



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Matière

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la Matière
Filière : Chimie
Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Réf. : /

Présenté et soutenu par :

Anede Nada

Hiouani Khaled El Mehdi

Isolement et caractérisation structurale de métabolites secondaires à intérêt biologique

Jury :

Dr. FATTAH Asma	MCB	Université de Biskra	Présidente
Dr. BOUBAKRI Cherifa	MCA	Université de Biskra	Examinatrice
Dr. LARAOUI Habiba	MCB	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : **2019/2020**

REMERCIEMENTS

Tout d'abord nous remercions Dieu le tout puissant, de nous avoir guidés sur la bonne voie et de nous avoir accordés les volontés et le courage afin de réaliser ce présent travail.

*Nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances et nos sincères remerciements à notre promotrice de mémoire le docteur **LARAOUI Habiba**, Maitre de conférence B à l'université de Biskra, pour sa disponibilité et ses conseils. Nous la remercions de nous avoir encadrés, orientés et aidés.*

*Nos profonds remerciements vont au docteur **FETTAH Asma**, Maitre de conférences B et le docteur **BOUBEKRI Cherifa**, Maitre de conférences A, enseignantes à l'université de Biskra pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant de juger notre travail*

Nous tenons à témoigner toutes nos reconnaissances à tous les professeurs, les techniciens et les ingénieurs du laboratoire de chimie du département des sciences de la matière de l'université de Biskra.

Nos remerciements vont également aux responsables du laboratoire de chimie biomoléculaire du centre national de recherche CNR (Naples, Italie) pour la réalisation des spectres RMN et masse.

Nous adressons nos sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur soutien inconditionnel et leurs encouragements et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce travail.

DÉDICACE

Je dédie ce mémoire :

*À mon père **Fodil** ; aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour ma formation.*

*À ma mère **Habiba El Menoubia** ; autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi qui a sacrifié sa vie pour ma réussite, qui m'a encouragé à être ce que je suis, avec tant d'amour. Tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il le fallait. Que Dieu le Tout Puissant te garde et te procure santé et bonheur.*

*À ma petite sœur **Aya** ; source de tendresse et de soutien. Je voudrais t'exprimer à travers ces quelques lignes tout l'amour et toute l'affection que j'ai pour toi. Je suis chanceuse de t'avoir à mes côtés ma seule sœur ! Sans toi ma vie n'aura aucun sens.*

À mon encadrant, pour sa disponibilité et la confiance qu'elle m'a accordée. Celle qui m'a fourni tout son temps pour m'aider et me suivre malgré la situation exceptionnelle que nous traversons, à cause de la pandémie de Covid-19, jusqu'à la fin de ce travail.

À mes grands-parents, mes tantes, mes oncles et mes proches ; pour leurs prières incessantes, leur tendresse, et amour pour moi.

*À Ma très chère amie et sœur **Maïssa** symbole de tendresse et de fidélité.*

*À mon ami **Rafik** pour son aide, ses conseils et son encouragement.*

À tous mes collègues de la promotion master chimie pharmaceutique (2019-2020) pour les bons moments que nous avons passés ensemble.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail :

À MA GRAND-MÈRE ; tous les remerciements vont à celle qui m'a élevé et s'est occupée de moi, que dieu bénisse son âme.

À MES CHÈRES PARENTS ; aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À MES CHÈRES SŒURS HADIL ET ACIL ET MON FRÈRE NIZAR ; merci pour tous les bons souvenirs que nous avons créés ensemble, que Dieu vous garde tous pour toujours de mes côtés.

À MA PARTENNAIRE ANEDE NADA ; nous avons passé ensemble les meilleurs moments cette année à travailler ensemble, tu m'encourages tellement et apportes le meilleur de moi, merci pour l'expérience cela en valait vraiment la peine avec vous.

À MES CHÈRES AMI(E)S : Chettouh Dhia, Bouhamed Dhia, Chenafi Ramzi, Belerahmi Wail, Berra Ayoub, Alouane Islem, Khabouri Mondjid, Gherfi Ziad, Fares, Ahmed, Alla, Abdou, Mghezzi Manel, Dendani Celia, Oumaima et Khaoula Dernouni

À mon encadrant Dr. Habiba Laraoui et tous mes enseignants durant les années de mes études à l'université de Biskra.

À ceux qui sont restés avec moi à travers toutes aux longues ces années, non seulement en temps difficiles, mais aussi en temps de prospérité, merci.

Khaled El Mehdi

LISTE DES FIGURES

N°	Figure	Page
CHAPITRE I		
I.1	Inflorescence des Apiacées	5
I.2	Les sous-familles inclus dans la famille Apiaceae	7
I.3	Ombelle des Apiacées	8
I.4	Répartition géographique mondiale des Apiacées	8
I.5	Quelques espèces du genre <i>Eryngium</i> poussant en Algérie	14
I.6	Répartition géographique du genre <i>Eryngium</i>	16
I.7	Le panicaut champêtre (<i>Eryngium campestre</i>)	25
I.8	Tige et feuilles de l'espèce <i>E. campestre</i>	26
I.9	Fleur, Inflorescence et Fruit de l'espèce <i>E. campestre</i>	27
I.10	Carte représente la répartition géographique de l'espèce <i>E. campestre</i>	28
CHAPITRE II		
II.1	Structure chimique du premier composé acétylénique isolé (acide taririque)	40
II.2	Principales classes de polyacétylènes naturels	42
II.3	Voies proposées lors de la formation de la triple liaison acétylénique	43
II.4	Voie biosynthétique générale des polyacétylènes et ses dérivés	45
II.5	Biosynthèse des polyacétylènes de type falcarinol	46
II.6	Structure des polyacétylènes possédant une activité antibactérienne	51
II.7	Structure des polyacétylènes ayant un pouvoir phototoxique sur <i>Candida albicans</i>	52
II.8	Structure chimique du panaxytriol	53
II.9	Structure de polyacétylènes dérivés du falcarindiol isolés de l'espèce <i>Eryngium tricuspdatum</i>	54
II.10	Les fragments structurels responsables de la cytotoxicité des polyacétylènes (exemple falcarinol)	55

II.11	Structure chimique des polyacétylènes extrêmement neurotoxiques	56
II.12	Sites structurels responsables à la toxicité des polyacétylènes	57
II.13	Fragmentations produites à partir des ions [M-H] ⁻ du falcarinol	61
CHAPITRE III		
III.1	<i>Eryngium campestre</i> L. récoltée dans la région Fesdis	63
III.2	Processus d'extraction de la plante <i>E. campestre</i>	64
III.3	CCM des extraits Et ₂ O et <i>n</i> -BuOH	65
III.4	Processus de séparation par la chromatographie sur colonne	66
III.5	CCM en phase normale des fractions (F ₁ à F ₅₅) de la chromatographie CC de l'extrait Et ₂ O : (a) UV à λ = 254 nm, (b) après révélation par solution acide	68
III.6	CCM récapitulative des fractions F ₁ →F ₂₀	70
III.7	Processus de purification de la fraction F ₈	71
III.8	Processus de purification de la fraction F ₂	72
CHAPITRE IV		
IV.1	Schéma d'extraction de l'espèce <i>E. campestre</i>	77
IV.2	Isolement des composés purs à partir de l'extrait Et ₂ O de <i>E. campestre</i>	78
IV.3	CCM du composé A sous UV à 254 nm (a) et après révélation par une solution acide (b)	79
IV.4	Spectre RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) du composé A	80
IV.5	Spectre RMN ¹³ C enregistré dans CDCl ₃ du composé A	81
IV.6	Corrélations COSY observées entre les protons des fragments (I, II et III) déterminés du composé A	82
IV.7	Spectre COSY H-H du composé A	83
IV.8	Spectre HSQC du composé A	84
IV.9	Corrélations HMBC du composé A	85
IV.10	Spectre HMBC du composé A	86
IV.11	(Z)-3(<i>S</i>)-heptadéca-1,9-diène-4,6-diyn-3-ol (Falcarinol)	87
IV.12	CCM du composé B sous UV à 254 nm (a) et après révélation par une solution acide (b)	89

IV.13	Spectre de masse en mode positif (ESI ⁺) du composé B	90
IV.14	Spectre RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) globale du composé B	91
IV.15	Spectre HSQC (région oléfinique) du composé B	93
IV.16	Spectre HSQC (région aliphatique) du composé B	94
IV.17	Spectre COSY H-H du composé B	95
IV.18	Corrélations HMBC du composé B	96
IV.19	Spectre HMBC du composé B	97
IV.20	(Z)-17(<i>R</i>)-vinyloxacycloheptadéca-10-èn-13,15-diyn-2-one (Campestrolide)	98

LISTE DES TABLEAUX

N°	Tableau	Page
CHAPITRE I		
I.1	Quelques plantes de la famille Apiaceae et leurs effets thérapeutiques	9
I.2	Quelques métabolites secondaires isolés des plantes Apiaceae	11
I.3	Quelques métabolites secondaires réponsus dans le genre <i>Eryngium</i>	18
I.4	Les principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce <i>E.campestre</i>	31
CHAPITRE II		
II.1	Quelques polyacétylènes retrouvés chez les plantes supérieures	48
II.2	Quelques polyacétylènes retrouvés chez les champignons et les organismes marins	49
II.3	Révélation chimiques des polyacétylènes	58
II.4	Transitions ($\pi-\pi^*$) caractéristiques des polyacétylènes	59
CHPITRE III		
III.1	Fractionnement de l'extrait Et ₂ O	67
III.2	Rassemblement des fractions (F ₁ -F ₂₀)	69
III.3	Rassemblement des fractions (F ₈₋₁ -F ₈₋₄)	71
CHAPITRE IV		
IV.1	Déplacements chimiques RMN ¹ H, ¹³ C enregistrés dans CDCl ₃ ainsi que les corrélations HMBC du composé A	88
IV.2	Déplacements chimiques RMN ¹ H et ¹³ C enregistrés dans CDCl ₃ du composé B	98

SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS

APG : Angiosperme phylogénie group

CC : Chromatographie sur colonne ouverte

CCM : Chromatographie sur couche mince

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

CIM : Concentration inhibitrice minimale

COSY: Correlation spectroscopy

d: Doublet

dd : Doublet de doublets

ddd : Doublet de doublets de doublets

DE₅₀ : Dose efficace médiane

F : Fraction

GC/FID : Chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme

GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse

HMBC: Heteronuclear multiple bond correlation

HMQC: Heteronuclear multiple quantum correlation

HSQC: Heteronuclear single quantum correlation

IR : Infra-rouge

J : Constante de couplage en Hz

m : Multiplet

m/z : Masse/charge électrique d'un ion

NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduite

Ac : Acétate

RMN ¹H : Résonance magnétique nucléaire du proton

ROESY: Rotating-frame overhauser effect spectroscopy

SM : Spectrométrie de masse

t : Triplet

UV : Ultra-violet

δ : Déplacement chimique en ppm

λ_{max}: Longueur d'onde d'absorption maximale

°C : Degrés Celsius

μm : Micromètre

μM : Micromolaire

cm : Centimètre

g : Gramme

h : Heure

Hz : Hertz

L : Litre

m : Mètre

mg : Milligramme

MHz : Mégahertz

min : Minute

ml : Millilitre

mm : Millimètre

nm : Nanomètre

ppm : Partie par million

uma : Unité de masse atomique

BuOH : Butanol

CHCl₃ : Chloroforme

Et₂O : Ether diéthylique

H₂S : Hydrogène sulfuré

MeOH : Méthanol

SOMMAIRE

Introduction générale.....	2
----------------------------	---

CHAPITRE I TRAVAUX ANTÉRIEURS

I.1. Famille Apiaceae.....	5
I.1.1. Classification botanique	5
I.1.2. Description botanique	7
I.1.3. Répartition géographique	8
I.1.4. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques	9
I.1.5. Principaux métabolites secondaires des plantes Apiaceae	11
I.2. Genre <i>Eryngium</i>	14
I.2.1. Classification botanique	15
I.2.2. Description botanique	15
I.2.3. Répartition géographique	15
I.2.4. Propriétés médicinales et intérêt biologique	16
I.2.4.1. Vertus médicinales	16
I.2.4.2. Activités biologiques.....	17
I.2.5. Principaux métabolites secondaires du genre <i>Eryngium</i>	18
I.3. Espèce <i>Eryngium campestre</i>	25
I.3.1. Classification botanique	25
I.3.2. Description botanique	26
I.3.3. Répartition géographique	27
I.3.4. Propriétés médicinales et intérêt biologique	28
I.3.4.1. Vertus médicinales	28
I.3.4.2. Activité biologique.....	29
I.3.5. Principaux métabolites secondaires de l'espèce <i>E. campestre</i>	31

CHAPITRE II ÉTUDE DES POLYACÉTYLÈNES

II.1. Généralités	40
II.2. Structure chimique et classification	41
II.3. Biosynthèse des polyacétylènes	43
II.4. Sources des polyacétylènes.....	46
II.5. Bioactivités des polyacétylènes	49

II.5.1. Activités bénéfiques des polyacétylènes.....	50
II.5.2. Activité toxique des polyacétylènes (Neurotoxicité).....	55
II.6. Méthode d'extraction et séparation des polyacétylènes.....	57
II.7. Identification structurale des polyacétylènes	59
II.7.1. La spectrophotométrie UV-visible.....	59
II.7.2. La spectroscopie Infrarouge (IR).....	60
II.7.3. La spectrométrie de masse (SM).....	60
II.7.4. La résonance magnétique nucléaire (RMN)	61

CHAPITRE III

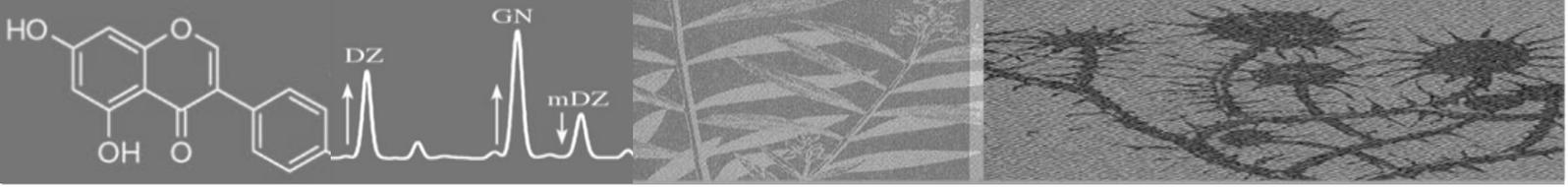
PARTIE EXPÉRIMENTALE

III.1. Matériels et Méthodes	63
III.1.1. Récolte de la plante <i>Eryngium campestre</i>	63
III.1.2. Méthode d'extraction et isolement	63
III.1.3. Contrôle chromatographique des extraits obtenus	65
III.1.4. Séparation et purification.....	66
III. 2. Méthodes chromatographiques analytiques.....	73
III.2.1. Chromatographie sur couche mince	73
III.2.2. Chromatographie sur couche épaisse	73
III.2.3. Chromatographie sur colonne.....	73
III.3. Méthodes physico-chimiques	74
III.3.1. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	74
III.3.1.1. RMN du proton (RMN ¹ H).....	74
III.3.1.2. RMN bidimensionnelle (2D)	74
III.3.2. Spectroscopie de masse (SM).....	75

CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Extraction	77
IV.2. Séparation et purification	78
IV.3. Élucidation structurale du composé A	79
IV.4. Élucidation structurale du composé B	89
Conclusion générale	100
Références bibliographique	103



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis des temps immémoriaux, les peuples indigènes dans le monde entier utilisent les plantes comme remèdes. Très souvent, les propriétés thérapeutiques de ces remèdes tiennent à des composés spécifiques et à leur effet sur le corps, mais dans certains cas, leur application demeure inexpliquée par la médecine moderne. De ce fait, un produit à base de plante, doit, pour avoir une efficacité optimale, restituer toute la complexité moléculaire du végétal qui est à l'origine de son activité thérapeutique. Une attention particulière doit donc être portée au procédé utilisé pour l'extraction de ces métabolites bioactives [1].

Dans ce contexte et dans le souci d'apporter des solutions concrètes à l'utilisation des plantes dans la pharmacopée traditionnelle, des investigations phytochimiques sont nécessaires afin de déterminer la composition chimique de ces plantes. Il est à signaler, que la flore algérienne présente une grande richesse en taxas, ce qui reflète la diversité écologique de notre pays, notamment les régions côtières, montagneuses et sahariennes dont cette dernière dévoile un réservoir inestimable de molécules bioactives. Cependant, un nombre modeste d'espèces sont étudiées.

De cet ordre d'idées, nous nous sommes intéressés à étudier une espèce appartenant au genre *Eryngium*, et à la famille Apiaceae (anciennement Umbellifères). Cette famille compte environ 250 espèces s'étendant dans les régions tempérées et relativement rare en zone tropicale dans le monde. Les plantes de cette famille sont aromatiques ayant des propriétés médicinales, et souvent utilisées dans l'alimentation. Elles sont connues par leurs richesses en métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, les coumarines, les saponines triterpéniques et les polyacétylènes [2, 3]. Cette dernière classe de métabolites secondaires est très réputée par ses propriétés biologiques à savoir ; anti-inflammatoires, antimicrobiennes, cytotoxiques, antifongiques, antivirales, et également anticancéreuses [4, 5, 6].

Notre travail porte essentiellement sur l'isolement et la caractérisation structurale des métabolites secondaires bioactives à partir de l'extrait éther diéthylique (Et₂O) des parties aériennes de la plante *Eryngium campestre* L. connue sous le nom vernaculaire «Chouk

labiadh», et récoltée dans la région des Aurès (Batna). Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour ses vertus diurétiques, antispasmodiques et sudorifique [7].

Ce manuscrit sera divisé en quatre chapitres comme suivant :

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique menée sur la famille Apiaceae et le genre *Eryngium* ainsi que l'espèce *Eryngium campestre*L.

Le second chapitre traitera les polyacétylènes, notamment, leur classification, biosynthèse, origine naturelle, propriétés pharmacologiques et même les méthodes d'extraction, l'isolation et les techniques adoptées pour l'élucidation structurales de ces métabolites.

Le troisième chapitre englobe la partie expérimentale de cette étude.

Le dernier chapitre évoquera les résultats obtenus lors de ce travail. La détermination structurale des composés isolés à l'état pur est détaillée.



CHAPITRE I

TRAVAUX ANTÉRIEURS

CHAPITRE I

I.1. Famille Apiaceae

La famille des Apiacées (ou Apiaceae) est une famille de plantes très évoluées au sein des Angiospermes, elles étaient appelées autrefois Ombellifères par leur inflorescence en ombelle [8].

Cette famille est très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles simples et le plus souvent, en ombelles composées (Figure I.1). Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres [9].

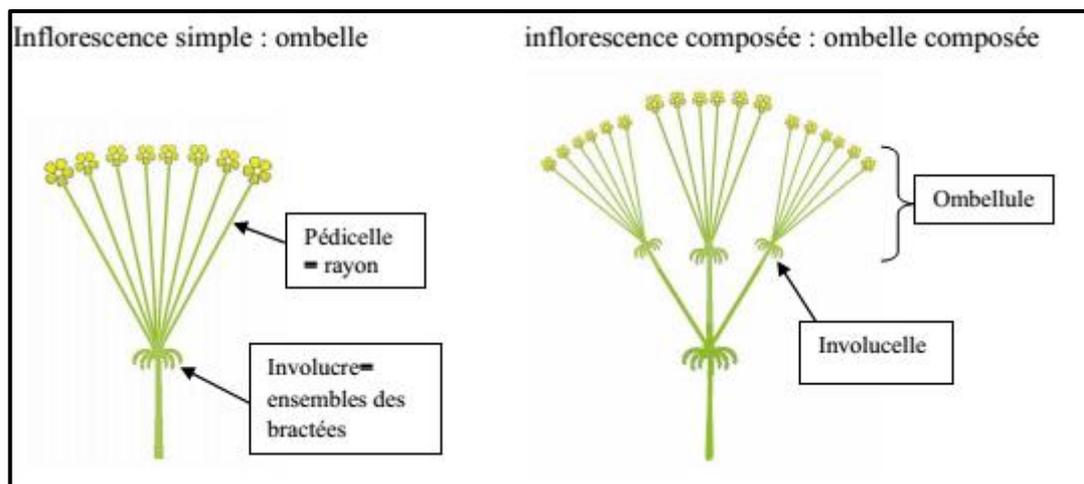


Figure I.1 : Inflorescence des Apiacées

C'est une grande famille avec 240-300 genres et plus de 3000 espèces [10]. En Algérie, selon Quezel et Santa (1962), elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 27 sous-espèces [11].

I.1.1. Classification botanique

Il existe plusieurs types de classification botanique avec des normes différents :

- Selon la classification classique d'Arthur Cronquist (basée sur des caractères morpho-anatomiques et chimiques), les Apiacées sont classées comme suivant :

- **Famille** : Magnoliophyta (encore appelées Angiospermes ou plantes à fleurs)
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Sous-classe** : Rosidae
- **Ordre** : Apiale

CHAPITRE I

Cette position systématique est discutée au sein de la communauté scientifique des Botanistes. En conséquence, d'autres auteurs classiques tels que Thorne, Dahlgren et Takhtajan, la placent dans l'ordre des Araliales en raison de caractères morphologiques proches de la famille des Araliacées [12].

➤ Une autre classification, plus récente, est la classification phylogénétique dite « **APG** » (Angiosperme **Phylogénie** **Group**), régulièrement actualisée (dernière version APG III 2009). Celle-ci, basée sur des caractères moléculaires issus de gènes chloroplastiques permet de faire apparaître une dynamique évolutive ainsi que des liens de parenté existant entre les différents taxons [12]. Selon cette classification les Apiacées sont placées comme ci-après :

- **Embranchement** : Spermatophytes ou Phanérogames (plantes à graine)
- **Sous embranchement** : Angiospermes (plantes à ovaire)
- **Clade** : Eudicotylédones ou dicotylédones vraies (embryon à deux cotylédons)
- **Classe** : Asteropsida (fleurs pentamères gamopétales à carpelles soudés et étamines adnées).
- **Sous-classe** : Euastéridées II (espèces herbacées à ovaire infère et regroupement des fleurs en inflorescence).
- **Ordre** : Apiales [8].

➤ En outre, les Apiacées se répartissent, également sur la base des caractères phylogénétiques, des données moléculaires et autres sources de données, y compris la morphologie et la géographie, en 4 sous-familles (Figure I.2) [13].

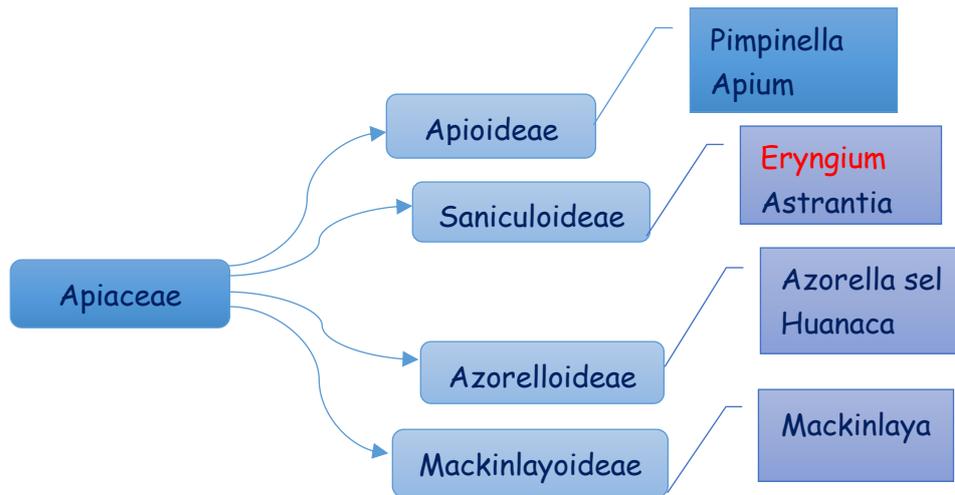


Figure I. 2 : Les sous-familles inclus dans la famille Apiaceae

I.1.2. Description botanique

Les Apiacées sont majoritairement des plantes herbacées qui peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. Certaines herbacées tendent à devenir ligneuses et plus exceptionnellement certaines sont des arbustes (*Eryngium sarcophyllum*) ou des arbres. Leurs ombelles typiques facilitent pour la plupart leur détermination en tant qu'Apiacées (Figure I.3). Les fleurs à 5 pétales blancs, jaunes, vert ou rose, sont petites, mais regroupées en masses plus ou moins plates, les ombellules, qui sont elles-mêmes regroupées en Ombelles. Ces inflorescences deviennent larges, voire très larges (jusqu'à 50 cm) et ainsi, très attractives pour les insectes pollinisateurs (angéliques, fenouil, panais). Les fleurs peuvent être sexuées ou non, mais les plantes sont souvent monoïques et auto-fertiles [8].

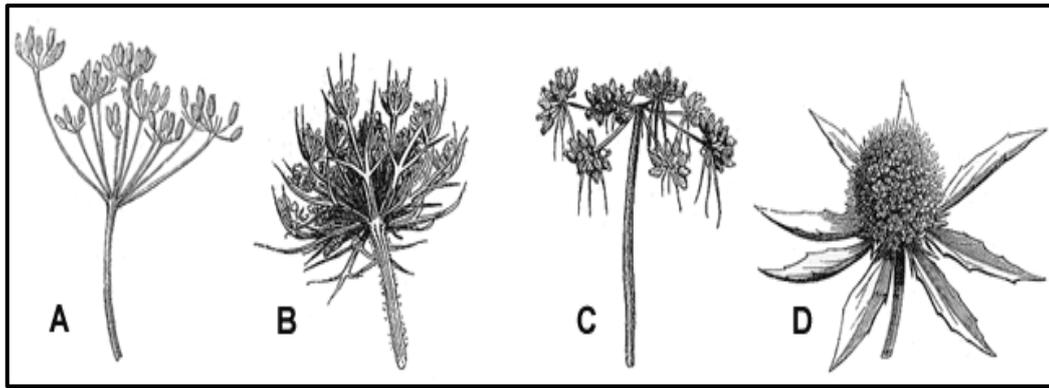


Figure I. 3 : Ombelle des Apiacées.[14]

A-ombelle et ombellules dépourvues d'involucre et d'involucelle ; **B**-ombelle et ombellules munies d'involucre et d'involucelle ; **C**-ombelle réduite et ombellules munies ; **D**-ombelle capituliforme aux rayons nuls (*Eryngium*)

I.1.3. Répartition géographique

Cette vaste famille rassemble 446 genres pour environ 3500 espèces cosmopolites, et se répartissent entre les divers continents, avec une prédominance pour le continent asiatique avec 265 genres, dont 159 sont endémique [15]. Cependant, elle est particulièrement représentée dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et des montagnes tropicales (Figure I.4) [12].

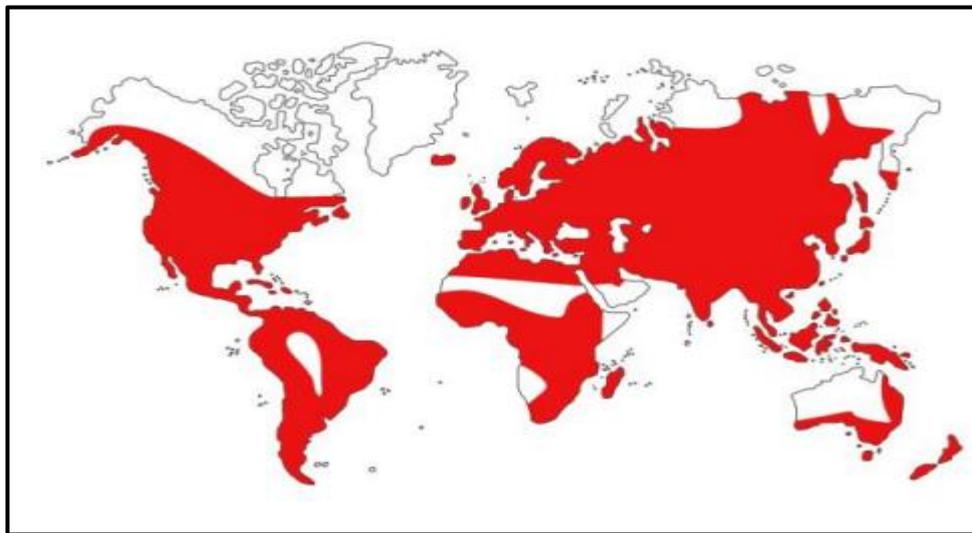


Figure I.4 : Répartition géographique mondiale des Apiacées

CHAPITRE I

I.1.4. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques

D'après F.Oroojalian et ses collaborateurs, les plantes de la famille Apiaceae possèdent une gamme de métabolites secondaires avec de nombreuses activités biologiques. Parmi les propriétés les plus principales sont la capacité d'induire l'apoptose, l'activité hépatoprotectrice, l'action vaso-relaxantes, l'effet inhibiteur de la cyclooxygénase et l'activité anti-tumorale [16]. Aussi elles sont utilisées pour leurs activités anti-inflammatoire, antimicrobienne, antifongique, analgésique, antibactérienne, anticonvulsivant, antirhumatismale, anti-oxydante, antitumorale, cytotoxique [12], antispasmodiques, propriétés carminatives [9]. Le tableau I.1 regroupe quelques exemples de plantes Apiaceae et leurs effets thérapeutiques :

Tableau I.1 : Quelques plantes de la famille Apiaceae et leurs effets thérapeutiques

Plantes	Effets thérapeutique	Référence
<p><i>Ammi visnaga</i> (Khella)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Antispasmodique • Antiasthmatique • Relaxant • Vasodilatateur 	[17]
<p><i>Angelica sinensis</i> (Angélique)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Tonique • Anti-inflammatoire • Antispasmodique • Fluidifie le sang • Régularise le flux menstrue 	[17]

CHAPITRE I

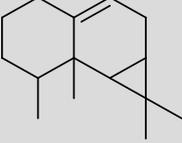
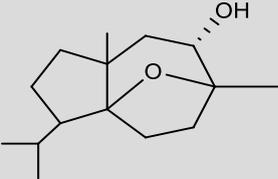
<p><i>Anethum graveolens</i> L (Aneth)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Eueptique • Spasmolytique • Antimicrobien • Carminatif et diurétique 	[9]
<p><i>Eryngium maritimum</i></p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Antitussif • diurétique • stimulant de l'appétit 	[18]
<p><i>Coriandrum sativum</i> L (Coriandre)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Eueptique • Spasmolytique • Antimicrobien • Carminatif • Propriétés hypolipémiantes et hypoglycémiantes 	[9]
<p><i>Centella asiatica</i></p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Tonique • Antirhumatismal • Légèrement diurétique • Sédatif • Vasodilatateur 	[17]

CHAPITRE I

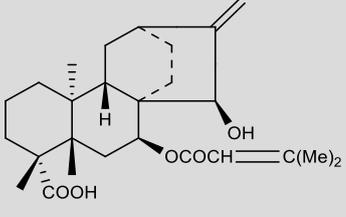
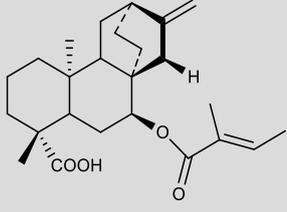
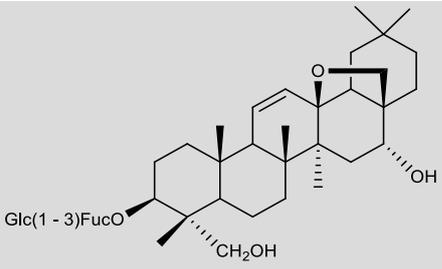
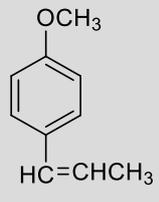
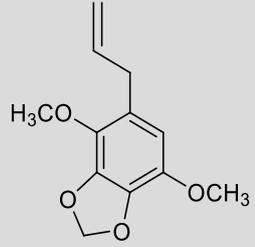
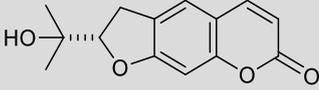
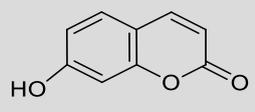
I.1.5. Principaux métabolites secondaires des plantes Apiaceae

De très nombreuses études, menées sur la composition chimique des espèces appartenant à la famille Apiceae, ont montrées leur richesse en métabolites secondaires[19], notamment les terpénoïdes, phénylpropanoïdes, coumarines, flavonoïdes, alcaloïdes, composés acétyléniques et sesquiterpènes lactoniques, ainsi qu'une grande abondance d'huile essentielle (760 constituants d'huiles essentielles ont été isolés des Apiacées) [8]. Quelques exemples de molécules des principales classes de métabolites secondaires présents dans la famille Apiaceae sont réunis dans le tableau I.2.

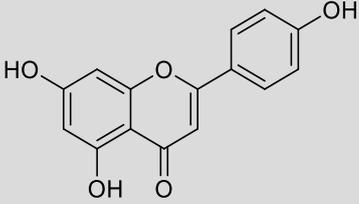
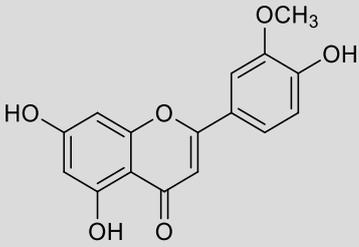
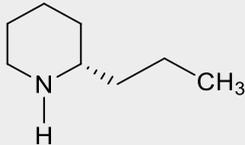
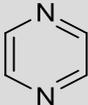
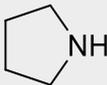
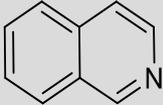
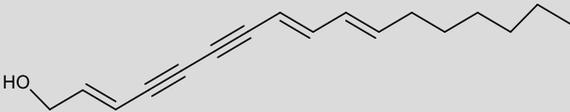
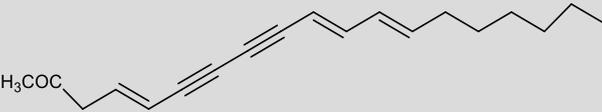
Tableau I.2 : Quelques métabolites secondaires isolés des plantes Apiaceae

	Nomenclatures	Structures	Références
Terpénoïdes			
Monoterpènes	α -Pinène		[20]
	Sabinène		
Sesquiterpènes	α -Férule		[19]
	Daucol		

CHAPITRE I

Diterpènes	Acide ent-7 α -sénécioxy -15 α -hydroxy-atis-16- en-19-oïque		[21]
	Acide gummiférolique		[22]
Saikosaponine D (saponine triterpénique)			[23]
Polyphénols			
Dérivés phénylpropaniques	(Z ou E) Anéthole		[19]
	Apiol		
Coumarines	Xanthotoxine		[24]
	Ombelliférone		[25]

CHAPITRE I

Flavonoïdes	Apigénine		[19]
	Isorhamnétine		
Alcaloïdes et les dérivés azotés			
	Coniine		[19]
	Pyrazine		
	Pyrrolidine		
	Isoquinoléine		
Composés polyacétyléniques			
			
		Oenanthetol[26]	
			
		Oenanthetol acetate [26]	

CHAPITRE I

I.2. Genre *Eryngium*

Le genre *Eryngium*, nommé en arabe « Bou Neggar », compte environ 220 espèces. Il est représenté en Afrique du Nord par 6 espèces annuelles ou bisannuelles et une quinzaine d'espèces vivaces polycarpiques [27].

Eryngium est le genre le plus vaste et le plus complexe sur le plan taxonomique de la famille des Apiacées. Certaines espèces de ce genre sont cultivées comme plantes ornementales, potagères ou médicinales à usage populaires [28]. Des investigations chimiques et biologiques, réalisées sur les espèces du genre *Eryngium* a également montré son potentiel en tant que cultures pharmaceutiques [28]. En Algérie, on peut rencontrer environ 7 espèces : *Eryngium barrelieri* boiss, *E. ilicifolium* Lam, *E. triquetrum* Vahl, *E. maritimum* L, *E. campestre* L, *E. dichotomum* Desf et *E. tricuspidatum* L (Figure I.5)[29, 30].

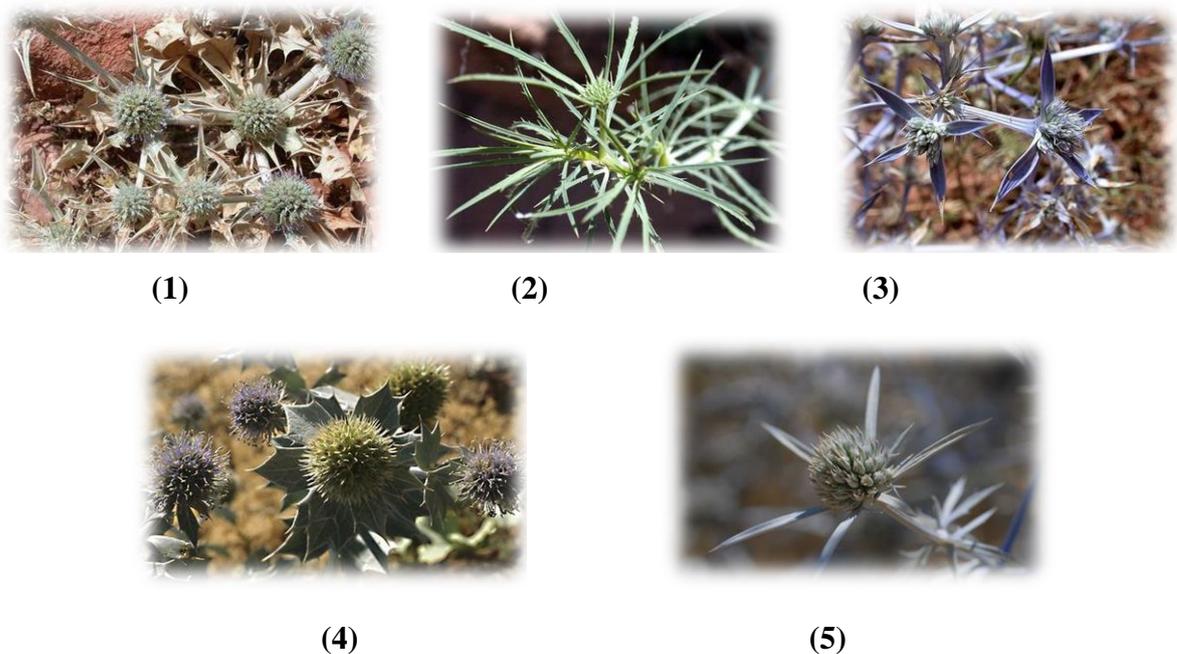


Figure I.5 : Quelques espèces du genre *Eryngium* poussant en Algérie

(1) *E. ilicifolium* Lam (2) *E. tricuspidatum* L (3) *E. triquetrum* Vahl
(4) *E. maritimum* L (5) *E. dichotomum* Desf

CHAPITRE I

I. 2.1. Classification botanique

Le genre *Eryngium* est classé sur le plan botanique selon APG (2009) comme suivant :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Clade	Campanulidées ou Euastéridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiacées
Sous-famille	Saniculoidées
Genre	<i>Eryngium</i> L

I.2.2. Description botanique

Les espèces du genre *Eryngium* (panicaut) sont des plantes annuelles, bisannuelles ou vivaces, glabres, épineuses et souvent de teinte verte glauque, bleutée ou violacée à maturité, atteignent rarement un mètre de haut [31].

Eryngium se distingue facilement des autres membres des Apiaceae par ses inflorescences capitées et sa seule bractée par fleur. Le genre, cependant, est extrêmement variable morphologiquement. Certaines plantes sont prostrées et seulement quelques centimètres ; d'autres sont dressés et jusqu'à 3 m de haut. La majorité des espèces sont vivaces herbacées, mais de nombreuses espèces annuelles se produisent également [30].

I.2.3. Répartition géographique

Le genre *Eryngium* est répandu sur tout le globe, dans les deux hémisphères et sur tous les continents (Figure I.6). Cependant, Il présent sur la plus grande partie du continent américain. L'Afrique en dehors de la Berbérie en est complètement dépourvue. Selon J.M.Turmel, seules les raisons paléogéographiques expliquent cette carence surprenant. En effet, le genre *Eryngium* natif des territoires appartenant à l'heure actuelle à la Perse, aurait évolué à partir de l'Asie occidentale de l'est vers le nord-ouest se cantonnant sur les territoires européens. À partir de l'Europe, le genre aurait émigré vers l'Afrique par la bordure nord du bassin méditerranéen occidental [27,33].

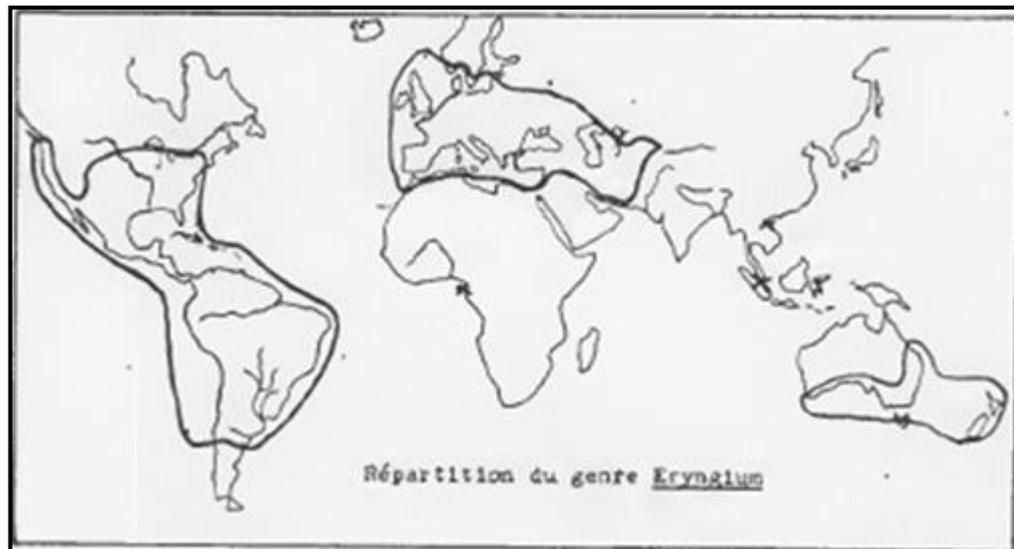


Figure I.6 : Répartition géographique du genre *Eryngium* [33]

I.2.4. Propriétés médicinales et intérêt biologique

I .2.4.1. Vertus médicinales

Plusieurs espèces appartenant au genre *Eryngium* sont fréquemment utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des infections émétiques et gastro-intestinales, aussi dans plusieurs types de troubles inflammatoires et diverses infections parasitaires, et en guise d'antidotes pour les poisons (serpent et scorpion), des agents hypoglycémiques, remèdes contre la diarrhée, stimulants, aphrodisiaques, antitussifs et diurétiques [34].

En Turquie, les racines de plantes sont utilisées contre les divers troubles inflammatoires, l'œdème, la sinusite, les infections urinaires, ou les inflammations, et les morsures de serpents ou de scorpions [31].

En Tunisie, l'infusion des parties aériennes et des racines de l'espèce *Eryngium maritimum* été utilisée en médecine populaire comme antitussif, diurétique, apéritif, stimulant, cytotonique, aphrodisiaque, ainsi que promoteur de flatulence et facteur stimulant les menstruations [35].

L'espèce *Eryngium creticum* se rencontre qu'au Liban, en Palestine, en Jordanie et en Syrie. Elle est cultivée principalement pour être utilisée comme légume dans la salade. Traditionnellement, cette espèce est utilisée comme diurétique et laxatif. L'immersion des

CHAPITRE I

racines et les graines dans l'eau a été considérée comme moyen antiseptique contre les infections et les maladies de la peau, mais aussi pour traiter les calculs rénaux et les tumeurs. C'est un antidote, utilisé dans le traitement des morsures de serpent. Par ailleurs, *E. creticuma* également été utilisée dans le traitement des maladies du foie, empoisonnement, anémie et infertilité [36].

À des fins prophylactiques, *Eryngium amethystinum* a été utilisée par des bergers du sud de l'Italie, dont ses fleurs ont été consommées pour prévenir le paludisme [37].

La plante entière *Eryngium caeruleum* (en particulier les racines) est de nature stimulante, hématinique, expectorante et nervine. Ses cendres sont très utiles pour le traitement des hémorroïdes [38].

Au Maroc, la racine de l'*Eryngium triquetrum* Vahl (Mrîzla, Panicaut) est utilisée en décoction, contre les douleurs des intestins et le refroidissement. Par ailleurs, la racine est donnée aux enfants contre l'amygdalite [39].

I. 2.4.2. Activités biologiques

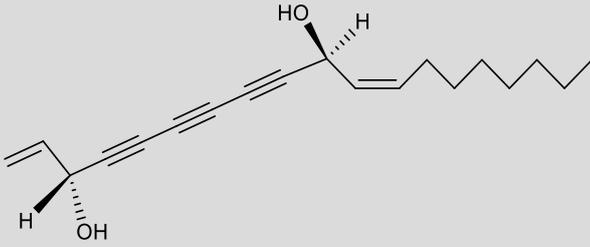
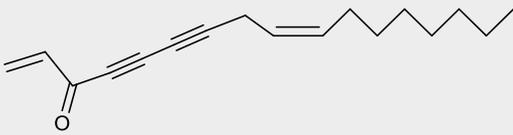
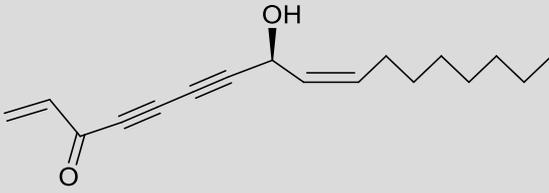
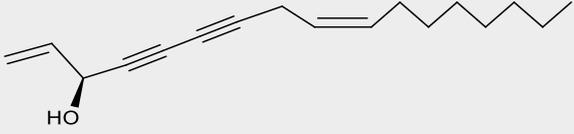
Des investigations chimiques et biologiques réalisées par Ping Wang et ses collaborateurs sur un nombre important des espèces *Eryngium*, telles que : *E. alpinum* L., *E. giganteum* M. Bieb, *E. bourgatii* Gouan, *E. maritimum* L, *E. creticum* Lam., *E. dichotomum* Desf, *E. planum* L., *E. variifolium* Coss., *E. tripartitum* Desf, ont montré leurs intérêts thérapeutiques à savoir anti-inflammatoire, antivenin, antibactérien, antifongique, antipaludéen, antioxydant, antidiabétique et cytotoxique contre diverses cellules tumorales humaines [28]. Ces activités pharmacologiques des espèces *Eryngium* dépendent principalement à la richesse en teneur saponine triterpénoïde, coumarines, polyacétylènes et également à la présence de flavonoïdes et les acides phénoliques [40].

Les espèces *Eryngium foetidum* et *Eryngium kotschyion* également été évaluées pour les propriétés anthelminthiques, anticonvulsivants, anti-inflammatoires, analgésiques, antipaludiques et antibactériennes [41,42].

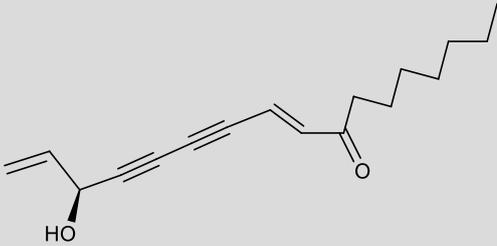
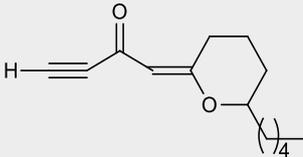
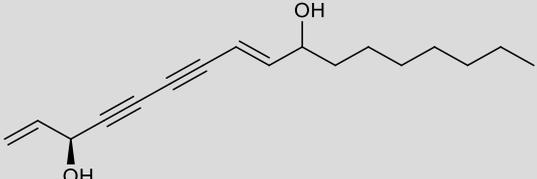
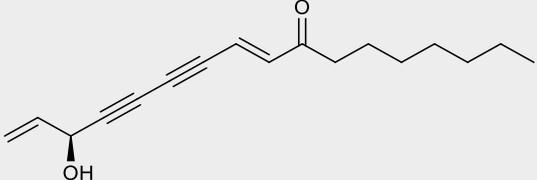
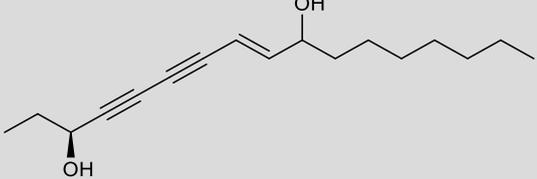
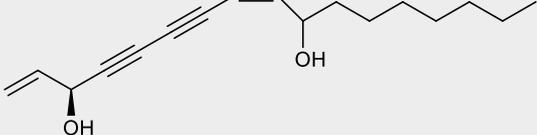
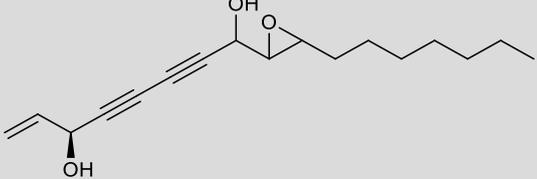
I. 2.5. Principaux métabolites secondaires du genre *Eryngium*

Les plantes de ce genre sont connues pour leur richesse en métabolites secondaires. En effet, de nombreuses études phytochimiques menées sur ce genre ont révélé la présence des flavonoïdes, des saponines triterpénoïdes, des monoterpènes glycosides, des sesquiterpènes, des polyacétylènes, des coumarines, des aldéhydes terpéniques et également des huiles essentielles [43]. Un tableau récapitulatif de quelques composés isolés du genre *Eryngium* est figuré ci-après (Tableau I.3.) :

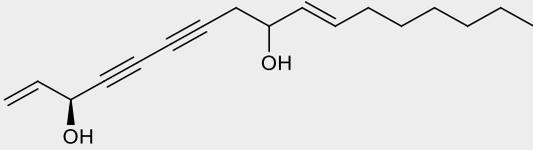
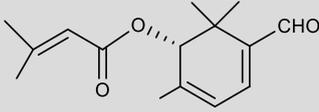
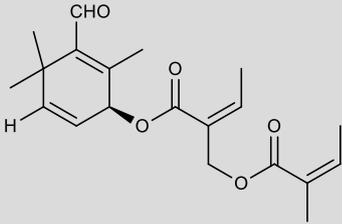
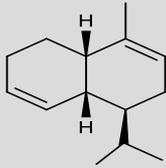
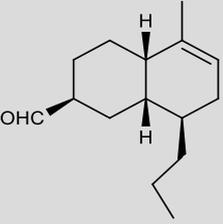
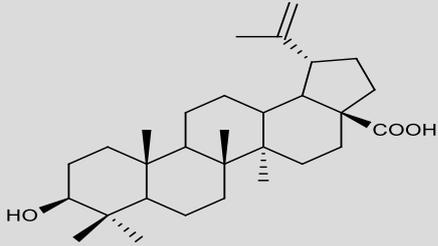
Tableau I.3 : Quelques métabolites secondaires répandus dans le genre *Eryngium*

Nomenclature	Structure	Référence
Polyacétylènes		
Yuccifolol (nonadéca-1,11-diène-4, 6,8-triène-3,10-diol)		[44]
Falcarinone		[45]
Falcarinolone		[45]
Falcarinol		

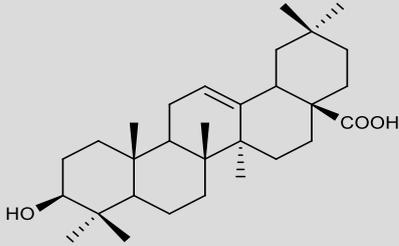
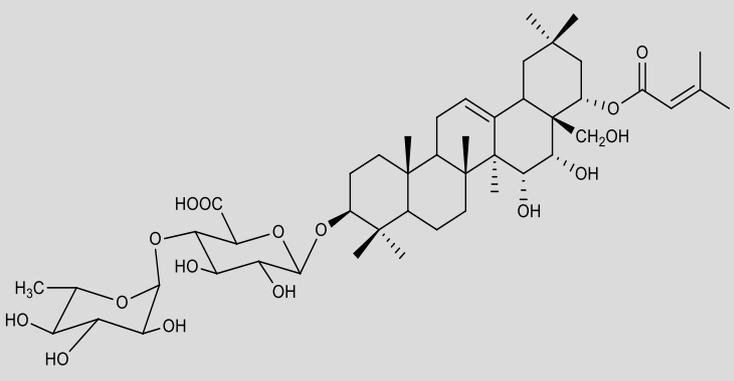
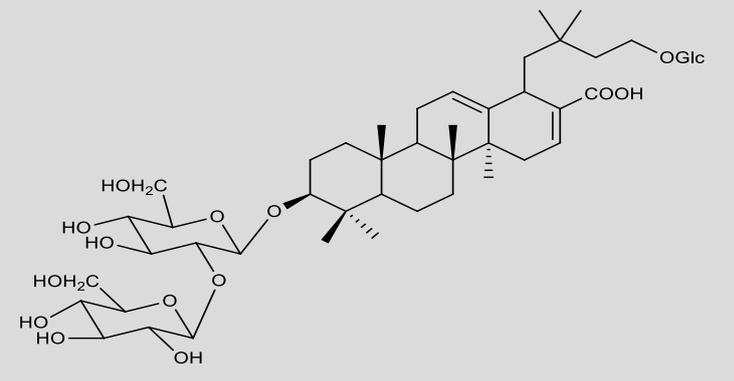
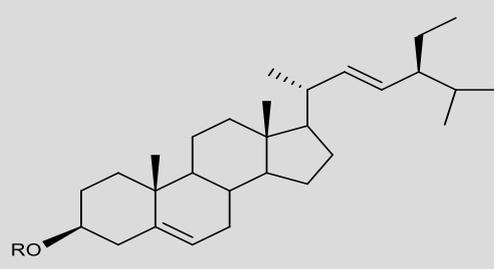
CHAPITRE I

(Z)-15-Hydroxy-9,16-heptadécadièn-11,13-diyn-8-one		[28]
6-pentyl-2-[2-oxo-butin-(3)-ylidène]-tetrahydropyrane		[45]
(E)- panaxydiol		[46]
heptadéca-1,8-dièn-4,6-diyn-3-ol-10-one		
panaxjapyne B		
(Z)-panaxydiol		
(E)-époxy-triquétrol		

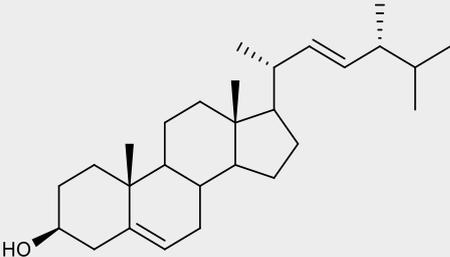
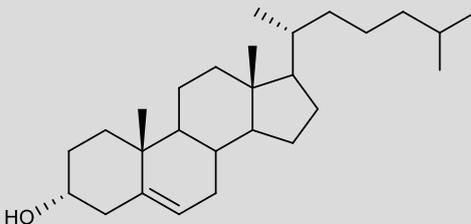
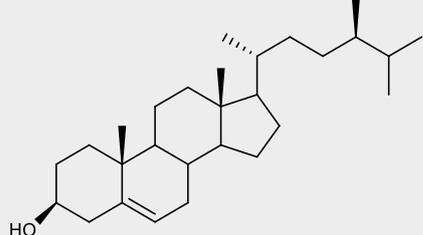
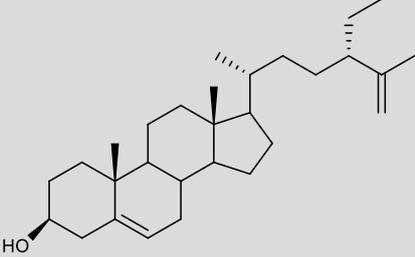
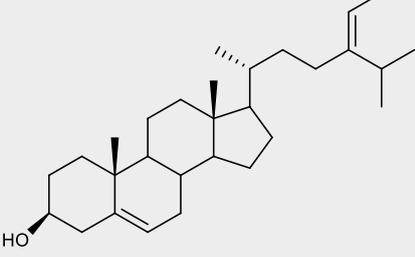
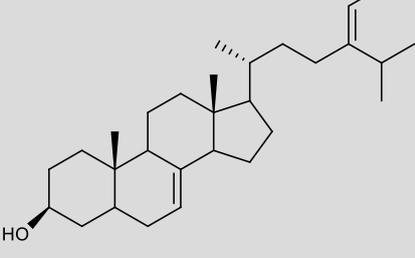
CHAPITRE I

Triquétridiol			
Terpénoïdes			
Monoterpènes	Isoférulyl senecioate		[47]
	Isoférulol- <i>O</i> -[2-Angéloyloxyméthyl- <i>cis</i> -crotonoyl]		[28]
Sesquiterpènes	15-Nor- α -muurolène		[47]
	Eryng-9-èn-15-al		[48]
	Acide bétulinique		

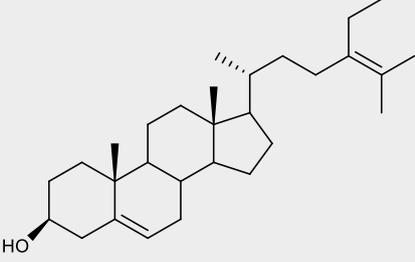
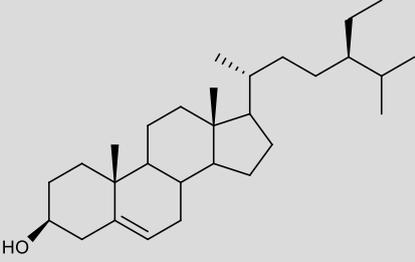
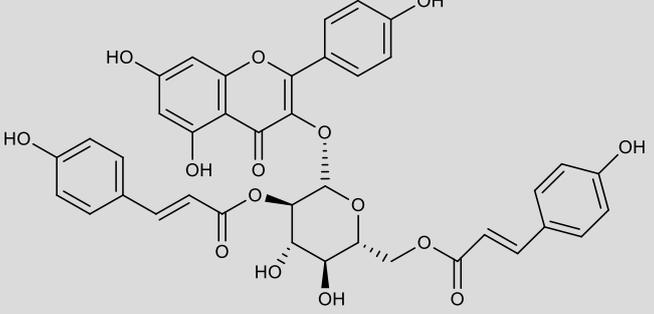
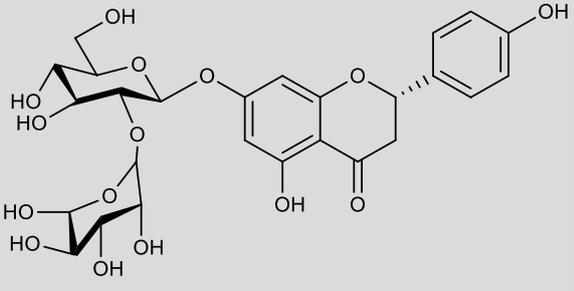
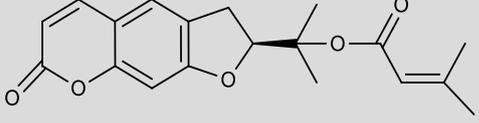
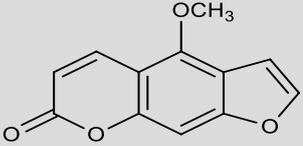
CHAPITRE I

	Acide oléanolique		[28]
Saponines triterpénoïdes	3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucuronopyranosyl-22- <i>O</i> - β , β -diméthylacryloylA ₁ -barrigénol		[41]
	3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-glucopyranosyl-22- <i>O</i> - β -D-glucopyranosylsteganogénine		
Stéroïdes			
(1) : Stigmastérol (2) : Stigmastérol 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside			
	(1) R : H (2) R : β -D-glucopyranoside		

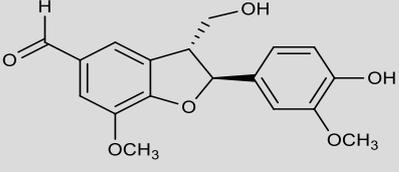
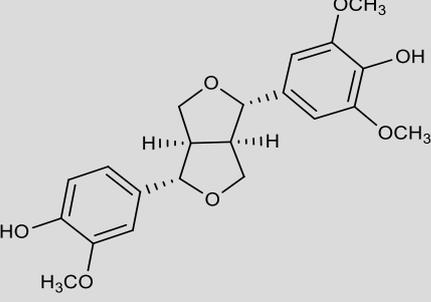
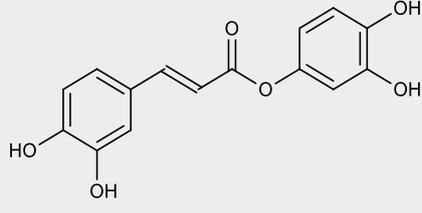
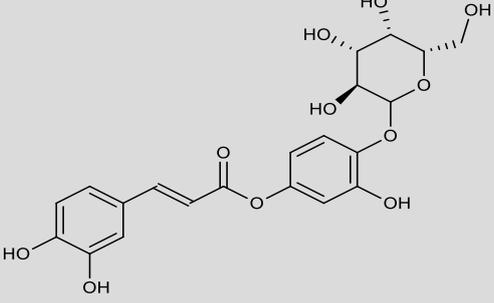
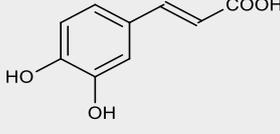
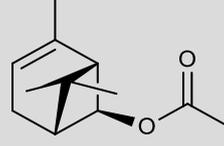
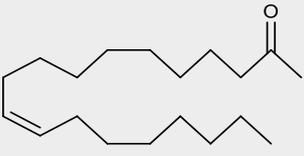
CHAPITRE I

Brassicastérol		[28]
3 α -Cholestérol		
Campestérol		
(-)-Clerostérol		[28]
Δ^5 -avenostérol		
Δ^7 -avenostérol		

CHAPITRE I

	$\Delta^{5,24}$ -stigmastadiénol		[28]
	β -sitostérol		
Composés phénoliques			
Flavonoïdes	Kaempférol- <i>O</i> -(2,6-di- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroyl)-hexoside		[49]
	Naringénine-7- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside		[50]
Coumarines	Deltoïne		[48]
	Bergaptène		[28]

CHAPITRE I

Lignanes	Ficusal		[46]
	(+)-mediorésinol		
Autres composés			
	3,4-dihydroxyphényl cafféate		[51]
	(4-β-D-glucopyranosyloxy)-3-hydroxyphényl cafféate		
	Acide caféique		
	<i>Cis</i> -chrysanthényl acétate		[47]
	Eicos-8,11-dién-18-ol-2-one		[48]

CHAPITRE I

I. 3. Espèce *Eryngium campestre*

Eryngium campestre (Figure I.7), est connue vulgairement sous le nom de chardon roland ou roulant (l'épithète roland est une simple corruption du mot roulant), chardon à cent têtes, éryngion blanc et fouasse aux ânes [52].



Figure I.7 : Le panicaut champêtre (*Eryngium campestre*)

Le panicaut champêtre affectionne les lieux arides, les bords des chemins, les formations rocheuses et les gravières. Il fleurit en juillet-août, et possède la racine surtout, une saveur amère et aromatique [52,53].

I. 3.1. Classification botanique

L'espèce *Eryngium campestre* est classée dans la famille des Apiacées :

Famille	Apiacées
Genre	<i>Eryngium</i>
Espèce	<i>Eryngium campestre</i>
Nom arabe	Chouk Labiadh ou Bou-neggar « بو نغار », Garrana
Nom Amazigh	Teblwadha, Izigh

CHAPITRE I

I.3.2. Description botanique

Eryngium campestre est une plante vivace, robuste, dressée, généralement simple pouvant mesurer jusqu'à 70 cm, épineuse possédant des ombelles florales rondes. La racine de cette plante, qui peut s'étendre jusqu'à plus de 2 m dans le sol [27,30]. Toutes ces caractéristiques botaniques sont présentées plus en détail ci-après :

➤ **Appareil végétatif :** (Figure I.8)

- ✚ Taille : 30 à 60cm.
- ✚ Racines : brunes, cylindriques, persistantes, très longues jusqu'à 5m, émettent des rejets.
- ✚ Tige : dressée, épaisse (de la grosseur d'un doigt), cylindrique, blanchâtre, pleine, striée, rameuse dans la partie supérieure, ramifiée, bien feuillée.
- ✚ Feuilles : vertes, alternes, nerveuses, les basales longuement pétiolées, coriaces, de contour ovale, trilobées, dentées, découpées, fortement épineuses, les caulinares sessiles, embrassant la tige par des oreillettes découpées et épineuses, à limbe palmipartite à segments étroits.



Figure I.8 : Tige et feuilles de l'espèce *E. campestre* [55]

➤ **Appareil reproducteur :** (Figure I.9)

- ✚ Fleur : blanche, pédonculée, réuni en tête ovoïde, à 5 étamines libres dépassant la corolle.
- ✚ Inflorescence : ombelles d'ombellules arrondies capitulée large de 10 à 15 mm, involucre formé de 3 à 6 bractées étalées, étroites-linéaires, acuminées, à épines peu nombreuses, calice vert à sépales persistants, ovales-lancéolés, aristés ; corolle blanche à blanc verdâtre.

CHAPITRE I

- ✚ Fruit : sec, diakène obovoïde long, comprimé parallèlement à la commissure, sans côtes bien apparentes, densément couvert d'écailles imbriquées.
- ✚ Floraison : juin à septembre. Pollinisé par les abeilles, les mouches les coléoptères.

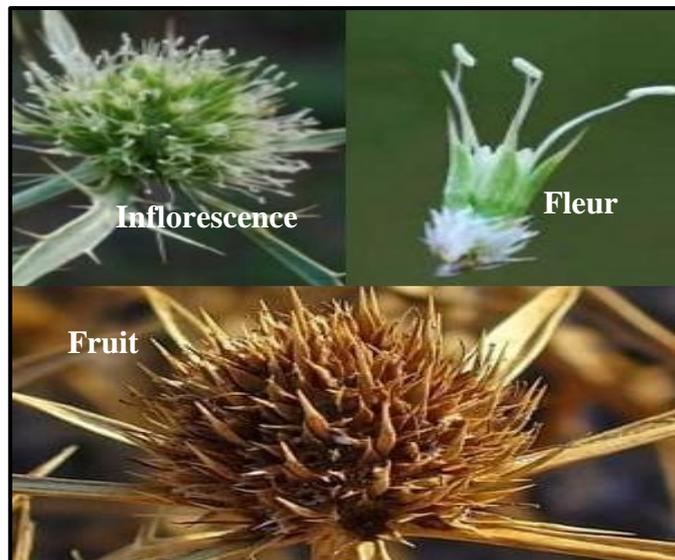


Figure I.9 : Fleur, Inflorescence et Fruit de l'espèce *E. campestris* [55]

I.3.3. Répartition géographique

Cette plante présente un schéma de distribution très particulier. Globalement, elle est distribuée en Méditerranée (du Maroc au Portugal et vers l'est jusqu'à l'Iran et en Afghanistan), et en Europe centrale, avec le Sud de l'Angleterre comme frontière nord-ouest. Le nord de l'Allemagne, les plaines représentent la frontière de distribution nord, et la frontière de distribution nord-est se trouve dans le centre Russie. Elle pousse également dans les régions du sud-ouest de l'Asie, Afrique du Nord, Hollande, Grande-Bretagne, en Espagne, en France et dans la péninsule balkanique [33].



Figure I.10 : Carte représente la répartition géographique de l'espèce *E. campestre* [56]

En Algérie cette plante se trouve dans les Aurès à Sgag, Constantine, El Adjiba, Bouira, Ben chicao, Boghar, Chellala, vallée du Chélif, Aflou, Relizane, Ain el Hadjar, Ghar-Rouban [27].

I.3.4. Propriétés médicinales et intérêt biologique

I.3.4.1. Vertus médicinales

Eryngium campestre est réputée en médecine naturelle pour ses vertus diurétiques, antispasmodiques et sudorifique et préconisée pour traiter la toux ou les affections des voies urinaires. De plus, elle est censée avoir une action bénéfique sur la digestion [52].

La racine de l'espèce *E. campestre* et même bien connue en Suède et Zélande comme faisant partie de l'alimentation populaire. Par ailleurs, la décoction de cette racine dans l'eau est considérée comme diurétique, recommandée contre l'hydropisie [54], et également peut utiliser comme pansement antiseptique pour traiter la furonculose chez l'enfant [57].

La racine de panicaut bouillie dans l'hydromel, est dépurative, carminative, diurétique, emménagogue et elle se prend généralement additionnée de 4g de panais pour désopiler le foie et la rate, combattre la jaunisse et l'hydropisie, faciliter l'écoulement rénal et mensuel, distiller les calculs de la vessie et expulser les flatulences. Le produit de la distillation des jeunes feuilles est dépuratif merveilleux du sang en même temps qu'un spécifique contre la fièvre quarte [54].

CHAPITRE I

La plante a été utilisée en phytothérapie européenne comme infusion pour le traitement de la coqueluche, ainsi que pour le traitement des inflammations des reins et des voies urinaires [58].

En Turquie, la même plante est très connue, l'infusion des parties aériennes et des racines est utilisée comme antitussif, diurétique, stimulant de l'appétit et aphrodisiaque [59].

En Roumanie, *E. campestre* est rarement utilisé de nos jours et strictement pour ses propriétés diurétiques, bien que dans certains pays européens, elle soit également connue pour ses caractéristiques anti-inflammatoires, antiépileptiques et expectorantes [60].

En Espagne, *E. campestre* est une espèce à usages thérapeutiques plus importants (usage externe et interne des branches et des racines), comme la plupart des remèdes sont liés au traitement de maux sans importance, se référant à des troubles de la peau et les systèmes respiratoire et digestif, les rhumatismes et les inflammations, les blessures et les ulcères, maux de dents, problèmes pancréatiques, hémorroïdes, problèmes de peau et de tissu sous-cutané [61].

I. 3.4.2. Activité biologique

Eryngium campestre L. a présentée une activité antimicrobienne, non seulement en inhibant la croissance des bactéries, mais aussi en raison de cette activité à large spectre, dont l'effet bactéricide a été révélé contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Cette plante a également montré une activité antifongique contre *Candida albicans*, cela peut avoir un mécanisme d'action différent de l'activité antibactérienne car l'action antifongique cible principalement la formation ou la fonction de l'ergostérol, un composant important de la membrane cellulaire fongique, tandis que l'activité antibactérienne agit en inhibant les étapes importantes pour la formation de peptidoglycane, l'essentiel composant de la paroi cellulaire bactérienne [62]. Autrement, cette activité antibactérienne a été confirmée par LANDOULSI A. en 2016, mais cette fois-ci, par la mesure de la capacité photoactive des extraits bruts apolaires montrant l'inhibition de certaines souches bactériennes après interaction avec les rayons UV [8].

CHAPITRE I

Les saponines isolés de l'espèce *E. campestre* ont une cytotoxicité *in vitro* modérée ou faible contre les lignées cellulaires cancéreuses du pancréas, de la prostate, des poumons, leucémiques, et du côlon et la lignée cellulaire normale des fibroblastes de poumon humain[8].

L'huile essentielle extraite des parties aériennes de l'espèce *Eryngium campestre* collectée dans la région de l'Italie centrale a été caractérisée par GC-FID et Analyse GC/MS. Cette huile essentielle, contenant majoritairement des composés sesquiterpéniques ; le germacrène D, alloaromadendrène, β -élémane, spathuléol et ledol, a été évaluée pour ses effets cytotoxiques sur un panel de cellules cancéreuses humaines, à savoir A375 (mélanome malin), MDA-MB 231 (adénocarcinome mammaire) et HCT116 (carcinome du côlon), par le test MTT. En conséquence, elle s'est révélée être hautement cytotoxique sur ces cellules tumorales, avec des valeurs de CI_{50} de 1,57 à 2,99 $\mu\text{g/mL}$ comparables ou proches de celles du cisplatine, médicament anticancéreux employé comme référence. Tandis, la même huile essentielle a montré une très faible activité antioxydante et une faible inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) [37]. Par ailleurs, la cytotoxicité et les activités antiparasitaires sur *Trypanosoma brucei brucei* (Tbb) et *Leishmania mexicana mexicana* (Lmm) de l'huile essentielle des parties aériennes d'*Eryngium campestre* L. collectée dans 37 localités de l'ouest de l'Algérie ont été démontrées par Madbouhi et ses collaborateurs. Cette étude a permis de caractériser les principaux composés de cette huile essentielle tels que : le germacrène D (0,4–53,4%), campestrolide (1,6–35,3%), germacrène B (0,2–21,5%), myrcène (0,1–8,4%), α -cadinol (0,2–7,6%), spathuléol (0,1–7,6%), eudesma-4(15)-7-diène-1- β -ol (0,1–7,6%) et τ -cadinol (0,3–5,5%) ainsi que certaines fractions contenant d'autres composés terpéniques ont également été identifiés. Le campestrolide semble être un composé responsable de l'effet cytotoxique et antileishmanial, tandis que le myrcène ou/et le trans- β -farnésène ont une activité anti-trypanosomale plus sélective [7].

Les extraits hydroalcooliques de l'espèce *E. campestre* riches en β -sitostérol, stigmastérol et le cholestérol testés dans la parodontite expérimentale de rat ont exercé une activité anti-inflammatoire en réduisant l'infiltration des leucocytes et le stress nitro-oxydant [60].

Une étude biologique intéressante exhibée que l'extrait méthanolique de l'espèce *E. campestre* a une action pharmacologique se fait via l'inhibition fonctionnelle de γ -

CHAPITRE I

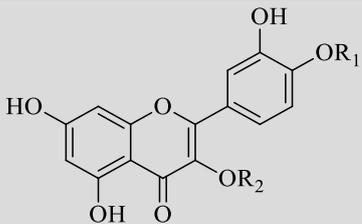
sécrétase. Les résultats obtenus indiquent que cet extrait peut être utilisé comme médicament candidat puissant pour le traitement de la maladie Alzheimer ou au moins améliorer ou retarder le mauvais effet de cette maladie [58].

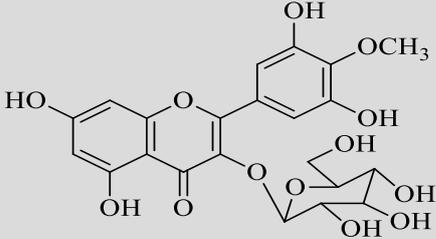
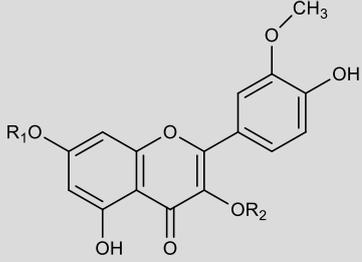
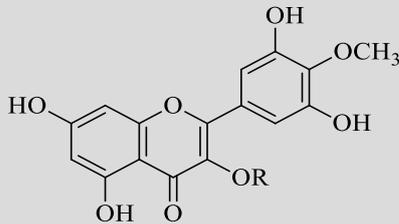
Ainsi, une étude *in vivo* réalisée sur l'extrait éthanolique de l'espèce *E. campestre* a montré une activité anti-inflammatoire correspondant à l'inhibition de l'œdème des pattes arrière causé par le carraghénane et l'œdème des oreilles induit par le 12-*O*-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA) chez les souris. En outre, une activité anti-nociceptive observée dans le test de constriction abdominale induite par le *p*-benzoquinone chez les souris [59].

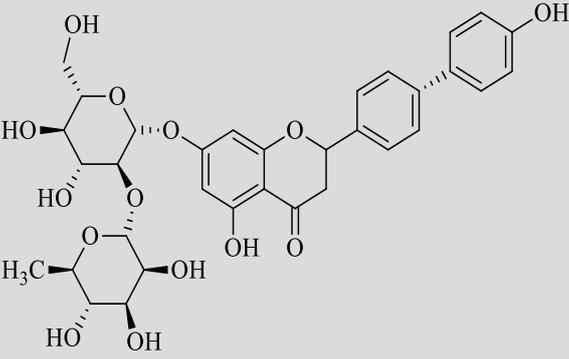
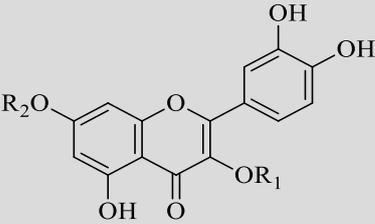
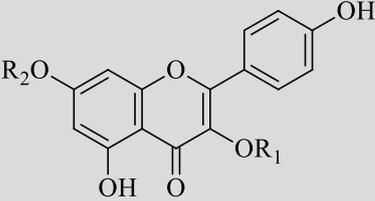
I.3.5. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce *E. campestre*

Les données de la littérature démontrent l'existence d'une variabilité des composés naturels isolés de différents extraits ainsi que différentes parties (aériennes, racines et feuilles) de la plante *Eryngium campestre* L. Elles ont globalement mis en évidence la présence d'acides phénoliques, de flavonoïdes, de polyacétylènes, de saponines, de stéroïdes, de terpénoïdes, de coumarines et notamment les huiles essentielles. Les principaux métabolites secondaires identifiés dans cette espèce sont reportées dans le tableau I.4.

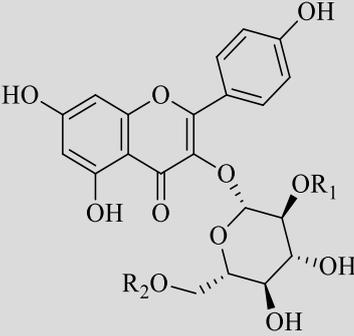
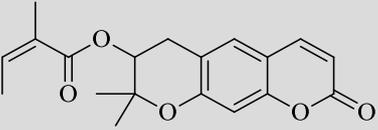
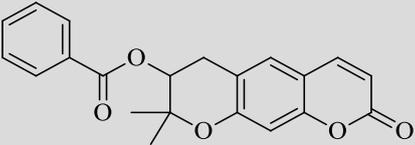
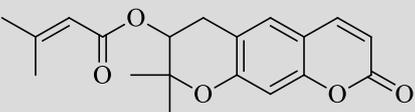
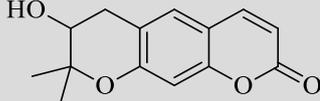
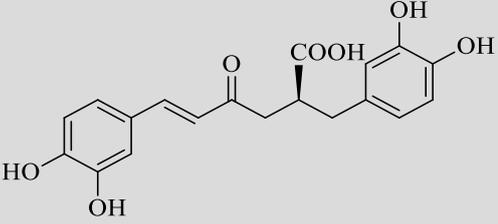
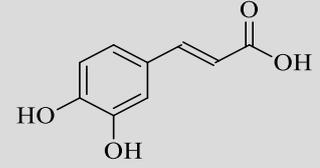
Tableau I.4 : Les principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce *E. campestre*

Nomenclature		Structure		Référence
Composés phénoliques				
Flavonoïdes	(1) : Quercétin 3- <i>O</i> -β-glucoside			[58]
	(2) : Quercétin 3- <i>O</i> -β-glucuronide-4'-méthyléther			
		R₁	R₂	
	(3) : Rutine	1	H	
	2	CH ₃	Acide glucuronique	
	3	H	Rutinoside	

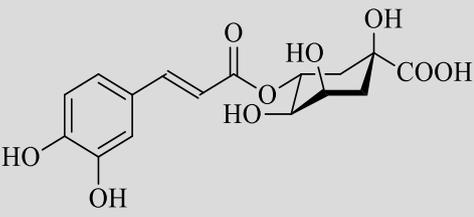
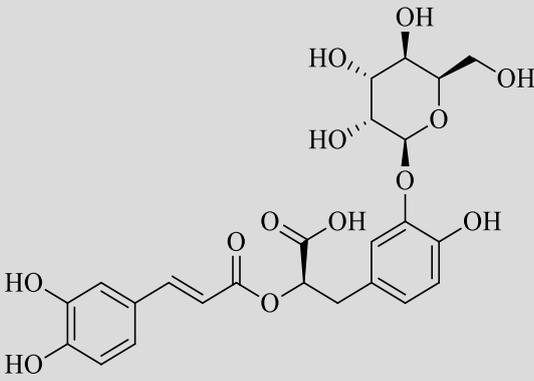
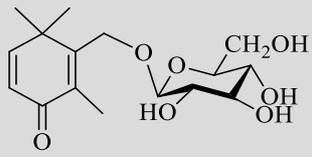
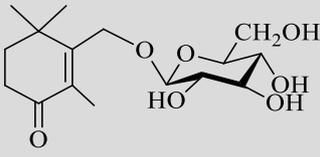
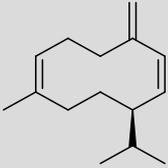
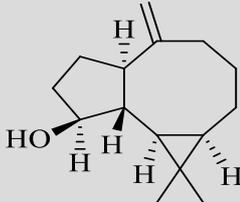
<p>Myricétine 3- <i>O</i>-β-glucoside-3'- méthyléther</p>																				
<p>(1) : Isorhamnetine 3-<i>O</i>-β- glucoside (2) : Isorhamnetine 3-<i>O</i>- β-galactoside (3) : Isorhamnetine 3-<i>O</i>- α-rhamnoside (4) : Isorhamnetine 3-<i>O</i>-β- rutinoside (5) : Isorhamnetine 3-<i>O</i>-β- glucoside-7-<i>O</i>-α-rhamnoside</p>	 <table border="1" data-bbox="742 795 1305 1467"> <thead> <tr> <th></th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>H</td> <td>Glucose</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>H</td> <td>Galactose</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>H</td> <td>Rahmnose</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>H</td> <td>Rutinoside</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>Rhamnose</td> <td>Glucose</td> </tr> </tbody> </table>		R₁	R₂	1	H	Glucose	2	H	Galactose	3	H	Rahmnose	4	H	Rutinoside	5	Rhamnose	Glucose	[58]
	R₁	R₂																		
1	H	Glucose																		
2	H	Galactose																		
3	H	Rahmnose																		
4	H	Rutinoside																		
5	Rhamnose	Glucose																		
<p>(1) : Myricétine 3-<i>O</i>-β- glucoside-4'-méthyléther (2) : Myricétine 3-<i>O</i>-β- galactoside-4'-méthyléther</p>	 <p>(1) : R : Glucose (2) : R : Galactose</p>																			

<p>Naringénine 7-<i>O</i>-α-L-rhamnopyranosyl- (1\rightarrow2)-<i>O</i>-glucopyranoside</p>		[28]												
<p>(1) : Quercitrine (2) : Isoquercitrine (3) : Lutéoline 7-<i>O</i>-β-D-glucopyranoside</p>	 <table border="1" data-bbox="742 1272 1300 1489"> <thead> <tr> <th></th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>α-L-rhamnopyranosyl</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>β-D-glucopyranosyl</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>H</td> <td>β-D-glucopyranosyl</td> </tr> </tbody> </table>			R ₁	R ₂	1	α -L-rhamnopyranosyl	H	2	β -D-glucopyranosyl	H	3	H	β -D-glucopyranosyl
	R ₁		R ₂											
1	α -L-rhamnopyranosyl	H												
2	β -D-glucopyranosyl	H												
3	H	β -D-glucopyranosyl												
<p>(1) : Astragaline (2) : kaempférol 7-<i>O</i>-α-L-rhamnopyranoside (3) : kaempférol 3,7-di-<i>O</i>-α-L-rhamnopyranoside</p>	 <table border="1" data-bbox="742 1780 1300 1933"> <thead> <tr> <th></th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>β-D-glucopyranosyl</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>H</td> <td>α-L-rhamnopyranosyl</td> </tr> </tbody> </table>		R ₁	R ₂	1	β -D-glucopyranosyl	H	2	H	α -L-rhamnopyranosyl				
	R ₁	R ₂												
1	β -D-glucopyranosyl	H												
2	H	α -L-rhamnopyranosyl												

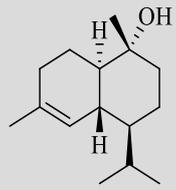
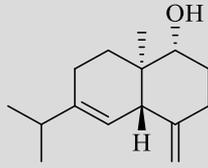
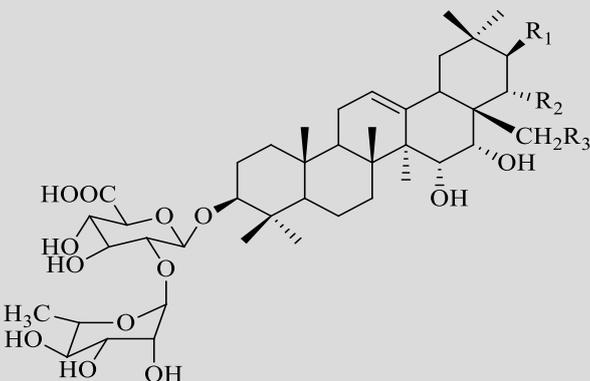
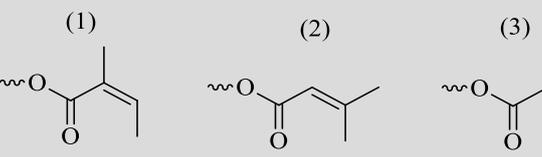
CHAPITRE I

	3	α -L-rhamnopyran	α -L-rhamnopyranosyl	
	(1) : Kaempférol 3-O--D-(2'- <i>p-E</i> -hydroxycinnamoyl)-glucopyranoside			
	(2) :Kaempférol 3-O--D-(2'- <i>p-Z</i> -hydroxycinnamoyl)-glucopyranoside			
				
		(1) : R ₁ : <i>p-E</i> -hydroxycinnamoyl, R ₂ : H		
		(2) : R ₁ : <i>p-Z</i> -hydroxycinnamoyl, R ₂ : H		
Coumarines	Agasylline			[63]
	Benzoate de l'aégélinol			
	Grandivittine			[63]
	Aégélinol			
Acides phénoliques	Acide rosmarinique			
	Acide caféique			[50]

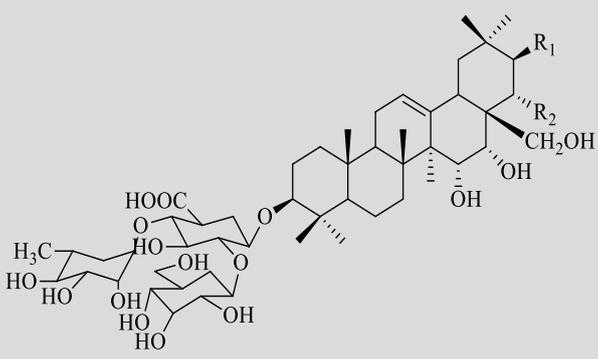
CHAPITRE I

	Acide chlorogénique		
	3'-O-β-D-glucopyranosyl-rosmarinique		[64]
Terpénoïdes			
Monoterpènes glycosides	3-(β-D-glucopyranosyloxyméthyl)-2, 4,4-triméthyl-2,5-cyclohexadièn-1-one		[2]
	3-(β-D-glucopyranosyloxyméthyl)-2, 4,4-triméthyl-2-cyclohexèn-1-one		
Sesquiterpènes	Germacrène D		[34]
	Spathulénol		

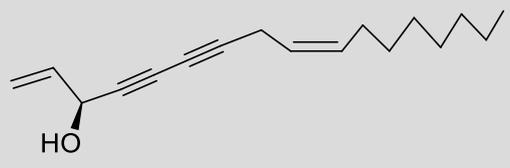
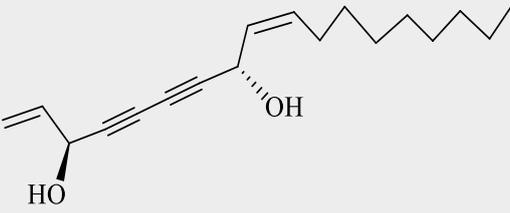
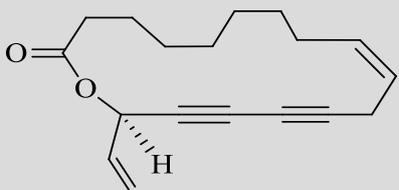
CHAPITRE I

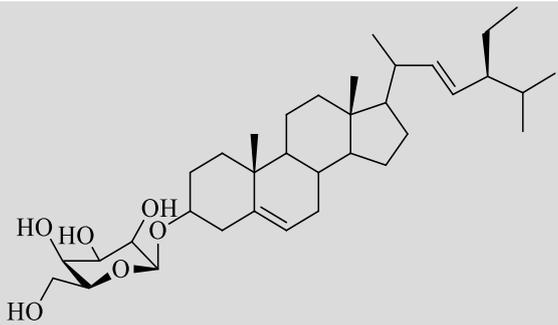
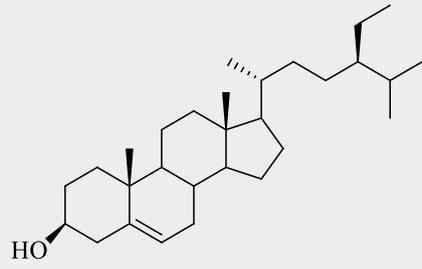
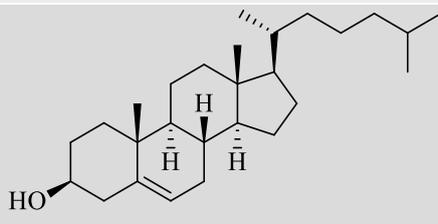
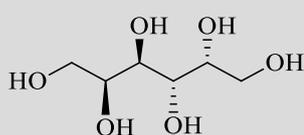
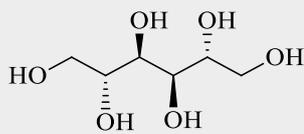
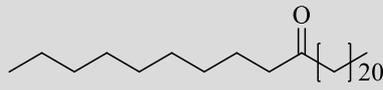
	α -Cadinol		[7]																								
	Eudesma-4(15)-7-dièn-1- β -ol		[34]																								
Saponines triterpéniques	(1) :3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl-22- <i>O</i> - β,β -diméthylacryloyl-A1-barrigenol	  <p>(1) Ang= Angeloyl (2) dma=β,β-diméthylacryloyl (3) Ac=Acétyl</p>	[65-66]																								
	(2) :3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl-22- <i>O</i> -angeloyl-R1-barrigenol																										
	(3) :3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl-21- <i>O</i> -acétyl-22- <i>O</i> -angeloyl-R1-barrigenol																										
	(4) :3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl-21- <i>O</i> -acétyl-22- <i>O</i> - β,β -diméthylacryloyl-R1-barrigenol																										
	(5) :3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl-21- <i>O</i> -acétyl-22- <i>O</i> -angeloyl-R1-barrigenol																										
		<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> <th>R₃</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>H</td> <td>dma</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>OH</td> <td>Ang</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Ac</td> <td>Ang</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Ac</td> <td>dma</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>OH</td> <td>Ang</td> <td>Ac</td> </tr> </tbody> </table>		R ₁	R ₂	R ₃	1	H	dma	OH	2	OH	Ang	OH	3	Ac	Ang	OH	4	Ac	dma	OH	5	OH	Ang	Ac	
	R ₁	R ₂	R ₃																								
1	H	dma	OH																								
2	OH	Ang	OH																								
3	Ac	Ang	OH																								
4	Ac	dma	OH																								
5	OH	Ang	Ac																								

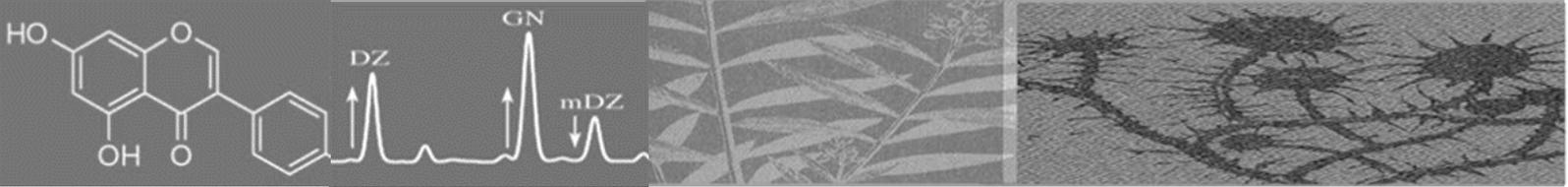
CHAPITRE I

<p>(5) : 3-<i>O</i>-α-L-rhamnopyranosyl-(1\rightarrow2)-β-D-glucuronopyranosyl-22-<i>O</i>-angeloyl-28-<i>O</i>-acétyl-R1-barrigenol</p> <p>(6) : 3-<i>O</i>-β-D-glucopyranosyl-(1\rightarrow2)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1\rightarrow4)]-β-D-glucuronopyranosyl-22-<i>O</i>-angeloyl-R1-barrigenol</p> <p>(7) : 3-<i>O</i>-β-D-glucopyranosyl-(1\rightarrow2)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1\rightarrow4)]-β-D-glucuronopyranosyl-22-<i>O</i>-β,β-dimethylacryloyl-A1-barrigenol</p>				
		R₁	R₂	
	6	OH	Ang	
7	H	dma		

Polyacétylènes

Falcarinol		[34]
Falcarindiol		[34]
Campestrolide		[7]

Stérols		
Stigmastérole-3 β -D-glycopyranosyde		[67]
β -sitostérol		[60]
Cholestérol		[60]
Autres composés		
D-galactitol		[50]
D-mannitol		
10-hentriacontanone		



CHAPITRE II

ÉTUDE DES POLYACÉTYLÈNES

II.1. Généralités

Les polyacétylènes (PA) ou acétylènes forment un groupe substantiel distinct de produits naturels. Cette classe comprend de composés insaturés renfermant une, deux ou plusieurs triples liaisons dans leurs molécules bien qu'ils ne fassent pas référence aux polymères, et leur production possède des métabolites et des précurseurs ne contenant qu'une triple liaison. Plus de 2000 polyacétylènes différents ainsi que des substances qui leur sont apparentées ont été isolés [68].

Ces métabolites ont toujours été attrayants en raison de leurs caractéristiques structurales fascinantes, bioactivités importantes et types particuliers de biosynthèse. Le premier composé acétylénique, l'acide taririque (Figure II.1), a été isolé de l'huile de graines de *Picramnia tariri* par Arnauden 1892 ; à cette époque, la principale difficulté d'identification des acétylènes était le manque des méthodes d'analyse structurale appropriées. Actuellement, à l'aide de l'analyse spectroscopique moderne, en particulier l'utilisation de RMN et SM, des milliers des acétylènes naturels ont été isolés et caractérisés [69].

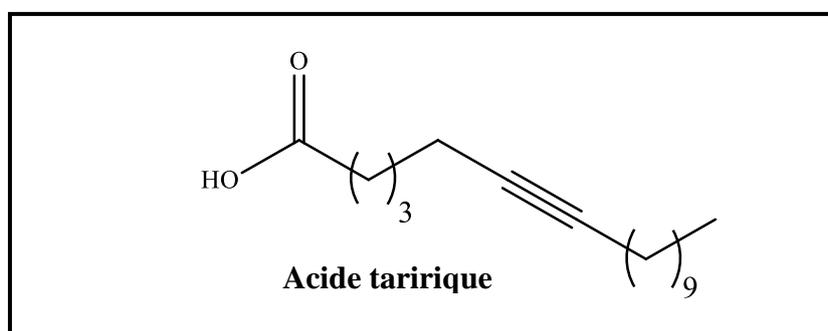


Figure II.1 : Structure chimique du premier composé acétylénique isolé (acide taririque)

Les PA, comme d'autres substances organiques insaturées, sont chimiquement et biologiquement actifs. Cette réactivité élevée conduit à leur oxydation et dégradation rapide, en particulier lors de l'exposition aux rayons UV et au pH du milieu. Ce qui rend ce type de composés relativement instables et nécessitant des conditions spéciales d'extraction et d'investigation [69,70].

II. 2. Structure chimique et classification

Les polyacétylènes (ou polyynes) forment un grand groupe de composés naturels bioactifs non volatils qui comprennent au moins deux triples liaisons carbone-carbone, souvent conjuguées [71]. Ils sont généralement linéaires, mais ils peuvent aussi être partiellement cyclisés et comportant une ou plusieurs doubles liaisons ainsi que des hétéroatomes (oxygène, soufre et chlore) fréquemment inclus dans un système hétérocyclique : furane, dihydrofuranone, thiophène, thiétanone, dithiacyclohexadiène (Figure II.2) [70,72].

Compte tenu de ces caractéristiques structurales et selon la longueur du squelette hydrocarboné de la molécule, les polyacétylènes sont classés en :

- ✓ Composés acétyléniques acycliques en C₁₈-C₁₄ ;
- ✓ Composés acétyléniques acycliques en C₁₃-C₈ ;
- ✓ Composés à structure allène ;
- ✓ Composés acétyléniques aromatiques et hétérocycliques ;

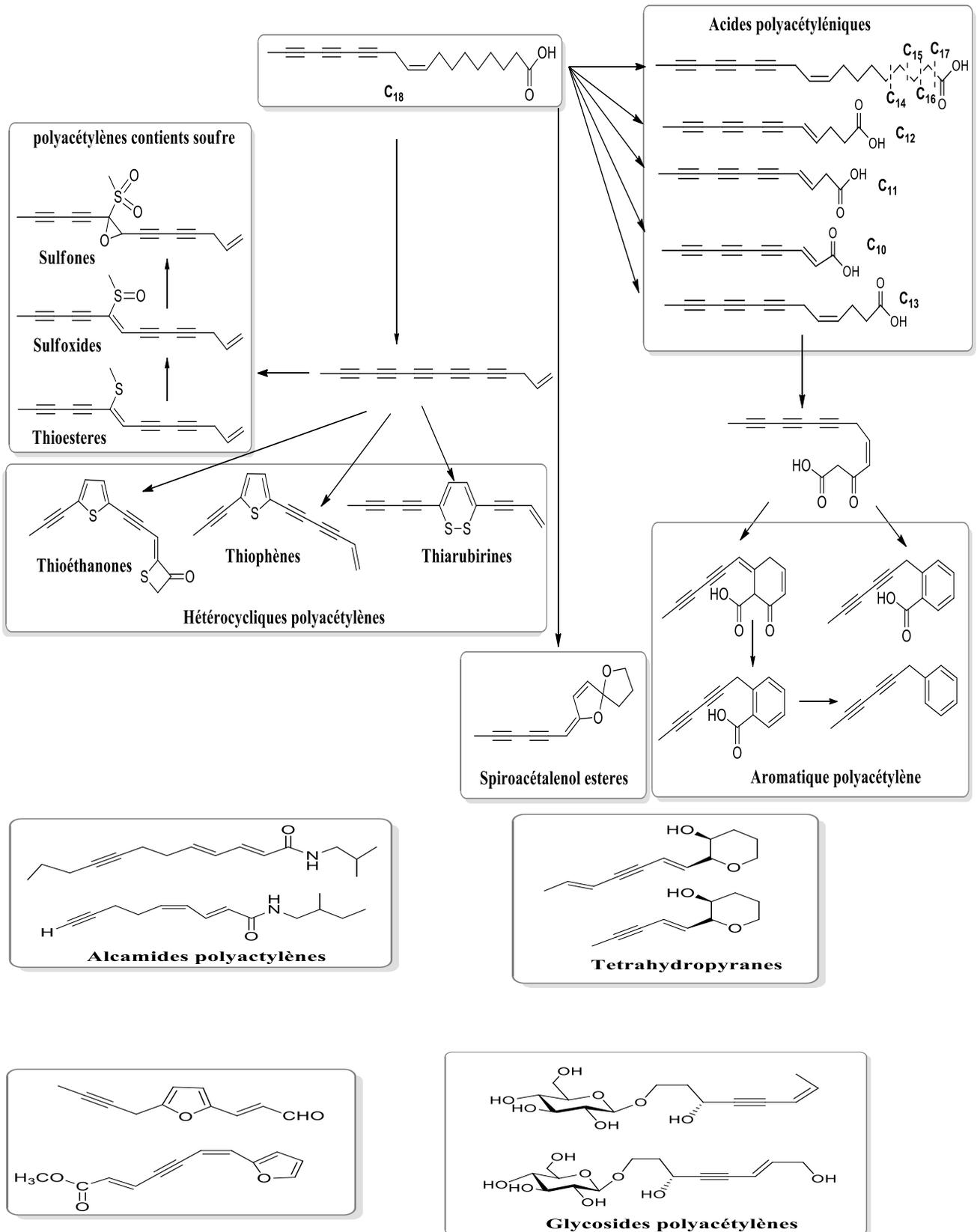


Figure II.2 : Principales classes de polyacétylènes naturels

II.3. Biosynthèse des polyacétylènes

Les plantes produisent des PA en raison de se défendre contre les attaques microbiennes (agissant comme des phytoalexines), des maladies ou un stress [73]. La diversité structurale observée dans les polyacétylènes indique que leurs biosynthèses résultent de différents précurseurs. Toutefois, une comparaison de leurs structures révèle que la plupart des polyacétylènes sont biosynthétisés à partir des acides gras insaturés [74]. Dans lequel, les acides gras saturés, biosynthétisés par l'addition d'unités malonyle à une chaîne acyle au cours de l'élongation, ce sont les principaux éléments constitutifs des voies de synthèse pour la production de polyacétylène. Ce processus s'effectue par différents enzymes, où l'étape déterminante est l'oxydation d'une double liaison préexistante à triple [75]. Deux modèles proposés (Figure II.3) pour la biogenèse des liaisons acétyléniques [73] :

- Désaturation de la fonction alcène existante par une déshydrogénation catalysée par le fer avec de l'oxygène : (A)
- L'élimination d'un intermédiaire énoil carboxylate activé est entraînée thermodynamiquement par la formation de CO_2 : (B)

La première voie serait opérationnelle avec les lipides acyles de pleine longueur, tandis que la seconde installerait des groupes acétyléniques pendant la biosynthèse des acides gras de novo [73].

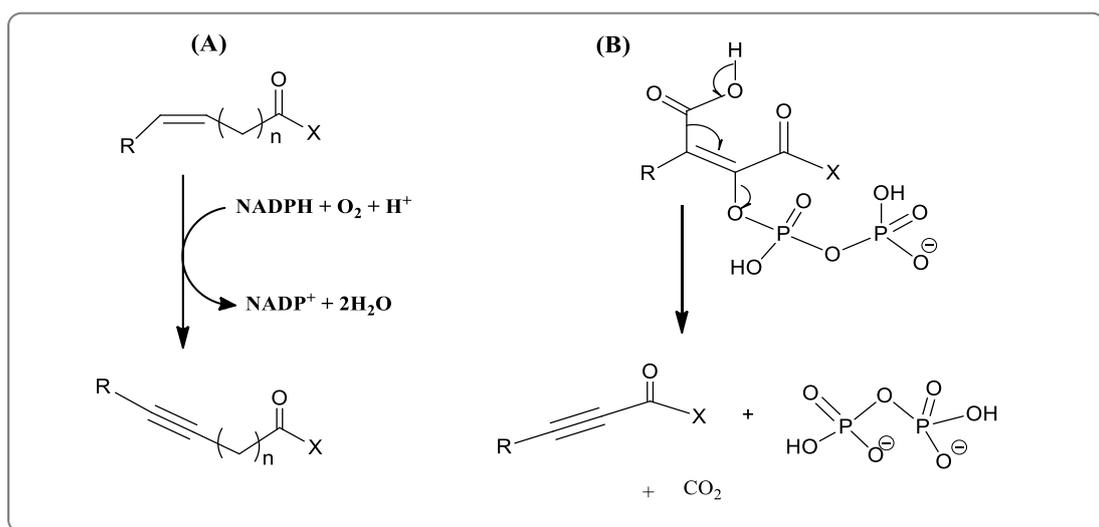


Figure II.3 : Voies proposées lors de la formation de la triple liaison acétylénique

CHAPITRE II

Ces voies sont en mesure de fournir trois intermédiaires différents, l'acide crépénynique, l'acide stéarolique et l'acide taririque, à leurs tours les éléments constitutifs de la biosynthèse de la grande variété de polyines. Ces intermédiaires monoacétyléniques subissent plusieurs réactions possibles pour donner la grande variété de polyacétylènes naturels [75].

L'acide crépénynique semble être le premier composé acétylénique à être biosynthétisé dans les plantes, d'autres composés étant formés par désaturation, dégradation par α - et β -oxydation, décarboxylation et oxydation (Figure II.4) [76].

- Des réactions d'oxydation sont effectuées pour raccourcir la chaîne des polyacétylènes ou pour introduire des fonctions hydroxyle, époxyde et cétone.
- La décarboxylation conduit à des polyacétylènes en C₁₇, ou plus généralement à des polyacétylènes caractérisés par un squelette avec un nombre impair d'atomes de carbone.
- L'addition d'atomes de soufre à une fraction de diyne conjuguée d'un polyacétylène conduit à des cycles thiophène.
- Les polyacétylènes aromatiques sont formés par la cyclisation des six derniers atomes de carbone d'un composé à chaîne droite.
- D'autres voies biosynthétiques peuvent effectuer la formation de spiroacétal-énol-éthers, amides ou fragments furaniques [75,76].

Ces modifications se produisent fréquemment dans la série acétylénique et aident à expliquer le grand nombre de composés observés.

La figure II.5 rassemble quelques exemples de la biosynthèse possible des polyacétylènes de type Aliphatiques en C₁₇ (type falcarinol et déhydrofalcarinol) [74,77].

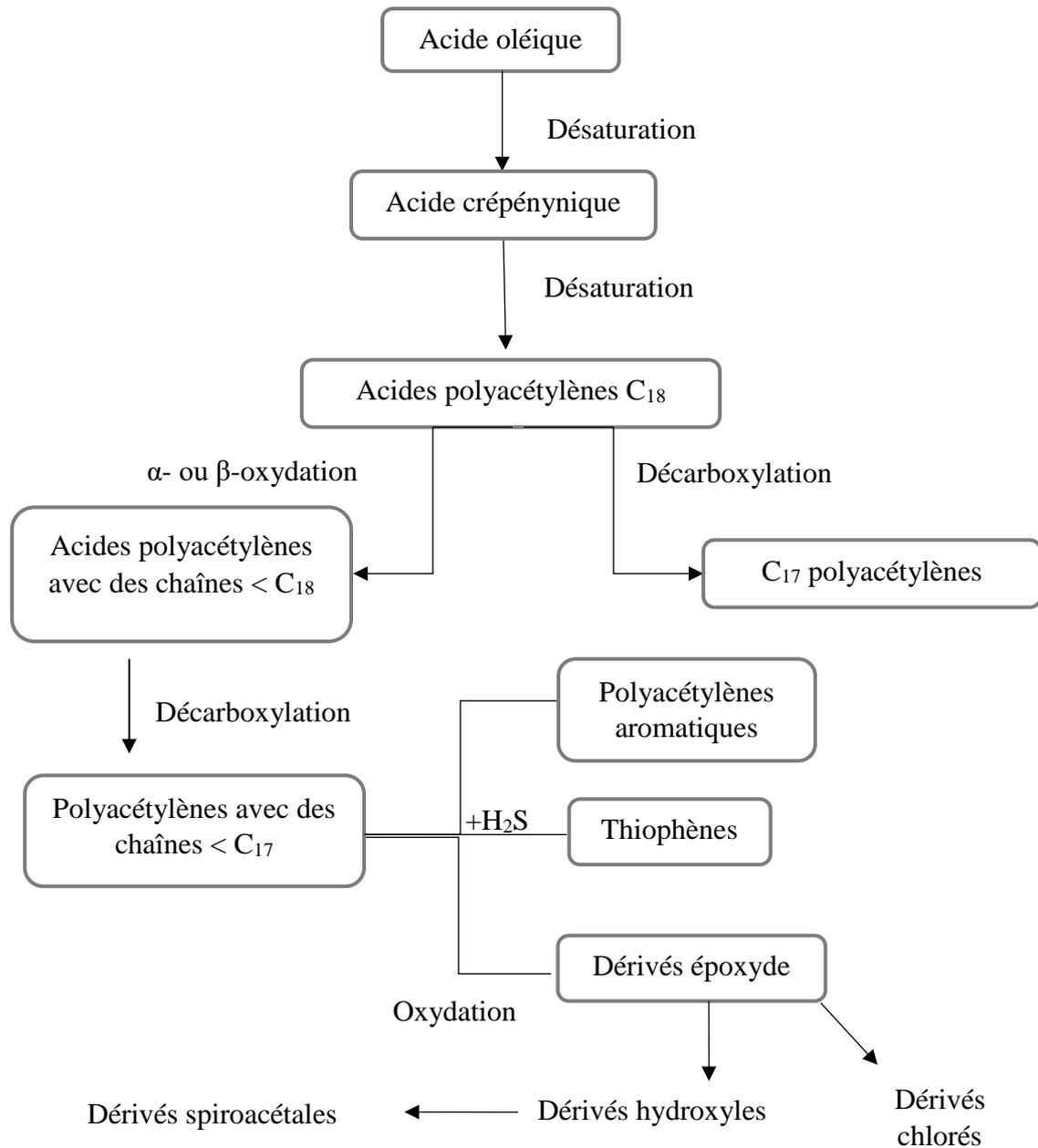


Figure II.4 : Voie biosynthétique générale des polyacétylènes et ses dérivés

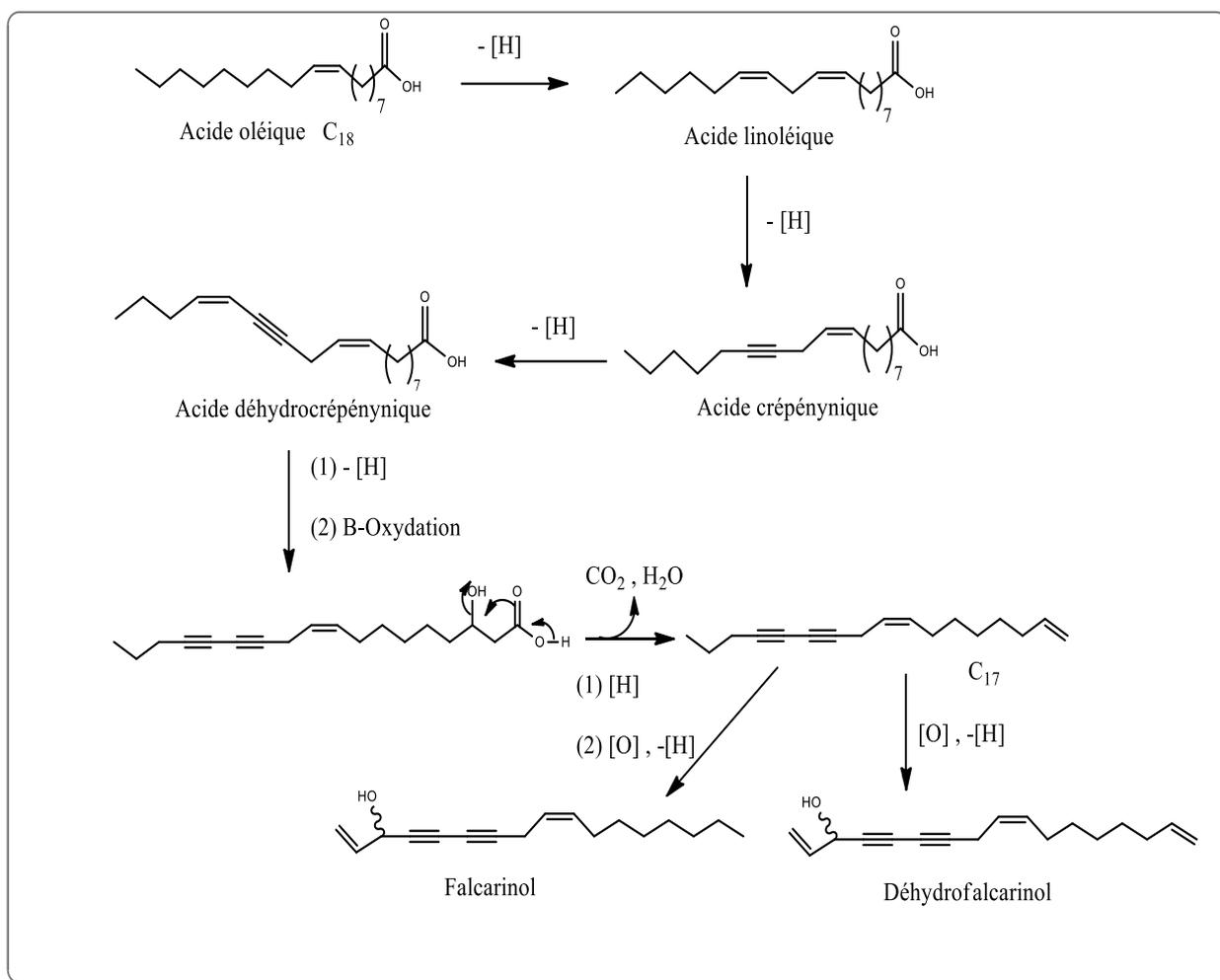


Figure II.5 : Biosynthèse des polyacétylènes de type faltarinol

II.4. Sources des polyacétylènes

Les composés polyacétylés constituent un groupe particulier des molécules biologiquement et chimiquement actives, très prédominant dans les plantes supérieures mais groupées dans des taxons particuliers. Ils se rencontrent le plus souvent dans sept familles Apiaceae, Araliaceae, Asteraceae (Compositae), Campanulaceae, Olacaceae, Pittosporaceae et Santalaceae [70].

Dans les Apiaceae, les polyacétylènes ont été isolés à partir de 41 genres, principalement *Aegopodium*, *Angelica*, *Bupleurum*, *Cicuta*, *Heracleum*, *Ligusticum*, *Oenanthe*, *Peucedanum*, *Pituranthos* et *Seseli*. Chez les Asteraceae, il a été démontré que les polyacétylènes sont présents dans les tribus *Heliantheae*, *Cynareae*, *Astereae* et *Anthemideae*[68].

CHAPITRE II

Quelques plantes alimentaires sont caractérisées par la production des polyacétylènes dans leurs parties comestibles comprenant des légumes importants, tels que la carotte (*Daucus carota* L.), le céleri (*Apium graveolens* L.), la laitue (*Lactuca sativa* L.), le persil (*Petroselinum crispum* Mill.), l'aubergine (*Solanum melongena* L.), l'artichaut (*Helianthus tuberosus* L.), la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) et les épices comme le carvi (*Carum carvi* L.). Les polyacétylènes les plus courants isolés à partir des plantes alimentaires sont le falcarinol, le falcarindiol et la falcarinone [78,74].

Ces composés se trouvent aussi dans les champignons, où la longueur de chaîne typique est de C₈ à C₁₄, et ils sont présents dans les espèces *Agrocybe dura*, *Marasmius oreades*, *Serpula lacrymans*, *Fistulina hepatica* [79,80].

Les organismes marins sont également une grande source de polyacétylènes. Plus de 300 polyacétylènes ont été rencontrés dans les éponges, en particulier, des genres *Petrosia*, *Xestospongia*, *Strongylophora*, *Haliclona*, *Reniera* et *Callyspongia* [81].

Cette large classe des composés ont été également identifiés comme faisant partie du métabolisme secondaire des mousses, lichens, basidiomycètes, insectes, grenouilles et invertébrés sessiles [68].

Les tableaux ci-après représentent les structures de quelques composés polyacétyléniques et leurs sources :

Tableau II.1 : Quelques polyacétylènes retrouvés chez les plantes supérieures

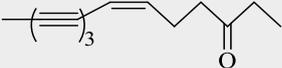
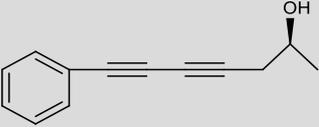
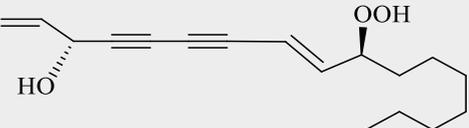
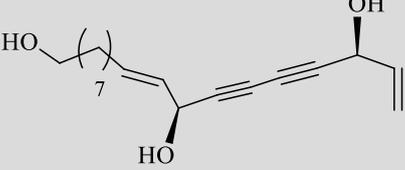
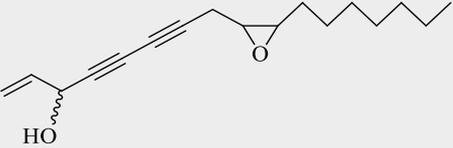
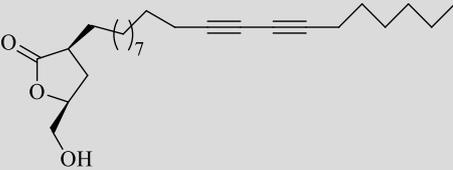
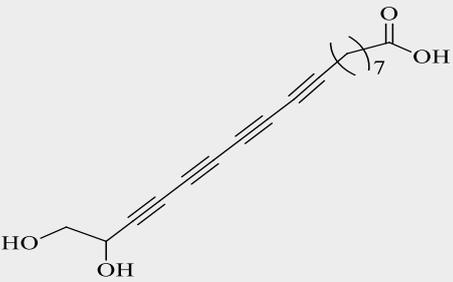
Nomenclature	Structure	Espèce	Famille	Référence
Artemisia cétone		<i>Artemisia princeps</i> Pamp.	Asteraceae	[82]
(-)-pilosol A		<i>Bidens pilosa</i>		[83]
Ginsenoyne k		<i>Daucus carota</i> L	Apiaceae	[84]
Oplopantriol A		<i>Oplopanax horridus</i>	Araliaceae	[85]
Panaxydol		<i>Panax ginseng</i>		[86]
Débilisone A		<i>Polyalthia debilis</i>	Annonaceae	[87]
Acide mkiluaynoïque A		<i>Mkilua fragrans</i> Verdc		[75]

Tableau II.2 : Quelques polyacétylènes retrouvés chez les champignons et les organismes marins

Nomenclature	Structure	Espèce	Type	Référence
Agrocybine		<i>Agrocybe dura</i>	Champignons	[80]
Cinnatriacétine		<i>Fistulina hepatica</i>		[80]
Biformyne		<i>Polyporus biformis</i> Fr		[75]
Pétrosynol		<i>Petrosia ficiformis</i> (Eponge)	Organismes marins	[81]
Bisezakyne-A		<i>Laurencia</i> (Algues rouges)		[88]

II.5. Bioactivités des polyacétylènes

Les polyacétylènes possèdent des propriétés biologiques bénéfiques ainsi que potentiellement nuisibles pour le corps humain. Parmi les activités résolues des propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires, antifongiques et effet antiagrégant plaquettaire ; Ils sont également connus pour être des inhibiteurs d'un certain nombre des enzymes telles que la diacylglycérol acyltransférase, l'oxyde nitrique synthase inductible et protéine de transfert des esters de cholestérol. Tandis, certains polyacétylènes ont été jugés indésirables en raison de leurs propriétés toxiques, notamment la neurotoxicité de ce type de composés naturels à des concentrations élevées [89,90].

II.5.1. Activités bénéfiques des polyacétylènes

a) Anti-inflammatoire

Les réponses inflammatoires jouent un rôle décisif à différents stades du développement tumoral. L'inflammation conduit par exemple à une expression induite des enzymes cyclooxygénase (COX) et lipoxygénase (LOX). Les enzymes COX convertissent l'acide arachidonique en prostaglandines E₂, qui jouent un rôle central dans de nombreux processus physiologiques normaux et en tant que médiateurs inflammatoires. Elles existent dans deux isoformes COX-1 et COX-2 [84].

Le falcarinol et le falcarindiol sont de puissants inhibiteurs des enzymes LOX (5-, 12- et 15-LOX) impliqués dans la progression tumorale et les processus athérosclérotiques. De plus, le falcarindiol est un inhibiteur efficace des enzymes COX, en particulier COX-1 [78].

b) Antifongique

Les polyacétylènes (en particulier C₁₈) isolés des feuilles de *Cassonia barteri* (Araliaceae) et mêmes ceux séparés à partir de l'espèce *Artemisia borealis* ont montrés une activité inhibitrice contre la croissance mycélienne du pathogène fongique *Cladosporium cucumerinum* [82,91]. Dendrazawayne A et B, polyacétylènes retrouvés chez *Dendranthema zawadskii* (Asteraceae), ont prouvé une forte activité antifongique contre le champignon *Trichophyton*, avec des concentrations inhibitrices minimales dans une plage de 5 à 10 µg mL⁻¹ [4]. Ces travaux indiquent que les polyacétylènes naturels auraient pu servir de modèle pour le développement de produits pharmaceutiques pour le contrôle des pathogènes fongiques.

c) Antibactérienne

L'évaluation des propriétés antibactériennes des composés : le dihydropanaxacol, le panaxacol, 1-hydroxydihydropanaxacol et 17-hydroxypanaxacol isolés de *Panax ginseng* (Figure II.6), a montré que ces polyacétylènes ayant un pouvoir antibactérien contre les souches : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* [92]. Cette activité a également, rencontré chez l'acétoxyfalcarinol, le panaxjapyne et le falcarinol (Figure II.6) dont ce dernier a montré un pouvoir antimicrobien remarquable [93].

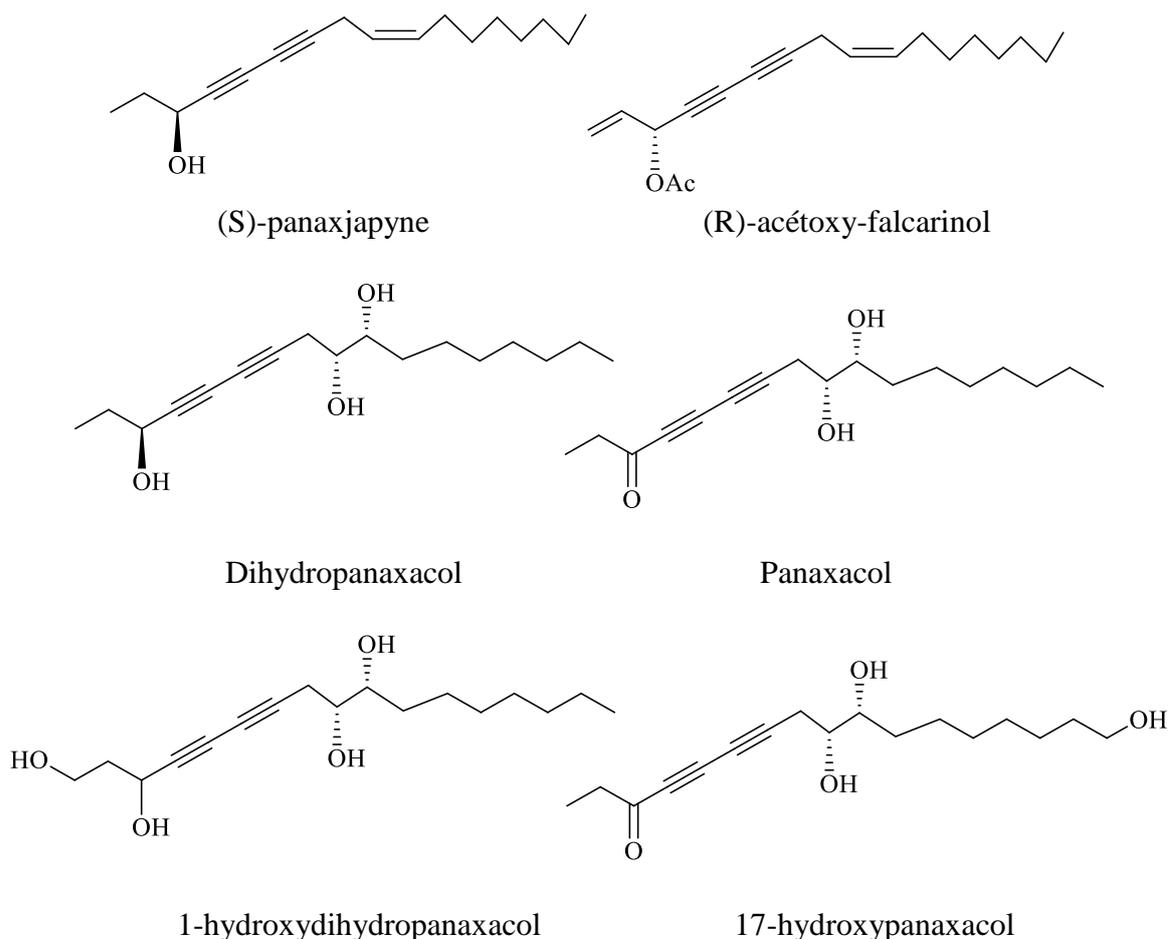


Figure II.6 : Structure des polyacétylènes possédant une activité antibactérienne

Certains polyacétylènes et leurs dérivés de thiophène sont toxiques pour un large éventail des organismes, y compris les nématodes, les champignons, les bactéries, les virus, les insectes, les cellules de mammifères et pour les fibroblastes de la peau humaine en présence UV-A (longueur d'onde 320–400 nm) [94, 77].

En effet, la mesure *in vitro* de la capacité photoactive des polyacétylènes (Figure II.7) montrant l'inhibition du *Candida albicans* après interaction avec les rayons UV, permet d'avoir un criblage rapide des photosensibilisants et de sélectionner ces produits naturels pouvant être appliqués dans la thérapie photodynamique antibactérienne (PDTa) qui représente de plus en plus une alternative émergente contre la résistance microbienne. Aucun de ces polyacétylènes ne provoque une photo-dermatite dans la peau humaine qui peut

CHAPITRE II

caractériser par un érythème sévère immédiat lors d'une exposition au soleil et une hyperpigmentation durable [95-96].

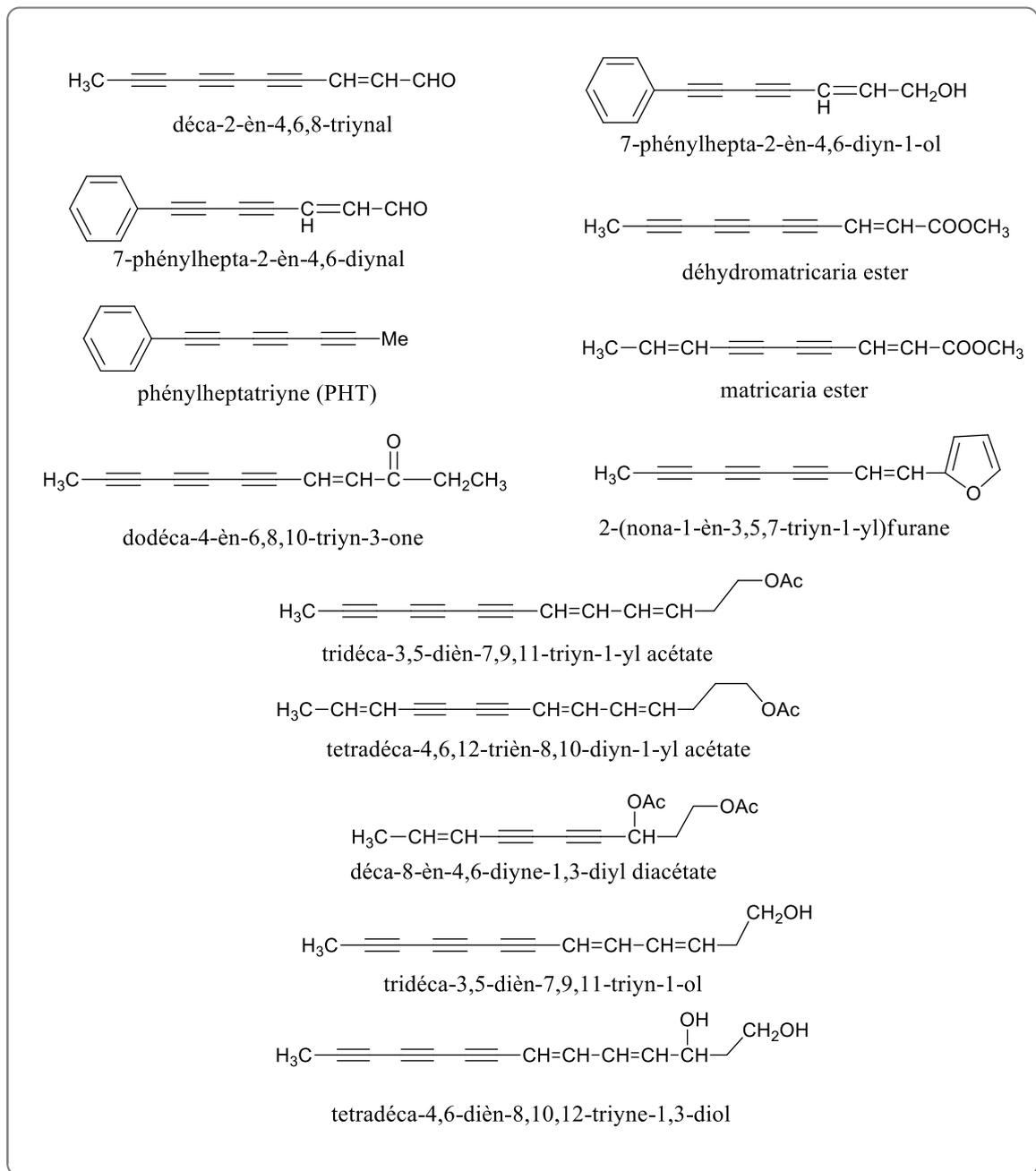


Figure II.7 : Structure des polyacétylènes ayant un pouvoir phototoxiques sur *Candida albicans*

d) Anticancéreux et cytotoxique

L'effet cytotoxique des trois polyacétylènes ; détectés dans la poudre de ginseng rouge coréen a été examiné, *in vitro*, contre plusieurs lignées cellulaires cancéreuses comme les cellules de mélanome malin de souris (B-16), les cellules cancéreuses dérivées de fibroblastes de souris (L-929) et celles d'adénocarcinome gastrique humain (MK-1). Des doses effectives de $DE_{50} = 0.027, 0.016, \text{ et } 0.171 \mu\text{g/mL}$, correspondant respectivement au panaxynol (falcarinol), panaxydol (Tableau II.2) et panaxytriol (Figure II.8), traduisent une forte cytotoxicité vis-à-vis les cellules MK-1, ont été illustrées. Ceci indique que ces composés polyacétyléniques peuvent être un nouveau type de substances cytotoxiques utilisés pour le traitement du cancer [97].

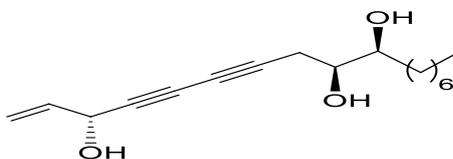


Figure II.8 : Structure chimique du panaxytriol

Une investigation récente réalisée sur l'extrait apolaire (éther de pétrole) de la plante *Eryngium tricuspdatum* L. poussant en Algérie, a permis d'identifier cinq composés polyacétyléniques C_{17} , dans lesquelles le : (3S, 8S)-falcarindiol, (3S, 8S)-falcarindiol-3,8-diacétate ; (3S, 8S)-falcarindiol-8-acétate et (3S, 8S)-11-acétoxy falcarindiol (Figure II.9) ont montrés une capacité d'inhibition de manière significative la croissance *in vitro* d'une série de lignées cellulaires cancéreuses avec IC_{50} allant de 0,3 à 29 μM , déterminée par le test MTT. Ceci contre un panel de six lignées de cellules cancéreuses contenant des modèles de mélanome, de carcinome et de gliome [98].

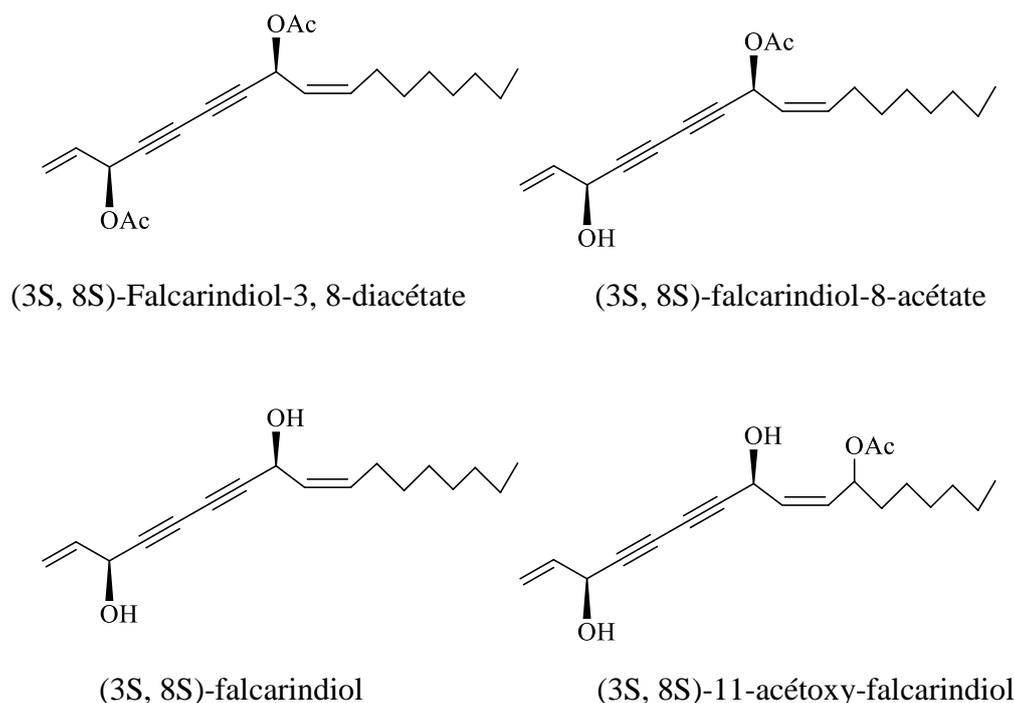


Figure II.9 : Structure de polyacétylènes dérivés du falcarindiol isolés de l'espèce *Eryngium tricuspdatum*

- L'activité cytotoxique des polyacétylènes dépend de leurs structures chimiques, il apparaît que l'unité diyne est essentielle pour leurs effets cytotoxiques, ce qui est également une condition importante pour leur réactivité vis-à-vis des nucléophiles biologiques tels que les acides aminés dans les protéines. De plus, la configuration des centres asymétriques est importante pour la cytotoxicité des acétyléniques C₁₇ et C₁₈ et en particulier, du centre asymétrique en C-3 où les acétyléniques avec une configuration (3S) semblent être plus cytotoxiques que leurs isomères avec la configuration (3R). Par ailleurs, l'acétylation et l'oxydation de l'alcool allylique diminuent également leur cytotoxicité. Ainsi que la réduction de la double liaison terminale aux dérivés « dihydro » correspondant réduit leur cytotoxicité de manière significative. Un réarrangement de la double liaison 9Z dans les polyacétylènes de type falcarinol en une double liaison 8E comme dans les polyacétylènes de type panaxydiol révèle une amélioration de la cytotoxicité. Enfin, la longueur de la chaîne aliphatique joue un rôle important car les polyacétylènes C₁₇ apparaissent plus actives que les analogues C₁₈ correspondant, et de plus, il a été démontré que la cytotoxicité diminue considérablement dans les polyacétylènes synthétiques lorsque

CHAPITRE II

la longueur de la chaîne se raccourcit [99]. Toutes ces analyses réalisées sur la cytotoxicité des polyacétylènes en C₁₇ et C₁₈.

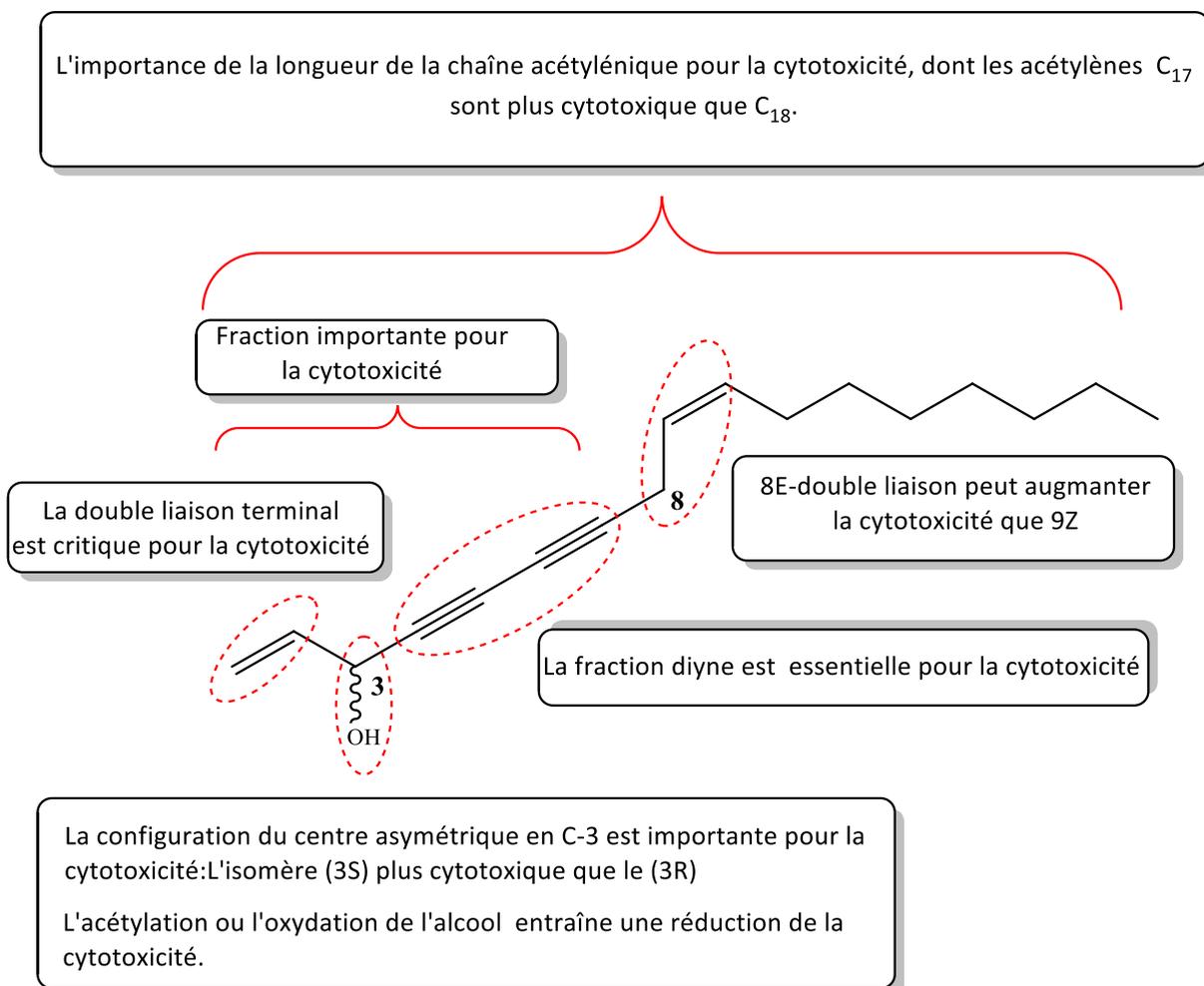


Figure II.10 : Les fragments structurels responsables de la cytotoxicité des polyacétylènes (exemple faltarinol)

II.5.2. Activité toxique des polyacétylènes (Neurotoxicité)

Les genres *Cicuta* et *Oenanthe* appartenant à la famille Apiaceae sont considérés comme faisant partie des plantes les plus toxiques en Amérique du Nord et en Grande-Bretagne. Cette toxicité a été reliée à la présence des polyacétylènes conjugués en C₁₇: la cicutoxine et l'énanthotoxine (Figure II.11), qui agissent comme des antagonistes de l'acideγ-aminobutyrique GABA, non compétitifs, dans le système nerveux central (SNC),

CHAPITRE II

provoquant une dépolarisation neuronale inchangée qui peut entraîner des convulsions [100]. Cette même action neurotoxique a été remarquée chez les espèces du genre *Bupleurum* (Apiaceae), plus particulièrement due aux polyacétylènes : la bupleurotoxine et l'acétylbupleurotoxine (Figure II.11) [90].

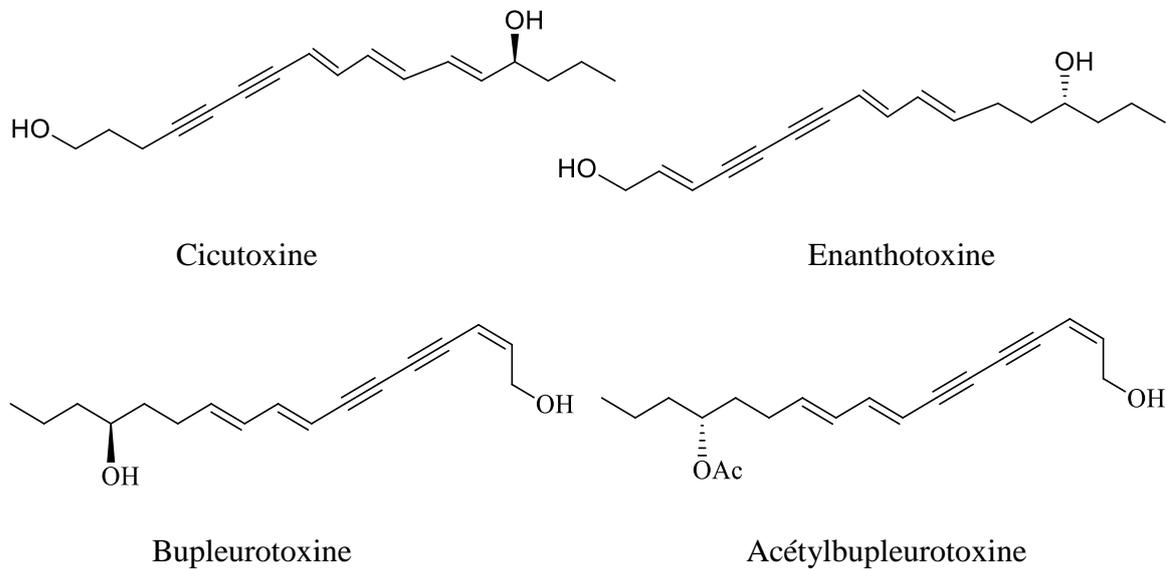


Figure II.11 : Structure chimiques des polyacétylènes extrêmement neurotoxiques

- De nombreuses études ont montrées que la toxicité des polyacétylènes souvent liée à leur structure chimique. Suite à cette hypothèse « relation structure–activité », la toxicité est conférée aux molécules respectives, plus précisément à la longueur et la géométrie de la liaison π , incluse dans le système conjugué, ainsi que à la présence du groupe hydroxyle terminal et de l'alcool allylique (Figure II.12) [90, 100, 79].

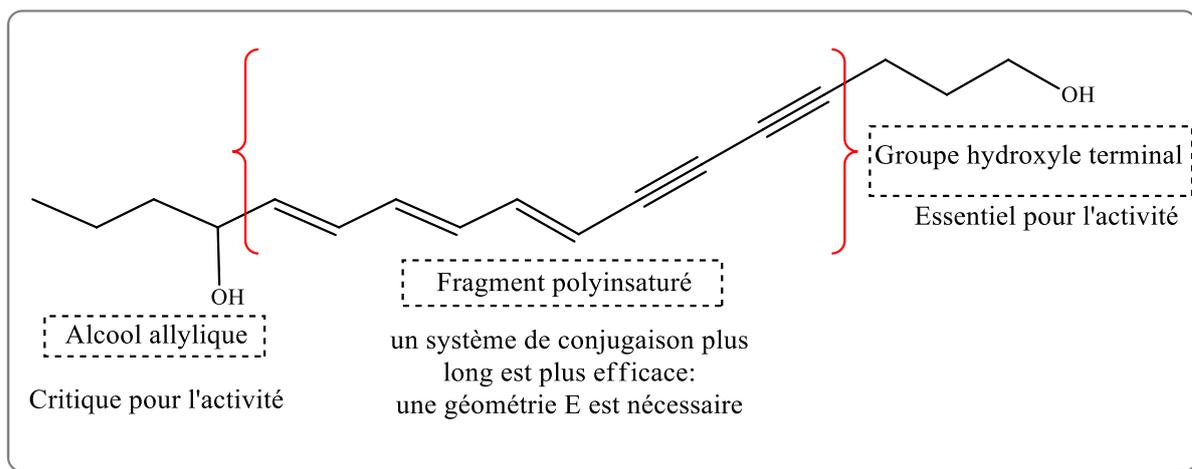


Figure II.12 : Sites structuraux responsables à la toxicité des polyacétylènes

II.6. Méthode d'extraction et séparation des polyacétylènes

La plupart des polyacétylènes sont thermiquement instables et subissent une photo-décomposition en présence de lumière. Ils sont également instables dans des environnements acides ou basiques [101]. Par conséquent, des méthodes douces doivent être utilisées pour l'extraction, la détection et l'isolement de ces composés [78].

Les polyacétylènes sont généralement extraits de la matière végétale (fraîche ou séchée à l'air) par des solvants organiques tels que l'éther diéthylique, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle. Le méthanol est choisi pour obtenir les polyacétylènes hautement polaires (glycosides et hydroxylés). Dans tous les cas, l'extraction doit être effectuée à une température faible et à l'abri de la lumière [101, 69, 78, 75]. En conséquence, leur isolement débuterait généralement par une macération sous agitation dans l'hexane des parties concernées de la plante broyées, et ceci pendant 24 heures. Cette opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'épuisement de la poudre. Les diverses fractions récupérées sont réunies, et par la suite évaporées à sec sous pression réduite à une température inférieure à 35°C [15]. Les mêmes étapes sont rétablies avec les autres solvants organiques à polarité croissante. Pour la séparation des polyacétylènes dans les extraits bruts, plusieurs méthodes peuvent être utilisées : la chromatographie sur colonne (CC); la chromatographie préparative (CCE) et la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) [78].

La colonne (CC) est généralement la première étape de la séparation des polyacétylènes. Les techniques les plus souvent utilisées pour la purification des polyacétylènes sont CC sur

CHAPITRE II

gel de silice normal ou Séphadex LH-20. Les solvants utilisés pour l'élution des colonnes de gel de silice ouvertes sont souvent peu polaires, un gradient du *n*-hexane ou éther de pétrole dans l'acétate d'éthyle ou l'éther diéthylique, est plus fréquent. Tandis que le mélange de CH₂Cl₂/acétone [85:15 (v / v)] a été utilisé pour séparer ces composés par CC en Séphadex LH-20 [26].

La CCM en phase normale est une excellente méthode pour suivre l'avancement de cette séparation, par l'obtention des informations sur la qualité des polyacétylènes dans les extraits ou les fractions et pour le développement de système d'élution convenable [78]. Pour la visualisation des taches des polyacétylènes sur les plaques CCM, un certain nombre de réactifs sont utilisés. Une solution neutre de permanganate de potassium (KMnO₄, 0.32%) est souvent utilisée pour leur visualisation dans laquelle ces composés apparaissent sous forme des taches jaunes sur fond rose. La vitesse de l'apparition de la couleur jaune dépend de l'insaturation où les composés les plus insaturés jaunissent rapidement que les composés moins saturés. Autres réactifs sont utilisés tels que la vanilline, le *p*-diméthylaminobenzaldéhyde et l'anisaldéhyde dissous dans un mélange de l'éthanol (EtOH) et d'acide sulfurique (H₂SO₄) (Tableau II.3) [101,78].

Tableau II.3 : Révélation chimique des polyacétylènes

Polyacétylènes	Vanilline	<i>p</i> -diméthylamino- benzaldéhyde
	Couleur des taches après révélation	
Falcarinol	Brun grisâtre	Marron
Falcarindiol	Brun grisâtre	Marron foncé
Ester (z)-lachnopyllum	Bleu foncé	gris
Furano polyacétylènes	Gris verdâtre	Gris verdâtre

Par ailleurs, la séparation des polyacétylènes par la chromatographie liquide à haute performance a été réalisée sur différents types de colonnes C₁₈ en phase inverse, telles que LiChrospher 100 RP-18, Zorbax Rx-C₁₈, Spherisorb 5S ODS, Econosphere C₁₈ et LiChrosorb RP-18. Dans la plupart des cas, les séparations CLHP-RP sont effectuées par élution en gradient de différentes proportions de méthanol/eau ou acétonitrile/eau [26]. Les

polyacétylènes obtenus sont faciles à identifier par un détecteur à barrette de diodes (DAD) en raison de leurs spectres UV souvent spécifiques [75, 102, 103].

II.7. Identification structurale des polyacétylènes

L'identification structurale des polyacétylènes se fait par diverses méthodes d'analyses physico-chimique, telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN) avec ses différents techniques mono (^1H , ^{13}C , DEPT) et bidimensionnelle (COSY, HMQC, HMBC, HSQC, ROESY, etc.), la spectrométrie de masse (SM), la spectroscopie infra rouge (IR) ainsi que la spectrophotométrie UV-visible [15, 69].

II.7.1. La spectrophotométrie UV-visible

Les polyacétylènes produisent généralement un spectre UV-visible à 200–410 nm. Lors de l'excitation par l'énergie lumineuse, les polyacétylènes subissent des transitions électroniques π - π^* dues à la présence de diyne ($-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-$). En effet, ils peuvent être facilement détectés par la spectroscopie UV même à des faibles concentrations.

Les longueurs d'onde typiques d'un chromophore diyne sont : λ_{max} 230, 240 et 255 nm, tandis que le chromophore diyn-ène ($-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}=\text{C}-$) est caractéristique par λ_{max} 210, 238, 251, 265 et 280 nm. Les polyacétylènes possédant un chromophore diène-diyne-ène ont des longueurs d'onde maximales à 334, 313, 294, 277, 264 et 249 nm (Tableau II.4) [104, 105, 106].

Tableau II.4 : Transitions (π - π^*) caractéristiques de quelques polyacétylènes

Polyacétylènes	λ_{max} (en nm)
Falcarinol	229, 240, 254
Falcarinolone	259, 274, 290
Falcarinone	208, 246, 260, 274, 291
Falcarindione	245, 253, 268, 285, 303

II.7.2. La spectroscopie Infrarouge (IR)

Les spectres IR fournissent des informations sur les groupements fonctionnels présents dans une molécule. En effet, les fonctions acétyléniques ont des bandes d'absorption IR typique ; seules les vibrations d'élongations correspond à triples liaisons se trouvent entre 2000 et 2500 cm^{-1} (acétylénique 2100–2260 cm^{-1}). Les bandes d'absorption dues à la présence des alcynes terminales comprennent deux vibrations d'élongations à 3300 cm^{-1} (liaison C-H sp) et à 2100–2140 cm^{-1} (triple liaison), tandis que la vibration d'élongation d'un alcyne interne se situe entre 2190 et 2260 cm^{-1} [82].

II.7.3. La spectrométrie de masse (SM)

Différents types d'ionisations par spectrométrie de masse (SM) sont utilisés pour identifier et quantifier divers polyacétylènes à savoir : impact électronique (EI) et/ou bombardement atomique rapide (FAB) et ionisation par électro-spray (ESI) en mode positif ou négatif. En général, les polyacétylènes sont plus stables à la fragmentation en mode positif où les ions $[M+Na]^+$ étaient plus abondants qu'en mode négatif [107].

A titre d'exemple, une caractérisation des polyacétylènes isolés de carotte (*Daucus carota*) par spectrométrie de masse en tandem d'ions négatifs a été effectué par Rai, et al. (2011), montré que les polyacétylènes suivent deux voies de fragmentation distinctes: l'une qui implique la fragmentation de la liaison C₃–C₄ et l'autre la fragmentation de la liaison C₇–C₈. La fragmentation de cette dernière a généré des ions produits les pics d'ion pseudomoléculaires à m/z 105 pour le falcarinol (Figure II.13) [107].

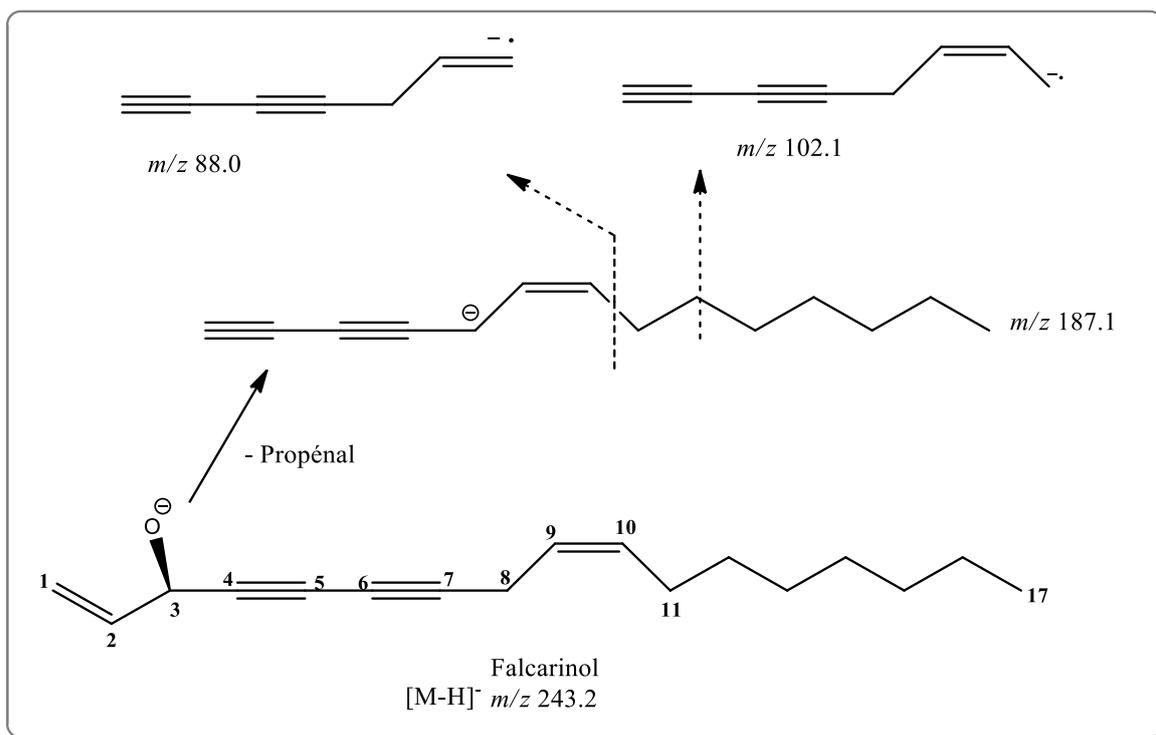
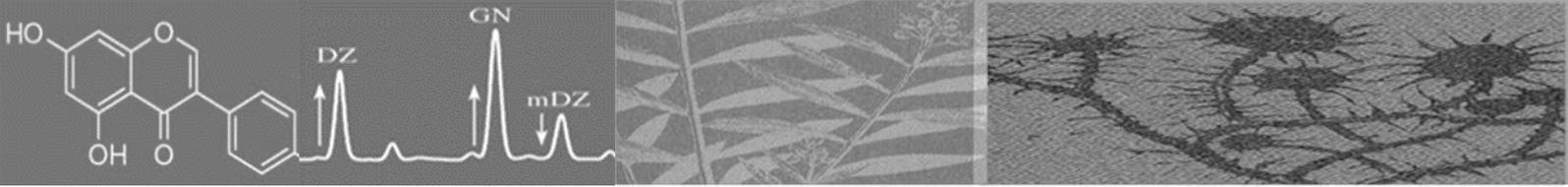


Figure II.13 : Fragmentations produites à partir des ions $[M-H]^-$ du falcarinol

II.7.4. La résonance magnétique nucléaire (RMN)

Pour une confirmation structurale définitive, la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire des polyacétylènes isolés est nécessaire. En effet, En citant par exemple, les déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C des alcynes, qui peuvent être facilement identifiés à travers les déplacements chimiques de protons caractéristiques de l'alcyne terminale résonant entre δ_{H} 1,8 et 3,1 et ceux de leurs carbones porteurs sortant à δ_{C} 80 jusqu'à 90. Des analyses approfondies des expériences RMN 2D conduisent sans doute à la structure finale [82, 107].



CHAPITRE III

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE III

III. 1. Matériels et Méthodes**III.1.1. Récolte de la plante *Eryngium campestre***

La plante *Eryngium campestre* L. (Figure III.1) a été récoltée au mois de mai 2019, dans la région Fesdis (Wilaya de Batna).



Figure III.1 : *Eryngium campestre* L. récoltée dans la région Fesdis

III.1.2. Méthode d'extraction et isolation

100 g de la plante (parties aériennes), préalablement séchés à l'abri de la lumière puis broyés sont soumis à une macération deux fois dans 1L du mélange (Acétone/Eau : 80/20 ; v/v) pendant 48h sous agitation et à température ambiante.

Après réunion et filtration des macéras, le filtrat obtenu a été évaporé et concentré au moyen d'un évaporateur rotatif. L'extrait aqueux obtenu (160 ml) a subi à une extraction liquide-liquide en utilisant, successivement, deux solvants à polarité croissante : Et₂O (100 ml×2) et *n*-butanol (100 ml×2).

L'évaporation à sec des solvants a permis d'obtenir 1.9 g de l'extrait éther-diéthylique (Et₂O) et 1.2 g de l'extrait *n*-butanolique (*n*-BuOH). La figure III.2 résume les différentes étapes suivies dans ce processus d'extraction.

CHAPITRE III

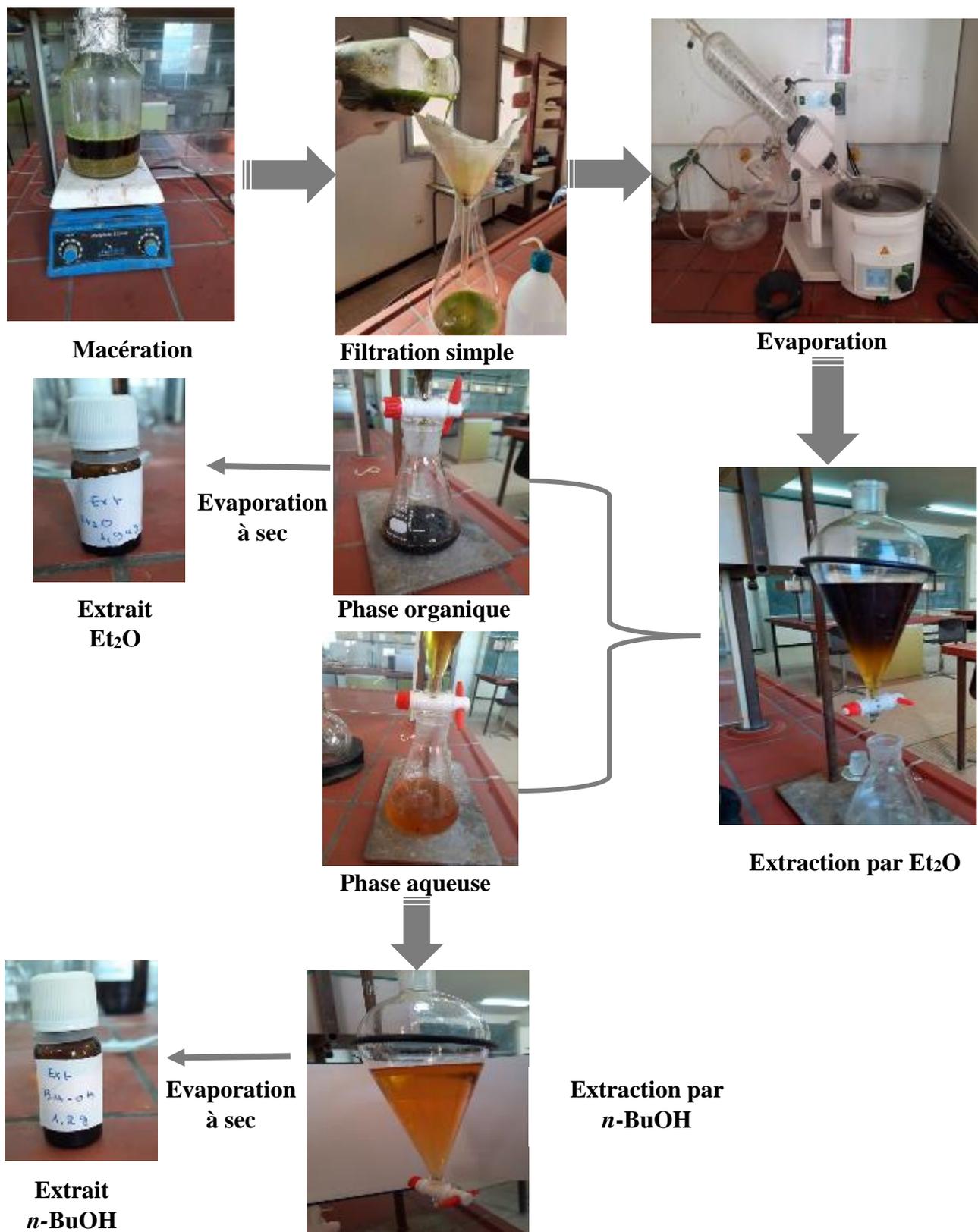


Figure III.2 : Processus d'extraction de la plante *E. campestre*

CHAPITRE III

III.1.3. Contrôle chromatographique des extraits obtenus

Des chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur les extraits obtenus dans différents systèmes de solvants (Figure III.3), mettant en relief leur richesse relative en métabolites secondaires. Par ailleurs, l'extrait Et₂O montre clairement la présence des taches apolaires (majoritaires) et bien séparées, cela nous a permis de favoriser cet extrait à soumettre à une étude phytochimique, en vue de déterminer sa composition chimique.

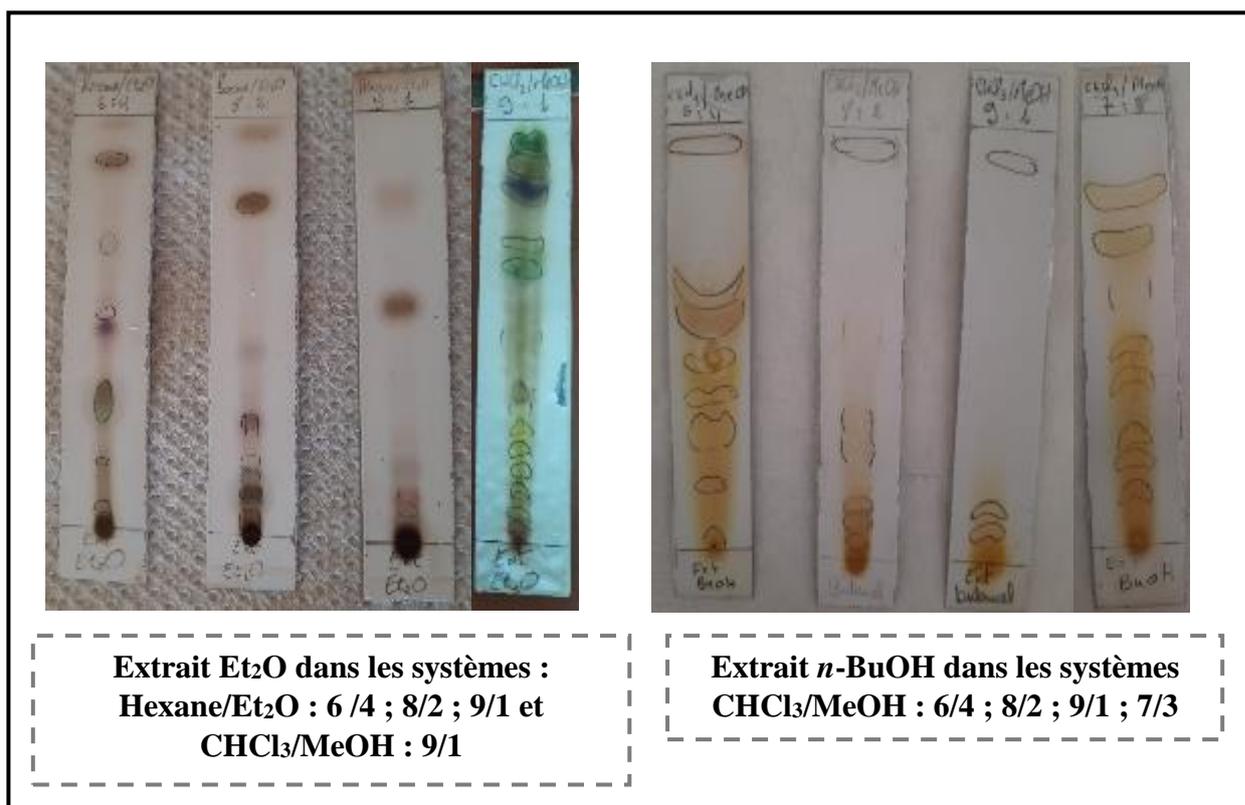


Figure III.3 :CCM des extraits Et₂O et *n*-BuOH

Les plaques CCM sont examinées sous la lumière UV à la longueur d'onde $\lambda = 245$ nm et $\lambda = 365$ nm, puis révélées par une solution acide (25 ml acide acétique, 25 ml acide sulfurique, 50 ml H₂O) et chauffage à 100°C.

CHAPITRE III

III.1.4. Séparation et purification

500 mg de l'extrait éther-diéthylique de la plante *E. campestre* sont traités par une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale (Figure III.4). L'élution a été réalisée par le mélange Hexane-Et₂O à différents gradient (95 :5 ; 9 :1 ; 7 :3 ; 6 :4 ; 5 :5 ; 3 :7 ; 1 :9 et 100%), et ensuite le mélange CHCl₃-MeOH (9 :1 ; 8 :2 ; 5 :5 ; 100%). Ce fractionnement a permis d'obtenir 55 fractions (Tableau III.1).



Figure III.4 :Processus de séparation par la chromatographie sur colonne

Des fractions de 26 ml recueillies à chaque fois, sont soumises à une chromatographie sur couche mince (CCM), visualisées à la lumière UV à la longueur d'onde 254 nm et 365 nm et révélées par une solution acide et chauffage à 100°C (Figure III.5).

Tableau III.1: Fractionnement de l'extrait Et₂O

Eluant colonne		Fractions regroupées
Hexane/Et ₂ O	95 :5	1→5
	9 :1	6→10
	7 :3	11→15
	6 :4	16→20
	5 :5	21→25
	3 :7	26→30
	1 :9	31→35
	100%	36→40
CHCl ₃ / MeOH	9 :1	41→45
	8 :2	46→50
	5 :1	50→55

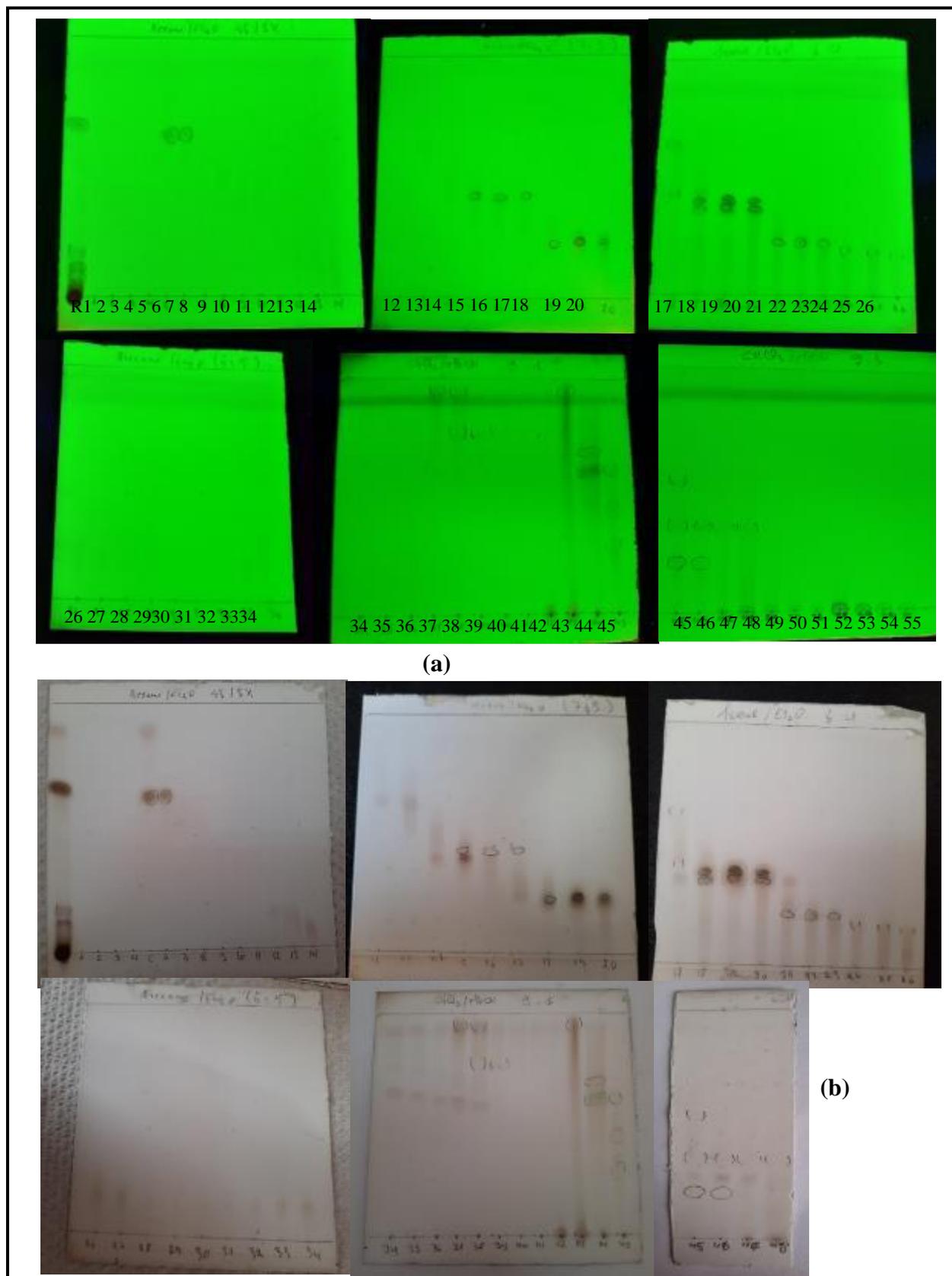


Figure III.5 : CCM en phase normale des fractions (F₁ à F₅₅) de la chromatographie CC de l'extrait Et₂O : (a) UV à $\lambda = 254$ nm, (b) après révélation par solution acide

CHAPITRE III

Après analyse des CCM, les fractions similaires sont regroupées en 20 nouvelles fractions (Tableau III.2 et Figure III.6).

Tableau III.2: Rassemblement des fractions (F₁-F₂₀)

Fractions	Fractions regroupées	Poids en mg
1→4	F ₁	20
5	F ₂	35
6	F ₃	14
7→11	F ₄	6
12→13	F ₅	11
14→16	F ₆	27
17	F ₇	9
18→20	F ₈	57
21	F ₉	11
22→23	F ₁₀	14
24→27	F ₁₁	18
28→36	F ₁₂	20
37→38	F ₁₃	19
39→41	F ₁₄	8
42→43	F ₁₅	56
44	F ₁₆	34
45	F ₁₇	10
46	F ₁₈	6
47→48	F ₁₉	27
49→55	F ₂₀	59

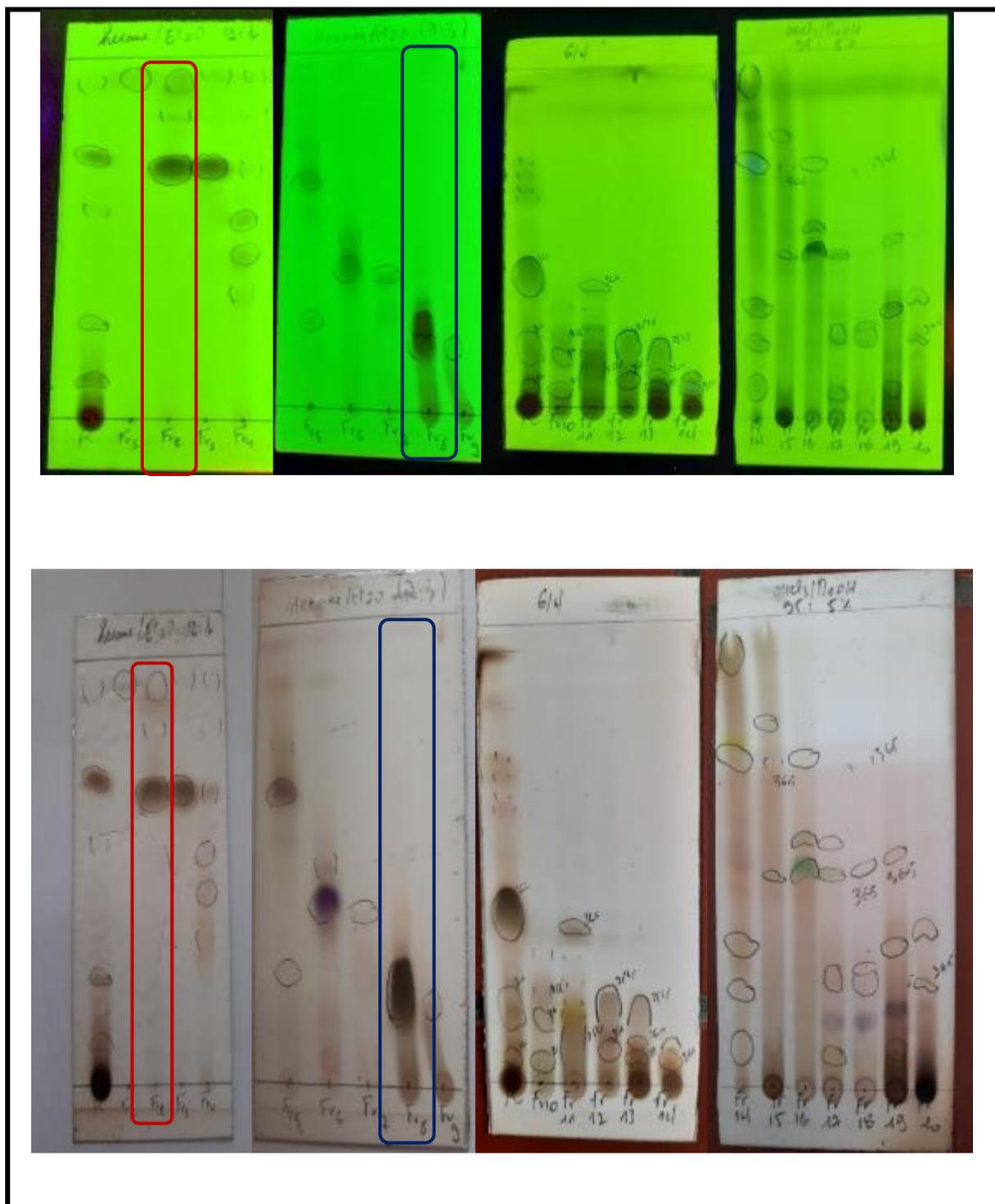


Figure III.6 : CCM récapitulative des fractions $F_1 \rightarrow F_{20}$

Parmi ces fractions obtenues, F_2 (35 mg) et F_8 (57 mg) sont jugées intéressantes. Pour cette raison que nous avons décidé de les purifier.

CHAPITRE III

✚ Séparation de la fraction F₈ (57 mg)

La fraction F₈ (57 mg) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale, en utilisant le système d'éluant : Hexane/Et₂O (9 :1 et 8 :2). Ce fractionnement a permis d'obtenir le composé A (3 mg) à l'état pur, sous forme d'une huile jaunâtre. Le résultat de la progression de cette colonne est illustré sur le tableau III.3.

Tableau III.3: Rassemblement des fractions (F₈₋₁-F₈₋₄)

Système d'éluant	Fractions collectées	Poids des fractions
Hexane/Et ₂ O : 9 /1	1→19	F ₈₋₁ (12 mg)
	20→24	F ₈₋₂ (3 mg)
Hexane/Et ₂ O : 8 /2	25→28	F ₈₋₃ (14 mg)
	29→40	F ₈₋₄ (20mg)

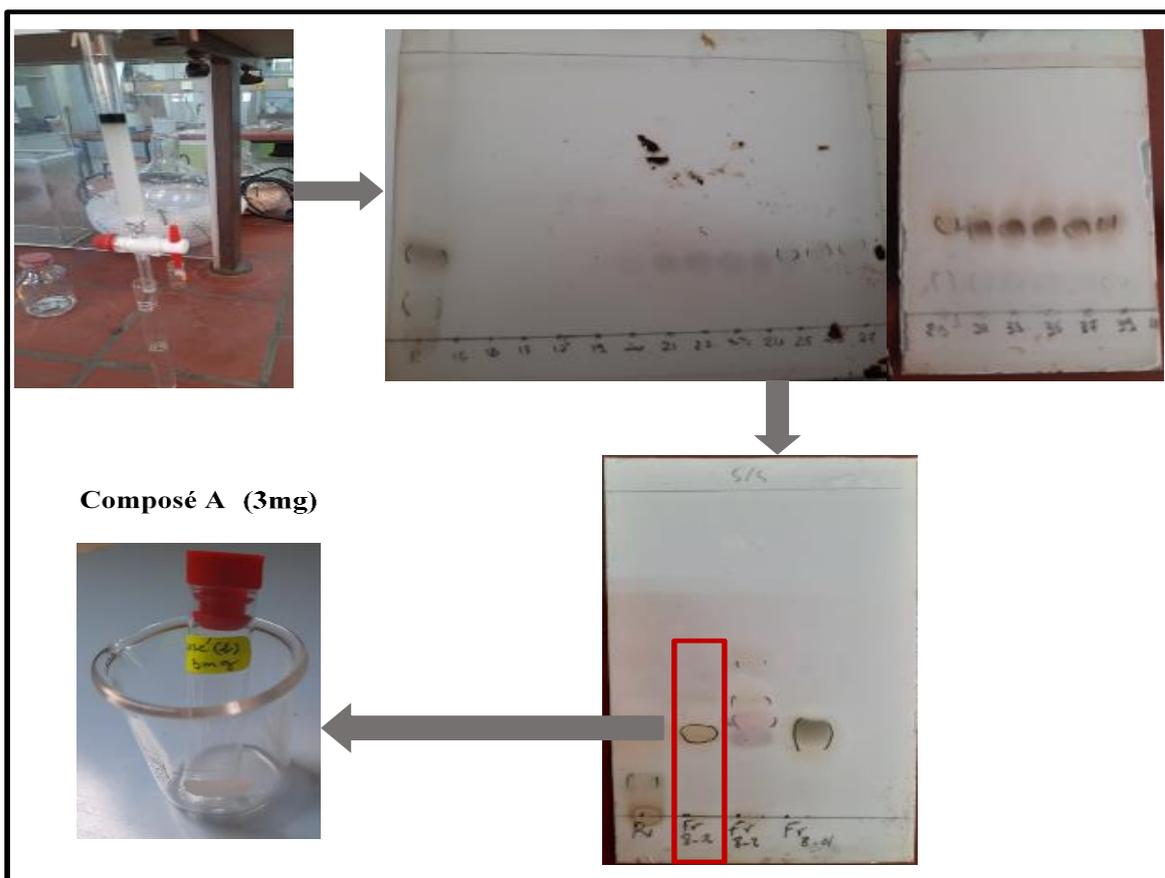


Figure III.7: Processus de purification de la fraction F₈

✚ Purification de la fraction F₂ (35 mg)

Le chromatogramme de la fraction F₂ révèle trois composés distincts. Ceci nous oriente vers une simple séparation par une chromatographie préparative (CCE). En effet, 20 mg de cette fraction doivent être dilués dans le minimum du chloroforme, ensuite déposés sur la ligne de base tracée auparavant sur la plaque CCE (20 x 20 cm) de gel de silice en phase normale, à environ 1 cm de la partie inférieure. Après avoir séché tout le dépôt, la plaque a été développée dans le mélange : Hexane/Et₂O (9 :1), comme éluant adéquat afin d'obtenir une meilleure séparation. À l'aide d'une lampe UV, on a pu détecter trois bandelettes séparables avec des allures différentes dont une est plus remarquable (Figure III.8). Cette dernière a été grattée puis solubilisée dans le chloroforme, en mettant sous agitation pendant 30 min. Après une filtration simple puis l'évaporation à sec de la solution obtenue, une huile jaunâtre odorante a été obtenue, c'est le composé **B** (7 mg).

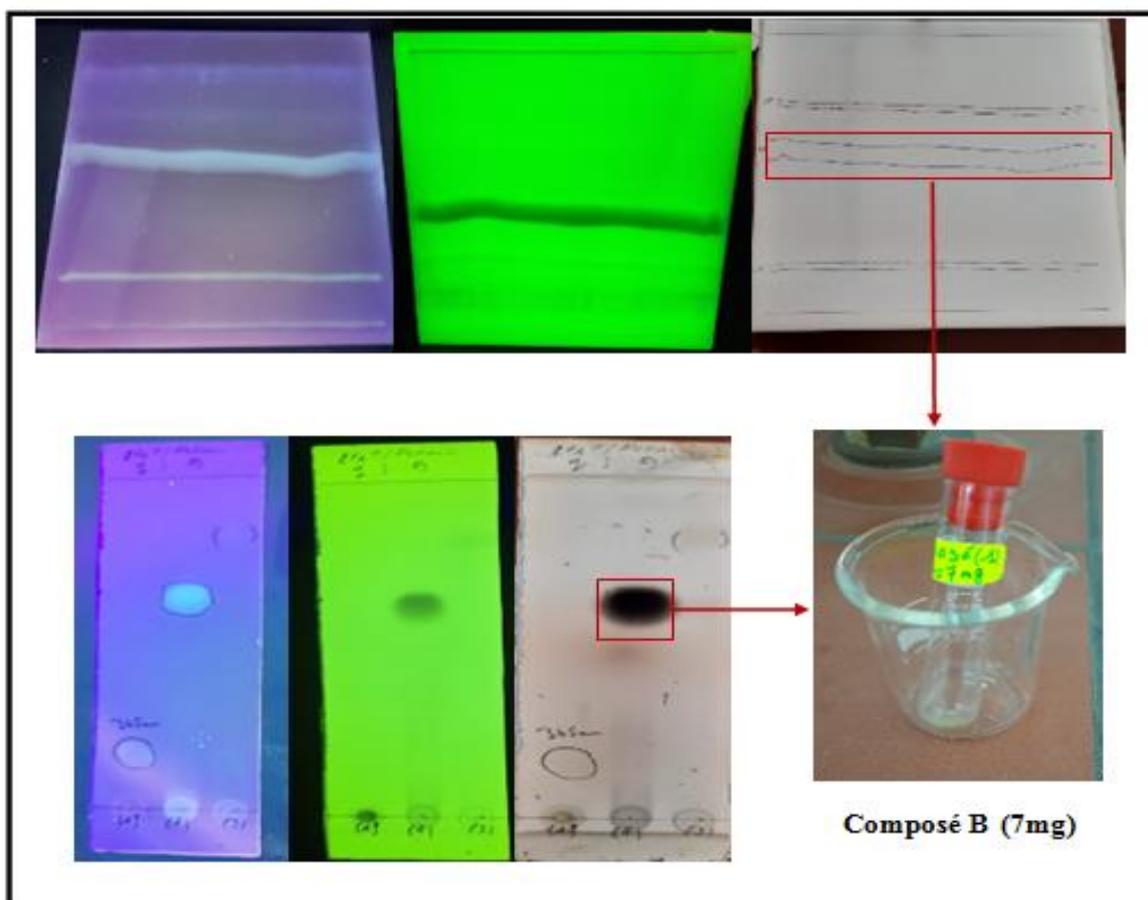


Figure III.8: Processus de purification de la fraction F₂

III. 2. Méthodes chromatographiques analytiques

III.2.1. Chromatographie sur couche mince

Cette technique d'analyse simple permet le suivi et le contrôle lors de différentes étapes du fractionnement et de purification. En conséquent, les chromatogrammes permettent de rassembler judicieusement les fractions récoltées, ainsi que de vérifier la pureté des produits obtenus.

Les chromatographies sur couche mince, utilisées dans cette étude, sont réalisées en phase normale sur des plaques d'aluminium recouvertes d'un gel de silice de type Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck, 200 µm. Le développement de ces plaques s'effectue dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié. La phase mobile (ou éluant) est constituée d'un mélange binaire de solvant selon le type de séparation souhaitée (meilleure séparation). L'examen des chromatogrammes s'effectue sous lumière ultraviolet (à $\lambda = 254$ nm et à $\lambda = 365$ nm), ensuite par un révélateur constitué d'un mélange de l'acide sulfurique 25%, l'acide acétique 25% et 50% d'eau.

III.2.2. Chromatographie sur couche épaisse

La chromatographie sur couche épaisse (CCE) permet la séparation et surtout la purification des composés. Cette technique est basée sur le même principe que la CCM, sauf que le support utilisé pour les plaques CCE doit être en verre. Notre CCE a été réalisée en phase normale de silice F₂₅₄ Merck, d'épaisseur 250 µm, révélée par la suite en utilisant la lampe UV (254 et 365nm).

III.2.3. Chromatographie sur colonne

Cette chromatographie utilise comme phase stationnaire des particules de silice est placée dans une colonne en verre et non sur une plaque et comme phase mobile un solvant ou mélange des solvants comme éluant s'écoule dans la colonne. Nous avons utilisé des colonnes en verre de diamètres différents (2 et 0.5 cm). La phase stationnaire est réalisée en introduisant dans la colonne en suspension de silice Kieselgel 60 (0.063-0.200 mm) Merck qu'est mélangée dans Hexane. La quantité de silice utilisée est généralement 30 à 40 fois supérieure à la quantité de l'échantillon à fractionner.

III. 3. Méthode physico-chimiques

III.3.1. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique spectroscopique la plus importante pour la détermination de la structure des molécules organiques, basée sur les propriétés magnétiques de noyaux atomiques [108, 109]. Elle renferme 1D (RMN ^1H et ^{13}C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC,...)

III.3.1.1. RMN du proton (RMN ^1H)

Le proton est le premier atome et le plus fréquemment utilisé en spectroscopie RMN. Il est aussi appelé hydrogène-RMN (^1H -RMN) qui fournit des informations sur les différentes variétés d'hydrogène présentes dans la molécule et donne également des informations sur son environnement adjacent ainsi que le déplacement chimique caractéristique de chaque proton [110].

Nos spectres ont été effectués à 400 MHz, tandis que ceux de RMN ^{13}C ont été enregistrés à 125 MHz sur des appareils de type Bruker Avance DRX-500 du centre de Recherche de chimie biomoléculaire ICB à Naples (Italie). Les échantillons ont été dissous dans CDCl_3 . Les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS), utilisé comme référence interne. Les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hz.

III.3.1.2. RMN bidimensionnelle (2D)

Les spectres RMN bidimensionnels donnent plus d'informations sur une molécule que les spectres RMN unidimensionnels et sont particulièrement utiles pour déterminer la structure d'une molécule trop compliquées par exemple acides nucléiques, protéines,... etc.

Corrélation spectroscopique homonucléaire (COSY ^1H - ^1H)

La spectroscopie de corrélation ^1H - ^1H (COSY) est l'une des plus anciennes méthodes 2D. Cette technique permet de corréler les protons qui sont couplés scalairement, en d'autres termes celle-ci permet de transférer la magnétisation d'un proton sur un proton voisin et permet donc de visualiser les constantes de couplage 3J entre 2 protons dans le spectre RMN ^1H avec le spectre ^1H est tracé sur les deux axes 2D [111].

✚ Correlations Hétéronucléaire directe (HSQC)

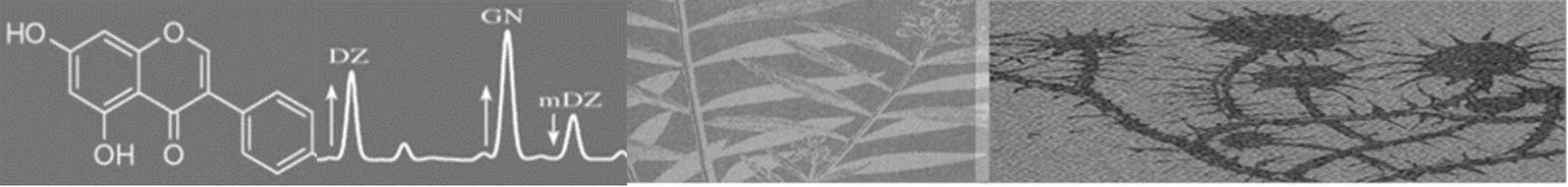
Ce type de spectre montre quels hydrogènes sont directement liés à quels atomes de carbone (^{13}C - ^1H corrélation) avec les spectres ^1H et ^{13}C sont représentés sur les deux axes. Le spectre HSQC est le plus précieux lorsque les protons ont déjà été attribués.

✚ Correlation hétéronucléaire à longue distance (HMBC)

Cette expérience permet d'obtenir les corrélations et les couplages $^3J_{\text{C-H}}$ et $^4J_{\text{C-H}}$ entre un proton et les carbones séparés par des liaisons multiples [80].

III.3.2. Spectroscopie de masse (SM)

Le spectre de masse du produit **B** isolé, a été enregistré en modes positif ESI⁺ au moyen d'un Micromass Q-TOF couplé à une HPLC Water Alliance 2695, du centre de Recherche de chimie biomoléculaire ICB à Naples (Italie).



CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET DISCUSSION

IV. 1. Extraction

Le processus d'extraction est représenté par l'organigramme suivant (Figure IV.1) :

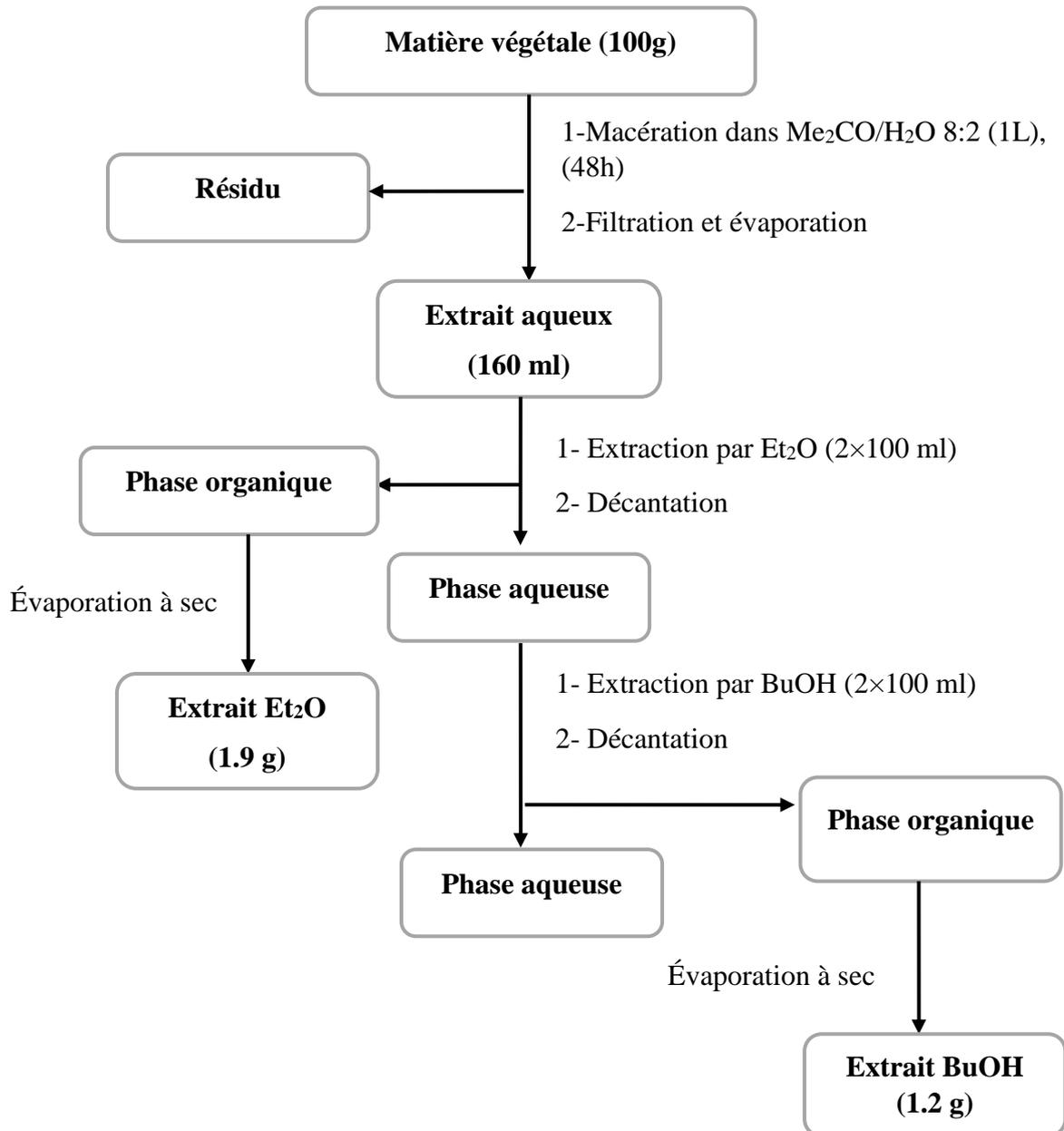


Figure IV.1 : Schéma d'extraction de l'espèce *E. campestre*

IV.2. Séparation et purification

Les profils CCM des deux extraits obtenus (*n*-BuOH et Et₂O) montrent leurs richesses en métabolites secondaires. Cependant, on a choisi l'extrait Et₂O pour le soumettre à une investigation phytochimique. Ceci est basé sur la présence, après révélation à la lumière UV et par une solution acide, des taches majoritaires avec des R_F séparables comparativement à celles observées dans l'extrait *n*-BuOH. La figure IV.2 rassemble les différentes étapes suivies pour la séparation et la purification des composés isolés à partir de l'extrait Et₂O choisi.

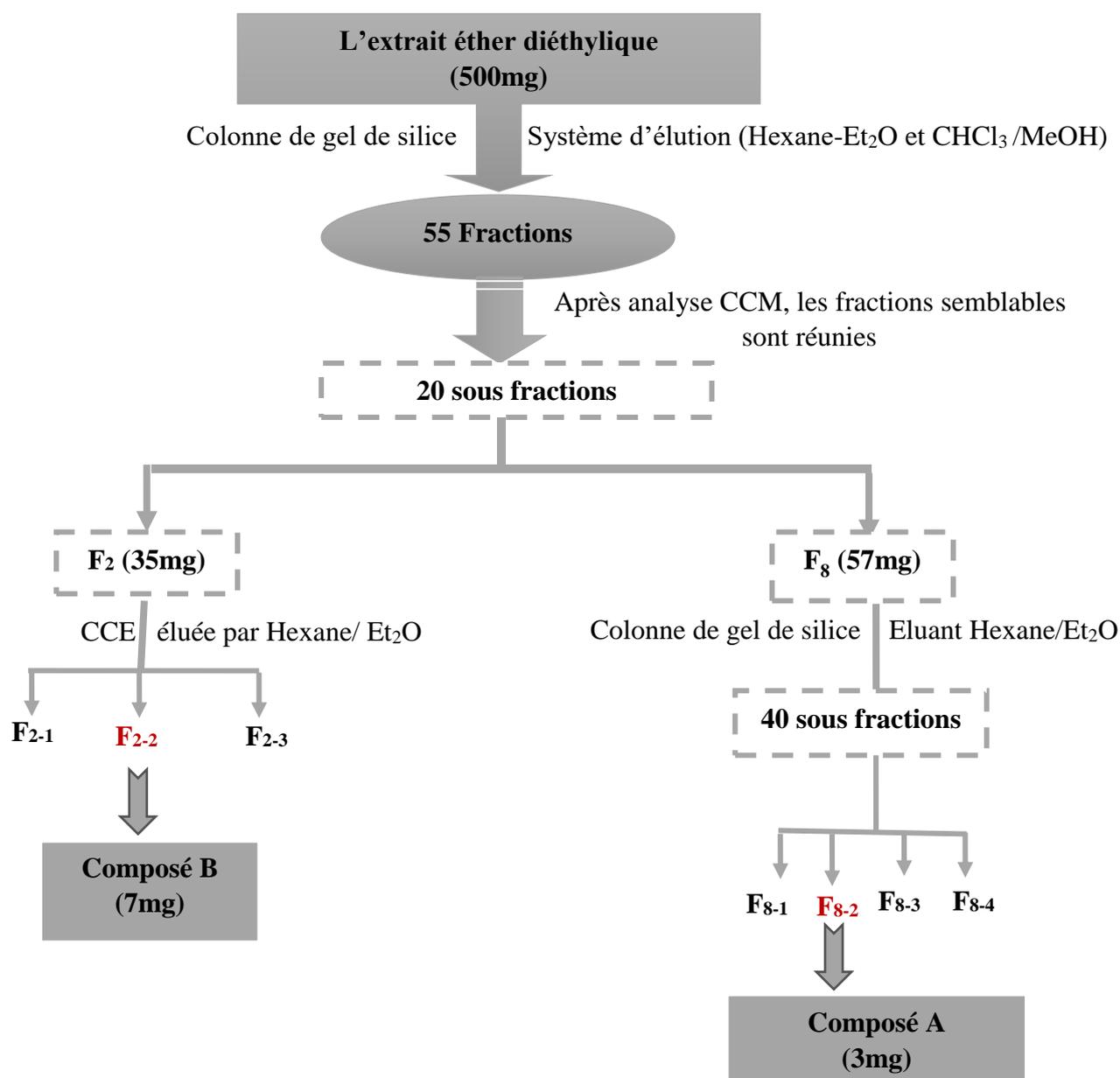


Figure IV.2 : Isolement des composés purs à partir de l'extrait Et₂O de *E. campestre*

CHAPITRE IV

La détermination structurale des produits isolés a été basée sur l'analyse des spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) monodimensionnelle ^1H et ^{13}C , bidimensionnelle homonucléaire ^1H - ^1H COSY et hétéronucléaires ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC, la spectrométrie de masse ainsi que sur la comparaison avec les données de la littérature.

IV.3. Élucidation structurale du composé A

Ce composé se présente sous forme d'une huile de couleur jaune pâle soluble dans le chloroforme et donnant sur CCM (Figure IV.3) une tache, avec un rapport frontal de 0,25 dans l'hexane/éther-diéthylique (5 :5), noire sous lumière UV à $\lambda = 254$ nm. Après révélation à une solution acide et chauffage à 100 °C, il donne une coloration marron.

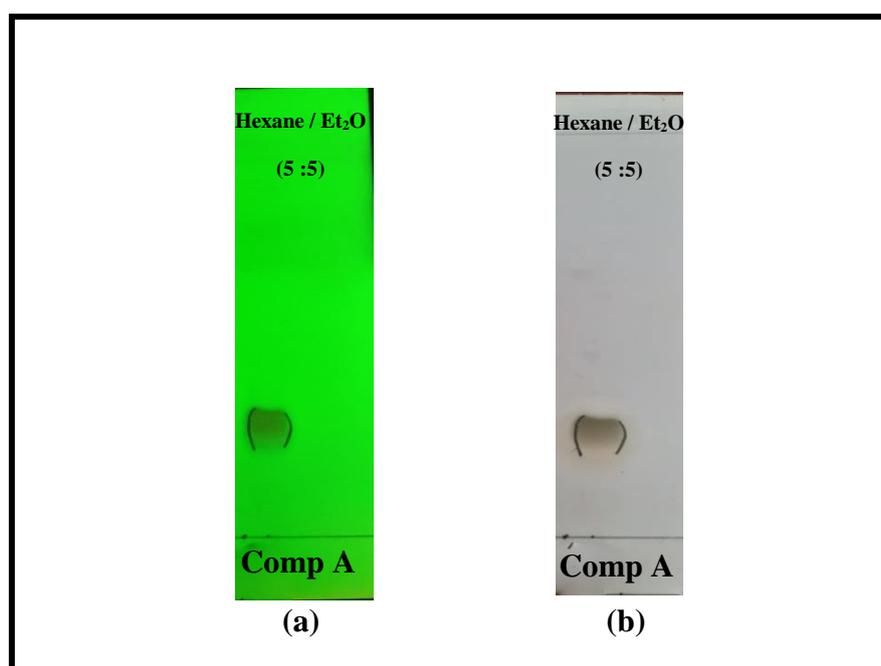


Figure IV.3 : CCM du composé A sous UV à 254 nm (a) et après révélation par une solution acide (b)

L'analyse initiale du spectre RMN ^1H enregistré à 400 MHz dans CDCl_3 (Figure IV.4) montre des signaux sortant dans l'intervalle 0.9 et 3.05 ppm et caractérisant les protons aliphatiques CH_3 , CH_2 , et CH dont on peut déterminer un groupement méthyle à travers le signal apparaît sous forme de triplet résonant à δ_{H} 0.90 et s'intégrant pour trois protons, cette multiplicité nous oriente vers un enchainement de type $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$. Les signaux s'étalant entre 4.91 et 5.95 ppm correspondent aux protons oléfiniques.

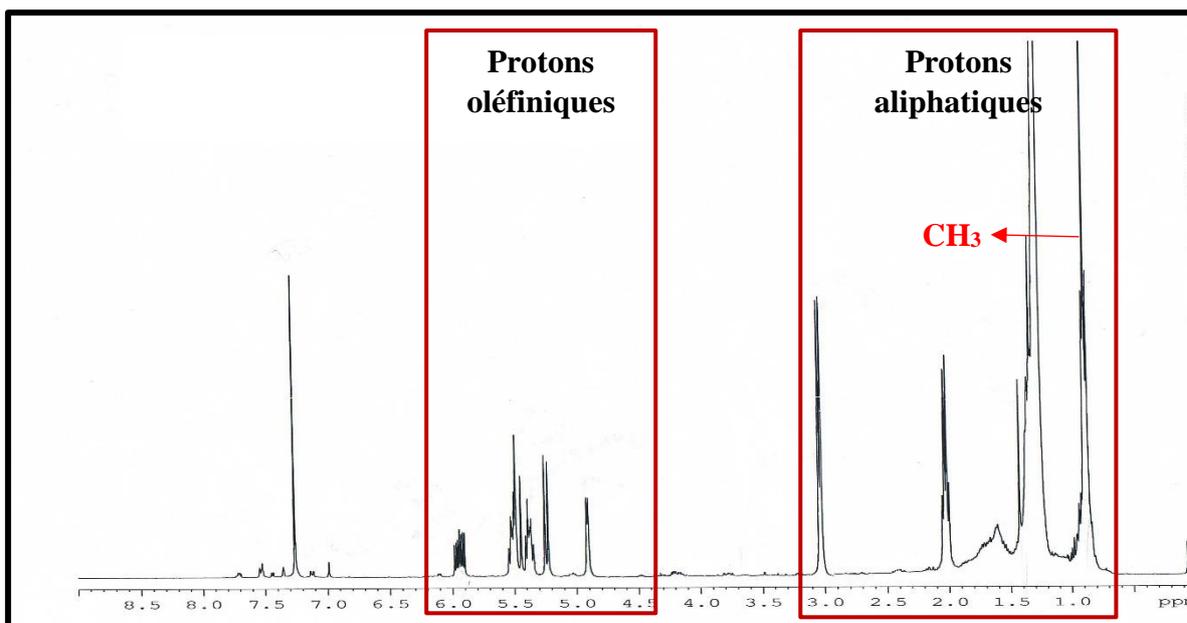


Figure IV.4 : Spectre RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) du composé A

De même, le spectre RMN ¹³C de ce composé enregistré dans le CDCl₃ (Figure IV.5) présente un nombre important de signaux, dont :

- les signaux résonants dans l'intervalle de 14 à 31.4 ppm correspondant aux carbones aliphatiques.
- quatre signaux de faible intensité à δ_C 64.0, 71.3, 74.2 et 80.9 correspondant aux carbones quaternaires (sp). La valeur de leurs déplacements chimiques suggère l'existence des triples liaisons acétyléniques. Un autre signal à 63.5 ppm d'intensité moyenne peut attribuer à un CH oxygéné relatif au carbone portant la fonction alcool (CHOH).
- quatre signaux fortement déblindés apparaissent entre 117 et 136.2 ppm correspondant aux carbones oléfiniques.

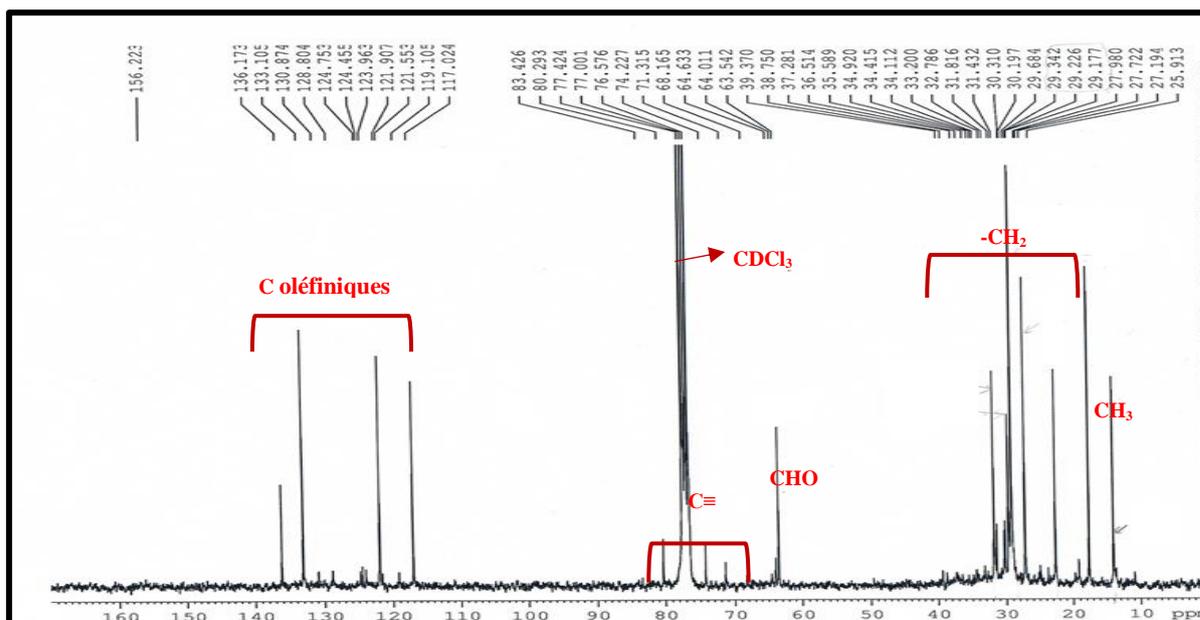


Figure IV.5 : Spectre RMN¹³C enregistré dans CDCl₃ du composé A

À l'issue de cette première analyse, il apparaît donc qu'il s'agit d'un composé aliphatique de squelette polyacétylénique.

L'élucidation structurale du composé A est initiée par analyse combinée des expériences RMN¹H, COSY et HSQC. En effet, le spectre COSY ¹H-¹H (Figure IV.7) montre clairement la présence de deux systèmes de spin relatifs aux deux double liaisons, où l'on observe les couplages (Figure IV.6) entre :

- deux protons géminaux d'une double liaison terminale à δ_H 5.25 (d, $J = 16.8$ Hz, H-1b) et à δ_H 5.50 ($J = 10.2$ Hz, H-1a) et un proton oléfinique à δ_H 5.95 (ddd, $J = 16.8 ; 10.2 ; 5.4$ Hz, H-2). Ce dernier, à son tour, corrèle avec un autre proton oxygéné à δ_H 4.91 (d, $J = 5.4$ Hz, H-3). La grande valeur de la constante de couplage (16.8 Hz) entre H-1b et H-2 indique une géométrie *trans*, par contre, la petite valeur de la constante de couplage (10.2 Hz) entre H-1a et H-2 exige une configuration *cis*.

CHAPITRE IV

- deux protons oléfiniques à δ_H 5.4 (dd, $J = 10.5 ; 8$ Hz) et à δ_H 5.53 (m), constituant un système de spin typique d'une double liaison *cis*. A leur tour ces deux protons couplent, respectivement, avec des protons allyliques résonant à δ_H 3.05 (d, $J = 8$ Hz, 2H) et à δ_H 2.05 (m, 2H). Ces derniers présentent une corrélation avec d'autres protons aliphatiques à δ_H 1.38 (m, 2H).
- le couplage observé entre les protons du groupement méthyle terminal, déterminé précédemment, à δ_H 0,90 (t, $J = 7.1$ Hz) et ceux d'un groupement méthylène à δ_H 1.27 (m) confirme la séquence $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$.

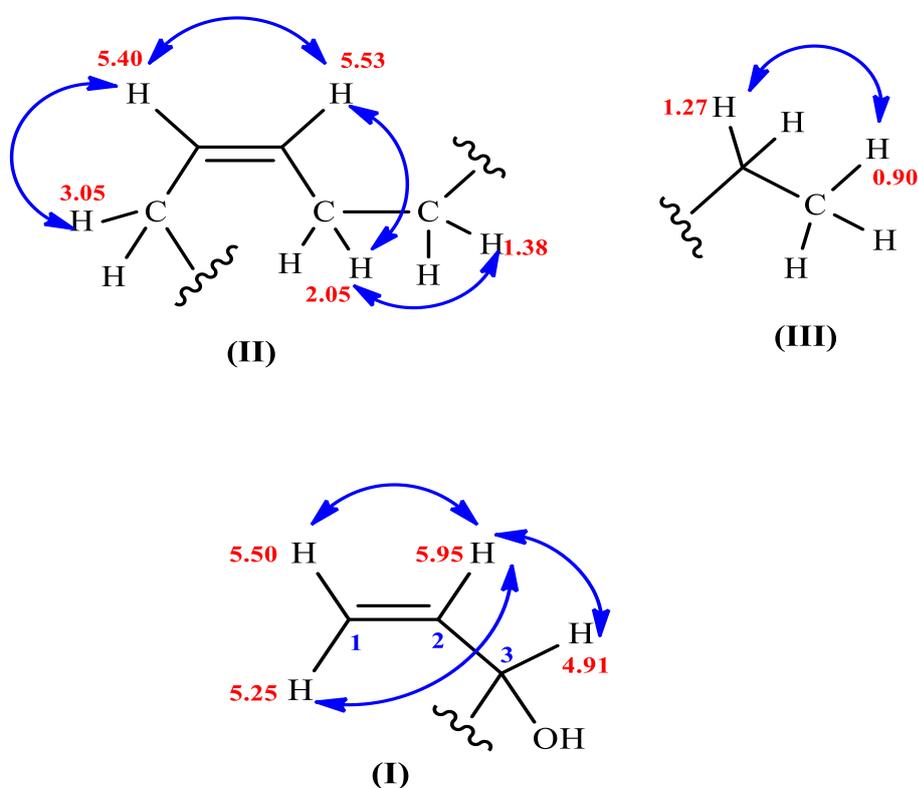


Figure IV.6 : Corrélations COSY observées entre les protons des fragments (I, II et III) déterminés du composé A

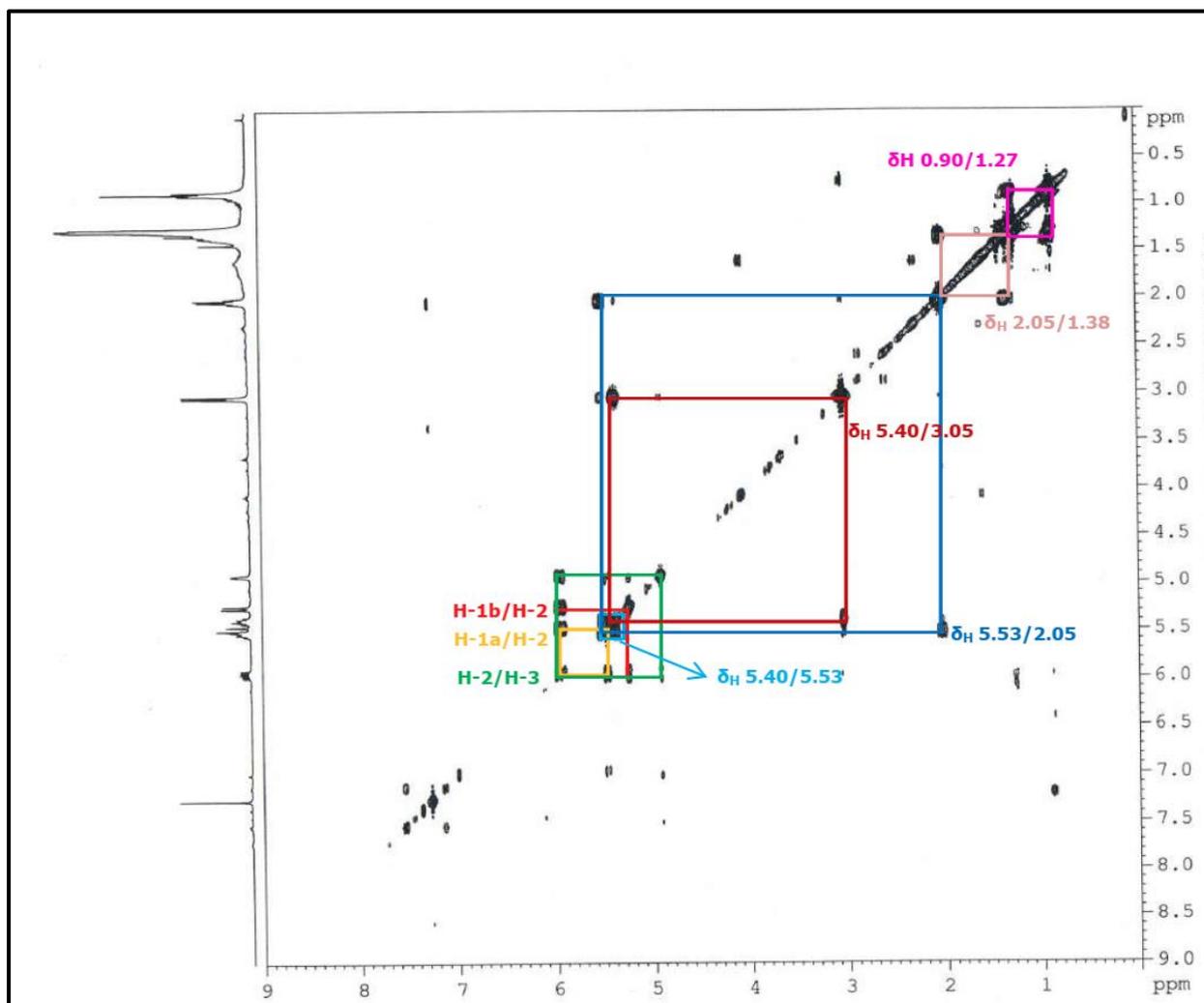


Figure IV.7 : Spectre COSY H-H du composé A

L'expérience HSQC (Figure IV.8) permet de déterminer les carbones porteurs de tous ces protons. En conséquent, on identifie :

- ↗ le carbone C-1 repéré à 117 ppm.
- ↗ le carbone C-2 résonant à 136.2 ppm.
- ↗ le carbone C-3 situé à 63.5 ppm.
- ↗ les carbones porteurs des protons déterminés précédemment résonant à 3.05, 5.40, 5.53, 2.05, 1.38 et 1.27 ppm sont accordés aux signaux sortant à 17.8, 122.0, 133.1, 27.2, 27.9 et 22.5 ppm, respectivement.
- ↗ le carbone du groupement méthyle est attribué au signal apparaît à 14.0 ppm.

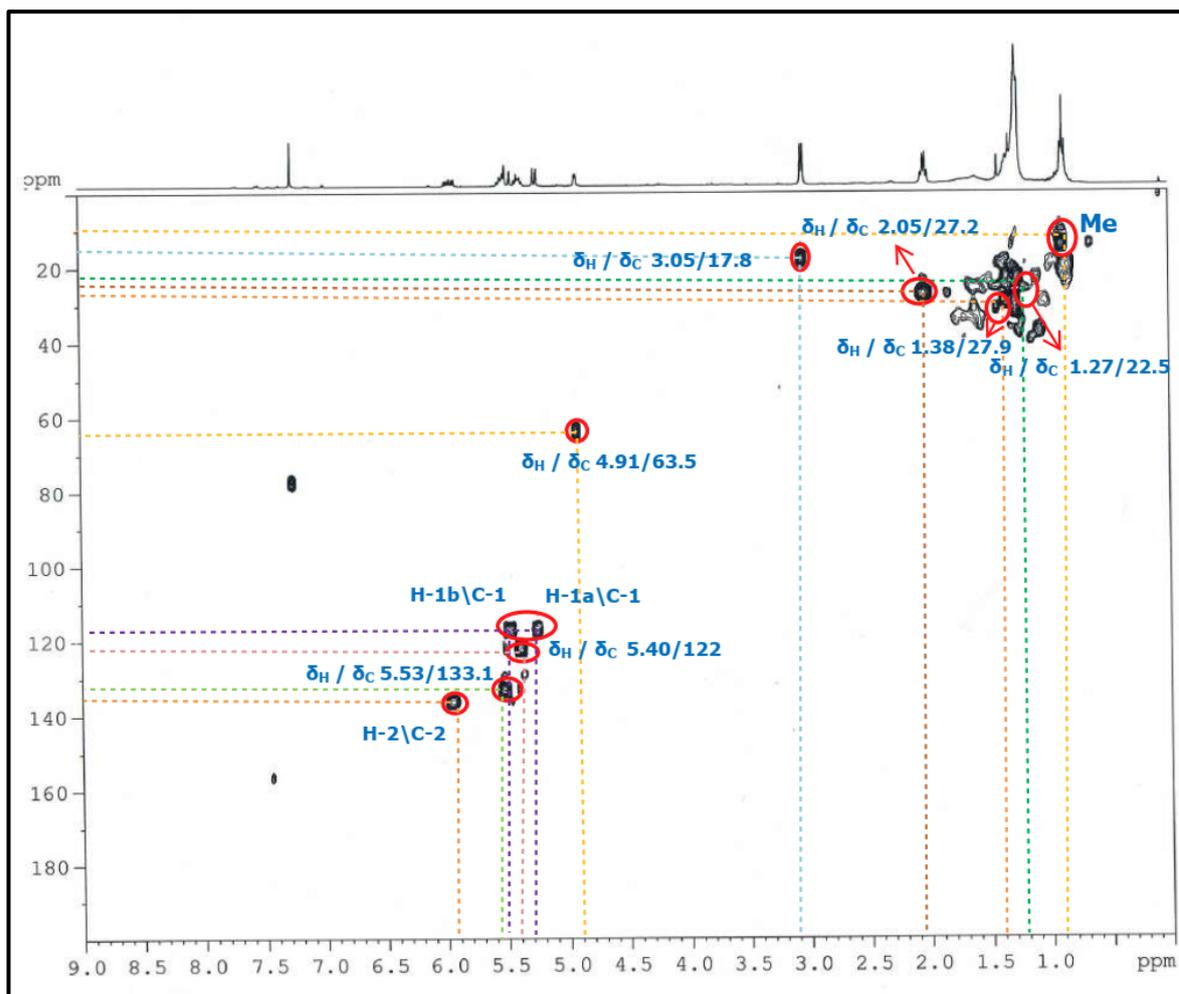


Figure IV.8 : Spectre HSQC du composé A

L'expérience de corrélation hétéronucléaire carbone-proton à longue distance ou HMBC (Figure IV.10) permet d'établir le squelette final de la molécule, et ceci par l'observation des couplages en ${}^2J_{C-H}$, ${}^3J_{C-H}$ aussi en ${}^4J_{C-H}$ suivants :

- ↪ entre les protons oléfiniques H-1a (5.50 ppm), H-1b (5.25 ppm) et le carbone oxygéné C-3 (63.5 ppm) ainsi qu'entre le même proton H-1a et le carbone C-2 (136 ppm). Ceci confirme une autre fois l'existence du fragment (I) (Figure IV.6).
- ↪ entre le proton H-3 (4.91 ppm) et trois carbones quaternaires résonant à δ_C 74.2 ppm, à δ_C 64.0 ppm et à δ_C 71.3 ppm. En se basant sur leurs déplacements chimiques, comparés par ceux des polyacétylènes de type falcarinol très répandus dans le genre *Eryngium*, ces carbones ne peuvent être que les carbones C-4, C-5 et C-6, respectivement, constituant deux liaisons triples conjuguées. Le même proton montre

CHAPITRE IV

des corrélations à longues distances les carbones C-1 (117.0 ppm) et C-2 (136.2 ppm).

- ↪ les protons méthylènes résonant à δ_H 3.05ppm exhibent des taches de corrélations avec les carbones C-4, C-5, C-6 et un autre carbone quaternaire à 80.9 ppm, attribué sans ambiguïté au C-7, le quatrième carbone de la 2^{ème} triple liaison (Figure IV.10). En conséquent, ils sont attribués aux protons H₂-8. D'autres taches sont observées entre ces protons et les carbones oléfiniques discernés à δ_C 122.0 et à δ_C 133.1 dont ces derniers couplent également avec les protons méthyléniques sortant à δ_H 2.05ppm. Ceci nous a permis d'identifier ces protons aux H₂-11 et d'accorder aux carbones oléfiniques la numérotation C-9 et C-10.
- ↪ les protons (δ_H 5.40 et 5.53) portés par les carbones C-9 et C-10 présentent à leur tour des corrélations avec le carbone C-8 (80.9 ppm) et un carbone résonant à 27.9 ppm qui doit être C-12. Les protons H₂-12 (δ_H 1.38), déterminés à l'aide de l'expérience HSQC ainsi que ceux du groupement méthyle à 0.90 ppm ont montré des couplages avec quatre groupements méthylènes (CH₂) possédant des déplacements chimiques très proches à δ_H 1.27, alors que leurs carbones apparaissent à 29.5 (2C), 31.4 et 22.5ppm. Ceci a permis d'identifier une chaînes alkyle à 7 atomes de carbones – (CH₂)₆-CH₃, témoignant un squelette polyacétylénique.

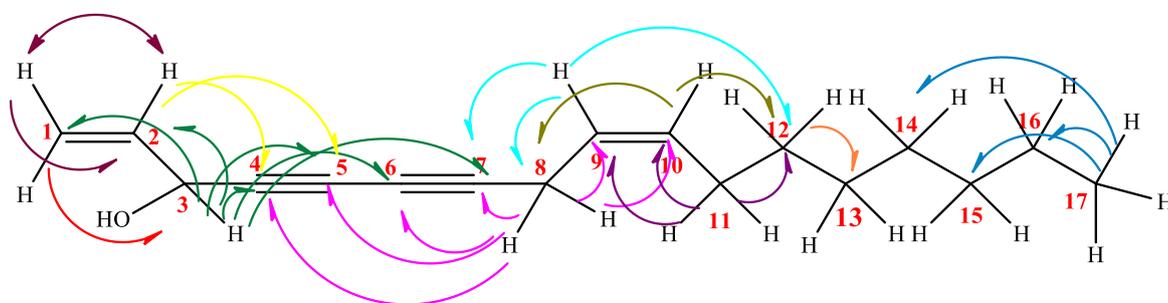


Figure IV. 9 : Corrélations HMBC du composé A

Les déplacements chimiques des protons et carbones de notre produit (Tableau IV.1) sont confirmés par comparaison avec ceux du falcarinol isolé antérieurement (Annexe).

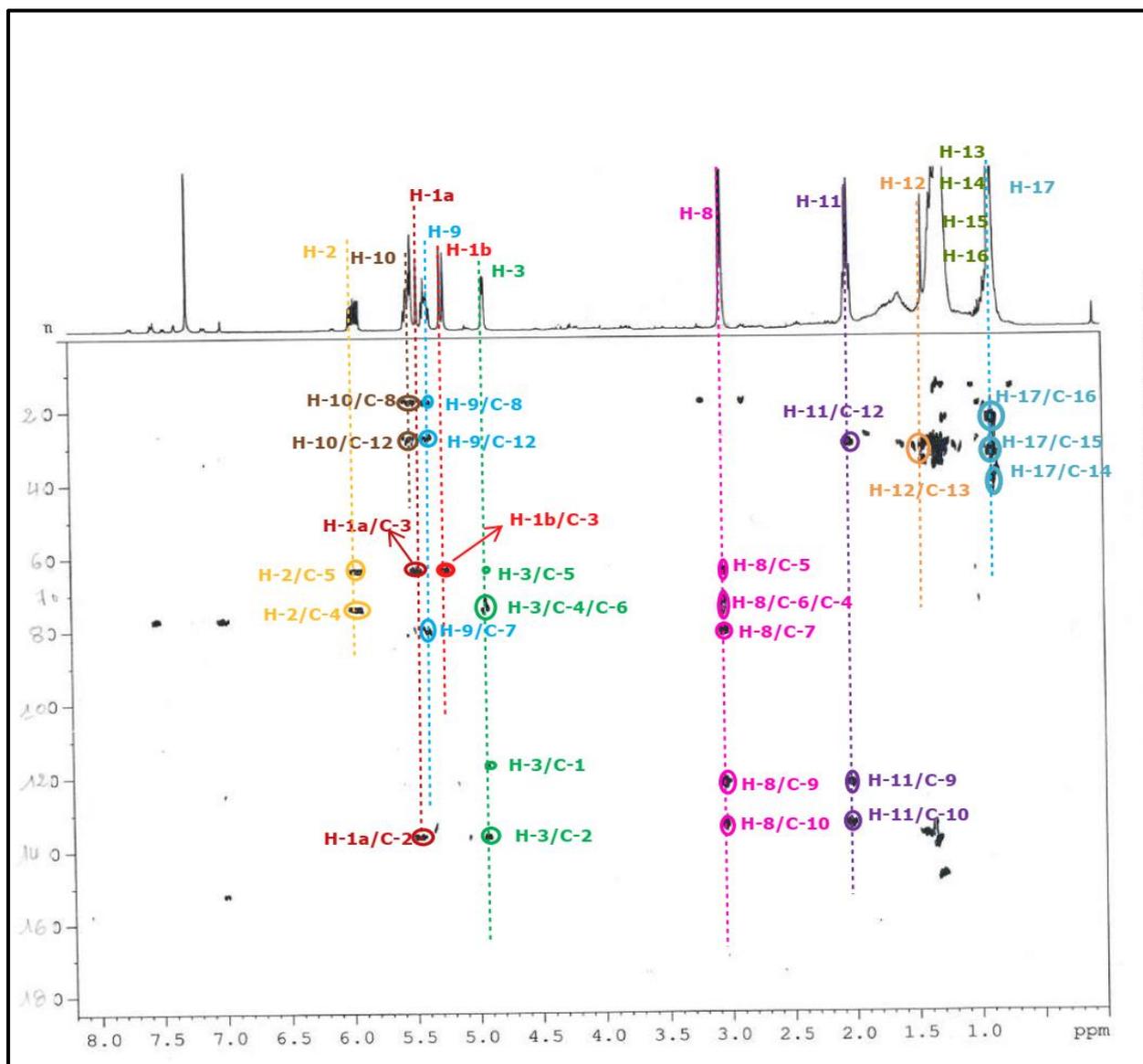


Figure IV.10 : Spectre HMBC du composé A

L'ensemble de toutes ces données spectrales permet d'identifier sans ambiguïté le composé A au (*Z*)-heptadéca-1,9-diène-4,6-diyn-3-ol. Cette molécule est connue sous le nom **falcarinol** ou **panaxynol**, isolé antérieurement des autres espèces du genre *panax*[112], et du genre *Eryngium* notamment : *E. yuccifolium* [44], *E. bourgatii* [45] et récemment de l'espèce *Eryngium triquetrum* [112].

Cette molécule contient dans sa structure un carbone asymétrique (C-3). Elle peut alors théoriquement se présenter sous deux formes énantiomériques **R** ou **S**. Dans la nature, le falcarinol a été isolé sous ces deux formes.

CHAPITRE IV

L'identification de la configuration absolue des composés chiraux nécessite, principalement, la réalisation d'une synthèse asymétrique (par exemple les réactions de Moscher), et la mesure du pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$, ce qui a été effectué par Bouzergoune et al., [46] où ils ont démontré que le falcarinol ainsi que d'autres polyacétylènes de type falcarinol, isolés de l'espèce *Eryngium triquetrum* sont de configuration (3*S*). En se basant sur ce résultat et celui reporté récemment par Madbouhi et al. [65], la configuration suggérée de notre falcarinol est 3*S* (Figure IV.11).

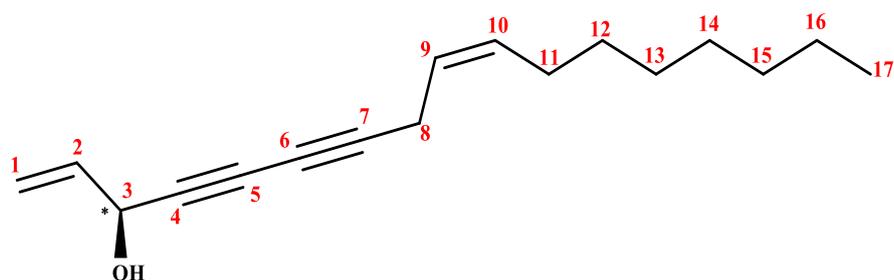


Figure IV.11 : (Z)-3(*S*)-heptadéca-1,9-diène-4,6-diyne-3-ol
(Falcarinol)

CHAPITRE IV

Tableau IV.1 : Déplacements chimiques RMN¹H, ¹³C enregistrés dans CDCl₃ ainsi que les corrélations HMBC du composé **A**

N°	Type de carbone	δ _C (ppm)	δ _H (ppm)	Multiplicité (<i>J</i> en Hz)	Corrélation HMBC H-C
1	CH ₂ =	117.0	5.25 5.50	d (16.8) 1b d (10.2) 1a	3 2, 3
2	-CH=	136.2	5.95	ddd (16.8; 10.2; 5.4)	4, 5
3	-CHO	63.5	4.91	d (5.4)	1, 2, 4, 5, 6
4	-C≡	74.2	-	-	-
5	-C≡	64.0	-	-	-
6	-C≡	71.3	-	-	-
7	-C≡	80.9	-	-	-
8	-CH ₂	17.8	3.05	d (8.0)	4,5, 6, 7, 9,10
9	-CH=	122.0	5.40	dd (10.5; 8.0)	7, 8, 12
10	-CH=	133.1	5.53	m	8,12
11	-CH ₂	27.2	2.05	m	9, 10, 12
12	-CH ₂	27.9	1.38	m	13
13	-CH ₂	29.5	1.27	m	-
14	-CH ₂	29.5	1.27	m	-
15	-CH ₂	31.4	1.27	m	-
16	-CH ₂	22.5	1.27	m	-
17	-CH ₃	14.0	0.90	t (7.1)	14, 15, 16

IV.4. Éluçidation structurale du composé **B**

Le composé **B** a été isolé sous forme d'une huile jaunâtre soluble dans le chloroforme. Ce produit présente une tache apolaire sur la plaque CCM, avec un rapport frontal de 0,63 dans le système hexane/ éther diéthylique (9:1). Il est visible sous la lumière UV (254 et 365 nm) et se révèle en marron noire après révélation avec une solution acide et chauffage à 100°C (Figure IV.12).

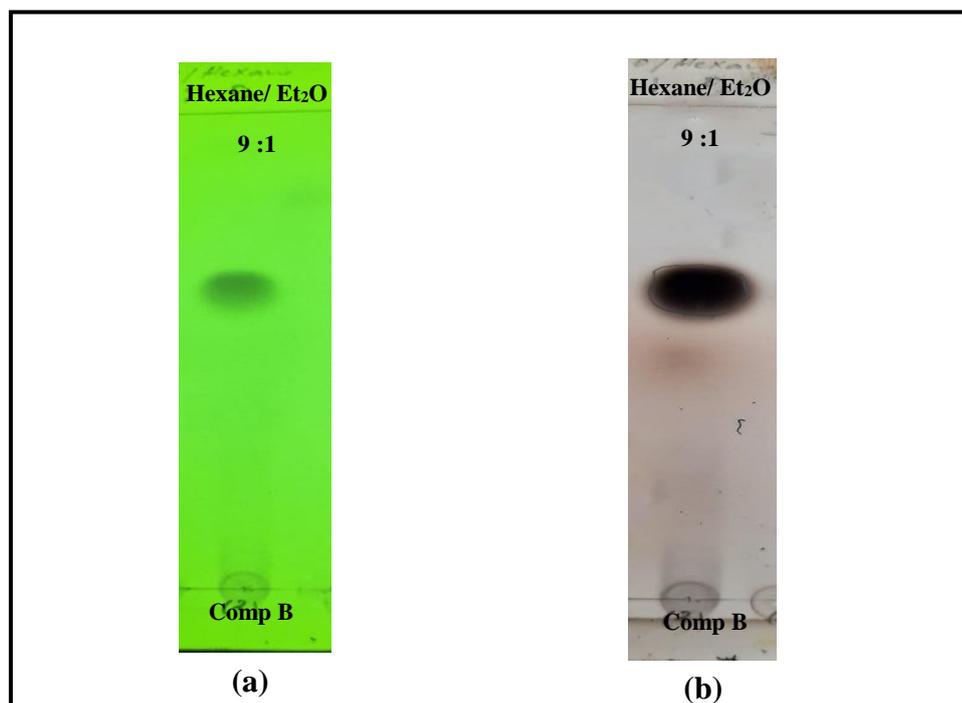


Figure IV.12: CCM du composé **B** sous UV à 254 nm (a) et après révélation par une solution acide (b)

Le spectre de masse ESI du composé **B** enregistré en mode positif (Figure IV.13) montre un pic d'ion pseudomoléculaire à m/z 293 $[M-Na]^+$, soit une masse moléculaire de 270 uma, correspondant à la formule brute $C_{18}H_{22}O_2$. Cette dernière possède un nombre d'insaturation calculé égale à 8.

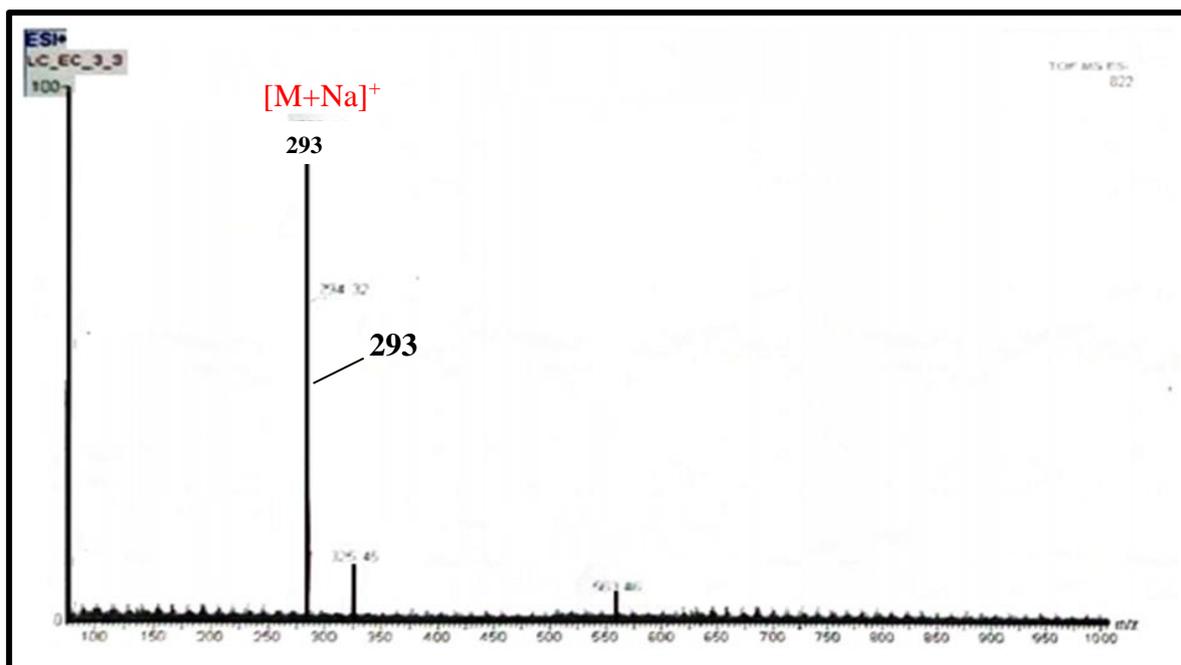


Figure IV.13 : Spectre de masse en mode positif (ESI⁺) du composé **B**

L'allure générale du spectre RMN ¹H de ce composé (Figure IV.14), enregistré à 400 MHz dans CDCl₃, montre une grande ressemblance à celle du composé **A**, notamment au niveau des parties aliphatiques et oléfiniques avec la présence des signaux dans l'intervalle de 1.20-2.99 ppm et 5.32-5.91 ppm, respectivement. Ce qui indique que le composé **B** possède également la même nature structurale que le composé **A** «polyacétylène». La différence remarquable s'illustre par la disparition du groupement méthyle (δ_{H} 0.90) observée, sur le spectre RMN ¹H, pour le composé **A**. Ceci n'est pas conforme avec les structures des polyacétylènes réponsus dans la famille Apiaceae et en particulier dans le genre *Eryngium*. Ce constat, laisse suggérer que le composé **B** comporte une cyclisation intramoléculaire. Ainsi, la différence de la masse calculée entre les deux composés et l'augmentation du nombre d'insaturation de l'ordre 2, en faveur du composé **B**, indique que notre structure doit être un polyacétylène comportant un ester cyclique (une lactone).

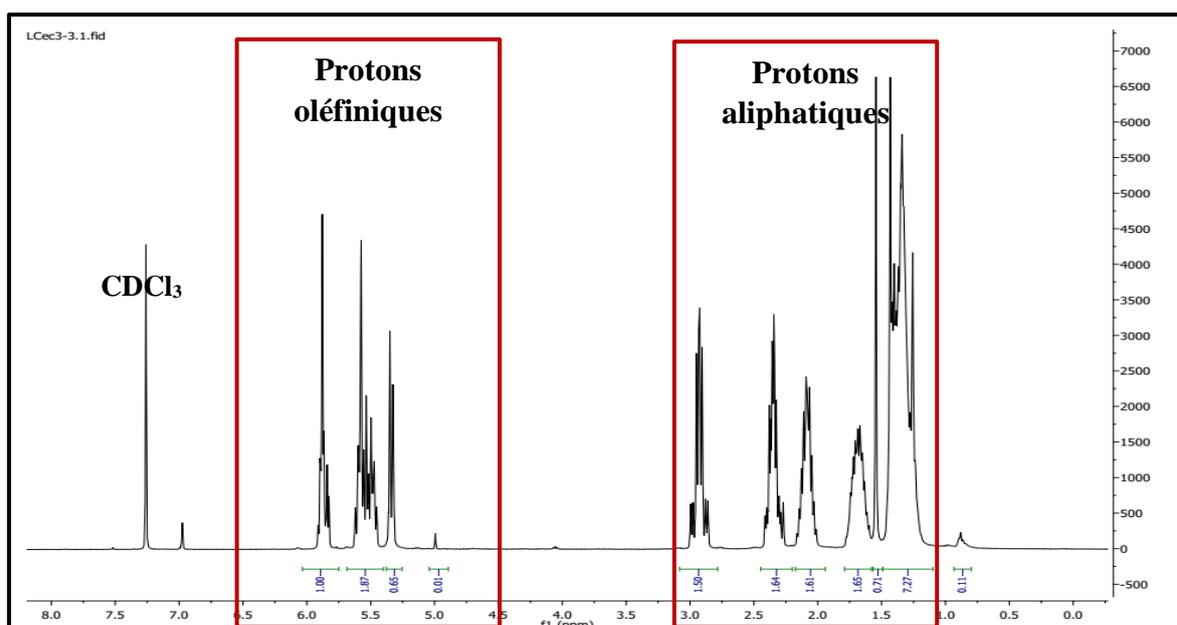
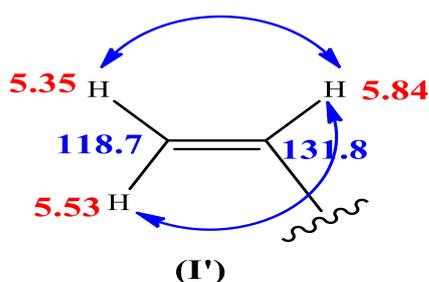


Figure IV.14 : Spectre RMN^1H (400 MHz, CDCl_3) globale du composé **B**

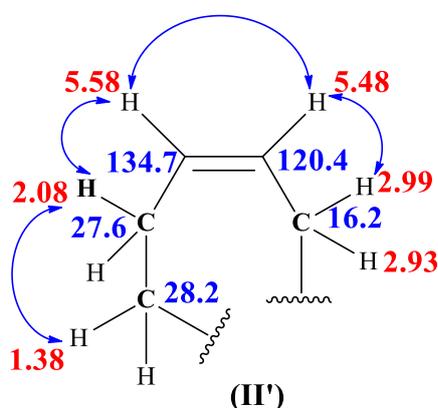
L'élucidation structurale complète du composé **B**, a été réalisée en utilisant l'analyse conjointe des expériences RMN 1D et 2D. En effet, les spectres HSQC (Figure IV.15 et IV.16) et COSY (Figure IV.17) permettent de confirmer, entre autre, la présence des deux doubles liaisons ; terminale et interne ainsi la chaîne alkyle latérale et ceci à travers les corrélations suivantes :

- deux protons oléfiniques résonant à δ_{H} 5.35 (d, $J=10$ Hz, 1H) et à $\delta_{\text{H}}=5.53$ (d, $J=16$ Hz, 1H), portés par le même carbone δ_{C} 118.7, corrélient avec un autre proton oléfinique à δ_{H} 5.84 (m, 1H)/ δ_{C} 131.8 et un proton oxygéné sortant à δ_{H} 5.88 (d, $J=5.8$ Hz, 1H). Ce spin de corrélation comportant trois protons supporte bien la présence d'une double liaison terminale.

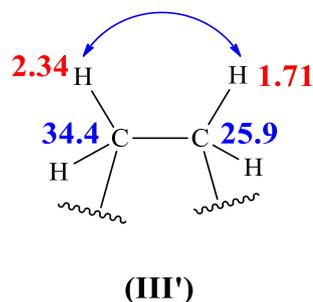


CHAPITRE IV

- deux protons $-CH_2$ non équivalents résonant à δ_H 2.93 (dd, $J = 7.3$; 18 Hz, 2H) et à δ_H 2.99 (dd, $J = 7.3$; 18 Hz, 2H), leur carbone repéré à 16.2 ppm corréle avec un proton oléfinique $=CH$ apparaît à δ_H 5.48 (d, $J = 10$ Hz, 1H)/ δ_C 120.4. Ce proton montre sur le spectre COSY H-H, une tache de corrélation avec un autre proton oléfinique à δ_H 5.58 (m, 1H)/ δ_C 134.7, qui à son tour corréle avec deux protons équivalents résonant à δ_H 2.08 (m)/ δ_C 27.6. Ces derniers sont également inclus dans un système de spin avec deux autres $-CH_2$ sortant à δ_H 1.38 (m)/ δ_C 28.2. Toutes ces corrélations indiquent la présence d'une double liaison de géométrie *cis* intercalée dans une chaîne alkyle.



- un autre système de spin à quatre protons constitué par deux $-CH_2$ résonant à δ_H 2.34 (m)/ δ_C 34.4 et à δ_H 1.71 (m)/ δ_C 25, a été détecté.



- le massif des signaux résonant entre 1.25-1.35 ppm et d'intégration 6H, sont attribuables aux 3 groupes méthylènes de la chaîne aliphatique.

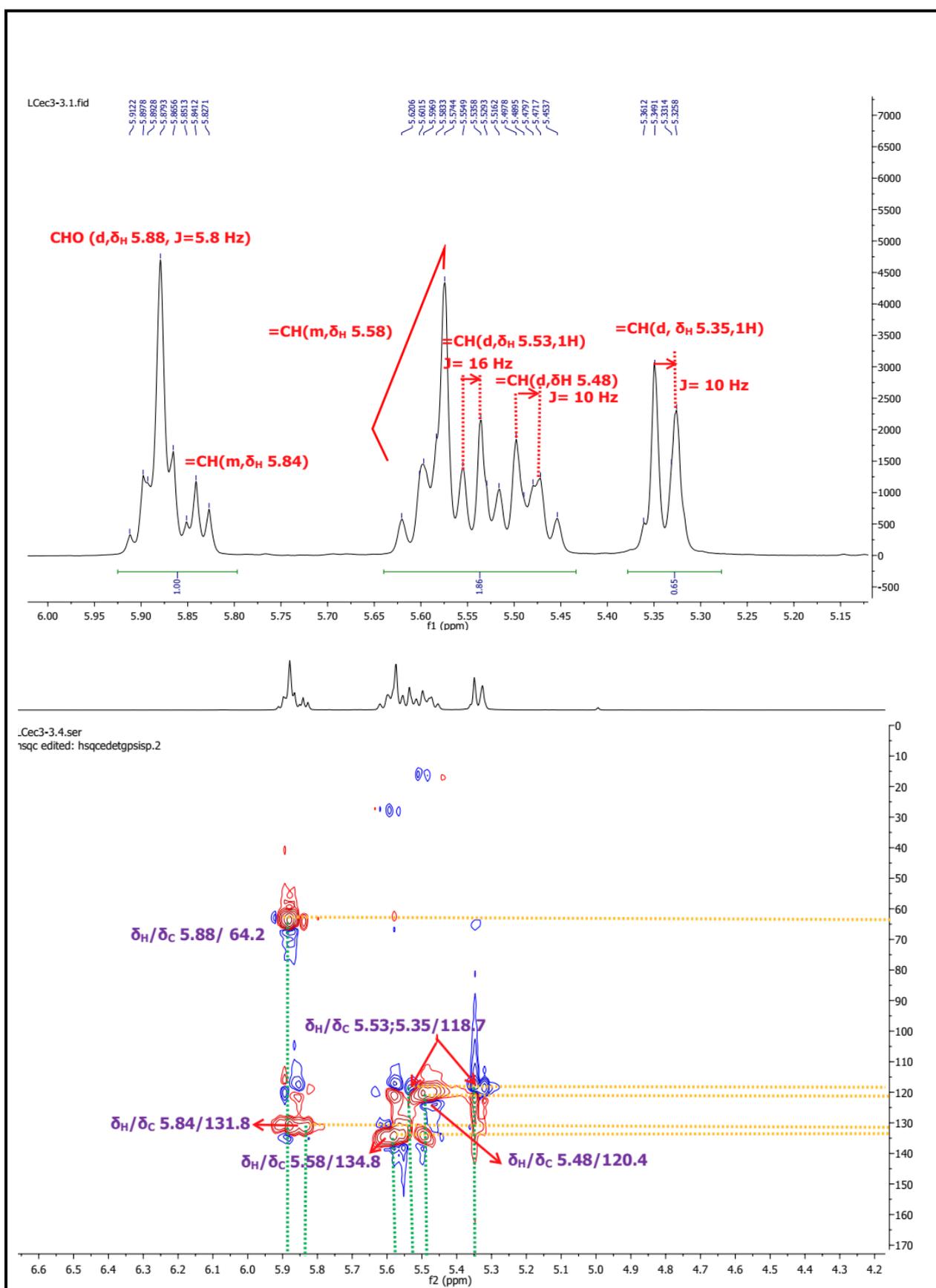


Figure IV.15 : Spectre HSQC (région oléfinique) du composé B

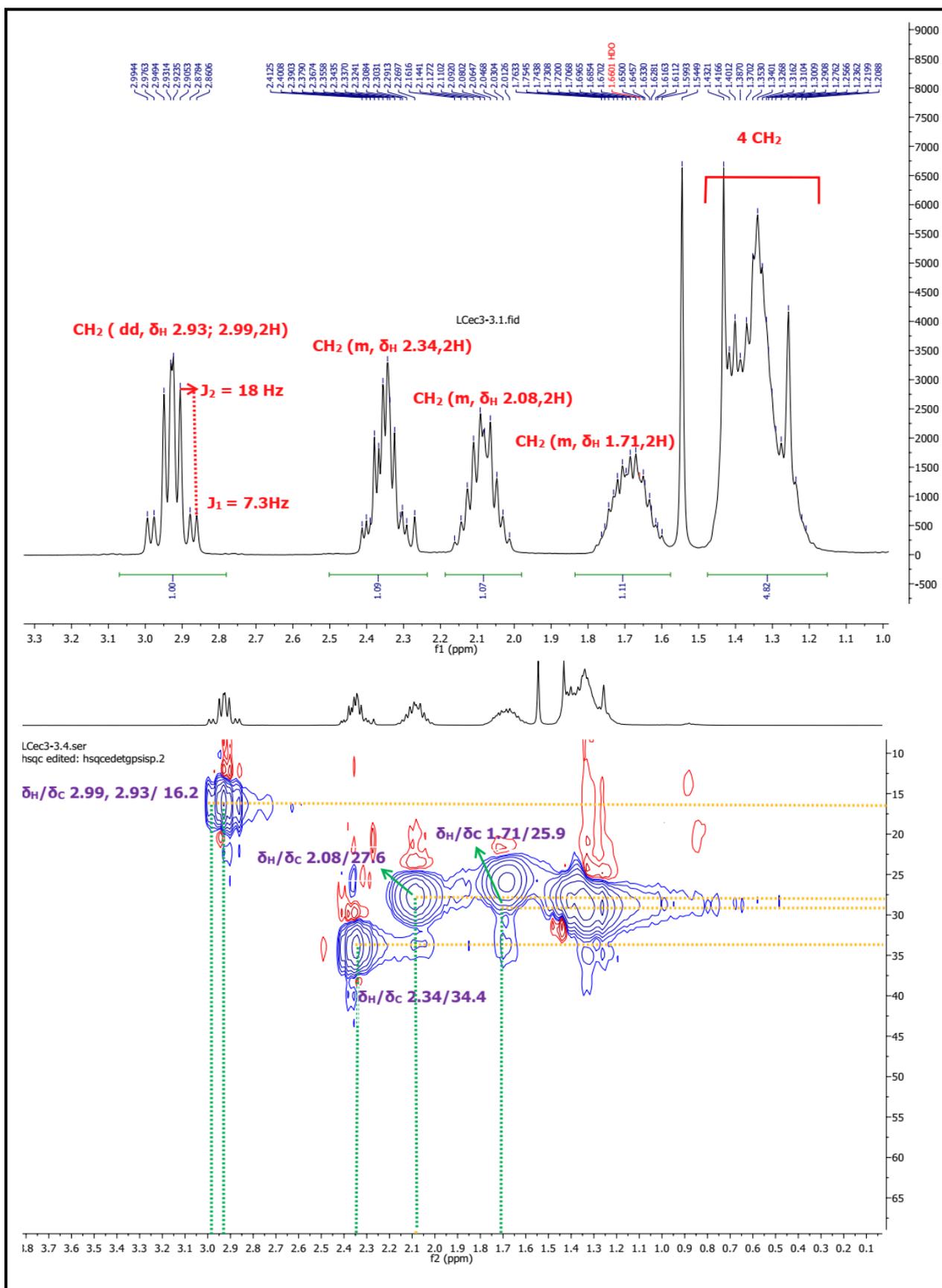


Figure IV.16 : Spectre HSQC (région aliphatique) du composé B

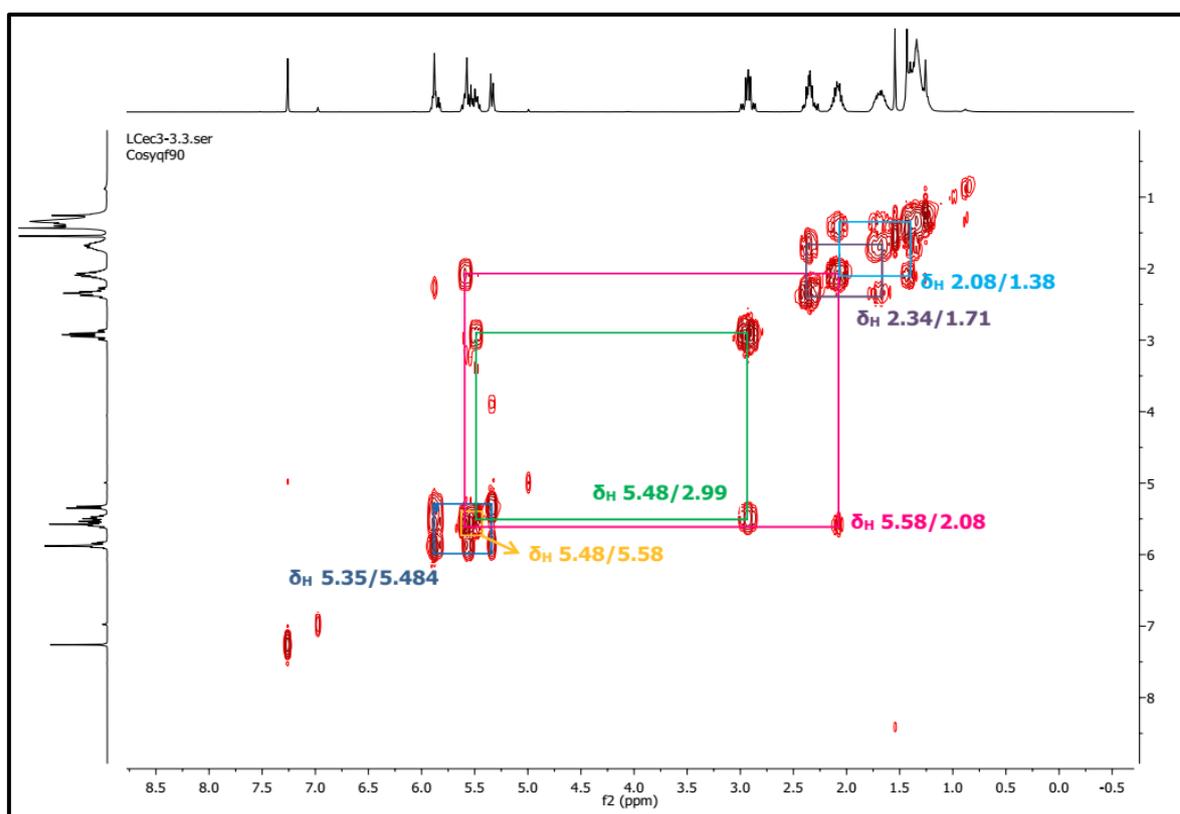


Figure IV.17 : Spectre COSY H-H du composé **B**

Il reste maintenant à reconstituer le squelette de la molécule, et ceci au moyen de L'expérience HMBC (Figure IV.19) par l'observation des couplages en $^2J_{C-H}$, $^3J_{C-H}$ aussi en $^4J_{C-H}$ (Figure IV.18) entre :

- ↪ les protons aliphatiques résonnant à δ_H 1.38 et δ_H 2.08 et les carbones oléfiniques déjà attribués à δ_C 134.7 et δ_C 120.4, qui à leur tour couplent avec les protons aliphatiques non équivalents du groupement méthylène observés à 2.93 ppm et 2.99 ppm. D'autre part, ce groupement $-CH_2$ montre des couplages à longue distance avec des carbones quaternaires résonants à δ_C 65.0, 72.0 et 81.1. Ces constatations confirment la présence du fragment (**II'**) et permettent de connecter la double liaison interne avec les carbones quaternaires acétylénique formant les deux triples liaisons de la chaîne polyacétyléniques.

CHAPITRE IV

- ↪ un proton oxygéné détecté à δ_H 5.88 et les deux carbones oléfiniques sortant à 118.7 ppm et 131.8 ppm, composant la double liaison terminale déjà identifiée, ce qui indique que ce groupement CHO est lié à cette oléfine. La valeur de déplacement chimique de ce proton oxygéné comparée à celle observée pour le même groupement CHO (4.91 ppm) du composé **A**, indique qu'il est engagé dans une liaison éther (CHOR). Encore, des taches de corrélations sont observées entre ce proton oxygéné et les carbones quaternaires repérés à δ_C 65, 72.5 et 173.2, correspondant respectivement aux deux carbones acétyléniques et un carbone du carbonyle (C=O). Ce dernier est attaché en positions α et β par les groupements méthylènes, cités précédemment, sortant à 1.71 et 2.34 ppm, supportant à travers des taches de corrélations observées sur le même spectre HMBC. Ici, on peut conclure que notre composé comprend un macrocycle lactonique, confirmant notre hypothèse de début. Il s'agit donc, d'un polyacétylène à C₁₈ dont la numérotation de son squelette commencerait par l'hétéroatome « oxygène » et terminerait par une double liaison.
- ↪ Finalement, l'attribution des méthylènes H₂-5, H₂-6 et H₂-7 restant respectivement à δ_H 1.34, 1.43 et 1.25 a été réalisée par comparaison avec les données de la littérature [65].

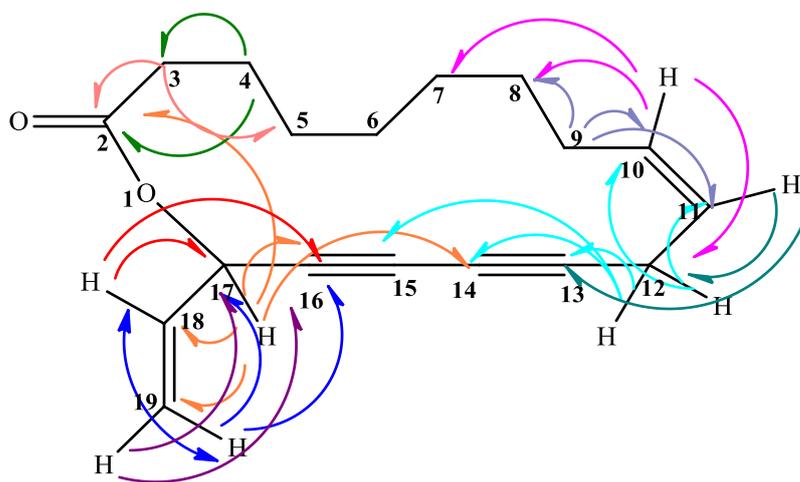


Figure IV.18 : Corrélations HMBC du composé **B**

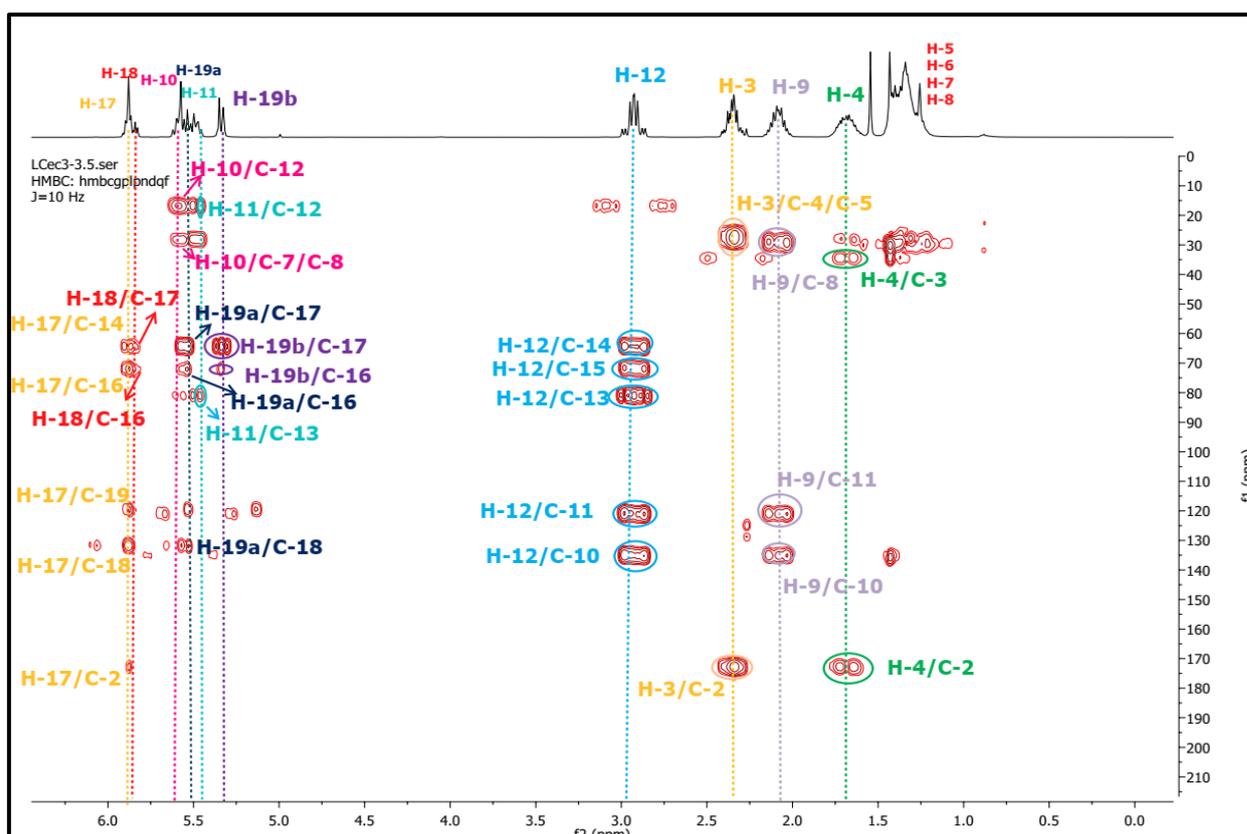


Figure IV.19 : Spectre HMBC du composé B

Toutes ces données spectrales obtenues sont en parfait accord avec celles reportées pour le polyacétyle macrocyclique à C-18 (Annexe), isolé pour la première fois dans un panicaut champêtre Algérien, poussant dans les régions West précisément Tlemcen. En effet, le composé **B** est identifié comme étant le : **(Z)-17-vinyloxacycloheptadéca-10-èn-13,15-diyn-2-one**. Les déplacements chimiques des protons et les carbones de ce produit sont assemblés dans le tableau IV.2. Cette molécule connue sous le nom **Campestrolide**, comporte également un carbone asymétrique qui doit être identifié. Malheureusement, nous n'avons pas assez des données pour trancher la configuration absolue du carbone C-17 soit R ou S. Néanmoins cela peut résoudre, par comparaison avec les résultats obtenus par Medbouhi et ses collaborateurs (2018) dans les quels la détermination de la configuration absolue a été effectuée à l'aide d'une technique spectroscopique du dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD), où ils ont démontré que le campestrolide isolé de l'espèce *Eryngium campestre* est de configuration 17R (Figure IV.20).

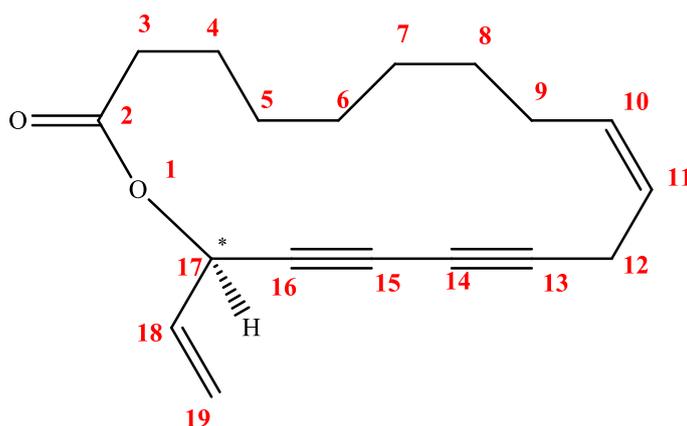
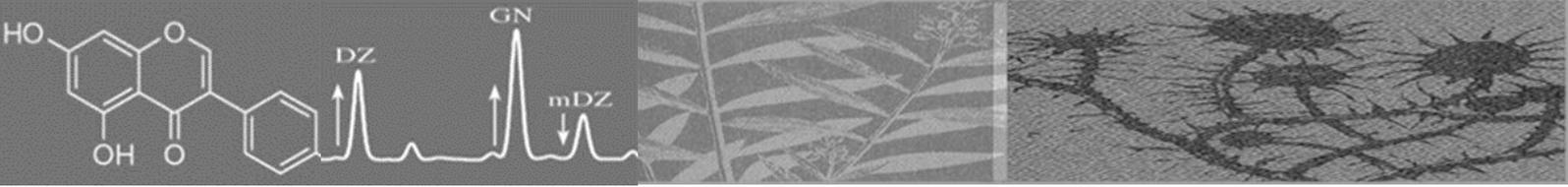


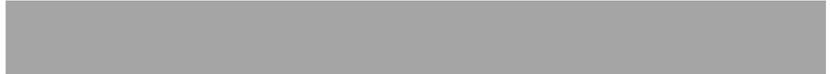
Figure IV.20: (Z)-17(R)-vinyloxacycloheptadéca-10-èn-13, 15-diyn-2-one (Campestrolide)

Tableau IV.2 : Déplacements chimiques RMN¹H et ¹³C enregistrés dans CDCl₃ du composé **B**

N°	Type de carbone	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)	J(Hz) Multiplicité	Corrélation HMBC H-C
2	C=O	173.2	-	-	-
3	-CH ₂	34.4	2.34	m	2, 4, 5
4	-CH ₂	25.9	1.71	m	2, 3
5	-CH ₂	28.6	1.34	m	4, 6
6	-CH ₂	28.2	1.43	m	7
7	-CH ₂	30.0	1.25	m	8
8	-CH ₂	28.2	1.38	m	9, 10, 11
9	-CH ₂	27.6	2.08	m	8, 10, 11
10	-CH=	134.7	5.58	m	7, 8, 12
11	-CH=	120.4	5.48	d (10)	12, 13
12	-CH ₂	16.2	2.93 2.99	dd (7.3; 18) dd (7.3; 18)	10, 11, 13, 14, 15
13	-C \equiv	81.1	-	-	-
14	-C \equiv	65.0	-	-	-
15	-C \equiv	72.0	-	-	-
16	-C \equiv	72.5	-	-	-
17	-CHO	64.2	5.88	d (5.8)	2, 14, 16, 18, 19
18	-CH=	131.8	5.84	m	16, 17
19	CH ₂ =	118.7	5.35 5.53	d (10) 19b d (16) 19a	16, 17 16, 17, 18



CONCLUSION



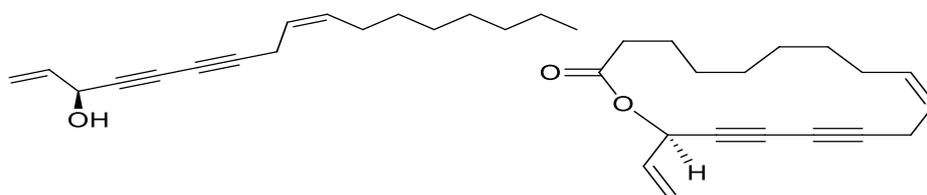
CONCLUSION GÉNÉRALE

Le présent mémoire décrit une contribution à l'investigation phytochimique de la plante *Eryngium campestre* L. de la famille Apiaceae qui est plus rencontrée à l'état spontané dans l'Afrique du Nord. Cette plante connue et utilisée en médecine traditionnelle, en raison de sa richesse en divers métabolites secondaires bioactifs tels que les flavonoïdes, les polyacétylènes, les saponines, les stéroïdes, les coumarines et notamment les huiles essentielles.

L'objectif principal de ce travail est consacré à l'isolement et la caractérisation structurale de métabolites secondaires bioactifs de l'*E. campestre*. En effet, notre étude est focalisée sur l'extrait éther diéthylique des parties aériennes de ce panicaut dans laquelle on a pu séparer deux polyacétylènes **A** et **B** qui sont identifiés aux : Falcarinol, très répandu dans le genre *Eryngium* et réputé par ses propriétés anti-inflammatoire, antifongique, anticancéreuse, cytotoxique, antibactérienne et antimicrobienne, et le campesterolide, isolé pour la première fois dans ce genre qui a son tour révélé des effets cytotoxiques et antileishmanial.

La méthodologie de purification a été essentiellement fondée sur la combinaison de différentes méthodes chromatographiques à savoir la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie sur couche mince (CCM), ainsi que sur couche épaisse (CCE).

La détermination structurale des produits purs isolés a été réalisée au moyen des techniques spectroscopiques incluant la spectroscopie de la résonance magnétique RMN monodimensionnelle 1D (^1H et ^{13}C) et bidimensionnelle (COSY, HSQC et HMBC), la spectrométrie de masse (ESI) et par la comparaison avec les données de la littérature.



(Z)-3(S)-heptadéca-1,9-diène-4,6-diyn-3-ol

(A)

(Z)-17(R)-vinyloxacycloheptadéca-10-èn-13,
15-diyn-2-one (B)

Ces résultats confirment une fois de plus que les polyacétylènes sont les composés dominants de la famille Apiaceae. Une étude chimique approfondie complétée par des tests biologiques sont nécessaires afin d'isoler autres métabolites secondaires biologiquement actifs.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Les plantes médicinales. (2016). institut européen des substances végétales. YIESVLIP-RV04. P.3
- [2] Erdelmeier, C.A.J., Sticher, O., 1986. A cyclohexenone and a cyclohexadienone glycoside from *Eryngium campestre*. *Phytochemistry* 25,741–743.
- [3] Palá-Paúl, J., Pérez-Alonso, M. J., Velasco-Negueruela, A., Vadaré, J., Villa, A. M., Sanz, J., & Brophy, J. J. (2005). Essential oil composition of the different parts of *Eryngium bourgatii* Gouan from Spain. *Journal of chromatography. A*, 1074(1-2), 235–239.
- [4] Rahman, M. A., Cho, S.-C., Song, J., Mun, H.-T., & Moon, S.-S. (2007). Dendrazawaynes A and B, Antifunga polyacetylenes from *Dendranthma Zawadskii* (Asteraceae). *Planta Med*,73 : 1089-1094.
- [5] Xu, W.-J., Li, J.-H., Zhou, M.-M., Luo, J., Jian, K.-L., Tian, X.-M., Kong, L.-Y. (2020). Toonasindiynes A-F, new polyacetylenes from *Toona sinensis* with cytotoxic and anti-inflammatory activities. *Fitoterapia*, 104667.
- [6] Wittstock, K. H. Lichtnow, E. Teuscher (1997). Effects of cicutoxin and related polyacétylènes from *Cicuta virosa* on neuronal action potentials: a comparative study on the mechanism of the convulsive action, *Planta Med.* 63 : 120-124.
- [7] Medbouhi, A., Fethi Benbelaïd, Nassim Djabou, Claire Beaufay, Mourad Bendahou, Joëlle Quetin-Leclercq, Alain Muselli. (2019). Essential Oil of Algerian *Eryngium campestre*: Chemical Variability and Evaluation of Biological Activities. *Molecules* 24,2575.
- [8] Ameni Landoulsi (2016). Etude chimiotaxonomique et activité biologique des métabolites secondaires des plantes du genre *Eryngium*. Thèse de doctorat en médecine humaine et pathologie. Université du droit et de la Santé -Lille II ; Université de Tunis El Manar. P.42 ;44.
- [9] Paloma Filliat (2012). Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. *Sciences pharmaceutiques*. P.14 ; 43 ; 47 ; 54
- [10] Heywood, J.H (1969). Chemosystematics of the Umbelliferae. A general survey. *Photochemistry* 8, 1963–1984.

- [11] Quezel P ; Santa, S (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. Paris : Tome 1, Edition CNRS.
- [12] Nabila, B. (2013). Séparation et détermination de structures des métabolites. Université MENTOURI de Constantine : Présentée à la faculté des Sciences exactes. P.7; 15
- [13] Plunkett, G., GT Chandler, PP Lowry II, SM Pinney, & TS Sprenkle. (2004). Recent advances in understanding Apiales and a revised classification. South African Journal of Botany, 70(3), 371–381.
- [14] Famille des Apiaceae. (21/01/2020). Récupéré sur Plantes Botanique : https://www.plantes-botanique.org/famille_apiaceae
- [15] Djarri, L. (2011). Contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes algériennes de la famille des apiaceae. Université des frères MENTOURI-CONSTANTINE 1: faculté des Sciences exactes. P.6
- [16] Oroojalian.F, R.Kasra-Kermanshahi, M.Aziz, & M.R.Bassami. (2010). Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Food chemistry 120, 765-770.
- [17] Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. LAROUSSE.P.62 ; 63 ; 78
- [18] Landoulsi, A., Vincent Roumy, Céline Rivière, Sevser Sahpaz, Jeannette, & Thierry Hennebelle. (2018). Composition chimique et activités pharmacologiques des espèces tunisiennes du genre *Eryngium* L. *ISTE OpenScience*, 1-23.
- [19] Bouratoua, A. (2018). Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques des espèces algériennes. Université des frères MENTOURI-CONSTANTINE1. P.10 ; 12 ; 16 ; 19
- [20] Djarri, L., K. Medjrubi, S. Akkal, A. Elomri, E. Seguin, & P. Vérité. (2006). Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss. *Flavour and fragrance journal* 21, 647–649.
- [21] Pinar, M. (1984). A diteterpenoid from *Elaeoselinum foetidum*. *phytochemistry* 23, 2075-2076.

- [22] Rodriguez, B., & PINAR, M. (1978). Margotianin, a new diterpenoid from *margotia gummifera*. *Phytochemistry* 18, 891-893.
- [23] Hsu, M.-J., Jur-Shan Cheng, & Huei-Chen Huang. (2000). Effect of saikosaponin, a triterpene saponin, on apoptosis in lymphocytes : association with c-myc, p53, and bcl-2 mRNA. *British Journal of Pharmacol* 131, 1285-1293.
- [24] Masuda T, Takasugi M, Anetai M. (1998) Psoralen and other linear furanocoumarins as phytoalexins in *Glehnia littoralis*. *Phytochemistry*, 47, 13–16.
- [25] Kolodziej, H., Kayser, O., Woerdenbag, H. J., & Pras, W. v. (1997). Structure - Cytotoxicity Relationships of a Series of Natural and Semi-Synthetic Simple Coumarins as Assessed in Two Human Tumour Cell Lines. *Z Naturforsch C J Biosci* 52(3-4), 240-244.
- [26] Christensen, L. P., & Kirsten Brandt. (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, 683–693.
- [27] Breton. A. (1962). Révision des *Eryngium* d'Afrique du nord. Rabat: mémoire de la société des sciences naturelles et physiques du maroc Botanique, nouvelle série N°2. P.9
- [28] Ping Wang, Z. S. (2012). Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Eryngium* L. *Pharmaceutical Crops* 3, 99-120.
- [29] Quezel P ; Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. Paris : Tome 2, Edition CNRS.
- [30] Soumia, B. (2017). Evaluation des activités biologiques des extraits de deux plantes : *Eryngium campestre* L et *Paronychia capitata* L. université Mostefa ben Boulaid-Batna 2: Science biologiques. P.10 ;15
- [31] Medbouhi, A. (2018). Recherche de nouveaux principes actifs issus des espèces du genre *Eryngium* de l'Ouest Algérien. Université ABOU BAKR BELKAID – TLEMCEM – Université PASQUALE PAOLI – CORSE –. P. 7
- [32] Calvin˜o, C. I., Susana G. Martı ´nez, & Stephen R. Downie. (2008). The evolutionary history of *Eryngium* (Apiaceae, Saniculoideae): Rapid radiations, long distance

- dispersals, and hybridizations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46, 1129-1150.
- [33] Tome (1948). *Bulletin du muséum national d'histoire naturelle*. PARIS. P .395 ; 397
- [34] Medbouhi, A., Aura Tintaru, Claire Beaufay, Jean-Valère Naubron, Nassim Djabou, Jean Costa, Alain Muselli. (2018). Structural Elucidation and Cytotoxicity of a New 17-Membered Ring Lactone from Algerian *Eryngium campestre*. *Molecules* 23, 3250, 1-14.
- [35] Lajnef, H. B., Federica Pasini, Joanna Politowicz, Nizar Tlili, Abdelhamid Khaldi, Maria Fiorenza Caboni, & Nizar Nasr. (2017). Lipid characterization of *Eryngium maritimum* seeds grown in Tunisia. *Industrial Crops & Products* 105, 47-52.
- [36] Dammous, M., Hussein Farhan, Hassan Rammal, Akram Hijazi, Ali Bassal, Hussein Fayyad-Kazan, Bassam Badran. (2014). Chemical composition of Lebanese *Eryngium creticum* L. *International journal of sciences* Vol 3, 41-53.
- [37] Cianfaglione, K., Blomme, E. E., Quassinti, L., Bramucci, M., Lupidi, G., Dall'Acqua, S., & Maggi, F. (2017). Cytotoxic essential oils from *Eryngium campestre* and *Eryngium amethystinum* (Apiaceae) growing in central Italy. *Chemistry & Biodiversity* 14(7).
- [38] Rehman, A. U., Muhammad Ali Hashmi, Yildiz Tehseen, Afsar Khan, Saleha Suleman Khan, Jamshed Iqbal, Viqar Uddin Ahmad. (2017). Antidiabetic Flavonol Glycosides from *Eryngium caeruleum*. *Rec. Nat. Prod*, 11 :2, 229-234
- [39] J.Bellakhdar (1998). *Pharmacopée traditionnelle marocaine, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. Ibis Press, Paris. P.770
- [40] Merghache, D., Zahia Boucherit-Otmani, Salima Merghache, Ilyas Chikhi, Chaouki Selles, & Kebir Boucherit. (2014). Chemical composition, antibacterial antifungal and antioxidant activities of Algerian *Eryngium tricuspdatum* L. *Natural Product Research* Vol. 28, No. 11, 795-807.
- [41] Erdem, S. A., Anne-Claire Mitaine-Offer, Tomofumi Miyamoto, Murat Kartal, & Marie-Aleth Lacaille-Dubois. (2015). Triterpene saponins from *Eryngium kotschyi*. *Phytochemistry* Vol 110, 160-165.

- [42] Paul, J., C.E. Seaforth, & T. Tikasingh. (2011). *Eryngium foetidum*L.: A review. *Fitoterapia* 82, 302-308.
- [43] Benmerache, A., Magid, A. A., Berrehal, D., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Messaili, S., Kabouche, Z. (2016). Chemical composition, antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of glycosides from aerial parts of *Eryngium tricuspidatum* L. *Phytochemistry Letters* 18, 23-28.
- [44] Ayoub, N., Mohamed Al-Azizi, Wilfried König, & Karl-Heinz Kubeczka. (2006). Essential oils and a novel polyacetylene from *Eryngium yuccifolium* Michaux. (Apiaceae). *Flavour and fragrance journal* 21, 864-868.
- [45] Lam, J., Christensen, L. P., & Thomasen, T. (1992). Acetylenes from the roots of *Eryngium bourgatii*. *Phytochemistry*, 31(8), 2881–2882
- [46] Bouzergoune, F., Maria Letizia Ciavatta, Fatma Bitam, Mariana Carbone, Mohamed Cherif Aberkane, & Margherita Gavagnin. (2016). Phytochemical study of *Eryngium triquetrum* : isolation of polyacetylenes and lignans. *Planta med* 82, 1438-1445.
- [47] Muckensturm, B., A. Boulanger, M. Farahi, & J.P. Reduron. (2010). Secondary metabolites from *Eryngium* species. *Natural Product Research* Vol. 24, No. 5, 391–397.
- [48] Kikowska, M., Marzena Dworacka, Izabela Kędziora, & Barbara Thiem. (2016). *Eryngium creticum* – ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological activity. A review. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 26, 392–399.
- [49] Cádiz-Gurrea, Luz, M. d., Fernández-Arroyo, Salvador, Joven, J., & Segura-Carretero, A. (2013). Comprehensive characterization by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS from an *Eryngium bourgatii* extract and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Research International* 50, 197-204.
- [50] Landoulsi, A., Vincent Roumy, Céline Rivière, Sevser Sahpaz, Jeannette, & Thierry Hennebelle. (2018). Composition chimique et activités pharmacologiques des espèces tunisiennes du genre *Eryngium* L. *ISTE OpenScience*, 1-23.

- [51] Zhizhen Zhang, S. L., Stacy Ownby, Ping Wang, Wei Yuan, Wanli Zhang, & R. Scott Beasley. (2008). Phenolic compounds and rare polyhydroxylated triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium*. *Phytochemistry* 69(10), 2070–2080.
- [52] Kothe, H.-W. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre éditions.
- [53] Kermer.P, B. (2011). Fleurs sauvages. ULMER.
- [54] Losch, F. (1906). Les plantes médicinales, atlas colorié des plantes médicinales. Paris : végot frères. P.89
- [55] Amic, A. (15/03/2020). A la découverte des végétaux. Récupéré sur quelle est cette plante.fr :<https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Eryngium&variete=campestre>
- [56] plants of the world online. (26/03/2020). Récupéré sur KewScience : <http://powo.science.kew.org>
- [57] Lieutaghi, P. (Juillet 1984). Les plantes dépuratives de la pharmacopée populaire haut-provençale, essai d'ethnopharmacologie comparative. Versailles : OPIE.
- [58] Hawas, U. W., Lamia T. Abou El-Kassem, Hanem M. Awad, & Hanan A.A. Taie. (2013). Anti-Alzheimer, Antioxidant Activities and Flavonol Glycosides of *Eryngium campestre* L. *Current Chemical Biology* 7, 188-195.
- [59] Kupeli, E., Murat Kartal, Sinem Aslan, & Erdem Yesilada. (2006). Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Journal of Ethnopharmacology* 107(1), 32-37.
- [60] Conea S, Parvu AE, Taulescu MA, Vlase L (2015). Effects of *Eryngium planum* and *Eryngium campestre* extracts on ligature-induced rat periodontitis. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 10(2).693–704
- [61] Belda, A., Zaragozi,B, I.Martinez,J.E, & Seva,E. (2013). Traditional knowledge of medicinal plants in the serre de mariola natural park, south eastern spain. *Tradit complement altern med* 10(2), 299-309.
- [62] Jaradat, N. A., Mahdi Mohammad Al khawaja, & Mahmoud M. Abu-hadid. (2015). Novel serial extraction method for antibacterial and antifungal evaluations of the

- entire *Eryngium campestre* L. plant from Jerusalem/ Palestine. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 7(3), 905-913
- [63] Erdelmeier, C. A., & Sticher, O. (1985). Coumarin Derivatives from *Eryngium campestre*. *Planta Medica*, 407-408.
- [64] Claire, E.L., Stefan Schwaiger, Bernard Banaigs, Hermann Stuppner, & Frank Gafner. (2005). Distribution of a New Rosmarinic Acid Derivative in *Eryngium alpinum* L. and Other Apiaceae. *Agricultural and food chemistry*, 4367-4372.
- [65] Kartal, M., Anne-Claire Mitaine-Offer, Mahmoud Abu-Asaker, Tomofumi Miyamoto, Ihsan CALIS, d Hildebert Wagner, & Marie-Aleth Lacaille-DUBOIS. (2005). Two New Triterpene Saponins from *Eryngium campestre*. *Chem. Pharm. Bull* 53, 1318-1320.
- [66] Kartal, M., Anne-Claire Mitaine-Offer, Thomas Paululat, Mahmoud Abu-Asaker, Hildebert Wagner, Jean-Francüois Mirjolet, Marie-Aleth Lacaille-Dubois. (2006). Triterpene Saponins from *Eryngium campestre*. *J. Nat. Prod* 69(7), 1105-1108.
- [67] Sihem, S. (2011). Etude phytochimique de la plante *Eryngium campestre*. UNIVERSITE HADJ LAKHDAR –BATNA. P.
- [68] Singh, R., Priyanka Tiwari, Bechan Sharma, Camilo Guerrero-Perilla, & Ericsson Coy-Barrera. (2020). Analysis of polyacetylenes. Elsevier, 707-722.
- [69] Zhu, L. (2003). Investigating the biosynthesis of polyacetylenes : synthesis of deuterated linoleic acids & mechanism studies of dmds addition to 1,4-enynes. Miami University Oxford, Ohio : Department of Chemistry & Biochemistry. P.5.
- [70] Konovalov, D.A. Polyacetylene compounds of Plants of the Asteraceae Family (Review). (2014). *Pharm Chem J* 48, 613–63.
- [71] Corinna Dawid, Frank Dunemann, Wilfried Schwab, Thomas Nothnagel, and Thomas Hofmann. Bioactive C17-Polyacetylenes in Carrots (*Daucus carota* L.): Current Knowledge and Future Perspectives. *J Agric Food Chem*. 2015, 63(42) : 9211-9222
- [72] Jean, B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier. P.199

- [73] Minto, R.E., Blacklock, B.J. (2008). Biosynthesis and function of polyacetylenes and allied natural products. *Prog. Lipid Res.* 47, 233–306.
- [74] Waksmundzka-Hajnos, M., & Joseph Sherma. (2010). *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis*. United States of America : CRC Press. P.895 ;897 ;898 ;903
- [75] Negri R. (2015). Polyacetylenes from terrestrial plants and fungi: Recent phytochemical and biological advances. *Fitoterapia*, 106, 92–109
- [76] Vickery, M. L., & Brian Vickery. (1981). *Secondary plant metabolism*. London and Basingstoke: eBook. P.81.
- [77] Waksmundzka-Hajnos, M., Joseph Sherma, & Teresa Kowalska. (2008). *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*. London New York: CRC Press.P.784,789,799
- [78] Ronald Ross Watson, & Victor R. Preedy. (2010). *Bioactive foods in promoting health fruits and vegetables*. United States of America: Academic Press.P.287 ;288 ;296
- [79] Cseke, L. J., Ara Kirakosyan, Peter B. Kaufman, Sara L. Warber, James A. Duke, & Harry L. Brielmann. (2006). *Natural Products from Plants*. United States of America : Taylor & Francis Group. CRC Press.P.5
- [80] Hanson, J. R. (2008). *The Chemistry of Fungi*. The Royal Society of Chemistry.P.71
- [81] Nathalie, L., Elsebai Mahmoud Fahmi, Mehiri Mohamed, & Amade Philippe. (2015). *Marine Polyacetylenes: Distribution, Biological Properties, and Synthesis*. *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 45, 251-292
- [82] Yano, K., Takashi, S., & Furukawa, T. (1972). Polyacetylene compounds from japanese mugwort. *Phytochemist*, 2577- 2579.
- [83] Silva, F. L., Fischer, D. C., Tavares, J. F., Silva, M. S., de Athayde-Filho, P. F., & Barbosa-Filho, J. M. (2011). Compilation of secondary metabolites from *Bidens pilosa* L. *Molecules* (Basel, Switzerland), 16(2), 1070–1102
- [84] Watson, R. R., & Sherma Zibadi. (2013). *Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology: Nutrition and Health*. Springer Science & Business Media.

- [85] Resetar, M., Liu, X., Herdlinger, S., Kunert, O., Pferschy-Wenzig, E. M., Latkolik, S., Steinacher, T., Schuster, D., Bauer, R., & Dirsch, V. M. (2020). Polyacetylenes from *Oplopanax horridus* and *Panax ginseng* : Relationship between Structure and PPAR γ Activation. *Journal of natural products*, 83(4), 918–926.
- [86] L. Hansen and P. M. Boll. Polyacetylenes in Araliaceae: Their Chemistry, Biosynthesis and Biological Significance. (1986). *Phytochemistry*, Vol. 25, No. 2, 285-293.
- [87] Panthama, N., Somdj Kanokmedhakul, & Kawanji Kanokmedhakul. (2010). Polyacetylenes from the Roots of *Plyalthia debilis*. *J.Nat.Prod*, 73(8), 1366-1369.
- [88] Zhen-Fang Zhou, Marialuisa Menna, You-Sheng Cai, & Yue-Wei Guo. (2015). Polyacetylenes of Marine Origin: Chemistry and Bioactivity. *Chemical Reviews*, 115(3), 1543–1596.
- [89] Lin, M., Zhang, W., & Su, J. (2016). Toxic polyacetylenes in the genus *Bupleurum* (Apiaceae) - Distribution, toxicity, molecular mechanism and analysis. *Journal of ethnopharmacology*, 193, 566–573.
- [90] Zidorn, C., Jöhrer, K., Ganzera, M., Schubert, B., Sigmund, E. M., Mader, J., Greil, R., Ellmerer, E. P., & Stuppner, H. (2005). Polyacetylenes from the Apiaceae vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2518–2523.
- [91] Papajewski, S., Guse, J. H., Klaiber, I., Roos, G., Süßmuth, R., Vogler, B., Walter, C. U., & Kraus, W. (1998). Bioassay guided isolation of a new C18-polyacetylene, (+)-9(Z),17-octadecadiene-12,14-diyne-1,11,16-triol, from *Cassonia barteri*. *Planta medica*, 64(5), 479–481.
- [92] Fukuyama, N., Masaaki Shibuya, & Yutaka Orihara. (2012). Antimicrobial Polyacetylenes from *Panax ginseng* Hairy Root Culture. *Chem. Pharm. Bull.* 60(3), 377—380.
- [93] Hinds, L., Kenny, O., Hossain, M. B., Walsh, D., Sheehy, E., Evans, P., Gaffney, M., & Rai, D. K. (2017). Evaluating the Antibacterial Properties of Polyacetylene and Glucosinolate Compounds with Further Identification of Their Presence within Various Carrot (*Daucus carota*) and Broccoli (*Brassica oleracea*) Cultivars Using High-Performance Liquid Chromatography with a Diode Array Detector and Ultra

- Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Analyses. Journal of agricultural and food chemistry, 65(33), 7186–7191
- [94] Capinera, J. L. (2008). Encyclopedia of Entomology. Springer. pp. 2984-2986
- [95] Towers, G. N., Arnason, T., Wat, C. K., Graham, E. A., Lam, J., & Mitchell, J. L. (1979). Phototoxic polyacetylenes and their thiophene derivatives. (Effects on human skin). Contact dermatitis, 5(3), 140–144.
- [96] Augros, C ; Bezzina, M. E. ; Bertrand, M. FRocca, J. P.(2012). La thérapie photodynamique antibactérienne. Réalités cliniques 23(2), 139-148 .
- [97] Matsunaga, H., Mitsuo Katano, Hiroshi Yamamoto, Hiroshi Fujito, Masato Mori, & Katsumi Takata. (1990). Cytotoxic activity of polyacetylene compounds in Panax ginseng C.A. Meyer. Chem. Pharm. Bull, 38(12), 3480–3482
- [98] Djebara, A., Ciavatta, M. L., Mathieu, V., Colin, M., Bitam, F., Carbone, M., & Gavagnin, M. (2019). Oxygenated C₁₇ polyacetylene metabolites from Algerian *Eryngium tricuspdatum* L. roots: Structure and biological activity. Fitoterapia, 138, 104355.
- [99] Christensen, L. P. (2020). Bioactive C₁₇ and C₁₈ Acetylenic Oxylipins from Terrestrial Plants as Potential Lead Compounds for Anticancer Drug Development. Molecules 25, 2568.
- [100] Schep, L. J., Slaughter, R. J., Becket, G., Michael, D., & Beasley, G. (2009). Poisoning due to water hemlock. Clinical Toxicology, 47(4),270–278.
- [101] M. Daniel, & Denni Mammen. (2016). Analytical Methods for Medicinal Plants and Economic Botany.P.266
- [102] Bauer, R., & Remiger, P. (1989). TLC and HPLC Analysis of Alkamides in Echinacea Drugs1, 2. Planta medica, 55(4), 367–371. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962030>
- [103] Christensen, L. P., & Kreutzmann, S. (2007). Determination of polyacetylenes in carrot roots (*Daucus carota* L.) by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection. Journal of separation science, 30(4), 483–490.

- [104] Yeo, C.-R., Jin-Jie Yong, & David G. Popovich. (2017). Isolation and characterization of bioactive polyacetylenes *Panax ginseng* Meyer roots. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 139, 148–155.
- [105] Harborne, J. B. (1984). *Phytochemical Methods*. USA: Chapman and Hall.P.167
- [106] Huang, H.-Q., Juan Su, Xi Zhang , Lei Shan, & Wei-Dong Zhang. (2011). Qualitative and quantitative determination of polyacetylenes in different *Bupleurum* species by high performance liquid chromatography with diode array detector and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(8), 1131–1138.
- [107] Rai, D. K., Brunton, N. P., Koidis, A., Rawson, A., McLoughlin, P., & Griffiths, W. J. (2011). Characterisation of polyacetylenes isolated from carrot (*Daucus carota*) extracts by negative ion tandem mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry* : RCM, 25(15), 2231–2239.
- [108] Hemminga, M. A. (1992). Introduction to NMR. *Trends in Food Science &Technology* Vol 3, 179-186.
- [109] Pavia, D. L., Gary M. Lampman, George S. Kriz, & James R. Vyvyan. (2015). *Introduction to spectroscopy*. USA : GENGAGE Learning.P.215,528
- [110] Zia, K., Siddiqui, T., Ali, S., Farooq, I., Zafar, M. S., & Khurshid, Z. (2019). Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Medical and Dental Applications : A Comprehensive Review. *European journal of dentistry*, 13(1), 124–128.
- [111] Maes, E. (s.d.). *Résonance Magnétique Nucléaire*. Université des Sciences et Technologies de Lille.
- [112] Fouzia, B. (2017). Etude phytochimique des espèces *Phlomis herba-venti* et *Eryngium triquetrum*. Université El-Hadj Lakhdar - BATNA 1 : Faculté des Sciences de la Matière Département de chimie.
- [113] Frank Gafner, Gary W. Reynolds, Eloy Rodriguez. (1989). The diacetylene 11,12-dehydrofalcarinol from *Hedera helix*. *Phytochemistry*, 28(4), 1256 -1257.



RÉSUMÉ

Résumé

Ce travail rentrant dans le cadre de projet de fin d'études, porte sur l'étude phytochimique de l'extrait éther diéthylique des parties aériennes de la plante *Eryngium campestre* L. (Apiaceae), récoltée dans la région Fesdis (willaya de Batna). Cette plante a retenu notre attention pour ses vertus médicinales aussi sa richesse en métabolites secondaires bioactifs.

Cette investigation chimique a permis l'isolement de deux polyacétylènes en C-17 et C-18, par les méthodes chromatographiques (CCM, CC, CCE). Leurs structures ont été élucidées grâce aux techniques d'analyse spectroscopiques (RMN 1D and 2D) et la spectrométrie de masse (ESI). Ces composés ont été identifiées aux : Falcarinol (composé **A**) et Compestrolide (composé **B**) dont leurs données spectrales sont en accord avec celles reportées dans la littérature.

Mots clés : Apiaceae, *Eryngium campestre*, Polyacétylènes, RMN 1D et 2D, Spectrométrie de masse.

Abstract

This work has been focused on the phytochemical study of the diethylic ether extract of the aerial parts of the species *Eryngium campestre* L. (Apiaceae), collected in Batna region. We are interested in this plant for its medicinal properties as well as its richness on bioactive secondary metabolites.

This chemical investigation has allowed the isolation of two polyacétylènes C-17 and C-18, by chromatographic methods (TLC, CC CCE). Their structures have been elucidated by using spectroscopic analysis techniques (1D and 2D NMR) and mass spectrometry (ESI). These compounds have been identified as: Falcarinol (compound **A**) and Compestrolide (compound **B**), whose spectral data are in agreement with those reported in the literature.

Keywords: Apiaceae, *Eryngium campestre*, Polyacetylenes, 1D and 2D NMR, Mass spectrometry.



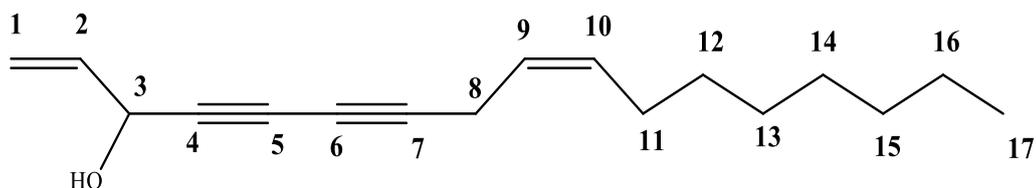
ANNEXES



ANNEXES

- Les déplacements chimiques des protons et carbones de Falcarinol dans CDCl_3 (données de la littérature [113]) :

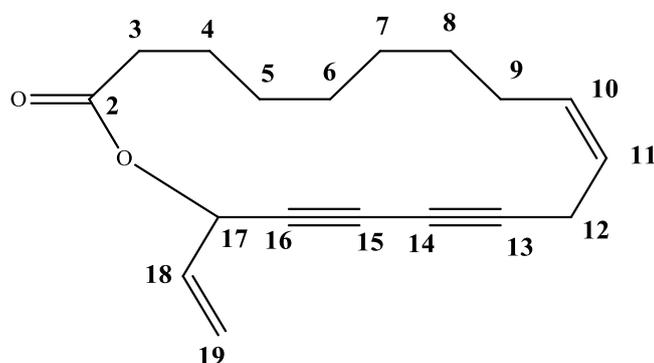
N°	Type de carbone	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	Multiplicité (J en Hz)
1	$\text{CH}_2=$	116.9	5.47 5.24	d (17.1) 1a d (10.2) 1b
2	$-\text{CH}=\text{}$	136.2	5.93	dd (17.1 ; 10.2 ; 5.4)
3	$-\text{CHO}$	63.3	4.91	d (5.4)
4	$-\text{C}\equiv$	74.5	-	
5	$-\text{C}\equiv$	71.1	-	
6	$-\text{C}\equiv$	64.3	-	
7	$-\text{C}\equiv$	80.0	-	
8	$-\text{CH}_2$	17.7	3.03	d (7.2)
9	$-\text{CH}=\text{}$	122.1	5.39	dt (10.5 ; 7.2)
10	$-\text{CH}=\text{}$	133.0	5.52	ddd (0.6 ; 11.5 ; 10.5)
11	$-\text{CH}_2$	27.2	2.02	ddd (0.6 ; 11.5 ; 10.5)
12	$-\text{CH}_2$	29.3	1.38	dt (10.5 ; 7.8)
13	$-\text{CH}_2$	29.3	1.27	dt (7.2 ; 7.8)
14	$-\text{CH}_2$	29.3	1.27	q (7)
15	$-\text{CH}_2$	31.9	1.27	m
16	$-\text{CH}_2$	22.7	1.27	m
17	$-\text{CH}_3$	14.1	0.88	t (6.8)



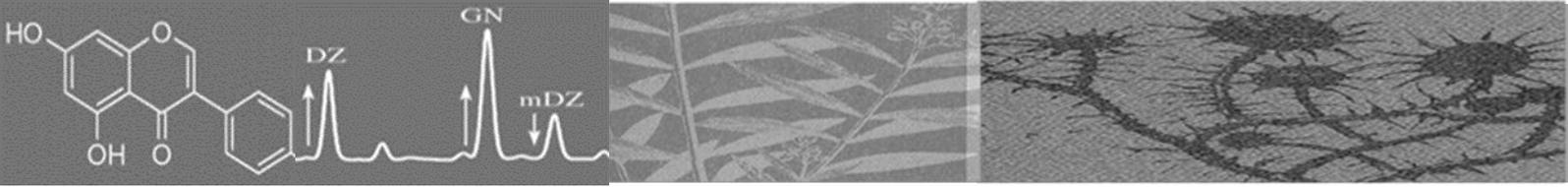
(Z)-heptadéca-1,9-dièn-4,6-diyn-3-ol

- Les déplacements chimiques des protons et carbones de Campesterolide dans CDCl_3 (données de la littérature [65]) :

N°	Type de carbone	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	Multiplicité (J en Hz)
2	C=O	172.97	-	-
3	-CH ₂	34.55	2.41 2.38	m m
4	-CH ₂	26.45	1.76 1.67	m m
5	-CH ₂	28.68	1.44	m
6	-CH ₂	29.67	1.28	m
7	-CH ₂	30.17	1.36	m
8	-CH ₂	28.70	1.44	m
9	-CH ₂	28.26	2.10 2.15	m m
10	-CH=	135.23	5.62	m
11	-CH=	121.13	5.52	dt (9.96 ; 7.53)
12	-CH ₂	16.91	2.96 3.07	dd (18.30 ; 7.50) dd (18.30 ; 7.50)
13	-C≡	81.15	-	-
14	-C≡	64.51	-	-
15	-C≡	71.87	-	-
16	-C≡	72.15	-	-
17	-CHO	64.45	5.92	d (5.85)
18	-CH=	131.88	5.91	ddd (5.85 ; 10.17 ; 16.90)
19	CH ₂ =	119.65	5.37 5.60	dd (16.90 ; 1.2) dd (10.17 ; 1.2)



(Z)-17-vinyloxacyclohéptadeca-10-èn-13,15-diyne-2-on



LES TERMES SCIENTIFIQUES

LES TERMES SCIENTIFIQUES

Adénocarcinome : une tumeur maligne développée aux dépens d'un épithélium glandulaire.

Amygdalite : désigne une infection d'origine bactérienne ou virale des amygdales localisées dans la gorge, de part et d'autre de la luette.

Angiospermes : plantes à graines possèdent des ovules protégés par des ovaires.

Anthelminthique : une classe de médicament antiparasitaire qui permet d'éradiquer les vers parasites, notamment gastro-intestinaux chez l'homme ou l'animal.

Antiagrégant : un médicament qui diminue l'agrégation plaquettaire et inhibe la formation du thrombus.

Antispasmodiques : des médicaments utilisés pour soulager les contractions musculaires.

Antitussif : un médicament censé d'arrêter la toux.

Aphrodisiaque : est une substance naturelle ou une alchimie utilisée afin de stimuler le désir sexuel.

Athérosclérose : une maladie artérielle chronique caractérisée par des dépôts de lipides dans les artères.

Bractée : organe se trouve à la base de la fleur en formant de feuille permettant de protéger ses organes sexuels.

Carminatif : des médicaments qui ont la propriété d'expulser les gaz intestinaux

Clade : (du grec : kládos, « branche »), un groupe de taxons ayant une origine monophylétique commune, c'est-à-dire une branche contenant un ancêtre et tous ses descendants.

Cytotonique : une entérotoxine qui modifie la morphologie d'une cellule sans la détruire.

Cytotoxique : une substance nocive pour les cellules, ayant donc la propriété de les détruire.

Dépuratif : Qui purifie l'organisme, en favorisant l'élimination des toxines.

Diakène : désigne un fruit sec indéhiscent composé de deux méricarpes susceptibles de se disjoindre.

Diurétique : une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire et qui peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle et l'insuffisance cardiaque.

Émétique : une substance capable de provoquer un vomissement

Emménagogue : des plantes médicinales qui provoquent ou régularisent le cycle menstruel.

Eupeptique : un médicament susceptible d'exciter les fonctions digestives et d'améliorer la digestion.

Expectorant : un médicament ou une herbe qui facilite l'expectoration, c'est-à-dire le rejet des produits formés dans les voies respiratoires (crachats).

Flatulence : accumulation de gaz dans les intestins.

Hématinique : un médicament qui augmente le taux d'hémoglobine du sang.

Hémorroïde : varice qui se forme à l'anus et au rectum.

Herbacée : toute plante qui n'est pas un arbre.

Inflorescence : mode de groupement des fleurs sur une même tige.

Involucre : ensemble des bractées à la base d'une ombelle ou d'un capitule.

Laxatif : substance accélérant légèrement le transit intestinal et l'évacuation des selles.

Leucémie : cancer prenant naissance dans les cellules souches sanguines.

Mélanome : est un cancer de la peau qui est principalement lié à une surexposition aux rayons ultraviolets.

Mycélien : appareil végétatif des champignons.

Œdème : est un gonflement des tissus causé par un excès de liquide, il concerne essentiellement la peau ou les muqueuses, où il produit un gonflement.

Ombelle : Inflorescence dans laquelle les fleurs, petites et nombreuses, sont toutes dans un même plan horizontal, portées par des pédoncules partant tous du même point de la tige (Mode de disposition des fleurs sous la forme d'un parasol).

Ombellule : petite ombelle formant un élément d'une ombelle composée.

Paludisme : (malaria) une maladie d'origine parasitaire se traduisant par de la fièvre et des troubles digestifs

Pédicelle : ramification d'un pédoncule se terminant par une fleur.

Plante annuelle : une plante qui, à partir d'une graine, effectue tout son cycle végétatif sur une année ou une saison.

Plante bisannuelle : une plante qui a une durée de vie de deux ans. Au cours de la première année la plante se développe et au cours de la deuxième année elle donne des fruits et des fleurs.

Polycarpiques : une plante pouvant avoir plusieurs floraisons successives.

Sinusite : désigne l'inflammation des muqueuses qui recouvrent l'intérieur des sinus.

Taxon : En biologie, le taxon est une unité taxonomique reconnue par les codes internationaux dans une classification donnée, ou unité systématique telle qu'une famille, un genre, une espèce, etc.,

Test MTT : une méthode rapide de numération des cellules vivantes.

Vasodilatateur : une substance qui permet de dilater les vaisseaux sanguins, c'est-à-dire d'augmenter leur lumière, en relâchant les muscles lisses des parois de ces vaisseaux.

Vivace : une plante pouvant vivre plusieurs années.