cher père pour son affection continuelle, qui m'a beaucoup aidé dans  
ma vie et durant mes études.*

*À mes frères : Nedjmeddine, Mustapha, Zakaria.*

*À ma sœur Sabah et tout les membres de ma famille.*

*À mes amis : Nouni, Mounira, Nahla, Wafa, Halima.*

*À toute ma promotion du magister : Halima, Hanane, Famer, Sabrina,  
Ferial, Wassila, Naïma, Mouhamed et Chaf*

# SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE .....	1
Références bibliographiques .....	3

## PARTIE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I : Rappel Bibliographique

I-1- Introduction.....	4
I-2- Critères de sélection des plantes .....	4
I-2-1- Utilisation en médecine traditionnelle .....	4
I-2-2- Observation du matériel végétal sur le terrain.....	5
I-2-3- Aspect botanique et chimiotaxonomiques.....	5
I-2-4- Les rapports de la littérature .....	6
I-3- Description de la plante étudiée .....	6
I-3-1- La famille des composées.....	6
I-3-1-1- Introduction .....	6
I-3-1-2- Aspect botanique .....	7
I-3-1-3- Aspect chimique .....	7
I-3-1-3-1- Les métabolites secondaires chez les composées.....	7
a- Les sesquiterpènes lactones .....	8
a-1- Les guaïanolides.....	9
a-2- Les germacranolides.....	9
a-3- Les eudesmanolides.....	10
a-4- Les élémanolides.....	11
b- Les flavonoïdes .....	12
c- Les monoterpènes et sesquiterpènes.....	17
d- Les diterpènes .....	17
I-3-1-3-4- Plantes médicinales, propriétés thérapeutiques et usage traditionnel.....	18

I-3-2- Le genre <i>Matricaria</i> .....	20
I-3-2-1- Aspect botanique .....	20
I-3-2-2- Travaux antérieurs .....	20
a- Les coumarines.....	21
a-1- Les coumarines isolés .....	21
a-2- Intérêt pharmacologique.....	23
b- Les flavonoïdes .....	23
b-1- Les flavonoïdes isolés .....	23
b-2- Intérêt pharmacologique.....	27
c- Les sesquiterpènes.....	28
I-3-2-3- Usage traditionnel de quelques espèces du genre <i>Matricaria</i> .....	31
Références bibliographiques .....	33

## **CHAPITRE II : Les métabolites secondaires chez *Matricaria***

II-1- Introduction .....	42
II-2- Les terpénoïdes .....	43
II-2-1- Les monoterpènes .....	44
II-2-2- Les diterpènes.....	45
II-2-3- Les triterpènes et stéroïdes .....	47
II-2-4- Les tetraterpènes .....	50
II-2-5- Les sesquiterpènes .....	50
II-2-6- Les lactones sesquiterpéniques.....	51
II-2-7- Activités biologiques des lactones sesquiterpéniques .....	53
II-3- Les composés phénoliques .....	54
II-3-1- Introduction .....	54
II-3-2- Classification.....	54
II-3-3- Les coumarines .....	58
II-3-3-1- Définition.....	58
II-3-3-2- Structures chimiques et classification.....	59
a- Coumarines simples .....	59

b- Coumarines phénylés.....	59
c- Furanocoumarines .....	60
d- Pyranocoumarines .....	61
e- Dicoumarines .....	61
f- Tricoumarines .....	62
II-3-3-3- L'intérêt pharmacologique des coumarines .....	62
II-3-4- Les flavonoïdes.....	63
II-3-4-1- Introduction.....	63
II-3-4-2- Structures chimiques et classification.....	64
II-3-4-2-1- Définition.....	64
II-3-4-2-2- La biosynthèse.....	65
a- Importance de la voie métabolique du schikimate .....	65
b- La voie de biosynthèse des flavonoïdes .....	65
II-3-4-2-3- Classification.....	69
a- Flavones et flavonols.....	69
b- Flavanones et dihydroflavonols .....	70
c- Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols .....	71
d- Chalcones et aures .....	72
e- Isoflavones et neoflavones.....	73
II-3-4-3- La substitution du squelette flavonique .....	74
II-3-4-3-1- L'hydroxylation .....	74
II-3-4-3-2- La méthylation .....	74
II-3-4-3-3- La glycosylation.....	74
II-3-4-4- Distribution et localisation.....	75
II-3-4-4-1- Distribution dans les plantes et le règne végétale .....	75
II-3-4-4-2- Rôle dans les plantes .....	75
II-3-4-4-3- Importance dans l'alimentation.....	76
II-3-4-5- Propriétés des flavonoïdes .....	76
II-3-4-5-1- Propriétés anti-inflammatoires et effet sur le système immunitaire.....	76
II-3-4-5-2- Propriétés antivirales et antibactériennes .....	77
II-3-4-5-3- Propriétés anti-cancérigènes .....	78

II-3-4-5-4- Propriétés anti-oxydantes et impact sur la peroxydation lipidique .....	80
II-3-4-5-5- Propriétés pro-oxydantes .....	80
II-3-4-5-6- Propriétés anti-ulcéreux .....	81
II-3-4-5-7- D'autres effets biologiques .....	82
II-3-4-6- Extraction, isolement, purification et analyse structurale des flavonoïdes.....	83
II-3-4-6-1- Récolte du matériel végétale .....	86
II-3-4-6-2- Extraction des flavonoïdes .....	86
II-3-4-6-3- Méthode de séparation et de purification .....	87
a- La chromatographie d'adsorption sur colonne CC .....	87
b- La chromatographie sur papier CP.....	87
c- La chromatographie sur couche mince CCM .....	88
d- La chromatographie sur couche mince préparative CCM .....	88
c- La recristallisation .....	89
II-3-4-6-4- Méthodes d'analyse et d'identification structurale des flavonoïdes .....	89
a- Effet du rapport frontal ( $R_f$ ) .....	89
b- La fluorescence sous la lumière de Wood .....	90
c- La spectrométrie UV-visible.....	90
c-1- Le spectre UV dans le méthanol .....	91
c-2- Le spectre UV en présence de réactifs .....	92
c-2-1- L'addition de $AlCl_3$ et $AlCl_3+HCl$ .....	93
c-2-2- L'addition de $NaOAc+H_3BO_3$ .....	93
c-2-3- L'addition de $NaOH$ et $NaOAc$ .....	96
d- L'hydrolyse acide des hétérosides.....	96
e- La résonance magnétique nucléaire RMN.....	100
f- La spectrométrie de masse MS .....	102
Références bibliographiques .....	103

## **PARTIE TRAVAUX PERSONNELS**

### **CHAPITRE III : Etude phytochimique de l'espèce *Matricaria Chamomilla***

III-1- Place dans la systématique .....	115
III-2- Description botanique de l'espèce <i>Matricaria chamomilla</i> .....	116
III-3- Extraction de l'espèce <i>Matricaria Chamomilla</i> .....	117
III-4- Séparation et purification des composants de l'extrait acétate d'éthyle de la <i>camomille</i> .....	120
III-4-1- Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle.....	120
a- Etude de la fraction F10.....	122
b- Etude des fractions F15, F25 et F27 .....	122
c- Etude de la fraction F22.....	123
d- Etude de la fraction F24.....	123
e- Conclusion .....	123
III-5- Méthodes de détermination de l'activité anti-oxydante .....	125
III-5-1- Principe du test au DPPH.....	125
III-5-2- Protocole expérimentale .....	125
Références bibliographiques .....	127

### **CHAPITRE IV : Résultats et discussion**

IV-1- Identification structurale des produits isolés d'espèce <i>M.Chamomilla</i> .....	128
IV-1-1- Elucidation structurale du produit NB1.....	128
IV-1-2- Elucidation structurale du produit NB2.....	136
IV-2- Discussion de l'activité biologique .....	152
Conclusion.....	154

## LISTE DES FIGURES

### Chapitre I : Rappel bibliographique

- Figure I-1** : Exemples de guaïanolides.
- Figure I-2** : Exemples de germacranolides.
- Figure I-3** : Exemples de eudesmanolides.
- Figure I-4** : Exemples de élémanolides.
- Figure I-5** : Exemples de monoterpènes et sesquiterpènes.
- Figure I-6** : Exemples de diterpènes.
- Figure I-7** : Les coumarines isolées du genre *matricaria*.
- Figure I-8** : Le 5,6-dihydroridentine.
- Figure I-9** : La Matricolone.
- Figure I-10**: Le 2 $\alpha$  - hydroxy arborescine.
- Figure I-11** : La matricine.
- Figure I-12** : La matricarine.
- Figure I-13** : La globicine.
- Figure I-14** : La zuubergénine.
- Figure I-15** : Sesquiterpènes à chaîne ouverte.
- Figure I-16** : La chamazulène.
- Figure I-17** : Bisabolol
- Figure I-18** : Le bisabolol oxide A.
- Figure I-19** : Le Bisabolol oxide B.
- Figure I-20** : Le cis-Spiroether

### Chapitre II : les métabolites secondaires chez le genre *Matricaria*

- Figure II-1** : L'isoprène
- Figure II-2** : Relation squelette terpénique-accumulation dans les différents organes de la plante.

**Figure II-3** : Structure de quelques monoterpènes et leur source.

**Figure II-4** : Structure de quelques diterpènes et leurs noms.

**Figure II-5** : Squelette de base des triterpènes.

**Figure II-6** : Noyau perhydrocyclopentanophenanthrène

**Figure II-7** : Exemples de stérols rencontrés chez le règne végétale et animal.

**Figure II-8** :  $\beta$ -Carotène.

**Figure II-9** : Lycopène .

**Figure II-10** :  $\beta$ - Cadinène.

**Figure II-11** : Structure de quelques lactones sesquiterpéniques.

**Figure II-12** : Structure chimiques de quelques composés phénoliques.

**Figure II-13** : Squelette de base des coumarines.

**Figure II-14** : La rutacultine

**Figure II-15** : La visnadine.

**Figure II-16** : Dicoumarol.

**Figure II-17** : Triumbéllatine

**Figure II-18** : Les dérivés de 3-(N-aryl) carboxamide coumarine.

**Figure II-19** : Noyau flavone.

**Figure II-20** : Noyau flavane.

**Figure II-21** : Squelette de base des flavonoïdes.

**Figure II-22** : Mécanisme générale de biosynthèse des flavonoïdes.

**Figure II-23** : Flavone.

**Figure II-24** : Flavonol.

**Figure II-25** : Flavanone.

**Figure II-26** : Dihydroflavonol

**Figure II-27** : Flavan-3-ols.

**Figure II-28** : Flavan-3,4-diols

**Figure II-29** : Pélargonidol.

**Figure II-30** : Chalcone.

**Figure II-31** : Aurone.

**Figure II-32** : Isoflavone.

**Figure II-33** : Néoflavone.

**Figure II-34** : L'apigénine.

**Figure II-35** : Transfert enzymatique du Lutéoline en Chrysoïol.

**Figure II-36** : 8-C-méthylgalanigne.

**Figure II-37** : Transfert enzymatique de la quercétine en 3-Glucosylquercétine.

**Figure II-38** : Schaftoside.

**Figure II-39** : Plaque chromatographique éluee permettant le calcul du  $R_f$ .

**Figure II-40** : Les formes absorbantes des flavonoïdes.

**Figure II-41** : La forme cinnamoyle.

**Figure II-42** : La forme benzoyle.

**Figure II-43** : Formation des différents types de complexes après addition d' $\text{AlCl}_3$  et en présence de HCl.

### **Chapitre III : Etude phytochimique de l'espèce *Matricaria chamomilla*.**

**Figure III-1** : *Matricaria chamomilla*.

**Figure III-2** : Photo de *Matricaria chamomilla*.

**Figure III-3** : Différentes types de l'extraction des parties aériennes de *Matricaria chamomilla*.

**Figure III-4** : Résumé des travaux chromatographiques.

**Figure III-5**: La structure de DPPH.

### **Chapitre IV : Résultats et discussion**

**Figure IV-1** : Les spectres UV du composé NB1

**Figure IV-2**: Spectres RMN  $\text{H}^1$  du produit NB1.

**Figure IV-3**: Spectre RMN  $\text{C}^{13}$  du produit NB1.

**Figure IV-4**: la série UV-VIS du produit NB2.

**Figure IV-5**: Spectres RMN  $\text{H}^1$  du produit NB2.

**Figure IV-6**: Spectre RMN  $\text{C}^{13}$  du produit NB2.

**Figure IV-7** : Spectre COSY (500 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm) du composé NB2.

**Figure IV-8** : Spectre HSQC (500 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm) du composé NB2.

**Figure IV-9** : Spectre HMBC (500 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm) du composé NB2.

**Figure IV-10** : Hydrolyse acide du produit NB2.

**Figure IV-11** : L'activité antioxydante de l'extrait acétate et butanolique de MC et l'acide ascorbique vis-à-vis de radical libre DPPH $^\circ$ , chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type (n = 3)



# LISTE DES TABLEAUX

## Chapitre I : Rappel bibliographique

**Tableau I-1 :** Les flavonoïdes isolés de différentes espèces communes à l'Algérie de la famille des Astéracées.

**Tableau I-2 :** Les coumarines séparées du genre *Matricaria*.

**Tableau I-3 :** L'activité des coumarines issues du genre *Matricaria*.

**Tableau I-4 :** Les flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*.

**Tableau I-5 :** Relation entre structure et effet pharmacologique des flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*.

**Tableau I-6 :** les multiples usages traditionnels de quelque Matricaires de part le monde.

## Chapitre II : les métabolites secondaires chez le genre *Matricaria*.

**Tableau II-1 :** Les activités biologiques relatives à quelques lactones sesquiterpéniques.

**Tableau II-2 :** Les principales classes des composés phénoliques.

**Tableau II-3 :** Liste des enzymes conduisant aux différentes classes de flavonoïdes.

**Tableau II-4:** Sources alimentaires des flavonoïdes.

**Tableau II-5 :** L'effet de la substitution du squelette flavonique sur la valeur du  $R_f$ .

**Tableau II-6 :** Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures flavoniques.

**Tableau II-7 :** Relation entre les squelettes des flavonoïdes et la position des bande I et II.

**Tableau II-8 :** Les informations obtenues en présence de réactifs.

## Chapitre III : Etude phytochimique de l'espèce *Matricaria chamomilla*.

**Tableau III-1 :** Rendements des extraits.

**Tableau III-2 :** Résultats du fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle par la chromatographie sur colonne.

## Chapitre IV: Résultats et discussion

**Tableau IV-1** : Données de la série spectrale UV du produit NB1.

**Tableau IV-2** : Données de la spectroscopie *RMN 1H* (DMSO; 250 MHz) du composé NB1.

**Tableau IV-3** : Données de la série spectrale UV du produit NB2.

**Tableau IV-4**: Données de la spectroscopie *RMN 1H* (DMSO; 400 MHz).

**Tableau IV-5** : Données de la spectroscopie *RMN C13* (DMSO ; 400MHz) du composé NB2.

## LES ABRÉVIATIONS

**Glc** : Glucose

**g** : gramme

**Kg** : Kilogramme

**GPP** :Géranyl Pyrophosphate

**IPP** :Isophényl Pyrophosphate

**FPP** :Farnesyl Pyrophosphate

**ADN** : Adénosine Dioxyribo Nucléique

**UVA** : Ultraviolet

**VIH** : Virus Immuno déficience humaine.

**mg** : milligramme

**AMPc** : Adénosine Mono Phosphate cyclique

**ARN** : Adénosine Ribo Nucléique

**ATP** : Adénosine Triphosphate

**CC** : Chromatographie sur Colonne

**CP** : Chromatographie sur Papier

**CLHP** : Chromatographie Liquide à Hautr Performance

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuze

**cm** : centimètre

**nm** : nanometre

**R<sub>f</sub>** : Rapport frontale

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**DEPT**: Sequence Distorsionless Enhancement by Polarisaton Transfert

**J** : Constante de couplage

**SMIE** : Spectrométrie de masse en mode impacte électronique

**FAB** : Bombardement par atomes rapides (Fast Atom Bombardment)

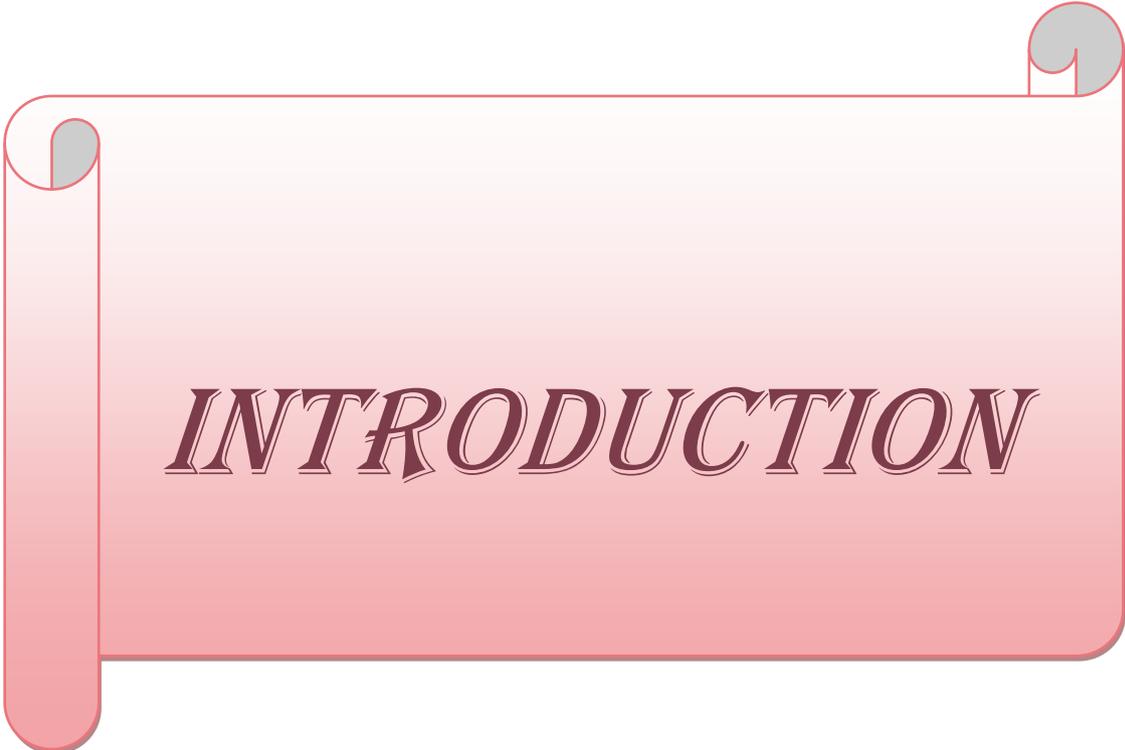
**m/z** : Masse / charge électrique

**ppm** : Partie par million

**δ** : Déplacement chimique

**s** : Singulet

**d** : Doublet



# *INTRODUCTION*

## **INTRODUCTION :**

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Bien qu'une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a donné des résultats dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines [1].

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages [2]. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux actifs.

Notre travail s'insère dans les programmes de recherche développés par le laboratoire de Phytochimie et analyses physicochimiques et biologiques. Il se veut une contribution à l'étude phytochimique et biologique de plantes médicinales appartenant à notre flore. Dans notre cas c'est *Matricaria Chamomilla* de la famille des composées.

Le premier chapitre représente un rappel bibliographique avec les travaux antérieurs consacrés à la description botanique de la plante, aux propriétés biologiques du genre *Matricaria* ainsi qu'aux études chimiques antérieures réalisées sur le genre.

Le deuxième chapitre du travail porte sur une étude impliquant les métabolites secondaires très réponsus chez l'espèce étudiée en ce basant sur la structure, classification, biosynthèse et activité biologique des flavonoïdes. Et également les techniques et les méthodes nécessaires à la séparation, la purification et l'établissement des structures des flavonoïdes.

Le troisième chapitre de notre thèse concernera la partie expérimentale de cette étude, en ce qui concerne les travaux personnels réalisés dans notre laboratoire.

Le quatrième chapitre présentera les résultats obtenus qui seront suivis d'une discussion et d'une conclusion générale.

***RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE***

- [1] Gurib-Fakim A. (2006) **Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow**. *Molecular Aspects of Medicine* 27, 1-93.
- [2] Pelt J.M. (2001) ***Les nouveaux actifs naturels***. Marabout. Paris.



# CHAPITRE I

**I-1-Introduction :**

Au fil des siècles, diverses pratiques ont été développées pour extraire les principes actifs des plantes. Suivez le chemin de nos ancêtres et découvrez, plante par plante, leurs vertus bienfaitantes.

**I-2-Critères de sélection des plantes :**

Afin d'isoler des substances nouvelles de plantes et de trouver de ce fait de nouvelles voies d'applications tant dans les domaines de la pharmacie que de la cosmétique et afin de rendre la stratégie d'isolement la plus efficace, il convient de sélectionner avec soin les plantes à étudier.

Dans cette optique, un certain nombre de critères ont été pris en compte pour sélectionner les plantes de cette étude.

**I-2-1-Utilisation des plantes en médecine traditionnelle :**

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité. [1]

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie mettent en relation les savoirs ancestraux des médecins traditionnels et les connaissances scientifiques actuelles. Ce sont avant tout des domaines de recherche interdisciplinaire à l'interface des sciences de l'Homme, comme l'ethnologie, l'histoire, la linguistique, et des sciences de la nature, comme la botanique, la pharmacologie, la pharmacognosie, la médecine.

Les informations de terrain recueillies auprès des populations (les véritables tradipraticiens ne subsistent plus que dans des zones reculées) sont le reflet d'une approche culturelle de la maladie qui est fondée sur la symptomatologie. Tel mélange de plantes est indiqué pour une douleur ou un symptôme donné et non pour soigner une maladie. La traduction de ces données symptomatiques brutes en termes de médecine étiologique est délicate et le recours d'un médecin est souvent indispensable à la caractérisation de la maladie. Le traitement varie selon le comportement du malade, ses dires, le rang social avec la prise en compte de son histoire familiale. De

plus, le tryptique aliment-médicament-poison rend difficile la catégorisation entre actifs et toxiques qui peuvent être employés, à dessein, simultanément. Il est également nécessaire d'avoir à l'esprit que l'utilisation médicinale des plantes est souvent associée à des concepts irrationnels qui font appel au mystique. La difficulté vient ainsi de la nécessité de déceler, dans les mélanges traditionnellement employés, les plantes dont la présence fréquente fait penser qu'elles sont susceptibles de traiter un aspect donné de la maladie.

L'ethnopharmacologie et l'ethnobotanique ont donc pour finalité la compréhension des pratiques et des représentations relatives à la santé, à la maladie, et la description, l'évaluation thérapeutique des plantes utilisées dans les pharmacopées traditionnelles.

L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles des plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne ont été découverts par l'intermédiaire d'investigations ethnobotaniques. [1]

### **I-2-2-Observations du matériel végétal sur le terrain :**

Les observations du matériel végétal et son milieu lors de sa cueillette peuvent donner des informations précieuses. Ainsi, une plante qui pousse dans un milieu tropical riche en microorganismes (champignons, bactéries, etc.) et parasites divers et qui ne présente aucun signe d'attaque par ces microorganismes, serait susceptible de produire des métabolites secondaires (substances chimiques synthétisées par les plantes) qui lui permettent de faire face à ces agressions. Une telle plante peut être une source inestimable de nouveaux produits possédant des activités biologiques intéressantes (antifongique, antibactérienne, anti-parasitaire ou antioxydante par exemple).

### **I-2-3-Aspects botaniques et chimiotaxonomiques :**

Dans un second temps, la connaissance des plantes choisies au travers des enquêtes ethnobotaniques peut être enrichie par la connaissance botanique des espèces citées. Les plantes appartenant aux mêmes familles ou à des familles voisines et/ou qui poussent dans les mêmes biotopes sont susceptibles de synthétiser les mêmes molécules chimiques. La chimiotaxonomie, ou classification des plantes en fonction

des leurs métabolites secondaires complète les classifications botaniques basées sur des critères morphologiques et moléculaires (génétiques par exemple) [2]. Elle permet, si des substances sont particulièrement connues pour leur potentiel thérapeutique, de choisir des plantes chimiotaxonomiquement proches de celles dans laquelle la substance a été détectée et étudiée.

Par ailleurs, connaître la rareté éventuelle d'une espèce, son époque de floraison et sa disponibilité en terme de quantité peuvent également constituer des critères de choix.

#### **I-2-4-Les apports de la littérature :**

Les critères que nous venons d'évoquer ayant permis d'établir une liste préliminaire de plantes potentiellement intéressantes, nous avons réalisé une bibliographie détaillée des connaissances phytochimiques des espèces et de leurs genres d'appartenance.

Dans l'optique de la découverte de nouvelles molécules et/ou de nouvelles voies d'application thérapeutiques (ou cosmétiques), il est plus judicieux de choisir des plantes qui ont été peu ou pas travaillées chimiquement. Cependant, si la famille ou le genre a déjà été étudié, il sera plus facile de trouver des procédés analytiques, d'identifier rapidement les composés déjà connus et de trouver des traceurs qualitatifs et quantitatifs. Cela permet également d'éliminer les genres et/ou les espèces connues pour leur toxicité.

#### **I-3-Description de la plante étudiée :**

##### **I-3-1- La famille des composées :**

###### **I-3-1-1- Introduction :**

La famille des composées est l'une des plus distribuées dans le règne végétal. Cette famille comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces [3,4]. En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces [5] et en France, 111 genres et 638 espèces [4]. Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires: Laitues (*Lactuca*), Endives, Chicorée (*Cichorium*), artichauts (*Cynara*), salsifis (*Tragopogon*). Le tournesol (*Helianthus annuus*) est cultivé pour son huile riche en acide gras.

Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : Le Semen-contre (*Artemisia cina* Berge), l'Arnica (*Arnica montana* L.), la Camomille (*matricaria chamomilla* L. et

*Anthemis nobilis L.*), le pied de chat (*Antenaria dioica gartn*) [3]. Une des propriétés typique de la famille des compositae est sa richesse en composés naturels divers. On y trouve des terpénoïdes, des flavonoïdes et des alcaloïdes [6]. c'est une famille très riche en lactones sesquiterpéniques qui représente des principes amers typiques de cette famille [6].

### **I-3-1-2- Aspect botanique :**

Les composées, représentées principalement dans les régions tempérées et froide du globe [7], sont principalement des herbes vivaces ou non, mais aussi des arbustes ou sous-arbrisseaux, parfois des herbes rarement des plants aquatiques ou des plantes grimpantes ou encore des épiphytes. Les feuilles sont le plus souvent alternes, mais aussi opposées ou radiales, simple exstipulées. [8].

Selon Gausson, les composées sont répartie en fonction de leurs fleurs en deux type : l'un ayant des fleurs à corolles ligulées et l'autre à corolles tubulées [4].

### **I-3-1-3- Aspect chimique:**

#### **I-3-1-3-1- Les métabolites secondaires chez les composées:**

On estime actuellement à peu près un million de métabolites secondaires connus aujourd'hui. Beaucoup de ces biomolécules végétales ont une grande importance économique que ce soient les médicaments, les arômes, les insecticides et les colorants. Ces métabolites peuvent être classés en quatre grandes catégories. [9]

#### **✚ Les composées phénoliques:**

Le principal mode de la formation du noyau aromatique emprunte l'acide shikimique, parmi les composés aromatiques les plus importants, les esters, les coumarines, les lignanes (composés en C6-C3), les flavonoïdes (composés en C6-C3-C6) et les tanins. [6]

#### **✚ Les terpènes:**

Ce sont des hydrocarbures d'une structure basée sur le précurseur isoprène (2-méthyl-but-1-3-diène), selon le nombre d'unité isoprénique qui les constituent on distingue les monoterpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les triterpènes en C30, les tetraterpènes (C40) et les polyterpènes (C4000). [6]

### ✚ Les alcaloïdes:

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées généralement cycliques où l'azote est assez souvent incorporé dans un noyau hétérocyclique. Généralement les alcaloïdes ont des propriétés très basiques, la plupart, ainsi comme leur nom l'indique ont une réaction alcaline, on peut les subdiviser en trois classes, alcaloïdes vrais, protoalcaloïdes et pseudoalcaloïdes. [6]

**Alcaloïdes vrais:** ils se caractérisent par une importante cytotoxicité, expose une vaste activité physiologique, la plupart sont des bases stables, elle comporte un ou plusieurs atomes d'azotes dans le cycle.

**Protoalcaloïdes:** se sont des amines simples comme les acides aminés et d'autre alcaloïdes comme Mescaline, Ephédrine.

**Pseudoalcaloïdes:** regroupe les composés azotés, non dérivés des acides aminés; l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale; comme la Caféine. [6]

### ✚ Les hétérosides:

Résultent de la combinaison avec élimination d'eau du groupe réducteur d'un ose avec une substance non glucidique l'aglycone ou génine, suivant la nature de la génine, on subdivise les hétérosides en hétérosides à génine phénoliques, hétérosides à génine triterpéniques et hétérosides à génine provenant d'acide aminé.

La famille des composées est très répandue, elle est connue pour sa richesse en métabolites secondaires qui sont distribués dans les différentes tribus [6]. Les différents métabolites secondaires cités par la littérature qui existent dans cette grande famille sont nombreux, on peut citer les plus importants:

#### a- Les sesquiterpènes lactones:

Les lactones sesquiterpéniques constituent un groupe important de substances naturelles dans la famille des composées [10], des études montrent que plus de 90% des sesquiterpènes lactones identifiées sont isolées de cette famille [11] et plus de 3000 structures sont connues [12]. A ce groupe appartiennent "les principes amers" de nombreuses composées [13]. Suivant la structure du noyau, on les divise en: guaianolides, germacranolides, eudesmanolides, xanthanolides, pseudoguaianolides, élemanolides, séco-eudesmanolides, éremofilanolides et bakkenolides. Les

recherches ont montré que certaines sesquiterpènes lactones sont biologiquement actives et possèdent des propriétés cytotoxiques [14], antimicrobiennes [15-16], antifongiques [17-18], anti-inflammatoires [19], anti-parasitaire [20], antibactérienne [21].

#### a-1- Les guaïanolides:

Le noyau comporte un cycle pentagonale et un cycle heptagonale uni à l'anneau lactonique, à ce groupe appartient les lactones génératrice d'azulène ( *Matricaria Chamomilla L*, *Artemisia Absinthium L*) [13], L'achilline **1** (*Achillea millefolium L*) [22], la cynaropicrine **2** (*Volutaria crupinoides*) [23], Salograviolide B **3** (*Centaurea Solinitana*) [24], Cebelline N **4**, (*Centaurea bella*) [25].

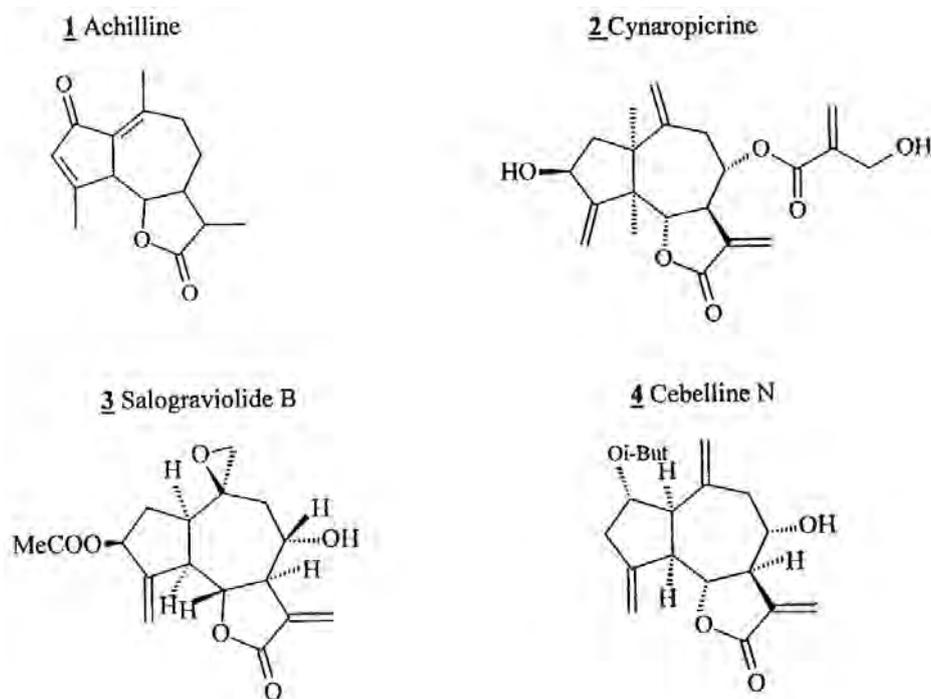


Figure I-1 : Exemples des guaïanolides

#### a-2- Les Germacranolides:

Un cycle à 10 atomes est uni à l'anneau lactonique. Elles sont largement distribuées dans la famille des composées [26], on peut les représenter:

Larctiopicrine **5** des feuilles de bardane, la cnicine **6** du chardon-béni (*Cnicus Behedictue L*) [4] et de *Centaurea lippii* [27], la sintenine **7** de *Achillea sintenisii* [28] et *Achillea micrantha* [29], 11 $\beta$ , 13-dihydrocnicine **8** de *Centaurea pullata* [30].

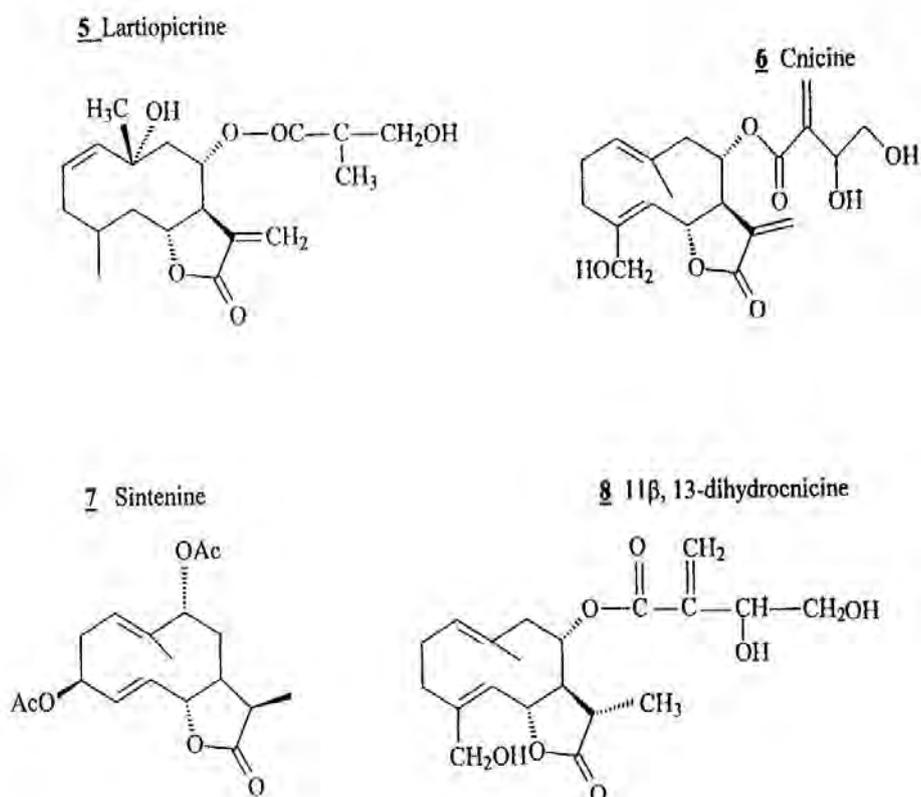


Figure I-2 : Exemples des germacranolides.

### a-3- Les eudesmanolides:

Ils sont formés à la base du squelette 1,7- dimethyl -4 -isopropyl- bicyclo [0,4,4] décane qui se déduit du squelette germacrane par cyclisation en formant deux cycles hexagonaux. On trouve notamment la  $\alpha$ - santonine **9**, le premier modèle de sesquiterpène lactone de *Semen contra (Arlémisia cina Berg)* [31] et les substances voisines, 3 $\alpha$ -hydroxy eudesm-4-en-12,6  $\beta$ -olide **10** (*Inula Graveolens*) [32], 1 $\beta$ -hydroxy-8 $\alpha$ - Angeloxyarbusculin B **11** (*Helipterum roseum*) [33], 1  $\beta$ , 4 $\alpha$ , 6 $\alpha$ -trihydroxy eudesm- 11 - en - 8 $\alpha$ , 12 olide **12** (*Tanacetum densem* subsp. *Amani*) [34].

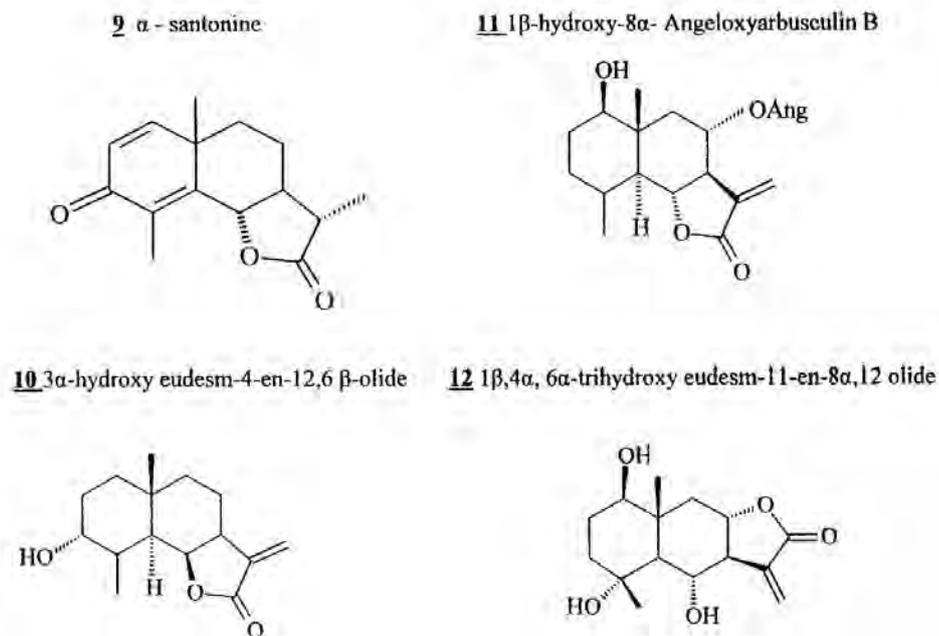


Figure I-3 : Exemples des eudesmanolides

## a-4- Les élémanolides:

Ce sont des sécoeudesnanolides 2-3 ils dérivent par un réarrangement de Cope des germacrane 1(10)-4(5) dièneolides. On peut élucider: la melitensine **13** du *Centaurea melitensis* et *Centaurea aspera* [35-36] la 11,13-dihydromélitensine **14** du *Centaurea aspera* [36].

**13** melitensine; R= H, X= $\beta$ -H,  $\alpha$ -Me

**14** 11,13 dihydromélitensine; R= H, X=CH<sub>2</sub>

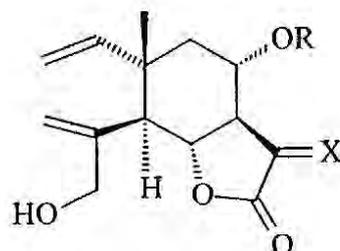


Figure I-4 : Exemples des élémanolides

**b- Les flavonoïdes:**

Les composés flavoniques sont des polyphénols naturels très répandus dans la famille des composées [37] ou beaucoup de travaux ont été réalisés [38], plus d'une trentaine de types flavonoidiques ont pu être identifiés dans cette famille.

On note aussi plus de 87 structures qui ont été identifiées dans la seule classe des flavones et plus de 153 structures dans la classe des flavonols [39].

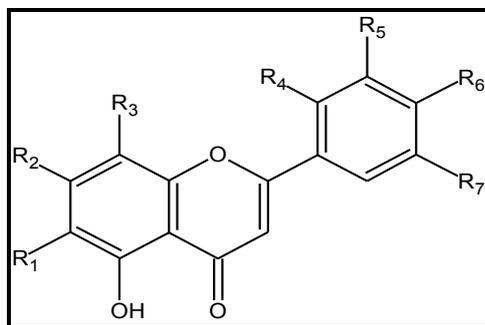
Notre étude s'est portée plus particulièrement sur les flavonoïdes qui ont été isolés à partir des plantes d'origine Algérienne de la famille des Composées.

Espèce	Origine	Structures	Références
<i>Inula Viscosa</i>	Constantine	16 17 18 19 30 31 32 33 34 35 36 37 48 49 50	[40]
<i>C. Calcitrapa.L</i>	El.Hamma	15 17 27 51	[41]
<i>C.Incanna</i>	Entre Souk Ephrase et El-Kala	17 18 21 22 38 39 40 41 52 53	[42]
<i>C.Nicaensis.All</i>	Entre Batna et Khenchela	18 23 24 25 38 39 40 41 42 43 54 55	[43]
<i>C.Napifolia</i>	El-Kala	23 15	[44]
a- <i>C.Furfuraceae</i> Coss et Kral		15 17 26 29 40 45 46 47 54	[45]
b- <i>C.Napifolia</i>	El-Kala	17 23 25 26 28 40 53 57	[45]
c- <i>C.Pullata</i>	Constantine	17 26 27 40 51 54	[45]
<i>C.Lippii</i>	Sétif	44 48 56	[27]
<i>C.Pungens</i>	Bechar	20 24 25	[46]

**Tableau I-1 : Quelques exemples des flavonoïdes isolés de différentes espèces communes à l'Algérie de la famille des Astéraceae.**

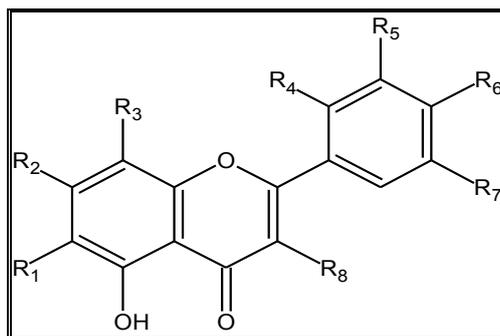
Les structures des flavonoïdes de 15 à 57

➤ Les flavones :



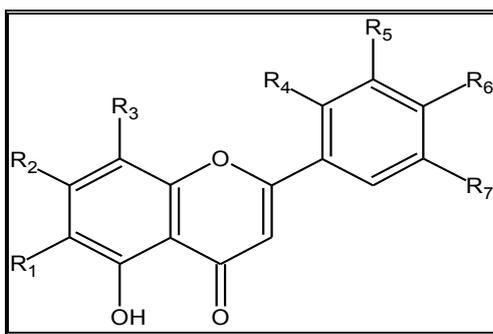
N°	Nom du composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
<u>15</u>	Apigénine	H	OH	H	H	H	OH	H
<u>16</u>	Lutéoline	H	OH	H	H	OH	OH	H
<u>17</u>	Hispiduline	OMe	OH	H	H	H	OH	H
<u>18</u>	Eupafoline (Néphrine)	OMe	OH	H	H	OH	OH	H
<u>19</u>	Jacéosidine	OMe	OH	H	H	OMe	OH	H
<u>20</u>	Salvigenine	OMe	OMe	H	H	H	OMe	H
<u>21</u>	Corymbosine	H	OMe	H	H	OMe	OMe	OMe
<u>22</u>	Methoxy-7-tricine	H	OMe	H	H	OMe	OH	OMe
<u>23</u>	Cirsilineol	OMe	OMe	H	H	OMe	OH	H
<u>24</u>	Eupatorine	OMe	OMe	H	H	OH	OMe	H
<u>25</u>	Methoxy-3'-Salvigenine	OMe	OMe	H	H	OMe	OMe	H
<u>26</u>	Cirsimaritine	OMe	OMe	H	H	H	OH	H

➤ Les flavonols :



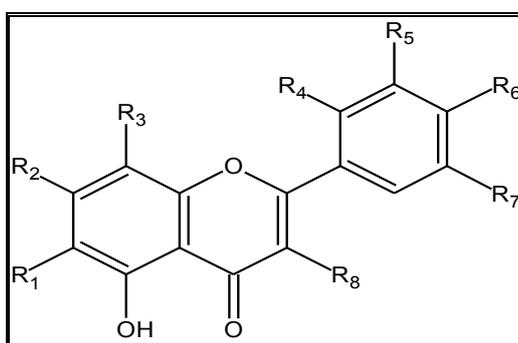
N°	Nom du composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
<u>27</u>	Kaempférol	H	OH	H	H	H	OH	H	OH
<u>28</u>	Quercétine	H	OH	H	H	OH	OH	H	OH
<u>29</u>	Methoxy-3-Kaempférol	H	OH	H	H	H	OH	H	OMe
<u>30</u>	Jacédine	OMe	OH	H	H	OMe	OH	H	OMe
<u>31</u>	Diméthoxy-3,6-Quercétagine	OMe	OH	H	H	OH	OH	H	OMe
<u>32</u>	Methoxy-3,3-quercétine	H	OH	H	H	OH	OH	H	OMe
<u>33</u>	Diméthoxy-3,3'-quercétine	H	OH	H	H	OMe	OH	H	OMe
<u>34</u>	Isorhamnetine	H	OH	H	H	OMe	OH	H	OH
<u>35</u>	Rhamnetine	H	OMe	H	H	OH	OH	H	OH
<u>36</u>	Rhamnocetrine	H	OMe	H	H	H	OH	H	OH
<u>37</u>	Dimethoxy-3,7-quercétagine	OH	OMe	H	H	OH	OH	H	OMe
<u>38</u>	Methoxy-6-kaempférol	OMe	OH	H	H	H	OH	H	OH
<u>39</u>	Méthoxy-6-quercétine	OMe	OH	H	H	OH	OH	H	OH

➤ Les flavones glycosylés :



N°	Nom du composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
<b>40</b>	7-O-glucosyl hispiduline	O-Glu	OMe	H	H	H	OH	H
<b>41</b>	Vicenin 2	OH	C-Glu	C-Glu	H	H	OH	H
<b>42</b>	7-O-glucosyl isoorientine	O-Glu	C-Glu	H	H	OH	OH	H
<b>43</b>	6-O-glucosyl isoorientine	OH	Glu-Oglu	H	H	OH	OH	H
<b>44</b>	6-O-glucosyl apigénine	OH	C-Glu	H	H	H	OH	H
<b>45</b>	7-O-méthyl glucuronyl hispiduline	O-Meglu	OMe	H	H	H	OH	H
<b>46</b>	7-O-glucosyl apigénine	O-Glu	H	H	H	H	OH	H
<b>47</b>	7-O-méthyl glucuronyl apigénine	O-Meglu	H	H	H	H	OH	H

➤ **Les flavonols glucosylés :**



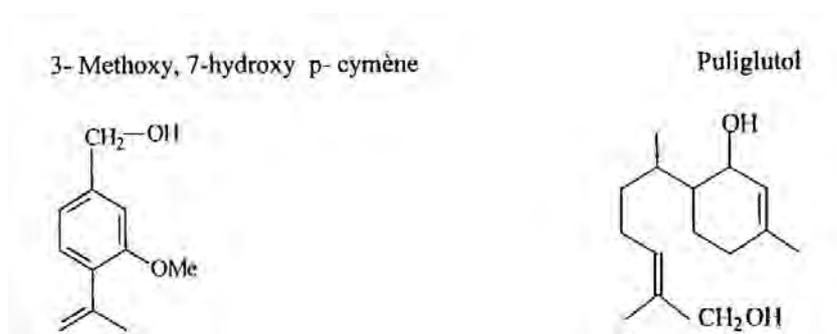
N°	Nom du composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
<u>48</u>	3-O-glucosyl quercétine	H	OH	H	H	OH	OH	H	O-Glu
<u>49</u>	7-O-glucosyl 3- methoxy quercétagine	OH	O-Glu	H	H	OH	OH	H	OMe
<u>50</u>	7-O-glucosyl 3- methoxy quercétine	H	O-Glu	H	H	OH	OH	H	OMe
<u>51</u>	7-O-glucosyl 3- methoxy kaempférol	OMe	OH	H	H	H	OH	H	O-Glu
<u>52</u>	7-O-glucosyl 3'- methoxy myrecetine	H	O-Glu	H	H	H	OMe	OH	OH
<u>53</u>	3-O- rhamnoglucosyl quercétine	H	OH	H	H	OH	OH	H	Oglu- Orham
<u>54</u>	7-O-glucosyl patulétine	OMe	O-Glu	H	H	OH	OH	H	OH
<u>55</u>	7-O-glucosyl 6- methoxy isorhamnetine	OMe	O-Glu	H	H	OMe	OH	H	OH
<u>56</u>	3-O-rhutinosyl kaempférol	H	OH	H	H	H	OH	H	O- Rhuti
<u>57</u>	7-O-glucosyl quercétine	H	O-Glu	H	H	OH	OH	H	OH

**c- Monoterpènes et sesquiterpènes:**

Beaucoup d'espèces de la famille des composées sont des plantes aromatiques, *Camomille romaine*, *Matricaire*, *Artemisia divers*, *Tanaisie*, *Achillée*, etc...

Les mono- et sesquiterpènes sont avec les sesquiterpènes lactones, les composants principaux des huiles essentielles de ces plantes, ils se trouvent aussi dans les extraits des différentes plantes de cette famille. Parmi ces terpènes:

Le farnesol de la *Camomille*, bisabolène de la *Matricaire* [13], puliglutol, puliglital et puliglutone de la *Pulicaria glutinosa* [47], et '12- carboxy-eudesma- 3,11(13) diène [48], 3-méthoxy, 7-hydroxy p- cymène des feuilles d'*Inula viscosa*. [49]



**Figure I-5 : Exemples des monoterpènes et sesquiterpènes**

**d- Diterpènes:**

Beaucoup d'espèces de la famille des composées contiennent des diterpènes telles que: L'acide grindélique et ses dérivés qui sont isolés de la résine de Grindélia; stévioside (hétéroside à génine ditepénique) de l'espèce *Stevia rebaudiana*; deux acides carboxyliques ditepéniques, ent- kaurane et ent- trichylobane sont isolés de la plante *Helianthus salicifolium* [50], acide stritigite acide pulique et acide 15-deoxypulique de *Pulicaria glutinosa* [51]...

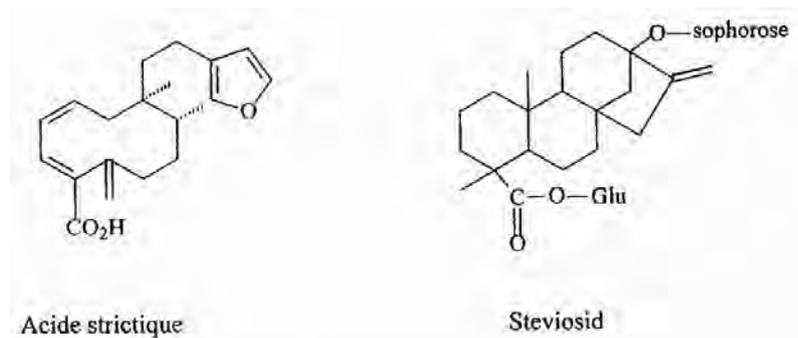


Figure I-6 : Exemples des diterpènes

On note aussi la présence d'alcaloïdes dans certaines espèces [52-54], des azulènes [55-56], des composés acétyléniques [57-58], des coumarines [59-60], des lignanes [61-62], des stéroïdes [63-64], des acides phénols [13, 65], des hydrocarbures insaturés [65] et des hétérosides [66].

#### I-3-3-4- Plantes médicinales, propriétés thérapeutiques et usage traditionnel:

La famille des composées a été anciennement connue pour ses propriétés médicinales et pharmacologiques et utilisée comme remède en médecine traditionnelle.

De nombreuses espèces figurent également dans les pharmacopées, elles sont utilisées pour leur activités antimicrobienne [67], antifongique [68], anti-inflammatoire [69-70], antiulcéreux [71], antibiotique [72], antiviral [73] et antitumoral [74]...

Beaucoup de chercheurs et spécialistes de la médecine par les plantes ont décrit plusieurs recettes de remèdes à base des plantes de la famille des composées. On peut en citer:

##### ✚ Camomille romaine (*Anthemis nobilis L.*):

La Camomille romaine est un tonique amer, stomachique et antispasmodique très utilisé. C'est une des cinq plantes à tisane dont la vente est libre en France. On utilise le plus généralement en infusion à 5 g par litre, de préférence loin des repas. En usage externe, l'huile de la Camomille romaine est utilisée en frictions contre les rhumatismes. La France produit, en Anjou, une centaine de tonnes de cette Camomille par an dont une partie est exportée. [13]

✚ **Semen contra** (*Artemisia cina* Berg.):

Le Semen contra s'administre en poudre, mêlé à de la confiture ou du miel, à la dose de 1 à 6 g chez l'enfant, de 8 à 10 g chez l'adulte, comme remède contre les ascaris. On utilise aussi l'infusé à 5%, prescrit en lavement contre les oxyures. Il sert à l'extraction de la santonine, administrée comme vermifuge à la dose de 0.01 g par année d'âge chez l'enfant et de 0.10 à 0.15 g chez l'adulte [13].

✚ **Solidage** (*Solidago virgaurea*):

Les parties aériennes sont expectorantes, anti-inflammatoires, diurétiques, faiblement sédatives et peuvent réduire partiellement le cholestérol. La plante combat les troubles rénaux ou de la vessie, la toux et l'asthme. En Chine, elle est préconisée pour les maux de gorge, la grippe, la fièvre et les indigestions en compresses, elle favorise la cicatrisation des plaies et ulcères persistants [76].

✚ **Aunée** (*Inula helinium*):

Les anciens prétendent qu'elle tue le bacille de la tuberculose. Cette plante est bactéricide, antifongique, expectorante, elle calme la toux et sert de tonique générale. Les gitans pensaient qu'elle stimulait le système immunitaire des chevaux. La phytothérapie la prescrit dans des cas précis, après un diagnostic endocrinien, pour stimuler la sécrétion hypothalamo-hypophysaire [76].

✚ **Grande Camomille** (*Chrysanthemum parthenium* Bernh.):

La grande camomille, originaire des Balkans, est retrouvée aujourd'hui en Europe et en Amérique du Nord. Elle s'accommode de tous les sols, mêmes calcaires, et croît essentiellement dans les jardins ou le long des murs, et dans les décombres humides. On utilise les parties aériennes fleuries de la plante dont la concentration en parthénolide est maximale au moment de la floraison.

La grande camomille est connue depuis l'Antiquité comme une plante aux propriétés bénéfiques multiples.

Elle a été utilisée dès le début pour ses propriétés antipyrétiques comme son nom anglais « feverfew » l'indique, et pour des maladies telles que les problèmes menstruels, les troubles digestifs, le psoriasis... Elle est aujourd'hui essentiellement utilisée pour la prévention des migraines.

La stabilité du parthénolide, principe actif de la grande camomille, dépend de son mode d'extraction et de son mode de conservation. Ainsi, il est indispensable de procéder à une double extraction hydrique et alcoolique de plantes fraîches à basse température, à l'abri de l'air et de la lumière afin de préserver l'intégrité et

l'intégralité des principes actifs et utiles de la plante. Une conservation dans la glycérine empêchant l'oxydation des molécules de la grande camomille permet également une efficacité optimale de l'extrait. [77]

**✚ La Matricaire ou Camomille allemande (*Matricaria chamomilla L.*):**

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques à la matricaire (chamomille allemande) qui ont été souvent discutés. Parmi les principales propriétés, il y avait l'usage en tant qu'antispasmodique, fébrifuge, antispastique des organes de la digestion, emménagogue, antinévralgique, antiallergique et bactéricide. En usage externe, la Matricaire est un anti-inflammatoire, un cicatrisant de la peau et des muqueuses. Elle est prescrite contre les inflammations de la bouche, des oreilles, des yeux et contre diverses affections cutanées. L'huile essentielle est également utilisée comme agent antirhumatismal. [9, 12].

La matricaire est couramment employée dans les préparations capillaires destinées à éclaircir la nuance des cheveux dont elle stimulerait aussi la croissance. C'est la plante la plus utilisée en cosmétologie où elle se montrerait émolliente, adoucissante, protectrice. [14]

**I-3-2- Le genre *Matricaria* :**

**I-3-2-1-Aspect botanique:**

Les matricaires sont des plantes annuelles de 50 centimètres à 1,5 m de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, sessiles, épaisses, charnues, sont très divisées, en lanières. Les fleurs, jaunes au centre, blanches à la circonférence, très odorantes, sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux. Le fruit est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué.

Ce genre renferme des espèces à réceptacle conique. Elles se distinguent par l'absence de poils sur leurs parties végétatives et par le manque de pallaites sur le réceptacle de leurs capitules. [78]

**I-3-2-2-Travaux antérieurs :**

Un grand nombre du genre *Matricaria* a fait, à ce jour, l'objet d'étude chimique et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés. [79]

A l'exception des alcaloïdes, les recherches phytochimiques ont permis de mettre en évidence, dans le genre *Matricaria*, tous les composés caractéristiques des composées.

Ces dernières, lors des études chimiosystématiques, ont montré une grande variété de métabolites secondaires et des procédés biosynthétiques différents. On a ainsi pu mettre en évidence, au cours des études chimiques sur les composées, différents types de composés chimiques [79] :

- ✚ Coumarines
- ✚ Flavonoïdes
- ✚ Terpènes
- ✚ Hétérosides
- ✚ Sesquiterpènes lactones

On s'intéresse dans ce travail de connaître les principaux métabolites isolés de l'espèce *matricaria chamomilla*.

#### a- Les Coumarines :

##### a-1- Les coumarines isolées :

Ce sont des 2-H-1-benzopyran-2-one, considérés comme étant les lactones des acides O-hydroxy-2-cinnamiques.

Les composés coumariniques rencontrés chez le genre *Matricaria* [80] sont le plus souvent des composés simples comme c'est le cas de l'Herniarine **58** et l'Umbelliférone **59**.

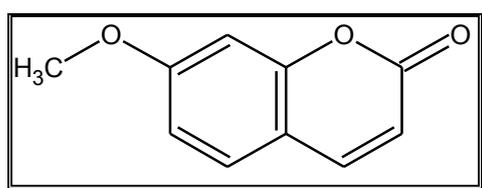
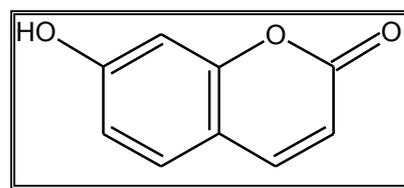
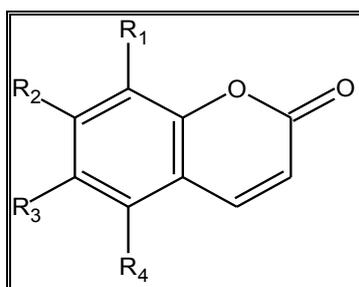
**58****59**

Figure I-7 : Les coumarines isolées du genre *matricaria*

Ahmed et al, ont particulièrement étudié l'espèce *M.Chamomilla*. Cette étude réalisée sur l'extrait chloroformique des fleurs a permis d'isoler les deux coumarines Herniarines **58** et l'Umbelliférone **59**. [81]

Tableau I-2 : les coumarines séparées du genre *Matricaria*.

Espèce	Origine géographique	Coumarines	Structures	Référence
<i>M. Chamomila</i>	Allemagne	Umbelliférone	59	[82,83,84]
		Scoparone	60	[82]
		Herniarine	58	[85]
	Italie	Herniarine	58	[86,84,87]
		Umbelliférone		[84]
	France	Herniarine	58	[84]
		Umbelliférone méthyl ether	61	[90]
		Umbelliférone	59	
		Scopolatine	62	
	Turquie	Herniarine	58	[90]
		Umbelliférone	59	
	Bulgarie	Coumarine	63	[91]
Umbelliférone		59		



Coumarine	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<u>60</u>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
<u>61</u>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H
<u>62</u>	H	H	H	H
<u>63</u>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H

**a-2-Intérêt pharmacologique des coumarines :**

Les coumarines ont des actions photobiologiques [106], bactériostatiques, et antifongiques [107].

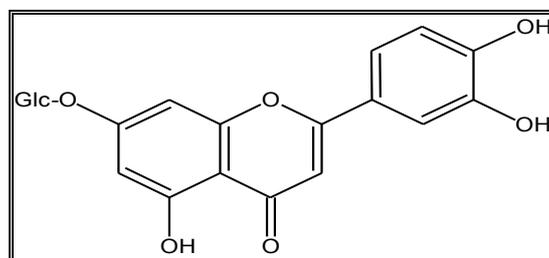
Certaines foranocoumarines sont photosensibilisantes, elles ont des effets carcinogènes qui tendent à diminuer l'emploi de ces substances dans le traitement des maladies de la peau telles que le psoriasis [108].

**Tableau I-3 : L'activité des coumarines issues du genre *Matricaria*.**

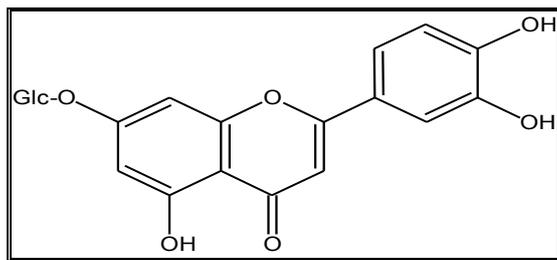
Coumarines	Activité	Référence
Herniarine	Antisolaire Antifongique Stimule les réponses allergiques	[101, 109, 110]
Umbelliférone	Antimicrobienne Photo active	[98, 83]
Coumarine	Antimicrobienne Photo active	[98]

**b- Les flavonoïdes :****b-1- Les flavonoïdes isolés :**

Les composés flavoniques sont des substances naturelles très répandues dans la famille des composés [111] où beaucoup de travaux ont été réalisés [112] chez le genre *Matricaria*. On trouve essentiellement des flavonoïdes glycosylés comme l'apogénine 7-glucoside 64 et la lutéoline 7-glycoside 65.

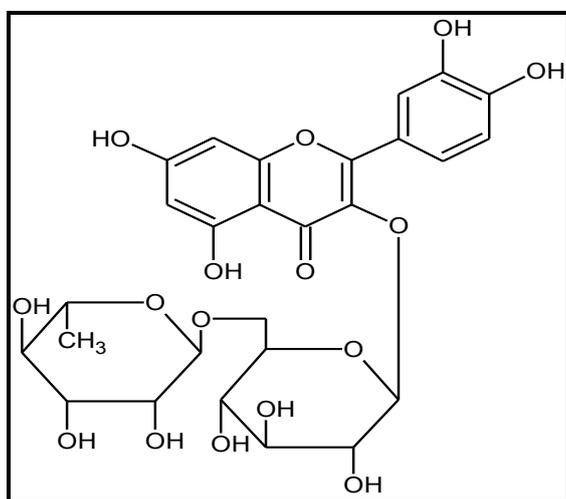


**64**

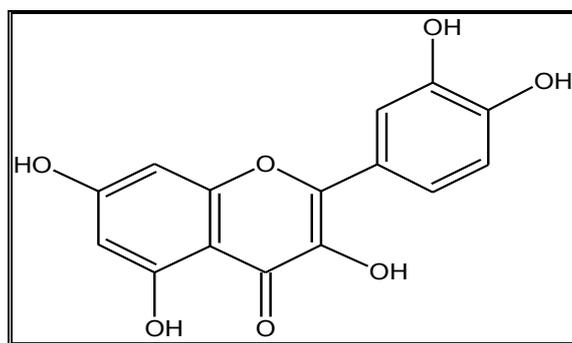


**65**

L'étude chimique des espèces *M.recutita* et *M.chamomilla* a permis également de mettre en évidence des flavonoïdes aglycones. L'analyse spectroscopique a permis d'assigner les structures de ces composés. Il s'agit de la rutine **66** et la quercétine **67**. [85, 113]



**66**

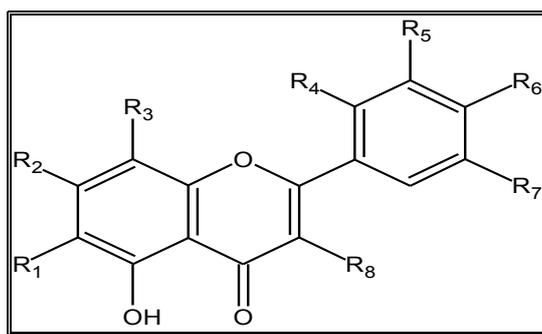


**67**

Tableau I-4 : Les flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*

Espèce	Origine géographique	Flavonoïde	Structure	Référence
<i>M.chamomilla</i>	Allemagne	Apigénine 7-glucoside	64	[82,114]
		Patulitine	68	[82,85]
		Quercémétrine	69	[82]
		Lutéoline 7-glucoside	65	[82]
		4,5'-dihydroxy-3', 3, 6,7-tetramethoxyflavone	70	[114]
		Apigénine	72	[85,115]
		Lutéoline	73	[85,115]
		Quercétine	66	[85]
		Apigénine 7-glycoside 2'',6'' diacétate	74	[85]
	Italie	Apigénine 7-glucoside	64	[116,117, 118]
		Apigénine 7—acétylglucoside	71	[119]
		Apigénine 7-glycoside 2'',6'' diacétate	74	[116,117, 118]
		Apigénine	72	[120]
	Bulgarie	Apigénine	72	[93]
Apigénine 7-glucoside		64		
Apigénine 7-acétylglucoside		71		
France	Apigénine	72	[88]	
République tchèque	Apigénine	72	[121]	
Yougoslavie	Apigénine	72	[122]	
	Apigénine 7-glucoside	64		

		Apigénine 7-acétylglucoside	71	[123]
		Apigénine 7-glucoside	74	
		2'',6''-diacétate		
	Turquie	Apigénine	72	[124]
		Lutéoline	74	
		Apigénine 7-glucoside	64	
		Kaempférol-3-glucoside	75	
		Lutéoline-7-glucoside	65	
	Roumanie	Rutine	66	[125]
		Apigénine	72	
		Apigénine 7-glucoside	64	



Flavonoïde	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>
<b><u>68</u></b>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	OH	OH	H	OH
<b><u>69</u></b>	H	Glc	H	H	H	OH	OH	OH
<b><u>70</u></b>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b><u>71</u></b>	H	2'',6''acétate Glc	H	H	H	OH	H	H
<b><u>72</u></b>	H	OH	H	H	H	OH	H	H
<b><u>73</u></b>	H	OH	H	H	OH	OH	H	H
<b><u>74</u></b>	H	O-(diacétyl)- Glc	H	H	H	OH	H	H
<b><u>75</u></b>	H	OH	H	H	H	OH	H	O-Glc

**b-2- Intérêt pharmacologique des Flavonoïdes isolés du genre *Matricaria* :**

Les flavonoïdes, connus anciennement comme toniques veineux et protecteurs capillaires [132] (action vitaminique P utilisée comme réductrice des hémorragies), sont dotés de propriétés biologiques remarquables qui sont anti-hypertensive [133], anti-allergique, anti-inflammatoire [134,135], anti-hépatotoxique et antivirale [136] etc... Comme beaucoup de compositeae, le genre *Matricaria* renferme des flavonoïdes qui présentent des activités physiologiques résumées dans le tableau (I-5) :

**Tableau I-5 : Relation entre structure et effet pharmacologique des flavonoïdes isolés du genre *Matricaria*.**

Produit	Activité	Référence
Apigénine	Spasmolytique	[137]
	Anti-inflammatoire	
	Inhibe l'infiltration des granulocytes	[138]
	Inhibe la locomotion	[139]
	Anxiolytique	[140]
	Sédative	
Lutéoline 7-glycoside	Spasmolytique	[137]
	Traitement de la pigmentation de la peau	
	Antivirale	[139]
Lutéoline	Spasmolytique	[138]
	Inhibe l'infiltration des granulocytes	[141]
	Anti-inflammatoire	[142]
	Traitement de la pigmentation de la peau	[143]
Patulétine	Spasmolytique	[138]
Quercétine	Spasmolytique	[138]
	Anti-inflammatoire	[142]
Apigénine 7-(6-O-acétyl) Glucoside	Anti-inflammatoire	[138]
Apigénine 7-glucoside	Spasmolytique	[138]
	Anti-inflammatoire	[141]

Apigénine diglycoside	Spasmolytique	[138]
Rutine diglycoside	Spasmolytique	[138]
Rutine	Anti-inflammatoire	[138]

#### d-Les sesquitérènes:

Dernièrement, des travaux ont été menés dans notre laboratoire permet de séparés trois produits dont deux produits ont été séparés pour la première fois du genre *matricaria* et plus particulièrement de l'espèce *matricaria chamomilla* : le 2 $\alpha$ -hydroxyarborescine [148] et le dihydroridentine [149,150], et un produit qui a été séparé et identifié pour la première fois : la matricolone [151]

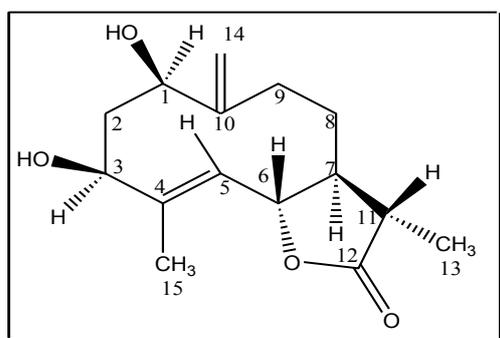


Figure I-8 : Le 5,6-dihydroridentine

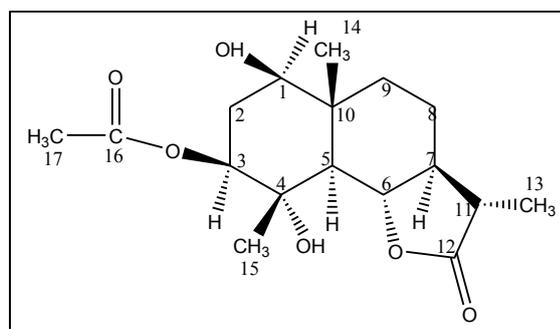


Figure I-9 : La Matricolone

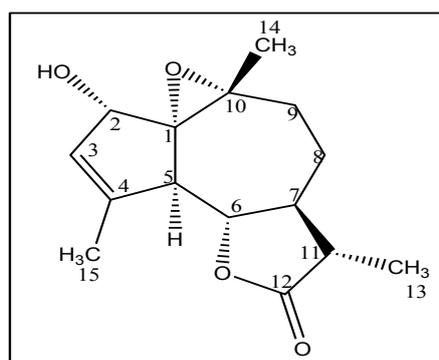


Figure I-10: Le 2 $\alpha$  - hydroxy arborescine

Parmi les sesquiterpènes lactones qui sont isolés, on peut citer ceux qui sont séparés à partir du genre *matricaria* et plus particulièrement de l'espèce *matricaria chamomilla* de type guaïanolides tels :

- ◆La Matricine (figure 8) [152,153]
- ◆La Matricarine (figure 9) [154,155]

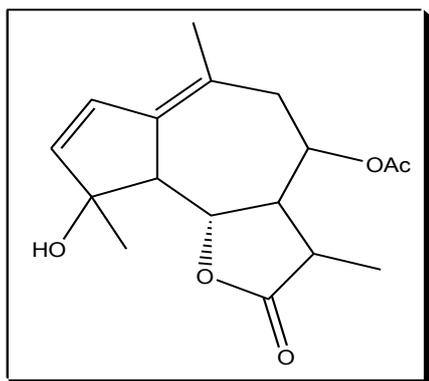


Figure I-11 : Matricine

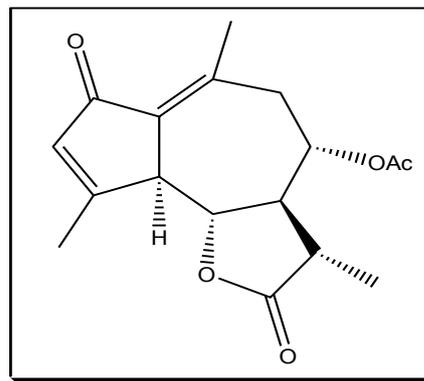


Figure I-12 : Matricarine

On peut citer aussi ceux qui sont séparés pour l'espèce *Matricaria Chamomilla*, la globicine (figure10) [156] et la zubergénine (figure11) [157]. Ainsi pour les sesquiterpènes à chaîne ouverte.

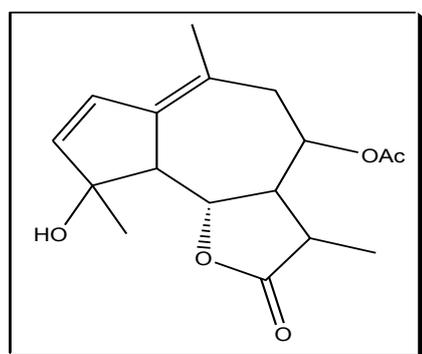


Figure I-13 : La globicine

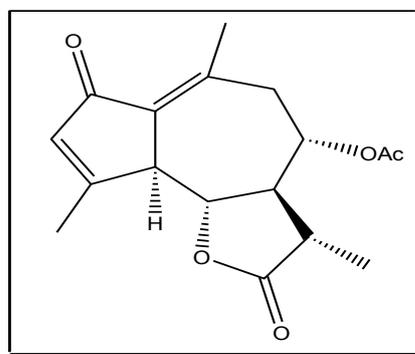


Figure I-14: La zubergénine

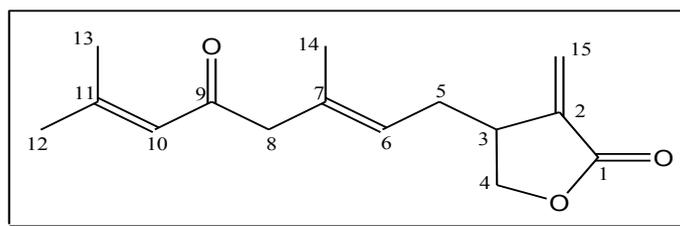


Figure I-15 : Sesquiterpènes à chaîne ouverte

La camomille est connue par sa richesse en produits qui ont des activités biologiques très intéressantes tel que : chamazulène [158-160],  $\alpha$ -bisabolol [161-164], bisabolol oxyde A et bisabolol oxyde B [165- 169], cis-spiroether [170].

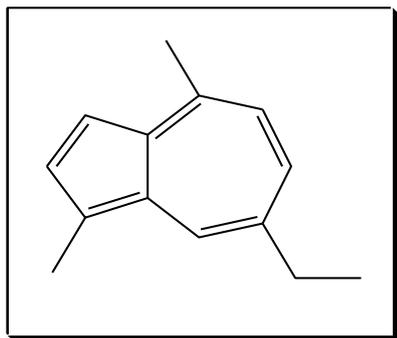


Figure I-16: Chamazulene

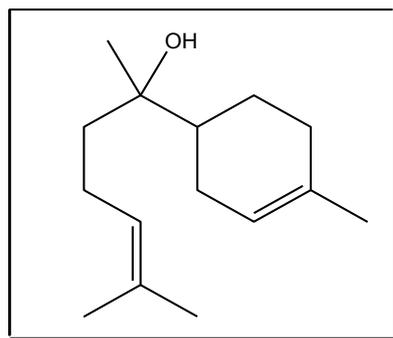


Figure I-17: bisabolol

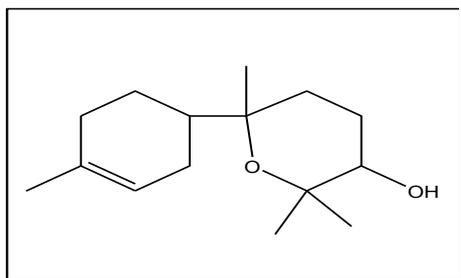


Figure I-18: Bisabolol oxide A

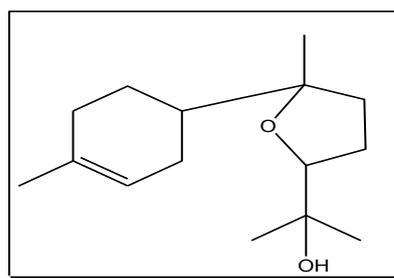


Figure I-19: Bisabolol oxide B

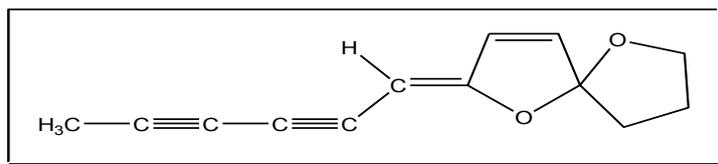


Figure I-20 : Cis-Spiroether

- Des composés divers : des amides, polysaccharides, hydrocarbures, triglycérides et des acides gras [96, 171, 172].

### I-3-2-3-Usage traditionnel de l'espèce *Matricaria chamomilla* dans le monde :

Le tableau suivant montre les différents usages traditionnels de l'espèce étudiée.

**Tableau I-6 : les multiples usages traditionnels de MC de part le monde.**

Espèce	Origine géographique	Partie utilisée	Voie	Usage	Réf
<i>M. chamomilla</i>	Russie	Fleurs	Externe	Contre le vieillissement prématuré de la peau	[174]
	Allemagne	Fleurs	Externe	Spasmolytique	[175]
				Antiviral	[176]
	Hongrie	Fleurs	Orale	Antimicrobien	[177]
				Antifongique	[178]
	Bulgarie	Plante entière	Orale	Intensifier le tonus de l'utérus	[179]
	Italie	Plante entière	Orale	Sédative	[180]
				Spasmolytique	
	République tchèque	Plante entière	Orale Externe	Antispasmodique Anti-inflammatoire Antiseptique	[181]
	Japon	Plante entière	Orale	Antimutagénique	[182]
				Externe	Eclaircissement de la peau
			Externe	Inhibe la production des mélanocytes	[184]
				Inhalation	
			Externe	Hydratant	[185]
	Traitement de l'eczéma Traitement des	[186]			

				dermatites atopiques.	
				Traitement de l'exoroderma sénile	[187]
				Antioxydant	[188]
		Fleurs	Orale	Tonique amer, eureptique Antispasmodique	[188]
			Externe	Anti-inflammatoire	
	Espagne	Pollen	Externe	Conjonctivite Produits cosmétiques Dermatologique	[189]
		Plante entière		Stimule la croissance des cheveux	[190]
	Iraq		Injection	Anti-inflammatoire	[191]
	Yougoslavie	Plante entière	Orale	Ulcère	[192]
	Iran			Antioxydant	[193]
	Pologne	Plante entière	inhalation	Antiallergique	[194]
	France	Plante entière		Antivirale Anti-herpétique	[195]

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Gurib-Fakim A. (2006) Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27, 1-93.
- [2] Grayer R.J., Chase M.W., and Simmonds M.S.J. (1999) A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families: An appreciation of Hegnauer's "Chemotaxonomie der Pflanzen". *Biochemical Systematics and Ecology* 27(4), 369-393.
- [3] Guignard.J.L. 1994, *Abrégé Botanique*, 9ème Ed.204.
- [4] Gausсен.H, Leroy.H.F. 1982, *Précis de Botanique* (végétaux supérieurs), 2ème Ed.426.
- [5] Quezel.F, Santa.S. 1962-1963, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.
- [6] Harborne.J.B, Swain.T. 1969, *Perspectives In Phytochemistry*, Academic Press, London, New York.
- [7] Paris.R.R, Moyse.H. 1971, *Précis de matière Médicale*, Tome III. Paris, 397.
- [8] Paulian.P. 1967, *guide pour l'Etude de quelque plantes Tropicales*, Ed. Gauthier-Villard, Paris.
- [9] J. L. Guignard; L. Cossen; M. llenry, *Abrégé de phytochimie*, 1985, p.121.
- [10] H.Werner, *in The biology and chemi.stry of the Compositae*, 1977, 1, p. 337-357. (Ed. V. H. Heywood; J. B. Harborne; B. L. Turner), Academic Press, London.
- [11] N. H. Fischer; E. J. Olivier; H. D. Fischer.1979, *The biogénese and chemisty of sesquiterpène lactones*.
- [12] F. C. Seaman, *In the botanical Review. Sesquiterpènes lactones as taxonomie characters in Astéraceae*, 1982, 48, p. 121, Botanical Garden, New York.
- [13] R. R. Paris; H. Moyse, *Précis de matière Médicale*, 1971, Tome III, Paris, p.397.
- [14] E. J. Park; J. Kim, *Planta Medica*, 1998, 64, p. 752.
- [15] A. F. Barrero; M. M. Herrador; J. F. Quilez; R. Alvarez-Manzaneda; D. Portal; J. A. Gavin; D. J. Gravalos; M. S. Simmonds; W. M. Balaney, *JAntimicrob Chemother*, 1999, 43, p. 333

- [16] R. V. Burim; R. Canalle; J. L. Lapes; W. Vichnewski; C. S. Takahashi, 2001, *Tetratog Carcinog Mutagen*, 21, p. 383
- [17] M. Maroz; Y. Kashman And J. Neeman. *Planta Medica*, 1999, 53, p. 803.
- [18] V. Vajs; N. Todorovic; M. Ristic; V. Tesevic; B. Todorovic; P. Ianackovic; P. Marin, *Phytochemistry*, 1999, 52, p. 383
- [19] J. Y. Cho; K. U. Baik; J. H. Jung; M. H. Park, *European Journal of Pharmaeology*, 2000, p. 399-407.
- [20] J. Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales*, 1999, p.501, Techniques et documentation, Paris
- [21] A. Karioti, H. Skaltsa; D. Lazari; M. Sokovic; B. Garcia; C. Harvala, *Z Naturforsch [C]*, 2002, 57, p. 75-80
- [22] J. Breinluch, *Pharm. Dg*, 1970, 115, p. 1699-1700 et 1713-1716.
- [23] N. Zaabate, *Thèse Magister*, 2002, Université de Constantine
- [24] W. M. Daniewski; G. Nowak; E. Pankowska; T. Georgialis; E. Routsis; U. Rychlewska and B. Szczepanska, *Phytochemistry*, 1993, 34(02), p. 445-447
- [25] W. M. Daniewski and G. Nowak, *Phytochemistry*, 1993, 32(01), p. 204-205.
- [26] P. J. Tteisseire, *Chimie des substances odorantes*, 1991, Techniques et documentationsLavoisier, p. 219
- [27] N. Mezache, *Thèse de Magister*, 2002, Université de Constantine.
- [28] N. Gtiren; S. Ôksuz and A. Ulubelen, *Phytochemistry*, 1988, 27(07), p. 2346-2347.
- [29] N. A. R. flatan; N. J. Youssif; A. Pozel and K. Seifert, *Phytochemistry*, 1992, 31, p. 2160.
- [30] F. Benayache; S. Benayache; K. Medjroubi, G. Massiot; P. Aclinou; B. Drodz and G. Nowak, *Phytochemistry*, 1992, 31(12), p. 4359-4360.
- [31] W. Kahlek, (1930. Arch. Pharm,34, Belsteins Hanbuchder.), *Organischem chimie*, 1933, 17, p. 499
- [32] S. Oksuz and G. Topçu, *Phytochemistry*, 1992, 31(01), p.195-197
- [33] C. Zdera, F. Bohlmann, R. M. King and I-I. Robinson, *Phytochemistry*, 1989, 28(02), p. 517
- [34] N. Gören; A. Ulubelen; C. Bozak-Johansson and E. Tahtasakal, *phytochemistry*, 1993, 33(05), p. 1157-1159.
- [35] A. G. Gonzalez; J. M. Artega; J. L. Breneton, *Phytochemistry*, 1975, 14, p. 2039.
- [36] M. T. Picher; E. Sevan and A. Tortajada, *Phytochemistry*, 1984, 23, p. 1995.

- [37] J. B. Harbome, *Flavonoïd profils in the Compositae (Biol, Chem, Comp)*, 1977, 1, p. 359384.
- [38] Ilook et Am, *Pantes médicinales et phytothérapie*, 1987, 21(02), p. 168-172
- [39] J. B. Harbome, *The flavonoïds: advances in research since 1980*, p. 285-290. published in 1988 by Chapman and Hall,
- [40] H. Dendougui, *Thèse de Magister*, 1985, Université de Constantine.
- [41] R. Bencheriet, *Thèse de Magister*, 1989, Université de Constantine.
- [42] S. Akkal, *Thèse de Magister*, 1992, Université de Constantine.
- [43] G. Merabet, *Thèse de Magister*, 1994, Université de Constantine.
- [44] A. Benthamen, *Thèse de Magister*, 1997, Université de Constantine.
- [45] S. Akkal, *Thèse de Doctorat*, 2001, Université de Constantine.
- [46] R. Benakcha, *Thèse de Magister*, 2001, Université de Constantine.
- [47] J. S. Mossa; I. Muhammad; F. S. El-Ferraly; C. D. Hufford; D. R. McPhail and A. T. McPhail, *Phytochemistry*, 1992, 31(02), p. 575-578.
- [48] P. Azoulay; J. P. Reynier; G. Bolansard; M. Gasquet and P. Timon-David, *Acta Helv*, 1986, 61(12), p. 345-352.
- [49] F. Bohlmann; H. Grerson; S. Schneeweiss, *New constituents of inula Viscosa Ait*, *Chem Ber*, 1978, **110**, p. 1330-1334.
- [50] J. Pearce; J. Gershenzon and T. J. Mabry, *Phytochemistry*, 1986, 25(01), p.159-165.
- [51] I. Muhammad-, F. S. El-Ferraly; J. S. Mossa and A. F. Ramadan, *Phytochemistry*, 1992, 31(12), p. 4245-4248.
- [52] L. Witte; L. Ernest; V. Wray and I. Hartmann, *Phytochemistry*, 1992, 31(03), p. 1027-1028.
- [53] Z. F. Ahmed; F. M. Hamoud; A. M. Rizk and S. I. Ismaïl, *Planta Medica*, 1970, **18**, p.227.
- [54] M. S. Karawya and Coll, *Egypti pharmacie*, 1975, 16(04), p. 429-444.
- [55] J. L. Lamaison; A. P. Carnot, *Ann. Pharm. Franç*, 1988, 46, p. 139-143.
- [56] G. Willuhn, *Ilerha\_Pol*, 1981, 27, p. 75-89.

- [57] F. Bohlmann; T. Bukhart; C. Zdero, *Naturally occurring Acetylenes*, 1973, p. 452, Academic Press, London.
- [58] F. Bohlmann; H. Hofmann, *Phytochemistry*, 1983, 22, p.1173-1175.
- [59] V. Martinez; O. Barbera; J. Sanchez-Parareda and J. A. Marco, *Phytochemistry*, 1987, 26(09), p. 2619-2624.
- [60] C. Zdero; F. Bohlmann and H. M. Niemeyer, *Phytochemistry*, 1988, 27(09), p. 2953-2959.
- [61] J. A. Marco; J. F. Sanz; F. Sancenon; A. Sussana; A. Rustaiyan and M. Saberi, *Phytochemistry*, 1992, 31(10), p. 3527-3530.
- [62] A. Barden; S. Montanaro; G. A. N. Catalan; J. G. Diaz and M. Herz, *Phytochemistry*, 1993, 34(01), p. 253-259.
- [63] M. T. Pischen; E. Seoane; A. Tortyada, *Phytochemistry*, 1984, 23(09)
- [64] R. E. Negrette; N. Backouse; P. Prieto; H. Majias; B. K. Cassels; R. Hartmann; R. C. Camargo; E. Breitmaier, *Plantes médicinales et phytothérapie*, 1989, 24(04), p.293-304.
- [65] Y. Kimura;1-1. Okuda; T. Okuda et coll, *Chem. Pharm. Bull*, 1985, 33, p. 690-696.
- [66] L. P. Christensen; L. Jorgen, *Phytochemistry*, 1991, 30(10), p. 3289-3292.
- [67] B. Daniel; E. Bombardelli; A. Donati et B. Gabetta, *Phytochemistry*, 1972, 11, p. 35013504.
- [68] V. K. Kaul; S. S. Nigam et K. L. Dhar, *Indian J. Pharm*, 1976, 38, p. 21-22.
- [69] R. V. Haelen-Fastré, *Planta medica*, 1974, 25, p. 47-59.
- [70] K. Endo; H. Taguchi; F. Taguchi et coll, *Chem. Pharm. Bull*, 1979, 27, p. 2954-2958.
- [71] P. Delaveau et coll, *Planta med*, 1980, 38, p. 493-499.
- [72] M. J. A. Gonzalez; E. M. Requena et M. J. M. Calero, *Plantes medicinales et phytothérapie*, 1986, 20, p. 255-263.
- [73] C. K. Wat; R. Bisrnas; E. Graham; L. Bohm et G. H. N. Towers, *Planta medica*, 1978, 33, p. 309-310.
- [74] N. S. Bogdanova, *Farmakol. Toksikol*, 1970, 33, p. 349-355.
- [75] Y. Bouchaud-Maitr; O. Algernon et J. Raynauld, *Pharmacie*, 1988, 43, p. 220.
- [76] L. Bremness, *Les plantes Aromatiques et Médicinales, Le guide visuel de plus de 700 espèces* 1994, p.178-218, édition originale, Londre.

- [77] BRUNETON J., *Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales*. Ed. Tec & Doc, 1999, 631-633.
- [78] Guignard J.L., 1972-1998, *Abrégé de Botanique*, Ed. Masson, Paris Milan Barcelone.
- [79] Guignard J.L., Cossen L., Henry M., 1985, *Abrégé de phytochimie*, Ed Masson, Paris.
- [80] Tosi B., Romagnolic C., Menziani A.E., Bruni A., 1995, *I.J.Pharm.*, 33(2), 144.
- [81] Ahmed A., Misra L.N., 1997, *I.J.Pharm*, 35(2), 121.
- [82] Poethke W., Bulin P., 1969, *Phaim Zentralh*, 108(11), 747.
- [83] Szalontai M., Verzar P.G., Florian E., 1977, *Parfu. Kosm.*, 58(5), 127.
- [84] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., 1981, *Planta med.*, 43(4), 413.
- [85] Kunde R., Isaac O., 1979, *Planta med.*, 37(2), 130.
- [86] De pasquale A., Silvestri R., 1975, *Atti-Conr. Naz. Olu Essenz. Suiderr. Agrum*, 6-7, 136.
- [87] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., 1981, *J. Chromato.*, 209(1), 112.
- [88] Faure-Bwancon M., Roter J., 1983, *Parfums Cosmet Aroms.*, 54, 66.
- [89] Power Frederick B., Browning H.J., 1914, *J. Chem. Soc. Abst.*, 105, 2291.
- [90] Merichi A.H., 1990, *Int. J. Cru. Dr. Res.*, 28(12), 147.
- [91] Prosvski M.A., Oleshko G.I., 1985, *Khim. Prir. Soedin.*, (5), 712.
- [92] Akak E., Roal A., Pehk T., Macrog U., 1988, *Khim. Prir. Soedin.*, (6), 806.
- [106] Rufini L., Sampaolo G., 1977, *Cosmétol. Aerosol.*, 59(32), 64.
- [107] Ficher F.C., Van Doorne H., Lim M.I., Svendsen A.B., 1976, *Phytochemistry.*, 30, 1078.
- [108] Gray A.I., Waterman P.G., 1978, *Phytochemistry.*, 17, 845.
- [109] Hegui E., Sarsunova K., 1986, *Faim. Obz.*, 55(1), 36.
- [110] Mares D., Pomagnoli C., Bruni A., 1993, *Pau. Méd. Phyt.*, 26(2), 100.
- [111] Harborne J.B., 1977, *Biol. Chem. Comp.*, 1, 359.
- [112] Bruneton J., 1993, *Pharmacognosi, Phytochimie des plantes médicinales, Techniques et Documentation*, Lavoisier, Paris 268.
- [113] Paneva P., Ivancheva S., Terzieva L., 1989, *Rasteniievudni Nauki.*, 26(6), 25.
- [114] Haensel R., Rimpler H., Walther K., 1966, *Naturwissenschaften.*, 53(1), 19.
- [115] Merfort I., Heilman J., Hagedom L.U., Lippold B.C., 1994, *Pharmazie.*, 49(7), 511.
- [116] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., 1980, *J. Phytochemistry.*, 19(5), 986.

- [117] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., 1981, *J. Planta. Med.*, 42(3), 292.
- [118] Prilta M.E., Ceva P., 1987, *J. Chromatogr.*, 404(1), 281.
- [119] Menzvani E., Tosi B., Bonova A., Reschiglion P., 1990, *J. Chromatography.*, 511, 401.
- [120] Redaelli C., Formentini L., Santaniello E., 1982, *J. Phytochemistry.*, 21(7), 1830.
- [121] Kolinek J., Kolinkova B., Prokra B., 1986, *Czech* 3pp.
- [122] Pekie B., Lepojevic Z., Slasica B., 1989, *Farmacyn.*, 39(5), 168.
- [123] Pekik B., Zekovic Z., Lepojevic Z., 1994, *Zbor. Mati. Syrs. Prir. Nau.*, 86, 41.
- [124] Merichi A.H., Korkmaz Y., 1992, *Acta Pharm. Tur.*, 34(3), 73.
- [125] Radulescu V., Cluliment S., Badicu N., Popescu L., 2003, *Revi. Chim.*, 54(8), 700.
- [132] Paris M., Harschielle H., 1981, *Abrégé de Matière Médicinale (Pharmacognésie) Tome I*, Ed. Masson, Paris.
- [133] Elbl G., Wagner H., 1991, *Planta med.*, 57, 137.
- [134] Matsuda H., Yano M., Linuma M., Oyama M., Mizuno M., 1991, *Yakugata Zasshi.*, 111, 193.
- [135] Wagner H., Geyer B., Kiso Y., Hikino H., Rao G.S., 1986, *Planta med.*, 370.
- [136] Vlietink A.J., Vanden Berche D.A., 1991, *J. Ethnopharmacology.*, 32, 141.
- [137] Hoerhammer L., 1962, *Congr. Sci. Farm. Conf. Comun.*, 21 st., pix 588.
- [138] Achterrath T.U., Kund R., Flaskamp E., Isaac O., Thiemer K., 1980, *Planta med.*, 39(1), 50.
- [139] Zanolli P., Avallone R., Baraldi M., 2000, *Fitoterapia*, 71(suppl I), 123.
- [140] Avallone R., Zanolli P., Puia G., Kleinschnitz M., Schreiers P., Baraldi M., 2000, *Bio. Pharm.*, 59(11), 1394.
- [141] Della L., Ubaro A., Di P., Zilli C., Del Negro P., 1986, *Progr. Clin. Biol. Res.*, (213), 484.
- [142] Viola H., Marder M., Wolfman C., Wasowski C., Medina J.H., Paladini A.C., 1998, *Ann. Asoc. Qui. Age.*, 86(3-6), 236.
- [143] Cariel R., Jean D., 1986, *Fr. Demande*, 19 PP.
- [148] Bohlmann, F., Hartono, L., Jakupovic, J., Huneck, S., 1985, *phytochemistry*, 24, 1003
- [149] Abuzarrga, M., Qavsmeh, R., Sabri, S., Munsoor, M., Abdalla, S., 1995, *Planta Med*, 61, 242

- [150] Abdel –Mogib, M., Jakupovic, J., Dawidar, E. M., Metwally, M.E., Abou-Elzahab, M., 1989, *phytochemistry*, 28, 3528.
- [151] Zaiter , L., Bouheroum , M., Benayache, S., Benayache, F.; Francisco, L., Ignacio, B., Jose, Q, Francisco, E., Jaime, B., 2007, *Biochemical Systematics and ecology*, 35, 533-538
- [152] Bates, R. B., Procházka, V., Cěkan, Z., (1963), *Tetrahedron Letters*, 4(14), 877-880.
- [153] Ronald Berezney, (1980), *Cell Biology International Reports*, 4(2), 167-173.
- [154] Giovanni, A., Pierluigi G., (1982), *Phytochemistry*, 21(10), 2555-2557
- [155] White, E. H., Eguchi, S., Marx, J. N., (1969), *Tetrahedron*, 25(10), 2099-2115.
- [156] Bohlmann, F., Zdero, C., (1978), *Phytochemistry*, 17(9), 1595-1599.
- [157] Bohlmann, F., Zdero, C., (1977), *Phytochemistry*, 16(1), 136-137.
- [158] Bohlmann, F., Zdero, C., Grenz, M., (1969), *Tetrahedron Letters*, 2417.
- [159] Hidehiko K., Shunsuke, N., Shintaro, T., (1971), *Phytochemistry*, 10 (12), 3305-3306.
- [160] Berhanu A., Paulos, G., Yohannes, (1982), *Phytochemistry*, 21(7), 1791-1793.
- [161] Cheng, Y. S., Von Rudloff, E., (1970), *Phytochemistry*, 9 (12), 2517-2527.
- [162] Kergomard, A., Veschambre, H., (1977), *Tetrahedron*, 33(17), 2215-2224.
- [163] Hedin, P. A., Thompson, A.C., Gueldner, R. C., Minyard, J. P., (1971), *Phytochemistry*, 10(7), 1693-1694.
- [164]Jequier, C., Nicollier, G., Tabacchi, R., Garnero, J., (1980), *Phytochemistry*,19(3), 461-462.
- [165] Horst, B., Günther, I., Rolf, F., Warnstorff, K., (2001), *Postharvest Biology and Technology*, 22(1), 39-51.
- [166] Gomes - Carneiro, M. R., Daniela, M. M., Dias, A. C. A. X. De - Oliveira, Francisco, J. R., (2005), *Paumgarten Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 585 (1-2), 105-112.
- [167] Mitsuo Miyazawa, Hirokazu, N., Hiromu, K., (1995), *Phytochemistry*, 39(5), 1077-1080.
- [168] Horst B., Günther, I., Rolf, F., Warnstorff, K., *Postharvest Biology and Technology*, 22(1), (2001), 39-51.
- [169] Nanci, P. Povh, Marcia, O., Marques, M., Angela, M., Meireles, A., (2001). *The Journal of Supercritical Fluids*, 21(3), 245-256.

- [170] Ganzera, M., Schneider, P., Stuppner, H., *Life Sciences*, 78 (8), (2006), 856-861.
- [171] Kocurik S., Granits L., 1979, *Farm. Obz.*, 48(3), 111.
- [172] Stransky K., Striebl M., Ubik K., Kohoutova J., 1981, *Anstrichum*, 83(9), 347.
- [174] Kabonova E.V., Aleshena Z.P., Boyarskaya M.M., 1967, *Soap Cosmetic Factory Coden* : URXXAF SU 191060 19670114.
- [175] Achterrath T.U., Kunde R., Flaskamp E., Isaac O., Thiemer K., 1980, *Planta med.*, 39(1), 50.
- [176] Szalontai M., Verzar P.G., Florian E., 1977, *Parfum. Kosm.*, 58(5), 127.
- [177] Kuruez I., Horrok L., 1979, *Kert. Egye. Koz.*, 42(2), 299.
- [178] Szalontai M., Verzar P.G., Florian E., 1976, *Acta. Phar. Hung.*, 46(5-6), 247.
- [179] Schipochlico T., 1981, *Veter. Medi. Nauki.*, 18(4), 98.
- [180] Della L.R., Tubaro A., Redaelli C., 1981, *Rivista dineurologia.*, 51(5), 310.
- [181] Snuparek V., Varga I., Fumm R., GattnarO., Oravec V., Minezinger S., 1988, *CZEh.*, 4 PP.
- [182] Ohtsuka A., Nunoshiba T., Nakagawa K., Naminshi R., Saighsa S., Sotani T., Nishioka H., 1986, *Sci. Eng.*, 26(4), 266.
- [183] Msuda M., Suzuki J., Shibuya J., 1997, *Jpn. Kokai. Tokkyo Koho.*, 6pp.
- [184] Hachiya A., Kobayashi A., Oluchi A., 2000, *Free Radical Research.*, 28(9) ,71.
- [185] Ohtsuka A., Nunoshida T., Nakayama K., Naminchi R., Saigusa S., Soltani T., Nishioka H., 1986, *Sci. Eng. Rev.*, 26(4), 266.
- [186] Okabe J., Takei M., 1995, *Jpn. Kok. Tokk. Koh.*, 4pp.
- [187] Inor T., Nunokawa S., 1993, *Jpn. Kok. Tokk. Koh.*, 5pp.
- [188] Matsingou T.C., Kapsokefalou M., Salifoglou A., 2001, *Free. Rad. Res.*, 35(5), 605.
- [189] Subiza J.L., Alonso M., Minojosa M., Gareia R., Jertz M., Subiza E., 1990, *Ann. Allerg.*, 65(2), 132.
- [190] Tanigaki N.H., Kobayashi T., 1992, *Jpn. Kok. Tokk. Koh.*, 5pp.
- [191] AL-Hindawi M.K., AL-Deen I.H. Nabi M.H., Ismail M. A., 1989, *J. Ethnopharmacology.*, 26(2), 168.
- [192] Savink K., 1985, *Arch. Farm.*, 35(6), 292.
- [193] Asgary S., Naderi G.A., Bashardoost N., Etminan Z.Z., 2002, *Fasl. Grya. Daru.*, 1(1), 79.

[194] Orkiszewska A., Lobarzewski R., Jerdrejska M., 1985, *Wars. Zakl. Ziela.*  
« Herbapol », 3pp.

[195] Suganda A.G., Amoros M., Girre L., Fauconnier B., 1983, *J. Nat. Prod.*, 46(5),  
632.



# CHAPITRE II

**II-1-Introduction :**

Les plantes synthétisent les éléments du sol et de l'atmosphère qu'elles absorbent par les racines et par les feuilles, l'eau, l'acide carbonique et les matières minérales et inorganiques.

Le processus de base est l'assimilation photosynthétique du gaz carbonique appelé *photosynthèse*. Les premiers produits de la photosynthèse sont des substances à basse molécularité appelés *métabolites primaires* : les saccharides (sucres), puis les acides gras, les acides aminés. En suite sont produits les *métabolites spécialisés* ou *secondaires*. Certaines possèdent des vertus thérapeutiques.

Parmi les métabolites spécialisés, les principaux sont **les flavonoïdes**, qui renforcent les parois des capillaires sanguins, **les corps terpéniques** (le terpène se trouve dans le menthol, le camphre etc....) eux même forment la base des stéroïdes qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines. **Les principes amers** permettant la digestion des matières grasses, les saponines (sapo=savon) sont employés comme expectorants et diurétiques ; **les alcaloïdes** à effets thérapeutiques nombreux peuvent être aussi des poisons mortels ; on pourrait prolonger l'énumération : d'autres métabolites spécialisés agissent contre les allergies, l'hypertension, les maladies infectieuses et forment même la base de produits anticonceptionnels.

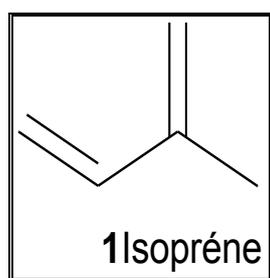
Dans le cadre de ce travail nous nous sommes intéressés au genre *Matricaria* de la famille des composées dont le métabolisme secondaire est réputé dans l'accumulation des terpénoïdes en particulier des **lactones sesquiterpéniques [1-5]** et des composés phénoliques de type **flavonoïdes [6-9]**. Ces deux classes de substances naturelles sont reconnues dans diverses activités biologiques. Cette étude concerne l'extraction, l'isolement, la purification et la détermination structurale de la composante de la phase acétate d'éthyle de l'extrait hydroalcolique de *Matricaria Chamomilla*.

## II-2-Les terpénoïdes :

Les terpènes sont des constituants habituels des cellules végétales, Ils peuvent s'impliquer dans les fonctions métaboliques essentielles.

Ils constituent entre autre le principe odoriférant des végétaux, cette odeur est due à la libération de molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbone. Extraites du végétal, ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande).

Un grand nombre d'entre eux possède des propriétés antiseptiques [10], d'où divers emplois dont l'embaumement qui est resté dans le terme balsamique donné aux plantes et aux huiles qui en sont tirées. Les terpènes sont biosynthétisés à la suite du couplage d'au moins 2 entités à 5 atomes de carbone dont la structure est celle de l'isoprène ou 2-méthylbuta-1,3-diène 1.



**Figure II-1 : L'isoprène**

Selon le nombre d'entités isopréniques les terpènes sont classés en :

- ✓ Monoterpène à 10 atomes de carbone.
- ✓ Sesquiterpène à 15 atomes de carbone.
- ✓ Diterpène à 20 atomes de carbone.
- ✓ Tri, tétra à 30, 40 atomes de carbone etc.

La nature du squelette d'un terpénoïde détermine son appartenance aux organes de la plante. La figure 2 montre les relations squelette terpénique-accumulation dans les différents organes de la plante.

Isoprène = terpène

n=1	C5	Hemitèrpène :	Isoprène
n=2	C10	Monotèrpène :	Herbes, épices
n=3	C15	Sesquitérpène :	La chaîne de la chlorophylle, vitamine E
n=4	C20	Ditérpène	Les huiles essentielles
n=6	C30	Tritèrpène	Phytostérols
n=8	C40	Tétratérpène	Caroténoïdes
n>8	>40	Polytérpène	Protéines, cytoquinines

**Figure II-2 : Relations squelette terpénique-accumulation dans les différents organes de la plante.**

Bien que les terpènes au sens strict ne soient que des hydrocarbures, de nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques. Il n'y a pas de fonctions chimiques propres aux terpènes, seules leur structure et leur biosynthèse en font une catégorie, aussi se contente-t-on ici d'en citer quelques exemples et certaines de leur propriétés.

### II-2-1-Monoterpènes :

Ce sont des molécules légères, très peu fonctionnalisées, très odorantes, la plupart ont des activités biologiques reconnues et sont caractéristiques des plantes d'où elles sont originaires si bien que leur odeurs se confondent et leurs noms évocateurs. A cet effet, quelques exemples **2** à **11** sont reportés dans la figure 3.

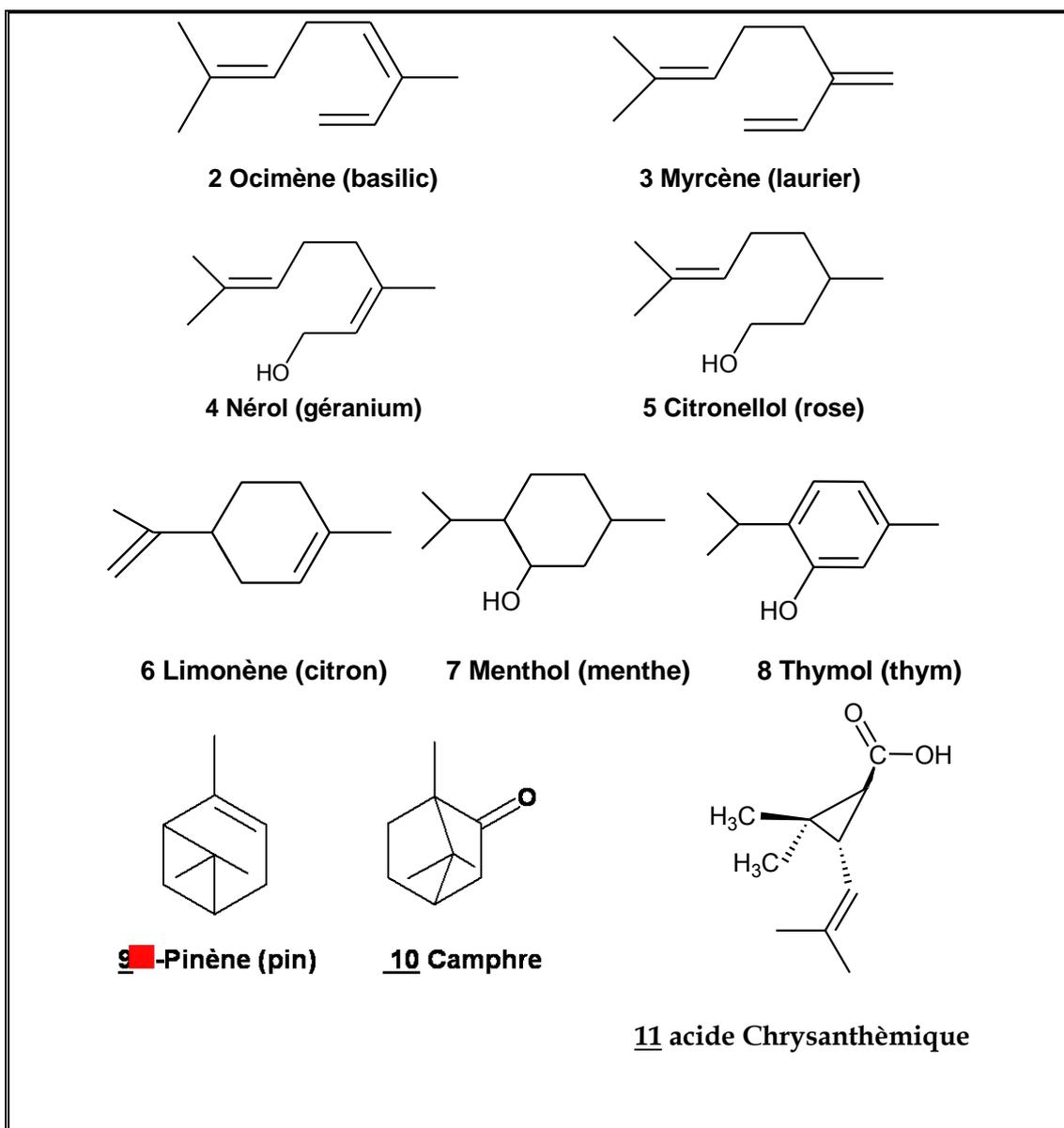
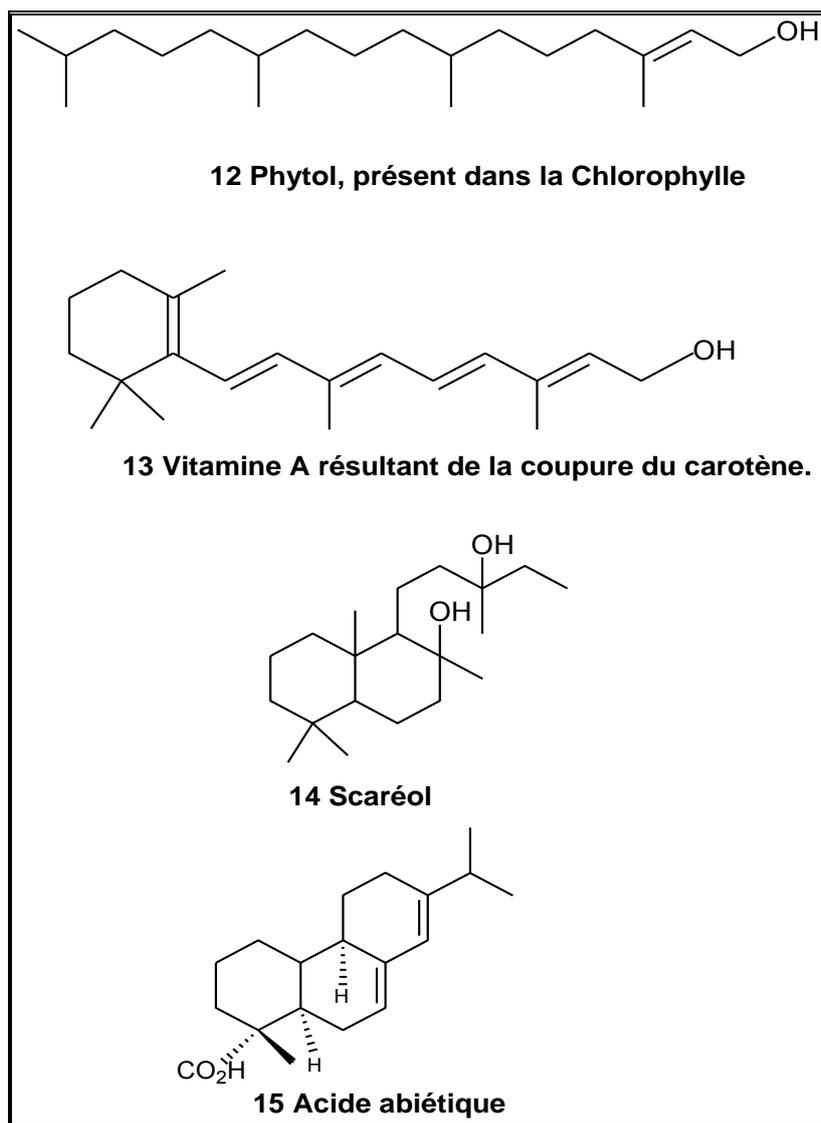


Figure II-3: Structure de quelques monoterpènes et leur source

### II-2-2-Diterpènes :

Ayant un squelette principal formé de vingt atomes de carbone, ils dérivent tous du géranylgeraniol. Ils peuvent être acycliques comme le phytol **12**, cependant après divers réarrangements, ils peuvent être monocycliques comme la vitamine A **13**, bicycliques comme le sclaréol **14**, tricycliques comme l'acide abiétique **15**. La figure 4 rassemble les diterpènes cités.



**Figure II-4: Structure de quelques diterpènes et leurs noms**

Ces composés, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résines, ils sont particulièrement abondants chez les Lamiaceae et les Asteraceae. Les plus intéressants sur le plan pharmacologique sont les diterpènes tricycliques à noyau taxane tel que le taxol et le taxotère qui sont utilisés dans le traitement des tumeurs de l'ovaire, du poumon et du sein.

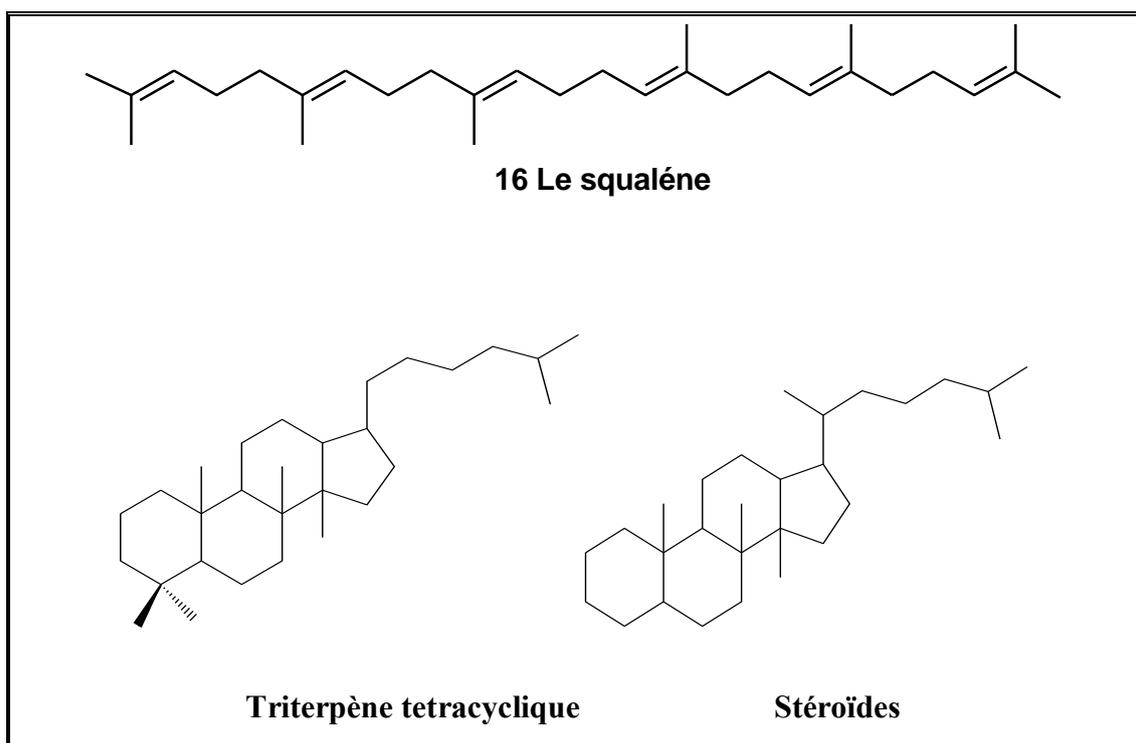
Ils sont surtout répandus chez les végétaux supérieurs et classés en fonction de leur diversité structurale. [11]

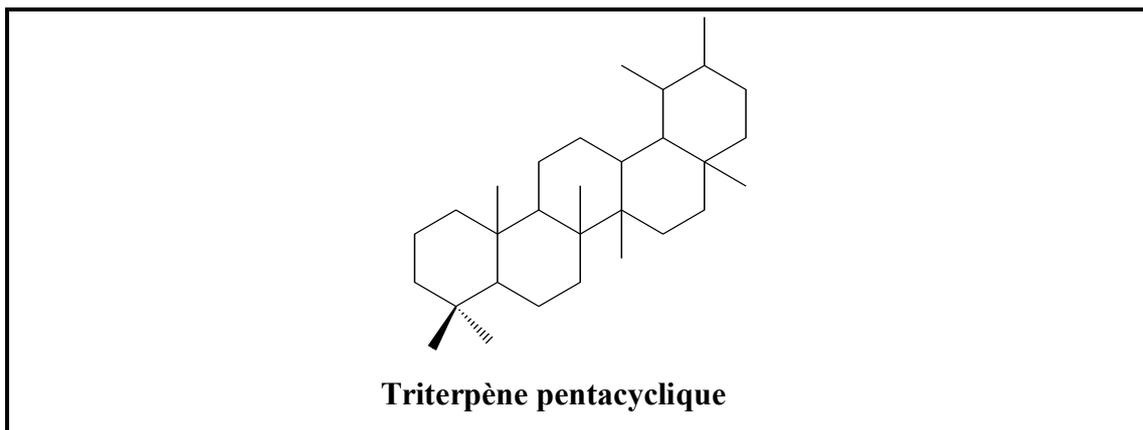
### I-2-3- Les triterpènes et stéroïdes :

Les triterpènes sont des composés en  $C_{30}$ , ils sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifié, ou sous forme hétérosidique. Ils peuvent être (figure II-5):

- Composés aliphatiques : tel que Le squalène **16**, surtout rencontré dans le règne animal, se trouve également dans l'insaponifiable d'huiles végétales (Olive, Lin, Arachide). C'est un intermédiaire dans la biogenèse des triterpènes cycliques et des stéroïdes.
- Composés tétracycliques tel que les stéroïdes et les phytostérols.
- Composés pentacycliques sont très fréquents chez les plantes tel que  $\alpha$ -amyrine et  $\beta$ -Amyrine

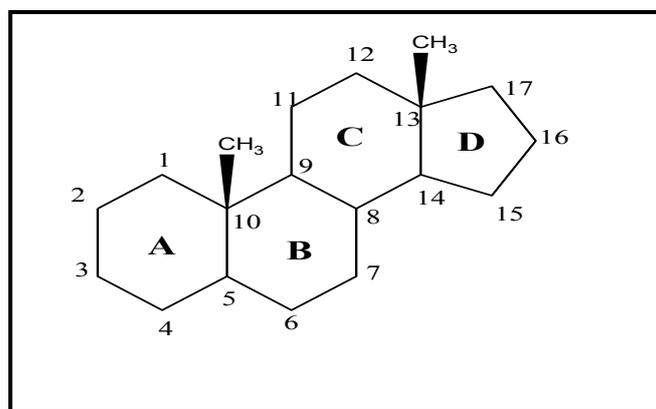
Ils sont issus de la cyclisation de l'époxy-squalène ou du squalène. Les stéroïdes peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles.





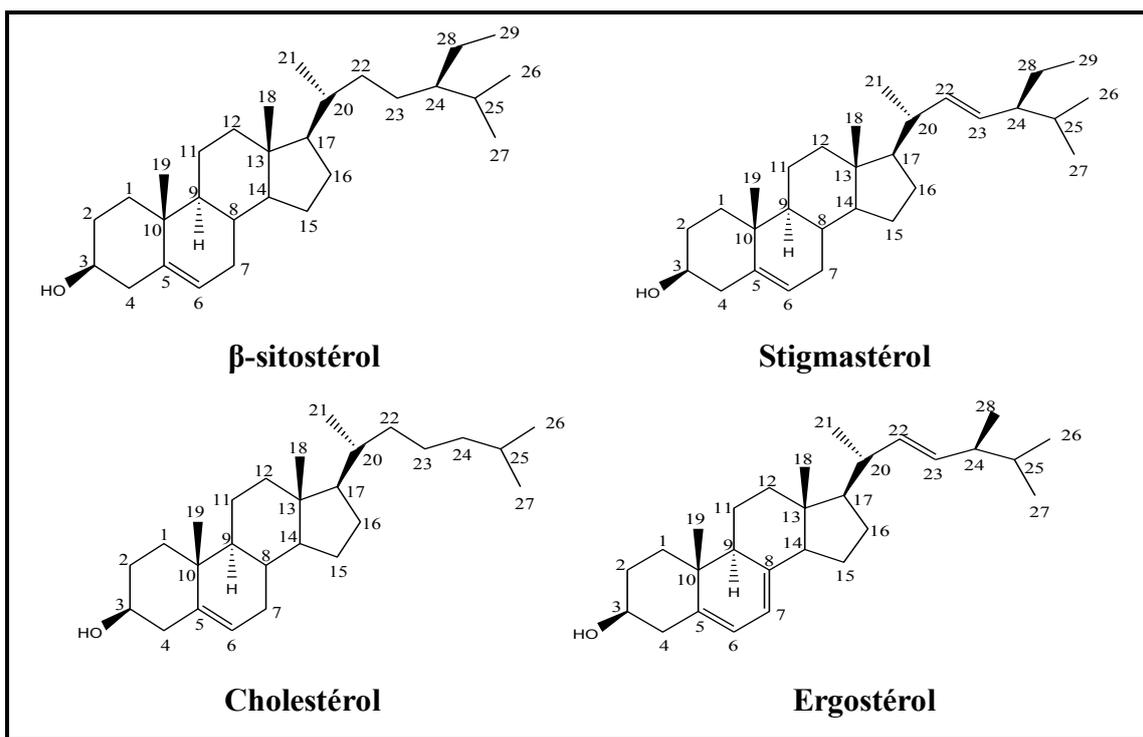
**Figure II-5: Squelettes de base des triterpènes**

Abondant dans les végétaux et les animaux, les stéroïdes ont en commun une structure chimique comportant un squelette de base perhydrocyclopentanophenanthrène.



**Figure II-6: Noyau perhydrocyclopentanophenanthrène**

Parmi ces composés, les stérols très largement répandus dans le monde vivant, se rencontrent aussi bien chez les bactéries, les champignons, les plantes supérieures, les protozoaires, les métazoaires (spongiaires, madrépores, vers, mollusques...) que chez les algues.



**Figure II-7 : Exemple de stérols rencontrés chez le règne végétal et animal**

Du point de vue structural, les stérols se caractérisent en général par la présence en position 3  $\beta$  du squelette, d'un hydroxyle libre, étherifié (glycosides) ou estérifié (stérides : sans intérêt pharmacologique connu), de deux méthyles en position 10  $\beta$ , 13  $\beta$  et d'une chaîne carbonée en 17  $\beta$ . [11]

Parmi ces stérols, le plus important du point de vue activité biologique, est le  $\beta$ -sitostérol présent dans toutes les plantes y compris les fruits et les légumes. On les retrouve également dans des aliments comme les germes de blé ou de soja, les huiles végétales comestibles telles que l'huile de graines de tournesol ou de maïs. Des études faites sur des animaux ont montré que le bêta sitostérol, comme son glucoside, possèdent des propriétés anti-inflammatoire, antipyrétique, antinéoplasique et immuno-modulatrice [12], il a des effets antitumoraux, observés sur les cellules de cancer humain de la prostate [13]. L'administration des stérols et stanols végétaux, par voie orale ou parentérale, entraîne une diminution des concentrations plasmatiques de cholestérol total (réduit les niveaux sanguins de cholestérol) cela est du à son étroite ressemblance chimique avec le cholestérol qui lui permet d'être incorporé dans les membranes cellulaires et de bloquer l'absorption du cholestérol par inhibition compétitive [14,15]. D'autres études ont rapporté des effets

bénéfiques du  $\beta$ -sitostérol *in vitro* sur des cellules de cancer du côlon ou du sein. [16-18]

#### II-2-4-Tétraterpènes :

Des molécules de 40 atomes de carbone, la molécule la plus réputée est le  $\beta$ -Carotène **18**. Il possède 11 doubles liaisons conjuguées, d'où sa couleur, qu'il donne aux carottes. Il joue un rôle essentiel dans la croissance et la vision, son oxydation provoque la coupure de la double liaison centrale et la formation de deux molécules d'un aldéhyde le Rétinal dont la réduction donne la vitamine A.

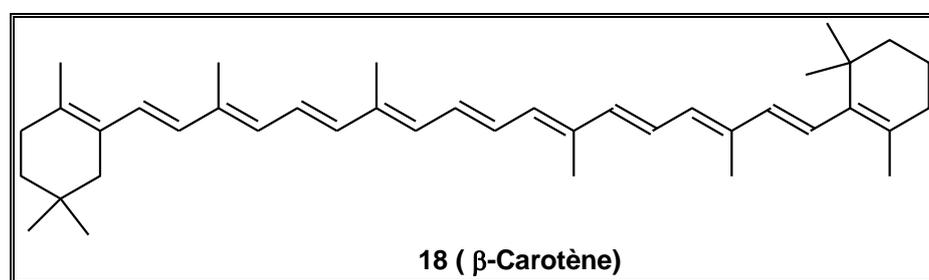


Figure II-8:  $\beta$ -Carotène

Parmi les autres molécules le lycopène **19** que l'on trouve dans la tomate mure (0,02 g/kg), il est entièrement acyclique.

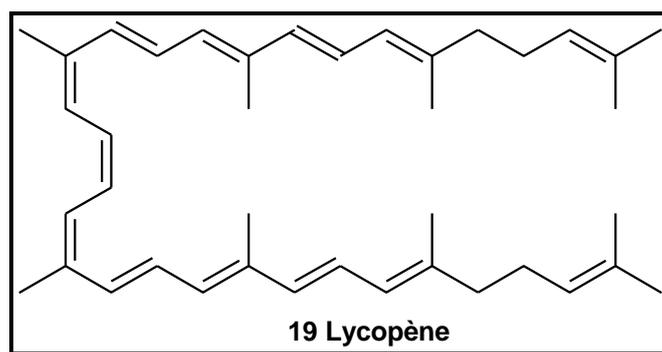


Figure II-9 : Lycopène

#### II-2-5-Sesquiterpènes :

Les sesquiterpènes sont formés de quinze atomes de carbone, on les trouve aussi bien sous forme d'hydrocarbures comme le  $\beta$ -Cadinène **20** issu du cade que sous forme fonctionnalisée notamment oxygénée. Ils sont issus du pyrophosphate de farnésyle lui-même produit par un couplage **tête-queue** entre le GPP et l'IPP. Ils

peuvent être acycliques, mono ou bicycliques. Par cyclisation du FPP on obtient un cation germacradiényle qui mène, via le germacranolide, aux lactones sesquiterpéniques.

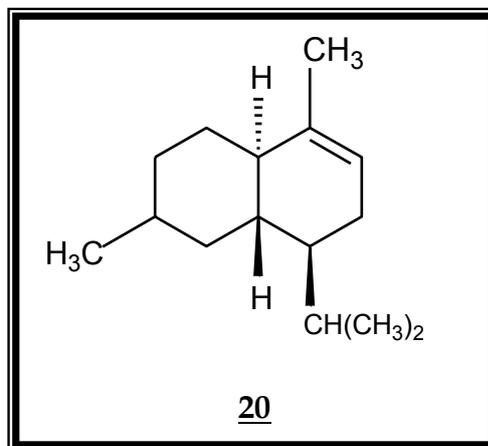


Figure II-10:  $\beta$ -Cadinène

#### II-2-6-Les lactones sesquiterpéniques :

Les terpènes de type sesquiterpènes et lactones sesquiterpéniques sont très connus pour leurs activités biologiques, ces dernières étaient appelées *principes amers*. Elles ne sont pas volatiles et leur structure casse à des températures élevées. On dénombre plus de 3000 structures différentes, et on les trouve principalement chez les **Asteraceae** au niveau des poils sécréteurs pluricellulaires des feuilles, bractées et inflorescences. [19]

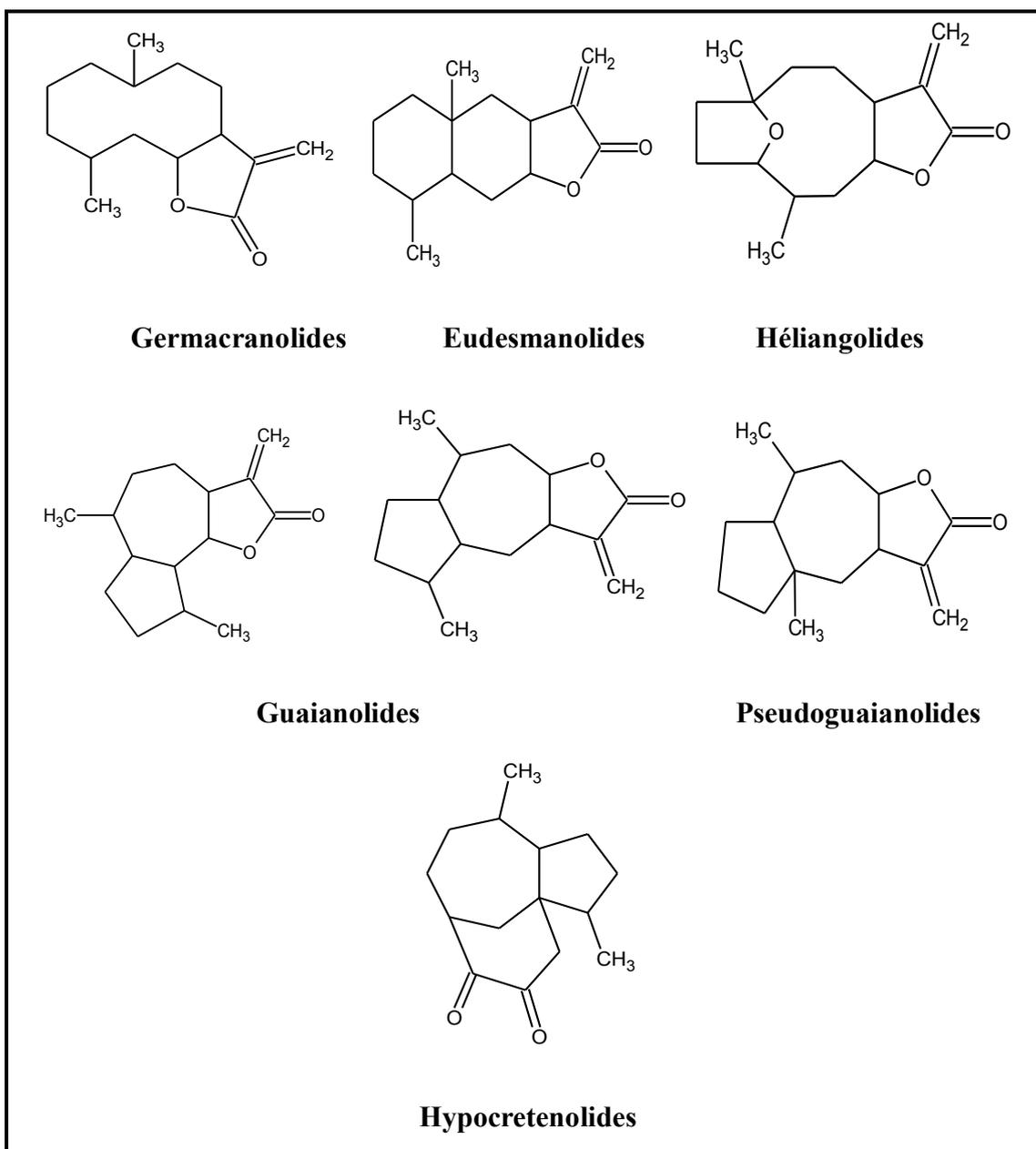


Figure II-11: structure de quelques lactones sésquitérpeniques

**II-2-7-Activités biologiques des lactones sesquiterpéniques :**

Les lactones sesquiterpéniques, molécules naturelles également appelées substances amères sont très intéressantes dans le domaine biologique et pharmacologique. Ces substances présentent des propriétés cytotoxique ou antitumorale [20-24], anti-inflammatoire [25-27], antimigraineuse [28], antioxydante [29], antifongique [30-32], cytoprotectrice gastrique. [33]

Le tableau II-1 : Les activités biologiques relatives à quelques lactones sesquiterpéniques :

Lactones Sesquiterpéniques	Activités biologiques	Réf
2 $\alpha$ -hydroxyalantolactone	Antileucémique	[34]
Eupaserrine, deacetylepaserrine	Antileucémique	[35]
Salograviolide	Antifongique	[4]
Cumambrine A	Antimicrobienne	[36]
Onopordopicrine	Cytotoxique, antifongique, antibactérienne	[37]
Centratherine	Anti-inflammatoire, antimicrobienne, tripanocidale	[38]
Grosheimine	Cytostatique sur cellules KB	[39]
Cnicine	Cytotoxique	[40]
Parthenine	Genotoxicité	[41]

**Tableau II-1 : Les activités biologiques relatives à quelques lactones sesquiterpéniques.**

L'activité des lactones sesquiterpéniques est liée à la présence de groupement  $\alpha$ -méthylène- $\gamma$ -lactone [42], cette fonction est responsable des activités antibactériennes, cytotoxique et anti-inflammatoire.

Les germacranolides par une addition de Michaël donnent des composés S-alkylés, ceux-ci s'additionnent sur les fonctions glutathion, thiol et amine (nucléophiles biologiques). Cette interaction va à l'encontre de diverses enzymes et provoque leur alkylation irréversible. On retrouve ces activités dans des anti-inflammatoires de synthèse.

Il y a aussi inhibition de messagers intracellulaires. Ceux-ci ordinairement se dissocient lors de l'activation par un radical libre et un des fragments est transporté jusqu'au noyau où il réagit avec l'ADN pour engendrer un stress inflammatoire. Cette inhibition explique à nouveau l'activité anti-inflammatoire.

L'activité anti-ulcère est aussi expliquée par l'addition de Michaël : il y a interaction avec des enzymes de la muqueuse gastrique. Pour terminer on explique l'activité antibactérienne par un blocage cette fois-ci réversible de diverses enzymes au niveau de leurs fonctions thiols ou amines. [19]

Malgré l'importance des lactones sesquiterpéniques ces substances peuvent aussi être allergisantes et neurotoxique, car des allergies peuvent apparaître lors d'un contact direct ou indirect avec la plante. Des études ont montré que leur présence dans des plantes est responsable d'empoisonnement de mammifères.

### **II-3-Les composés phénoliques :**

#### **II-3-1-Introduction :**

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique au quel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, ou hétéroside. [43]

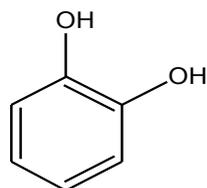
Parmi les composés phénoliques, dont plus de 8000 sont connus : les flavonoïdes, les quinones phénoliques, les lignanes, les xanthanes, les coumarines et d'autres classes existent en nombres considérables. [44]

#### **II-3-2-Classification :**

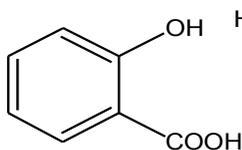
Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Les différentes classes principales de ces composés phénoliques isolés des plantes sont illustrées dans le tableau suivant :

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple
6	C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol <b>21</b>
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénoliques	Acide salicylique <b>22</b>
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acétophénones	3-Acetyl-6-méthoxybenzaldéhyde <b>23</b>
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	-Acide hydroxycinnamique -Phénylpropène -Coumarines -Isocoumarines -Chromones	-Acide caféique <b>24</b> -Eugénol <b>25</b> -Ombélliférone <b>26</b> -6-7-diméthoxy 8-hydroxy-3-methyl isocoumarine <b>27</b> -Eugénine <b>28</b>
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone <b>29</b>
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	1, 2, 3,7-tetramethoxy xonthane <b>30</b>
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	-Stilbénes -Anthraquinones	-Acide hunularique <b>31</b> -Emodine <b>32</b>
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	-Flavonoides -Isoflavonoides	Quercetine <b>33</b> Genisteine <b>34</b>
18	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Podophyllotoxyne <b>35</b>
30	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes	Kayaflavone <b>36</b>
n	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub> (C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub> (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	-Lignines -Catéchol mélanines -Flavolanes (Tannins condensés)	- - -

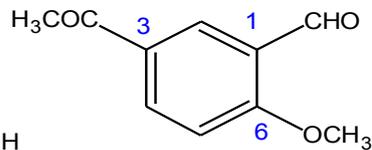
Tableau II-2 : Les principales classes des composés phénoliques.



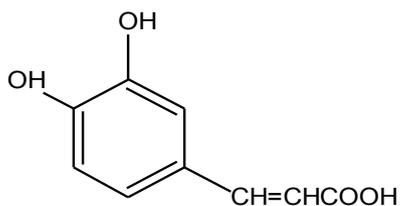
**21**



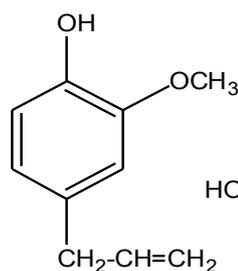
**22**



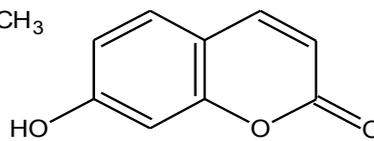
**23**



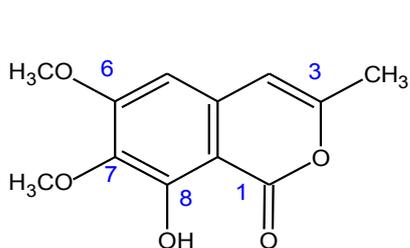
**24**



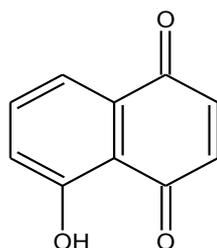
**25**



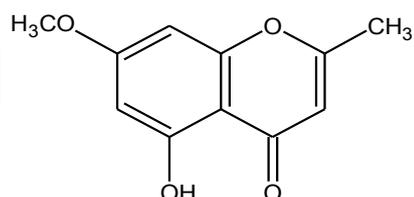
**26**



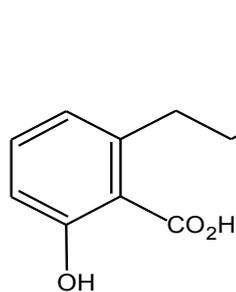
**27**



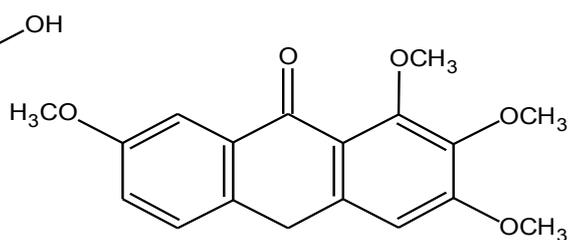
**29**



**28**



**31**



**30**

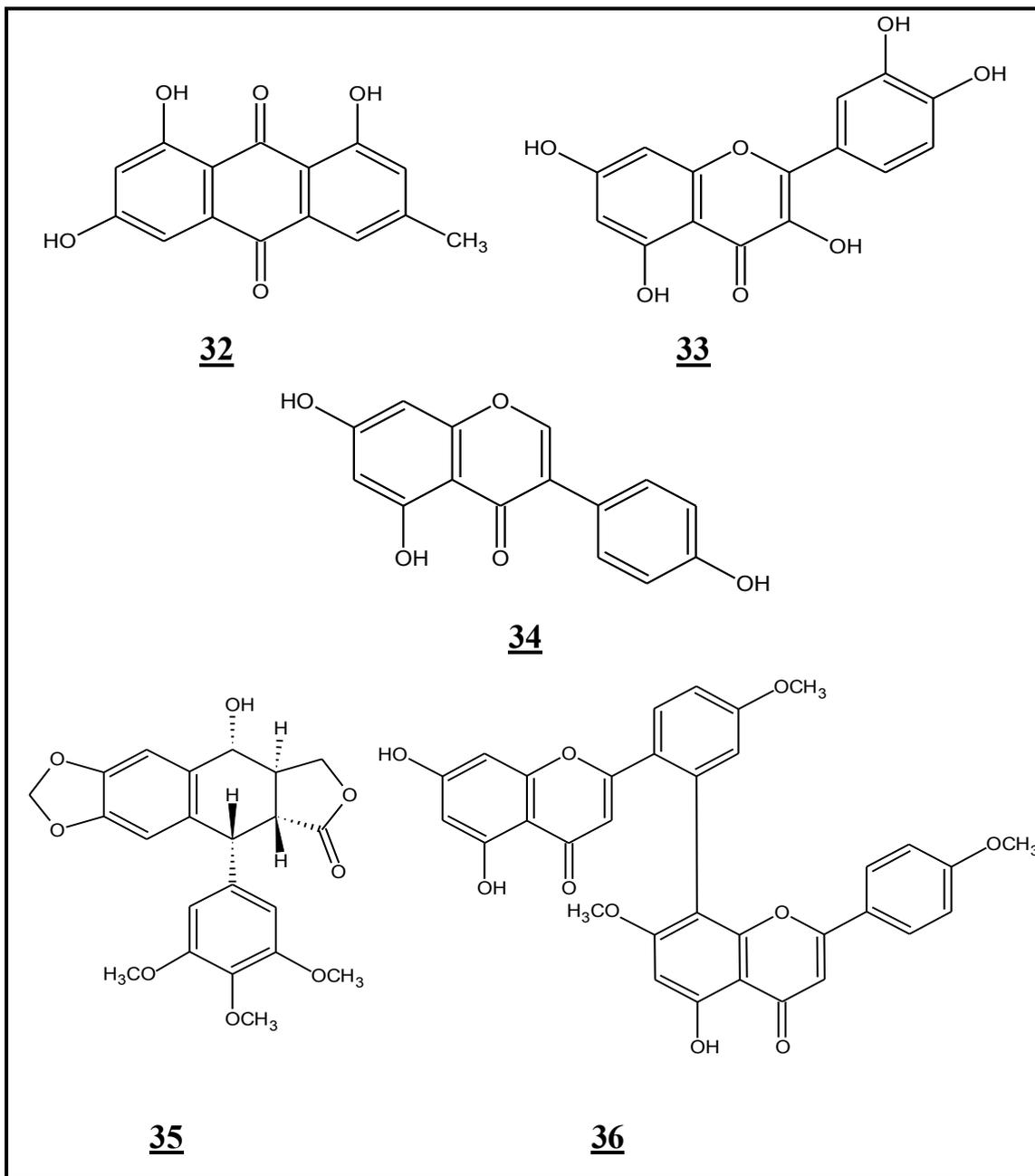


Figure II-12: Structures chimiques de quelques composés phénoliques.

### II-3-3-Les coumarines :

#### II-3-3-1-Définition :

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la *fève tonka*, d'où fut isolée pour la première fois en 1820 la coumarine 67 [43]. Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, que l'on peut considérer en première approximation, comme étant des lactones des acides 2-hydroxy-Z-Cinnamiques.

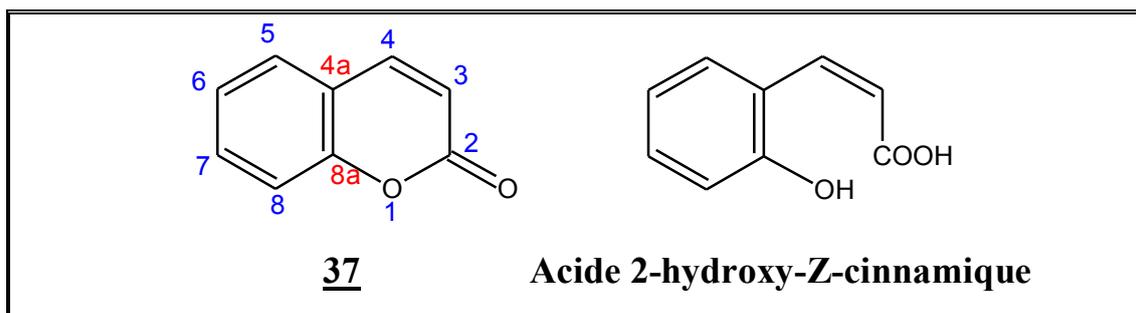


Figure II-13 : squelette de base des coumarines

Les coumarines constituent une classe importante des produits naturels. La structure de la coumarine se trouve dans environ 150 espèces, appartenant à 30 familles de plants différents. Elle donne une odeur caractéristique semblable à celle du fion fraîchement fauché. [45,46]

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi suivant l'espèce. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présentés sous forme glycosylés. Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines. [47]

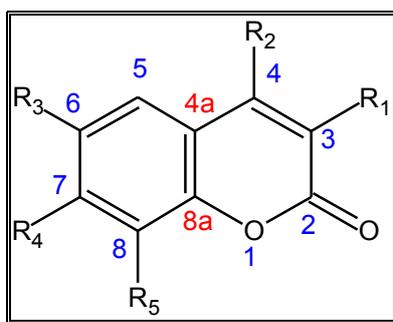
Elles sont considérées comme des phytoalexines. Ces phytoalexines sont synthétisées au niveau des sites d'infection. Leur activité antimicrobienne est démontrée in vitro. [47]

En général, les coumarines sont répandues dans tout le règne végétal. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiacées, Astéracées et Thyméléacées. Elles se trouvent dans toutes les parties des plantes et également dans les fruits. [48]

**II-3-3-2-Structure chimique et classification :**

La coumarine est le point de départ d'une famille de composés, qui se forment par une substitution sur un cycle aromatique [49]. De ce fait et d'après la nature des substitutions [48] on peut classer les coumarines en cinq catégories :

**a-Coumarines simples : [50]**



N°	R1	R2	R3	R4	R5	Coumarine
38	H	H	H	H	H	Coumarine
39	OH	H	H	H	H	3-hydroxy coumarine
40	H	OH	H	H	H	4-hydroxycoumarine
41	H	H	H	OH	H	Ombelliférone
42	H	OCH3	H	H	H	4-méthoxy coumarine
43	H	H	H	OCH3	H	Herniarine
44	H	CH3	H	OH	H	7-hydroxy-4-méthoxy coumarine
45	H	H	CH3	OH	H	Scopolétine
46	H	H	OCH3	OCH3	H	Scoparone
47	H	CH3	H	OCOCH3	H	7-acétoxy-4-méthylcoumarine
48	H	H	OCH3	OCH3	OH	Fraxidine

**b-Coumarines phényles :**

Ce sont des coumarines portant une unité isoprène, comme la rutacultine 49, l'osthol 50 et la subérosine 51. [48]

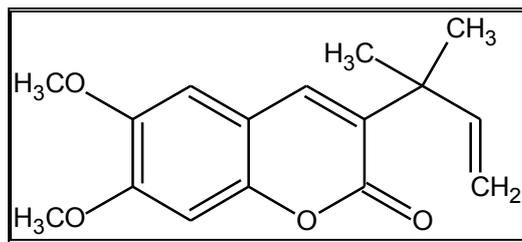
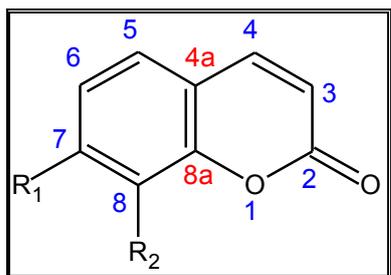


Figure II-14 : la rutacultine 49

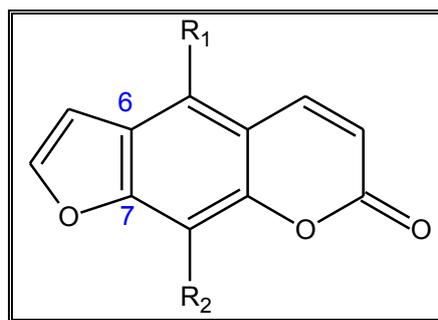


	<u>50</u>	<u>51</u>
<b>R1</b>	OCH3	-CH2-CH=C
<b>R2</b>	-CH2-CH=C	OCH3

**c-Furanocoumarines :**

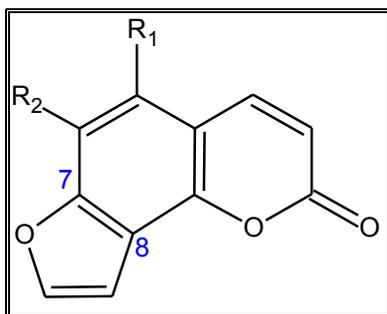
Les furanocoumarines sont les dérivés de l'ombelliférone 41 [51]. On peut distinguer deux types de composés furanocoumarines : furanocoumarines linéaires et furanocoumarines angulaires.

❖ **Furanocoumarine linéaires (6-7-furanocoumarine)**



N°	R1	R2	Furanocoumarine
<b>52</b>	OCH3	H	Bergaptène
<b>53</b>	H	OCH2-CH=C(CH3)2	Impératorine

❖ Furanocoumarines angulaires (7-8-furanocoumarines)



N°	R1	R2	Furanocoumarine
54	H	H	Angélicine
55	OCH3	OCH3	Pimpinéline

d-Pyranocoumarines :

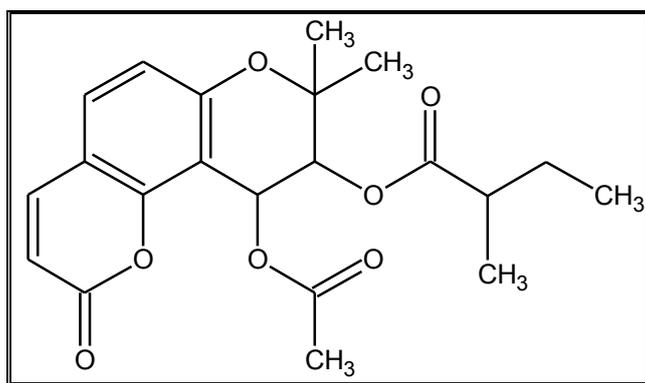


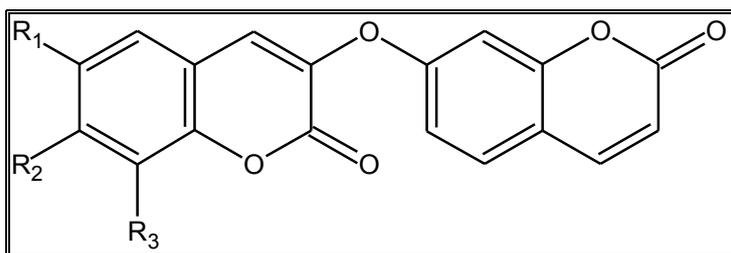
Figure II-15 : La visnadine 56

Les coumarines peuvent également exister à l'état dimérique ou trimérique. [51]

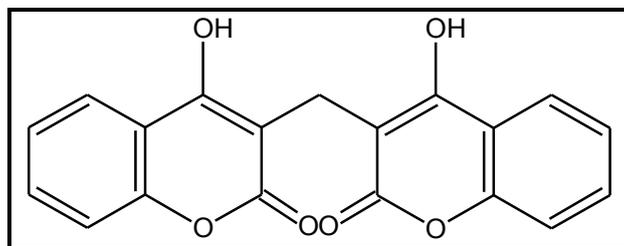
e-dicoumarines (coumarines dimériques)

Ce sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples.

[52]

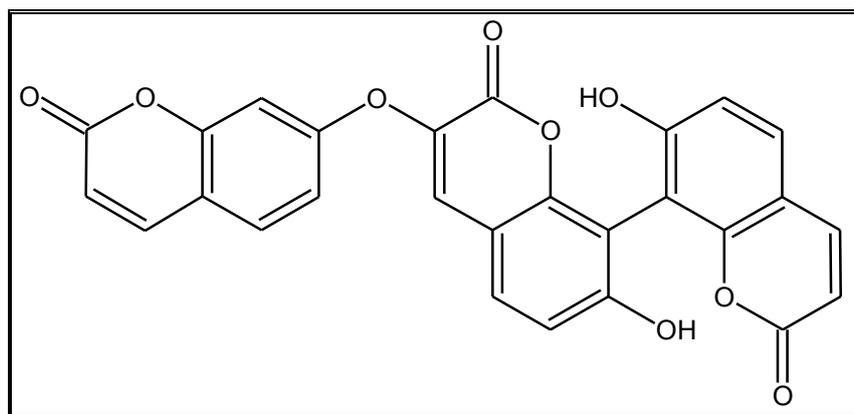


N°	R1	R2	R3	Nom
57	OCH3	OH	H	Daphnorétine
58	OH	OH	H	Edgeworthine

Figure II-16 : Dicoumarol 59

### f-Tricoumarine (coumarines trimériques)

Ce sont des coumarines issues de l'union de trois entités coumariniques. [52]

Figure II-17 : Triumbellatine 60

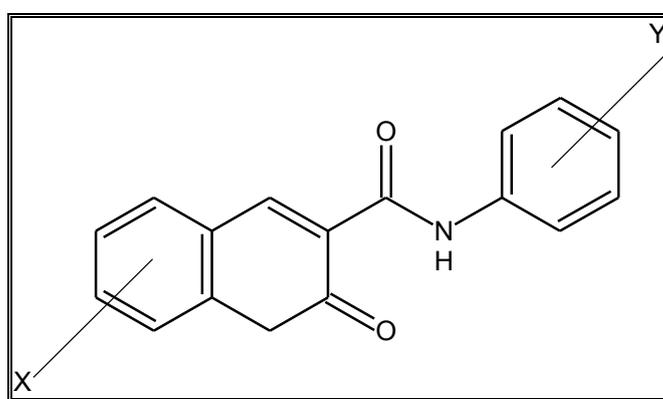
### II-3-3-3-L'intérêt pharmacologique des coumarines :

Les coumarines manifestent diverses activités biologiques, qui varient selon la substitution sur le cycle benzopyrane, telles que l'activité antifongique, anti-tumorale, anti-agrégation plaquettaire, inhibitrice de plusieurs enzymes, antivirale, anti-inflammatoire, anticoagulantes, diurétiques et analgésique. [53]

La coumarine elle-même a fait l'objet de plusieurs études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés : elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique. [43]

Les psoralènes : furanocoumarine typique, sont des photosensibilisateurs d'UVA dans la gamme de 320-380 nm, une gamme où les acides nucléiques et les protéines cellulaires montrent les bandes d'absorption faible. Cette propriété photochimique a été exploitée par les Egyptiens antiques dans leurs médecines pour le traitement de la peau. [43,54]

Au niveau de l'institut de Fels pour la recherche sur le cancer, des composés coumariniques dérivés de la 3-(N-aryl) carboxamide coumarine ont été synthétisés et leurs activités cytotoxiques des cellules tumorales ont été évaluées. Ces composés empêchent d'une manière sélective la croissance des cellules cancéreuses. [55]



X: H, OEt, Br, Cl

Y: Br, I, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>

**Figure II-18 : Les dérivés de 3-(N-aryl) carboxamide coumarine**

Par ailleurs, des chercheurs espagnols ont évalué l'activité anti-VIH de 11 composés dérivés de la 4-phénylcoumarine qu'ils ont isolé de l'espèce *Marila pluricostata*. Les résultats obtenus prouvent que l'effet antiviral des dérivés de la 4-phénylcoumarine peut être lié à l'inhibition de N-F-jB et du Tat, et suggèrent que ces composés peuvent être utiles dans le traitement de l'infection par le VIH. [56]

### II-3-4-Les flavonoïdes :

#### II-3-4-1-Introduction:

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les

flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronnes, les anthocyanes et les tanins.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits [57], et aussi dans le miel. [58]

### II-3-4-2-Structure chimique et classification:

#### II-3-4-2-1-Définition:

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides.

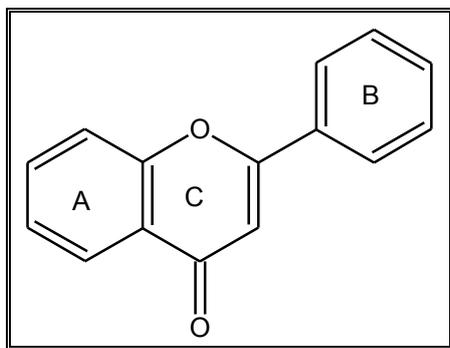


Figure II-19 : Noyau flavone

Le noyau FLAVONE est lui même un dérivé du noyau FLAVANE de base.

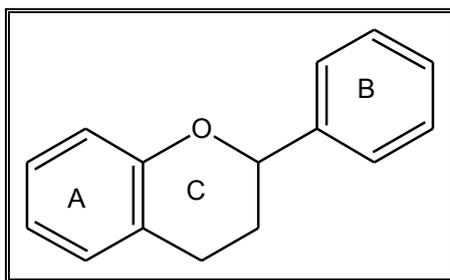


Figure II-20 : Noyau flavane

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C).

**II-3-4-2-2-La biosynthèse:**

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 [59].

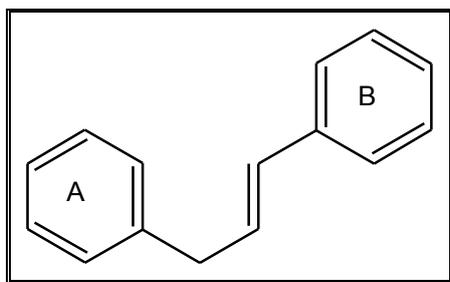


Figure II-21 : Squelette de base des flavonoïdes

**a-Importance de la voie métabolique du shikimate :**

La voie du shikimate est présente uniquement chez les bactéries, les champignons et les plantes, les animaux ne possèdent pas cette voie métabolique, ceci ayant pour conséquence que les acides aminés aromatiques doivent faire partie intégrante de leur alimentation. La spécificité de ce métabolisme aux micros organismes et aux plantes supérieures a conduit à la recherche et à l'obtention de nouveaux antibiotiques et herbicides ayant pour cibles moléculaires des enzymes intervenant dans cette voie. [60]

Dans les conditions normales de croissances, 20% du carbone fixé par les plantes passe par la voie du shikimate, cette dernière lie le métabolisme de l'hydrate de carbone à la voie de biosynthèse des composées aromatiques en conduisant à la synthèse de la structure de base, le noyau aromatique. [61]

**b-La voie de biosynthèse des flavonoïdes :**

Les connaissances actuelles sur la biosynthèse et l'enzymologie de la production des proanthocyanidines dans les plantes proviennent d'une étude détaillée réalisée par Stafford. Il a également décrit les relations entre lignine et proanthocyanidines, mais n'a pas pu montrer de rôle structural pour les proanthocyanidines contrairement à la

lignine. Stafford suggère que la lignine et les proanthocyanidines ont des rôles similaires de défense.

La biosynthèse des proanthocyanidines est résumée dans le schéma II-22, et la liste des enzymes qu'elle implique est présentée dans le tableau II-3. Les étapes réactionnelles conduisant aux précurseurs de flavonoïdes et à leurs différentes classes impliquent des intermédiaires 4'-hydroxylés (sur le noyau B), les flavonoïdes obtenus sont ensuite hydroxylés (ou fonctionnalisés) sur les noyaux A et B pour conduire aux autres classes de flavonoïdes.

La voie de biosynthèse des flavonoïdes et plus particulièrement celle des anthocyanes a été bien étudiée chez les fleurs, permettant la détermination des différentes étapes ainsi que des enzymes reliées à ces étapes.

La première étape est la condensation entre le 4-coumaroyl-CoA (A) et trois unités malonyl-CoA (B) conduisant à la formation du squelette flavonoïdes en C<sub>15</sub>, cette étape est catalysée par l'enzyme chalcone synthase (CHS) et conduit à la formation du 2',4',6',4'- tétrahydrochalcone (C).

La cyclisation stéréospécifique de cette chalcone conduit à la formation du cycle C du squelette flavonoïde. Cette cyclisation est catalysée par la chalcone isomérase (CHI) qui conduit à la formation de la naringénine (D), qui fait partie de la famille des flavanones.

La chalcone (C) peut également conduire à la formation des aurones. La naringénine (D) obtenue par cyclisation est le précurseur de nombreuses sous familles de flavonoïdes comme les flavones, les isoflavones et les flavan-4-ols qui peuvent conduire aux 3-deoxycyanidines.

La naringénine (D) peut également être hydrolysée en position 3 par la flavanone 3-hydroxylase (F3H) pour conduire au dihydrokaempférol (E), qui fait partie de la famille des flavanols. Le dihydrokaempférol (E) peut aussi après déshydrogénation du noyau C et fonctionnarisation du noyau B former les flavanols [60], comme reporté dans la figure II-22.

<b>Numéro</b>	<b>Enzyme</b>	<b>Acronyme</b>
<b>Précurseurs non flavonoïdes</b>		
<b>I</b>	Acetyl-CoA carboxylase	ACC
<b>II</b>	Phénylalanine ammonialyase	PAL
<b>III</b>	Cinnamate 4-hydroxylase	C4H
<b>Classes de flavonoïdes</b>		
<b>1</b>	Chalcone synthèse	CHS
<b>2</b>	Polyketide réductase	PKR
<b>3</b>	Chalcone isomérase	CHI
<b>4</b>	2-Hydroxyisoflavon synthase	IFS

**Tableau II-3 : Liste des enzymes conduisant aux différentes classes de flavonoïdes.**

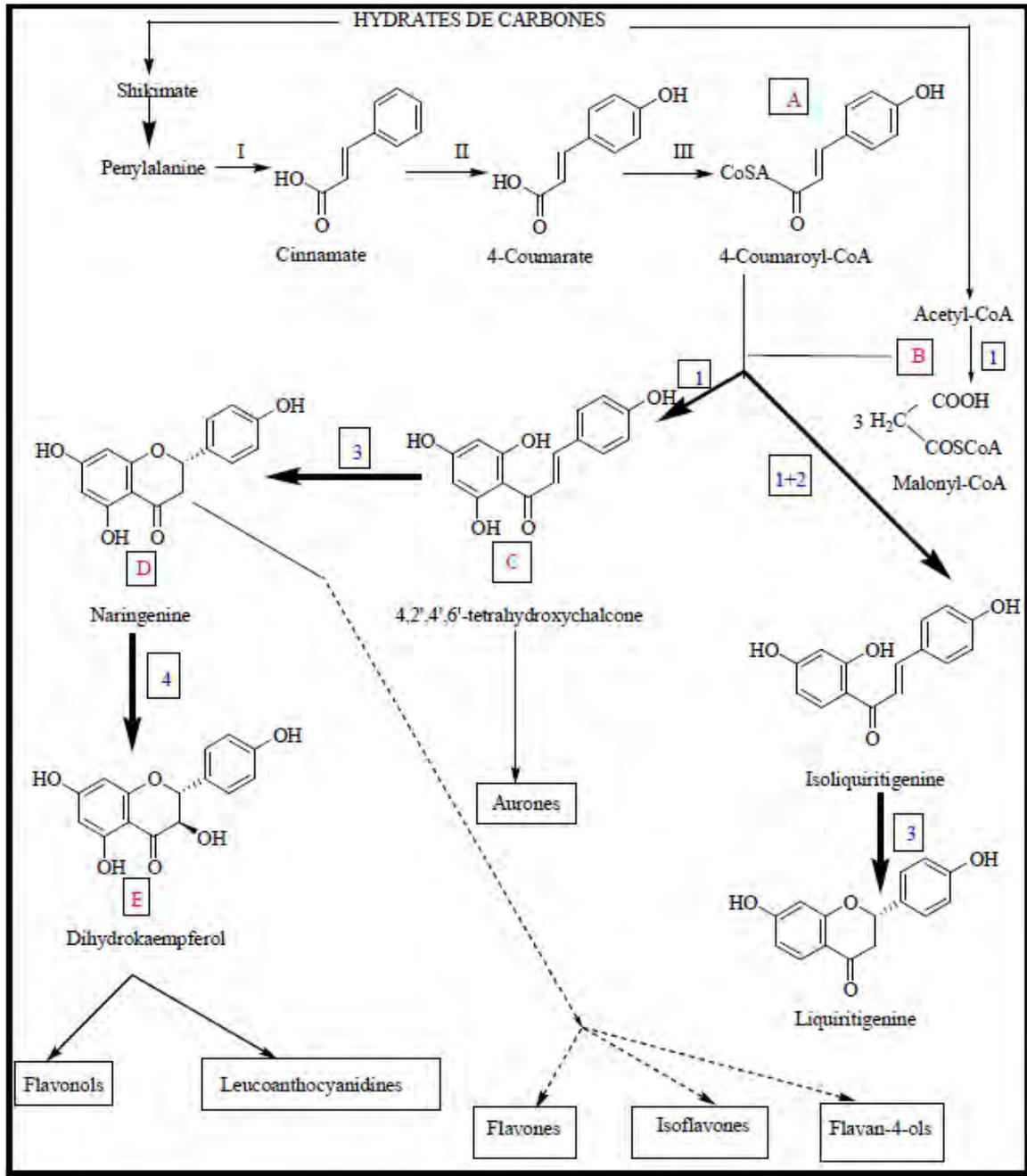
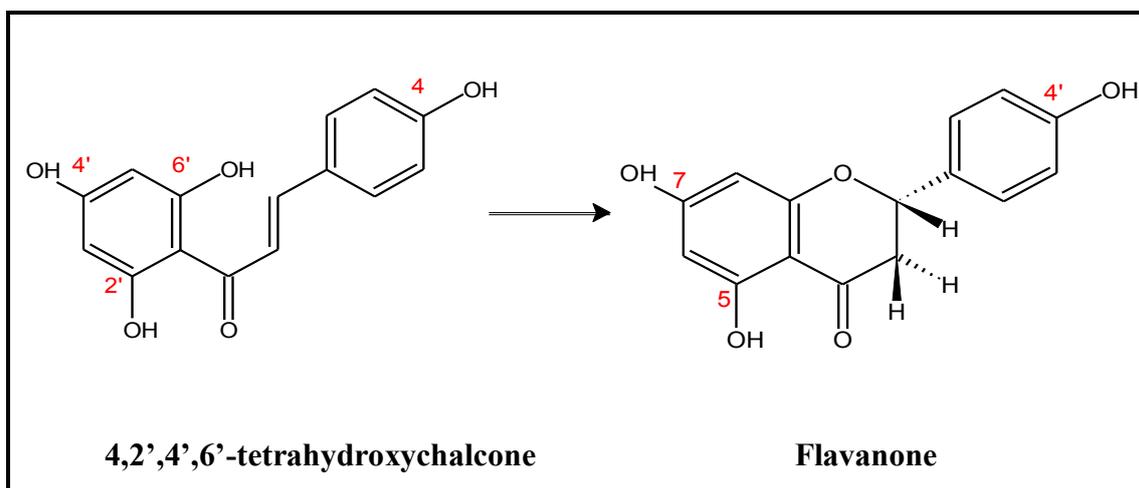


Figure II-22 : Mécanisme général de biosynthèse des flavonoïdes

## II-3-4-2-3-Classification :

## a-Flavones et flavonols:

Tous les types de flavonoïdes dérivent de la 4, 2', 4', 6' -tétrahydrochalcone et par conséquent, possèdent tous au moins trois hydroxyles phénoliques en C-5, C-7 et C-4', cela étant, l'un d'entre eux peut être absent.



Dans plus de 90% des cas, le cycle A des flavones et flavonols [figure II-23 et II-24] est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C-5 et en C-7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou étherifiés. D'autres substitutions sont possibles avec des fréquences variables: hydroxyles libres ou étherifiés en C-7 et/ou en C-8, méthylation en C-7 ou en C-8, implication du C-6 et/ou C-8 dans une liaison carbone-carbone avec un sucre. D'autre part, dans plus de 80% des cas, le cycle B est substitué en C-4' ou disubstitué en C-3' et C-4', ou moins fréquemment 3', 4', 5' -trisubstitué; ces substituants peuvent être des groupes hydroxyles (OH) comme ils peuvent être des méthoxyles (OCH<sub>3</sub>). Les autres positions (C-2' et C-6') ne sont qu'exceptionnellement substituées. De plus, les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement OH en position C-3.

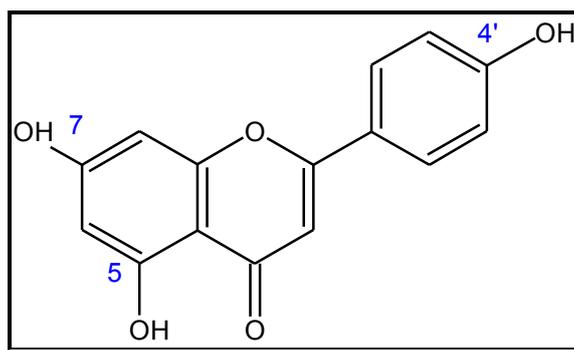


Figure II-23 : Flavone

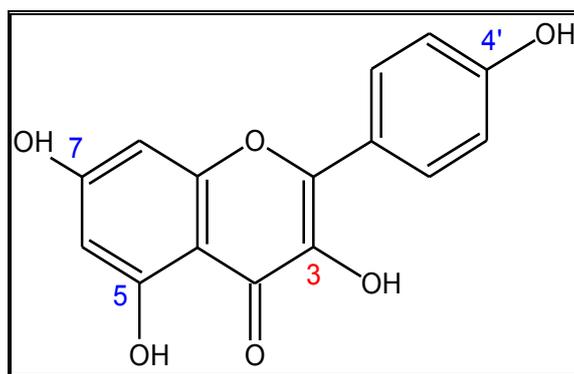


Figure II-24 : Flavonol

**b-Flavanones et dihydroflavonols:**

Les flavanones et les dihydroflavonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 et par la présence de centres d'asymétrie. Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols. Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C-3. Cette classe de flavonoïdes semble un peu moins fréquente que son homologue insaturé rassemblant les flavones et flavonols.

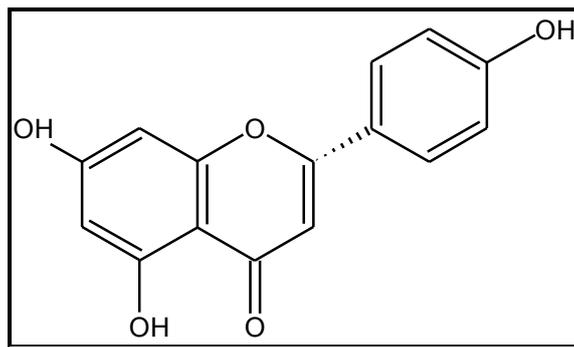


Figure II-25 : Flavanone

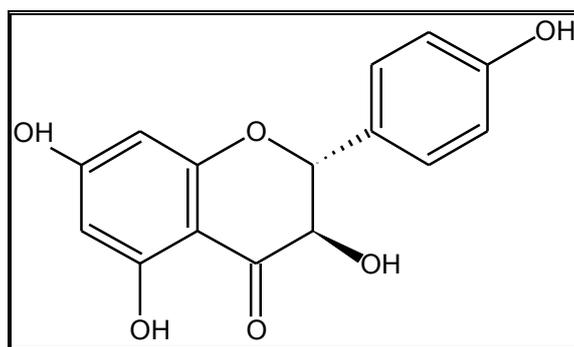


Figure II-26 : Dihydroflavonol

**c-Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols :**

A la différence des flavonoïdes décrits au-dessus, ces trois groupes de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C-4. Cette position peut être libre (cas des flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (cas des flavan-3,4-diols).

Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont à l'origine des polymères flavaniques appelés proanthocyanidols ou tanins condensés.

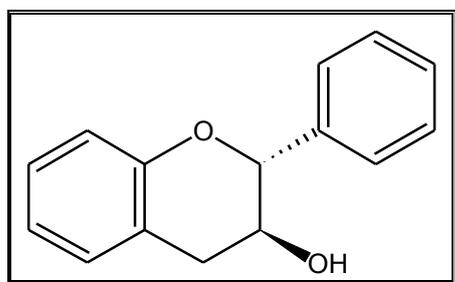


Figure II-27: Flavan-3-ols

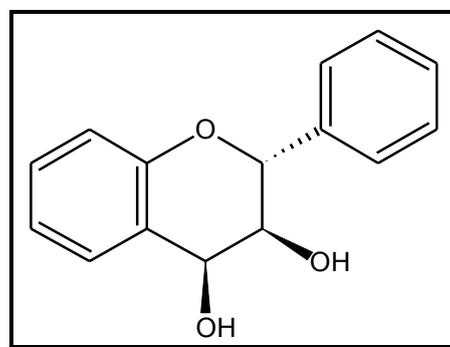


Figure II-28 : Flavan-3, 4-diols

Les anthocyanidols les plus fréquents sont le pélagonidol et le cyanidol.

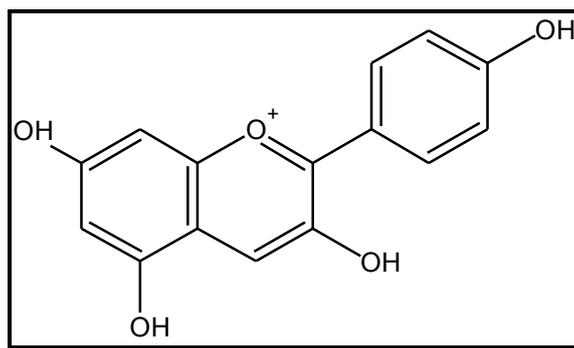


Figure II-29 : Pélargonidol

Les anthocyanosides sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique. On trouve parmi ces composés, le pélargonidol-3-O-glucoside et le cyanidol-3-O-rutinoside ou kéra cyanine.

#### d- Chalcones et aurones:

Les chalcones diffèrent des autres types de flavonoïdes par l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique,  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont le plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes.

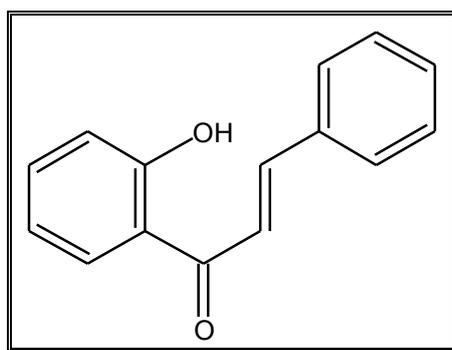
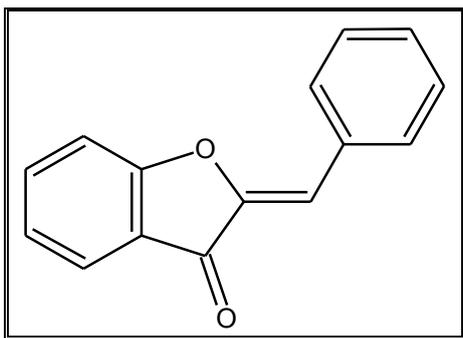


Figure II-30 : Chalcone

Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumaranone.

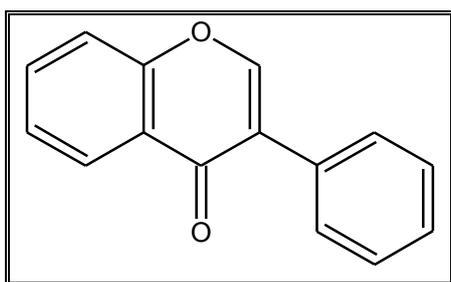


**Figure II-31 : Aurone**

Pour ces deux types de molécules, la numérotation des positions est différente des autres flavonoïdes.

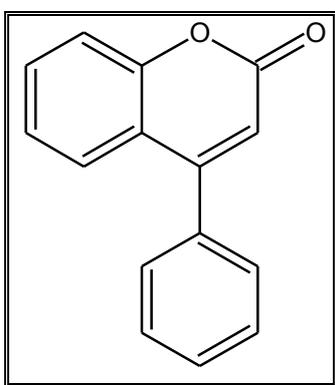
#### **e- Isoflavone et neoflavone:**

Les isoflavonoïdes sont moins répandus taxonomiquement. Ces composés très actifs se trouvent essentiellement chez les légumineuses [62,63] que par la présence du cycle B en position 3.



**Figure II-32: Isoflavone**

Les neoflavones sont caractérisées par la substitution entre le groupement carboxyle et le noyau B dans le squelette des flavones. [64]



**Figure II-33: Néoflavone**

Les neoflavones sont des flavonoïdes rares, cette rareté est dû leur faible présence dans la nature contrairement au flavones et flavonols. [65]

#### II-3-4-3-La substitution du squelette flavonique:

Les différents processus de substitution intervenant pour l'élaboration du squelette flavonique sont à l'origine de l'extraordinaire diversité structurale flavonique.

Le nombre, la nature et la position des substituants sur l'aglycone sont subordonnés au fonctionnement des systèmes enzymatiques.

##### II-3-4-3-1-L'hydroxylation:

Les hydroxyles originels sont en position 5, 7 sur le noyau A et 4' sur le noyau B, tous les autres seront des extrahydroxyles.

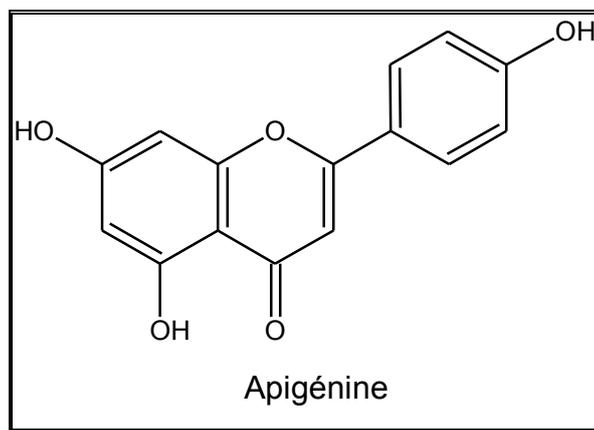


Figure II-34 : l'Apigénine

##### II-3-4-3-2- La méthylation:

Il y a deux voies pour substituer le noyau flavonique:

###### ➤ O-Méthylation:

La méthylation des hydroxyles originels et des extrahydroxyles se fait sous l'action de l'enzyme O-Methyl-transférase comme donneur du groupement méthyle selon le schéma 2. [66]

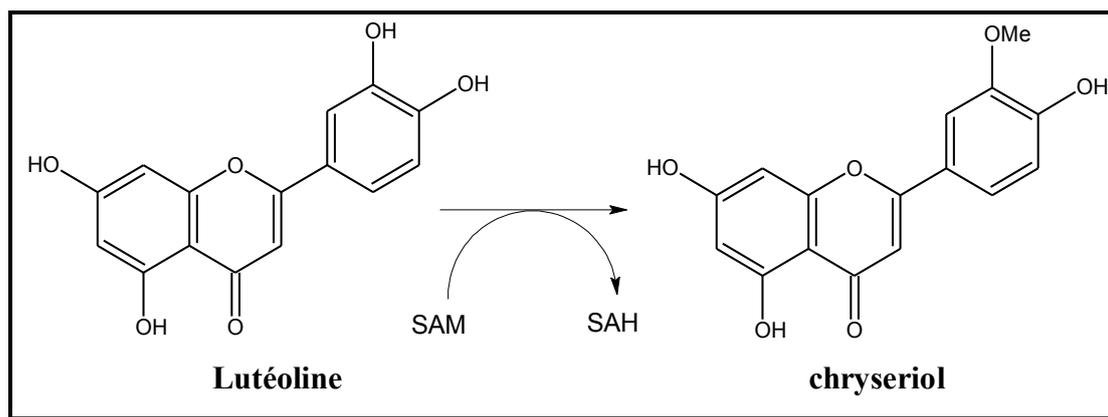


Figure II-35 : Transfert enzymatique du Lutéoline à Chryseriol

➤ **C-Méthylation:**

Le radical méthyle se lie au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone. La C-méthylation se fait habituellement en C-6 et/ou C-8, parfois en d'autres positions (C-3 et C-7).

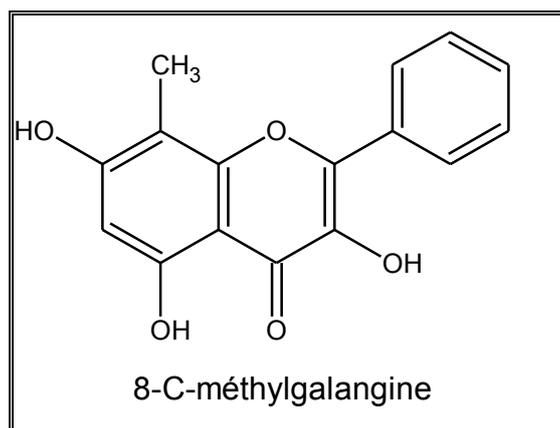


Figure II-36 : 8-C-méthylgalangine

**II-3-4-3-3-La glycosylation:**

Il y a deux voies pour substituer la molécule du sucre sur le squelette d'aglycone :

➤ **O-glycosylation:**

Dans ce cas, la liaison s'effectue entre un OH phénolique et un OH alcoolique d'un sucre sous l'action de l'enzyme O-glycosyl-transférase et un donneur du sucre comme l'UDP-Glc (Uridine diphosphate glucose). [67]

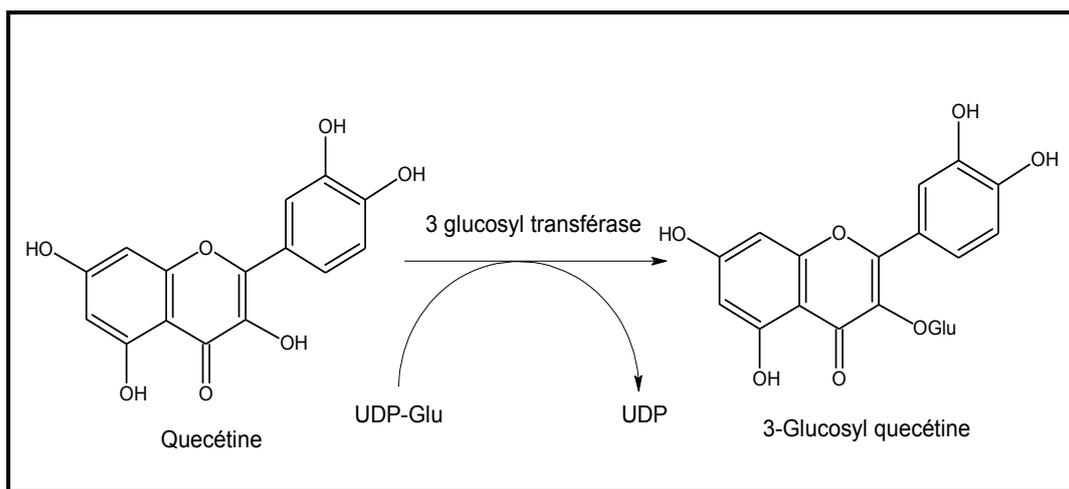


Figure II-37 : transfert enzymatique de la quercétine en 3-glucosylquercétine

➤ **C-glycosylation:**

La liaison s'effectue entre la molécule du sucre et le carbone de l'aglycone, cette liaison résiste à l'hydrolyse acide. [68]

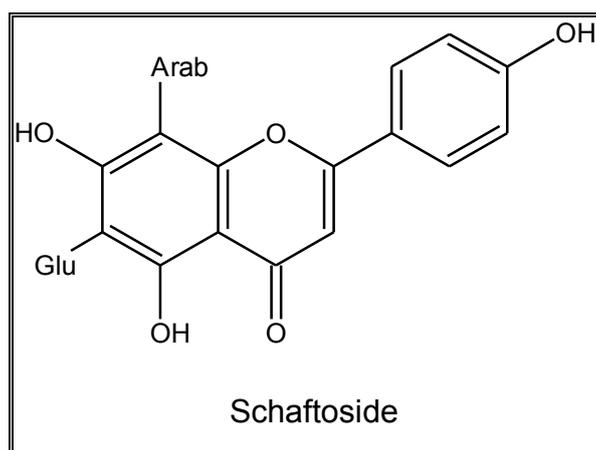


Figure II-38: Schaftoside

Si un deuxième sucre devait se rattacher à la molécule flavonique, il viendrait se lier soit avec un autre hydroxyle phénolique soit avec le OH alcoolique du sucre déjà fixé, mais dans d'autres structures on peut avoir les deux cas. [69]

**II-3-4-4-Distribution et localisation :**

**II-3-4-4-1-Distribution dans les plantes et le règne végétal :**

A de rares exceptions près [70], seules les plantes ont la capacité de biosynthétiser des flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent être présents dans toutes les parties des

plantes. Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophiles des feuilles, des parenchymes des tiges et racines.[71]

Les génines seules sont présentes dans les exsudats farineux de certaines plantes, dans les cuticules des feuilles, écorces et bourgeons ou sous forme de cristaux dans les cellules de certaines *Cactaceae* et plantes de régions arides [70]. Il est à noter que flavanones et flavones sont souvent présentes dans la même plante. Flavones et flavonols ne se trouvent généralement pas ensemble, pas plus que flavanols et anthocyanes. [72]

La présence de composés flavonoïdiques a été rapportée chez les Bryophytes, les Ptéridophytes, les Gymnospermes et chez les Angiospermes [73]. Cette distribution *quasi* ubiquitaire dans les plantes, alliée à leur relative stabilité, leur relative facilité d'identification et la forte tendance des plantes taxonomiquement proches à produire les mêmes types de flavonoïdes, ont fait des flavonoïdes des marqueurs chimiotaxonomiques de choix pour la classification végétale [74, 75].

#### II-3-4-4-2-Rôle dans les plantes :

Les flavonoïdes sont les pigments colorés des fleurs. Par exemple, les couleurs orange, rouges et bleues des légumes, fruits, fleurs et tissus de stockage des plantes sont dues à des anthocyanes hydrosolubles (qui sont des flavonoïdes jaunes réduits). De ce fait, ils jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes (attraction et rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines). Ils sont impliqués dans les interactions plantes-microorganismes : dans les pathogénèses comme dans les symbioses (nodules des légumineuses). Ils agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales en réponses à certains stress tels que les radiations ultraviolettes. Ce sont également des inhibiteurs d'enzymes, des agents chélatants des métaux nocifs aux plantes. De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation et les transferts d'énergie, la morphogenèse et la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes [76,77].

**II-3-4-4-3-Importance dans l'alimentation :**

La contribution au régime alimentaire humain des flavonoïdes est très importante : de 50 à 800 mg/jour en fonction de la consommation de fruits et légumes mais aussi de boissons comme le thé ou le vin rouge (environ 200 mg par verre ou tasse) [77]. On trouve également des flavonoïdes dans de nombreuses plantes médicinales et des préparations à base de plantes contenant de flavonoïdes sont utilisées en médecine traditionnelle partout dans le monde. [78]

Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes, feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits. Récemment, de nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonols, flavones et flavanones. [79, 80, 81]. Le **Tableau II-4** regroupe la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.

Flavonoïdes	Aliments
<b><i>Flavonols</i></b>	
Kaempférol	Radis, brocoli, thé noir
Quercétine	Oignon, pomme, olive, tomate.
Myrricétine	Canneberg, vin rouge.
Quercétine-3-glucoside	Oignon
Quercétine-3-rhamnoglucoside (rutine)	Thé noir
<b><i>Flavones</i></b>	
Chrystine	Peau des fruits
Apigénines	Persil, thym, romarin, céleri
Lutéoline	Persil, céleri
Lutéoline-7-apiosylglucoside	Poivre rouge
<b><i>Flavonones</i></b>	
Naringénine	Fruits des genres citrus
Hespertine-7-rhamnoglucoside (Hesperidine)	Jus d'orange
Naringénine-7-rhamnoglucoside (Narirutine)	Jus d'orange
<b><i>Flavan-3-ols</i></b>	
Epicatéchine	Thé vert, thé noir
Catéchine	Thé vert, thé noir, pomme
Epigallocatechine	Vin rouge
<b><i>Anthocyanidol</i></b>	
Cyanidol	Cassin, myrtille
Malvidol	Raisin, fraise, cassis
Apigénidol	Framboise, fraise
<b><i>Isoflavones</i></b>	
Genisteine-7-glucoside	Soja
Daidzeine-7-glucoside	Soja

Tableau II-4: Sources alimentaires des flavonoïdes.

**II-3-4-5-Propriété des flavonoïdes:****II-3-4-5-1-Propriétés anti-inflammatoires des flavonoïdes et effets sur le système immunitaire:**

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires [82, 83,84] et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [85]. Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T [86,87]. Cet effet des flavonoïdes sur les lymphocytes B ou T peut être variable: en effet, les flavones (apigénine, lutéoline et 7,3',4' hydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que seule la myricétine est active sur les lymphocytes B. L'explication est encore inconnue.

L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourraient s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine tyrosine kinase) [86, 87]. Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes [88].

La phagocytose qui accompagne une infection virale ou bactérienne est suivie d'une production d'espèces oxygénées réactives par les neutrophiles ce qui va promouvoir l'inflammation.

D'une manière générale, les espèces radicalaires, quelles que soient leurs origines, peuvent induire des dommages tissulaires, favoriser le processus de vieillissement, voire être à l'origine de certaines pathologies telles que le cancer et l'athérosclérose [89]. Il est intéressant de noter que de nombreux flavonoïdes sont capables de contrer cette production d'espèces oxygénées par les neutrophiles [90]. Les flavonoïdes inhibent également l'adhésion et l'agrégation des plaquettes. L'hispiduline, une méthoxyflavone, diminue par exemple l'agrégation plaquettaire en augmentant les taux intracellulaires en AMPc à la suite d'une inhibition des phosphodiesterases [91]. En effet, l'accumulation d'AMPc plaquettaire semble interférer avec la mobilisation de  $Ca^{2+}$  impliqué dans l'agrégation de ces cellules [91].

**II-3-4-5-2- Propriétés antivirales et antibactériennes:**

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale de cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

- ✓ au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte,
- ✓ au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte,
- ✓ au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales,
- ✓ au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte.

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Ce mécanisme semble être impliqué dans la protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-0-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours [92]. *Mucsi et Pragai en 1985* [93], ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées.

Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). De nombreux agents sont susceptibles d'inhiber la réplication du rétrovirus du SIDA par une inhibition de la reverse transcriptase.

Toutefois, ils peuvent être toxiques pour l'organisme. Il a été étudié l'impact des flavonoïdes sur la « reverse transcriptase ». Les flavonoïdes se sont montrés de bons inhibiteurs de cette enzyme [94]. Cependant, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase virale [95,96]. Récemment, des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV (la gp120), empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte [97]. Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1. Cette enzyme permet l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte. Des études structure-activité devraient permettre de montrer quelles sont les molécules les plus actives [98]. En fait, il semble que l'intérêt éventuel des flavonoïdes ou d'autres micro-nutriments pour combattre le virus du SIDA n'ait pas été suffisamment approfondi.

Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase [99]. Une étude a

montré l'effet bactéricide de différentes flavanones sur un *staphylococcus aureus* [100].

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer :

- ✓ l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes,
- ✓ la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer,
- ✓ l'inhibition du métabolisme microbien [101].

#### II-3-4-5-3-Propriétés anti-cancérigènes:

La quercétine, par exemple, est capable de diminuer, chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires induites par le DMBA (7,12 diméthylbenz (a)anthracène) ou la NMU (Nnitrosométhylurée) [102]. Les études réalisées chez la souris abondent dans le même sens et mettent en évidence les effets protecteurs des flavonoïdes vis-à-vis des promoteurs des tumeurs [103].

L'action antitumorale de la quercétine pourrait aussi s'expliquer par une interaction de celle-ci avec le complexe calcium-calmoduline [104], qui jouerait aussi un rôle dans le mécanisme d'action de nombreux promoteurs de tumeur.

C'est ainsi qu'un antagoniste de la calmoduline inhiberait l'induction de l'ODBC (Ornitine Décarboxylase) par le TPA (12-0-tétradécanoylphorbol-13-acétate) [105]. Le complexe calcium-calmoduline pourrait faciliter l'action du TPA en augmentant la synthèse d'ADN dans les cellules de foie [106].

Les flavonoïdes peuvent également interférer avec le métabolisme des xénobiotiques [107], notamment en stimulant les systèmes de détoxification [108].

En donnant à des rats ou à des souris une alimentation contenant de la flavone ou de la quercétine, on peut observer des effets chimiopréventifs à divers niveaux, et en particulier au niveau du foie par une stimulation de la glutathion-

S-transférase [109]. Enfin, les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes intervenant dans l'activation des procarcinogènes en intermédiaires mutagènes et carcinogènes [110]. Les résultats dans ce domaine sont difficiles à interpréter car les flavonoïdes semblent avoir des effets divers sur l'activité des enzymes de détoxification [111].

**II-3-4-5-4- Propriétés antioxydantes et impact sur la peroxydation lipidique:**

Le rôle des radicaux libres et des espèces oxygénées réactives dans la genèse de nombreuses maladies a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux [112].

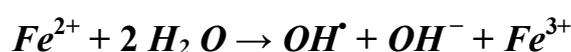
Les radicaux libres sont des espèces chimiques présentant un ou plusieurs électrons célibataires (le radical hydroxyle  $OH\bullet$ , l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , l'oxyde nitrique  $NO\bullet$  ...). Ils sont produits naturellement dans l'organisme :

- ✓ au niveau de la respiration mitochondriale lorsque l'oxygène échappe à la réduction complète en  $H_2O$  ;
- ✓ au niveau de certains organites cellulaires tels que les peroxysomes ;  
par diverses oxydases cellulaires ;
- ✓ au cours de la phagocytose.

De plus, les UV, la pollution, de nombreux agents chimiques peuvent être à l'origine d'une production accrue de radicaux libres. *Frenkel et Chrzan (1987)* ont montré que des promoteurs de tumeurs tels que le (TPA) peuvent également induire la formation de peroxyde d'hydrogène par des leucocytes humains et provoquer des coupures de l'ADN [113].

L'organisme possède ses propres mécanismes de défense permettant de lutter contre les radicaux libres ou les espèces oxygénées réactives, Il s'agit principalement d'enzymes cytosoliques (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase, glutathion transférase).

L'action protectrice de ces enzymes est complétée par celle de différents réducteurs présents dans les structures lipoprotéiques, ( $\alpha$ -tocophérol, caroténoïdes, lycopène, ubiquinol) et dans le cytosol (acide ascorbique, glutathion réduit). De plus, certaines protéases semblent avoir pour rôle de reconnaître et de dégrader spécifiquement les protéines oxydées empêchant ainsi l'accumulation de protéines altérées et endommagées dans la cellule [114]. De plus, de nombreuses protéines ont un rôle antioxydant puisqu'elles vont pouvoir capter, stocker et transporter des métaux de transition (albumine qui piège le cuivre, ferritine qui stocke le fer) : en séquestrant ainsi ces métaux, ces protéines préviendront par exemple la formation de radical  $OH\bullet$  par la réaction de Fenton :



Dans les conditions physiologiques normales, du fait de l'efficacité des systèmes de défense, ces radicaux libres n'auront pas d'effets néfastes majeurs. Toutefois, si

des quantités importantes de radicaux sont générées, dépassant les possibilités de protection enzymatique et épuisant le pool de divers capteurs, alors, ces radicaux libres vont engendrer :

- ✓ des peroxydations lipidiques favorisant l'athérosclérose et le vieillissement,
- ✓ des modifications oxydatives des protéines les rendant inactives,
- ✓ des dommages oxydatifs de l'ADN et de l'ARN aboutissant à des mutations et à la cancérisation.

L'intérêt métabolique des antioxydants alimentaires fait, à l'heure actuelle, l'objet d'un grand nombre de travaux. Parmi ces antioxydants, de nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle prépondérant des polyphénols [115]. Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées [116]. En fait, leur activité antiradicalaire nécessite:

- ✓ La structure ortho-diphénolique du cycle B, qui est essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé.
- ✓ La double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo-, qui est responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aroxy.
- ✓ Les hydroxyles en positions 3 et 5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale.

Les flavonoïdes et en particulier la quercétine qui présente les trois éléments de structure décrits ci-dessus, sont des piègeurs efficaces des radicaux hydroxyles et peroxydes particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique [117].

Enfin, les flavonoïdes possédant une structure catéchol sur le cycle B, et en particulier la (+)-catéchine, sont des piègeurs de l'oxygène singulet, une forme réactive de l'oxygène.

Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la peroxydation lipidique [118], ce qui est un élément important pour la protection des membranes cellulaires et qui complète les systèmes enzymatiques de défense cellulaire [119].

Le rôle protecteur des flavonoïdes ou de divers acides phénoliques vis-à-vis de la peroxydation lipidique a fait l'objet d'une étude exhaustive. Un très grand nombre de ces molécules semblent plus efficaces que le trolox (une forme soluble de l' $\alpha$ -tocophérol) pour prévenir la production de diènes conjugués induite par le cuivre. Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH<sub>2</sub> situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés.

Comme l' $\alpha$ -tocophérol, ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. De plus, ils pourraient agir en chélatant les métaux de transition tels que le cuivre et le fer [120]. Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) [121]. Cependant, leur teneur dans les lipoprotéines est mal connue, à la différence d'autres antioxydants incorporés dans les lipoprotéines tels que l' $\alpha$ -tocophérol, le  $\beta$ -carotène, le lycopène. On considère que la lipoperoxydation peut démarrer lorsque ces antioxydants sont épuisés. La question se pose de savoir dans quelle mesure les composés natifs (flavonoïdes ou acides phénoliques) ou des métabolites liposolubles provenant des polyphénols peuvent s'incorporer dans les LDL, agir en synergie ou remplacer les autres antioxydants normalement présents dans ces particules. Si leur biodisponibilité était suffisante, les flavonoïdes auraient la capacité d'interagir avec les radicaux libres empêchant ainsi la dégradation des antioxydants endogènes [122].

Les LDL oxydés sont cytotoxiques vis-à-vis des cellules endothéliales en culture. Elles augmentent la peroxydation lipidique cellulaire et provoquent une déplétion en ATP et en glutathion. La rutine est capable d'inhiber la déplétion intracellulaire en ATP et en glutathion et donc empêche la cytotoxicité des LDL oxydées vis-à-vis des cellules endothéliales en culture induite par les LDL oxydés [123].

D'après une enquête récente de Hertog et ses collaborateurs. en 1993, la présence des flavonoïdes en quantité importante dans l'alimentation diminue de 68% les risques cardiovasculaires par rapport à une alimentation qui en est faiblement pourvue [124]. Parmi les composés les plus antioxydants, on peut citer l'épigallocatechine gallate, la catéchine, la quercétine, la lutéoline, la myricétine et l'apigénine mais aussi des acides phénoliques tels que les acides caféique et chlorogénique. La théorie du paradoxe français, à savoir qu'une grande partie de la population ingère autant de graisses que les Américains tout en présentant un moindre risque cardiovasculaire, a été reliée à une consommation plus abondante de produits végétaux et en particulier à celle de vin, riche en flavonoïdes [125]. Il a été montrée chez l'homme, que la consommation de vin rouge, contrairement au vin blanc, augmente la capacité antioxydante du sérum [126], et réduit la susceptibilité des LDL à l'oxydation [117]. Le thé est également une source importante de flavonoïdes. La consommation de thé pourrait contribuer à diminuer les taux de cholestérol plasmatiques [127], et participerait à la protection des lipoprotéines.

Cependant, les influences nutritionnelles sont toujours très complexes et il est nécessaire de réunir le maximum de facteurs favorables pour bénéficier des effets protecteurs potentiels de l'alimentation.

#### II-3-4-5-5- Propriétés pro-oxydantes des flavonoïdes : [128-130]

Nous avons décrit précédemment des propriétés antioxydantes des flavonoïdes mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes.

Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène. Ainsi, ils seraient capables de réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) aboutissant à la formation de radicaux hydroxyles par réaction entre  $Fe^{2+}$  et  $2 H_2 O$ .

En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro*. Ainsi, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes. L'activité pro-oxydante est le résultat de la capacité à réduire les métaux comme le  $Fe^{3+}$  pour donner  $Fe^{2+}$  qui réagira avec  $O_2$  ou  $2 H_2 O$  avec génération d'initiateurs de l'oxydation.

Les attaques oxydatives des tissus *in vivo* induites par la réaction de Fenton sont les sources biochimiques principales du radical hydroxyle. Cette réaction est dépendante de la présence de fer non lié aux protéines. C'est pourquoi la clarification du rôle des métaux réduits actifs et des agents réducteurs comme catalyseurs de l'oxydation de molécules *in vivo* est intéressante.

Il semblerait que les composés phénoliques réduisent le  $Fe^{3+}$  et catalysent la formation de radical hydroxyle qui est responsable des dommages oxydatifs du désoxyribose, des bases de l'ADN et d'altérations diverses de l'ADN. Désormais, il s'agit d'éliminer les propriétés pro-oxydantes des composés phénoliques doués d'une activité antioxydante tout en gardant cette dernière intacte, c'est pourquoi d'autres études doivent être menées à ce sujet.

#### II-3-4-5-6- Propriétés anti-ulcéreux:

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection

des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes [131]. D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol, et la production du PAF (Platelet Activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel [132]. En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastrointestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes.

#### **II-3-4-5-7- D'autres effets biologiques :**

Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase [133]. Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques. [134,135]. Certains flavonoïdes peuvent entraver l'athérosclérose et par conséquent réduisent le risque des maladies cardiovasculaires [136].

#### **II-3-4-6-Extraction, isolement, purification et analyse structurale des flavonoïdes :**

Une étude phytochimique d'une plante passe impérativement par les étapes suivantes :

- ❖ Récolte du matériel végétale
- ❖ Extraction
- ❖ Séparation et purification
- ❖ Identification structurale des produits isolés

##### **II-3-4-6-1-Récolte du matériel végétal :**

Le choix du matériel végétal n'est en aucun cas fait d'une manière aléatoire. Même si l'objectif est préalablement fixé, il faut toujours vérifier tout au début que le végétal choisi contient bien les produits qu'on se propose de rechercher. Ce dernier point consiste à faire des screening permettant d'évaluer et d'apprécier à sa juste valeur ou à la limite d'une manière plus ou moins qualitative que quantitative la composition du matériel végétal à étudier.

La période et le lieu des récoltes doivent être bien choisis. Les récoltes sont effectuées au moment de la floraison, et se situent en ce qui nous concerne généralement entre les mois d'avril et juillet selon le lieu de la station de récolte.

Les produits que l'on se propose d'étudier ne sont pas répartis de la même façon dans les différentes parties du végétal. Ainsi les différents organes de la plante sont souvent séparés après la récolte puis séchés à l'abri des rayons solaires et de l'humidité et pesés [137].

#### **II-3-4-6-2-Extraction des flavonoïdes :**

Dans la littérature, il existe différentes méthodes d'extraction des composés phénoliques, notamment les flavonoïdes [138, 139]. L'une de ces méthodes est adoptée par notre laboratoire. Les étapes essentielles sont :

- ❖ La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.
- ❖ Extractions successives de type liquide-liquide par des solvants de polarité croissante. Les solvants les plus utilisés sont : le chloroforme qui permet l'extraction des aglycones méthoxylés et peu hydroxylés, l'acétate d'éthyle qui permet l'extraction des aglycones polyhydroxylés et monoglycosylés, et en dernier le n-butanol qui accède aux hétérosides polyglycosylés et aussi les hétérosides de type C-glycosyle.
- ❖ Les extraits obtenus sont ensuite évaporés à sec et pesés pour un éventuel traitement de séparation chromatographique.

#### **II-3-4-6-3-Méthode de séparation et de purification :**

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile résulte, soit de leur absorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase dans le cas où les deux phases sont des liquides.

Il existe plusieurs méthodes de séparation chromatographique en fonction de l'objectif fixé au préalable et de la faisabilité de la méthode. On peut envisager une chromatographie sur colonne (C.C), sur couche mince (C.C.M) ou sur papier (C. papier).

Enfin, on peut considérer également la chromatographie liquide à haute pression (C. L. H. P) et la (C. P. G), qui se présentent comme étant des techniques instrumentales basées sur les mêmes principes que ceux de la chromatographie classique.

#### **a-Chromatographie d'adsorption sur colonne :**

Elle est basée sur l'utilisation d'une phase stationnaire comme gel de silice, la cellulose ou le polyamide et une phase mobile constituée par divers systèmes de solvants comme éluant. Elle est la plus utilisée pour la séparation des quantités importantes de mélanges complexes [139]. L'élution peut se faire sous forme isocratique ou sous forme d'un gradient. En principe, la phase mobile est composée des mêmes solvants que ceux utilisés pour la CCM analytique. Toutefois, l'élution peut-être accélérée grâce à l'addition progressive de solvant de plus en plus polaire par rapport à la phase initiale.

#### **b- Chromatographie sur papier : CP**

On peut utiliser du papier ordinaire, mais il est préférable de se procurer du papier conçu pour cet usage, ayant un faible taux d'impuretés et dont les caractéristiques sont uniformes. Les marques principales sont Wattman, Schleider et Shull, Durieux et Arches. Il existe huit Catégories de papier Wattman, classées selon leur épaisseur, la texture de leur surface et la vitesse avec laquelle l'eau y diffuse. Par exemple le papier Wattman n°1 est le plus utilisé, mais si l'on désire une grande vitesse d'écoulement modérée on utilisera le n°3 ou le n°4 ; le papier n°20 est très lent, mais il permet une meilleure séparation, donnant des taches très denses et uniformes.

La description de l'analyse par chromatographie sur papier est identique à celle sur couche mince. [140]

#### **c- La chromatographie sur couche mince : CCM**

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des différents métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption avec comme phase stationnaire une couche d'absorbant (gel de silice ou autre) étalé uniformément sur un support en aluminium ou en verre de dimensions variables

(généralement 20 x 20 cm, 10 x 10cm ou 5 x 10cm) avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm et une phase mobile comme éluant. Elle est composée d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants qui migrent lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé [141].

Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée sous UV (longueurs d'ondes  $\lambda = 254$  nm et 365 nm).

Si nécessaire, les taches du chromatogramme sont révélées par pulvérisation de réactifs appropriés. On détermine alors, pour chaque constituant, le Rapport frontal ( $R_f$ ).

#### **d- La chromatographie sur couche mince préparative :**

La CCM préparative est une technique chromatographique utilisée dans la séparation et l'isolement de divers métabolites présents dans un mélange peu ou pas complexe. Elle dérive de la chromatographie sur couche mince mais dans ce cas, les zones de silice correspondante aux taches sont récupérées de la plaque contrairement à la CCM analytique. En utilisant diverses phases stationnaires et les systèmes de solvants appropriés, on examine les bandes des constituants sous lumière UV ou on révèle une frange de la plaque par pulvérisation avec le réactif adéquat [141].

La purification ultime des composés phénoliques isolés se fait généralement sur une colonne de Sephadex LH20 en utilisant le méthanol comme éluant.

#### **e- La recristallisation:**

C'est une méthode de purification utilisée dans la plupart des cas pour les composés pouvant se présenter sous forme de cristaux. Elle s'utilise même sur de petites quantités mais n'est pas utilisable avec les huiles et d'autres composés liquides.

Le principe de cette technique est basé sur la solubilité des mélanges à séparer. En effet, lorsqu'on veut isoler ou purifier un composé présent dans un mélange par cette technique, la première étape consiste à trouver le meilleur solvant de recristallisation. On appelle meilleur solvant de recristallisation, le solvant dans lequel le produit à cristalliser est peu soluble à froid et très soluble à chaud alors que les impuretés sont solubles à chaud et à froid.

Par chauffage suivi immédiatement de filtration, on élimine une partie des impuretés insolubles à chaud. Le refroidissement permet au produit de cristalliser. La filtration suivante permet d'éliminer le solvant et la partie des impuretés solubles à froid. [142]

#### II-3-4-6-4-Méthodes d'analyse et d'identification structurale des flavonoïdes :

##### a- Effet du rapport frontal ( $R_f$ ) :

Le rapport frontal ( $R_f$ ) est défini comme étant le rapport de la distance entre la tache du produit et l'origine d'une part et la distance entre l'origine et le front de solvant d'autre part. [143]

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par le front de solvant}}$$

- ❖ Le  $R_f$  est caractéristique d'une substance donnée pour un éluant déterminé sur un support (phase stationnaire) donné.
- ❖ Le  $R_f$  est à peu près le même, que le constituant soit pur ou dans un mélange.
- ❖ Le  $R_f$  ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange.

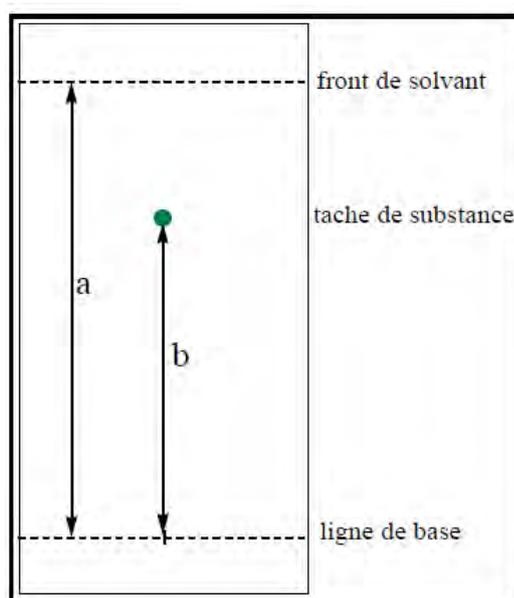


Figure II-39 : Plaque chromatographique éluee permettant le calcul du  $R_f$

**Tableau II-5 : L'effet de la substitution du squelette flavonique sur la valeur du  $R_f$ .**

Structure flavonique	$R_f$
Augmentation des groupes hydroxyles	❖ $R_f$ diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvant aqueux.
Méthylation des hydroxyles	❖ $R_f$ augmente dans les systèmes de solvants organiques et diminue dans les systèmes de solvant aqueux.
Glycosylation	❖ $R_f$ diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvants aqueux.

#### **b-La fluorescence sous lumière de Wood :**

La fluorescence sous lumière de Wood (la longueur d'onde de 365 nm) des flavonoïdes donne des renseignements très utiles sur leurs structures chimiques préliminaires.

Le tableau II-6 montre la relation entre la fluorescence et la structure chimique [144, 139].

**Tableau II-6 : Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures flavoniques.**

LA FLUORESCENCE	LES STRUCTURES POSSIBLES
Violette noire	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Flavones avec 5, 6,7 ou 5,7, 8 trihydroxy</li> <li>❖ Flavonol avec 3-OR.</li> <li>❖ Chalcones.</li> </ul>
Bleue	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Flavone ou flavonol sans OH en 5.</li> <li>❖ Flavanone avec OH en 3 ou flavanol.</li> <li>❖ Flavonol avec 3-OH et sans 5-OH.</li> </ul>

Jaune ou jaune terne	❖ Flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH
Orange fluorescente	❖ Isoflavones
Jaune-verte	❖ Aurones
Bleu-verte	❖ Flavanone sans 5-OH

### c- La spectrométrie UV-visible :

Les techniques de spectroscopie UV-Vis sont des méthodes simples et rapides qui fournissent des informations sur la nature chimique, les propriétés structurales et les caractéristiques optiques des composés.

C'est une méthode quantitative et qualitative de grande utilité pour les analyses chimiques. Dans les composés, chaque chromophore absorbe à une longueur d'onde bien déterminée. Ceci permet de caractériser les molécules.

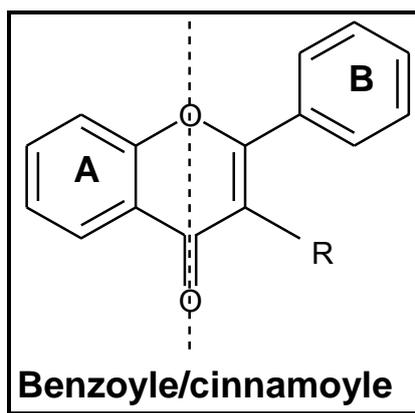
La mesure de l'absorption UV permet également de connaître ou déterminer la composition chimique d'un mélange, par comparaison avec des témoins.

Dans notre étude, cette technique a été utilisée dans l'élucidation structurale des composés isolés par comparaison des spectres d'absorption avec des témoins disponibles au laboratoire.

C'est la méthode la plus importante pour l'identification des structures flavoniques, Elle est basée sur l'enregistrement d'un spectre dans un milieu alcoolique (méthanol ou éthanol) qui sera caractérisé par deux bandes d'absorption principales [145].

#### c-1-le spectre UV visible dans le méthanol :

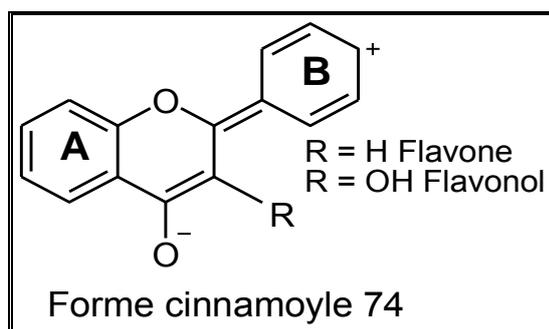
Le spectre d'absorption UV-Vis des composés phénoliques (flavones et flavonols), dans le méthanol est caractérisé par deux bandes :



**Figure II-40: les formes absorbantes des flavonoïdes**

❖ **La bande I :**

Présente un maximum d'absorption entre 300-400nm, elle est attribuée à l'absorption du système cinnamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>) et le noyau B, elle donne, alors des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.



**Figure II-41 : La forme cinnamoyle**

❖ **La bande II :**

Présentant un maximum d'absorption entre 240-280nm, elle est attribuée à l'absorption du système benzoyl qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A. Elle nous informe sur les variations structurales du cycle A.

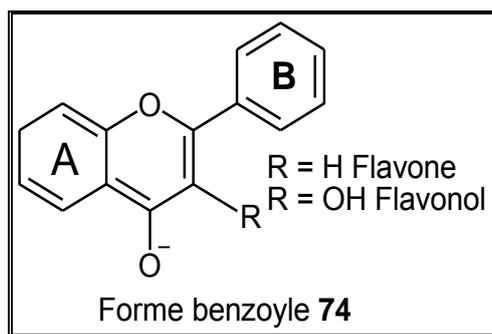


Figure II-42 : La forme benzoyle

La nature des flavonoïdes peut être déterminée selon les valeurs de la bande I et la bande II le tableau 9 montre la relation entre le squelette flavonique et la position des bandes I et II. [146]

Type de flavonoïdes	Bande I (nm)	Bande II (nm)
❖ Flavones	310-350	250-280
❖ Flavonols (3-OH libre)	350-385	250-280
❖ Flavonols (3-OH substitué)	330-360	250-280
❖ Isoflavones	310-330	245-275
❖ Flavanones et dihydroflavanols	300-330	275-295
❖ Chalcones	340-390	230-270 faibles intensités
❖ Aurones	380-430	230-270 faibles intensités
❖ Anthocyanidines et anthocyanines	465-560	270-280

**Tableau II-7 : Relation entre les squelettes des flavonoïdes et la position des bande I et II [147]**

L'addition de divers réactifs au flavonoïde permet de localiser les substituants sur le squelette flavonique où en général la présence d'un hydroxyle libre provoque un effet bathochrome (déplacement vers les grandes longueurs d'ondes). Pour une méthylation ou glycosylation des positions 3, 5 et 4' hydroxylées, un déplacement hypsochrome est noté par la bande I.

**c-2- le spectre UV en présence de réactifs :**

Les réactifs souvent utilisés sont : NaOH, NaOAc, NaOAc + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> et AlCl<sub>3</sub>+HCl. Certains d'entre eux forment des complexes tels que AlCl<sub>3</sub> et H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

**c-2-1-l'addition de AlCl<sub>3</sub> et AlCl<sub>3</sub> + HCl :**

L'addition de AlCl<sub>3</sub> à la solution du flavonoïde dans le méthanol mène à la formation de complexes entre les hydroxyles ortho, l'hydroxyle en 3 et la fonction carbonyle et l'hydroxyle en position 5 et la fonction carbonyle [148]. Ce qui entraîne un effet bathochrome de la bande I mais l'addition de HCl provoque la disparition des complexes instables et le maintien des complexes stables (hydroxyle et carbonyle). Ceci se manifeste par un déplacement hypsochrome de la bande I par rapport à celui en présence d'AlCl<sub>3</sub> et bien évidemment un effet bathochrome moins important par rapport au spectre dans le méthanol pris comme référence.

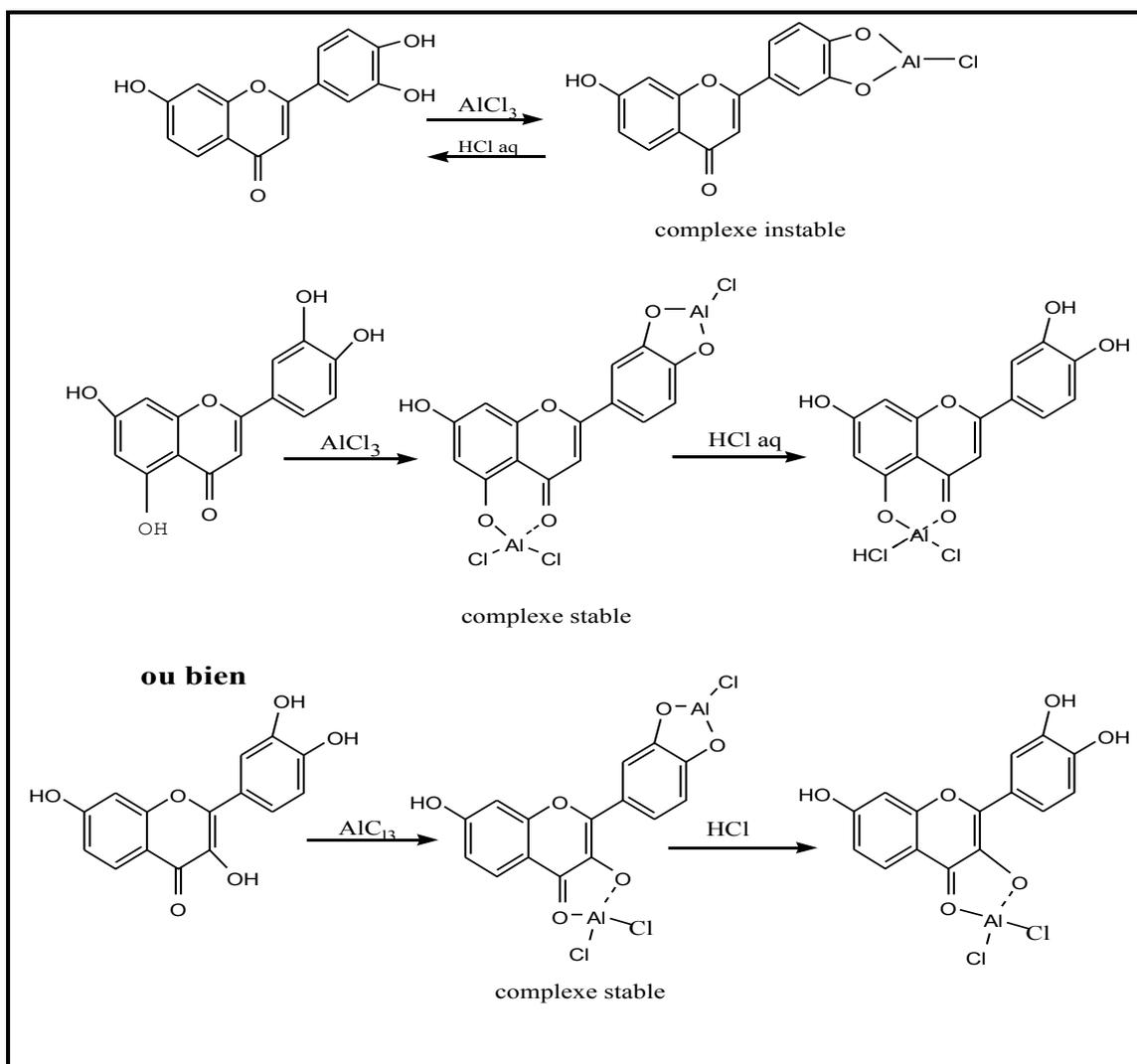


Figure II-43: Formation des différents types de complexes après addition d' $\text{AlCl}_3$  et en présence de  $\text{HCl}$

**c-2-2- l'addition de  $\text{NaOAc}$  +  $\text{H}_3\text{BO}_3$  :**

Le  $\text{H}_3\text{BO}_3$  est additionné à l'échantillon en présence de  $\text{NaOAc}$  et les informations apportées indiquent l'existence ou l'absence d'hydroxyle ortho sur le cycle B ou sur le cycle A (6, 7 ou 7, 8) à cause des complexes formés, l'effet qui se manifeste est un effet bathochrome de la bande I par rapport au spectre dans le méthanol [149].

**c-2-3-l'addition de NaOH et de NaOAc :****❖ NaOH :**

L'addition du NaOH indique le nombre et la position des hydroxyles libres sur le squelette flavonique essentiellement les OH des positions 7, 4', 3 par effet bathochromique de la bande I.

**❖ NaOAc :**

Ce réactif sert à détecter les groupements hydroxyles essentiellement celui la position 7 par un léger effet bathochrome de la bande II, il ionise les OH les plus acides comme les hydroxyles des positions 3,7 et 4' [149]. Le tableau 9 donne les informations obtenues des spectres en présence de réactifs. [147, 150, 151]

Réactifs	Déplacement en nm		Interprétation
	Bande I	Bande II	
MeOH	304-350	250-280	Flavones
	352-385	250-280	Flavonols (3-OH)
	350-380	250-280	Flavonols (3-OR)
NaOH	+44 à 65 1)- avec stabilité d'intensité 2)-avec diminution d'intensité une nouvelle bande entre 320-335		4'-OH 3-OH et 4'-OR 7-OH
AlCl <sub>3</sub> /MeOH	+ 20 à 45 + 60		5- OH 3- OH
AlCl <sub>3</sub> +HCl/AlCl <sub>3</sub>	-20 à -40 -20 à -25		Ortho di OH (noyau B) Ortho di OH (noyau A) +ortho di OH (noyau B)
AlCl <sub>3</sub> +HCl/MeOH	+ 17 à 20 + 35 à 55  + 50 à 60		5- OH (avec 6-oxygénation) 5-OH flavone et 3-OMe flavone 3- OH avec ou sans 5- OH
NaOAc /MeOH	faible d'intensité décompose	+ 5 à 20 Déplacement très Diminution Avec le temps Le spectre se Avec le temps	7- OH 7- OR 6, 7 ; 7, 8 ou 3', 4' di OH  5, 6, 7 ; 5, 7, 8 ou 3, 3', 4' – tri OH
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	+ 12 à 36 + 5 à 10		3', 4' di OH 6, 7, ou 7, 8 di OH

Tableau II-8 : Les informations obtenues en présence de réactifs.

**d-L'hydrolyse acide des hétérosides :**

Cette manipulation concerne dans un premier temps les flavonoïdes O-glycosylés, elle renseigne sur la nature du sucre qui peut être étudié une fois détaché ainsi que celle de l'aglycone. L'identification du sucre se fait par Co-chromatographie avec des solutions authentiques.

Les hétérosides C-glycosylés résistent à l'hydrolyse acide, cette propriété permet de différencier ce type de liaison dans les flavonoïdes glycosylés [152].

**e- La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :**

La résonance magnétique nucléaire ou RMN est une technique utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules chimiques. Elle sert principalement à la détermination structurale des composés organiques. Les principaux noyaux étudiés sont le proton  $^1\text{H}$ , le carbone  $^{13}\text{C}$ , le phosphore  $^{31}\text{P}$ , et l'azote  $^{15}\text{N}$ .

Cette méthode repose essentiellement sur le phénomène de magnétisme.

En effet, les noyaux de certains atomes ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , etc...) possèdent un moment magnétique nucléaire, c'est-à-dire qu'ils se comportent comme des aimants microscopiques caractérisés par une grandeur quantique appelée «le spin».

La technique de RMN étudie le comportement des noyaux atomiques en présence d'un champ magnétique externe. Le champ magnétique appliqué aux produits entraîne un dédoublement des niveaux d'énergie du spin nucléaire, de sorte qu'on puisse induire des transitions entre eux, suite à l'absorption d'une radiation électromagnétique adéquate. Les échantillons sont dissous dans un solvant déterré qui peut être du méthanol, du chloroforme, de la pyridine etc...

Ces solvants possèdent des déplacements chimiques spécifiques. Le tube contenant l'échantillon est soumis au champ magnétique permettant l'obtention des spectres utiles à la l'élucidation structurale. [153]

Différentes techniques peuvent être utilisées :

**❖ RMN monodimensionnelle (RMN – 1D) :****✓ RMN proton ( $^1\text{H}$ ) :**

Le spectre RMN du proton est une méthode puissante utilisée dans la détermination structurale des composés organiques inconnus. Il fournit de nombreuses informations telles que, les différents types d'hydrogènes présents dans la molécule analysée, les différents types d'hydrogènes

présents dans l'environnement électronique, le nombre d'hydrogènes "voisins" d'un hydrogène donné et le déplacement chimique caractéristique de chaque proton.

✓ **RMN carbone ( $^{13}\text{C}$ ): DEPT  $135^\circ$  et Jmod**

Dans cette expérience, chaque atome de carbone qui est dans un environnement unique provoque une crête distincte sur un spectre. Généralement, cette technique permet de mettre en évidence tous les carbones de la molécule.

L'analyse se base sur les déplacements chimiques observés en fonction de l'environnement de chacun des atomes de carbone. Cette expérience permet la mise en évidence des carbones primaires ( $\text{CH}_3$ ), secondaires ( $\text{CH}_2$ ), tertiaire ( $\text{CH}$ ) et dans une moindre mesure les carbones quaternaires.

La différence majeure entre le DEPT  $135^\circ$  et le Jmod, réside dans le fait que les carbones quaternaires sont détectés avec le Jmod alors qu'ils ne le sont avec le DEPT  $135^\circ$ .

❖ **RMN bidimensionnelles (RMN – 2D) :**

Les expériences de RMN-2D reposent sur une succession de trois intervalles de temps, le temps de préparation, le temps d'évolution et le temps de détection.

Dans certaines autres expériences, il peut s'ajouter une autre période avant la détection, c'est le temps de mixage. [154]

❖ **Corrélations homonucléaires :**

- ✓ **COSY ( $1\text{H} - 1\text{H}$ ):** cette expérience fournit des informations sur les couplages homonucléaires 2J et 3J (protons séparés par deux ou trois liaisons) entre les protons voisins et ceux qui sont adjacents.
- ✓ **NOESY ( $1\text{H} - 1\text{H}$ ) :** cette technique permet d'observer, dans l'espace, les corrélations entre protons (effets Overhauser) d'une même molécule.

**❖ Correlations hétéronucléaires :**

- ✓ **HSQC (1JH-C) :** cette technique permet d'observer les couplages chimiques entre les carbones et les protons directement liés entre eux. Toutefois, elle ne permet pas d'observer les déplacements chimiques des atomes de carbones quaternaires.
- ✓ **HMBC (2JH-C, 3JH-C) :** cette technique permet de répondre aux problèmes précédemment posés, puisqu'elle permet la détection des couplages longue distance 2JHC, 3JH-C, et permet de déduire les carbones quaternaires couplés aux protons.

**f- La spectrométrie de masse :**

La spectrométrie de masse est une technique de détection extrêmement sensible qui permet de déterminer le poids moléculaire d'un produit pur ou de recueillir des informations structurales à partir de la nature des fragments obtenus.

Le principe de la spectrométrie de masse est basé sur l'ionisation des molécules introduite dans l'appareillage. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé. Il peut y avoir ruptures de liaisons chimiques au sein de l'ion moléculaire, avec formation d'ions fragments caractéristiques puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard mais selon des mécanismes bien déterminés. L'ensemble de ces ions constituent le spectre de masse dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire. Il existe plusieurs analyses en spectrométrie de masse. Celles généralement utilisées sont énumérées ci-dessous:

- ❖ L'électrospray ou l'ionisation par électronébulisation (ESI)
- ❖ L'ionisation par impact électronique (IE)
- ❖ L'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)
- ❖ Le Fast Atom Bombardment (FAB)

Dans cette dernière technique l'ion moléculaire n'est pas toujours observable.

On observe généralement, l'ion correspondant au poids moléculaire plus un proton  $[M+H]^+$ . D'autres ions adduits peuvent se former lorsqu'il existe des impuretés de sel ou par addition de chlorure de sodium NaCl (on obtient l'ion  $[M+Na]^+$ ), ou de chlorure de potassium (on obtient l'ion  $[M+K]^+$ ). Ces informations permettent de déduire le poids moléculaire du composé étudié. [155]

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] GONZALE, A. G., BERMEJO-BARRERA, J., GARCIA, T. Z. and ROSAS, F. E. (1984), Sesquiterpene lactones from *Centaurea species*. *Phytochemistry*, **23**, 2071-2072.
- [2] BARRERO, A. F., SANCHEZ, J. F., RODRIQUEZ, I. and SORIA SANZ, C. (1988), Germacranolidas de *Centaurea malacitana*. *An. Quim.*, **84**, C 344-347.
- [3] TESEVIC, V., VAJS, V., TODOROVIC, N., DOKOVIC, D., MARIN, P. and MILOSAVLJEVIC, S. (1998), Sesquiterpene lactones from Plant species *Centaurea solstitialis L.*, *J. Serb. Chem. Soc.*, **63**, 131-135.
- [4] VAJS, V., TODOROVIC, N., RISTIC, M., TESEVIC, V., TODOROVIC, B., JANACKOVIC, P., MARIN, P. and MILOSAVLJEVIC, S. (1999), Guaianolides from *Centaurea nicolai*. Antifungal Activity, *Phytochemistry*, **52**, 383-386.
- [5] SKALTSA, H., LAZARI, D., GARCIA, B. and PEDRO, J.R. (2000), Sesquiterpene lactones from *Centaurea achaia*. A Greek endemique species, Antifungal Activity, *Z. Naturforsch.*, **55c**, 543-539.
- [6] BRUNO, M., MAGGIO, A., PATERNOSTRO, M.P., ROSSELLI, S., ARNOLD, N. A. and HERZ, W. (2001), Sesquiterpene lactones and other constituents from three *Cardueae* from Cyprus. *Biochemical Systematics and Ecology*, **29**, 433-435.
- [7] GAYON, R. R. (1968), les Composés Phénoliques des végétaux, Donod, Paris.
- [8] ORALLO, F., LAMELA, M., CAMINA, M., URIATRE, E. and CALLEJA, J. M. (1998), Preliminary Study of the Potential Vasodilator Effects on Rat Aorta of Centaurein and Centaureidin, Two Flavonoids from *Centaurea corcubionensis*. *Planta Med.*, **64**, 116-119.
- [9] BRUNO, M. And HERZ, W. (1988), Sesquiterpene lactones and Flavonoids from *Centaurea cineraria* Subsp. *Umbrosa*, *Phytochemistry*, **27**, 1873-1875.
- [10] KLAAS, C. A., WAGNER, G., LAUFER, S., SOSA, S., LOGGIA, R. D., BOMME, U., PAHL, H. L. and MERFORT, I. (2002), Studies on the anti Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals prepared from *Arnica* flowers, *Planta Med.*, **68** 385-391.
- [11] Guignard, J. L., (1974). Abrégé de biochimie à l'usage des étudiants en pharmacie, 165.

- [12] Richter, G. (1933). *Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie*, 333
- [13] Bruneton, J. (1933). *Phytochimie et pharmacognosie des plantes médicinales*, Techniques et Documentation Lavoisier.
- [14] Kochs G. and Grisebach, H. (1986). *Eur. J. Biochem.*, 155, 311.
- [15] Stotz, G., Spribille, R. and Forkmann, G.J. (1984). *Plant Physiol.*, **116**, 173.
- [16] Heller, W., Forkmann, G., British L. and Grisebach, H. (1985a). *Planta Med.*, 163-191.
- [17] Forkmann, G., (1992). Structure and Biogenesis of Flavonoids , 16<sup>ème</sup> Assemblé degroupes polyphénols, Lisbon, 16, 19-27.
- [18] Scout G. H. and Scout V. F., (1961).
- [19] BRUNETON, J. (1999), *Pharmacognosie*, 3<sup>e</sup> édition, Tec et Doc, Paris, 310, 316, 619, 620.
- [20] QUINTERO, A., PLCASTRE, A. And SOLANO, J. D. (1999), Antitumoral Activity of New Pyridine Derivatives of Sesquiterpene lactones, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **2**, 108-112.
- [21] DIRSCH, V. M., STUPPNER, H. and VOLLNAR, A. M. (2001), Cytotoxic sesquiterpene Lactones Mediate Their Death-Inducing Effect in Leukemia T Cells by Triggering Apoptosis, *Planta Med.*, **67**, 557-559.
- [22] JARVIS, B. B., STAHLY, G. P. et CURTIS, C. R. (1978), *Cancer, Treat. Rep.*, **62**, 1585-1586.
- [23] CHUNG, H. S. (2001), Guaianolide Sesquiterpene Lactone from *Ixeris sonchifolia* Hance with Cytotoxicity in Cultured Human Stomach and Colon Cancer Cell Lines, *Food Sci. Biotechnol.*, **10**, 433-436.
- [24] YSRAEL, M. C. and GROFT, K. D. (1990), *Planta Med.*, **56**, 268.
- [25] CHO, J. Y., BAIK, K. U., JUNG, J. H. and PARK, M. H. (2000), In vitro anti-inflammatory effects of cynaropicrin, sesquiterpene lactones, from *Saussura lappa*, *Pharmacology*, **398**, 399-407.
- [26] HERNANDEZ, V., RECIO, M. D. C., MANEZ, S., PRIETO, J. M., GINER, R. M. and RIOS, J. L. (2001), A Mechanistic Approach to the in vitro Ant-Inflammatory Activity of Sesquiterpenoids Compounds Isolated from *Inula viscosa*, *Planta Med.*, **67**, 726-731.
- [27] ZIDRON, C., DIESCH, V. M., RÜNGELER, P., SOSA, S., LOGGIA, R. D., MERFORT, I., PAHL, H. L., VOLLMAR, A. M. and STUPPNER, H. (1999), Ant-

Inflammatory Of Activies hypocretenolides from *Leontodon hispidus*, *Planta Med.*, **65**, 704-708.

[28] GROENEWEGEN, W. A., KNICHT, D. W. and HEPTINSTALL, S. (1986), Compounds extracted from *Feverfew* that have anti-secretory activity contain an alpha-mathylene-butyrolactone unit, *J. Pharm. Pharmacol.*, **38**, 709-712.

[29] KUBO, I., CHAUDHURI, S. K., KUBO, Y., SANCHEZ, Y., OGURA, T., SAITO, T., TSHIKAWA, H. and HARAGUCHI, H. (1996), *Planta Med.*, **62**, 427-430.

[30] WEDGE, D. E., GALINDO, J. C. G. and MACIAS, F. A. (2000), Fungicidal activity of natural and synthetic sesquiterpene lactones analogs, *Phytochemistry*, **53**, 747-757.

[31] GÖREN, N., JAKUPOPOVIC, J. and TAPUL, S. (1990), *Phytochemistry*, **53**, 803.

[32] MAOZ, M., KASHMAN, Y. and NEEMAN, J. (1999), *Planta Med.*, **53**, 803.

[33] GIORDANO, O. S., PESTCHANKLR, M. J., GURREIRO, E., SAAD, J. R., ENRIZ, R. D., RODRIGUEZ, A. M., JAUREGUI, E. A., GUZMAN, J., MARIA, A. O. and WENDEL, G. H. (1992), Structure-Activity relationship in the gastric cytoprotective effect of several Sesquiterpene lactones, *J. Med. Chem.*, **35**, 2452-2458.

[34] AL-YAHYA, M. A., KHAFAGY, S., SHIHATA, A., KOSLOWSKI, J. F., ANTOUNM. D., CASSADY, J. M. (1987), *Planta Med.*, **53**, 153.

[35] KUPCHAN, S. M., FUJITA, T., MARUYAMA, M., BRITTON, R. W. (1991), *J. Med. Chem.*, **34**, 54.

[36] JANG, D. S., YANG, M. S., HA, T. J., PARK, K. H. (1998), *Phytochemistry*, **49**, 157.

[37] LONERGAN, G., ROUTIS, E., GEORGIADIS, T., AGELIS, G., HONDRELIS, J., MATSOUKAS, J., LARSEN, L. K., CAPLAN, F. R. (1992), *J. Nat. Prod.*, **55**, 225.

[38] BURIM, R.V., CANALLE, R., LOPES, J. L., VICHNEWSKI, W., TAKAHASHI, C. S. (2001), TETRADOG CARCINOGEN MUTAGEN, **21**, 383.

[39] BARBETTI, P., FARDELLA, G., CHIAPPINI, I., SCARCIA, V., CANDIANI, A. F. (1985), *FARMACO [Sci]*, **40**, 755.

[40] MEZACHE, N. (2002), Thèse de magister, Université de Constantine.

[41] RAMOS, A., RIVERO, R., VISOZO, A., PILOTO, J., GARCIA, A. (2002), *Muta Res*, **514**, 19.

- [42] HLADON, B., DROZDZ, B., HOLUB, M., SZAFAREK, P., KLIMASZEWSKA, O. (1975), Arch Immunol Ther Exp, **23**, 845.
- [43] Brunton, J. Pharmacognosie(Phytochimie, Plantes médicinales), 3ème Edition, 1998, Paris, France.
- [44] Mann, J., Daridson, R.S, Hobbs, J.B, Banthorope, D.V. et Harbone, J.B. Natural product: their chemistry and biological significance, 1ère edition, 1994.
- [45] Booth, N.L., Dejan, N, Richard, B. et Stacie, E. Clinical pharmacology and therapeutics, 76, 511-516, 2004.
- [46] Deiana, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia,F. et Bonsignore, L. Journal-of-the-American-oil-chemistry-Society, 80,65-70, 2003.
- [47] Hofmann L. Thèse de doctorat: etude du metabolism desphénylpropanoïdes, Strasbourg, France, 2003
- [48]Guignard, J.L. Biochimievégétale. Masson, Paris, 1996.
- [49]Gerhard, L. Métabolisme des végétaux; physiologie et biochimie, 5ème Edition, Allemand, 1988.
- [50] Booth, N.L., Dejan, N, Richard, B. et Stacie, E. Clinical pharmacology and therapeutics, 76, 511-516, 2004.
- [51] Deiana, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia,F. et Bonsignore, L. Journal-of-the-American-oil-chemistry-Society, 80,65-70, 2003.
- [52] Dictionnaire des produits naturels, version 2003.
- [53] Maged, A.S.J. Braz. Chem. Soc, 13, 67-69, 2002.
- [54] Kitamura, N., Kontami, S. et Stacie, N.R. Phytochemistry and photobiology C,6, 168-185, 2005.
- [55] Reddy, N.S., Gumireddy, K. et Mallireddigari, M.R. Bioorganic and Mesicinal chemistry letters 13, 3141-3174, 2005.
- [56] Redoyal, L.M., Beltran, M., Sancho, R. et Olmedo, D.A. Bioorganic and Medicinal chemistry Letters, 15, 4447-4450, 2005.
- [57] Middleton.JR. E, Chithan.K. The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne J.B., editor. The Flavonoids: advances in research since 1986. London, UK: Chapman and Hall; **1993**.
- [58] Grange.J.M, Davey R.W. Antibacterial properties of propolis (bee glue). J. R. Soc. Med. **1990**; 83:159–60.

- [59] Bruneton.J. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, (3<sup>ème</sup> éd.). Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1999, 1120p.
- [60] M. Monya, and G. Racz; *Plant Medicin and Phytotherapy*, 1974, **8**, 126.
- [61] L. Hoffmann; Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg, 2003.
- [62] Harborne.J.B. (Eds), *phytochemical dictionary of the leguminosae*, vol.1, chapman and hall, London 1994, pp.XX-XXII.
- [63] Stafford.H.A, role of Flavonoids in symbiol and defuse functions in legume roots, *Bot.rev* (1997) 63 27-39.
- [64] Eyton.W.B, Ollis.W.D, Sutherland.I.O, Gottlieb.O.R, Tavira magalhaes.M. *Proc. Tetrahedron*, (1965) 21, 2683.
- [65] Elhazimi.H. *Natural product*, (1995) 149-190.
- [66] M. Jay et ai, *Z, Naturforsch*, 1983, **38 c**, p. 413.
- [67] A. Sutter et al, *Arch Biochem. Biophys*, 1975, 170, p. 847.
- [68] J. Chopin, *Actualité de phytochimie fondamentale*, 1966, p. 119, 2<sup>ème</sup> série, Editeur, Masson, - Paris.
- [69] Z. Kham; B. G. Kolo; M. Aquilo; G. Glabai, *Pure Appl. Sei*, 1998, 4(3), p. 255-257.
- [70] Iwashina T. (2000) .The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. *Journal of Plant Research* 113(3), 287-299.
- [71] Bruneton J. (1999) *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. Lavoisier Technique & Documentation. Paris.
- [72] Merken H.M., and Beecher G.R. (2000) Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(3), 577-599.
- [73] Markham K.R. (1988) Distribution of flavonoids in the lower plants and its evolutionary significance. In *The Flavonoids: Advances in research since 1980*. Harborne J.B. Ed. Chapman & Hall. London. pp 427-468.
- [74] Cooper-Driver G.A., and Bhattacharya M. (1998) Role of phenolics in plant evolution. *Phytochemistry* 49(5), 1165-1174.
- [75] Grayer R.J., Chase M.W., and Simmonds M.S.J. (1999) A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families: An appreciation of Hegnauer's"Chemotaxonomie der Pflanzen". *Biochemical Systematics and Ecology* 27(4), 369-393.

- [76] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., and Capasso F. (1999) Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 65(4), 337-353.
- [77] Pietta P. (2000) Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products* 63(7), 1035-1042.
- [78] Hollman P.C.H., and Arts I.C.W. (2000) Flavonols, flavones and flavanols - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(7), 1081-1093.
- [79] Justen.U, Knuthsen.P, Leth.T. Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1998
- [80] Bronner.W.E, Beecher.G.R. Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. *Journal of Chromatography A*. 1995, 705:247-256.
- [81] Crozier.A, Jensen.E, Lean.M.E.J, MCdonald.M.S. Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography *J.Chromatography A*. 1997, 761: 315-321.
- [82] Da silva.E.J.A, Oliveira.A.B, Lapa.A.J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994 46(2): 118-22.
- [83] Galati.E.M, Monforte.M.T, Kirjavainen.S, Forestieri.A.M, Trovato.A, Tripodo.M.M. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco*. 1994 40(11): 709-12.
- [84] Read, M. A. Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents *Vascular. Am. J.Pathol.* 1995 147(2): 235-7.
- [85] Middleton.E.J. Biological properties of plant flavonoids: an overview. *Int. J. Pharmacol.* 1996 34 (5): 344-348.
- [86] Mookerjee.B.K, Lee.T.P, Logue.G.P, Lippes.H.A, Middleton.E. The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog. Clin. Biolo. Res.* 1986 213: 511-20.
- [87] Namgoong.S.Y, Son.K.H, Chang.H.W, Kang.S.S, Kim.H.P. Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 1994 54(5): 313-20.

- [88] Middleton.E.J, Drzewiecki.G. Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochem. Pharmacol.* 1984 33(21): 3333-8.
- [89] Ward.J. Free Radicals, antioxidants and preventive geriatrics. *Austr. J. Physic.* 1994 23(7): 1297-301.
- [90] Limasset.B, Le doucen.C, Dore.J.CH, Ojasoo.T, Damon.M, De paulet.A. C. Effects of flavonoids on the release of reactive oxygen species by stimulated human neutrophils. *Biochem. Pharmacol.* 1993 46(7): 1257-71.
- [91] Roengsumran.S, Petsom.A, Ngamrojanavanich.N, Rugsilp.T, Sittiwicheanwong.P, Khorphueng.P, Cherdshewasart.W, Chaichantipyuth.C. Flavonoid and flavonoid glycoside from *Butea superba* Roxb. and their cAMP phosphodiesterase inhibitory activity. *J.Scient.c Research of Chulalongkorn University* 2000 25(1): 169-176.
- [92] Vrijisen.R.E.L, Van hoof.L.M, Vlietinck.A.J, Vanden berghe.D.A, Boeye.A. The poliovirusinduced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3-methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. *Antivir. Res.* 1987 7(1): 35-42.
- [93] Mucsi.I, Pragai.B.M. Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia* 1985 41(7):930-1.
- [94] Spedding.G, Ratty.A, Middleton.E.J. Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. *Antivir. Res.* 1989 12(2): 99-110.
- [95] Ono.K, Nakane.H, Fukushima.M, Chermann.J.C, Barre-sinoussi.F. Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases. *Eur. J. Biochem.* 1990 190(3): 469-76.
- [96] Ono.K, Nakane.H. Mechanisms of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids. *J. Biochem.* 1990 108(4): 609-13.
- [97] Mahmood.N, Pizza.C, Aquino.R, De tommasi.N, Piacente.S, Colman.S, Burke.A, Hay.A.J. Inhibition of HIV infection by flavanoids. *Antivir. Res.* 1993 46(7): 1257-71.
- [98] Fesen.M.R, Pommier.Y, Leteurtre.F, Hiroguchi.S, Yung.J, Kohn.K. W. Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem.Pharmacol.* 1994 48(3): 595-608.
- [99] Ohemeng.K.A, Schwender.C.F, Fu.K.P, Barrett.J.F. DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993 3(2):

225-30.

- [100] Sato.M, Tsuchiya.H, Takase.I, Kureshiro.H, Tanigaki.S, Inuma.M. Antibacterial activity of flavanone isolated from *Sophora exigua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its combination with antibiotics. *Phytother. Res.* 1995 9(7): 509-12.
- [101] Mila.I, Scalbert.A. Tannin antimicrobial properties through iron deprivation: a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance*, 1994 381(2): 749-755.
- [102] Verma.A.K, Johnson.J.A, Gould.M.N, Tanner.M.A. Inhibition of 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene- and N-nitrosomethylurea-induced rat mammary cancer by the dietary flavonol quercetin. *Cancer Res.* 1988 48(20): 5754-8.
- [103] Kato.R, Nakadate.T, Yamamoto.S, Sugimura.T. Inhibition of 12-OtetRadecanoylphorbol 13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin: possible involvement of lipoxygenase inhibition. *Carcinogenesis* 1983 4(10):1301-5.
- [104] Nishino.H, Naito.E, Iwashima.A, Tanaka.K, Matsuura.T, Fujiki.H, Sugimura.T. Interaction between quercetin and calcium-calmodulin complex: possible mechanism for anti-tumor-promoting action of the flavonoid. *Gann* 1984 75(4): 311-16.
- [105] Verma.A.K, Boutwell.R.K. Intracellular calcium and skin tumor promotion: calciumregulation of induction of epidermalornithine decarboxylase activity by the tumor promoter 12-tetRadecanoylphorbol-13- acetate. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 1981 101(2):375-83.
- [106] Boynton.A.L, Kleine.L.P, Durkin.J.P, Whitfield.J.F, Jones.A. Mediation by calcicalmodulin and cyclic AMP of tumor promoter-induced DNA synthesis in calciumdeprived rat liver cells. *Biol. Sci. Div.*, 1982 417-31.
- [107] Wattenberg, Lee.W. Anticarcinogenic effects of several minor dietary components. *Foods, Proc. Int. Conf.* 1983 157-66.
- [108] Bu-abbas.A, Clifford.M.N, Ioannides.C, Walker.R. Stimulation of rat hepatic UDPglucuronosyl transferase activity following treatment with green tea. *Food chem. Toxicol.* 1995 33(1): 27-30.
- [109] Nijhoff.W.A, Bosboom.M.A, Smidt.M.H, Peters.W.H. Enhancement of rat hepatic and gastrointestinal glutathione and glutathione S-transferases by alpha-angelicalactone and flavone. *The Netherlands Carcinogenesis* 1995 16(3): 607-12.
- [110] Obermeier.M.T, White.R.E, Yang.C.S. Effects of bioflavonoids on hepatic

P450 activities. *Pharm. Res.* 1995 25(6): 575-84.

[111] Lasker.J.M, Huang.M.T, Conney.A.H. In vitro and in vivo activation of oxidative drug metabolism by flavonoids. *J.pharmacol. exp. ther.* 1984 229(1):162-70.

[112] Halliwell.B, Cross.C. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ. Health Persp.* 1994 102 (Suppl. 10): 5-12.

[113] Frenkel.K, Chrzan.K. Hydrogen peroxide formation and DNA base modification by tumor promoter-activated polymorphonuclear leukocytes. *Carcinogenesis* 1987 8(3): 455-60.

[114] Stadtman.Earl.R. Protein oxidation and aging. *Science* 1992 257(5074): 1220-4.

[115] SUBIRADE I; FERNANDEZ Y; PERIQUET A; MITJAVILA S. Catechin protection of 3T3 Swiss fibroblasts in culture under oxidative stress. *Biol. trace elem. Res.* **47(1-3): 313-9, 1995.**

[116] Fuhrman.B, Lavy.A, Aviram.M. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin.Nutr.* 1995 61(3): 549-54.

[117] Erben-russ.M, Bors.W, Saran.M. Reactions of linoleic acid peroxy Radicals with phenolic antioxidants: a pulse Radiolysis study. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1987 52(3): 393-412.

[118] Yoshino.K, Tomita.I, Sano.M, Oguni.I, Hara.Y, Nakano.M. Effects of longterm dietary supplement of tea polyphenols on lipid peroxide levels in rats. *Media, Pennsylvania* 1994 17(3): 79-85.

[119] Galvez.J, De la cruz.J.P, Zarzuelo.A, Sanchez de la cuesta.F. Flavonoid inhibition of enzymic and nonenzymic lipid peroxidation in rat liver differs from its influence on the glutathione-related enzymes. *Pharmacology* 1995 51(2): 127-33.

[120] Van acker, S; A. B. E.; Tromp, M; N. J. L.; Haenen, G; R. M. M.; Van der vijgh, W; J. F.; Bast, A;. Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 1995 214(3): 755-9.

[121] De whalley.C.V, Rankin.S.M, Hoult.J.R.S, Jessup.W, Leake.D.S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 1990 39(11): 1743-50.

[122] Negre-salvayre.A, Salvayre.R. Quercetin prevents the cytotoxicity of oxidized LDL on lymphoid cell lines. *Free Rad. Biol.& Med.* 1992 12(2): 101-6.

- [123] Schmitt.A, Salvayre.R, Delchambre.J, Negre-salvayre.A. Prevention by atocopherol and rutin of glutathione and ATP depletion induced by oxidized LDL in cultured endothelial cells. *Brit. J. Pharmacol.* 1995 116(3): 1985-90.
- [124] Hertog.M.G, Feskens.E.J, Hollman.P.C, Katan.M.B, Kromhout.D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993 342(8878):1007-11.
- [125] Commenges.D, Scotet.V, Renaud.S, Jacqmin-gadda.H, Barberger-gateau. P, Dartigues.J.F. Intake of flavonoids and risk of dementia. Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale U330, Bordeaux, Fr. *Eur. J. Epidemiol.* 2000 16(4) : 357-363.
- [126] Whitehead.T.P, Robinson.D, Allaway.S, Syms.J, Hale.A. Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin. Chem.* 1995 41(1): 32-5.
- [127] Imai.K, Nakachi.K. Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. *BMJ* 1995 310(6981): 693-6.
- [128] Laughton.M.J, Halliwell.B, Evans.P.J, Hoult.J, Robin.S. Antioxydant and Prooxydant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochem. Pharmacol.* 1989 38(17): 2859-2865.
- [129] Yen.G.C, Chen.H.Y, Peng.H.H. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *J.Agr. Food Chem.* 1997 45: 30-34.
- [130] Kessler.M, Ubeau.G, Jung.L. Anti-and pro-oxydant activity of rutine and quercetin derivatives. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2002 55: 1-11.
- [131] Di carlo.G, Mascolo.N, Izzo.A.A, Capasso.F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Review. *Life Sci.* 1999 65: 337-53.
- [132] Izzo.A.A. PAF and the digestive tract. A review. *J. Pharm Pharmacol.* 1996 48: 1103-11.
- [133] Chaudhry.P.S, Cabrera.J, Juliani.H.R, Varma.S.D. Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochem Pharmacol.* 1983 32: 1995.
- [134] Ong.K.C, Khoo.H.E. Biological Effects of Myricetin. *General Pharmacol.* 1997 29:121-126.196.
- [135] Ong.K.C, Khoo.H.E. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sci.* 2000 67: 1695-1705.

- [136] Hertog.M.G, Feskens.E.J, Hollman.P.C, Katan.M.B, Kromhout.D.D. antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study.*Lancet*. 1993 342:1007-1011.
- [137] J. Loisseur, (1973), Techniques de laboratoire, Chimie physique, *Chimie Biologique*, Tome 1, Editeurs Masson et CIE.
- [138] Benayache, F., Benayache, S., Medjroubi, K., Massiot, G., Aclinou, P., Drozd, B. and Nowak, G. (1992): *Phytochemistry*, 12, 4359.
- [139] Ribereau-Gayou, J.B. (1968). The phenolic compounds of vegetals, Edition Dunod, Paris.
- [140] Loiseleur, J. Techniques de laboratoire, Chimie physique, Chimie Biologique, Tome 1, Editeurs MASSON et CIE. 1973.
- [142] Markham, K.R. (1982). Technique of flavonoides identification, Academic press, London.
- [143] Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. (1970). The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag New York, Heidelberg. 254p.
- [144] Bronner, W.E.; Beecher, G.R. (1995). Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. *Journal of Chromatography A.*, 705: 247-256.
- [145] Harborne, J. B. (1975). Flavonoids in phytochemistry, Vol. II, Edition Lawrence, P. L., Vol. II, Litton Educational Publishing.
- [146]. Harborne J.B. Mabry T.J. and Mabry, H.: The Flavonoids, Tome II, Academic Press. 1975.
- [147]. Markham, K.R. Technique of flavonoides identification, Academic press, London. 1982.
- [148] JURD, L. and GEISSMAN, T. A. (1956), *J. Org. Chem*, 21, 395.
- [149] BACON, J.D. and MABRY, T. A., UV Spectral procedures for distinguishing free and substituted 7-hydroxyl groups in flavones and flavanols. (1976), *Rev. Latinoamer, Quim*, 7, 83-86.
- [150] MARKHAM, K.R. (1989), *Method in plant biochemistry*, 1, 197-235, Academic Press. London
- [151] JURD L. and HOROWRIT, R. (1962), Spectral properties of flavonoid compounds, in *The chemistry of flavonoid compounds*, edited by T.A. GEISSMAN, Pergamon Press, New York, 107-155.

[152].Bensouici Chawki. Thèse de Magister.Université Mentouri-Constantine.

[153] WILSON, R.G., BOWIE, J.H. et WILLIAMS, D.H. (1986).

*Tetrahedron*, **24**, 1407.

[154] Gunther, H. (1994).

La spectroscopie de RMN, Masson, Paris.

[155] Nielsen, J. G. and Moller J. (1970).

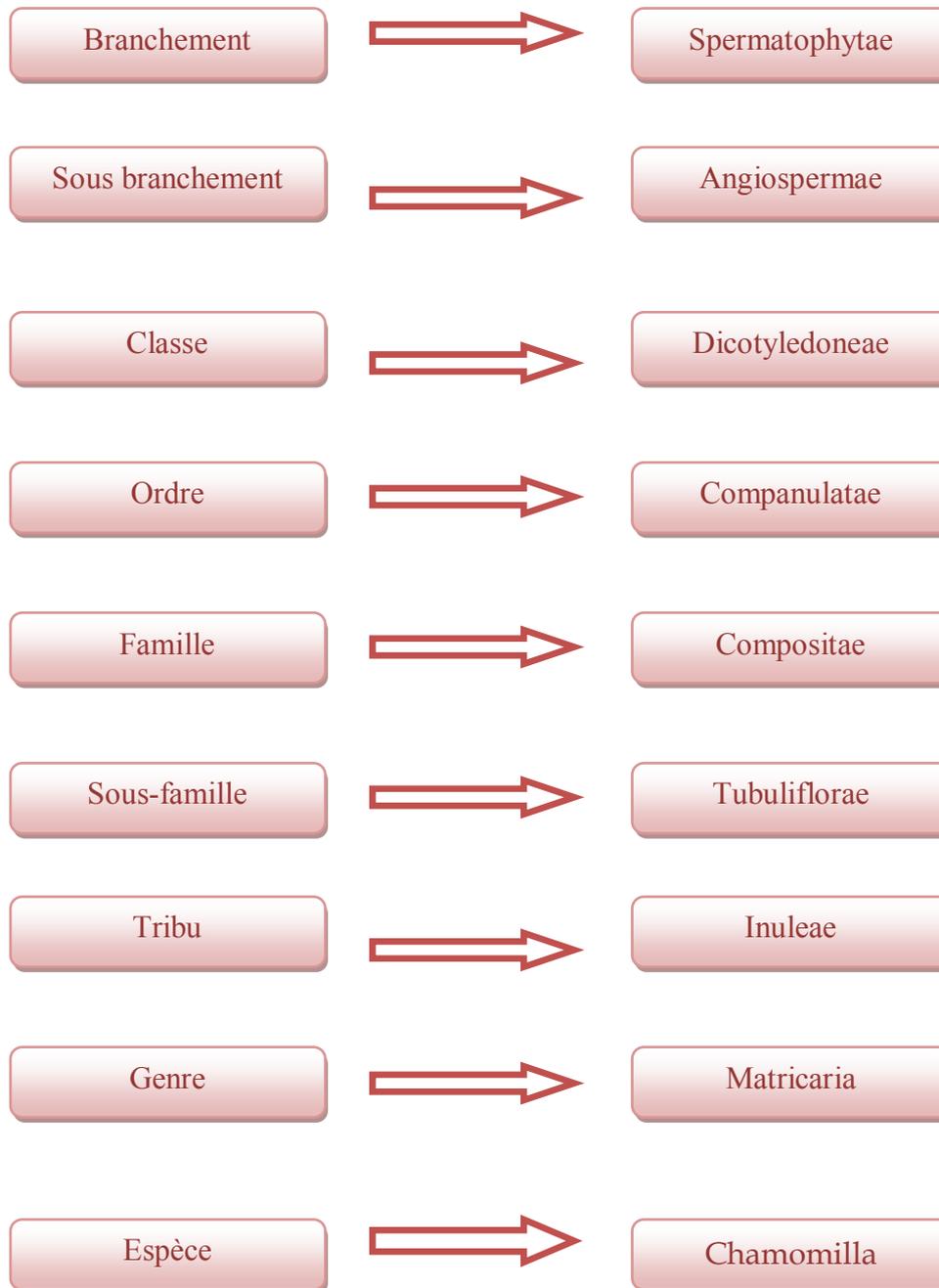
*Acta Chem. Scand.*, **24**, 2665.



# CHAPITRE III

**III-1-Place dans la systématique :**

Ce classement se réfère à la classification botanique présenté dans le tableau suivant :



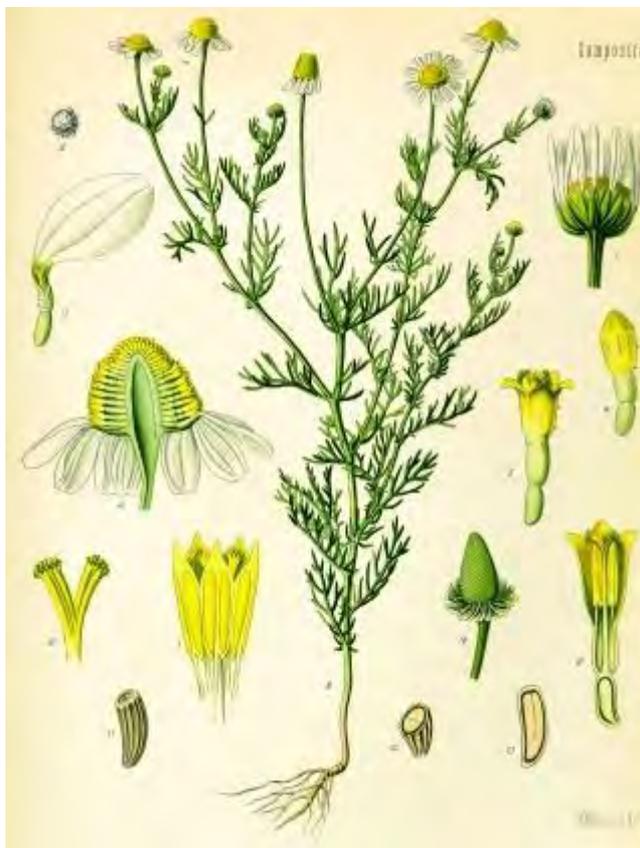
**III-2-Description de l'espèce Camomille :**

La camomille est une plante vivace de 50 à 70 cm de haut. Les tiges sont ramifiées et raides. Les feuilles sont pennées ou bipennées et divisées en plusieurs segments à limbe crénelé. Les capitules ressemblent à ceux d'une marguerite avec leur centre jaune et leur couronne de ligules blanches.

Ces capitules sont regroupés en corymbes. Le fruit est un akène surmonté d'une couronne courte et crénelée. Son nom provient du grec *khamaimélon* (pomme rampante) à cause de l'odeur agréable de pomme verte de ses feuilles et *matrix* (matrice) ou *matricaria* (femme) car utilisée lors des troubles de la menstruation et lors de l'accouchement

La camomille, originaire des Balkans, est retrouvée aujourd'hui en Europe, en Afrique et en Amérique du Nord. Elle s'accommode de tous les sols, mêmes calcaires, et croît essentiellement dans les jardins ou le long des murs, et dans les décombres humides.

On utilise les parties aériennes fleuries de la plante dont la concentration en parthénolide est maximale au moment de la floraison.



**Figure III-1 : *Matricaria chamomilla***



Figure III-2 : Photo de *matricaria chamomilla*

### III-3- Extraction de *Matricaria chamomilla* :

La poudre du matériel végétal (feuilles et fleurs, 2 kg) est mise à macérer à température ambiante (le matériel végétal pulvérisé présentera une plus grande surface de contact avec les solvants extracteurs, ce qui permettra d'améliorer le rendement d'extraction) dans un mélange hydroalcoolique (Ethanol/Eau ; 70/30 ; v/v).

Cette macération est répétée 4 fois avec renouvellement du solvant et dure dans chaque cas de 24 à 48 heures.

Après concentration à une température n'excédant pas 35 °C, l'extrait éthanolique dilué avec de l'eau distillée à raison de 400 ml pour 1kg de matière sèche. Après filtration, la solution a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. La figure III-3 résume les différentes étapes de l'extraction jusqu'à l'obtention des extraits bruts.

Les trois phases organique ainsi obtenus (chloroforme, acétate d'éthyle et *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 III-1.

Tableau III-1 : Rendements des extraits.

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement
2000g	Chloroforme	7	0,35%
	Acétate d'éthyle	12	0,6%
	n-butanol	32	1,6%

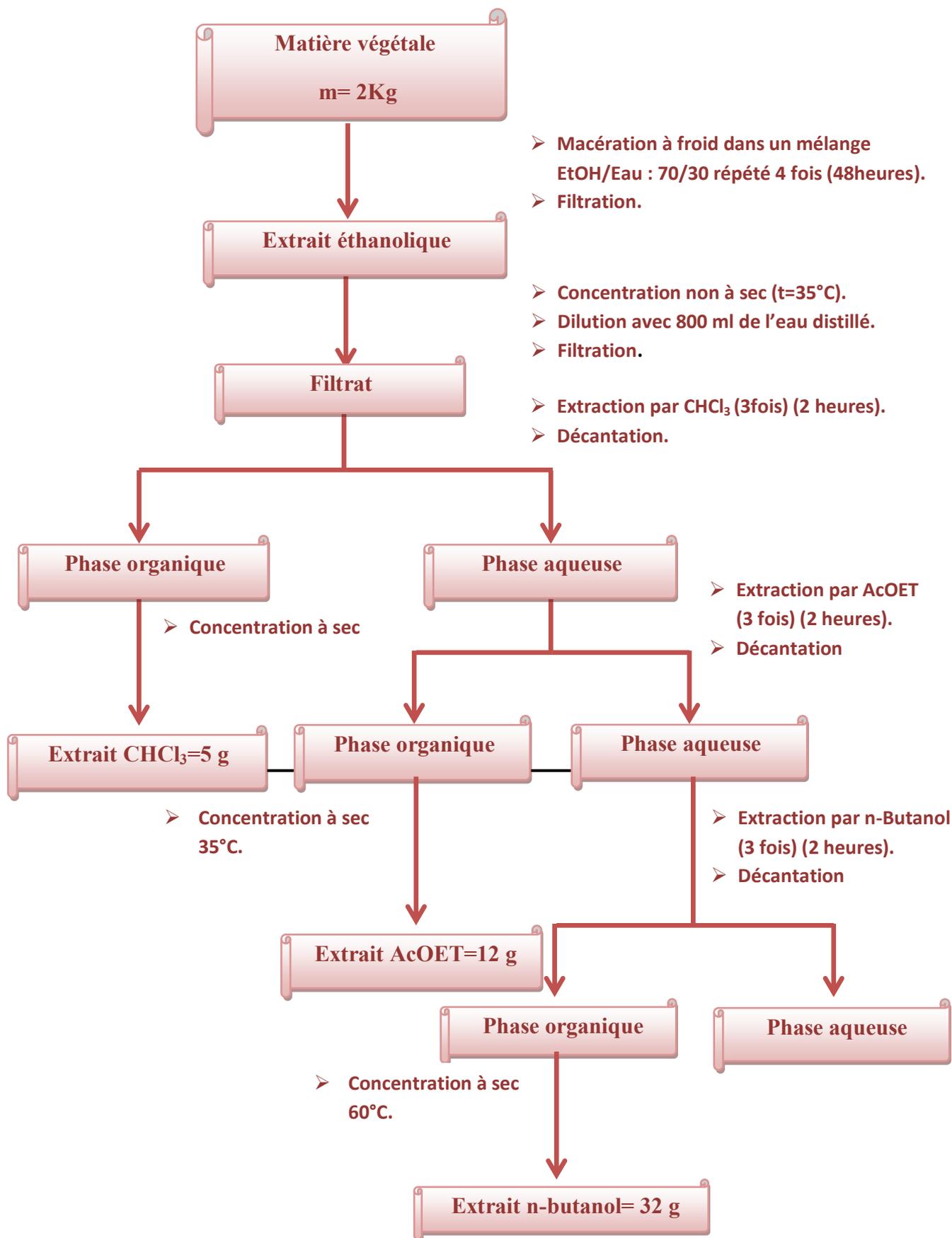


Figure III-3: Différentes étapes de l'extraction des parties aérienne de *MATRICARIA CHAMOMILLA*

### III-4-Séparation et purification des composants de l'extrait acétate d'éthyle de la camomille :

L'extrait acétate d'éthyle est soumis à des fractionnements successifs par différentes méthodes chromatographiques conduisant à l'isolement des molécules pures.

#### III-4-1- Fractionnement de l'extrait Acétate d'éthyle :

Avant d'entamer la séparation par chromatographie sur colonne de cet extrait, nous avons procédé à des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice, la meilleure séparation obtenue était avec l'éluant Chloroforme/Méthanol (9.5 :0.5).

Un premier fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle de la camomille (12 g) a été réalisé par chromatographie d'adsorption sur une colonne de gel de silice de granulométrie moyenne : 40-63  $\mu\text{m}$  (230-400 mesh), Merk H60, *réf.* 9385.

L'extrait acétate d'éthyle dissout dans le méthanol est mélangé à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Cette poudre est déposée sur une colonne de gel de silice, préparée dans le chloroforme. La masse de silice utilisée correspond approximativement à 30 fois le poids de l'extrait à séparer (360 g). L'élution a été réalisée par du chloroforme enrichi progressivement par le méthanol. Les fractions recueillies sont regroupées suivant la similitude de leur profil chromatographique sur couches minces de gel de silice déposées sur feuilles d'aluminium (Merck) qui après développement dans des cuves en verre avec des systèmes adéquats, ont été visualisées à la lumière du jour et sous lampe UV à 254 et 365 nm, puis révélées avec l'anysaldéhyde et chauffées pendant 3 mn à 100°C. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III-2 :

**Tableau III-2 : Résultats du fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle par la chromatographie sur colonne.**

Lots 50ml	Fractions	SYSTEME D'ELLUTION		Poids de la fraction (mg)
		CHCl <sub>3</sub> %	MeOH%	
1-3	F1	100	0	18,85
4	F2	100	0	8,98
5-6	F3	100	0	30,28

7-21	F4	100	0	96,98
22-31	F5	100	0	72,56
32	F6	100	0	20,60
33-42	F7	100	0	70,59
43-47	F8	99	1	82,83
48-49	F9			80,89
50-147	F10	98	2	862,67
148-156	F11			135,35
157-162	F12			116,50
163-169	F13	97	3	98,63
170-206	F14			1250,48
207-211	F15	96	4	40,81
212-225	F15	95	5	165,9
226-241	F16			298,9
242-250	F17			135,33
251-269	F18			115,84
270-311	F19	93	7	1025,35
312-354	F20	91	9	1165,96
355-371	F21	89	11	469,36
372-403	F22	87	13	1500
404-428	F23	85	15	709,3
429-469	F24	80	20	563,36
470-511	F25	75	25	160,36
512-554	F26	70	30	123,98
555-572	F27	60	40	112,59
573-595	F28	50	50	128,36
596-610	F29	40	60	190,30
611-734	F30	35	65	147,35
		30	70	115,98
		25	75	120,06

		<b>20</b>	<b>80</b>	<b>127,39</b>
<b>735-789</b>	<b>F31</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>106,69</b>

#### **a-Etude de la fraction F10 :**

La chromatographie de cette fraction sur plaques préparatives de gel de silice éluées par le système chloroforme/méthanol (90/10), a permis d'isoler un produit pur (F10-1), les autres produits issus de cette séparation, sont sous forme de mélange en très faible quantité.

Le produit F10-1, un produit pur d'une couleur rose violette (m=12mg), il apparaîtra après révélation.

#### **b-Etude des fractions F15, F25 et F27 :**

La recristallisation est une méthode de purification utilisée dans la plupart des cas pour les composés pouvant se présenter sous forme de cristaux. Elle est utilisée même pour des petites quantités mais n'est pas utilisable avec les huiles et d'autres composés liquides. Le principe de cette technique est basé sur la solubilité des mélanges à séparer. En effet, lorsque l'on veut isoler ou purifier un composé présent dans un mélange par cette technique, la première étape consiste à trouver le meilleur solvant de recristallisation. On appelle meilleur solvant de recristallisation, le solvant dans lequel le produit à cristalliser est peu soluble à froid et très soluble à chaud alors que les impuretés sont solubles à chaud et à froid. Par chauffage suivi immédiatement de filtration, on élimine une partie des impuretés insolubles à chaud. Le refroidissement permet ensuite au produit de cristalliser. La filtration suivante permet d'éliminer le solvant et la partie des impuretés solubles à froid.

- La fraction F 15 a été recristallisée dans le système  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (avec un peu de chloroforme), après chauffage, filtration, séchage lent (à l'air libre), des cristaux sous forme d'aiguilles blanches sont formés. Ce produit (m=43mg) donne une coloration noire violette sous la lumière de Wood et jaune après révélation à base d'anisaldéhyde.
- La fraction F 25 a subi une recristallisation dans un mélange chloroforme/méthanol menant à la formation de cristaux jaunes qui après plusieurs lavages successifs à l'acétone, ont donné un produit pur F25-1 de masse 45 mg.

- La fraction F27 a été recristallisée dans le système  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ , après chauffage, filtration et séchage des cristaux sous forme d'aiguille jaune sont formés. Après plusieurs lavages successifs à l'acétone, on obtient un produit pur F27-1 d'une masse  $m=27\text{mg}$ .

#### c-La fraction F22 :

La chromatographie sur colonne de la fraction **F22(1,5mg)**, avec comme système isocratique **l'éther de pétrol/AcOEt/MeOH: 1/1/0,2**, nous a permis de séparer deux produit pur **F 22-1 (2 mg)** qui donne une tache noire-violette sous la lampe de Wood et **F 22-2** qui donne une tache noire sous la lumière de Wood.

La sous fraction F22-3 a été chromatographié sur plaque CCM dans le système  **$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$**  afin de séparer le produit F22-3-1.

#### d-La fraction F24 :

Une fraction de **723mg**, a été chromatographié sur plaques préparatives avec système d'éluion **AcOEt/MeOH/H<sub>2</sub>O : 12/1/1**, ce système nous a donne**4** taches :

- **F24-1** une tache bleu fluorescent sous l'UV (**365 nm**), avec **1mg** de masse.
- **F24-2** une tache noir-violette sous l'UV (**365 nm**), avec **4 mg** de masse.
- **F24-4** un produit majoritaire avec une couleur orangé sous l'UV (**365 nm**), avec **11mg** de masse.
- **F24-4** une tache jaune pale sous l'UV (**365 nm**), avec **3 mg** de masse.

La sous fraction F24-4 a été purifié à l'aide de la chromatographie sur plaques préparative dans le même système et on obtient un produit pur avec une masse de **7,5 mg**.

#### e-Conclusion :

Les travaux de séparation chromatographique ont permis l'obtention de **8** produits purs et natifs.

Nous n'avons pu obtenir que la structure de **NB1, NB2 (F15-1 et F22-3)**

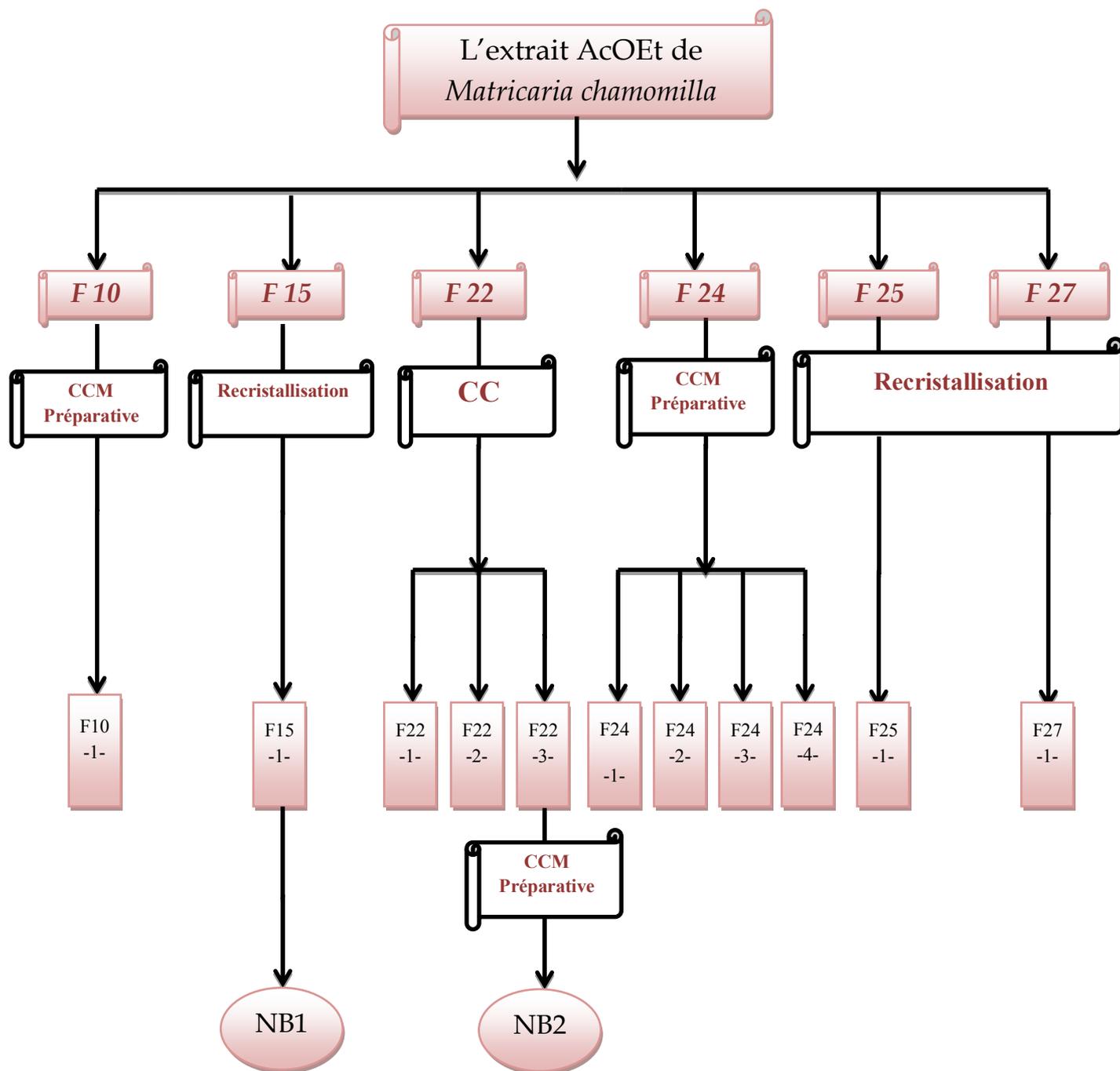


Figure III-4 : Résumé des travaux chromatographiques

**III-5- Méthodes de détermination de l'activité antioxydante :**

Il existe plusieurs méthodes spectrophotométriques de détermination de l'activité antioxydante. Les tests courants utilisés à cet effet sont [1]:

- ✓ le test de l'acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS)
- ✓ le test du diphénylpicrylhydrazyl (DPPH)
- ✓ le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) = ferricreducingantioxydant power

L'effet antioxydant de l'extrait envers le radical libre stable, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH°) a été évalué par la méthode d'Ohinshi [2].

De notre part, nous avons choisi le test au DPPH pour sa facilité de mise en œuvre en vue d'évaluer l'activité antioxydante de notre extrait Acétate.

**III-5-1-Principe du test au DPPH :**

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de coloration violette foncée et absorbe à 517 nm, lorsqu'il est réduit, en présence des composés anti radicalaires, il change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antioxydant de l'échantillon.

**Figure III-5: La structure de DPPH****III-5-2-Protocole expérimental :**

Le protocole utilisé est celui décrit par Chen et al. (2004) [3].

Le DPPH (Mm = 394,33g/mol) est solubilisé dans du méthanol absolu pour en avoir une solution de concentration connue.

- Les extraits ont été préparés par dissolution dans le méthanol absolu. Pour chaque extrait, on prépare une solution à raison de **1** mg/ml, à partir de laquelle on fait ensuite des dilutions pour en avoir une gamme de concentrations allant de **5** à **150** µg/ml.
- Le blanc de chaque extrait (pour chaque concentration) est préparé par le mélange de deux volumes égaux de solution et de méthanol.
- Le contrôle négatif est préparé par le mélange de deux volumes égaux de **DPPH** et de méthanol.
- Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard (l'acide ascorbique), préparé par le mélange de deux volumes égaux de **DPPH** et d'acide ascorbique.

La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à **517** nm au spectrophotomètre.

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du **DPPH** en solution. Celui-ci est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs (CN)} - \text{Abs (ech)}}{\text{Abs (CN)}} \times 100$$

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures.

**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- [1] Ozgen M, Reese RN, Tulio JR AZ, Scheerens JC, Miller AR. J. Agric. Food Chemistry. **2006**. Vol54, 1151-1157.
- [2] M. H. Morishita, H. Iwahashi, T. Shizuo, S. Yoshiaki, M. Kimura, R. Kido. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis. Phytochemistry. **1994**. Vol36, 579-583.
- [3] ChenC. N., Weng M.S. Wu C.L. et Lin J.K. E CAM. **2004**, Vol1(2), 175-185.



# CHAPITRE IV

#### IV-1- Identification structurale des produits isolés d'espèce *M. Chamomilla* :

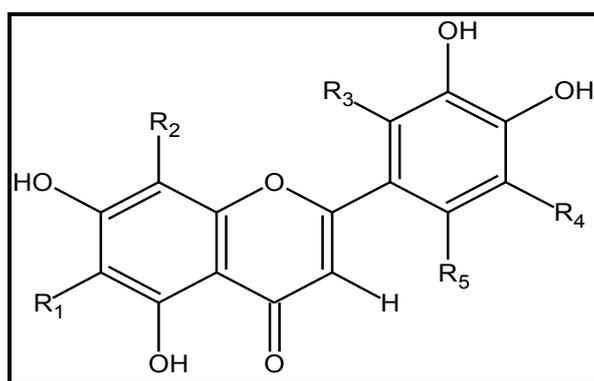
##### IV-1-1- Elucidation structurale du composé NB1 :

► La fluorescence noire violette sous lumière de Wood (365 nm) est caractéristique d'une flavone (pas d'OH libre en 3).

► Les données de la série spectrale UV figure VI montrent :

- ✓ Le maximum d'absorption de la bande I à 349nm dans le spectre enregistré dans le méthanol et la fluorescence noire violette confirme qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavone (pas de OH libre en 3).
- ✓ L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta \lambda = + 53 \text{ nm}$ ) indique la présence d'un OH libre en 4'.
- ✓ L'addition de NaOAc provoquant un déplacement bathochrome de la bande II ( $\Delta \lambda = + 4 \text{ nm}$ ) par rapport au spectre MeOH confirme la présence du OH libre en 7.
- ✓ L'effet hypsochrome de la bande I ( $\Delta \lambda = - 15 \text{ nm}$ ) du spectre enregistré dans le milieu ( $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ ) comparativement à celui enregistré après addition de  $\text{AlCl}_3$ , indique la présence d'un système ortho-di OH sur le cycle B. ce qui est confirmé par l'effet bathochrome ( $\lambda \Delta = +24 \text{ nm}$ ) de la bande I on comparant le spectre enregistré dans NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$  avec celui dans le MeOH.
- ✓ L'effet bathochrome de la bande I en comparant le spectre  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl} / \text{MeOH}$  ( $\lambda \Delta = + 34 \text{ nm}$ ), indique la présence d'un OH libre en 5.

Ces données mènent à la structure partielle suivante :

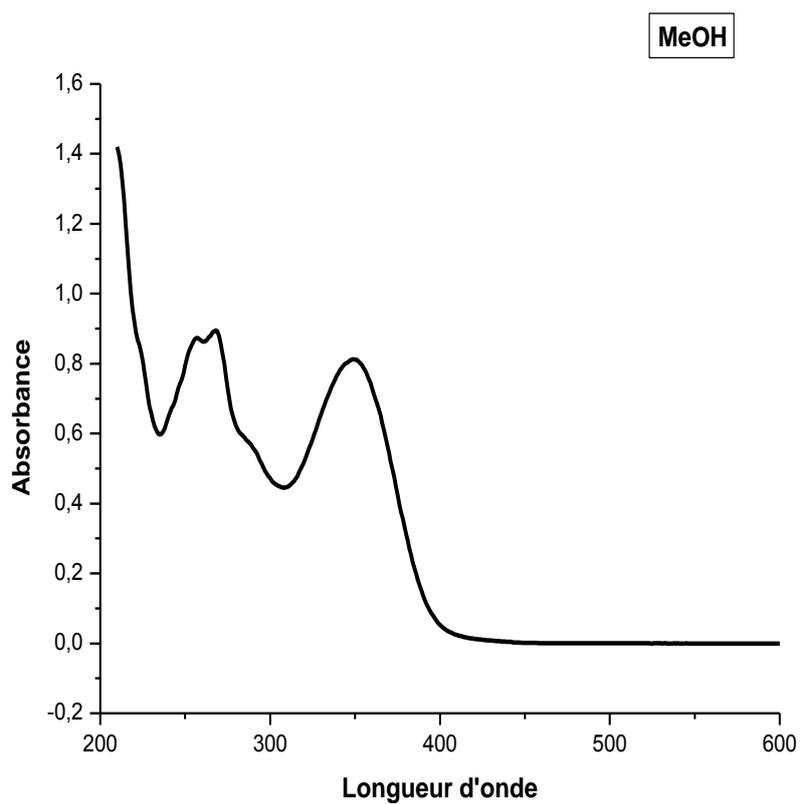


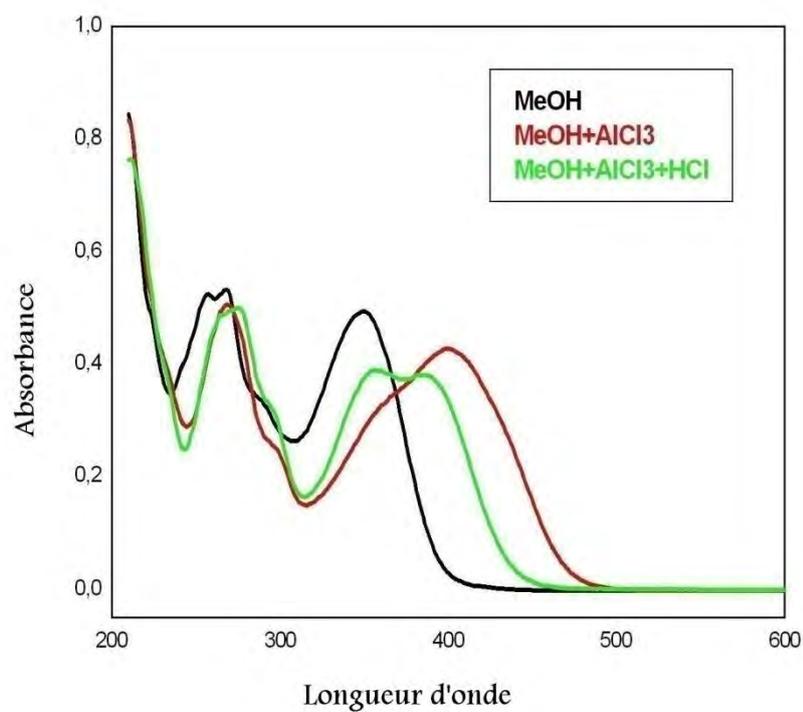
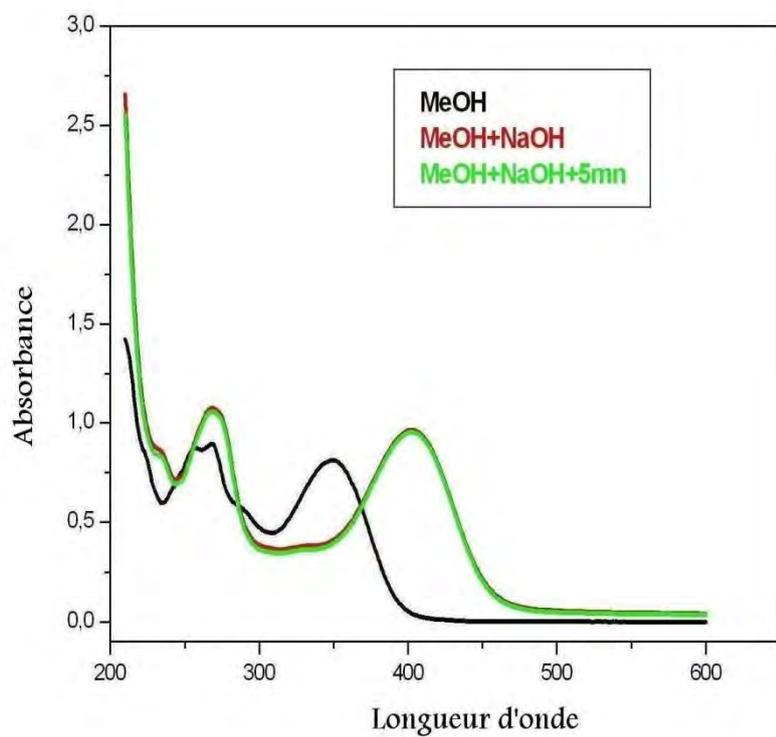
Avec R1, R2, R3, R4, R5 différents d'OH.

L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le tableau :

<i>Réactif</i>	<i>Bande I</i>	<i>Bande II</i>	<i>Autre bande</i>	<i>Commentaire</i>
MeOH	349	268	/	Flavone (pas d'OH en 3)
+NaOH	402	268	/	OH libre en 4'
+AlCl <sub>3</sub>	398	268	/	/
+AlCl <sub>3</sub> +HCl	383	274	/	OH libre en 5 Ortho di-OH en B
+NaOAc	381	272	/	OH libre en 7
+NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	373	262	/	Ortho di-OH en B

Tableau IV-1 : Données de la série spectrale UV du produit NB1.





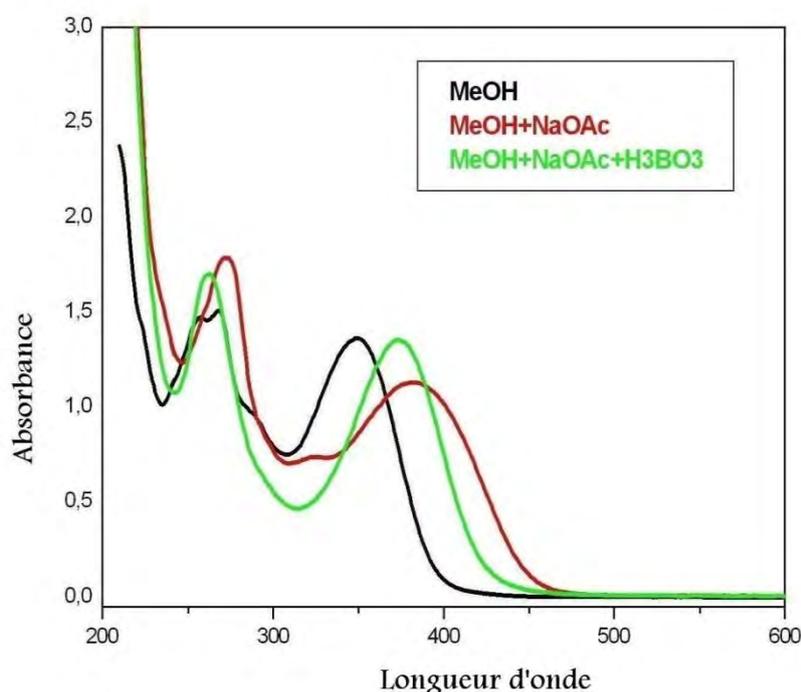


Figure IV-1 : Les spectres UV du composé NB1

► L'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  montre:

- ✓ Un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à  $\delta = 6,26\text{ppm}$  avec une constante de couplage  $J = 2,1\text{Hz}$  (un couplage méta) attribuable à H-6.
- ✓ Un autre signal sous forme de doublet et également d'intégration 1H à  $\delta = 6,54\text{ ppm}$  avec la même constante de couplage ( $J=2,1\text{Hz}$  ; un couplage méta) attribuable à H-8.
- ✓ Un signal sous forme de singulet qui apparaît à  $\delta=6,60\text{ppm}$ , avec une intégration 1H attribuable à H3. Ce ci confirme l'absence du OH donc a structure d'un flavone.
- ✓ Par ailleurs, le signal sous forme de doublet ( $J = 8,14\text{ Hz}$  ; un couplage ortho) qui apparaît à  $\delta = 7,02\text{ ppm}$ , avec une intégration de 1 H est attribuable à H-5'. Ce ci confirme l'hydroxylation des positions 3' et 4' du cycle B.
- ✓ Le signal à  $\delta = 7,51\text{ ppm}$ , d'intégration 1H sous forme d'un doublet de doublet, ( $J = 8,18\text{ Hz}$  ; un couplage ortho et  $J= 2,2\text{Hz}$  ; un couplage méta) attribuable à H-6'.
- ✓ Le signal à  $\delta = 7,47\text{ ppm}$ , d'intégration 1H sous forme d'un doublet

( $J = 2.1$  Hz ; un couplage méta) correspondant au proton H-2'.

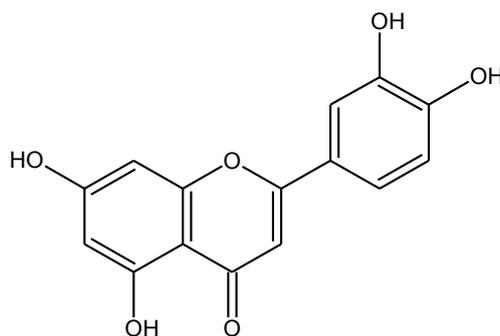
Les données relatives à la RMN 1H sont reportées sur le **tableau 06** :

Déplacement chimique $\delta$ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J(Hz)	Attribution
6.26	1 H	d	2.13	H-6
6.54	1 H	d	2.14	H-8
6.60	1 H	s	/	H-3
7.02	1 H	dd	8.14	H-5'
7.47	1 H	d	2.28	H-2'
7.51	1 H	m	8.18 2,2	H-6'

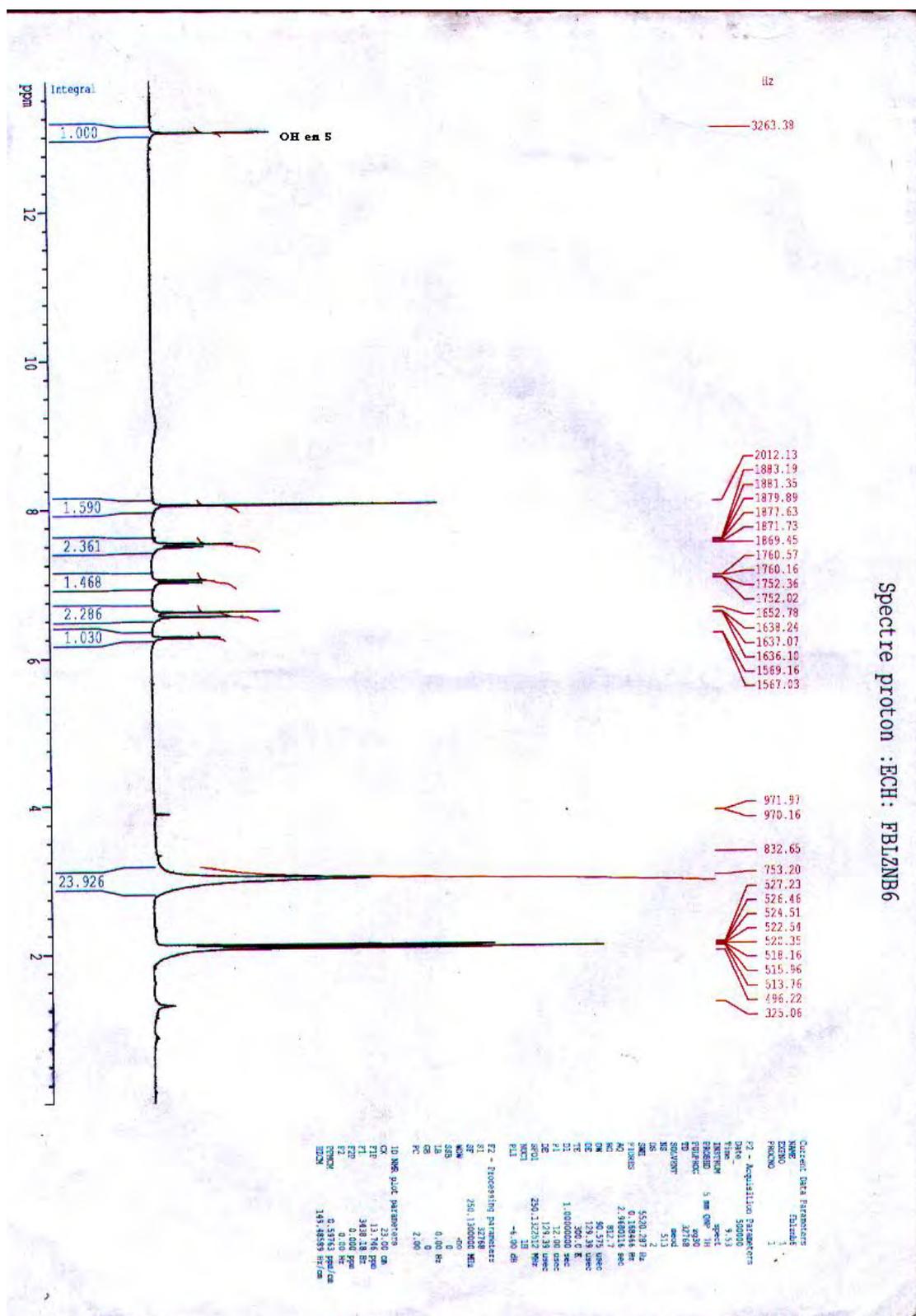
**Tableau IV-2 : Données de la spectroscopie RMN 1H (DMSO; 250 MHz)**

► L'étude du spectre RMN- $^{13}\text{C}$  confirme cette structure et permet l'attribution de tous les atomes de carbone aux noyaux respectif.

On arrive à déterminer la structure finale du produit NB1 qui correspond à la lutéoline.



**Lutéoline**



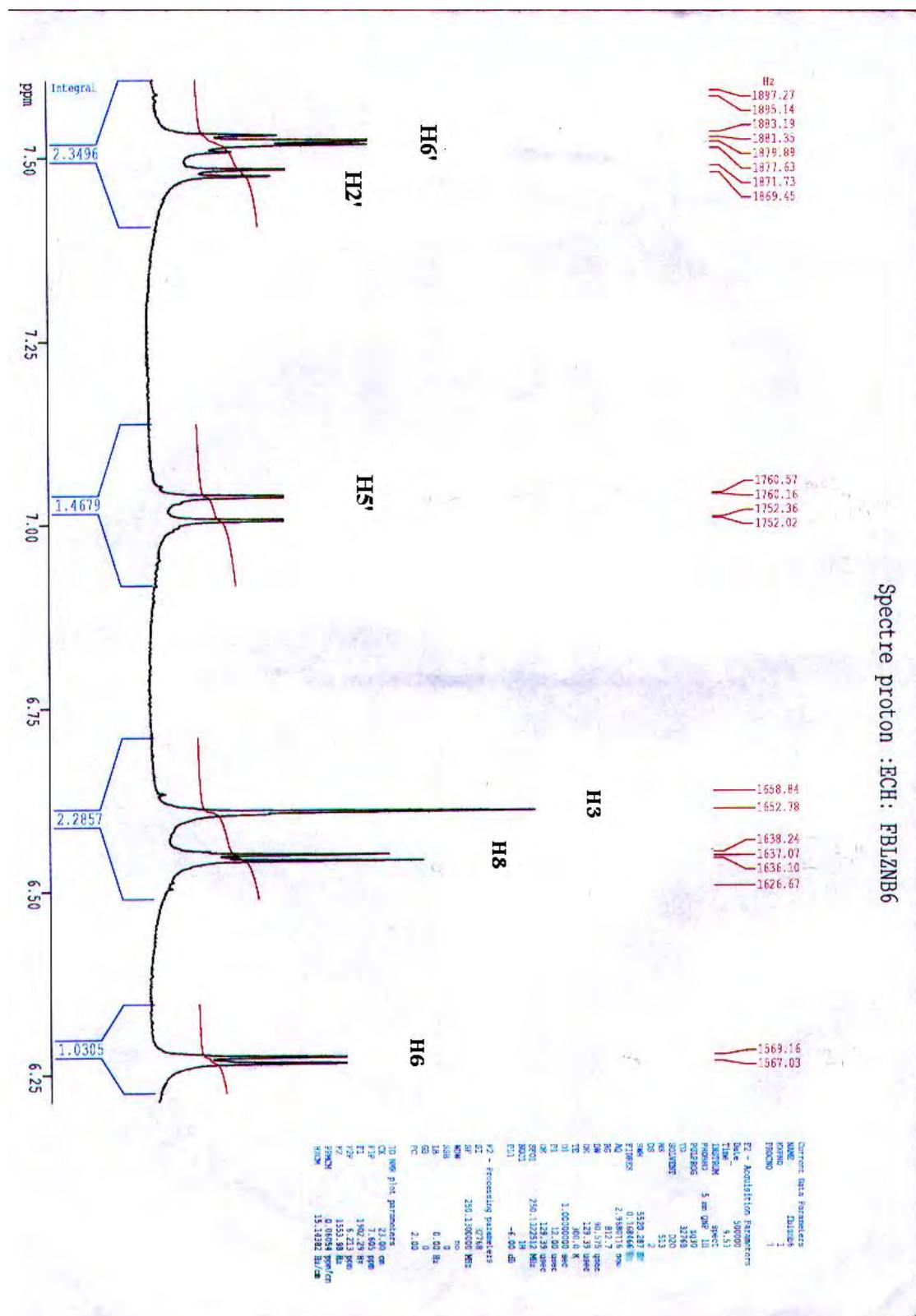


Figure IV-2: Spectres RMN H<sup>1</sup> du produit NB1.

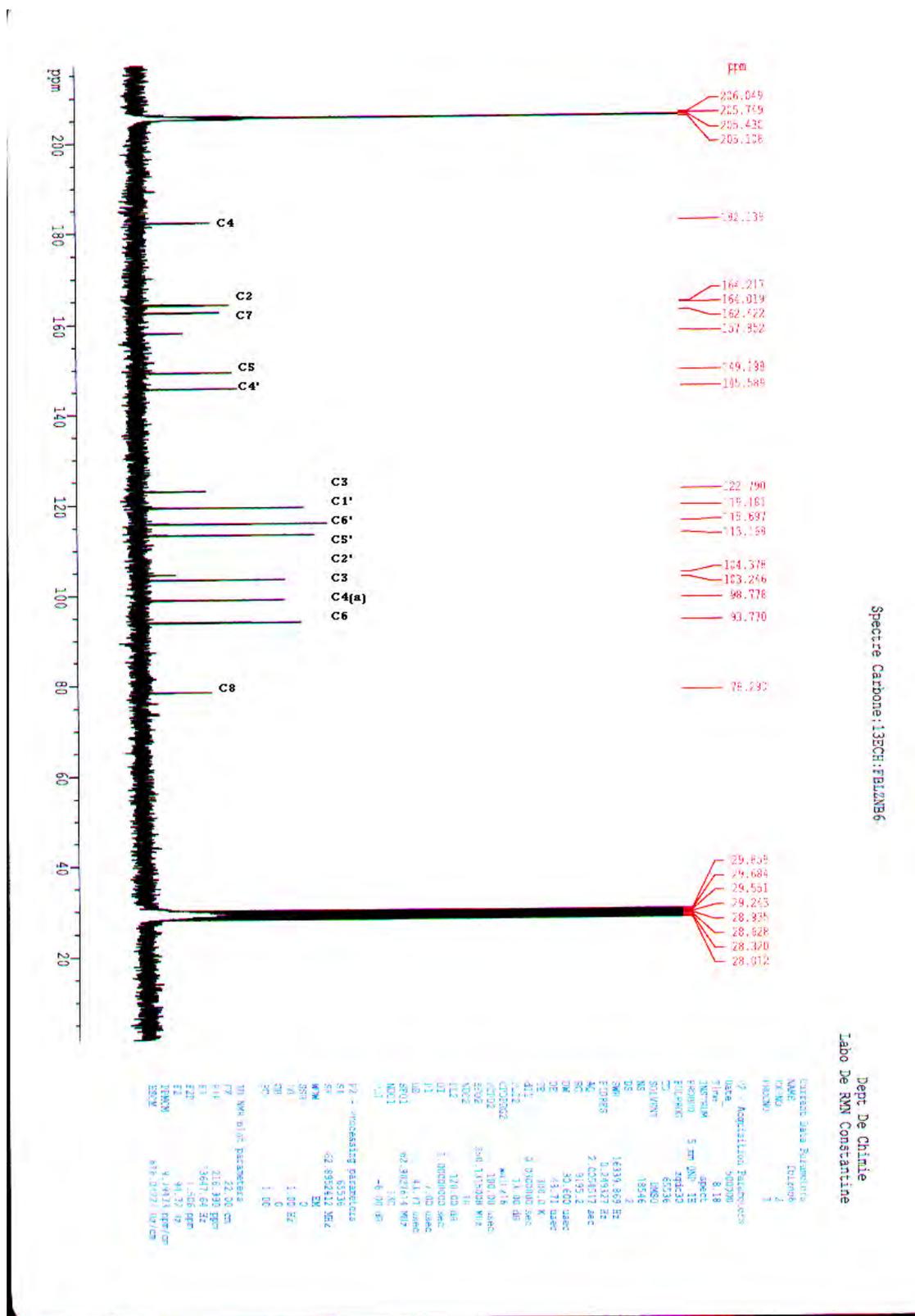


Figure IV-3 : Spectre RMN C<sup>13</sup> du produit NB1.

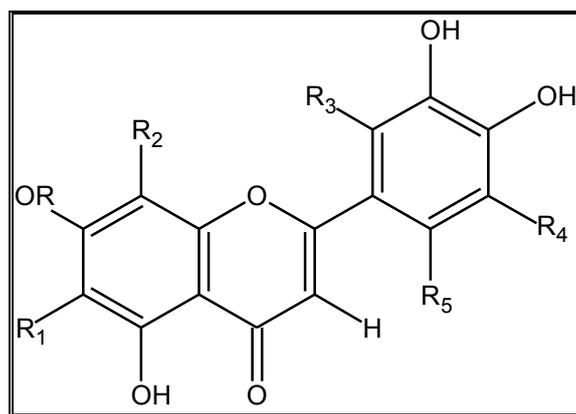
## IV-1-2-Elucidation structurale du composé NB2 :

► La fluorescence noire violette sous lumière de Wood (365 nm) est caractéristique d'une flavone (pas d'OH libre en 3).

► Les données de la série spectrale UV figure VI montrent :

- ✓ Le maximum d'absorption de la bande I à 349nm dans le spectre enregistré dans le méthanol et la fluorescence noire violette confirme qu'il s'agit d'un flavonoïde de type flavone (pas de OH libre en 3).
- ✓ L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ( $\Delta \lambda = + 45 \text{ nm}$ ) indique la présence d'un OH libre en 4'.
- ✓ L'addition de NaOAc ne donne pas un déplacement bathochrome de la bande II par rapport au spectre MeOH, ce qui confirme la présence du OR en 7.
- ✓ L'effet hypsochrome de la bande I ( $\Delta \lambda = - 38 \text{ nm}$ ) du spectre enregistré dans le milieu ( $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ ) comparativement à celui enregistré après addition de  $\text{AlCl}_3$ , indique la présence d'un système ortho-di OH sur le cycle B. ce qui est confirmé par l'effet bathochrome ( $\lambda \Delta = +24 \text{ nm}$ ) de la bande I on comparant le spectre enregistré dans NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$  avec celui dans le MeOH.
- ✓ L'effet bathochrome de la bande I en comparant le spectre  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl} / \text{MeOH}$  ( $\lambda \Delta = + 11 \text{ nm}$ ), indique la présence d'un OH libre en 5.

Ces données mènent à la structure partielle suivante :

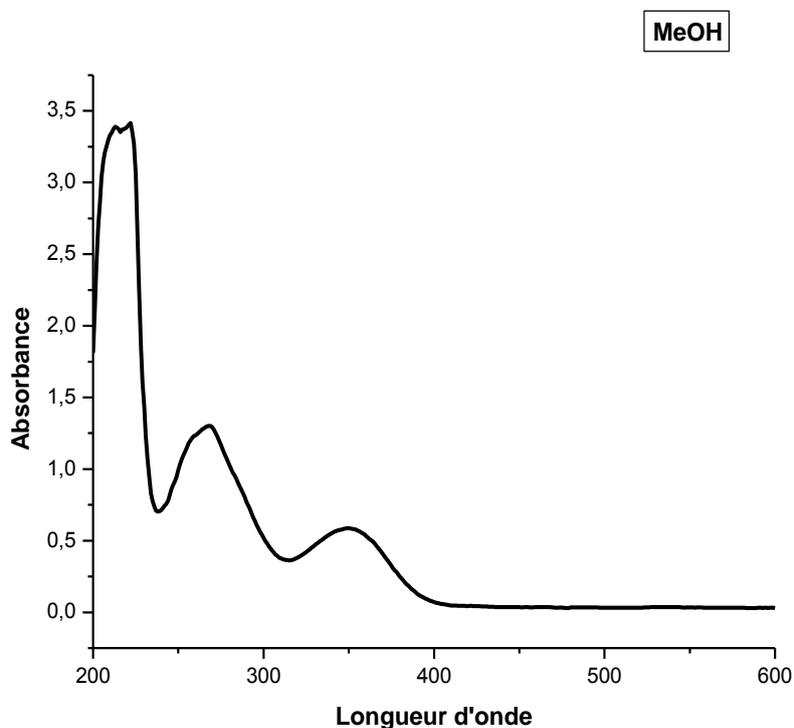


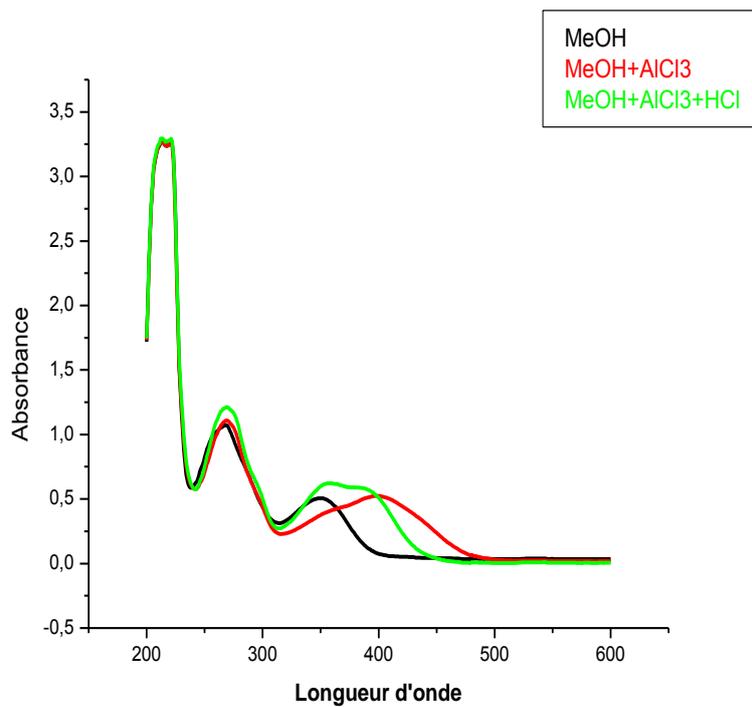
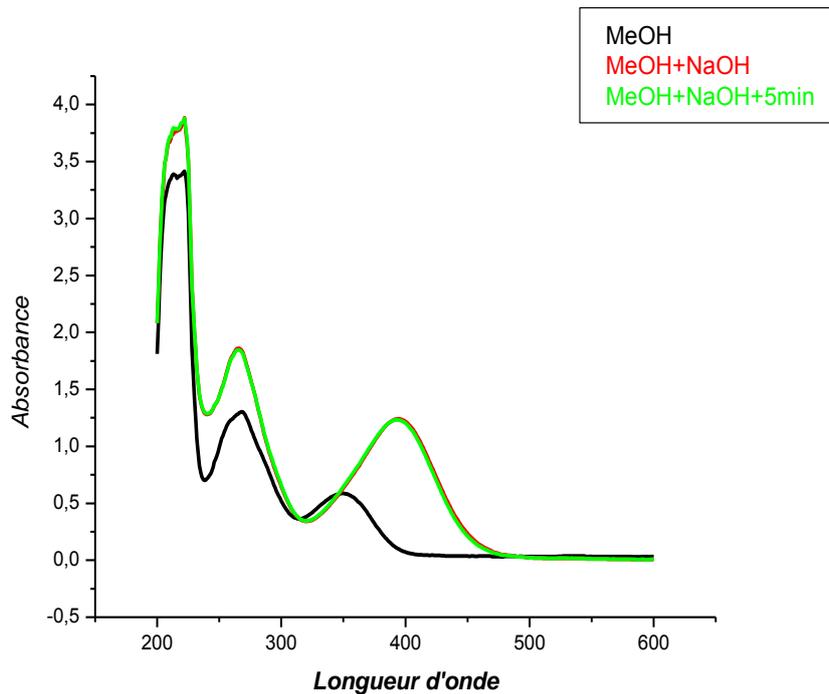
Avec R1, R2, R3, R4, R5 différents d'OH.

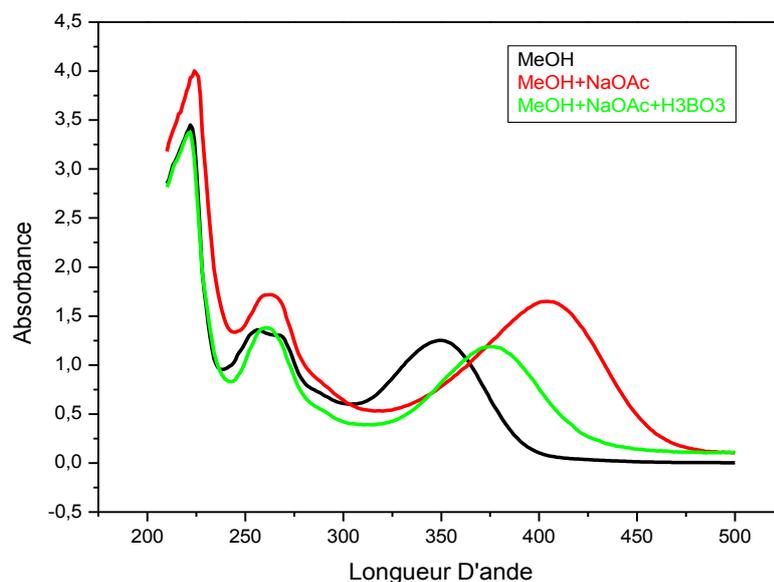
L'ensemble des données de la série spectrale UV est reporté dans le tableau :

<i>Réactif</i>	<i>Bande I</i>	<i>Bande II</i>	<i>Autre bande</i>	<i>Commentaire</i>
MeOH	349	269	/	Flavone (pas d'OH en 3)
+NaOH	394	266	/	OH libre en 4'
+AlCl <sub>3</sub>	398	269	/	/
+AlCl <sub>3</sub> +HCl	360	269	/	OH libre en 5 Présence du système Ortho di-OH en B
+NaOAc	381	269	/	OR en 7
+NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	373	263	/	Présence du système Ortho di-OH en B

Tableau IV-3- Données de la série spectrale UV du produit NB2.







**Figure IV-4 : la série UV-VIS du produit NB2.**

► L'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  montre:

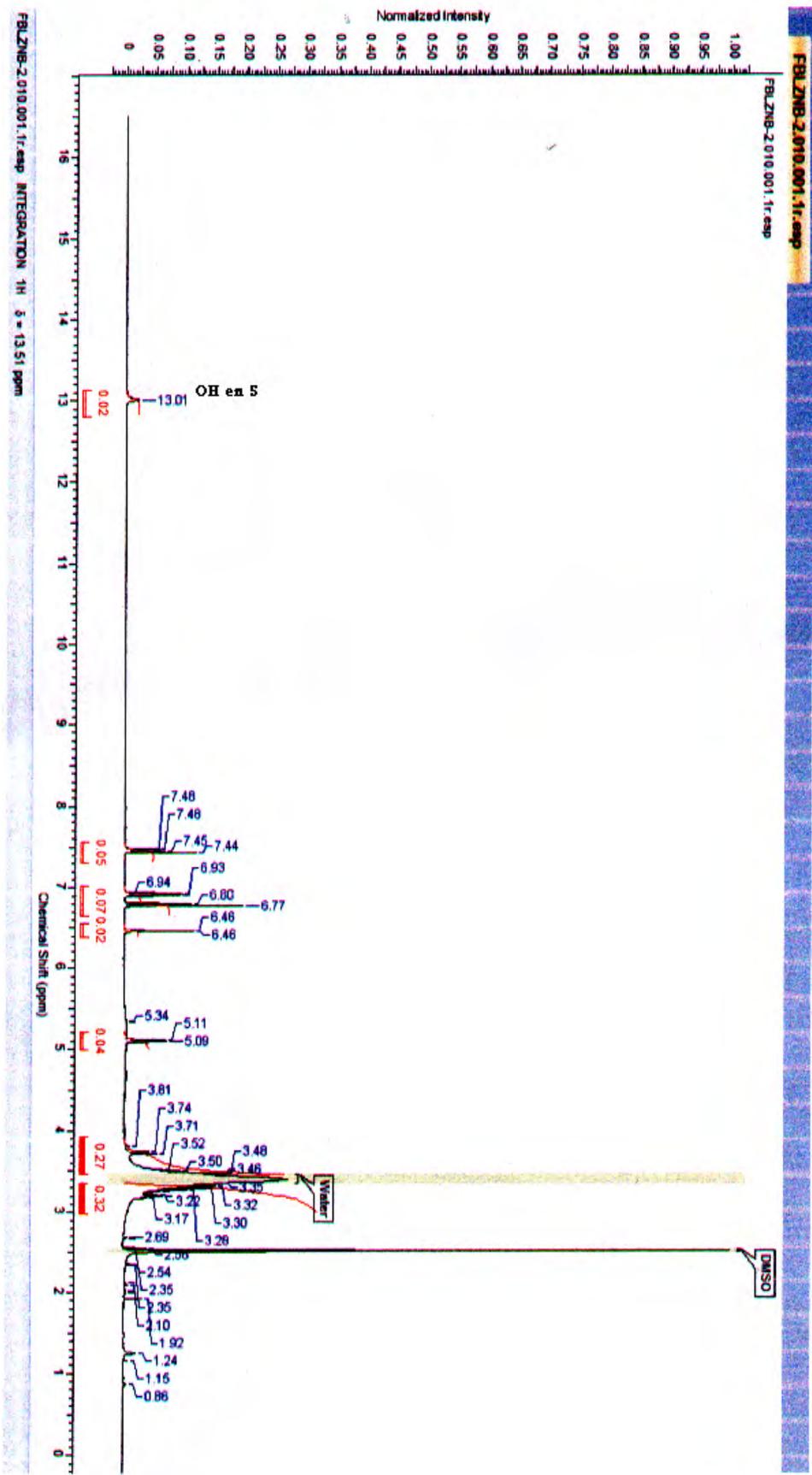
- ✓ Un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à  $\delta=5,10$  ppm avec une constante de couplage de 8 Hz attribuable au H anomérique.
- ✓ Un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à  $\delta = 6,46$ ppm avec une constante de couplage  $J = 2,4$  Hz (un couplage méta) attribuable à H-6.
- ✓ Un signal sous forme de singulet qui apparaît à  $\delta=6,77$ ppm, avec une intégration 1H attribuable à H3. Ce ci confirme la structure d'un flavone.
- ✓ Un autre signal sous forme de doublet et également d'intégration 1H à  $\delta = 6,80$  ppm avec la même constante de couplage ( $J= 2,4$  Hz ; un couplage méta) attribuable à H-8.
- ✓ Par ailleurs, le signal sous forme de doublet ( $J = 8$  Hz ; un couplage ortho) qui apparaît à  $\delta = 6,92$  ppm, avec une intégration de 1 H est attribuable à H-5'. Ceci confirme l'hydroxylation des positions 3' et 4' du cycle B.
- ✓ Le signal à  $\delta = 7,47$  ppm, d'intégration 1H sous forme d'un doublet de doublet, ( $J = 8$  Hz ; un couplage ortho et  $J= 2,4$  Hz ; un couplage méta) attribuable à H-6'.
- ✓ Le signal à  $\delta = 7,43$  ppm, d'intégration 1H sous forme d'un doublet ( $J= 2,4$  Hz ; un couplage méta) correspondant au proton H-2'.

Les données relatives à la RMN 1H sont reportées sur le **tableau IV-4**:

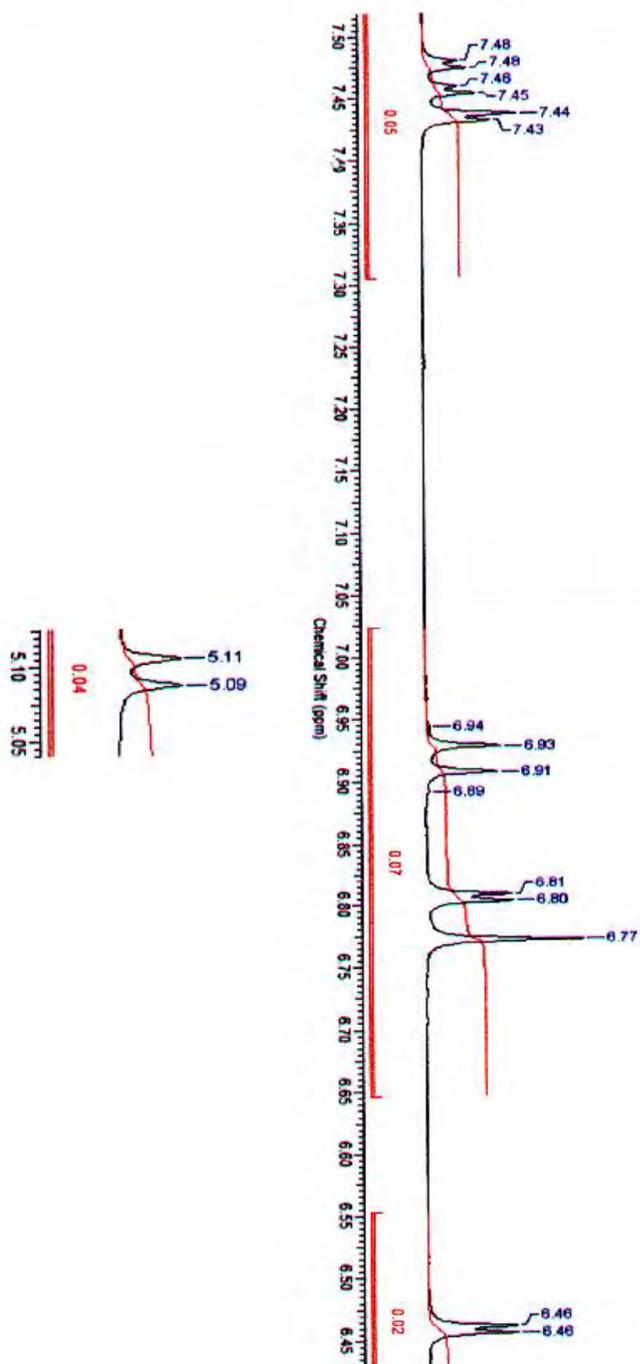
Déplacement chimique $\delta$ (ppm)	Intégration	Multiplicité	J(Hz)	Attribution
6.46	1 H	d	2,4	H-6
6.77	1 H	s	/	H-3
6.80	1 H	d	2,4	H-8
6.92	1 H	d	8	H-5'
7.43	1 H	d	2,4	H-2'
7.47	1 H	dd	2,4(méta) 8(ortho)	H-6'

**Tableau IV-4: Données de la spectroscopie RMN 1H (DMSO; 400 MHz).**

Spectre global RMN du proton



Agrandissement des aromatiques



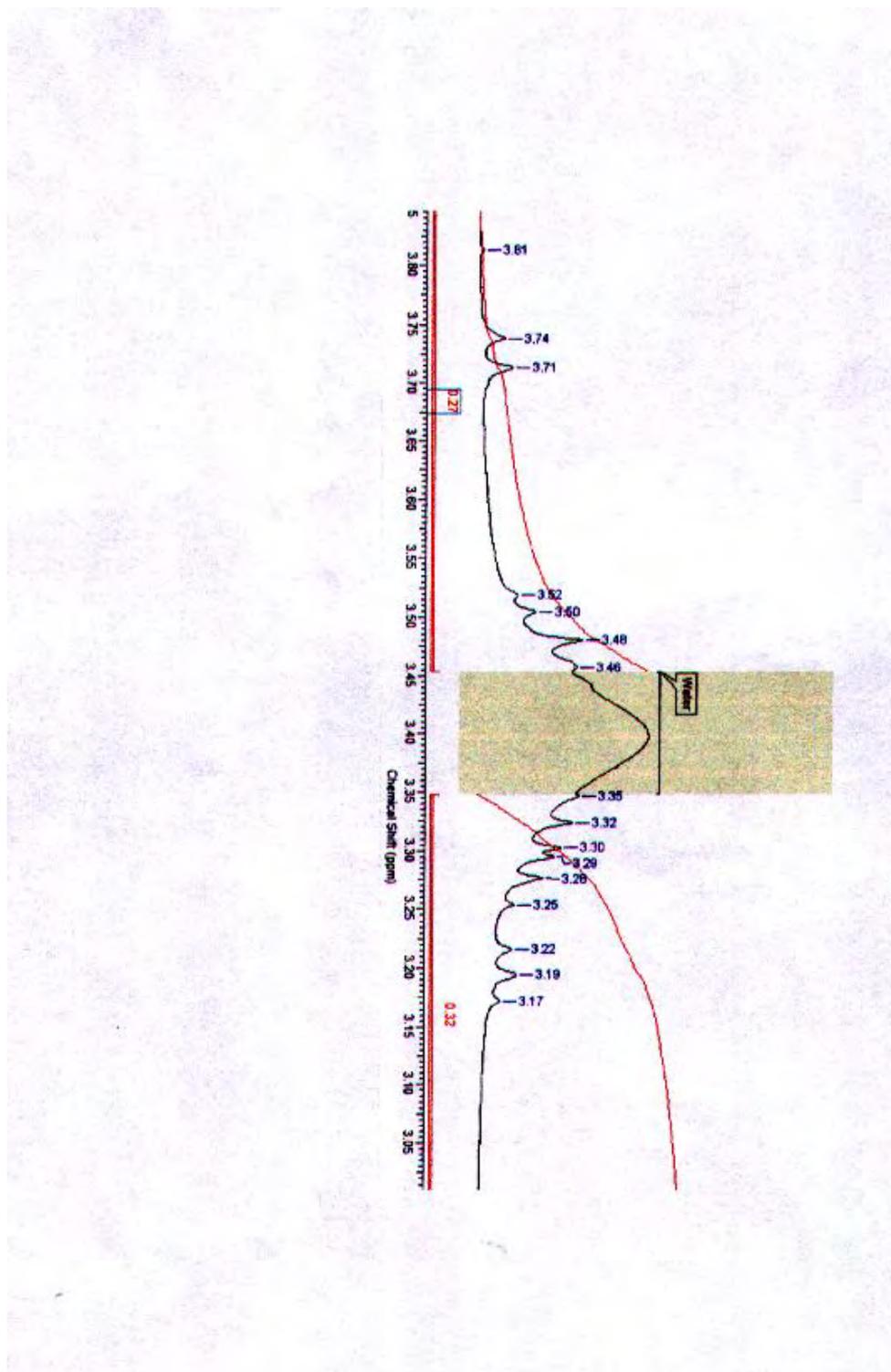


Figure IV-5: Spectres RMN H<sup>1</sup> du produit NB2.

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  du composé NB2 présente vingt et un signaux distincts dont quinze correspondent aux signaux d'un flavonoïde, et les six signaux restant sur le spectre appartiennent au sucre.

Les déplacements chimiques en RMN  $^{13}\text{C}$  et les attributions des signaux sont présentés dans le tableau (Tableau IV-6)

**Tableau IV-5: Données de la spectrométrie RMN  $^{13}\text{C}$  du composé NB2.**

N° de carbone	Déplacement chimique
<b>C8</b>	<b>99,7</b>
<b>C1''</b>	<b>99,51</b>
<b>C6</b>	<b>99,89</b>
<b>C3</b>	<b>103,07</b>
<b>C10</b>	<b>105,31</b>
<b>C2''</b>	<b>113,48</b>
<b>C5'</b>	<b>115,96</b>
<b>C6'</b>	<b>119,51</b>
<b>C1'</b>	<b>121,19</b>
<b>C3'</b>	<b>145,82</b>
<b>C4'</b>	<b>150,12</b>
<b>C9</b>	<b>156,91</b>
<b>C7</b>	<b>162,91</b>
<b>C2</b>	<b>164,84</b>
<b>C4</b>	<b>181,84</b>

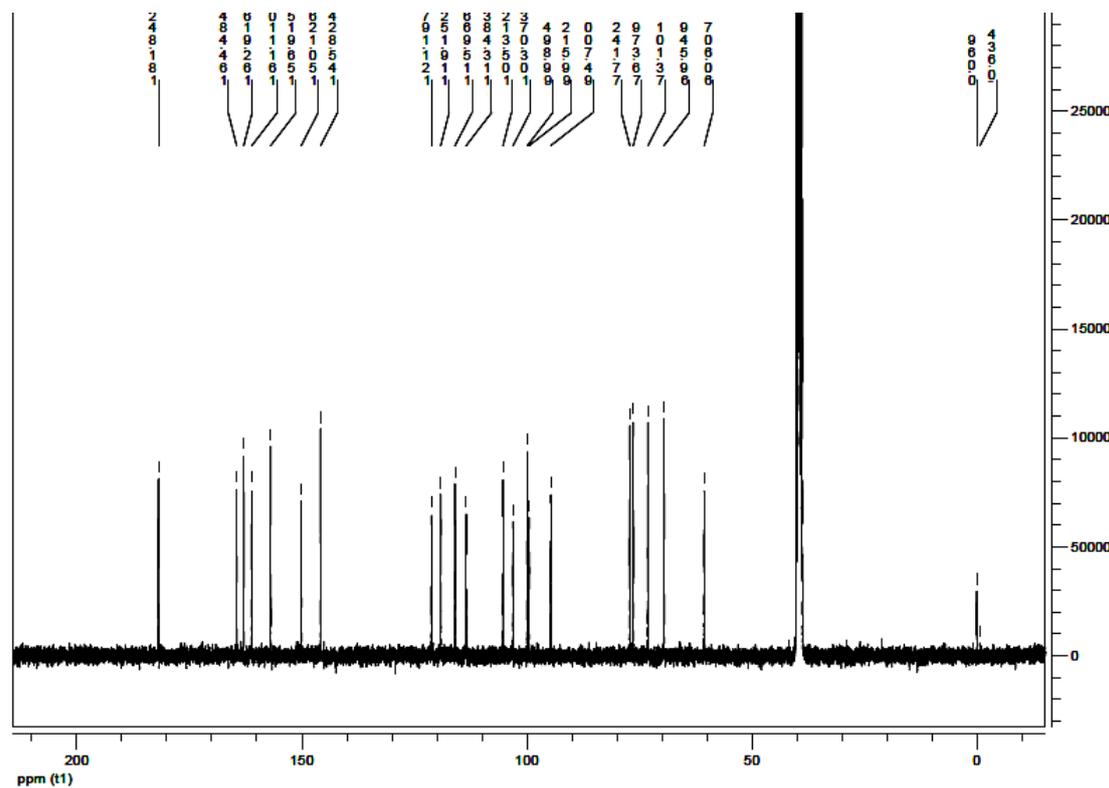
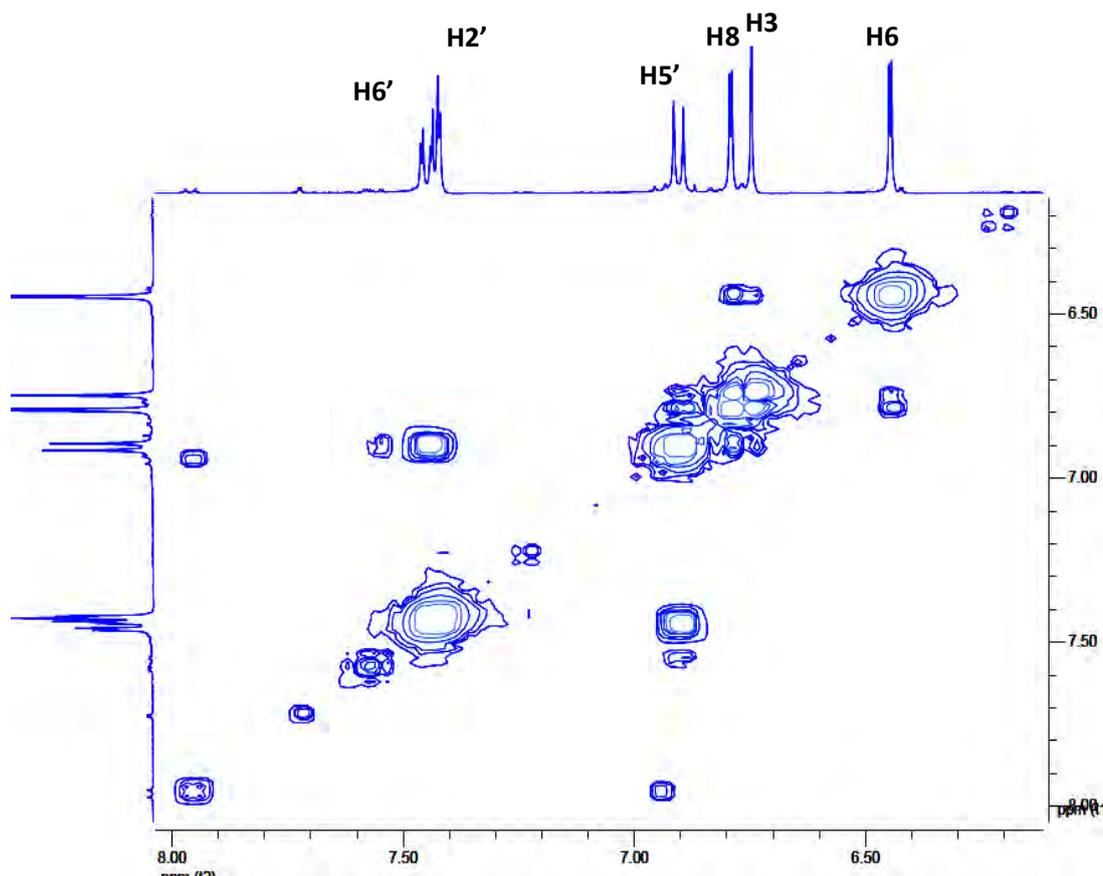


Figure IV-6: Spectres RMN C<sup>13</sup> du produit NB2.

L'étude du spectre relatif à l'expérience COSY (figure IV-7) met en évidence les corrélations proton-proton à longue distance, permettant de tirer les indications des protons attribués.



**Figure IV-7: Spectre COSY (500 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm) du composé NB2**

► L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (figure IV-8) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants ainsi :

- Le proton H1'' du glucose permet l'attribution du signal à  $\delta = 99,89$  ppm à l'atome de carbone C1'' du glucose.
- Le proton H6 permet l'attribution du signal à  $\delta = 99,51$  ppm à l'atome de carbone C6.
- Le proton H3 permet l'attribution du signal à  $\delta = 103,07$  ppm à l'atome de carbone C3.

- Le proton H8 permet l'attribution du signal à  $\delta = 94,7$  ppm à l'atome de carbone C8.
- Le proton H5' permet l'attribution du signal à  $\delta = 115,96$  ppm à l'atome de carbone C5'.
- Le proton H2' permet l'attribution du signal à  $\delta = 113,48$  ppm à l'atome de carbone C2'.
- Le proton H6' permet l'attribution du signal à  $\delta = 119,51$  ppm à l'atome de carbone C6'.

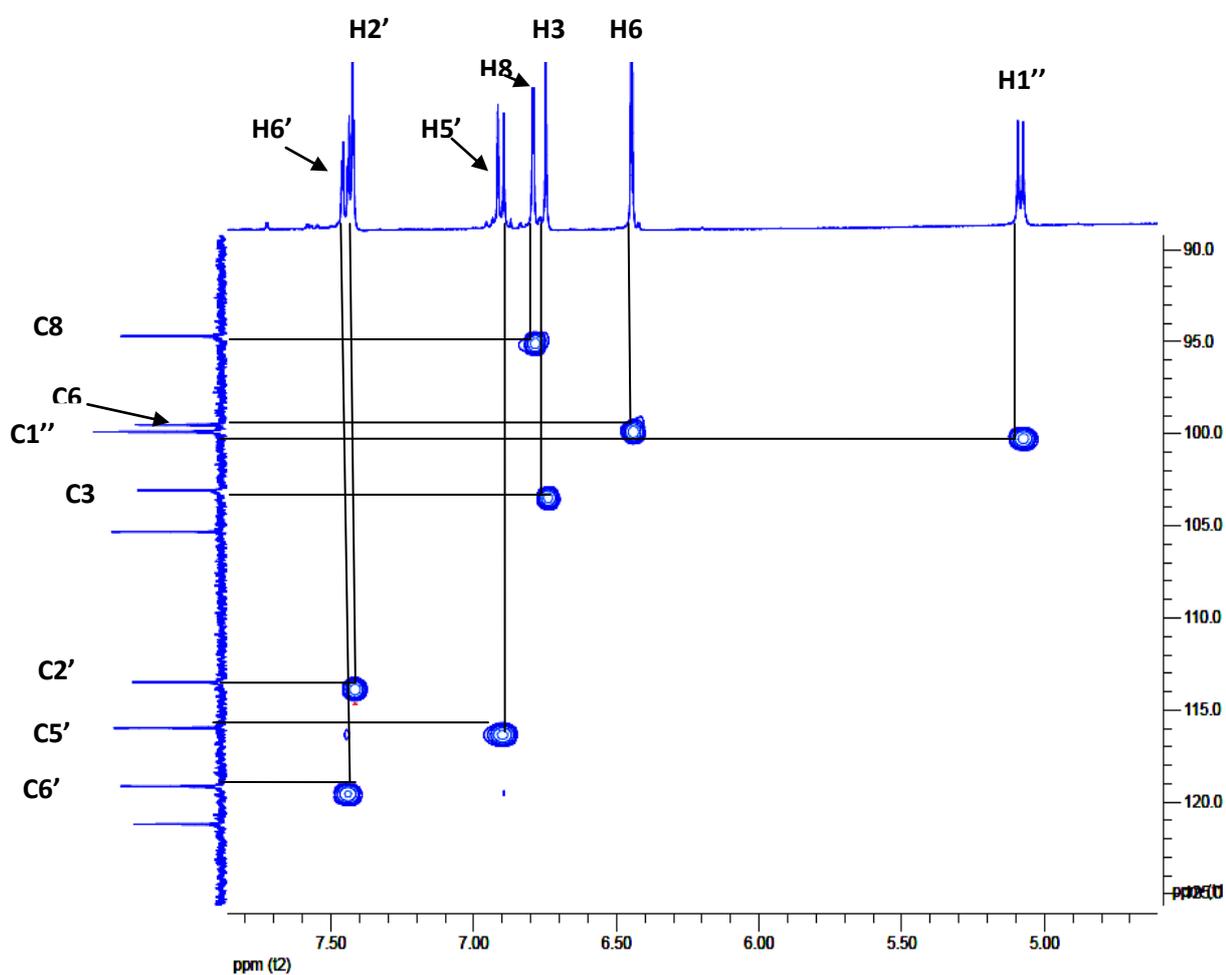
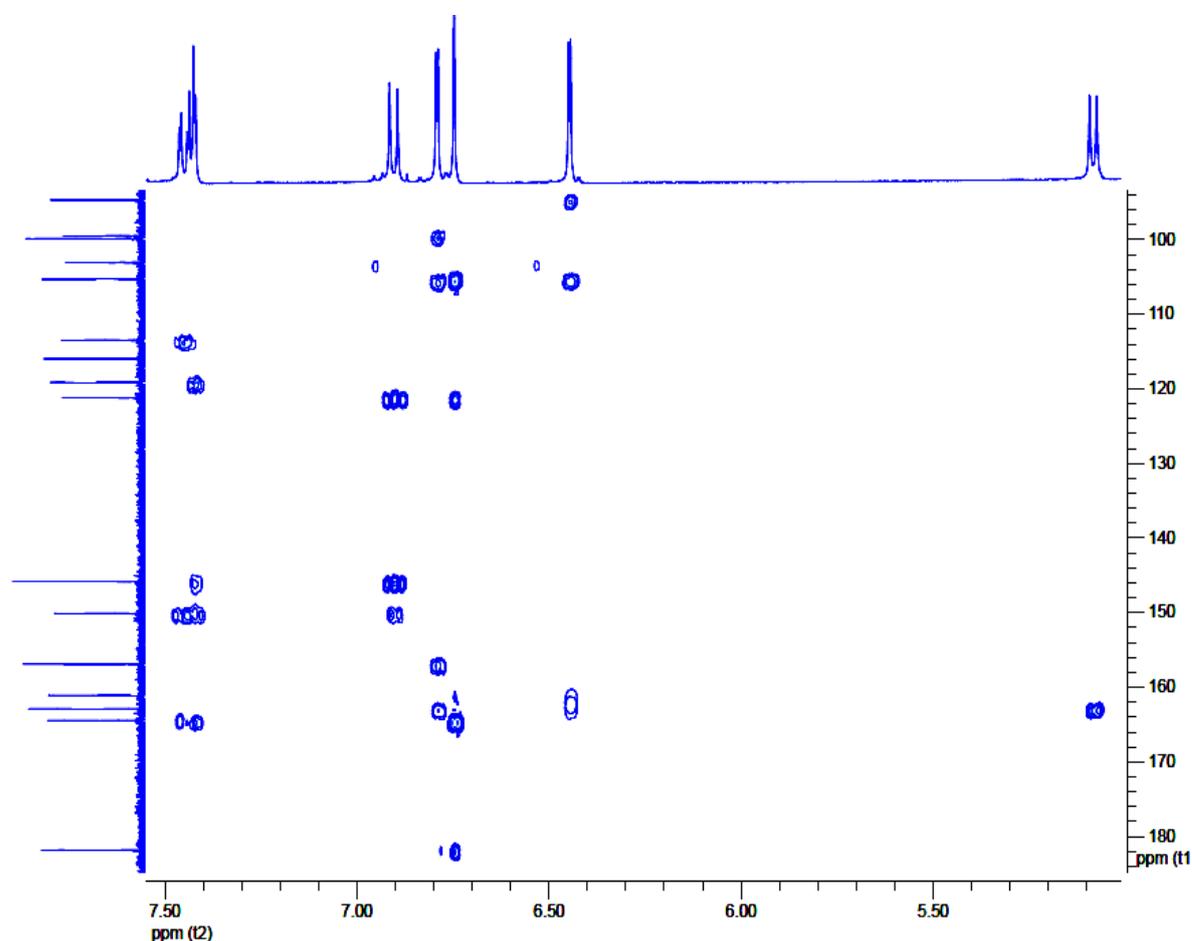


Figure IV-8: Spectre HSQC (500 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm) du composé NB2

► L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC (figureIV-9) met en évidence les corrélations proton-carbone à longue distance, permettant de tirer les indications suivantes :

- ✚ Le proton H1'' donne une tache de corrélation avec l'atome de carbone à 99,89 ppm attribuable à C7, cela nous confirme que le sucre est en cette position.
- ✚ Le proton H6 donne les taches de corrélation suivantes :
  - La première avec l'atome de carbone à 94,7 ppm attribuable à C8.
  - La deuxième avec l'atome de carbone à 105,31 ppm attribuable à C10.
  - La troisième avec l'atome de carbone à 162,91 ppm attribuable à C7.
- ✚ Le proton H3 donne les taches de corrélation suivantes :
  - La première avec l'atome de carbone à 105,31 ppm attribuable à C10.
  - La deuxième avec l'atome de carbone à 99,89 ppm attribuable à C1'.
  - La troisième avec l'atome de carbone à 164,84 ppm attribuable à C2.
  - La quatrième avec l'atome de carbone à 181,84 ppm attribuable à C4.
- ✚ Le proton H8 donne les taches de corrélation suivantes :
  - La première avec l'atome de carbone à 99,51 ppm attribuable à C6.
  - La deuxième avec l'atome de carbone à 105,31 ppm attribuable à C10.
  - La troisième avec l'atome de carbone à 156,91 ppm attribuable à C9.
  - La quatrième avec l'atome de carbone à 162,91 ppm attribuable à C7.
- ✚ Le proton H5' donne les taches de corrélation suivantes :
  - La première avec l'atome de carbone à 121,19 ppm attribuable à C1'.
  - La deuxième avec l'atome de carbone à 145,32 ppm attribuable à C3'.
  - La troisième avec l'atome de carbone à 150,12 ppm attribuable à C4'.
- ✚ Le proton H2' donne les taches de corrélation suivantes :
  - La première avec l'atome de carbone à 119,51 ppm attribuable à C6'.
  - La deuxième avec l'atome de carbone à 145,32 ppm attribuable à C3'.
  - La troisième avec l'atome de carbone à 150,12 ppm attribuable à C4'.
  - La quatrième avec l'atome de carbone à 164,84 ppm attribuable à C2.
- ✚ Le proton H6' donne les taches de corrélation suivantes :
  - La première avec l'atome de carbone à 113,48 ppm attribuable à C2'.
  - La deuxième avec l'atome de carbone à 150,12 ppm attribuable à C4'.
  - La troisième avec l'atome de carbone à 164,48 ppm attribuable à C2.



Spectre IV-9: Spectre HMBC (500 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm) du composé NB2

► Il nous reste de confirmer la nature du sucre en réalisant l'hydrolyse acide

Les aglycones ont été obtenus par hydrolyse acide comme suit :

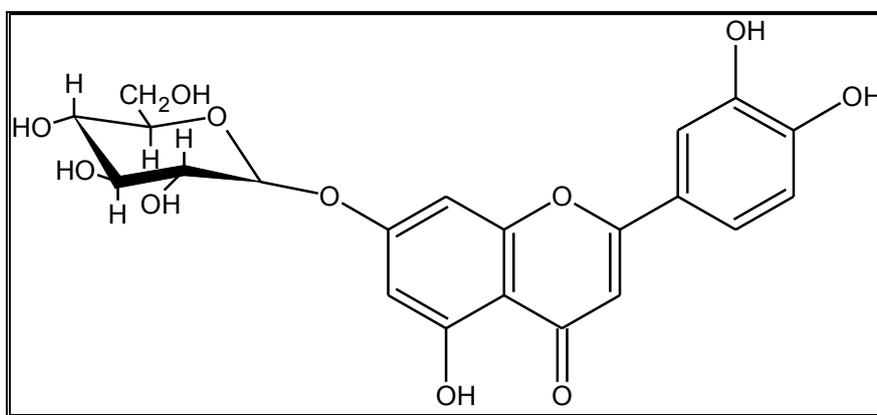
1mg de composé ont été solubilisés dans 5ml de HCl 2N, puis maintenus à reflux pendant 2h. Les aglycones ont été ensuite extraits avec 3 x 20 ml d'AcOEt. Les phases organiques regroupées sont ensuite rincées avec 3 x 20ml d'eau, évaporées à sec et solubilisées dans une petite quantité de MeOH. Une CCM a été réalisée avec chacune des phases et les échantillons de référence à disposition afin d'identifier l'aglycone. La solution aqueuse est évaporée à sec et le résidu repris dans 1ml de MeOH afin de déterminer par comparaison avec des témoins, l'identité des sucres par CCM. Le réactif (réactif à la diphenylamine) utilisé pour détecter ces sucres est le

suisant : 0,5 g de diphénylamine sont dissous dans 25 ml de méthanol, 0,5 ml d'aniline et 2,5 ml d'acide *o*-phosphorique à 85 % sont ajoutés.

La plaque CCM obtenu après pulvérisation est montrée dans la figure IV-7.

La CCM nous montre clairement qu'on a un flavone glycosylé dont le sucre est le glucose.

Nous arrivons alors de mettre une structure finale du produit NB2, c'est la lutéoline 7-glucose.



**3',4',5-trihydroxy-7-O-glucosylflavone**

**Lutéoline 7-O-β-glucose**

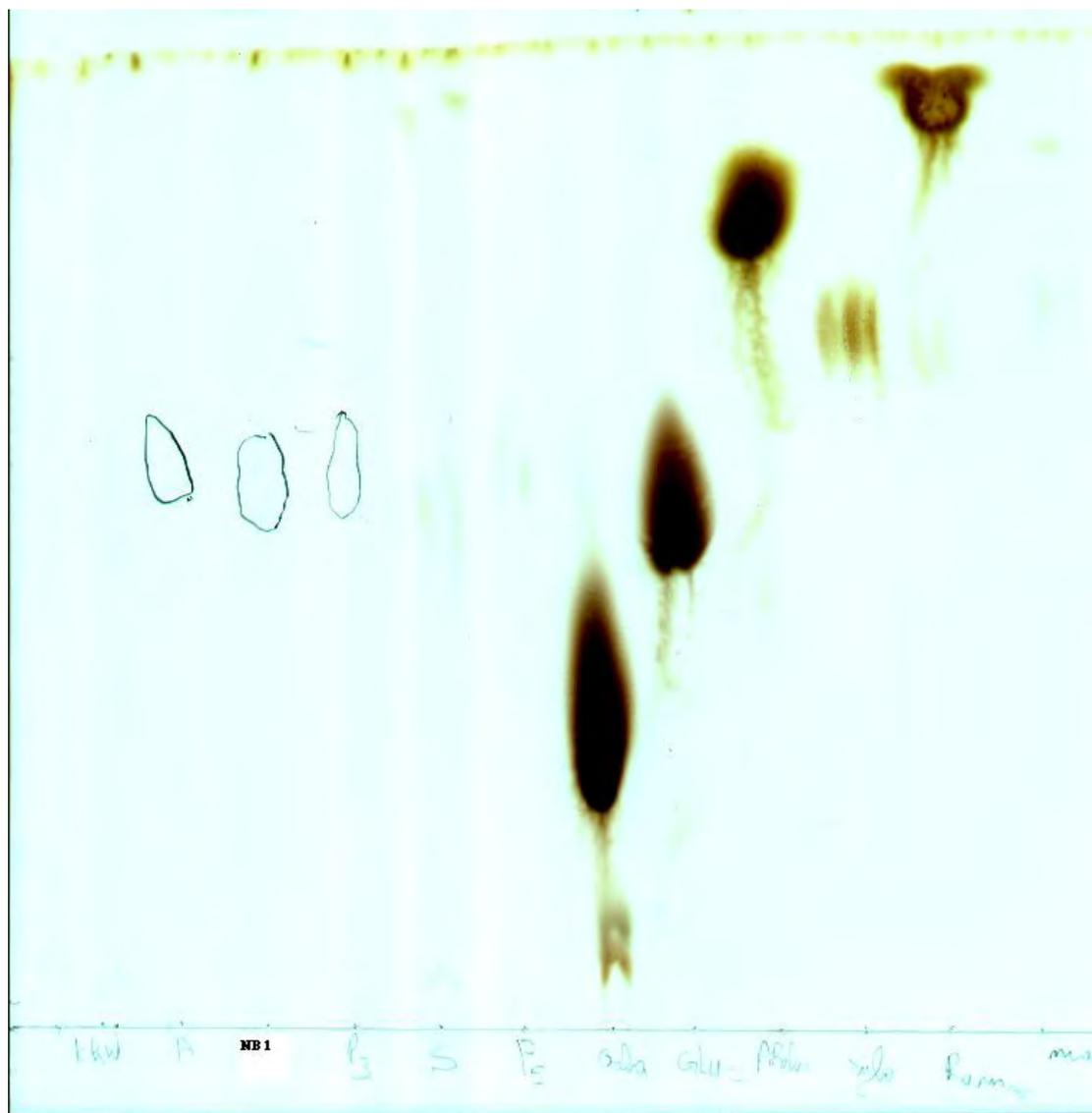


Figure IV-10 : Hydrolyse acide du produit NB2.

**IV-2- Discussion de l'activité antioxydante testée par la méthode du DPPH :**

Cette étude porte sur l'activité antioxydante de l'extrait acétate d'éthyle des parties aériennes de l'espèce *Matricaria chamomilla* par rapport à l'acide ascorbique et l'extrait butanolique. Les résultats obtenus montrent que l'extrait étudié a manifesté un effet scavenger.

La figure IV-8 montre que l'acide ascorbique est un excellent piègeur de radicaux libres (IC50=5µg ml/l). Ainsi, les différents extraits de *Matricaria chamomilla* ont aussi un bon effet scavenger avec les valeurs de la concentration inhibitrice (IC50) suivantes : 21,23µg ml/l pour l'extrait butanolique et 11,90µg ml/l pour l'extrait acétate.

L'effet scavenger des différents extraits de MC diminue selon l'ordre suivant : Vitamine C utilisée comme standard > extrait acétate d'éthyle de MC > extrait butanolique de MC.

A la concentration de 20µg/ml l'inhibition résultante est de 95%, 81,63% et 42,86% respectivement.

En conclusion, nos observation sur l'activité de piéger les radicaux libres par les différents extraits de MC viennent confirmer les données bibliographiques et orientent vers la présence d'un type de molécules bien déterminées dans ces extraits, probablement les flavonoïdes.

Enfin, cette étude montre le potentiel scavenger de radicaux libres de la plante médicinale et pourrait être considérée comme une source d'antioxydants naturels.

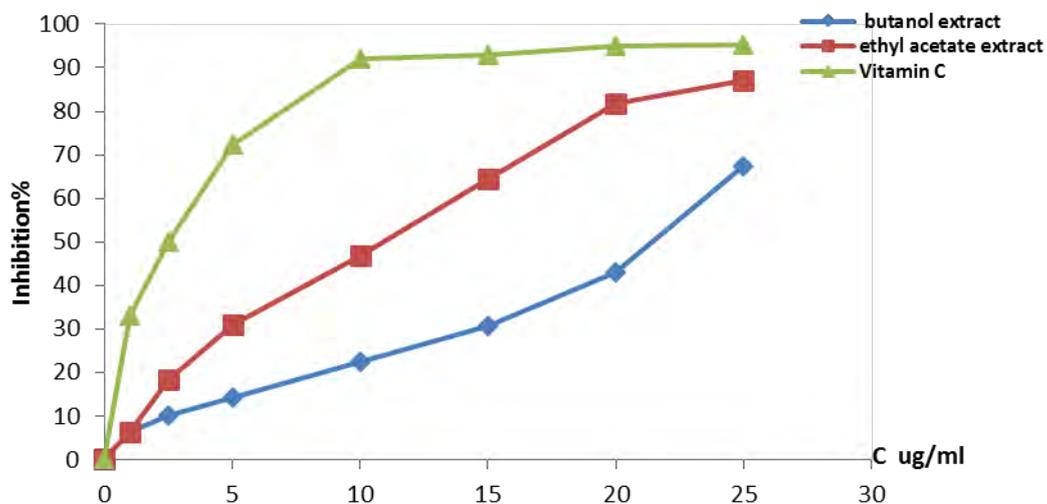


Figure IV-8 :L'activité antioxydante de l'extrait acétate et butanolique de MC et l'acide ascorbique vis-à-vis de radical libre DPPH°, chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type (n = 3)



*CONCLUSION*

## **CONCLUSION**

Ce travail à caractère phytochimique et structural portant sur l'investigation de la phase acétate d'éthyl de l'extrait hydroéthanolique des parties aériennes de *Matricaria Chamomilla* (Compositae).

Après extraction hydroalcoolique des parties aériennes de l'espèce, concentration et affrontement au chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol successivement, nous avons soumis les divers extraits organiques obtenus à la batterie chromatographique notamment la chromatographie sur colonne de gel de silice, sur plaques préparatives de gel de silice. Les structures des produits isolés ont été déterminées par la combinaison des différentes méthodes spectrales à savoir la spectrophotométrie UV-Visible, la RMN de proton (MHz).

Ce travail est effectué en complément d'une étude réalisée dans notre laboratoire à permis l'isolement et l'établissement des structures de deux composés.

Il s'agit de deux flavonoïdes de type flavone :

- **Lutéoline**
- **Lutéoline-7-O-β-glucoside**

Les structures ont été établies par la combinaison des données de RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, des expériences de la RMN bidimensionnelles et de spectrométrie de masse en mode FAB et Impact électronique. Dans le cas des flavonoïdes l'utilisation de la spectroscopie d'absorption ultraviolette a été nécessaire.

## *Résumé*

Le but principal de notre travail concerne principalement l'étude phytochimique de *M. Chamomilla* appartenant à la flore algérienne. Ils consistent à identifier le maximum de composés afin d'élargir et d'approfondir la connaissance phytochimique de cette plante.

Notre choix repose sur le fait que le genre *Matricaria* a montré d'une part qu'il est doué d'activités biologiques et d'autre part que c'est un excellent accumulateur de molécules de type lactones sesquiterpéniques et flavoniques.

L'objectif phytochimique correspond, en effet, à l'isolement et à la détermination structurale des molécules naturelles de *M. Chamomilla*. Pour ce faire, nous avons procédé à la séparation et à la purification des différents phytoconstituants de l'extrait *AcOEt* obtenu après extraction, par différentes méthodes chromatographiques notamment la chromatographie sur colonne de gel de silice et sur plaques préparatives de gel de silice ce qui a permis l'isolement de 8 produits purs. On a pu déterminer la structure de deux d'entre eux par la combinaison de méthodes spectrales à savoir la spectrophotométrie UV-Visible, la RMN <sup>1</sup>H.

Il s'agit de:

- **Lutéoline**
- **Lutéoline 7-O-β-glucoside**

### **Mots clés :**

Flavonoïdes, *Matricaria Chamomilla*, Compositae

## مخص

هذوفان ئيسى هوان ذرلس ءافچوكيمبائىة *M. Chamomilla* ولذى بچمثم فى ج ذبذ أكبر عذد م ه لركبات نجوسر عوج عمبكانم عرفة ءافچوكيمبائىة ن هفى لى بچة .

اخرى لوان هظن بى حة بروج انى كووها م ه ج هتج حمبز بى صائى صبيون وجية وم ه ج هة اخرى ج ب م ص ذر نه عذبذ م هانركباتلن سببى ك بى حة بى بة اف فال فوو بذاة

ان غرض م هان ذرلس ءافچوكيمبائىة بى حة م فى عزل وج ذبذ بى بة ن كيمبائىة ن هركبات ان طيعية ون هتلمى با فبص م بى مية بع طانركبات ان طيعية ن هس ح خ هص لى حات الاثي م بس ح عمال م خ هفلن حى باة انكروم لى و غرافية .

و هذا ماس م ب عزل 2 ال فوو بذاة ان حى ج م ح ذبذ بى بى ه لى ح عمال جى بانلن ح ح ه م ان م عرفة بمطيا فية ان رويان م غى طيسى ومطيا فية ال عة فوق بلن فس جية .

س م ح ثان ذرلس ءافچوكيمبائىة ل *M. Chamomilla* بعزل 8 لركبات ومية لى ح حصول عمى بى بة تلى ان مى ها

- **La Lutéoline**
- **La luteoline 7-O-β-glucoside**

انك ه م اة م ح ا حية

ن فال فوو بذاة *Matricaria Chamomilla* ان بى ه ءانركبات

# Summary

The main purpose of our work concerns mainly the phytochemical study of *M.Chamomilla* belonging to the Algerian flora in which consist to identify the maximum of compounds to widen and to deepen the phytochemical knowledge of this plant.

Our choices of the genus *Matricaria* was base on the fact that, those plants exhibit a wide range of biological activities and were known to contain sesquiterpene lactones and flavonoids.

The phytochemical objective corresponds, indeed, to the isolation and the elucidation of structural molecules of *M.Chamomilla*.

We proceeded to the separation and to the purification of the various phytoconstituants of ethyl acetate extract using various chromatographic methods in particular the column chromatography of silica gel and préparative thin layer chromatography of silica gel in which allowed us the insulation of four compounds their structures were determined by the combination of spectral methods (UV-VISIBLE spectrophotométrie, RMN <sup>1</sup>H).

The study phytochimic led on *M.Chamomilla* allowed the obtaining of 8 pure products among them 2 flavones:

- **Lutéoline**
- **Lutéoline 7-O-β- glucoside**

Key words:

flavonoids, *Matricaria Chamomilla*, Compositae,