

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES,
TECHNOLOGIES ET GÉOSCIENCES

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DE CHIMIE ET APPLICATION



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace – Work – Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCES

POSTGRADUATE SCHOOL OF
SCIENCE, TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCES

RESEARCH AND POSTGRADUATE
TRAINING UNIT FOR CHEMISTRY
AND APPLICATION

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE DE SUBSTANCES NATURELLES IB
LABORATORY OF NATURAL PRODUCTS IB

**CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DE DEUX PLANTES
MEDICINALES CAMEROUNAISES (*BOSWELLIA DALZIELII*
HUTCH. ET *ECHINOPS GRACILIS* O. HOFFM) : EVALUATION
DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE QUELQUES EXTRAITS ET
COMPOSES ISOLES**

*Thèse présentée et soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat/Ph.D en Chimie Organique*

Par :

WEYEPE LAH Fidèle Castro

Matricule : 06T665

D.E.A. en Chimie Organique

Sous la Co-Direction de :

Dr. TCHINDA T. Alembert
Directeur de recherche
MINRESI/IMPM/CRPMT

DONGO Etienne
Professeur
Université de Yaoundé I



Devant le Jury composé comme suit :

Président : Pr. WANDJI Jean

Rapporteur : Pr. DONGO Etienne, DR. TCHINDA TIABOU Alembert

Membres : Pr. NGO MBING Joséphine, Pr. FOTSO WABO Ghislain, Pr.

NGUEFA HAPPI Emmanuel, Pr. EFFA ONOMO Pierre

Année 2021

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

CENTRE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES, TECHNOLOGIES ET
GEOSCIENCES

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCES

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

RESEARCH AND POSTGRADUATE TRAINING UNIT
FOR CHEMISTRY AND APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION

Noms et prénoms du candidat: WEYEPE LAH Fidèle Castro

Matricule: 06T665

Titre de la thèse: « Contribution à l'étude chimique de deux plantes médicinales camerounaises (*Boswellia dalzielii* Hutch et *Echinops gracilis* O. Hoffm) : évaluation de l'activité biologique de quelques extraits et composés isolés ».

Date de soutenance: Jeudi 16 Décembre 2021

Nous membres du jury, après avoir lu le document qui nous a été présenté, relevons que le candidat a effectué toutes les corrections, conformément aux observations formulées lors de la soutenance.







En foi de quoi la présente attestation de correction lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.


Fait à Yaoundé, le 29 Décembre 2021

Le Président du jury


Wandji Jean
Professeur

Les Membres du jury

 NGEUFA HAPPY
 STAN ONORA Pierre
 NGO MBING Josephine
 Pr. Ghislain Fotsa
 TCHINDA TIASSOU Alembert
 Etienne DONGO

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal,
Maître de Conférences

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR :
AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste

16	EWANE Cécile Anne	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
25	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
26	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
27	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste

35	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
36	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
37	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (46)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFUET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	Vice Doyen/FMSB/UIYI
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste

10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste
13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>

16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste

42	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
43	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
45	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste

46	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste
----	----------------	-----------	----------

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (31)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
13	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste

17	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

25	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Assistant	En poste
26	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
27	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
28	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
29	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste

30	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
31	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
11	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
12	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
20	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINPROFF
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste

30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
----	---------------------	------------------	----------

31	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
32	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
33	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (40)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/</i> Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste

7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINRESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	C.E/ MINESUP
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste

23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste

33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
35	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
36	OUEDE NANTCHOUANG Judith	Assistante	En poste
37	TCHAMGOUE Joseph	Assistant	En poste
38	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste
39	TSAMO TONTSA Armelle	Assistante	En poste
40	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint Enset. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>

3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes/FS/UYI</i>
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

11	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
16	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste

21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

26	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
27	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thierry	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste

4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (44)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épse	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	MINRESI
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>

30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Assistante	En poste
41	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
42	OTTOU ABE Martin Thierry	Assistant	En poste

43	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste
44	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>
18	TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste

39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	14 (10)	13 (05)	3 (02)	38 (18)
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	05 (02)	46 (14)
BPV	07 (01)	9 (01)	8 (06)	07 (01)	31 (9)
CI	10 (01)	10 (02)	10 (02)	03 (0)	33 (5)
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	08 (02)	40 (9)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	25 (2)
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	05 (02)	30 (3)
MIB	3 (0)	4 (02)	05 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	06 (01)	44 (6)
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	42 (7)
Total	75 (5)	104 (29)	115 (31)	53 (13)	347 (82)

Soit un total de **347 (82)** dont :

- Professeurs **75 (5)**
- Maîtres de Conférences **104 (29)**
- Chargés de Cours **115 (31)**
- Assistants **53 (13)**

() = Nombre de Femmes **82**

DEDICACES

A ma très chère et tendre Mère BANENG MOUAGNE Rose De Lyma.

A ma compagne AMBONO Antoinette Carole

A Mme ETAKA BESSONG Epse JING Agnes

A mon homonyme M. WEYEPE KOLOKO Robert

A ma collègue, amie et sœur Dr. KOPA KOWA Théodora

A mes enfants, neveux et nièces BANENG WEYEPE Adorat Divine
Flamme, NOMENA WEYEPE Shémuel Duciel, MAHOLONIE Merveille Patricia,
MAHANA MA WELL Raphael Ocri, BIDIAS BIDIAS Gabriel Archange

REMERCIEMENTS

- Au Professeur A.E. NKENGFACK, pour l'adresse avec laquelle il a dirigé le Département et son indéfectible soutien et encadrement des doctorants ;
- Au Professeur E. DONGO et au Directeur de recherche A. T. TCHINDA qui ont bien voulu diriger mes travaux de thèse, en me faisant bénéficier de leurs expérience, compétences et encouragements ;
- Au Docteur N. OCTOBER de l'Université de Prétoria pour toutes les analyses dans son laboratoire ;
- A tous les enseignants du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I pour leurs disponibilité, assistance et encouragement ;
- A tout le collège des Doctorants pour leur indéfectible accompagnement, collaboration et diligence ;
- Au Professeur J.L.E. OYONO Directeur Général de l'Institut de Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales pour toutes les diligences accordées pour effectuer mes travaux de recherches ;
- Au Directeur de recherche G. A. AGBOR, Chef du Centre de Recherches en Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle, pour ses multiples contributions et encouragements ;
- Au Dr. A. DEUTOU Adjoint au Chef de Laboratoire de Pharmacologie pour son soutien et sa collaboration ;
- A mon collègue P.H. DIBOUE pour sa disponibilité sans faille, sa collaboration et sa contribution pour les analyses biologiques ;
- A ma collègue J. GERMO pour ses encouragements et son soutien ;
- A tous mes collègues du CRPMT et en particulier du Laboratoire de Pharmacologie ;
- A Mme K.F. TOMETI pour son soutien multiforme ;
- Au Professeur D. B. NGONO pour son soutien et sa grande disponibilité, pour les analyses spectrales ;
- A Monsieur M. M. BALEMAKEN, toi qui as toujours répondu avec promptitude à mes multiples sollicitations. Tu es mieux placé pour savoir d'où nous sortons. Mon frère, ce travail est aussi le tien. Puisse Dieu renforcer notre amitié et nous garder toujours unis ;
- A mes frères A.S. BIDIAS BIDIAS et A.B. OUWE BIBOUE, vous qui avez toujours trouvé les mots justes pour m'orienter dans les circonstances difficiles. Mes frères, que cette marque fraternelle indéfectible demeure solide ;

- Au couple ONANA, vous m'avez accueilli dans votre maison comme votre fils, votre frère. Votre disponibilité, votre soutien et surtout vos encouragements m'ont été très utiles. Que Dieu vous donne longue vie et vous comble de bonheur ;
- A mes amis E. SOB, I. C. PIENVEU, H. L. KETSEMEN et au couple EBELLE pour leurs soutiens matériel, moral et spirituel ;
- J'adresse mes remerciements à tous les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail ;
- Je remercie tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

TABLE DES MATIERES

ATTESTATION DE CORRECTION	I
DEDICACES.....	XIV
REMERCIEMENTS	XV
TABLE DES MATIERES.....	XVII
ABREVIATIONS ET ACRONYMES.....	XXIII
LISTE DES TABLEAUX.....	XXVI
LISTE DES FIGURES	XXIX
LISTE DES SCHEMAS.....	XXXII
RESUME	XXXIII
ABSTRACT.....	XXXV
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I. REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I.1. REVUE SUR BOSWELLIA DALZIELII.....	6
I.1.1. APERÇU BOTANIQUE.....	6
I.1.1.1. Classification systématique de <i>Boswellia dalzielii</i>	6
I.1.1.2. La famille des Burseraceae.....	6
I.1.1.3. Aperçu sur le genre <i>Boswellia</i>	7
I.1.1.4. Description botanique et répartition géographique de l'espèce <i>Boswellia dalzielii</i>	9
I.1.2. USAGE ET TRAVAUX PHARMACOLOGIQUES ANTERIEURS SUR <i>BOSWELLIA DALZIELII</i> ...	10
I.1.3. TRAVAUX CHIMIQUES ANTERIEURS.....	12
I.1.3.1. Les terpènes.....	12
I.1.3.2. Les flavonoides.....	18
I.1.3.3. Les acides phénoliques.....	19
I.1.3.4. Les anthocyanidines.....	20
I.1.3.5. Les autres composés phénoliques.....	20
I.1.3.6. Les sapogénines.....	21
I.2. REVUE SUR ECHINOPS GRACILIS.....	22
I.2.1. APERÇUS BOTANIQUE.....	22
I.2.1.1. Classification systématique de <i>Echinops gracilis</i>	22
I.2.1.2. La famille des Asteraceae.....	22
I.2.1.3. Aperçu sur le genre <i>Echinops</i>	24
I.2.1.4. Description botanique et répartition géographique de l'espèce <i>Echinops gracilis</i>	25
I.2.2. USAGE ET TRAVAUX PHARMACOLOGIQUES ANTERIEURS SUR <i>ECHINOPS</i>	26
I.2.3. TRAVAUX CHIMIQUES ANTERIEURS.....	28
I.3. GÉNÉRALITÉS SUR LES FLAVONOÏDES.....	32
I.3.1. ETUDE STRUCTURALE ET CLASSIFICATION.....	32

I.3.1.1.	Les flavones et flavonols	34
I.3.1.2.	Les flavanones et dihydroflavonols	34
I.3.1.3.	Les chalcones, dihydrochalcones et auronés	35
I.3.1.4.	Les isoflavones	35
I.3.1.5.	Les anthocyanidines et anthocyanes	36
I.3.2.	VOIE DE BIOSYNTHESE DES FLAVONOÏDES	36
I.3.3.	ANALYSE STRUCTURALE DES FLAVONOÏDES	40
I.3.3.1.	Spectrophotométrie UV-Visible	40
I.3.3.2.	Hydrolyse acide des hétérosides	42
I.3.3.3.	Spectrométrie de masse	43
I.3.3.3.1.	Ionisation par impact électronique (S.M.E.I)	44
I.3.3.3.2.	Spectrométrie de masse à bombardement atomique rapide FAB	46
I.3.3.3.3.	Ionisation à pression atmosphérique	46
I.3.3.3.3.1.	L'ionisation par électrospray (E.S.I) :	46
I.3.3.3.3.2.	Ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)	47
I.3.3.4.	Spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	47
I.3.3.4.1.	RMN monodimensionnelle	47
I.3.3.4.1.1.	RMN du proton (RMN ¹ H)	47
I.3.3.4.1.1.1.	Protons du noyau A	47
I.3.3.4.1.1.2.	Protons de l'hétérocycle	48
I.3.3.4.1.1.3.	Protons des méthoxyles	48
I.3.3.4.1.1.4.	Protons osidiques	49
I.3.3.4.1.2.	RMN carbone -13	51
	DEPT 135 et J mod	51
I.3.3.4.2.	RMN bidimensionnelles (RMN – 2D) :	51
I.3.3.4.2.1.	Corrélations homonucléaires	52
I.3.3.4.2.1.1.	COSY (¹ H – ¹ H)	52
I.3.3.4.2.1.2.	NOESY (¹ H – ¹ H)	52
I.3.3.4.2.2.	Corrélations hétéronucléaires	52
I.3.3.4.2.2.1.	HSQC (¹ J _{H-C})	52
I.3.3.4.2.2.2.	HMBC (² J _{H-C} , ³ J _{H-C})	52
I.3.4.	ACTIVITES BIOLOGIQUES DES FLAVONOÏDES	53
I.3.4.1.	Activité antimicrobienne	53
I.3.4.1.1.	Activité antibactérienne	54
I.3.4.1.2.	Activité antifongique	54
I.3.4.1.3.	Activité antivirale	54
I.3.4.2.	Activité antioxydante	55
I.3.4.3.	Activité anti-inflammatoires et effets sur le système immunitaire	55

I.3.4.4. Intérêt des flavonoïdes contre l'obésité	56
I.3.4.5. Intérêt des flavonoïdes contre le cancer	56
I.4. GÉNÉRALITÉS SUR LES MICROORGANISMES, LES MALADIES	
INFECTIEUSES , LES ANTIOXYDANTS, LES ANTI INFLAMMATOIRES ET LA	
CYTOTOXICITÉ	57
I.4.1. LES MICROORGANISMES	57
I.4.1.1. Généralités	57
I.4.1.2. Exemple de classification des bactéries.....	58
I.4.1.3. La concentration minimale inhibitrice (CMI).	58
I.4.2. LES MALADIES INFECTIEUSES	60
I.4.2.1. Généralités	60
I.4.2.2. Prévalence et fardeau économique des maladies infectieuses	60
I.4.2.3. Agents infectieux : Microbes et Parasites.....	62
I.4.2.4. Relation hôte-bactéries pour les maladies infectieuses	63
I.4.2.5. Traitement des maladies infectieuses	63
I.4.2.6. Place des plantes médicinales dans la lutte contre les résistances aux antibiotiques	67
I.4.3. LES ANTIOXYDANTS.....	68
I.4.3.1. Généralités sur les antioxydants	68
I.4.3.2. Mécanismes d'action des antioxydants	68
I.4.3.3. Classification des antioxydants	69
I.4.3.3.1. Les antioxydants naturels	69
I.4.3.3.2. Les antioxydants de synthèse	70
I.4.3.4. Test pour la mesure du potentiel antioxydant.....	70
I.4.3.4.1. Test à la DPPH	70
I.4.3.4.2. Activité chélatrice.....	71
I.4.4. LES ANTI-INFLAMMATOIRES.....	72
I.4.4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens	72
I.4.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens.....	72
I.4.4.3. Les anti-inflammatoires naturels	73
I.4.5. LA CYTOTOXICITE	74
I.4.5.1. Mécanismes biochimiques impliqués dans la mort cellulaire	74
I.4.5.2. Méthodes d'études de la cytotoxicité	74
I.4.5.3. Méthodes fondées essentiellement sur des perturbations de la perméabilité	
membranaire (<i>Jean-Louis et François, 2006</i>)	74
I.4.5.3.1. Méthodes fondées sur les altérations de la prolifération	75
I.4.5.4. Autres méthodes	75
<u>CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSION.....</u>	76
II.1. ETUDES PHYTOCHIMIQUES	77

II.1.1. EXTRACTION ET ISOLEMENT DES CONSTITUANTS CHIMIQUES DES PLANTES ETUDIEES..	77
.....	77
II.1.1.1. Extraction et isolement des constituants des écorces de <i>Boswellia dalzielii</i>	77
II.1.1.1. Extraction et isolement des constituants chimiques des racines de <i>Echinops gracilis</i> .	78
.....	78
II.1.1.1. Extraction et isolement des constituants des parties aériennes de <i>Echinops gracilis</i>	80
II.1.2. ANALYSES STRUCTURALES DES COMPOSES ISOLES.....	85
II.1.2.1. Analyses structurales des composés isolés des écorces de <i>Boswellia dalzielii</i> .	85
II.1.2.1.1. Identification du stérol BDE1.....	85
II.1.2.1.2. Identification du flavonoïde BDE2	87
II.1.2.1.3. Identification du sucre BDE3	92
II.1.2.1.4. Identification structurale du dérivé d'acide benzoïque BDE4.....	95
II.1.2.1.5. Identification du dérivé d'acide benzoïque BDE5	98
II.1.2.1.6. Identification du stilbène BDE6.....	101
II.1.2.1.7. Détermination structurale du stilbène BDE7.....	105
II.1.3. INVESTIGATION PHYTOCHIMIQUE DES RACINES DE <i>ECHINOPS GRACILIS</i>	112
II.1.3.1. Analyses structurales des composés isolés	112
II.1.3.1.1. Identification du phénylpropanoïde EGF1	112
II.1.3.1.2. Identification du phénylpropanoïde EGF2	114
II.1.3.1.3. Identification du phénylpropanoïde EGF3	117
II.1.3.1.4. Identification du phénylpropanoïde EGF4	119
II.1.3.1.5. Identification du triterpène EGF5.....	122
II.1.3.1.6. Identification du triterpène EGF6.....	124
II.1.3.1.7. Identification du flavonoïde EGF7	128
II.1.4. INVESTIGATION PHYTOCHIMIQUE DES PARTIES AERIENNES DE <i>ECHINOPS GRACILIS</i>	131
II.1.4.1. Détermination structurale des composés isolés des parties aériennes de <i>Echinops</i>	
<i>gracilis</i>	131
II.1.4.1.1. Détermination structurale du flavonoïde EGF8.....	131
II.1.4.1.1. Identification du flavonoïde EGF9.....	139
II.1.4.1.2. Identification du flavonoïde EGF10.....	143
II.2. ETUDES BIOLOGIQUES	147
II.2.1. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES EXTRAITS DES PARTIES	
AERIENNES DE <i>ECHINOPS GRACILIS</i> ET DE QUELQUES COMPOSES ISOLES.....	147
II.2.2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DES PARTIES AERIENNES	
DE <i>ECHINOPS GRACILIS</i> ET DES COMPOSES ISOLES.....	148
II.2.2.1. Test de décoloration du radical cation ABTS.....	148
II.2.2.2. Evaluation du pouvoir réducteur des composés isolés de <i>Echinops gracilis</i>	149

II.2.3. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIINFLAMMATOIRE DES EXTRAITS DE RACINES DE <i>ECHINOPS GRACILIS</i> ET DE QUELQUES COMPOSES ISOLEES	150
II.2.4. EVALUATION DE L'ACTIVITE CYTOTOXIQUE DES COMPOSES 116, 117 ET 118.....	152
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	154
CHAPITRE III. MATERIELS ET METHODES	158
III.1. MATERIELS	159
III.1.1. INSTRUMENTATION.....	159
III.1.1.1. Point de fusion (P.F.).....	159
III.1.1.2. Spectres ultraviolets (UV)	159
III.1.1.3. Spectres infra-rouge (IR).....	159
III.1.1.4. Spectres de masse (MS).....	159
III.1.1.5. Spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN).....	159
III.1.2. MATERIEL VEGETAL	160
III.1.2.1. Récolte.....	160
III.1.2.2. Séchage et broyage	160
III.2. METHODES.....	160
III.2.1. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE	160
III.2.1.1. Test de Shinoda	160
III.2.1.2. Test au chlorure ferrique	161
III.2.1.3. Test de Liebermann-Burchard.....	161
III.2.2. METHODES CHROMATOGRAPHIQUES	161
III.2.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	161
III.2.2.2. Chromatographie de partage.....	161
III.2.2.3. Chromatographie liquide sur colonne ouverte (CC).....	162
III.2.3. ISOLEMENT DES COMPOSES	162
III.2.3.1. Extraction et isolement des constituants des écorces de <i>Boswellia dalzielii</i>	162
III.2.3.2. Extraction et isolement des constituants de <i>Echinops gracilis</i>	164
III.2.4. ACTIVITES BIOLOGIQUE.....	166
III.2.4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne	166
III.2.4.2. Evaluation de l'activité anti inflammatoire	167
III.2.4.2.1. Inhibition de la dénaturation des protéines.....	167
III.2.4.3. Action antiprotéinase.....	168
III.2.4.4. Evaluation des activités antioxydantes	168
III.2.4.5. Test de décoloration du radical cation ABTS.....	168
III.2.4.6. Test du pouvoir réducteur : FRAP.....	169
III.2.4.7. Evaluation des activités cytotoxiques.....	170
III.3. CARACTERISTIQUE PHYSICO-CHIMIQUE ET SPECTROSCOPIQUES DES COMPOSES ISOLEES	171

III.3.1. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES DES ECORCES DE DU TRONC DE <i>BOSWELLIA DALZIELII</i>	171
III.3.2. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES DES RACINES DE <i>ECHINOPS GRACILIS</i>	173
III.3.3. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES DES PARTIES AERIENNES DE <i>ECHINOPS GRACILIS</i>	175
<u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</u>	<u>178</u>
<u>ANNEXES</u>	<u>193</u>

ABREVIATIONS ET ACRONYMES*

δ : Déplacement chimique

ABTS: Acide 2,2'-Azino-bis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonique

AcOEt: Acétate d'éthyle

ADN: Acide Désoxyribonucleique

A.E: Acétate d'éthyle

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

APE-1: Endonucléase 1 apurinique/aprimidinique

APCI: Atmospheric Pressure Chemical Ionization

APG: Angiosperm Phylogeny Group

ARN: Acide ribonucleique

ATCC: American Type Culture Collection

AS: Anthocyanin synthase

BHA: Butylhydroxyanisole

BHT: Butylhydroxytoluène

BSA : Bovine Serum Albumin

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

CHS : Chalcone synthase

CH₂Cl₂: Dichlorométhane

C.C: Chromatographie sur Colonne ouverte

C.I : Chalcone isomérase

C.I₅₀: Concentration correspondant à 50% d'inhibition

COSY: Correlation Spectroscopy

d: Doublet

dd: Doublet dédoublé

1D : 1 Dimension

2D: 2 Dimensions

DFR: DihydroFlavonol Réductase

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DMSO-*d*₆: Diméthylsulfoxyde hexadeutérié

* Les abréviations ont généralement été indiquées sous la forme la plus couramment utilisée dans la littérature. C'est pour cela qu'elles sont surtout issues de terminologie anglo-saxonne

EAG/mg MS: Equivalence en mg d'Acide Gallique par grammme de Matière Sèche

EI: Ionisation par impact électronique

ESI: Electron Spray Ionisation

FAB: Fast Atom Bombardment

F3H: Flavanone 3-hydroxylase

FLS : Flavonol synthase

FRAP: Feric Reduction Antioxydant Capacity

Glc: Glucose

HMBC: *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HPLC: High performance liquid chromatography

HR: Haute Résolution

HSQC: *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

Hz: Hertz

IFS : isoflavone synthase

IR: Infra-Rouge

J: Constante de couplage

m: Multiplet

m/z: Masse / charge électronique

MCF-7 : lignées cellulaires du cancer du sein

MeOH -d₄: Méthanol tétradeutééré

MHz: Mega-Hertz

MS: Mass spectrometry

MTT: bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium

NOESY: *Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

P.A. : pouvoir antiradicalaire

PBS : Phosphate Buffer Saline

P.F.: Point de Fusion

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

RMN ¹H: Résonance Magnétique Nucléaire du proton

RMN ¹³C: Résonance Magnétique Nucléaire du carbone

s: Singulet

SC₅₀: Concentration de piégeage 50% de radicaux libres

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle

t: triplet

TMS: Tétraméthylsilane

TPTZ : Complexe ferreux tripyridyltriazine

UFC: Unité Formant Colonie

UV: Ultraviolet

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : <i>Boswellia</i> spp. et leurs pays d'origine	8
Tableau 2 : Quelques usages traditionnels de <i>Boswellia dalzielii</i>	10
Tableau 3 : Quelques activités biologiques de <i>Boswellia dalzielii</i>	11
Tableau 4 : Quelques composés issus du genre <i>Boswellia</i> et leurs activités biologiques (Hartmann et al., 2014; Siddiqui, 2011) (Perez et al., 2011).....	15
Tableau 5 : Usages ethnobotaniques de quelques espèces de <i>Echinops</i>	26
Tableau 6 : Activités biologiques et usages de quelques espèces de <i>Echinops</i>	27
Tableau 7:Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes	41
Tableau 8: Valeurs des Rf des sucres témoins.....	43
Tableau 9: Déplacements chimiques et multiplicités des protons du noyau A	48
Tableau 10: Déplacements chimiques et multiplicités des protons du noyau B.....	48
Tableau 11: Déplacements chimiques des protons anomériques dans le DMSO-d ₆ des monoglycosyles.....	50
Tableau 12: Déplacements chimiques des protons anomériques dans le DMSO-d ₆ des diosides	51
Tableau 13: Déplacements chimiques des carbones de quelques flavonoïdes	53
Tableau 14: Données de RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de BDE1 comparées à celles de la littérature (100 MHz, CDCl ₃).....	87
Tableau 15: Données de RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de BDE2 comparées à celles de la littérature (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	91
Tableau 16: Données de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) et ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de BDE3 comparées à celles de la littérature (100 MHz, pyridine- <i>d</i> ₅) (Agrawal et al., 1992).....	94
Tableau 17: Données de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) et ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de BDE4 comparées à celles de la littérature RMN ¹ H (300 MHz, MeOD) et ¹³ C (75 MHz, MeOD)	97
Tableau 18: Données de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) et ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de BDE5 comparées à celles de la littérature RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) et ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	100
Tableau 19: Données de RMN ¹ H (400 MHz, MeOH) et ¹³ C (100 MHz, MeOH) de BDE6 comparées à celles de la littérature RMN ¹ H (600 MHz, MeOH) et ¹³ C (150 MHz, MeOH)	104

Tableau 20: Données de RMN ^1H (400 MHz, MeOD) et ^{13}C (100 MHz, MeOD) de BDE7	110
Tableau 21: Données de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) et ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de EGF1 et EGF2 comparées à celles de la littérature RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) et ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)	116
Tableau 22: Données de RMN ^1H (500 MHz, DMSO/MeOD) et ^{13}C (125 MHz, DMSO/MeOD) de EGF3 et EGF4 comparées à celles de la littérature	121
Tableau 23: Données de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) et ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de EGF5 et EGF6 comparées à celles de la littérature ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	126
Tableau 24: Données de RMN ^1H (300 MHz, DMSO) et ^{13}C (125 MHz, DMSO) de EGF7 comparées à celles de la littérature	130
Tableau 25: Données de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) et ^{13}C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) de EGF8	138
Tableau 26: Données de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) et ^{13}C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) de EGF9 comparées à celles de la littérature RMN ^1H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) et ^{13}C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> 6).....	142
Tableau 27: Données de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) et ^{13}C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) de EGF10 comparées à celles de la littérature ^{13}C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> 6).....	146
Tableau 28: Paramètres d'inhibition (CMI et CMB) de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des composés 116 ET 117 sur les isolats cliniques de <i>E. coli</i> , de <i>P. aeruginosa.</i> , de <i>K. pneumoniae</i> et de <i>H. influenzae</i>	147
Tableau 29: Récapitulatif de l'évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	150
Tableau 30: Effet de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines de <i>E. gracilis</i> sur la dénaturation de l'albumine.....	151
Tableau 31: Effet des composés 111, 112 et 98 sur la dénaturation d'albumine et l'action inhibitrice de la protéinase	151
Tableau 32: Plantes étudiées et lieux de récolte	160
Tableau 33: Partitionnement de l'extrait méthanolique des écorces de <i>B. dalzielii</i>	162
Tableau 34: Chromatogramme de la partition P2.....	163
Tableau 35: Chromatogramme sous fraction P2-D1	163
Tableau 36: Chromatogramme de la partition P3	164
Tableau 37: Chromatogramme de de l'extait méthanolique des racines de <i>Echinops gracilis</i>	164

Tableau 38: Partitionnement de l'extrait méthanolique des parties aériennes de <i>E. gracilis</i>	165
Tableau 39: Chromatogramme de la partition P'2	166

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Systématique de <i>Boswellia dalzielii</i> Hutch	6
Figure 2 : Arbre (a) Ecorces du tronc (b) et Fruits et graines (c) de <i>B. dalzielii</i>	9
Figure 3 : Régions d'identification de l'espèce <i>Boswellia dalzielii</i>	10
Figure 4 : Quelques mono et diterpènes isolés du genre <i>Boswellia</i> (Dekebo et al., 2002; Pardhy et al., 1978; Proietti et al., 1981; Siddiqui, 2011; Vanimireddyl et al., 2003).....	13
Figure 5 : Quelques triterpènes isolés du genre <i>Boswellia</i> (Dekebo et al., 2002; Pardhy et al., 1978; Proietti et al., 1981; Siddiqui, 2011; Vanimireddyl et al., 2003).....	14
Figure 6 : Quelques acides tétracycliques triterpéniques isolés du genre <i>Boswellia</i> (Dekebo et al., 2002; Pardhy et al., 1978; Proietti et al., 1981; Siddiqui, 2011; Vanimireddyl et al., 2003).....	15
Figure 7 : Principaux acides pentacycliques triterpéniques issus de <i>Boswellia</i> (Hartmann et al., 2014; Siddiqui, 2011).....	15
Figure 8 : Structures de quelques composés issus du genre <i>Boswellia</i>	18
Figure 9: Systématique de <i>Echinops gracilis</i> O. Hoffm.....	22
Figure 10 : Types de fleurs des Asteraceae	23
Figure 11: Régions d'identification de l'espèce <i>Echinops gracilis</i>	25
Figure 12: Image de l'espèce <i>Echinops gracilis</i>	26
Figure 13 : Structures des thiophènes isolés de <i>Echinops ritro</i>	29
Figure 14: Squelette commun des flavonoïdes	33
Figure 15: Principales classes de flavonoïdes.....	34
Figure 16: Sous-classes des isoflavonoïdes	35
Figure 17: Les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique	40
Figure 18: Effets électroniques induisant les changements des maxima d'absorption	42
Figure 19: Actions des réactifs spécifiques sur la molécule flavonique.....	42
Figure 20: Mode de fragmentation des flavones	44
Figure 21: Mode de fragmentation des flavonols	45
Figure 22: Quelques antibiotiques couramment utilisés.....	57
Figure 23: Quelques antifongiques couramment utilisés.....	58
Figure 24: : Mécanisme d'action des Espèces Réactives de l'Oxygène.....	69
Figure 25: Quelques antioxydants naturels.....	70

Figure 26: Piégeage du radical libre DPPH par un antioxydant donneur de H \cdot	70
Figure 27: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE1	85
Figure 28: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE1	86
Figure 29: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE2.....	88
Figure 30: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE2	89
Figure 31: Spectre HMBC du composé BDE2	89
Figure 32: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE3.....	92
Figure 33: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE3	93
Figure 34: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE4.....	95
Figure 35: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE4	96
Figure 36: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO) du composé BDE5.....	98
Figure 37: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO) du composé BDE5.....	99
Figure 38: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE6	101
Figure 39: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE6.....	102
Figure 40: Spectre LC-MS du composé BDE7	105
Figure 41: Spectre RMN ^{13}C (100MHz, MeOD) du composé BDE7	105
Figure 42: Spectre RMN ^1H (400MHz, MeOD) du composé BDE7	106
Figure 43: Spectre HMBC du composé BDE7	109
Figure 44: Spectre RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) du composé EGF1	112
Figure 45: Spectre RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) du composé EGF1	113
Figure 46: Superposition des spectres RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) du composé EGF2 et EGF1	114
Figure 47: Superposition des Spectres RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) du composé EGF2 et EGF1	115
Figure 48: Spectre RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé EGF3.....	117
Figure 49: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé EGF3.....	118
Figure 50: Spectre RMN ^1H (500 MHz, MeOD) du composé EGF4.....	119
Figure 51: Spectre RMN ^{13}C APT (125 MHz, MeOD) du composé EGF4.....	120
Figure 52: Spectre RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) du composé EGF5.....	122
Figure 53: Spectre RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) du composé EGF6.....	124
Figure 54: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO) du composé EGF6	125
Figure 55: Spectre RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) du composé EGF7.....	128
Figure 56: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO) du composé EGF7	129
Figure 57: Spectre de masse TOF ESI du composé EGF8	131
Figure 58: Spectre UV du composé EGF8	131

Figure 59: Spectre IR du composé EGF8	132
Figure 60: Spectre RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO) du composé EGF8	132
Figure 61: Spectre RMN ¹ H (400 MHz, DMSO) du composé EGF8	133
Figure 62: Spectre RMN ¹ H (400 MHz, DMSO) du composé EGF8	134
Figure 63: Spectre RMN ¹ H (400 MHz, DMSO) du composé EGF8	134
Figure 64: Quelques corrélations HMBC et NOESY dans le composé EGF8.....	135
Figure 65: Spectre HMBC du composé EGF8	135
Figure 66: Spectre NOESY du composé EGF8.....	136
Figure 67: Spectre RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO) du composé EGF9	139
Figure 68: Superposition des Spectres RMN ¹ H (400 MHz, DMSO) du composé EGF9 et EGF8.....	140
Figure 69: Spectre RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO) du composé EGF10	143
Figure 70: Spectre RMN ¹ H (400 MHz, DMSO) du composé EGF10	144
Figure 72: Spectre HMBC du composé EGF10	144
Figure 73: Variation du pourcentage de piégeage du radical ABTS ^{•+} en fonction de la concentration	148
Figure 74: Concentration de piégeage (SC ₅₀) du radical cation ABTS ^{•+} de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des composés 116 et 117. L'acide gallique a été employé comme composé de référence. Les différences statistiques entre l'acide gallique et les échantillons ont été analysées suivant le test de Dunnett (***: $p <$ 0.001 ; **: $p < 0.05$) et le test de Tukey (a,b,c : $a > b > c$); $p < 0.05$).....	149
Figure 75: Pouvoir réducteur de 116, 117 et l'extrait à l'acétate d'éthyle avec l'acide gallique comme standard . Les différences statistiques entre l'acide gallique et les échantillons ont été analysées suivant le test de Dunnett (***: $p <$ 0.001).....	150
Figure 76: Pourcentage d'inhibition de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines de <i>E. gracilis</i> en fonction de la dénaturation du BSA et de l'action anti protéinase	151
Figure 77: Pourcentage d'Inhibition des composés 111, 112 et 98 en fonction de la dénaturation du BSA	152
Figure 78: Viabilité cellulaire (%) des lignées cellulaire MCF-7 et HeLa après traitement (24 et 48 heures) à différentes concentration des composés testés	154

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1: Voie de biosynthèse de la naringénine chalcone à partir des hydrates de carbone	38
Schéma 2: Voie générale de la de biosynthèse des flavonoïdes	39
Schéma 3: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces de <i>B. dalzielii</i>	77
Schéma 4: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de <i>Echinops gracilis</i>	79
Schéma 5: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des parties aériennes de <i>Echinops gracilis</i>	80

RESUME

Le présent travail porte sur l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales camerounaises, *Boswellia dalzielii* Hutch. et *Echinops gracilis* O. Hoffm., dont le but est de contribuer à la lutte contre les maladies infectieuses d'origine microbienne, en recherchant des composés qui agiraient en synergie ou en large spectre d'action, pour conduire à une thérapie optimale.

Ainsi, en utilisant un ensemble de techniques d'extraction, de séparation liquide-liquide et de chromatographie en phase liquide, telles que la Chromatographie sur Colonne (CC), la Chromatographie sur Couche Mince (CCM) et la Chromatographie sur Couche Mince Préparative, dix-sept composés ont été isolés des extraits au méthanol, au chlorure de méthylène et à l'acétate d'éthyle, des écorces du tronc de *B. dalzielii*, des racines et des parties aériennes de *E. gracilis*. On décompte, parmi ces composés, cinq flavonoïdes (le 7-hydroxy-4'-méthoxy-6-*O*- β -*D*-glucopyranosylflavone, la quercétine, le 7-*O*-(4''-féruloyl)- β -*D*-glucopyranosyl apigénine, le 7-*O*-(4''-*trans*-*p*-coumaroyl)- β -*D*-glucopyranosylapigénine, le 7-*O*- β -*D*-glucopyranosylapigénine), quatre phénylpropanoïdes (l'érythrinasinat, la Vogélate, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique), deux triterpènes pentacycliques (l'acide ursolique, l'acide oléanolique), deux stilbènes (le 4'-méthoxy-3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(*E*)-resvératrol, le 4'-méthoxy-3-*O*-[2''-(*O*-rhamnopyranosyl)-xylopyranosyl]-(*E*)-resvératrol, un phytostérole (le 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- β -sitostérol), deux dérivés d'acide benzoïque (le gallate de méthyle et l'acide gallique) et un sucre (le α -*D*-glucopyranoside). Les structures de ces composés ont été déterminées, par l'interprétation de leurs données de RMN 1D (¹H, ¹³C, DEPT-135), 2D (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) et dans certains cas par comparaison de leurs données avec celles décrites dans la littérature, ou par CCM comparative avec des échantillons authentiques disponibles. Parmi ces dix-sept composés, un flavonoïde à savoir le 7-*O*-(4''-féruloyl)- β -*D*-glucopyranosyl apigénine et un stilbène, le 4'-méthoxy-3-*O*-(2''-*O*-rhamnopyranosyl)-xylopyranosyl-(*E*)-resvératrol sont décrits ici pour la première fois. De même, les autres composés connus (EGF1 à EGF7) sont rapportés pour la première fois dans *Echinops gracilis*.

Certains extraits et composés isolés ont été testés pour leur activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire et cytotoxique. Les résultats sont les suivants :

Les tests antibactériens ont été réalisés, sur les isolats cliniques de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*. L'extrait à l'acétate d'éthyle, la 7-*O*-(4''-féruloyl)- β -*D*-glucopyranosylapigénine et la 7-*O*-(4''-*trans*-*p*-coumaroyl)- β -*D*-glucopyranosylapigénine isolés des parties aériennes de *Echinops gracilis* ont été pour la première fois répertoriés comme possédant une activité anti bactérienne. La 7-*O*-(4''-féruloyl)-

β -D-glucopyranosylapigénine) a été significativement actif sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumonia* avec des concentrations minimales inhibitrices de l'ordre de 31,25, 15,63 et 31,25 $\mu\text{g/mL}$, respectivement.

Les tests antioxydants ont été effectués suivant la méthode de décoloration du radical cation ABTS (Acide 2,2'-Azino-bis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonique) et de l'évaluation du pouvoir réducteur, selon la méthode du FRAP. L'extrait à l'acétate d'éthyle, le 7-O-(4"-féruloyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine et le 7-O-(4"-*trans-p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine, isolés des parties aériennes de *Echinops gracilis* ont été pour la première fois, répertoriés comme possédant une activité anti oxydante avec des concentrations de piégeage du radical cation ABTS (CI₅₀), d'une valeur de $13,59 \pm 0,84 \mu\text{g/mL}$, $108,25 \pm 4,32 \mu\text{g/mL}$, et $28,54 \pm 2,18 \mu\text{g/mL}$, respectivement.

L'extrait à l'acétate d'éthyle, l'érythrinasinat, la vogélate et l'acide férulique issus des racines de *E. gracilis*, ont fait l'objet de test antiinflammatoire, suivant la méthode de dénaturation protéinique, induite par la chaleur et la méthode de l'action antiprotéinase, avec le diclofénac comme antiinflammatoire de référence. L'extrait à l'acétate d'éthyle a montré une capacité inhibitrice, avec une CI₅₀ de $125,54 \mu\text{g/mL}$. Il a aussi été efficace dans le blocage de la dénaturation protéinique, induite par la chaleur. L'érythrinasinat et la vogélate ont montré respectivement, une inhibition maximale de 78% et de 71% avec une CI₅₀ de 463,5 et $413,7 \mu\text{g/mL}$, comparé au diclofénac qui a montré une inhibition maximale de 91%, avec une CI₅₀ de $183,7 \mu\text{g/mL}$. L'érythrinasinat et la vogélate ont ainsi été répertoriés, pour la première fois, comme possédant une activité anti-inflammatoire.

En prélude à la détermination précise d'un indice de sélectivité cellulaire et d'une activité anticancéreuse, nous avons évalué l'activité cytotoxique du 7-O-(4"-féruloyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine, le 7-O-(4"-*trans-p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine et le 7-O- β -D-glucopyranosyl apigénine, contre des lignées cellulaires du cancer du sein MCF-7 et du cancer du col de l'utérus HeLa, à différentes concentrations en utilisant la méthode MTT. Le 7-O-(4"-féruloyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine et le 7-O- β -D-glucopyranosyl apigénine ont montré un fort effet cytotoxique contre les lignées cellulaires HeLa, à 75 μM après 24 heures avec un pourcentage de viabilité des cellules cancéreuses inférieur à 1% pour le 7-O- β -D-glucopyranosyl apigénine et 10% pour le 7-O-(4"-féruloyl)- β -D-glucopyranosylapigénine.

Mots clés: *Boswellia dalzielii*, *Echinops gracilis*, 7-O-(4"-féruloyl)- β -D-glucopyranosylapigénine, activité antibactérienne, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

ABSTRACT

The present work focuses on the chemical and biological investigation of Cameroonian medicinal plants *Boswellia dalzielii* (Burseraceae) and *Echinops gracilis* (Asteraceae), by searching for compounds that could combined various biological activities at once for an optimal therapeutical effect. This is in view of contributing to the fight against microbial infectious diseases. Thus, by means of various liquid phase chromatographic techniques such as Column Chromatography (CC), Thin Layer Chromatography (TLC) and Preparative Thin Layer Chromatography (Prep. TLC), seventeen compounds were isolated from methanol (MeOH), methylene chloride (CH₂Cl₂) and ethyl acetate (EtOAc) extracts from stem bark of *B. dalzielii*, roots and aerial parts of *E. gracilis*. These include five flavonoids (7-hydroxy-4'-methoxy-flavone-6-O-β-D-glucopyranosid), quercetin, apigenin-7-O-(4"-feruloyl)-β-D-glucopyranosid, apigenin-7-O-(4"-trans-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranosid, apigenin-7-O-β-D-glucopyranosid), four phenylpropanoids (Erythrinasinatate, Vogelate, ferulic acid, p-coumaric acid), two pentacyclic triterpenes (ursolic acid and oleanolic acid), two stilbenes (4'-methoxy-E-resveratrol-3-O-β-D-glucopyranosid and 4'-methoxy-(E)-resveratrol-3-O-(1-O-rhamnopyranosyl)-xylopyranoside), one steroid (β-sitostérol-3-O-β-D-glucopyranosid), two benzoic acid derivatives (methyl gallate and gallic acid), and one glucopyranosid (α-D-glucopyranosid). The structures of these compounds were determined by interpretation of their 1D (¹H, ¹³C, DEPT) and 2D (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) NMR data and in some cases by comparison of their data with those reported in literature or by comparative TLC with available authentic samples. Of the seventeen isolated compounds, one flavonoid apigenin-7-O-(4"-feruloyl)-β-D-glucopyranosid and one stilbene 4'-methoxy-(E)-resveratrol-3-O-(2"-O-rhamnopyranosyl)-xylopyranosid are reported herein for the first time. some other known compounds identified as erythrinasinatate, vogelate, ferulic acid, p-coumaric acid, ursolic acid, oleanolic acid, quercetin, apigenin-7-O-(4"-trans-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranosid and apigenin-7-O-glucopyranosid were isolated for the first time from *E. gracilis*. Some extract and isolated compounds were tested for their antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity. The results are as follows:

The new compound apigenin-7-O-(4"-feruloyl)-β-D-glucopyranosid isolated from aerial part of *E.gracilis* exhibited significant activity against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* with a minimum inhibition concentration (MIC) value of 31.25, 15.63 and 31.25 µg/mL respectively.

The EtOAc extract, the new compound apigenin-7-O-(4"-feruloyl)-β-D-glucopyranosid and apigenin-7-O-(4"-trans-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranosid, from aerial part of *E. gracilis*,

showed the ability to scavenge 2,2'-Azino-bis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) radical cation (ABTS), with scavenging concentration (SC₅₀) values of 13.59 ± 0.84 µg/mL, 108.25 ± 4.32 µg/mL, and 28.54 ± 2.18 µg/mL respectively

Ethyl acetate extract from roots of *E. gracilis* showed potent inhibitory activity against protein denaturation with an IC₅₀ value of 125.54 µg/mL. Erythrinasinatate and vogelate exhibited an anti-inflammatory activity with an IC₅₀ value of 469.43 and 413.71 µg/mL, respectively.

In view to cease the opportunity to determine selectivity index and anticancer activity, apigenin-7-*O*-β-*D*-glucopyranosid and apigenin-7-*O*-(4"-feruloyl)-β-*D*-glucopyranosid displayed a significant cytotoxic effect against cervical cancer cells HeLa at 75 µM after 24 hours with a viability percentage of cancer cells less than 1% for apigenin-7-*O*-β-*D*-glucopyranosid and less than 10% for apigenin-7-*O*-(4"-feruloyl)-β-*D*-glucopyranosid.

key words: *Echinops gracilis*, *Boswellia dalzielii*, apigenin-7-*O*-(4"-feruloyl)-β-*D*-glucopyranosid, anti-inflammatory activity, Antioxidant, Antibacterial activity.

INTRODUCTION GENERALE

Tout au long de son histoire, l'humanité a dû faire face à des flambées de maladies infectieuses d'origine microbienne qui sévissent de façon endémique et constituent de véritables urgences sanitaires avec des taux de mortalités importants. Faute de meilleures solutions, la réaction des Dirigeants a consisté à mettre les malades à l'écart de ceux qui étaient encore en bonne santé et attendre soit que l'épidémie touche à sa fin ou que des traitements adéquats soient trouvés (Porter, 1997). On peut citer la peste, la variole, le choléra..., la dernière en date est la Covid 19 qui a déjà fait de nombreuses victimes dans le monde. D'après le dernier rapport de l'OMS sur la pandémie, 2,5 millions de décès ont été enregistré en moins de 2 ans (WHO, 2021). Cette situation devient plus alarmante avec l'émergence de souches microbiennes mutantes, résistantes et même multirésistantes qui compromettent les thérapies à base de médicaments conventionnels. On parle de la résistance aux antimicrobiens (RAM) lorsque les bactéries, les parasites, les virus et les champignons deviennent résistants aux médicaments antimicrobiens utilisés pour traiter les infections qu'ils causent (WHO, 2015). Ainsi, le taux de résistance aux ciprofloxacines, un antibiotique fréquemment utilisé pour traiter les infections des voies urinaires, variait de 8,4 % à 92,9 % pour *Escherichia coli* et de 4,1 % à 79,4 % pour *Klebsiella pneumoniae*, dans les pays qui participent au Système mondial de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (GLASS). *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie intestinale commune pouvant provoquer des infections potentiellement mortelles. La résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques de dernier recours (les carbapénèmes) s'est propagée dans toutes les régions du monde. *K. pneumoniae* est une cause majeure d'infections nosocomiales : pneumonies, septicémies et infections des nouveau-nés et des patients en unité de soins intensifs. Dans certains pays, les carbapénèmes ne sont plus efficaces pour la moitié des patients traités pour des infections à *K. pneumoniae*, à cause de cette résistance. La résistance de *E. coli* aux fluoroquinolones utilisés pour traiter les infections des voies urinaires est largement répandue. Dans de nombreuses régions du monde, il y a des pays où ce traitement est désormais inefficace pour plus de la moitié des patients. La colistine est l'unique traitement de dernier recours pour des infections potentiellement mortelles dues à des entérobactéries (*E.coli*, *Klebsiella*, etc.) résistantes aux carbapénèmes. On a également détecté des bactéries résistantes à la colistine dans plusieurs pays et régions, à l'origine d'infections pour lesquelles il n'existe actuellement aucun antibiotique efficace (WHO, 2020). **L'humanité est donc sans cesse confrontée au problème de multiplication des maladies infectieuses d'origine microbienne et à la résistance aux**

antimicrobiens existants. Il est donc urgent et d'une priorité notoire, de trouver des contre-mesures pour faire face à cette situation.

Pour lutter efficacement contre l'invasion des maladies infectieuses d'origine microbienne, il serait judicieux de comprendre les différents modes d'infection des microorganismes. En effet, le pouvoir pathogène d'un microorganisme peut être transmis de trois manières. La première est la diffusion des toxines à distance de la porte d'entrée, on parle de toxi-infection simple. La deuxième résulte d'une inflammation au niveau de la porte d'entrée, on parle de colonisation et de toxi-infection ; la troisième résulte de la dissémination du microorganisme dans la porte d'entrée, on parle de colonisation puis d'invasion (Mims et al., 2001). Il en résulte de façon inéluctable que le pouvoir pathogène se transmet à travers une contamination de l'hôte par des toxines issue des agents pathogènes (Marc et al., 2001; Raynaud, 1973). Les toxines sont à l'origine des inflammations variées qui sont en réalité des réactions de l'organisme face à une agression. En effet, les toxines urémiques et les endotoxines sont des causes majeures du stress oxydatif qui a pour conséquence l'artériosclérose, la malnutrition et principalement les inflammations. Il en résulte que pour mieux éradiquer une maladie infectieuse d'origine microbienne, il faudrait agir aussi bien sur le microorganisme que sur les effets induits par les toxines qu'ils diffusent. Pour se faire, l'une des solutions réside sur l'action concertée et complémentaire de plusieurs principes actifs, c'est la synergie d'action ou sur l'action d'un seul principe actif cumulant plusieurs activités biologiques et agissant simultanément sur plusieurs étapes de la reproduction et du métabolisme des agents pathogènes: c'est le large spectre. De telles propriétés non seulement optimiseraient la qualité de la réponse thérapeutique mais aussi annuleraient la possibilité, pour les espèces microbiennes, de développer les mécanismes de résistance (Wichtl et al., 2003)

La médecine traditionnelle africaine avec l'usage des préparations médicamenteuses à base de plantes, fait déjà recours au principe de multiples activités concertées dans le but de rechercher l'optimisation de l'effet thérapeutique (Sansone, 2001), c'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés à *Boswellia dalzielii* et *Echinops gracilis*. Depuis des milliers d'années, on sait que les plantes sont des sources précieuses d'agents médicinaux ayant un potentiel avéré dans le traitement des maladies microbiennes et ayant des effets secondaires moindres par rapport aux médicaments synthétiques. En effet, on estime que les produits naturels sont impliqués dans le développement de 44% de toutes les nouvelles molécules médicamenteuses, principalement comme base pour l'obtention de dérivés semi-synthétiques (Hostettmann et al., 2000; Lahlou, 2013). L'apport des plantes médicinales, dans la lutte contre les maladies infectieuses, est de plus en plus remarquable lorsqu'on observe les analyses statistiques d'importation des pays développés. Pour l'année 2018 en France, l'importation des

plantes médicinales a représenté 44 000 tonnes pour un prix de 160 millions d'euros (FranceAgriMer, 2018).

Les préparations à base de plantes médicinales ont de multiple effets thérapeutiques. Les formulations en cause sont souvent le résultat de composition de plusieurs plantes médicinales ou des parties d'une même plante. En effet, les plantes médicinales, en raison de la diversité des structures chimiques qu'elles disposent, sont considérées comme des sources potentielles de nouvelles molécules biologiquement actives. Cependant, seulement 10 % de ces ressources ont fait l'objet d'investigations tant sur le plan chimique que sur le plan pharmacologique (Anthony et al., 2005). Une illustration parfaite de la puissance des plantes médicinales est le contraste des statistiques actuelles de mortalité due à la Covid 19, entre les pays Africains qui ont conservé leurs usages de plantes médicinales et les autres pays qui ont abandonné ces usages au profit des produits des industries pharmaceutiques.

La question de recherche est donc de savoir comment valoriser les usages traditionnels des plantes pour résoudre efficacement le problème des infections bactériennes ?

L'investigation des espèces non explorées constituerait donc sans aucun doute un espoir certain dans la découverte de nouvelles molécules d'intérêt biologique. De plus, le Cameroun dispose d'une flore importante de plus de huit mille espèces végétales dont l'exploitation devrait être mise à profit, dans la lutte contre ces différentes affections.

C'est la raison pour laquelle le Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, en collaboration avec d'autres Universités et Centres de recherche à travers le monde, a fait de la découverte de nouvelles molécules biologiquement actives, à partir des plantes médicinales, un axe important de sa recherche. C'est dans ce cadre que s'inscrit le présent travail de recherche portant sur **l'étude chimique de deux plantes médicinales camerounaises (*Boswellia dalzielii* Hutch. et *Echinops gracilis* O. Hoffm) et l'évaluation de l'activité biologique de quelques extraits et composés isolés.**

Le choix porté sur ces plantes s'est fait sur la base d'enquêtes ethnobotaniques et pharmacologiques, et aussi du fait que ces plantes sont largement utilisées en médecine traditionnelle d'autant plus que l'une d'elle n'avait encore fait l'objet d'aucune étude phytochimique.

L'objectif général de ce travail est donc de rechercher les agents anti bactériens, antioxydants, anti inflammatoires et cytotoxique afin de contribuer efficacement à la lutte contre les maladies bactériennes et la résistance aux antibactériens.

Il s'agira plus **spécifiquement de :**

- **Extraire, fractionner, Isoler et caractériser les métabolites secondaires des plantes étudiés ;**
- **Procéder aux tests biologiques antibactériens, antioxydants, antiinflammatoires et cytotoxique de quelques extraits et composés obtenus.**

Le plan de notre travail s'articulera autour de trois chapitres.

Le premier chapitre sera consacré à la revue de la littérature.

Le deuxième chapitre aura trait aux résultats et discussions concernant nos travaux.

Le troisième chapitre, concernera la partie expérimentale.

CHAPITRE I. REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. REVUE SUR BOSWELLIA DALZIELII

I.1.1. Aperçu botanique

I.1.1.1. Classification systématique de *Boswellia dalzielii*

Boswellia dalzielii Hutch ou arbre à encens, est un arbre de savane reconnaissable à son écorce de papier qui se décolle d'une manière irrégulière. L'écorce donne une gomme de résine blanchâtre qui sèche facilement et est friable. Les produits végétaux (tels que la gomme de résine) et les différentes parties de la plante sont largement utilisés en médecine traditionnelle. La Figure 1 montre la systématique de *Boswellia dalzielii* (Dalziel, 1910)

Règne : Plantae

Embranchement : Tracheophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : Burseraceae

Genre : *Boswellia*

Espèce : *dalzielii*

Figure 1 : Systématique de *Boswellia dalzielii* Hutch

I.1.1.2. La famille des Burseraceae

Les Burseraceae sont une famille de l'ordre des Sapindales. C'est une famille de taille moyenne de 17 à 19 genres et environ 540 espèces de plantes à fleurs. Les nombres réels diffèrent en fonction de la période de temps où une source donnée est écrite décrivant cette famille. Elles sont également connues sous le nom de famille de bois de torche (torchwood) (Dimmitt, 2016), d'encens et de myrrhe, ou simplement la famille d'arbre d'encens. La famille comprend à la fois des arbres et des arbustes, et est originaire des régions tropicales d'Afrique, d'Asie et des Amériques.

Les arbres ou arbustes des Burseraceae sont caractérisés par des résines qui sont présentes dans le tissu végétal à partir des canaux de résine verticaux et des canaux dans l'écorce jusqu'aux nervures des feuilles (Harley et al., 2005; Stevens, 2017; Takhtajan, 1997). Les résines claires et non allergènes peuvent sentir comme des amandes, mais au moins les résines les plus connues, l'encens et la myrrhe, ont une odeur distincte des amandes, sentant l'encens.

Les feuilles sont généralement alternes, spiralées et étrangement pennées avec des feuillettes opposés, souvent longs, pétiolés, entiers dentelés, à nervures pennées dont la symétrie est distinctive dans certains genres (Judd et al., 2008; Stevens, 2017). Cependant, certains membres sont connus pour avoir des feuilles trifoliées ou unifoliées (Judd et al., 2008; Stevens, 2017). Les tiges et l'axe des feuilles et des folioles peuvent être brunes et boursouflées, tandis

que la base des feuilles est enflée et peut être concave adaxialement (Stevens, 2017). Les membres de la famille ont tendance à être sans stipules.

Les inflorescences axillaires déterminées portent de petites fleurs radiales et unisexuées. Les plantes ont tendance à être dioïques. Les fleurs peuvent avoir quatre ou cinq sépales légèrement imbriqués avec un nombre égal de pétales distincts et imbriqués (Judd et al., 2008; Kallunki et al., 1994). De plus, les étamines, qui peuvent contenir des disques de nectar, ont des filaments glabres distincts qui se forment en un ou deux tourbillons et en nombre égal ou double au nombre de pétales; le pollen tricolporate est contenu dans deux locules des anthères qui s'ouvrent longitudinalement le long des fentes. Le gynécée contient de 3 à 5 carpelles, un style et un stigmate qui ressemble à une tête à lobe. Chaque locule de l'ovaire supérieur a deux ovules avec placentation axillaire qui sont anatropes à campylotropes.

Le fruit d'un à cinq noyaux est une drupe qui s'ouvre à maturité. L'endosperme manque habituellement dans l'embryon (Judd et al., 2008).

Ci-dessous la liste des 19 genres de Burseraceae classés en tribu et sous-tribu (le cas échéant) (Weeks et al., 2005):

Tribus :	<i>Bursereae</i>	<i>Bursereae</i>	<i>Canarieae</i>	<i>Protieae</i>
Sous-tribus :	<i>Burserinae</i>	<i>Boswelliinae</i>		
			<i>Ambilobea</i>	
			<i>Canarium</i>	
		<i>Aucoumea</i>	<i>Dacryodes</i>	
		<i>Beiselia</i>	<i>Haplolobus</i>	
Genre :	<i>Bursera</i>	<i>Boswellia</i> (encens)	<i>Pseudodacryodes</i>	<i>Crepidospermum</i>
	<i>Commiphora</i> (myrrhe)	<i>Triomma</i>	<i>Rosselia</i>	<i>Protium</i> (copal)
			<i>Santiria</i>	<i>Tetragastris</i>
			<i>Scutinanthe</i>	
			<i>Trattinnickia</i>	

I.1.1.3. Aperçu sur le genre *Boswellia*

Boswellia est un genre d'arbres de l'ordre des Sapindales, connu pour sa résine odorante qui a de nombreux usages pharmacologiques, surtout en tant qu'anti-inflammatoires. L'encens biblique était un extrait de la résine de l'arbre *Boswellia sacra*, et est maintenant produit également à partir de *B. frereana* (Tucker, 1986). Il y a quatre principales espèces de *Boswellia* qui produisent de vrais encens. *B. sacra* (synonymes *B. carteri* et *B. bhaw-dajiana*), *B. frereana*, *B. papyrifera* et *B. serrata* (Tucker, 1986), et chaque type de résine est disponible en différentes qualités. Les grades dépendent du moment de la récolte, et la résine est triée à la main pour la qualité.

Le genre *Boswellia* comprend 25 espèces dont la distribution est principalement associée aux tropiques (Tableau 1). Ces espèces sont largement réparties en Inde (*Boswellia*

serrata), dans la péninsule arabique (*Boswellia sacra*), en Afrique du Nord, en Somalie (*Boswellia carterii* et *Boswellia frereana*), en Ethiopie (*Boswellia papyrifera* et *Boswellia riviae*) et en Erythrée (*Boswellia neglecta*) (Abdel-Tawab et al., 2011; Assefa et al., 2012; Baser et al., 2003).

Tableau 1 : *Boswellia* spp. et leurs pays d'origine

Boswellia spp.	Pays d'origine
<i>B. serrata</i> (syn. <i>thurifera</i>) Roxb. ex. Colebr.	Inde
<i>B. ovalifoliolata</i> Bal.& Henry	Inde
<i>B. papyrifera</i> (Delile ex. Caill.) Hochst.	Niger, République Centrafricaine, Cameroun, Ethiopie, Soudan, Ouganda
<i>B. socotrana</i> Balf.f	Socotra (Yémen)
<i>B. carteri</i> Birdw.	Somalie du Nord, Ethiopie, Soudan, Erythrée
<i>B. bhau-dajiana</i> Birdw.	Somalie
<i>B. microphyllia</i> Chiovenda	Somalie
<i>B. multifoliata</i>	Somalie
<i>B. riviae</i> Engler	Somalie
<i>B. sacra</i> Flueck.	Yémen du Sud, Oman
<i>B. frereana</i> Birdw.	Nord de la Somalie
<i>B. odorata</i>	Nigeria, Niger, Cameroun
<i>B. popoviana</i> Hepper	Socotra (Yémen)
<i>B. nana</i> Hepper	Socotra (Yémen)
<i>B. pirottae</i> Chiov.	Ethiopie
<i>B. ogadensis</i> Vollesen	Ethiopie
<i>B. neglecta</i> S. Moore	Ethiopie, Kenya, Tanzanie, Ouganda
<i>B. elongata</i> Balf.f	Socotra (Yémen)
<i>B. dioscorides</i> Thul. & Gifri	Socotra (Yémen)
<i>B. dalzielii</i> Hutch.	Afrique tropicale
<i>B. bullata</i> Thul. & Gifri	Socotra (Yémen)
<i>B. ameero</i> Balf.	Socotra (Yémen)

I.1.1.4. Description botanique et répartition géographique de l'espèce

Boswellia dalzielii

Boswellia dalzielii Hutch est une espèce décidue de savanes boisées et arbustives. Il s'agit d'un arbre moyen atteignant 20 m de haut et 70 cm de diamètre. Sa cime est arrondie ou ombelliforme, à feuillage léger et assez dense. Ses branches sont obliquement étalées, ramifiées et régulières. Le fût est droit ou légèrement irrégulier et empâté à la base. Son écorce est lisse avec une coloration verdâtre, jaunâtre à orangée violacée à grosses lenticelles brunes bien dispersées, à écailles typiquement papyracées, s'exfoliant en larges feuilles lamellaires très minces exposant la nouvelle écorce verdâtre. La tranche de l'écorce épaisse de 2 à 3 cm est brun rougeâtre, à couche verte sous rhytidome, fibro-granuleuse, tendre laissant couler un exsudat résineux, blanchâtre, visqueux et tardif, à odeur de térébenthine (Figure 2). Les feuilles sont imparipennées, rassemblées à l'extrémité des rameaux. Le rachis méplat est glabre, à nœud d'intersection des folioles bien distinctes avec six à huit paires de folioles opposées, subsessiles à pétiolées, plus une terminale. Le limbe ové-lancéolé à elliptique-lancéolé est acuminé-cuspidé à l'apex, asymétrique-obtus à tronqué à la base, à bord crénelés à serrulés, vert foncé et glabre en dessus, vert jaunâtre et glabre en dessous (Figure 2) (Ouedraogo et al., 2005). Les nervures primaires et secondaires sont saillantes en dessous et camptodromes. Les fleurs en racèmes terminaux sont petites, blanches veinées de rouge, très fragrances. Les fruits sous forme de capsules oblancéolées, coriaces, s'ouvrent en trois valves, glabres ; contenant plusieurs graines trigonales entourées d'ailes papyracées (Geerling, 1982; Letouzey, 1982; Onana, 1998).



(b)

(c)

Figure 2 : Arbre (a) Ecorces du tronc (b) et Fruits et graines (c) de *B. dalzielii*

On trouve abondamment *Boswellia dalzielii* en Afrique de l'Ouest dans des pays tels que le Ghana, Togo, Burkina Faso, le Niger, la Côte d'Ivoire, la Haute-Volta et la partie nord du Nigeria et en Afrique centrale au Cameroun et en République Centrafricaine (Figure 3) (Nazifi et al., 2017; Uzama et al., 2015).

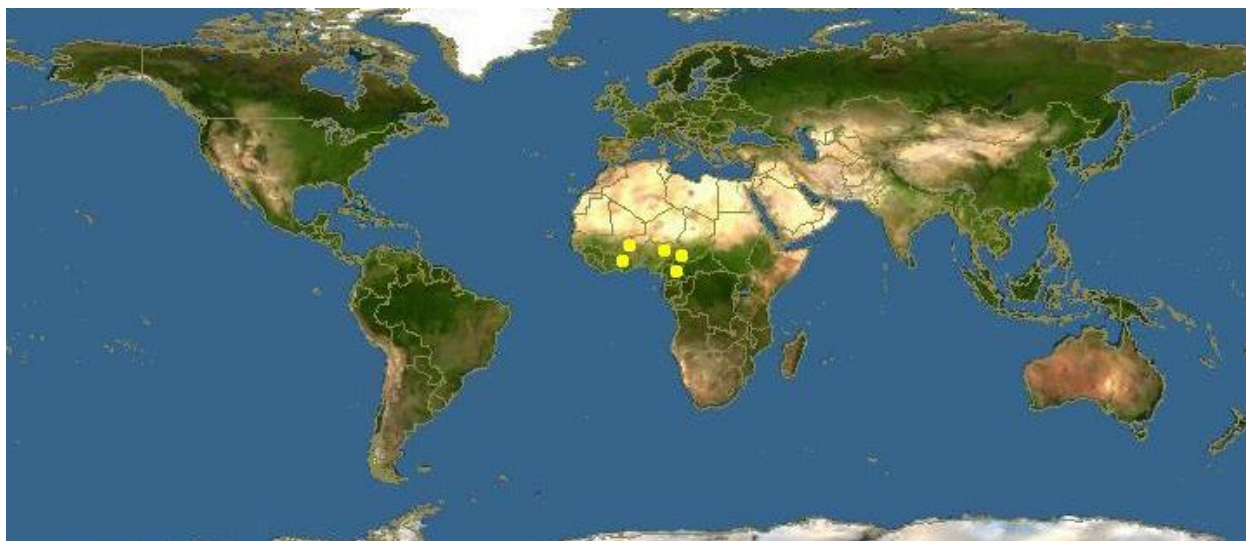


Figure 3 : Régions d'identification de l'espèce *Boswellia dalzielii*

I.1.2. Usage et travaux pharmacologiques antérieurs sur *Boswellia dalzielii*

Les produits végétaux (tels que la gomme de résine) et les différentes parties de la plante sont largement utilisés en médecine traditionnelle mais l'écorce du tronc demeure la partie la plus utilisée en pharmacopée (voir tableaux ci-dessous).

Tableau 2 : Quelques usages traditionnels de *Boswellia dalzielii*

Partie	Utilisation	Région
Ecorce	Sa décoction est bue contre la dysenterie, les hémorroïdes, l'angine. Elle est également employée contre les rhumatismes, les troubles gastro-intestinaux, les plaies, l'asthme, la pleurésie, l'appendicite Séchée puis écrasée, l'écorce est utilisée en association avec d'autres plantes pour traiter le paludisme, la fièvre jaune, les maux de ventre et de nombreuses maladies infantiles (Nacoulma-Ouedraogo, 1976).	Nigéria
	Elle a des propriétés antiseptiques, cicatrisantes, antimycosiques, coricides et sert, en usage externe, à soigner les dartres, ulcères et caries dentaires (Nacoulma-Ouedraogo, 1976). L'écorce associée aux gousses d' <i>Acacia arabica</i> est utilisée pour préserver les cadavres dans certaines tribus nigérianes. Elle est	Cameroun

	également utilisée en combinaison avec <i>Hibiscus sabdariffa</i> pour traiter la syphilis (Burkill, 1985; Dalziel, 1973).	
Gomme de résine	Elle est brûlée pour fumiger le tissu et chasser les mouches, les moustiques, etc. des domiciles (Dalziel, 1973). Elle est également utilisée avec d'autres plantes comme stomachique et pour le traitement des maladies vénériennes.	Cameroun
Racines	La décoction associée à <i>Hibiscus sabdariffa</i> est utilisée pour le traitement de la syphilis. La décoction de racine avec <i>Daniellia oliveri</i> est utilisée sur les plaies (Dalziel, 1973).	Cameroun
Feuilles	Utilisées pour protéger le maïs, le mil et le sorgho du charançon (Ngamo et al., 2007).	Cameroun

Tableau 3 : Quelques activités biologiques de *Boswellia dalzielii*

Partie	Utilisation
Ecorces	<p>L'extrait aqueux a démontré des activités antibactériennes contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Olukemi et al., 2005), anti-inflammatoire, antidiarrhéique pouvant être lié au mécanisme anticholinergique (Etuk et al., 2006), antiulcéreuse et une réduction de la motilité gastro-intestinale (Nwinyi et al., 2004).</p> <p>Opeyemi et al. (2013) ont montré que l'extrait aqueux de l'écorce de <i>Boswellia dalzielii</i> peut être utilisé dans le traitement du diabète sucré et que l'extrait de plante est efficace aux deux doses administrées (153 mg/kg et 297 mg/kg).</p> <p>Onoriose et al., (2012) ont rapporté que l'extrait méthanolique de <i>B. dalzielii</i> Hutch pouvait atténuer l'action toxique du CCl₄ dans le foie du rat.</p> <p>Les résultats des travaux de Mohammed (2017) ont montré que l'extrait brut méthanolique de l'écorce de <i>Boswellia dalzielii</i> possède une activité contre <i>Mycobacterium tuberculosis</i> à 0,625 mg /mL et constitue une source potentielle de développement de composés contre la tuberculose mycobactérienne.</p>
Feuilles	Son huile essentielle présente une activité significative contre <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Candida albicans</i> (Nwinyi et al., 2004).

Onobrudu et al (2016) ont rapporté que l'extrait de feuilles de *B. dalzielii* Hutch est un antioxydant potentiel modulateur pour le développement de la formulation anti-cataracte.

Atawodi (2005) indiquait que les extraits méthanoliques des feuilles écorces et racines de *B. dalzielii* avaient activité antitrypanosomiale *in vitro*.

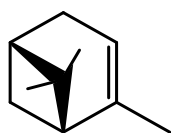
I.1.3. Travaux chimiques antérieurs

De nombreux composés ont été isolés de plusieurs espèces de *Boswellia*. La composition chimique des différentes parties de *Boswellia* varie d'une espèce à l'autre, et diffère selon le climat, les conditions de récolte et la localisation géographique (Al-Harrasi et al., 2008; Ammon, 2006). Les études chimiques effectuées sur le genre *Boswellia* l'ont été pour la plupart sur l'encens qui est une oléo-gomme-résine exsudée par les espèces appartenant au genre *Boswellia*. Cet encens contient 60-85% de résines (mélanges de terpènes), 6-30% de gommes (mélange de polysaccharides) et 5-9% d'huile essentielle (Rijkers et al., 2006). La portion de résine est composée de triterpènes pentacycliques dont l'acide boswellique. La portion de gomme se compose de sucre de pentose et d'hexose avec quelques enzymes oxydantes et digestives. L'huile essentielle est le mélange de monoterpènes, de diterpènes et (Rijkers et al., 2006) de sesquiterpènes (Goyal et al., 2011).

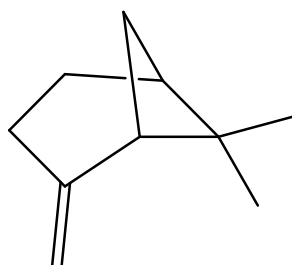
I.1.3.1. Les terpènes

Des études menées par Pardhy et Bhattacharyya (1978) et Siddiqui (2011) sur la partie résineuse de *Boswellia serrata*, Proietti et al. (1981), sur l'encens produit par *B. frereana*, Dekebo et al. (2002) sur l'encens *B. neglecta*, Renuchib et al. (2014) sur la résine de *B. ovalifoliolata* ont conduit à l'isolement des terpènes tels que:

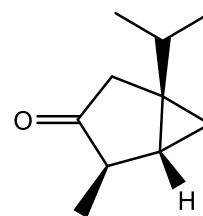
- les monoterpènes (α et β -pinène (**1 et 2**), α -thujone (**3**)) (Figure 4) ;



1: α -pinène



2: β -Pinène



3: α -thujone

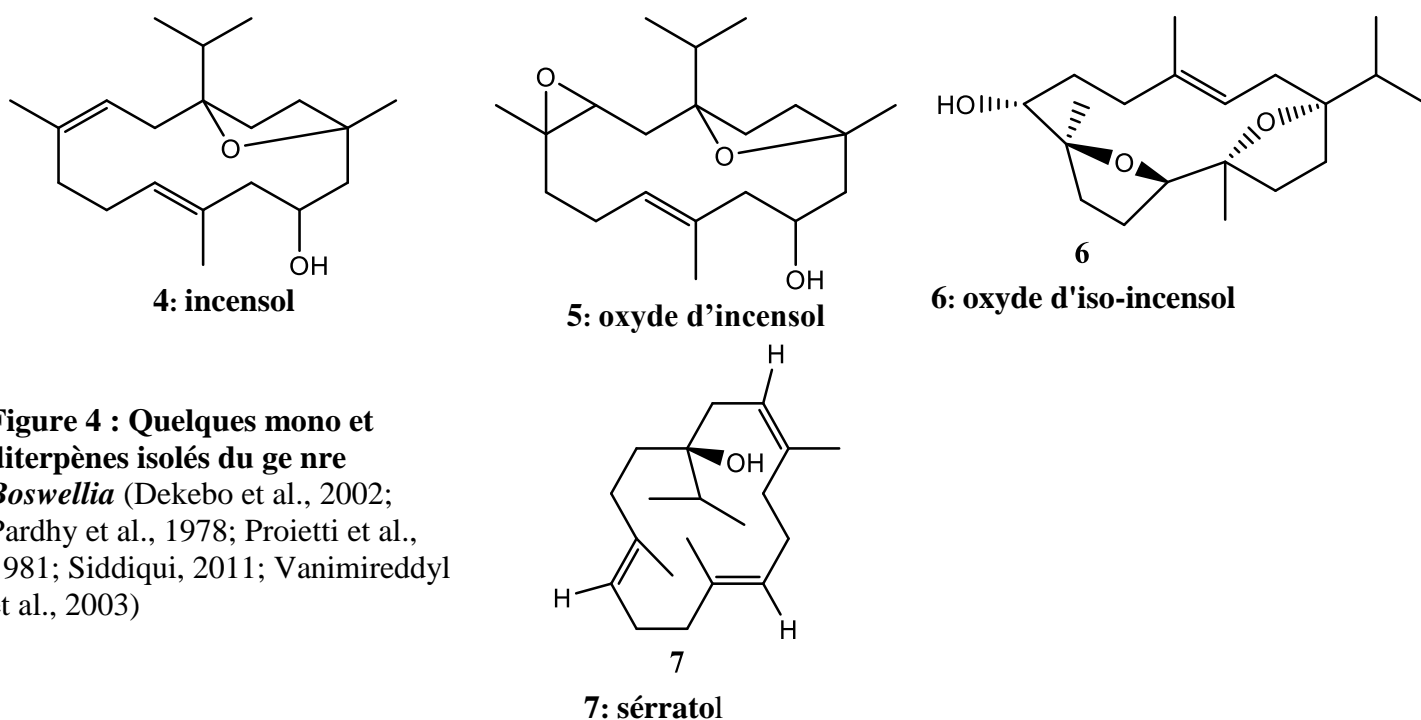


Figure 4 : Quelques mono et diterpènes isolés du genre *Boswellia* (Dekebo et al., 2002; Pardhy et al., 1978; Proietti et al., 1981; Siddiqui, 2011; Vanimireddy et al., 2003)

- les triterpènes (ovalifoliolatine A (**8**) et B (**9**), les α - et β -amyrines (**13** et **14**), le lupéol (**10**) et l'epi-lupéol (**11**), l'acide canarique (**12**) (Figure 5);
- les acides triterpéniques pentacycliques (acides boswelliques) (Figure 7);
- les acides triterpéniques tétracycliques (acide 3-cétotirucall-8,24-dièn-21-oïque (**15**), acide 3- α -hydroxytirucall-8,24-dièn-21-oïque (**16**), acide 3- β -hydroxytirucall-8,24-dièn-21-oïque (**17**), acide 3- α -acétoxytirucall-8,24-dièn-21-oïque (**18**) (Figure 6) (Dekebo et al., 2002; Pardhy et al., 1978; Proietti et al., 1981; Siddiqui, 2011; Vanimireddy et al., 2003).

L'activité biologique la plus significative parmi les terpènes est attribuée aux acides boswelliques. Les quatre principaux acides boswelliques trouvés dans l'encens sont: l'acide β -boswellique (BA) (**19**), l'acide acétyl- β -boswellique (ABA) (**20**), l'acide 11-céto- β -boswellique (KBA) (**21**) et l'acide 3-*O*-acétyl-11-céto- β -boswellique (AKBA) (**22**) possédant une activité inhibitrice des enzymes pro-inflammatoires. Parmi ces quatre acides boswelliques, l'acide acétyl-11-céto- β boswellique (AKBA) (**22**) est l'inhibiteur le plus important d'une enzyme appelée 5-lipoxygénase responsable de l'inflammation (Siddiqui, 2011). L'AKBA s'est avérée efficace contre un grand nombre de maladies inflammatoires telles que l'arthrite, l'asthme bronchique, la colite chronique, la colite ulcéreuse, la maladie de Crohn et le cancer. Les acides boswelliques ont un effet antiprolifératif sur les tumeurs. Ils inhibent la prolifération des cellules tumorales du sous-ensemble des leucémies et des glioblastomes. Ils ont un effet antitumoral puisqu'ils inhibent la topoisomérase I et II- α et stimulent la mort cellulaire programmée (apoptose) (Hartmann et al., 2014; Siddiqui, 2011) (Tableau 4).

Chez *B. carterii* également, une activité antibactérienne a été démontrée par l'acide acétyl-céto-boswellique (AKBA) (22), l' α - et le β -BA (23 et 19) et l'acide 3-oxo-tirucallique (24) (Baser et al., 2003).

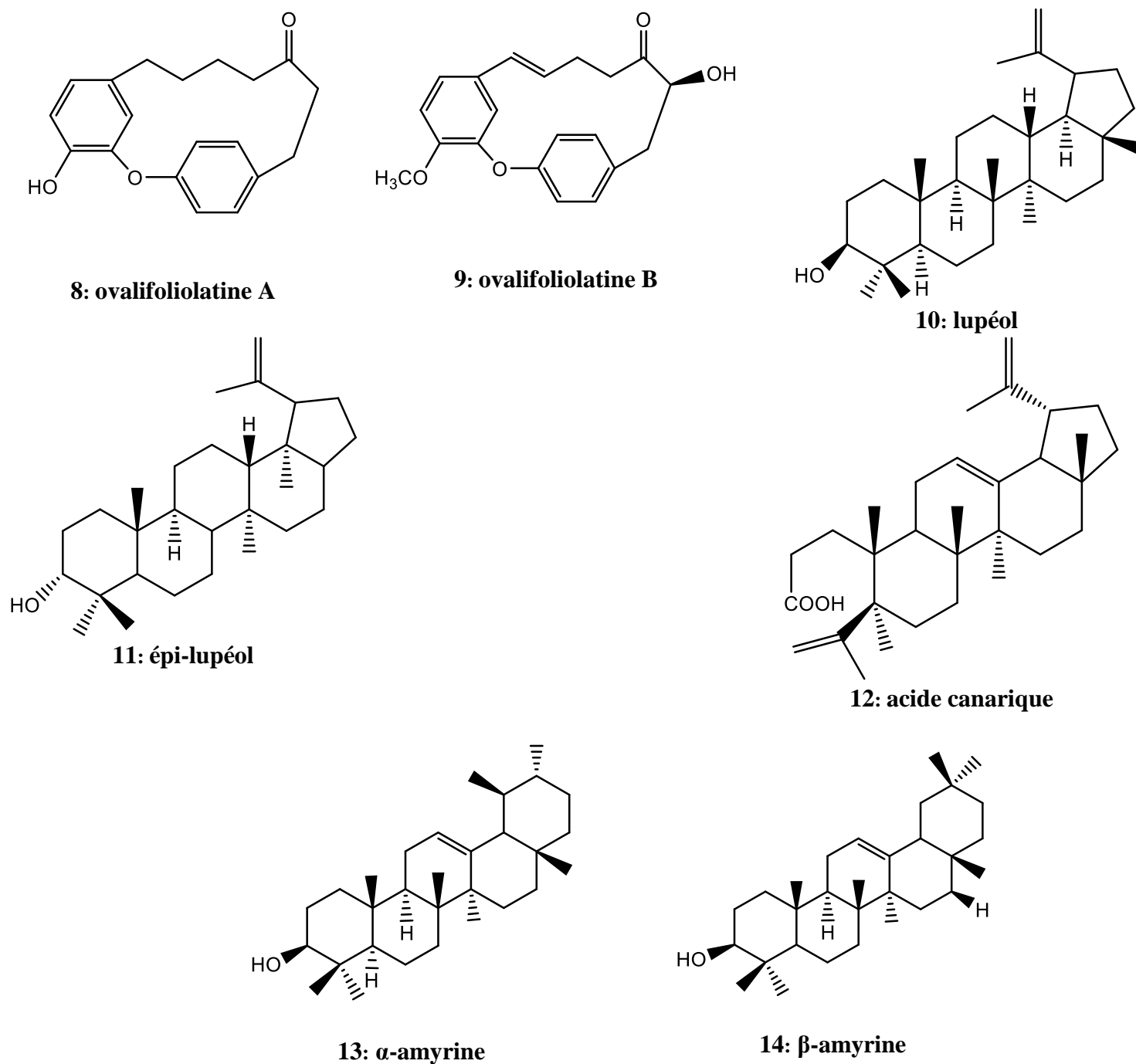
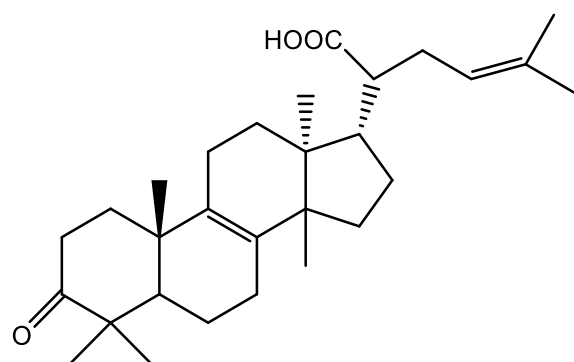
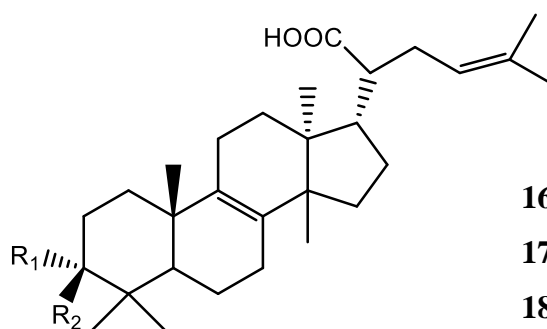


Figure 5 : Quelques triterpènes isolés du genre *Boswellia* (Dekebo et al., 2002; Pardhy et al., 1978; Proietti et al., 1981; Siddiqui, 2011; Vanimireddy et al., 2003).



15: acide 3-cétotirucall-8,24-dièn-21-oïque



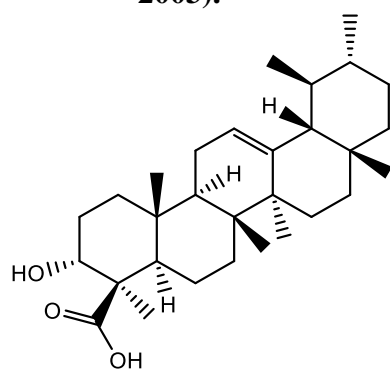
16: acide 3- α -hydroxytirucall-8,24-dièn-21-oïque
 17: acide 3- β -hydroxytirucall-8,24-dièn-21-oïque
 18: acide 3- α -acétoxytirucall-8,24-dièn-21-oïque

16 $R_1=OH$; $R_2=H$

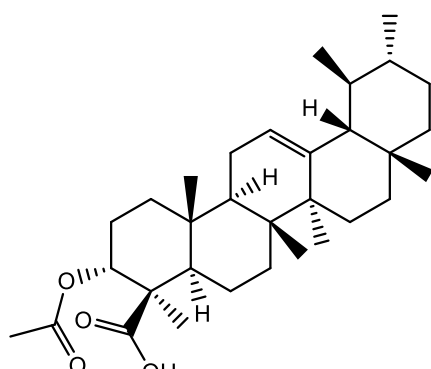
17 $R_1=H$; $R_2=OH$

18 $R_1=OAc$; $R_2=H$

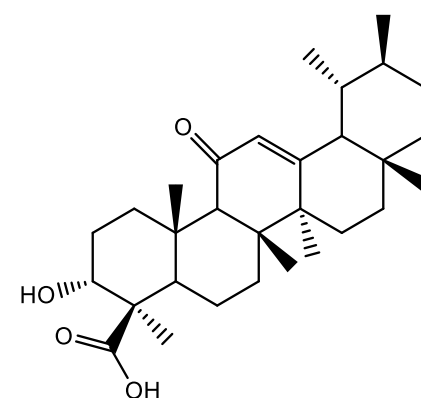
Figure 6 : Quelques acides tétracycliques triterpéniques isolés du genre *Boswellia* (Dekebo et al., 2002; Pardhy et al., 1978; Proietti et al., 1981; Siddiqui, 2011; Vanimireddy et al., 2003).



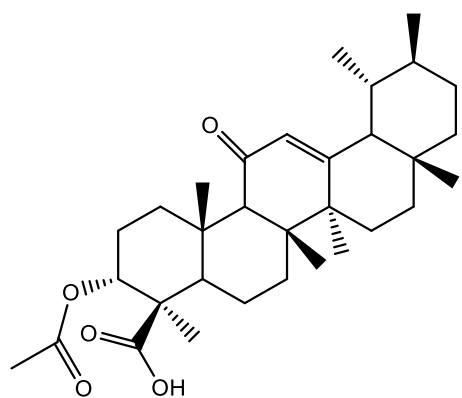
19: acide β -boswellique (BA)



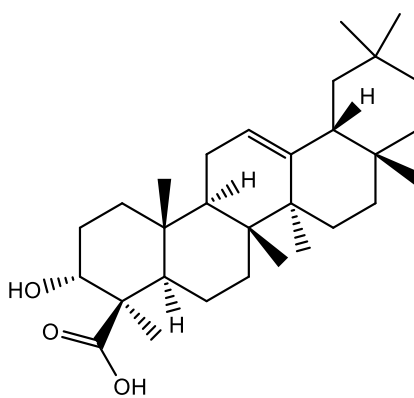
20: acide acétyl- β -boswellique (ABA)



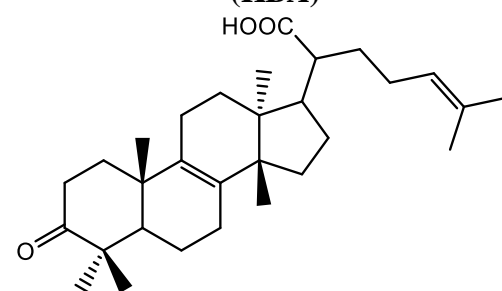
21: acide 11-céto- β -boswellique (KBA)



22: acide 3-O-acétyl-11-céto- β -boswellique (AKBA)



23: acide α -boswellique (BA)



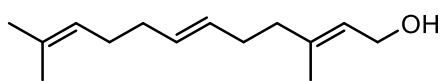
24: acide 3-oxo-tirucallique

Figure 7 : Principaux acides pentacycliques triterpéniques issus de *Boswellia* (Hartmann et al., 2014; Siddiqui, 2011)

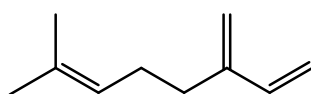
Tableau 4 : Quelques composés issus du genre *Boswellia* et leurs activités biologiques (Hartmann et al., 2014; Siddiqui, 2011) (Perez et al., 2011)

Espèce	Partie	Composés identifiés	Activité
<i>B. ovalifoliolata</i>	Feuille	Spathulénol (29), caryophyllène (33), carvéol (30), myrténol (31), manool (32)	Anti-inflammatoire

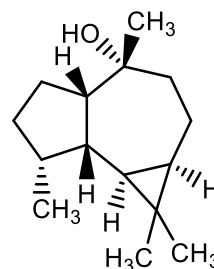
	Ecorce	β -Farnésène (35), oxyde de caryophyllène (34), spathuléol (29), (2Z,6E)-farnésol (25), myrténol (31)	Anti-inflammatoire
<i>B. ovalifoliolata</i> (Prasanna et al., 2015)	Oleo-gomme résine	Caryophyllène (33), α -pinène (1), β -myrcène (26), lédol (27)	Antioxydant, antimicrobien
	Ecorce	β -Myrcène (26), caryophyllène (33), cyclofenchène (28), cedr-8-ène (41)	Antioxydant, antimicrobien
	Feuille	α -Pinène (1), β -pinène (2), α -terpinéol (36), caryophyllène (33)	Antioxydant, antimicrobien
<i>B. rivae</i>	Résine	Limonène (37)	Antioxydant, antimicrobien
<i>B. ameero</i>	Résine	1-(2,4-diméthylphényl)éthanol (42), 3,4-diméthylstyrene (43), α -terpinéol (36)	Antioxydant anticholinestérase
<i>B. carterii</i>	Oleo-gomme résine	Isoincensole (44), acétate d'isoincensole (44) Limonène (37) Acides boswelliques	Antifongique Antioxydant Anticancéreux
<i>B. dioscorides</i>	Ecorce	α -Thujène, α -pinène (1)	Antimicrobien, Antioxydant
<i>B. elongate</i>	Résine	Caryophyllène (33), cycloundécane carboxylate de méthyle (45)	Antioxydant, Anticholinestérase
	Ecorce	Incensole (4)	Antimicrobien, Antioxydant
<i>B. papyrifera</i>	Oleo-gomme résine	Isoincensole (44), acétate d'isoincensole (44), n-octyl acétate (38)	Antifongique
<i>B. pirotta</i>	Résine	Trans-verbénol (46), terpinène-4-ol (39)	
<i>B. rivae</i> Engler	Oleo-gomme résine	Hydrocarbure, monoterpènes oxygenés	Contre <i>Candida albicans</i>
<i>B. sacra</i>	Résine	Acides boswelliques	Anticancéreux
	Résine	α -Pinène (1)	Antibactérien
<i>B. socotrana</i> Balf. f.	Résine	(3E,5E)-2,6-diméthyl-octa-1,3,5,7-tétraène (48), 1-(2,4-diméthylphényl)éthanol (47), α -campholénal (49), α -terpinéol (36)	Antioxydant, anticholinestérase
	Ecorces	<i>p</i> -cymène (40), 2-hydroxy-5-méthoxyacétophénone (50), camphre (51), (Figure 8)	Antimicrobien, Antioxydant



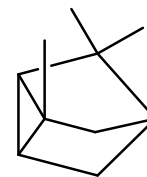
25: (2Z,6E)-farnésol



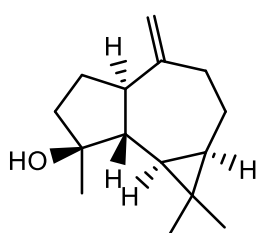
26: β -myrcène



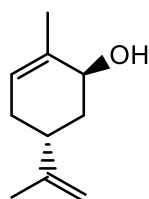
27: lédol



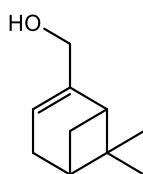
28: cyclofenchène



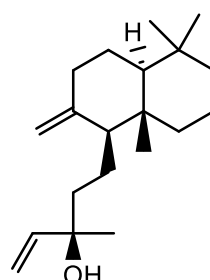
29: Spathuléol



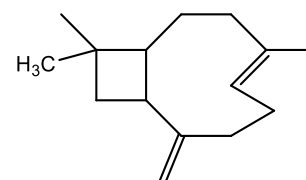
30: carvéol



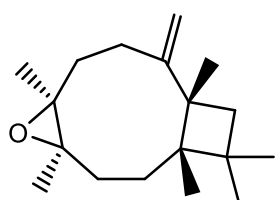
31: myrténol



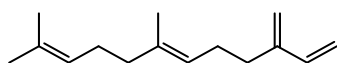
32: manool



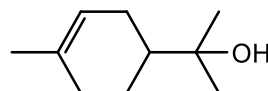
33: β -caryophyllène



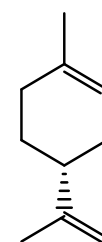
34: oxyde de caryophyllène



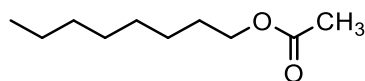
35: (E)- β -farnesène



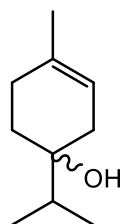
36: Terpinéol



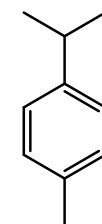
37: limonène



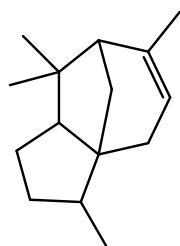
38: acétate d'octyle



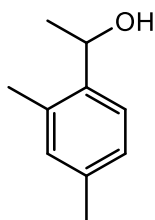
39: terpinène-4-ol



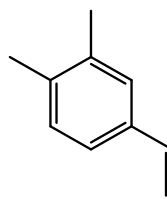
40: p-cymène



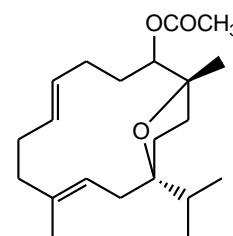
41: cedr-8-ène



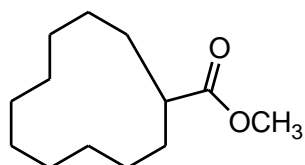
42: -(2,4-dimethylphenyl) ethanol



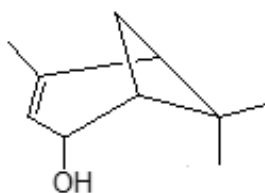
43: 3,4-dimethylstyrene



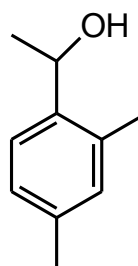
44: acétate 'isoincensole



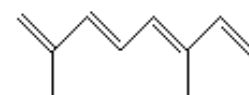
45: cycloundécane carboxylate de méthyle



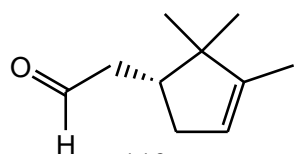
46: Trans-verbénol



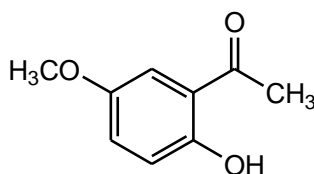
47: 1-(2,4-diméthylphényl) éthanol



48: (3E,5E)-2,6-diméthyl-octa-1,3,5,7-tetraène



49: α-campholénal



50: 2-hydroxy-5-méthoxy-acétophénone

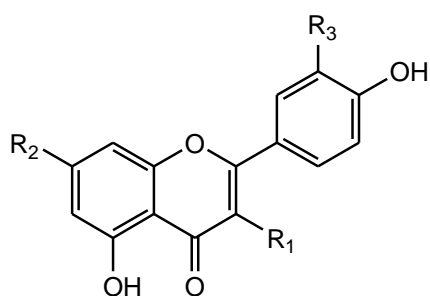


51: camphre

Figure 8 : Structures de quelques composés issus du genre *Boswellia*

I.1.3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement présents dans toutes les plantes. Ils donnent des couleurs aux fleurs comme la pigmentation jaune, bleu / rouge aux pétales qui attirent les animaux pour la pollinisation. Comme flavonoïdes isolés de l'écorce de *B. ovalifoliolata* nous avons la quercétine (53), la rutine (54), la lutéoline (52), et la vitexine (55) (Savithramma et al., 2010).

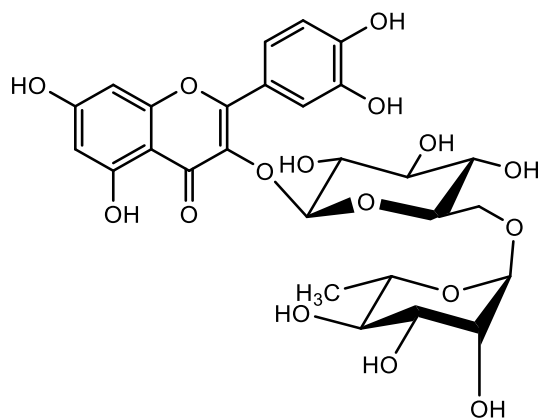


52: lutéoline :

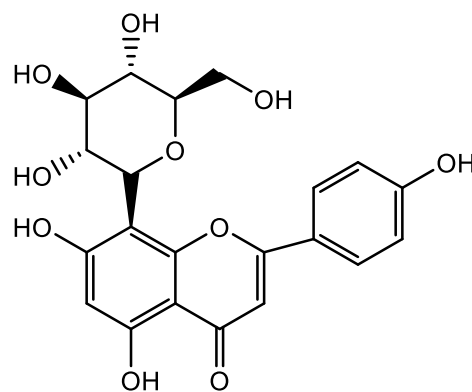
R1= H ; R2= OH ; R3= OH

53: quercétine :

R1= OH ; R2= OH ; R3= OH



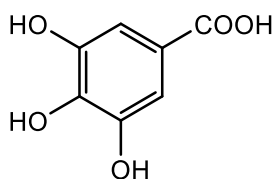
54: rutin



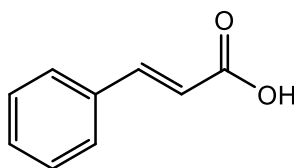
55: vitexine

I.1.3.3. Les acides phénoliques

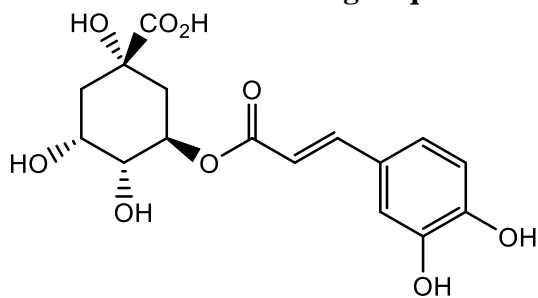
Des phénols comme l'acide gallique (**56**), l'acide cinnamique (**57**), l'acide chlorogénique (**58**), l'acide gentsique (**59**), l'acide phlorétique (**60**), l'acide vanillique (**61**), l'acide méliotique (**62**) et l'acide salicylique (**63**) sont communs aux parties (écorce et gomme) de *B. ovalifoliolata* (Savithramma et al., 2010).



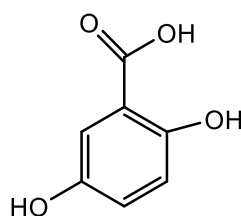
56: acide gallique



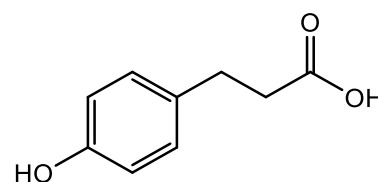
57: acide cinnamique



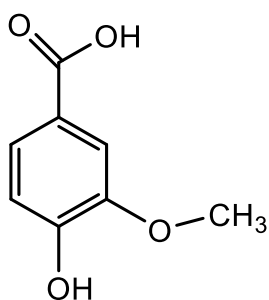
58: acide chlorogénique



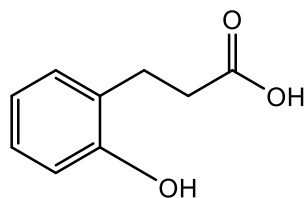
59: acide gentsique



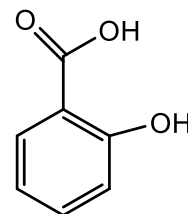
60: acide phlorétique



61: acide vanillique



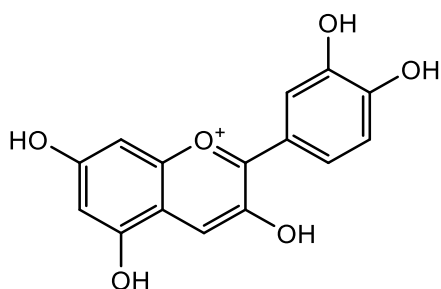
62: acide méliotique



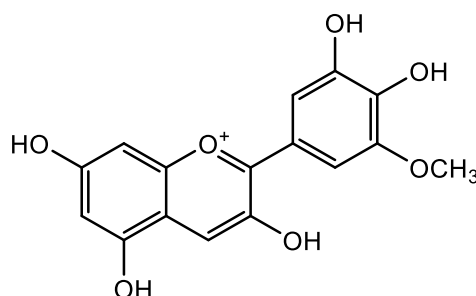
63: acide salicylique

I.1.3.4. Les anthocyanidines

La cyanidine (**64**) et la pétunidine (**65**) ont été trouvées dans l'écorce de tige de *B. ovalifoliolata* (Savithramma et al., 2010).



64: cyanidine

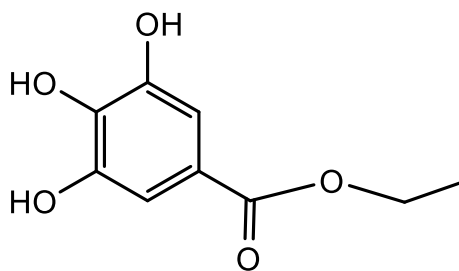


65: pétunidine

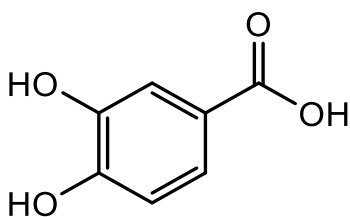
Boswellia dalzielii étant une espèce très prisée par les populations locales pour ses vertus thérapeutiques, a fait l'objet de trois études phytochimiques. Les deux premières, effectuées sur ses écorces, en 2001 et 2006 ont permis d'isoler quelques composés de la classe des terpénoïdes, phénols et polyphénols. La Troisième étude, a été réalisée à l'aide de la Chromatographie Gazeuse couplée au Spectre de Masse (CG-SM) sur les feuilles en 2017 par Onobrudu (2017), sur l'évaluation quantitative de ses constituants chimiques.

I.1.3.5. Les autres composés phénoliques

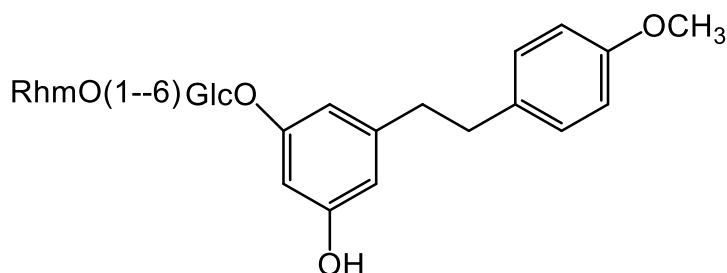
Quelques composés phénoliques ont été isolés, par Alemika et al. (2001, 2006), des écorces de *Boswellia dalzielii* à savoir l'acide gallique (**56**), le gallate d'éthyle (**66**), l'acide protocatéchique (**67**) et le 4'-methoxy-(*E*)-resvératrol 3-*O*-rutinoside (**68**).



66: gallate d'éthyle

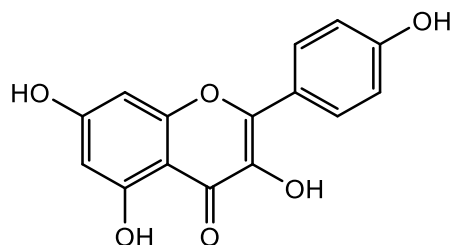


67: acide protocatéchique

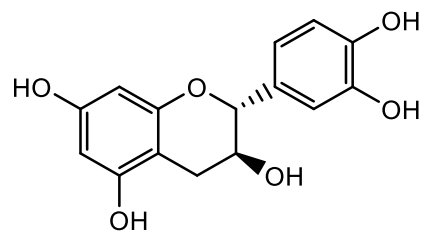


68: 4'-methoxy-(*E*)-resvératrol 3-*O*-rutinoside

L'analyse des constituants polyphénoliques de l'extrait méthanolique des feuilles de *Boswellia dalzielii* réalisée par Onobrudu (2017), a permis d'identifier entre autres composés l'acide protocatéchique (**67**), la catéchine (**70**), la quercétine (**53**), la lutéoline (**52**) et le kaempférol (**69**) comme composés prédominants.



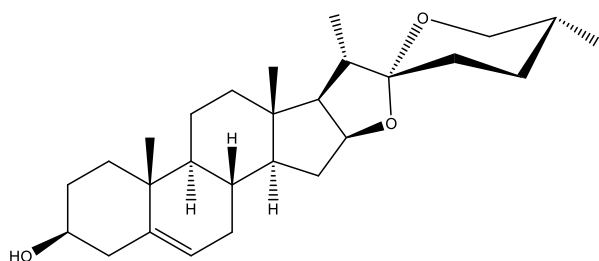
69: kaempférol



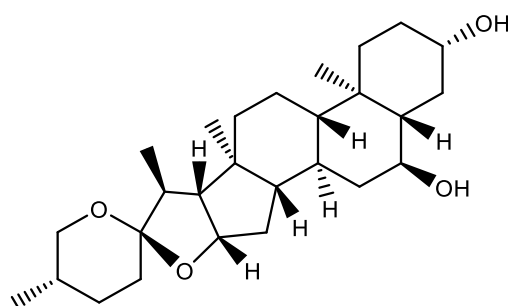
70 : catéchine

I.1.3.6. Les saponinés

L'analyse GC-SM des feuilles de *Boswellia dalzielii* a permis d'identifier plusieurs saponines telles que la diosgénine (**71**) et la néochlorogénine (**72**) (Onobrudu, 2017).



71: diosgénine



72: néochlorogénine

Bien qu'ayant fait l'objet de ces études, l'écorce de *Boswellia dalzielii* a retenu particulièrement notre attention pour une investigation plus poussée du fait de son utilisation diversifiée et très variée en médecine traditionnelle et des criblages biologique et chimique effectués auparavant.

I.2. REVUE SUR ECHINOPS GRACILIS

I.2.1. Aperçus botanique

I.2.1.1. Classification systématique de *Echinops gracilis*

Du point de vue taxonomique et comme indiqué dans la Figure 9, le genre *Echinops* appartient à l'embranchement des Tracheophytes, à la classe des Magnoliopsidées, à l'ordre de Astérale et à la famille des Astéracées (Hassler et al., 2020).

Règne : Plantae

Embranchement : Tracheophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Echinops*

Espèce : *gracilis*

Figure 9: Systématique de *Echinops gracilis* O. Hoffm

I.2.1.2. La famille des Asteraceae

La famille des Astéracées est une importante famille de l'ordre des Asterales qui comprend près de 23000 espèces (Barreda et al., 2015) réparties en 1500 genres décrites dont 750 endémiques (Harkati, 2011). Les plantes de la famille des Asteraceae se retrouvent sur tous les continents sauf l'Antarctique. Bien que tous les types biologiques se retrouvent chez les Composées : arbres, lianes, arbustes, plantes succulentes, épiphytes, plantes aquatiques, etc., la plupart des espèces sont surtout des plantes herbacées vivaces ou annuelles (Bremer et al., 1994).

L'inflorescence des Asteraceae est le capitule. On peut diviser les capitules des Asteraceae en trois groupes (Boullard, 1988):

- ✓ Les liguliflores (chicorée, pissenlit, laitue etc.), où le capitule est composé uniquement de fleurs ligulées (parfois appelées demi-fleurons) ;
- ✓ Les tubuliflores (chardon, cirse, centaurée etc.), dont le capitule n'est composé que de fleurs régulières, tubulées (ou fleurs tubulaires parfois appelées fleurons) ;
- ✓ Les radiés, aux fleurs périphériques ligulées entourant un disque de fleurs tubulées (marguerite, aster, séneçon etc.)

Les fleurs sont généralement hermaphrodites, parfois unisexuées et les périphériques souvent stériles (Boutaghane, 2013). Le calice, très réduit à la floraison, se transforme en

Pappus qui participe à la dissémination des graines. La corolle de (4-) 5 pétales soudés en un tube prolongé par (4-) 5 lobes (= fleur tubulée) ou dents, ou soudés en un tube prolongé latéralement par une languette ou ligule (= fleur ligulée). Le réceptacle est nu ou porte des bractéoles (écailles) entre les fleurs. Les étamines, (4-) 5 fixées à la corolle par les filets et dont les anthères soudées, forment une structure cylindrique par laquelle passe le style (Figure 10) (Boutaghane, 2013). 2 carpelles soudés entre eux ; ovaire infère à 1 loge, 1 style et 2 stigmates, un seul ovule basal (Barkely et al., 2006).

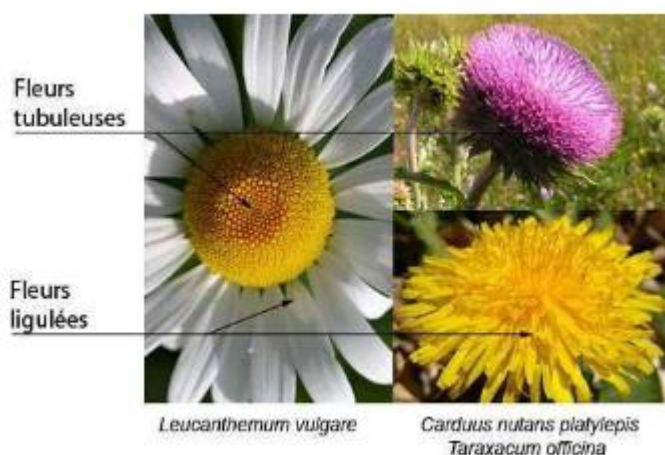


Figure 10 : Types de fleurs des Asteraceae

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent (Messai, 2011).

Les graines sont ex albuminées (Harkati, 2011). L'ovaire infère est composé de deux carpelles. Il est uniloculaire et uniovulé. L'ovule est anatrophe et unitéguminé. Le style est entier dans les fleurs staminées ; dans celles pistillées et staminopistillées, il est bifide (Quézel et al., 1963).

Les feuilles sont le plus souvent alternées. Elles peuvent aussi être opposées ou réunies en rosette principale (Mezache et al., 2010).

Le système racinaire est une racine pivotante (dicotylédones) à ramifications peu nombreuses.

La tige est épaisse, ronde (quelques fois anguleuse), pouvant présenter des poils, de taille très variable, pouvant contenir une sève élaborée laiteuse (latex), quelques fois comestible (Barkely et al., 2006).

La classification classique des Asteraceae (Mezache et al., 2010) est représentée comme suit :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta (Plantes vasculaires)

Embranchement	: Phanerogamae (Phanérogames)
Sous-embranchement	: Magnoliophytina (Angiospermes)
Classe	: Magnoliopsida (Dicotyledones)
Sous-classe	: Asteridae
Ordre	: Asterales
Famille	: Astéracées (Composées)

Selon l'APG III (Dupont et al., 2012), on peut subdiviser l'immense famille des Astéracées en cinq sous-familles principales : Les Branadesioidées, les Mutisioidées, le Carduoidées, les Cichorioïdées et les Astéroïdées.

I.2.1.3. Aperçu sur le genre *Echinops*

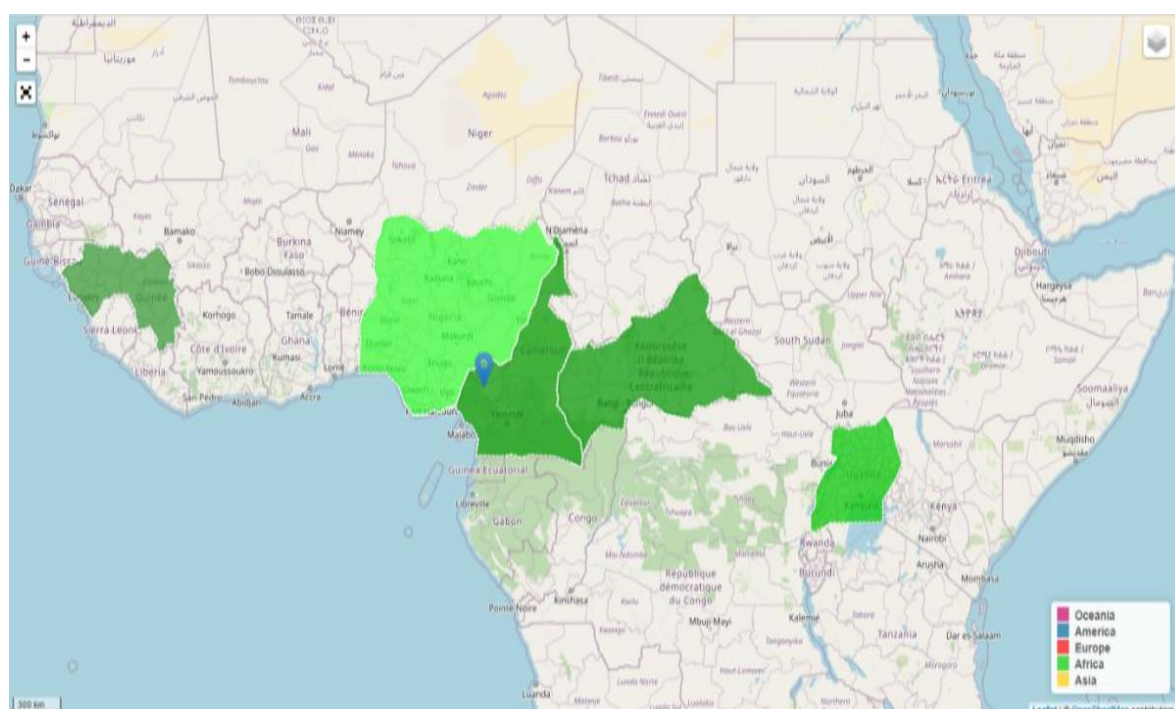
Le genre *Echinops* (y compris *Acantholepis* Less.) est le seul membre des *Echinopsinae* (Cass.) Dumort., l'une des cinq sous-tribus de *Cynareae* Lam. & DC., Autrement connu sous le nom de *Cardueae* Cass. *Echinops* comprend 120 espèces réparties en Afrique tropicale, sur le bassin méditerranéen, dans les régions tempérées d'Eurasie, atteignant l'Asie centrale, la Mongolie et le nord-est de la Chine, avec un plus grand nombre d'espèces dans le Caucase et le Moyen-Orient (pour une carte de distribution du genre, voir Jäger, 1987) (Sánchez-Jiménez et al., 2010).

Le genre *Echinops* est caractérisé par la présence de capitules uniflores agrégés en têtes sphériques ou ovales de second ordre, cette syncéphalie étant une caractéristique unique au sein de la tribu (Sánchez-Jiménez et al., 2010). Ce sont des herbes, vivaces ou rarement annuelles. Ces plantes sont robustes et sont souvent considérées comme très ornées. Ce genre reçoit son nom commun de sa fleur semblable au globe qui pousse dans les tons de violet et de blanc. Les feuilles de ces plantes sont hérissées à partir des bords et de couleur gris laineux et verdâtre, tandis que les fruits sont des akènes cylindriques. Les fleurs de ces plantes sont des fleurs rondes qui poussent en groupes. Ces capitules sont sur le dessus des tiges nervurées de la plante, ce qui fait la hauteur totale de la plante près de 5 pieds (1,5 m). Les plantes attirent des essaims d'abeilles et de papillons et sont généralement plantées derrière les frontières dans les jardins. Ils sont également utilisés comme arrangements floraux séchés, et pour ses utilisations ornementales (Garnatje et al., 2004).

I.2.1.4. Description botanique et répartition géographique de l'espèce *Echinops gracilis*

Echinops gracilis est une plante herbacée vivace, de 45–90 cm de haut à tiges dressées. Sa tige principale est ligneuse et courte, ramifiée distalement avec les branches latérales ascendantes et dépassant les axes principaux. Elle est densément feuillue, finement glanduleuse, aranée ou glabre. Ses feuilles sont épineuses, profondément pennatisectes avec des contours lancéolées et pouvant mesurer 1–2,2 (–5) cm de long et 0,2–0,5 cm de large ; la base est brièvement décurrente, les lobes sont épineux à lobules épineux, glabres au-dessus et glabres ou tomenteux en dessous. Sa Capitule mesure 19–25 mm de long, en synflorescences terminales globuleuses de 3–6 cm de diamètre; les phyllaires sont lancéolés, les plus courts et spatulés mesurent 3,5–18 mm de long, ils sont acuminés et les marges sont laciniées. Sa corolle est blanche ou mauve pâle, c'est un tube de 4–7,5 mm de long, glabre avec des lobes de 3–8 mm de long aux anthères brunes ou presque noires. Ses achènes sont ellipsoïdes et peuvent mesurer de 12–13 mm de long et 4,5–5 mm de large (Figure 12) (Beentje, 2000).

On trouve abondamment *Echinops gracilis* dans des pays tels que le Tchad, le Soudan, le Congo brazzaville, Ouganda (Figure 11). Au Cameroun, on retrouve *Echinops gracilis* à l'extrême Nord, dans les localités de Mokolo et Mora (monts Mandara) ; dans la région de l'Adamaoua dans les localités de Wourou-Soa et Mbang-Foulbe ; à l'Ouest dans les localités de Fongo-Tongo dont les noms locaux sont Lenbet, Mezah, Apouh, Menah, Alentsap, Leweh, Atsiahadong (Beentje, 2000; Chaudhary et al., 1986; Hassler et al., 2020)



Source : <http://www.africanplants.senckenberg.de>

Figure 11: Régions d'identification de l'espèce *Echinops gracilis*



Source : <https://explore.recolnat.org/occurrence/FCD19E5CDDC64C298252F527F0974942>

Figure 12: Image de l'espèce *Echinops gracilis*

I.2.2. Usage et travaux pharmacologiques antérieurs sur *Echinops*

Traditionnellement, de nombreuses espèces de ce genre ont été exploitées pour diverses affections depuis des décennies (Tableau 5). Ils sont largement utilisés dans la phytothérapie pour le traitement de diverses maladies telles que la migraine, la diarrhée, les douleurs cardiaques, les différentes formes d'infections (Tableau 6), l'infestation par les vers intestinaux et les hémorroïdes (Hymete et al., 2005).

Tableau 5 : Usages ethnobotaniques de quelques espèces de *Echinops*

Espèces <i>Echinops</i>	Parties	Utilisations	Références
<i>E. echinatus</i> Roxb	Plante entière	Diurétique et utilisée contre les démangeaisons cutanées.	(Rehman et al., 2013)
		Utilisée comme analgésique, antipyrétique, antitussif et antifongique.	(Singh et al., 1989)
		La plante est amère, stomachique, antipyrétique, analgésique, anti-inflammatoire et stimule le foie	(Panhwar et al., 2007)
		la suspension d'écorce de racine en poudre est utilisée avec le lait (100g / 250ml) pour le traitement du diabète	(Vashisth, P. et al., 2013)
<i>E. spinosus</i>	racine	Traitement des douleurs, l'avortement et des névralgies	(El-Hilah et al., 2015)
		Mélangée avec du miel contre les kystes	(Hachi et al., 2015)
		Traite les maladies digestives, urinaires, gynécologiques (règles douloureuses, accouchement)	(Ilyas et al., 2004)

<i>E. bovei</i> (Boiss.)	*	Employée pour des raisons gynécologiques (hygiène après accouchement).	(Miara et al., 2013)
<i>E. longifolius</i> A. Rich.	*	Les ablutions avec l'eau dans laquelle on a fait macérer la plante, attirent la bienveillance des chefs. La plante est pâturée par les éléphants.	(Malzy, 1954)

* Partie non spécifiée

Les extraits de plantes du genre *Echinops* présentent plusieurs propriétés biologiques telles que antiphlogistiques, fongicides, antioxydantes et hépatoprotectrices (Tableau 6) (Kiyekbayeva et al., 2017).

Tableau 6 : Activités biologiques et usages de quelques espèces de *Echinops*

Espèces <i>Echinops</i>	Parties	Activités	Références
<i>E. echinatus</i> Roxb.	Plante entière	Activité anticancéreuse et hypoglycémique. Activité diurétique et spasmolytique observée.	(Odedra, 2009)
		A montré une forte activité anti-inflammatoire dans le test de l'œdème à la carragénine et l'inflammation chronique.	(Singh et al., 1989)
		Antipyrétique, analgésique et anti-inflammatoire.	(Vashisth, P. et al., 2013)
<i>E. grijisii</i> Hance	Racines	Activité anticancéreuse	(Duke et al., 1985a, 1985b)
<i>E. albicaulis</i>	Partie aérienne	Activités antimicrobiennes, antileishmaniales et antipaludiques élevées.	Kiyekbayeva et al., 2017)
<i>E. longisetus</i>	Feuilles, Tige	Forte activité inhibitrice contre les cultures de <i>Staphylococcus aureus</i>	(Hymete et al., 2005)
	Racines	Activité létale contre les vers de terre et molluscicide contre les hôtes des escargots transmettant le schistosome	
<i>E. ellenbeckii</i>	Feuilles	Forte activité inhibitrice contre les cultures de <i>Staphylococcus aureus</i>	(Hymete et al., 2005)
	Fleurs	Forte activité inhibitrice contre <i>Candida albicans</i> et activité létale contre les vers de terre.	
	Racines	Activité létale contre les vers de terre et molluscicide contre les hôtes des escargots transmettant le schistosome	
<i>Echinops ritro</i>	Plante entière	Activité antioxydante <i>in vitro</i>	(Çigdem et al., 2016)
<i>E. tournefortii</i>	Plante entière	Activité antioxydante <i>in vitro</i>	(Çigdem et al., 2016)
<i>E. latifolius</i> Tausch.	Racines	Utilisé pour traiter les cancers.	(Hsu, 1967)
		Utilisé pour les tumeurs.	(Lin et al., 1992)

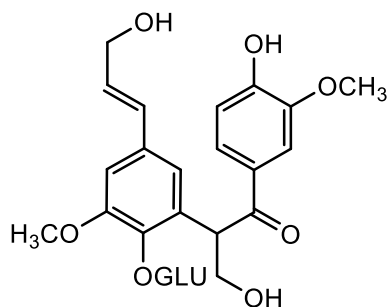
Echinops gracilis est une plante médicinale camerounaise utilisée par les tradipraticiens de santé pour traiter les rhumatismes . Elle est consommée par les ânes et les dromadaires. La

décoction, en association avec les graines de calabasse (*Lagenaria* sp) lutte contre les mauvais esprits chez les enfants. Les feuilles mises dans un entonnoir permettent de filtrer le vin blanc (Adjanohoun et al., 1996).

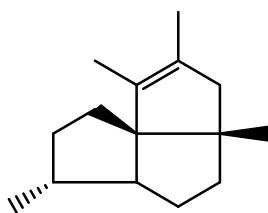
I.2.3. Travaux chimiques antérieurs

Chez les espèces du genre *Echinops* L, plusieurs métabolites secondaires isolés appartiennent aux classes des terpénoïdes, stéroïdes, thiophènes, flavonoïdes et alcaloïdes.

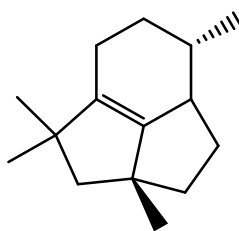
De l'huile essentielle des racines de *Echinops giganteus*, des sesquiterpènes tricycliques ont été isolés par Menut et collaborateurs (1997) à savoir : silphiperfol-6-ène (**73**), presilphiperfol-7(8)-ène (**74**), silphiperfolan-6-ol (**75**). Une néolignane glycoside (echinolignane A), 1-(3-méthoxy-4-hydroxyphényl)-3-hydroxy-2-[2-*O*-β-D-glucopyranosyl-3-méthoxy-5-((1*E*)-3-hydroxypropényl)phényl] propanone (**76**) a été isolée de la racine de *Echinops grijissii* (Koike et al., 2002).



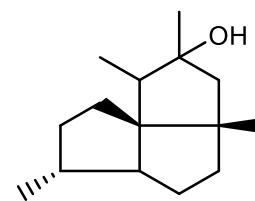
76: échinolignane A



73: silphiperfol-6-ène

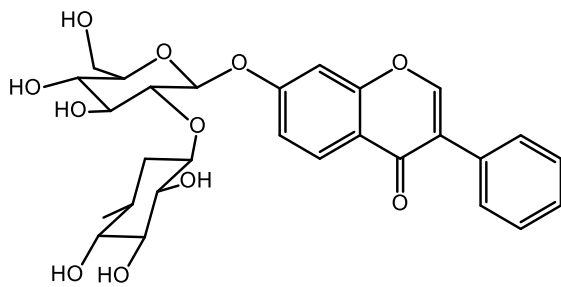


74: presilphiperfol-7(8)-ène

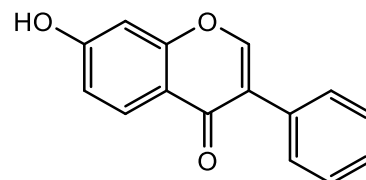


75: silphiperfolan-6-ol

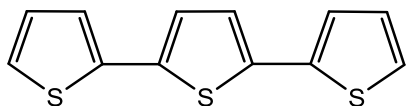
Fokialakis et al. (2006) ont montré que l'extrait au dichlorométhane de la base de *Echinops ritro* (Asteraceae) était le plus actif sur le plan biologique. Le fractionnement bioguidé de cet extrait a conduit à l'isolement de six thiophènes (Figure 13): 2,2':5',2''-terthiophène (**77**), 4-[5-(penta-1,3-diynyl)thièn-2-yl]but-3-yn-1-ol (**78**), 5'-(but-3-èn-1-ynyl)-2,2'-bithiophène (**79**) acétate de 4-(2,2'-dithien-5'-yl)-2-acétoxybut-3-ynyl (**80**), 4-(2,2'-dithien-5'-yl)but-3-yn-1-ol (**81**), isocardopatine (**82**).



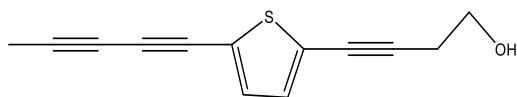
83: échinosite



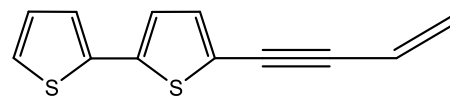
84: 7-hydroxyisoflavone



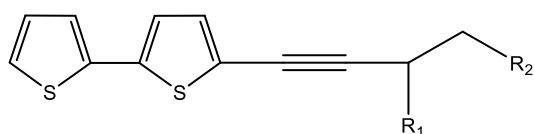
77: 2,2':5',2''-terthiophène



78: 4-[5-(penta-1,3-diynyl)thièn-2-yl]but-3-yn-1-ol



79: 5'-(but-3-èn-1-ynyl)-2,2'-bithiophène

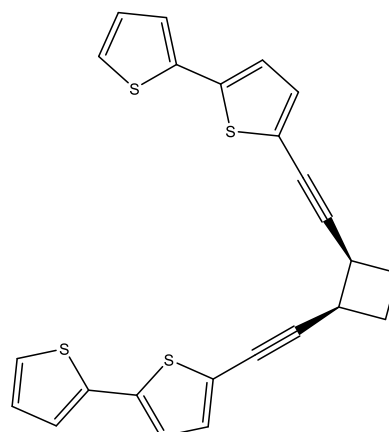


80 R1= OAc; R2= OAc

81 R1= H; R2= OH

80: acétate de 4-(2,2'-dithien-5'-yl)-2-acétoxybut-3-ynyl

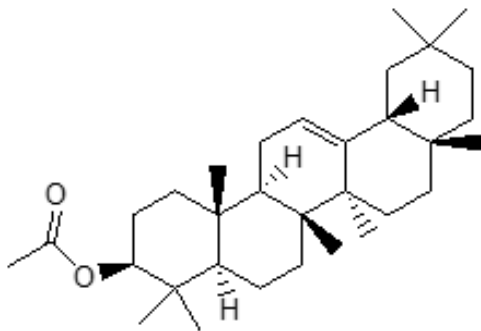
81: 4-(2,2'-dithien-5'-yl)but-3-yn-1-ol



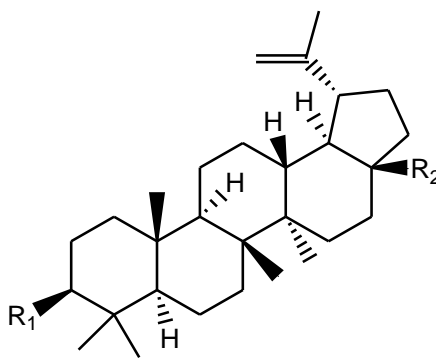
82: isocardopatine

Figure 13 : Structures des thiophènes isolés de *Echinops ritro*

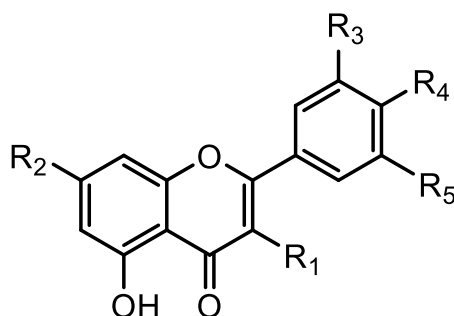
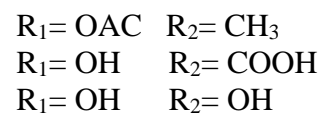
Singh et al, (2006) ont également rapporté l'isolement, à partir de la plante entière de *Echinops echinatus* d'un nouvel isoflavone glycoside, échinosite (**83**), avec le 7-hydroxyisoflavone (**84**), kaempférol-4'-méthyléther (**85**), kaempférol-7-méthyléther (**86**), myrecétine-3-*O*- α -1-rhamnoside (**87**), kaempférol (**69**) et kaempférol-3-*O*- α -L-rhamnoside (**88**).



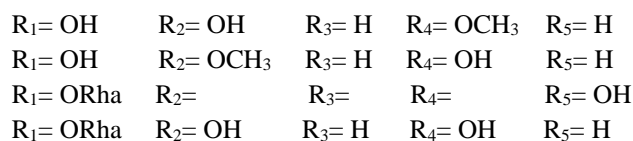
89: acétate de β-amyrine



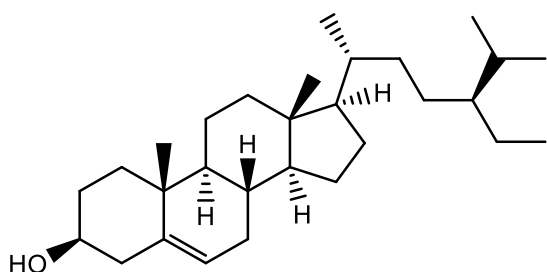
90: acétate de lupéol
91: acide bétulinique
92: bétuline



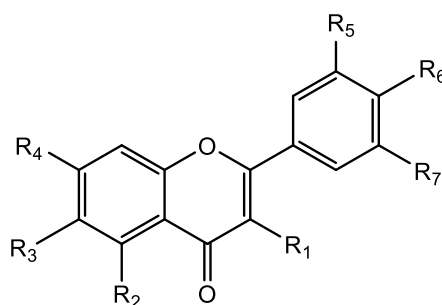
85: 4'-méthoxy kaempférole
86: 7-méthoxy kaempférol
87: 3-O-α-1-rhamnosyl myrecétine-
88: 3-O-α-1-rhamnosyl kaempférol



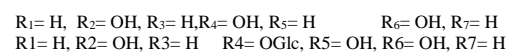
Les constituants bioactifs présents dans les fleurs de *E. echinatus* ont été identifiés comme le lupéol (10), l'acétate de lupéol (90), le β-amyrine (14), l'acétate de β-amyrine (89), β-sitostérol (93), l'acide bétulinique (91), bétuline (92), l'apigénine (94), la lutéoline (52), la quercétine (53), l'apigénine-7-O-glucoside (96), la lutéoline-7-O-glucoside (95) et l'apigénine-7-O-β-D-(4"-p-coumaroyl)-glucoside (97) (Chaudhary et al., 1986).



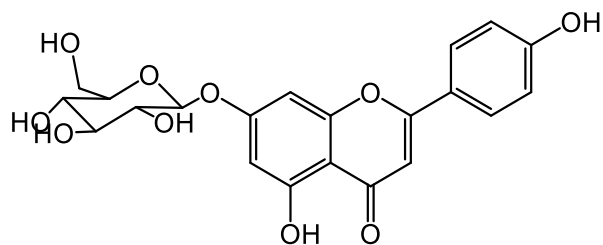
93: β-sitostérol



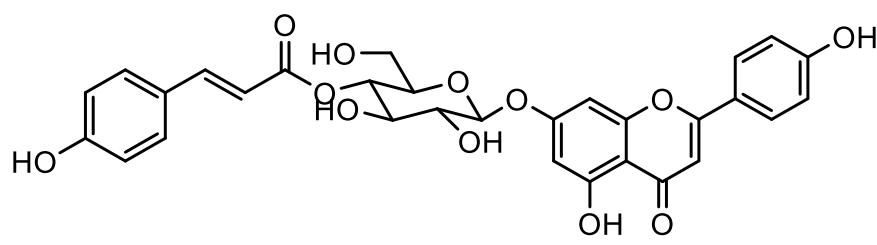
94: Apigénine
95: Lutéoline-7-O-glucoside



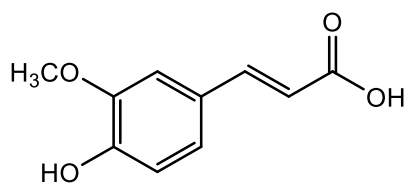
Deux acides phénoliques ont été isolés de la fraction chloroformique des parties aériennes de *Echinops spinosissimus*, tandis que quatre flavonoïdes ont été isolés de la fraction à l'acétate d'éthyle et un glycoside flavonoïde a été isolé de la fraction butanolique : acide gallique (**56**), acide férulique (**98**), apigénine (**94**), kaempférol (**69**), hespéritine (**100**), hespéridine (**100**), rutine (**54**) (Heba, 2016).



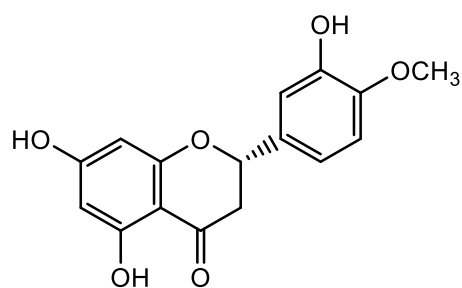
96: apigénine-7-O-glucoside



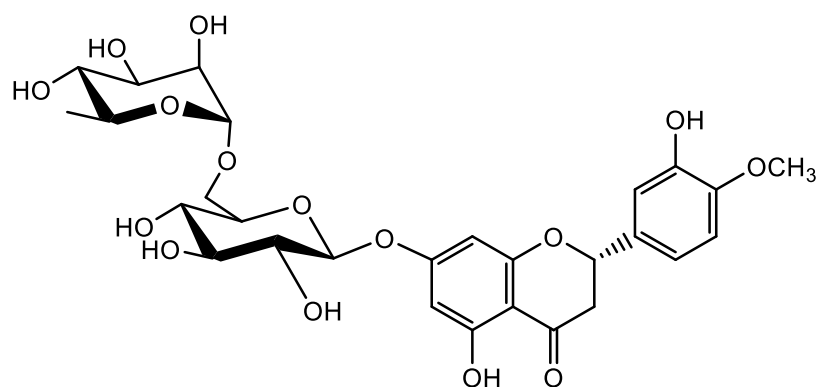
97: apigénine-7-O-β-D-(4''-p-coumaroyl)-glucoside



98: acide férulique

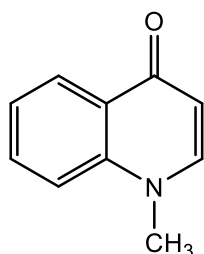


99: hespéritine

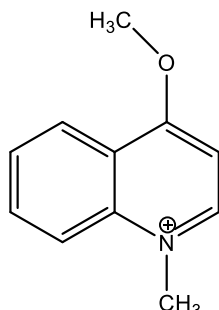


100: hespéridine

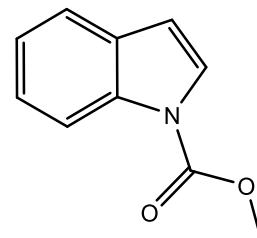
De l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Echinops albicaulis*, deux alcaloïdes majeurs ont été isolés : échinopsine [1-méthyl-4(1H)-quinolone] (**101**) et 1-méthyl-4-méthoxyquinolinium (**102**) (Kiyekbayeva et al., 2017) et des feuilles de *Echinops orientalis* Trauv., le 1-méthoxycarbonylindole (**103**) (Ramazan et al., 2014).



101: échinopsine [1-méthyl-4(1H)-quinolone]



102: 1-méthyl-4-méthoxyquinolinium



103 : 1-méthoxycarbonylindole

I.3. GÉNÉRALITÉS SUR LES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes représentant le pourcentage le plus élevé des composés isolés et responsable de la majorité des activités biologiques évaluées dans ce travail, nous nous proposons de faire une revue plus détaillée de cette classe de composé qui revêt un intérêt notoire.

Introduction

Les flavonoïdes désignent une très large classe de produits naturels dérivés des plantes et présentant une exceptionnelle diversité. Ces molécules aromatiques polysubstituées appartiennent à la famille des polyphénols (Harborne et al., 2000). A ce jour, une multitude de structures a été isolée, caractérisée et recensée, ce qui fait des flavonoïdes l'un des plus grand groupe de produits naturels (Degenhardt et al., 2009; Martens et al., 2010; Tahara, 2007; Ziegler et al., 2008). Ils sont à l'origine d'effets physiologiques bénéfiques pour l'organisme humain et méritent l'intérêt croissant que la recherche leur porte.

I.3.1. Etude structurale et classification

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base commun de type 1,3-diarylpropanoïde en C₆-C₃-C₆, dont un chaînon propanoïde souvent engagé dans un lien éther formant un cycle central hétérocyclique de type benzopyrane appelé cycle C et deux cycles aromatiques, nommés cycles A et B. L'hétérocycle central C existe communément sous trois formes : pyrane, pyrylium ou γ-pyrone (Aron et al., 2008). Le système de nomenclature le plus couramment utilisé pour les flavonoïdes fut initialement suggéré par Hemingway (Hemingway et al., 1982) puis étendu par Porter en 1988. Une numérotation spécifique a été établie en fonction de la

substitution de ces trois cycles comme indiqué ci-après, et sera utilisée pour l'ensemble de ce manuscrit (Figure 14).

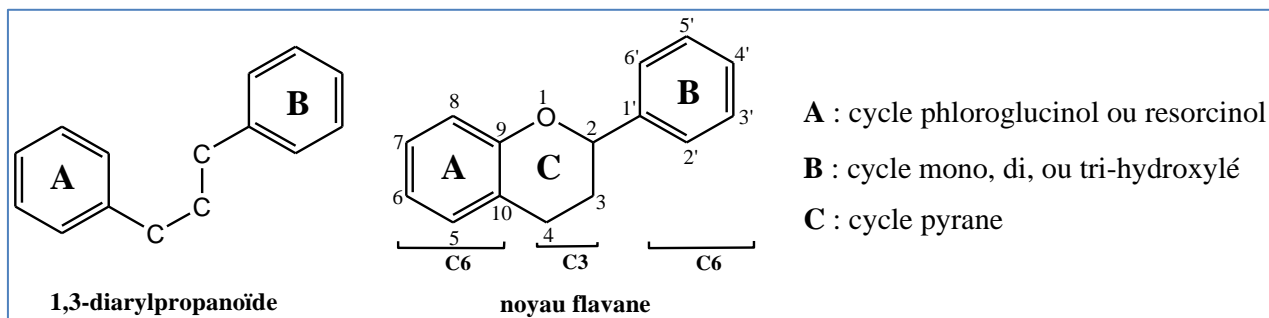
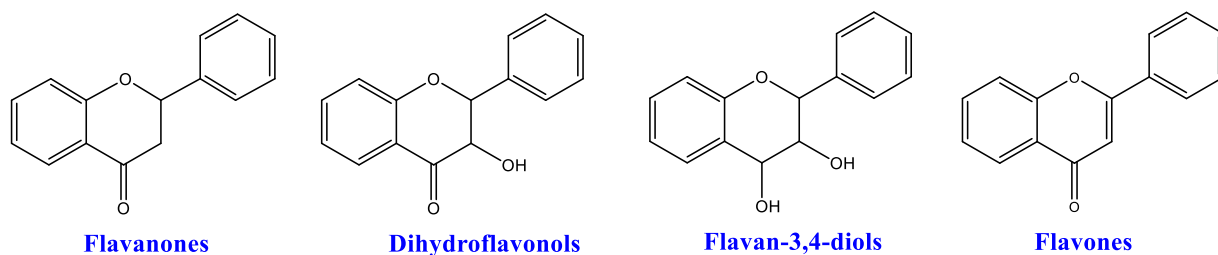


Figure 14: Squelette commun des flavonoïdes

Selon l'état structural et le degré d'oxydation de l'hétérocycle central C, les flavonoïdes peuvent être répartis en plusieurs sous-classes qui se distinguent par une diversité fonctionnelle au niveau des carbones 2, 3 et/ou 4 (Crozier et al., 2009; Forkmann et al., 1999).

Par ailleurs, au sein d'une même sous-classe, les possibilités de substitution des cycles A et B sont multiples : onze carbones du squelette flavonoïde peuvent porter un substituant de type hydroxyle, méthoxyle, méthyle, isoprényle ou benzyle. Chaque groupement hydroxyle, ainsi que certains carbones, peuvent être conjugués avec un ou plusieurs sucres et le glycoside correspondant peut-être acylé à partir d'un acide phénolique ou aliphatique.

Les principales classes de flavonoïdes sont les suivantes (Andersen et al., 2006) :



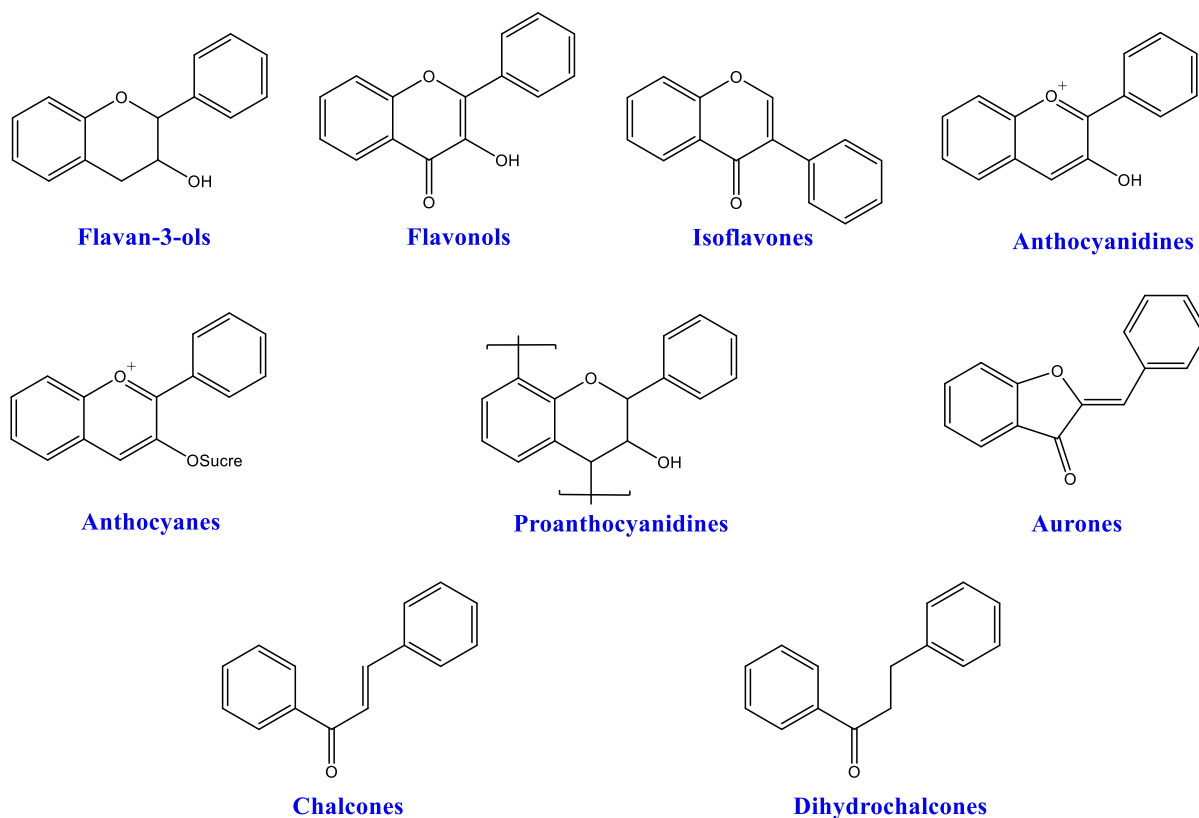


Figure 15: Principales classes de flavonoïdes

Plusieurs sucres différents ont été trouvés liés aux flavonoïdes des plantes. Parmi lesquels le D-glucose est de loin le monosaccharide le plus courant. Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme ci-dessus.

I.3.1.1. Les flavones et flavonols

Le cycle A est très souvent substitué par deux hydroxyles phénoliques en C₅ et C₇, libres ou estérifiés. D'autre part, le cycle B peut être substitué en C_{4'}, di-substitué en C_{3'} et C_{4'}, ou tri-substitué par des hydroxyles, méthoxyles ou prényles. Les flavonols diffèrent des flavones par la présence d'un hydroxyle en C₃ (Morreel et al., 2006).

I.3.1.2. Les flavanones et dihydroflavonols

Les flavanones se caractérisent par l'absence de la double liaison entre les carbones C₂-C₃ et donc par la présence d'un centre d'asymétrie en C₂. Par conséquent, le cycle B peut avoir soit la configuration (2*S*), soit la configuration (2*R*). Cependant, la plupart des flavanones isolées des plantes est de configuration 2*S* parce que la réaction enzymatique catalysant la conversion de la chalcone en flavanone est stéréospécifique (Andersen et al., 2006; Isorez, 2007; Lahmer et al., 2012).

Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C₃ et ont donc un centre asymétrique supplémentaire (Ono et al., 2006). Quatre stéréo-isomères sont donc envisageables, et les quatre configurations sont retrouvées dans la nature, avec les (2*R*, 3*R*)-dihydroflavonols de loin les plus abondants (Grayer et al., 2006).

I.3.1.3. Les chalcones, dihydrochalcones et auronnes

Les chalcones, dihydrochalcones et auronnes sont trois classes distinctes de composés comprenant, pas moins de neuf cents structures parmi les flavonoïdes naturels.

La caractéristique principale qui distingue les chalcones et les dihydrochalcones des autres flavonoïdes est la chaîne ouverte qui lie les cycles A et B à la place de l'hétérocycle central C. Les chalcones ont leur noyau pyranique central ouvert et sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique et insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes. Toutefois, ces molécules naturelles sont toutes hydroxylées et/ou méthoxylées et diverses combinaisons de trois à six groupements peuvent fonctionnaliser les cycles A et B du squelette chalcone (Grayer et al., 2006)

Les auronnes sont caractérisées par une structure de type 2-benzylidène coumarone (Ono et al., 2006; Sarni-Manchado et al., 2006).

I.3.1.4. Les isoflavones

Ils dérivent d'une structure 1,2-diphénylpropane avec le cycle B en position C₃. Ils peuvent être classés en une douzaine de catégories structurales (Andersen et al., 2006; Boland et al., 1998).

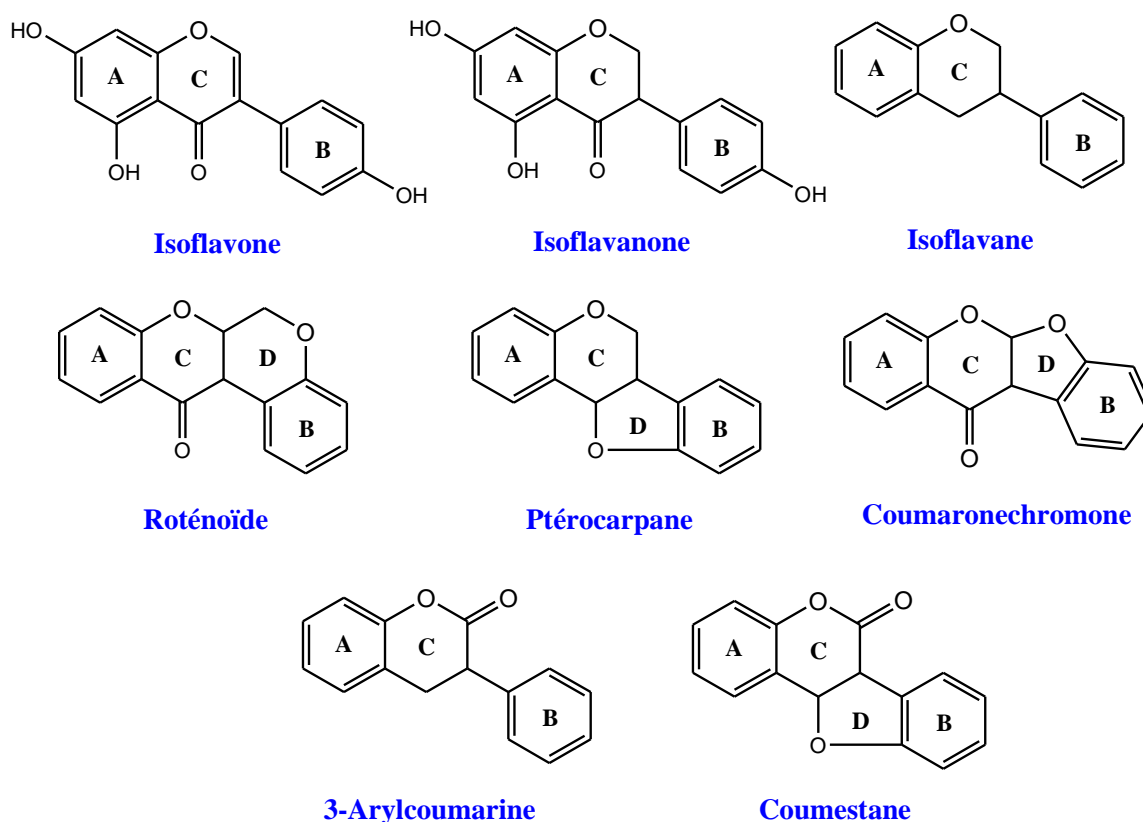


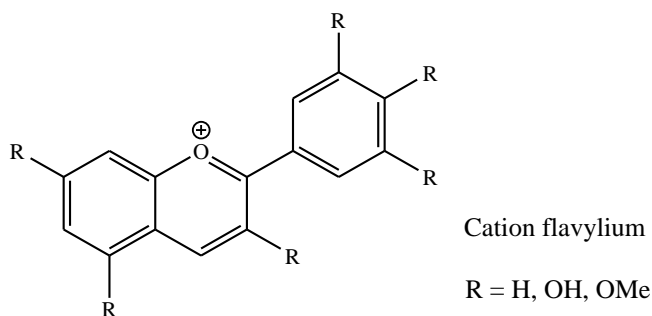
Figure 16: Sous-classes des isoflavonoïdes

Ces catégories diffèrent entre elles, par le degré d'oxydation et l'existence ou non d'hétérocycles supplémentaires. La Figure 16 présente les différentes sous classes

d'isoflavonoïdes. Dans chaque catégorie, on note également la présence fréquente de dérivés prénylés. Parmi tous les isoflavonoïdes répertoriés dans le règne végétal, la catégorie la plus largement représentée est celle des isoflavones non glycosylées. Les isoflavones glycosylées quant à elles, existent mais sont plus rares (*O*-glycosylées et exceptionnellement *C*-glycosylées).

I.3.1.5. Les anthocyanidines et anthocyanes

Les anthocyanes, formes glucosylées des anthocyanidines, sont des pigments visibles à l'œil nu qui donnent aux fruits et aux fleurs leur couleur rouge, bleue et pourpre.



Ces composés présentent la particularité d'être sous forme de cations appelé flavylum dans les milieux acides. Chaque anthocyane peut être différenciée par le nombre de glucoses estérifiés, le taux d'acylation de ces glucoses, et le nombre d'acides aromatiques ou aliphatiques qui peuvent être liés à ce sucre (Macheix et al., 1990).

I.3.2. Voie de biosynthèse des flavonoïdes

A ce jour, Il existe plusieurs ramifications dans la voie de biosynthèse des flavonoïdes. Une des caractéristiques principales du métabolisme des flavonoïdes est son origine biosynthétique mixte. Le squelette flavonoïde étant élaboré à partir de deux précurseurs clés d'origine biosynthétique distincte. Le premier précurseur (malonyl-CoA) est synthétisé par la voie de l'acétate de malonate (voie des polycétides) par l'intermédiaire d'une réaction catalysée par l'acétyl-CoA. Le second (4-coumaroyl-CoA) est synthétisé en empruntant deux voies biosynthétiques successives: la voie de l'acide shikimique. Cette voie métabolique est commune à l'ensemble des composés phénoliques. Les premiers flavonoïdes de cette biosynthèse, les chalcones, sont formés à partir du 4-coumaroyl-CoA (obtenu en trois réactions séquentielles) et à partir du malonyl-CoA. Le 4-coumaroyl-CoA est produit à partir d'un acide aminé, la phénylalanine, qui subit trois conversions enzymatiques catalysées par la phénylalanine ammonia-lyase (ou PAL), la cinnamate 4-hydroxylase (ou C4H) et la 4-coumarate : CoA ligase (ou 4CL), (Bednar et al., 1988).

La première étape de la biosynthèse consiste en la condensation du 4-coumaroyl-CoA avec trois molécules de malonyl-CoA catalysé par la chalcone synthase (CHS) pour produire

une chalcone, créant ainsi le squelette de base des flavonoïdes. Ainsi, les trois molécules de malonyl-CoA fournissent le cycle A ou phloroglucinol des flavonoïdes et le 4-coumaroyl-CoA procure le cycle B et les 3 atomes de carbone du chaînon propanoïde central (C₃-C₆). La deuxième étape est l'isomérisation de la chalcone pour former la flavanone, qui peut se produire spontanément ou bien en présence de la chalcone isomérase (CHI) qui catalyse la cyclisation intramoléculaire stéréospécifique des chalcones en flavanones, obtenues avec la configuration 2*S* (Bednar et al., 1988; Cain et al., 1997).

La 2*S* flavanone est le substrat commun de plusieurs étapes biosynthétiques reliant trois réactions majeures : la flavanone peut être convertie en isoflavone sous l'action de l'isoflavone synthase (IFS), ou bien subir une hydroxylation en position 5' pour former l'ériodictyol grâce à la flavonoïde 3'-hydroxylase (F3'H). Les flavanones peuvent également être oxygénées en dihydroflavonols de manière stéréospécifique par la flavanone 3-hydroxylase (F3H). Ces dihydroflavonols peuvent être ensuite hydroxylés par deux enzymes, la F3'H et la F3'5'H aussi appelée flavonoïde 3',5'-hydroxylase, et c'est la présence ou l'absence de ces deux enzymes qui va déterminer le nombre de groupes hydroxyles du cycle B du dihydroflavonol, aussi bien que celui des monomères de proanthocyanidines. L'action de la flavonol synthase (FLS) permet la déshydrogénation de la liaison C₂-C₃ du dihydroflavonol en flavonol, cependant cette enzyme est en compétition avec la DihydroFlavonol Réductase (DFR), qui est capable de réduire les dihydroflavonols pour former les leucoanthocyanidines ou flavan-3,4-diols (Schéma 2) (Forkmann et al., 1999; Martens et al., 2002).

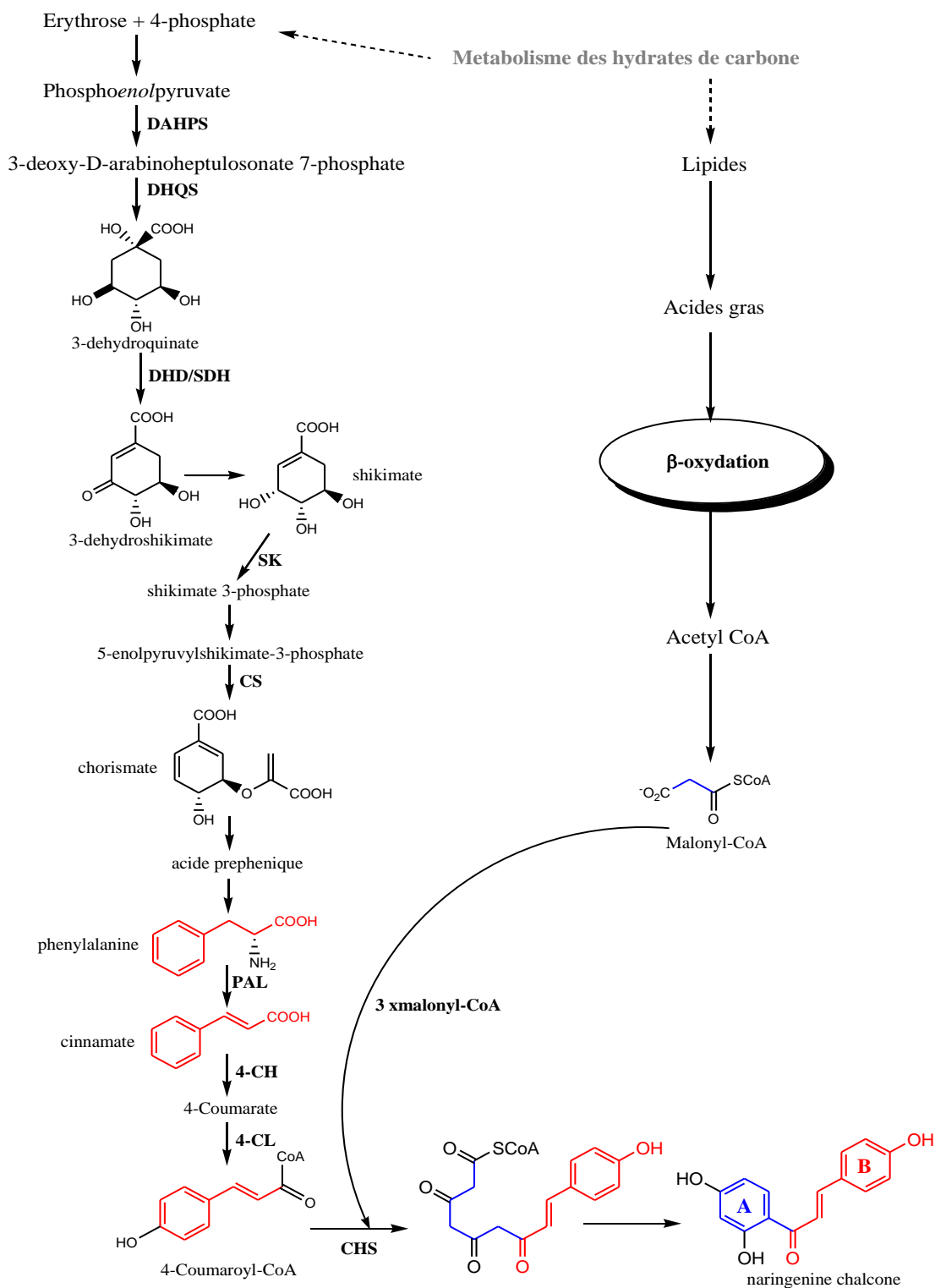


Schéma 1: Voie de biosynthèse de la naringénine chalcone à partir des hydrates de carbone

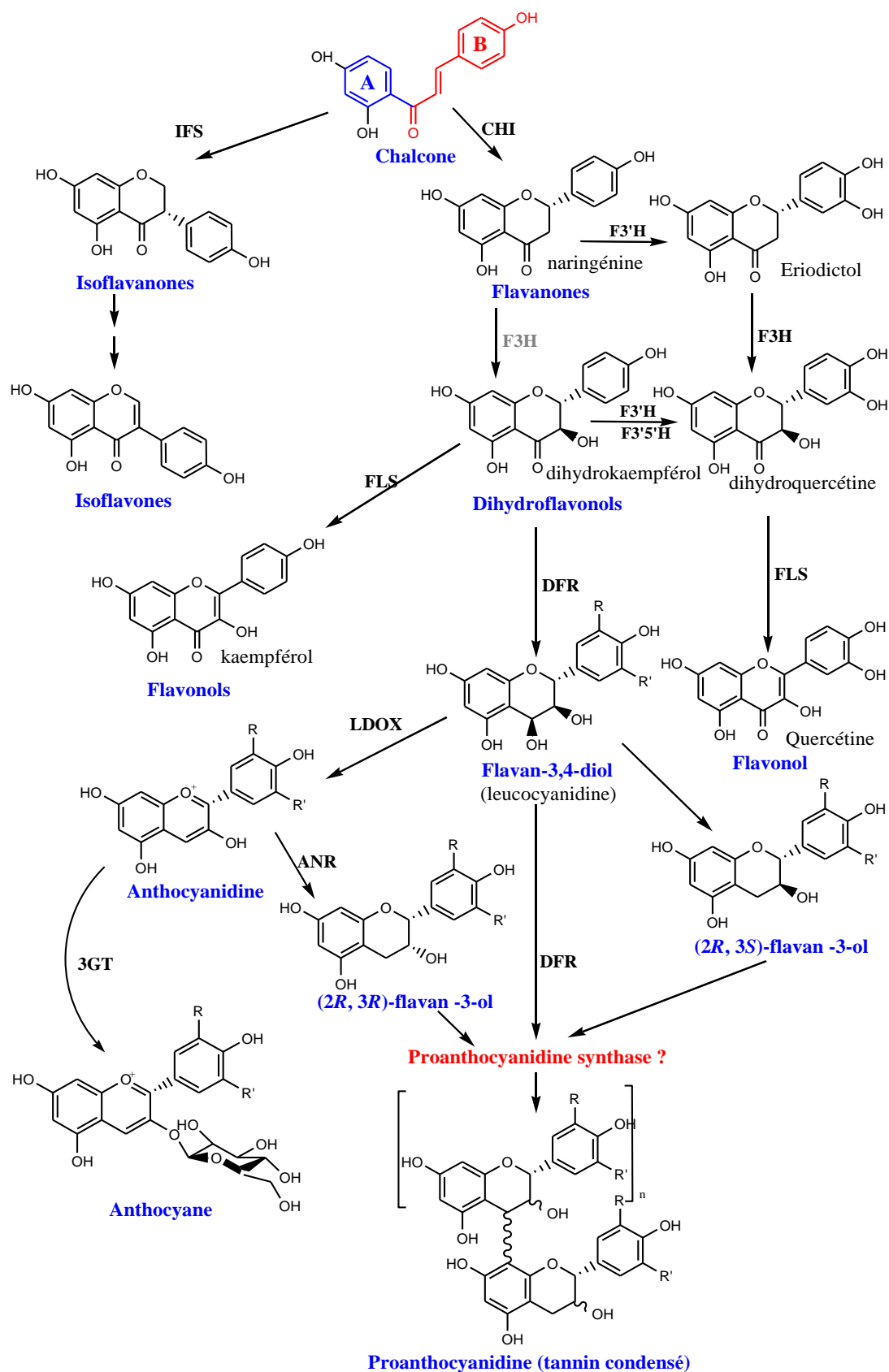


Schéma 2: Voie générale de la de biosynthèse des flavonoïdes

I.3.3. Analyse structurale des flavonoïdes

L'identification structurale des flavonoïdes est basée tout comme celle des composés organiques en général sur ce que peut donner la spectroscopie; à savoir:

Spectrophotométrie UV-Visible avec les réactifs spécifiques qui reste la méthode de choix pour cette catégorie de produits (Harborne, 1966; Mabry et al., 1970);

Spectrométrie de masse (SM) avec différents modes d'ionisation : impact électronique (IE), ionisation chimique (IC) et bombardement atomique rapide (FAB) ;

Résonance Magnétique Nucléaire (R.M.N.) avec ses différents modes (RMN-¹H, RMN-¹³C, DEPT, COSY, etc....).

Notons que l'utilisation de toutes ces méthodes en même temps n'est en aucun cas systématique.

I.3.3.1. Spectrophotométrie UV-Visible

C'est une technique très importante pour l'identification des structures flavonoïdiques et son utilisation en premier lieu reste déterminante. Elle permet la localisation des hydroxyles libres et leur position sur le squelette flavonique, par la formation de complexes avec les différents réactifs. Ceci se traduit sur le spectre UV-Visible, via les effets électroniques, par des déplacements bathochromiques, hypsochromiques et à moindre degré hyper et hypochromique des bandes d'absorption par rapport au spectre de référence pris dans le méthanol. Ce dernier est caractérisé par deux bandes d'absorption principales : la bande I et la bande II (Jurd, 1962)

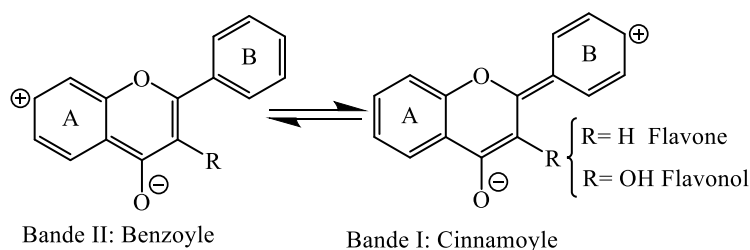


Figure 17: Les bandes caractéristiques d'un squelette

(Figure 17).

Bande I : présentant un maximum d'absorption entre 300 et 385 nm, elle est attribuée à l'absorption du système cinnamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C2-C3) et le noyau B, elle donne donc, des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.

Bande II : présentant un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm et même plus haut ($\approx 295\text{nm}$); elle est attribuée à l'absorption du système benzoyle qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A et donne des informations sur les variations

structurales du cycle A (Markham, 1982) . L'interprétation des spectres dans le méthanol et / ou en présence de réactifs spécifiques s'appuie sur des règles très connues des flavonistes ; règles décrites par Jurd et collaborateurs (1962) reprises par Mabry et collaborateurs (1970) et complétées par Voirin (1983). Le Tableau 7 donne l'intervalle du maximum d'absorption des deux bandes en milieu méthanolique pour quelques types de flavonoïdes (Markham, 1982).

Tableau 7:Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes

Types de flavonoïdes	Bande I (nm)	Bande II (nm)
Flavones	310-350	250-280
Flavonols(3-OH substitué)	330-360	250-280
Flavonols (3-OH libre)	350-385	250-280
Isoflavones	310-330	245-275
Flavones et Dihydroflavonols	300-330	275-295
Chalcones	340-390	230-270 Intensité faible
Aurones	380-430	230-270 Intensité faible
Anthocyanes et anthocyanidines	465-560	270-280

Le maximum d'absorption de telle ou telle bande dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles, méthoxyles ou glycosyles sur le squelette flavonique.

L'augmentation du nombre de groupements hydroxyles fait déplacé le maximum d'absorption vers des longueurs d'onde plus élevées, par contre la substitution des groupements hydroxyles par des groupements méthoxyles ou glycosyles fait déplacer ce maximum vers des longueurs d'onde plus faibles (Markham et al., 1968)

Le spectre méthanolique d'un composé flavonique sera modifié par addition de réactifs spécifiques (NaOH, NaOAc, H₃BO₃, AlCl₃ et HCl). Ces derniers réagissant avec les groupements hydroxyles par formation de complexes ceci se traduit sur le spectre UV par des déplacements bathochromiques ou hypsochromiques des bandes d'absorption, permettant la localisation des hydroxyles libres sur le squelette flavonique aussi bien sur le cycle B que sur le cycle A.

La Figure 18 montre les actions des réactifs sur la molécule flavonique alors que la Figure 19 établit les différentes incidences sur les allures des spectres UV-Visible.

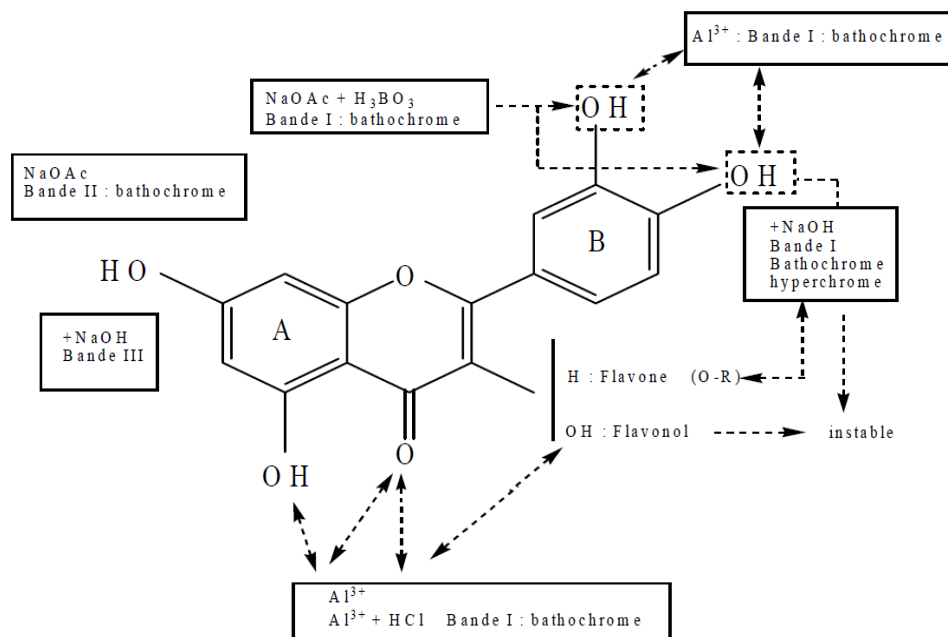


Figure 18: Effets électroniques induisant les changements des maxima d'absorption

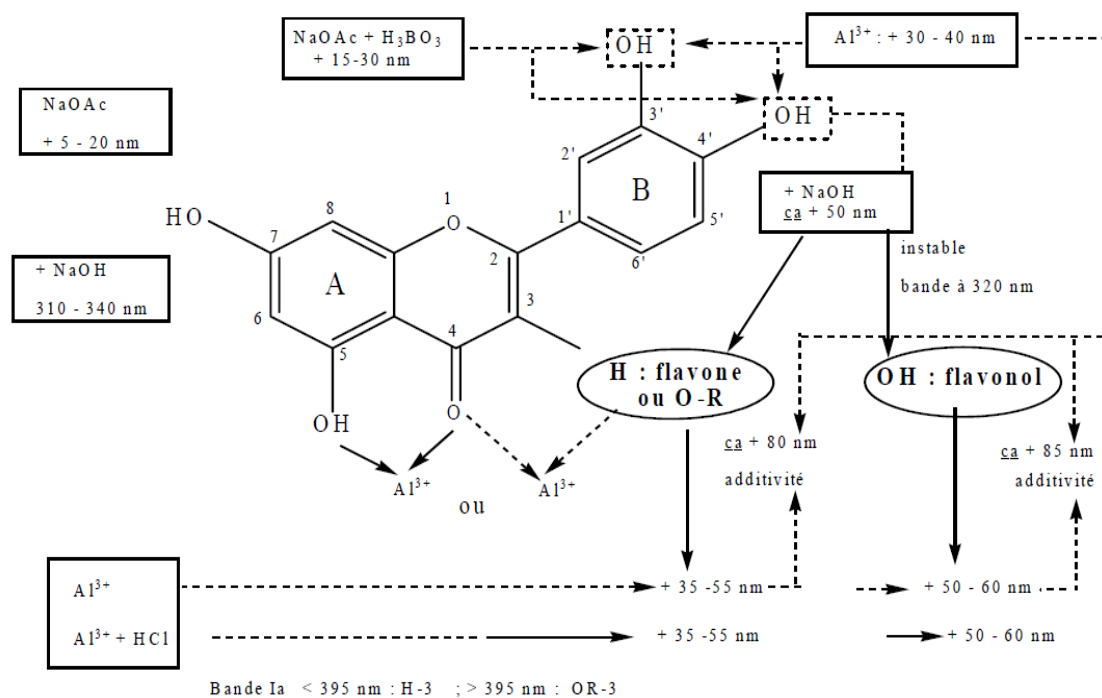


Figure 19: Actions des réactifs spécifiques sur la molécule flavonique

I.3.3.2. Hydrolyse acide des hétérosides

L'hydrolyse acide étant une opération très simple et elle est utilisée dans le cas des O-hétérosides. Une fois la liaison osidique coupée, l'aglycone ainsi que le sucre détaché peuvent être analysés séparément. L'identification du sucre se fait par Co-chromatographie avec des solutions authentiques ou par CPG. Les hétérosides C-glycosylés résistent à l'hydrolyse acide, cette propriété permet de différencier ce type de liaison dans les flavonoïdes glycosylés.

Cas des substituants O-glycosides

L'extrait pur est chauffé en présence d'acide chlorhydrique (2N) dans un bain marie pendant 30 à 120 minutes selon le degré de substitution de l'aglycone. Après refroidissement, l'aglycone est récupéré par affrontement à l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle ou le n-butanol selon la nature de cette dernière. L'identification de l'aglycone se fait par analyse spectrophotométrique UV-Visible et par Co-chromatographie en présence des substances témoins. La phase aqueuse résiduelle est évaporée à sec et reprise par une goutte d'eau pour l'identification des sucres pour cela :

- Une CCM en présence des sucres témoins s'effectue sur une plaque de gel de silice imprégnée d'une solution de NaH_2PO_4 (0,2M), l'élution se fait dans le mélange acétone/eau (9 :1).
- La révélation des sucres se fait par pulvérisation d'une solution de malonate d'aniline dont la composition est la suivante :

- 1g d'acide malonique.
- 1cm³ d'aniline.
- 3cm³ d'acide phosphorique.
- 100cm³ d'éthanol.

- Après séchage (5 à 10 minutes) à 100°C les taches apparaissent brunes dans le visible et jaunes sous UV-Visible qu'on comparera (valeurs des R_f) avec celles des sucres témoins.

Le Tableau 8 suivant représente les valeurs de R_f de sucres témoins.

Tableau 8: Valeurs des R_f des sucres témoins

Sucres	R_f
α -(L) Rhamnose	88
D (+) Xylose	79
L (+) Arabinose	66
β -D (+) Glucose	53
D (+) Galactose	33

I.3.3.3. Spectrométrie de masse

Cette technique est utilisée pour confirmer mais aussi pour finaliser (pas toujours) l'ébauche structurale obtenue grâce aux données des R_f et des données de l'UV-Visible. Parmi les informations d'ordre structural qu'on peut y tirer, on citera :

- La détermination du pic moléculaire qui permet d'apprécier globalement le nombre et la nature des substituants hydroxyles ou méthoxyles; cette détermination dans le cas complexes peut être effectuée à haute résolution permettant ainsi d'accéder avec une extrême précision à la formule brute de la molécule étudiée.

- La détermination des pics de fragmentation qui vont fournir des indications sur la répartition des substitutions entre les noyaux A et B.

La détermination de la nature et le site d'attachement des sucres dans les "O" ou "C" Glycosides (Markham, 1989).

Il existe différents modes d'ionisation en spectrométrie de masse et les plus utilisées en ce qui nous concerne sont :

I.3.3.3.1. Ionisation par impact électronique (S.M.E.I)

C'est la méthode la plus ancienne et la plus utilisée ; l'échantillon est volatilisé dans la chambre d'ionisation à une température $T = 100-300^{\circ}\text{C}$ où les molécules sont transformées en ions positifs par bombardement électronique ; seul les aglycones pourront être analysés en mode E.I. Le cas des flavones et des flavonols a été étudié par Audier (Audier, 1966). Les modes ou les schémas de fragmentation de la partie aglycone de ces composés sont illustrés respectivement par la Figure 20 et la Figure 21.

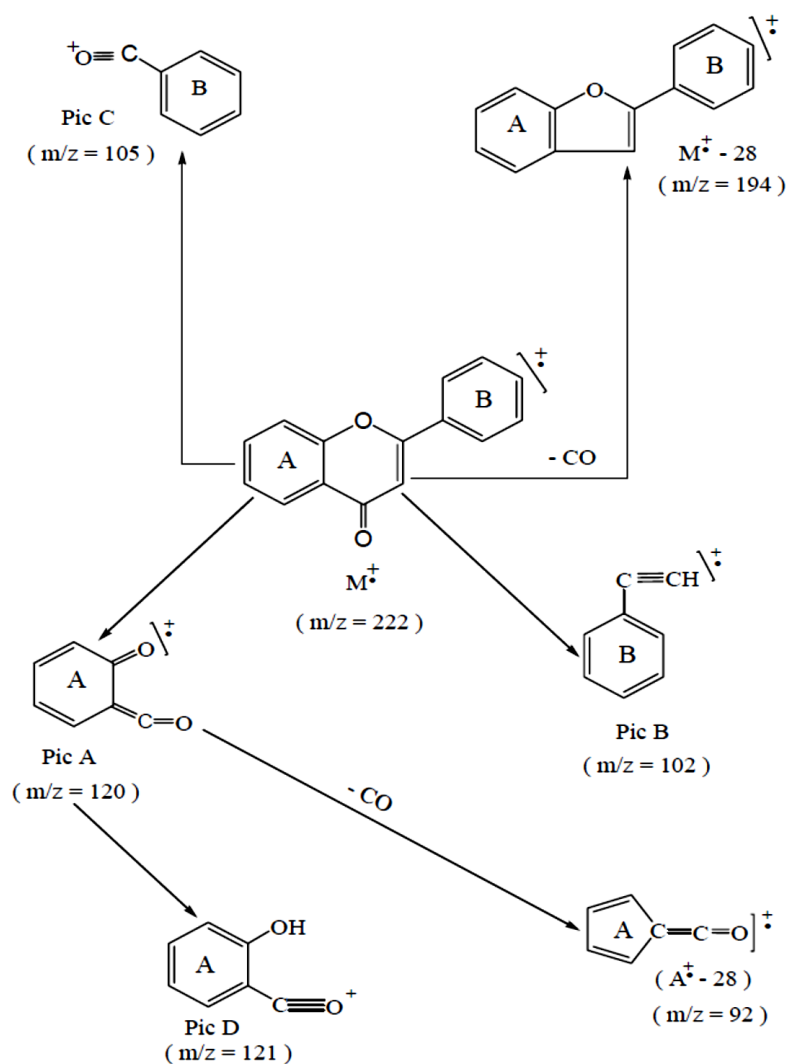


Figure 20: Mode de fragmentation des flavones

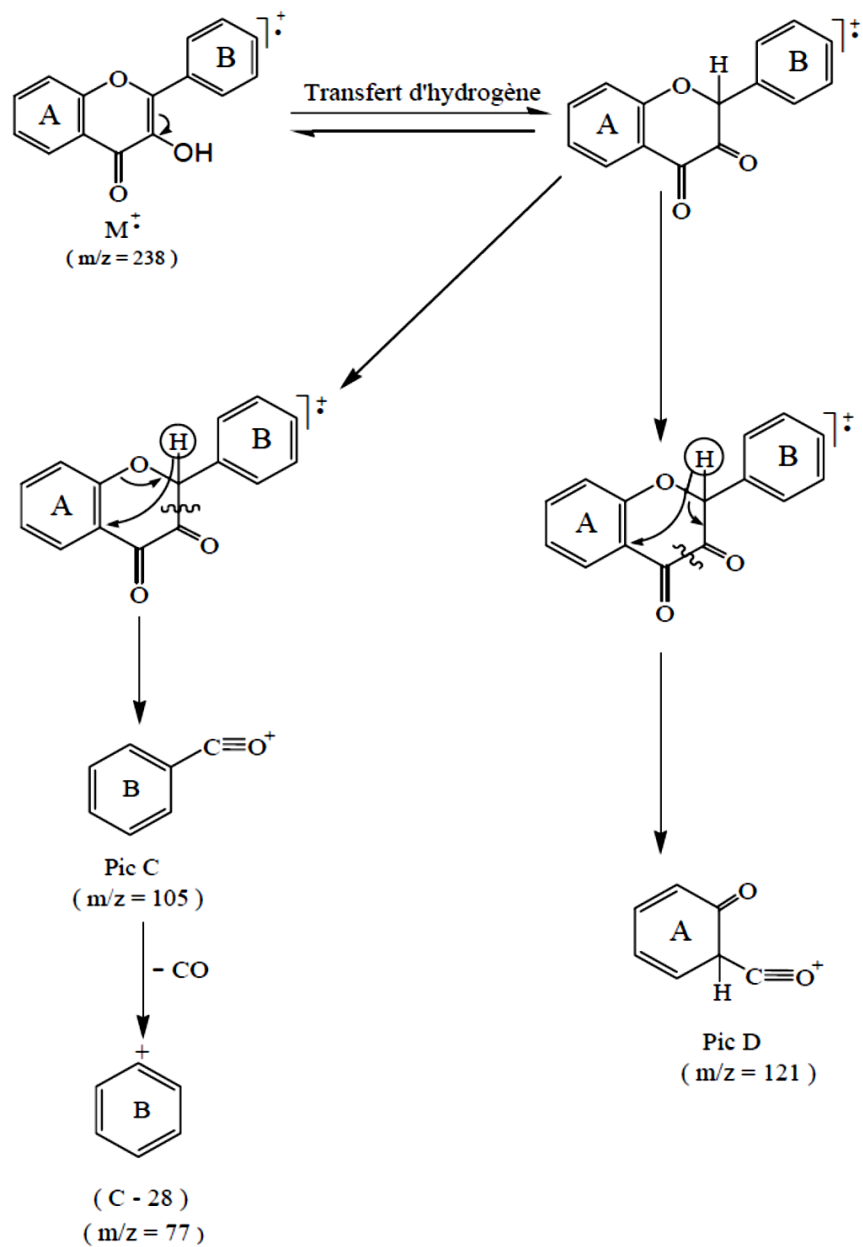


Figure 21: Mode de fragmentation des flavonols

I.3.3.3.2. Spectrométrie de masse à bombardement atomique rapide FAB

Plus récente, elle s'apprête à l'analyse des composés à poids moléculaire élevé et peu volatils (Becchi et al., 1989) et dont le spectre de masse obtenu par source E.I ne contient pas le pic moléculaire. Les caractéristiques de cette méthode sont les suivantes :

- La formation des ions a lieu à partir d'un échantillon à basse température (échantillon non chauffé).
- La présence des ions quasi moléculaires et quelques fois des fragments caractéristiques.
- La formation d'ions positifs et négatifs (F.A.B positive et F.A.B négative).
- La durée de vie importante de l'échantillon soumis à l'analyse, permettant ainsi de travailler un temps relativement long avec le même échantillon.
- L'application de cette méthode sur les flavonoïdes glycosylés, elle donne des informations utiles concernant la nature, la position et l'arrangement des sucres dans la molécule (Becchi et al., 1989).

Dans cette technique, l'ion moléculaire n'est pas toujours observable. On observe généralement, l'ion correspondant au poids moléculaire plus un proton $[M+H]^+$ (en mode positif), d'autres ions peuvent se former lorsqu'il existe des impuretés de sels tel que chlorure de sodium (on obtient l'ion $[M+Na]^+$) ou de chlorure de potassium (on obtient l'ion $[M+K]^+$). Ces informations permettent de déduire le poids moléculaire du composé étudié.

I.3.3.3.3. Ionisation à pression atmosphérique

C'est une technique d'ionisation douce plus récente que le F.A.B; elle consiste à injecter la solution contenant le produit à analyser dans la source et la formation des ions a lieu lors de la volatilisation. Deux techniques sont à distinguer

I.3.3.3.3.1. L'ionisation par électrospray (E.S.I) :

A pression atmosphérique, les gouttelettes de solutés sont formées à l'extrémité d'un fin capillaire de silice, métallisé en surface et porté à un potentiel élevé. Le champ électrique intense leur confère une densité de charge importante. Sous l'effet de ce haut champ électrique, il ya formation d'un électrospray, c'est-à-dire d'une multitude de micro gouttelettes très chargées, par effet d'un gaz sec, elles s'évaporent progressivement en perdant des molécules de solvant par des mécanismes complexes de désolvatation et d'évaporation. Leur densité de charge devenant trop importante, elles explosent en libérant des microgouttelettes constituées de molécules protonées ou déprotonées de l'analyte, porteuses d'un nombre de charges variable.

I.3.3.3.3.2. Ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)

C'est une technique d'ionisation dans la phase gazeuse, basée sur le transfert d'espèces chargées d'un ion réactif à une molécule d'analyte (Mabry, 1969). Elle est utilisée comme méthode d'ionisation pour la spectrométrie de masse, préférentiellement couplée à une chromatographie en phase liquide (HPLC). Les échantillons liquides sont directement introduits dans un nébuliseur pneumatique. Sous l'effet d'un jet d'air ou d'azote, le liquide est transformé en fin brouillard. Un chauffage assure la désolvatation des composés. Ces derniers sont ensuite ionisés chimiquement à pression atmosphérique : en général, la phase mobile vaporisée joue le rôle de gaz d'ionisation et les électrons sont obtenus à partir de décharges d'électrode couronne. L'ionisation des composés est très favorisée lors de ces techniques car la fréquence des collisions est élevée à pression atmosphérique. L'avantage de ces techniques de masse est l'obtention d'ions multichargés et multiprotonés qui permettent la détermination de molécules très lourdes.

I.3.3.4. Spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire trouve un grand emploi pour la détermination des structures flavoniques plutôt compliquées. C'est une méthode précise et efficace, mais exige une grande quantité de produit ; simplement, à l'inverse des autres techniques, elle est non destructive. Il existe la RMN monodimensionnelle et la RMN bidimensionnelle :

I.3.3.4.1. RMN monodimensionnelle

I.3.3.4.1.1. RMN du proton (RMN ¹H)

Elle informe sur l'environnement des différents protons flavoniques qui résonnent généralement entre 6 et 8 ; elle permet de connaître (Markham et al., 1993; Raffaelli, 1997):

- La position et le nombre de divers protons portés par le flavonoïde ;
- Le nombre de substituants méthoxyles porté par le squelette flavonique ;
- Le nombre et la nature des sucres liés à l'aglycone.

I.3.3.4.1.1.1. Protons du noyau A

Selon les substitutions possibles, les résonnances et les multiplicités des protons H-5, H-6 et H-8 sont résumées dans le Tableau 9.

Tableau 9: Déplacements chimiques et multiplicités des protons du noyau A

Nature de flavonoïdes	H-5	H-6	H-8
5,7-OH	—	6,0-6,2ppm d (J=2,5Hz)	6,3-6,5ppm d (J=2,5Hz)
5-OH, 7-OR (R= Sucre)	—	6,2-6,4ppm d (J=2,5Hz)	6,5-6,9ppm d (J=2,5Hz)
5, 6,7-OR (R=H, Sucre)	—	—	6,3ppm (S)
5, 7,8-OR (R=H, Sucre)	—	6,3ppm (S)	—
7-OR (R=H, Sucre)	8,0ppm d (J=9,0Hz)	6,7-7,1ppm dd (J=9Hz et 2,5Hz)	6,7-7,0ppm d (J=2,5Hz)

Le déplacement chimique est basé sur les substituants dans le noyau B et le degré d'oxydation du noyau C. Le Tableau 10 représente quelques déplacements chimiques des protons du noyau B.

Tableau 10: Déplacements chimiques et multiplicités des protons du noyau B

Flavonoïdes	H-2', H-6'		H-3', H-5'	
Flavones (4'-OH)	7,7-7,9 ppm d (J=8,5Hz)		6,5-7,1 ppm d (J=8,5Hz)	
Flavonols (4'-OH)	7,9 -8,1 ppm d (J=8,5Hz)		6,5 – 7,1 ppm d (J=8,5Hz)	
3',4'-di-OH	7,2 –7,3 ppm d (J=2,5Hz)	7,3-7,9ppm dd (2,5-8,5Hz)	—	6,7-7,1ppm d (J=8,5Hz)
3',4',5'-tri-OH	6,5-7,5ppm (S)		—	

I.3.3.4.1.1.2. Protons de l'hétérocycle

Dans le cas des flavones, le proton H-3 apparaît sous forme d'un singulet à 6,3 qui très souvent chevauche avec le signal du proton H-6.

I.3.3.4.1.1.3. Protons des méthoxyles

L'introduction d'un ou plusieurs méthoxyles sur la molécule donne lieu à l'apparition d'un ou plusieurs singulets de 3,8 à 4,5 (Markham, 1976). La mesure du spectre RMN des produits méthoxylés dans deux solvants différents est très utilisée pour la détermination de la

position du ou des groupements méthoxyles sur le noyau des flavonoïdes et ceci par l'observation du déplacement du signal correspondant au(x) méthoxyle(s) dans les deux solvants (Markham, 1976).

I.3.3.4.1.1.4. Protons osidiques

Les protons correspondants à la partie osidique résonnent à des champs forts par rapport à ceux de la génine (3,5 – 4). Le proton anomérique (H-1'') résonne à champ faible par rapport aux autres protons à la partie osidique (4,2 à 6). L'intégration du signal qui est proportionnelle au nombre de protons qu'elle représente permet de déterminer le nombre de sucres, alors que la constante de couplage du proton anomérique permet de déterminer l'anomère α ou β connaissant la nature du sucre.

Le déplacement chimique du proton anomérique (H-1'') est basé sur :

- La nature du flavonoïde et du sucre.
- La position et le type de liaison entre le sucre et l'aglycone.

Les deux tableaux suivants illustrent les déplacements chimiques de quelques protons anomériques dans DMSO-d₆, le premier pour les monoglycosyles alors que le second concerne les diosides (Markham et al., 1975).

Tableau 11: Déplacements chimiques des protons anomériques dans le DMSO-d₆ des monoglycosyles

Sucre	H-1 ^m (ppm)
3-O-β-D-glucoside	4,25-5,56
3-O-β-D-galactoside	5,6
3-O-β-D-glucuronide	5,48
3-O-β-D-xyloside	5,37
3-O-β-D-Alloside	5,67-5,68
3-O-α-L-Glucoside	5,63
3-O-α-L-Rhamnoside	5,31
5-O-β-D- Glucoside	4,56-4,79
7-O-β-D- Glucoside	4,95
7-O-β-D- glucuronide	5,10-5,30
7-O-α-L- Rhamnoside	5,22-5,75
7-O-β-D- xycoside	4,98
8-O-β-D- Glucoside	4,65
8-O-β-D- glucuronide	4,82
2'-O-β-D- glucuronide	5,00-5,11
3'-O-β-D- Glucoside	4,92-5,00
3'-O-α-L- Rhamnoside	5,37-5,43
4'-O-β-D- Glucoside	4,80-5,04
4'-O-β-D-galactoside	5,00
3',5'-O-di-O-β-D- Glucoside	5,24
6-C-β-D- Glucoside	4,58-4,90
6-C-β-D- Rhamnoside	4,85-5,26
6-C-α-D-Arabinoside	4,67
8-C-β-D- Glucoside	4,64-4,88
6,8-di-C-β-D- Glucoside	4,84
8-C-β-D- Rhamnoside	4,64-4,88
8-C-α-L-Arabinoside	4,75-4,89

Tableau 12: Déplacements chimiques des protons anomériques dans le DMSO-d₆ des diosides

1 ^{er} sucre	H-1''(ppm)	Second sucre	H-1''(ppm)
3-O-β-D-glucoside	5,72-5,75	2-O-β-D-Glucosyl	4,63-4,65
	5,28-5,45	6-O-β-D-Glucosyl	3,96-4,02
	5,40-5,66	2-O-α-L-Rhamnosyl	4,90-5,10
	5,28	2-O-α-L-Rhamnosyl	4,37-4,39
3-O-α-L-rhamnoside	5,56	2-O-β-D-Glucosyl	4,10-4,23
	5,21-5,50	3-O-β-D-Glucosyl	4,32-4,48
	5,33-5,44	3-O-β-D-Galactosyl	4,25
	5,31	3-O-α-L-Rhamnosyl	4,81
7-O-β-D- glucoside	4,90-5,25	2-O-β-D-Glucosyl	4,23-4,68
	5,05-5,05	2-O-α-L-Rhamnosyl	5,56

- Quand les protons (H-1'') et (H-2'') du sucre sont diaxiaux, la liaison devient β avec une constante de couplage de 7 – 8 Hz ;
- Quand les protons (H-1'') et (H-2'') sont axial- équatorial, le sucre forme une liaison α avec l'aglycone avec une constante de couplage de 3 à 4 Hz (Markham et al., 1975).

I.3.3.4.1.2. RMN carbone -13

Donne des informations utiles et parfois nécessaires pour mieux identifier la molécule telles que (Markham et al., 1993):

- Le nombre total d'atomes de carbone du composé flavonique ainsi que leur environnement.
- La connaissance de type des liaisons –C et / ou –O- sucres. Le Tableau 13 énumère les valeurs des déplacements chimiques (en δ) de spectres RMN carbone¹³ de quelques flavonoïdes (Markham, 1982).

DEPT 135 et J mod

Cette technique permet de mettre en évidence tous les carbones de la molécule. Cette expérience permet la mise en évidence des carbones primaires (CH₃), secondaires (CH₂), tertiaires (CH) et dans une moindre mesure les carbones quaternaires. La différence majeure entre le DEPT 135 et le J mod, réside dans le fait que les carbones quaternaires sont détectés avec le J mode alors qu'ils ne le sont avec le DEPT.

I.3.3.4.2. RMN bidimensionnelles (RMN – 2D) :

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

expériences, il peut s'ajouter une autre période avant la détection, c'est le temps de mixage (Gunther, 1994).

I.3.3.4.2.1. *Corrélations homonucléaires*

I.3.3.4.2.1.1. *COSY ($^1H - ^1H$)*

Cette expérience fournit des informations sur les couplages homonucléaires 2J et 3J (protons séparés par deux ou trois liaisons) entre les protons voisins et ceux qui sont adjacents.

I.3.3.4.2.1.2. *NOESY ($^1H - ^1H$)*

Cette technique permet d'observer, dans l'espace, les corrélations entre protons (effets Overhauser) d'une même molécule.

I.3.3.4.2.2. *Corrélations hétéronucléaires*

I.3.3.4.2.2.1. *HSQC ($^1J_{H-C}$)*

Cette technique permet d'observer les couplages chimiques entre les carbones et les protons auxquels ils sont liés. Toutefois, elle ne permet pas d'observer les déplacements chimiques des atomes de carbones quaternaires.

I.3.3.4.2.2.2. *HMBC ($^2J_{H-C}, ^3J_{H-C}$)*

Cette technique permet de répondre aux problèmes précédemment posés, puisqu'elle permet la détection des couplages longue distance $^2J_{H-C}$, $^3J_{H-C}$, et permet de déduire les carbones quaternaires couplés aux protons.

Tableau 13: Déplacements chimiques des carbones de quelques flavonoïdes

flavonols				Flavones			
Myricétine[3-O-galactose]	Patuletine	Quercétine	Kamphérol	Tricétine	Lutéoline	Apigénine	Flavonoïde
156.2	147.1	146.9	146.8	164.2	164.5	136.8	C-2
133.9	135.5	135.5	135.6	103.2	103.3	102.8	C-3
177.4	174.1	175.8	175.9	181.6	182.2	181.8	C-4
161.2	151.8	160.7	160.7	161.6	162.1	161.9	C-5
98.6	130.9	98.2	98.2	99.0	99.2	98.8	C-6
164.0	157.2	163.9	163.9	164.2	164.7	164.1	C-7
93.3	93.7	93.5	93.5	93.9	94.2	94.0	C-8
156.2	151.4	156.2	156.2	157.5	157.9	157.3	C-9
104.0	103.5	103.1	103.1	104.0	104.2	103.7	C-10
120.2	122.1	122.1	121.7	120.9	122.1	121.3	C-1'
108.8	115.2	115.3	129.5	106.0	113.8	128.4	C-2'
145.3	145.1	145.0	115.4	146.5	146.2	116.0	C-3'
136.6	147.8	147.6	159.2	137.9	150.1	161.5	C-4'
145.3	115.7	115.6	115.4	146.5	116.4	116.0	C-5'
108.8	120.1	120.0	129.5	106.0	119.3	128.4	C-6'
	60.3						O-CH ₃

I.3.4. Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont souvent des molécules de défense contre les organismes pathogènes. Il n'est donc pas surprenant que certains de ces composés possèdent un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes (bactéries, virus, champignons), les parasites et les insectes. Leur capacité antioxydante peut aussi expliquer un certain nombre de propriétés thérapeutiques.

I.3.4.1. Activité antimicrobienne

Il est connu que certains flavonoïdes sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (Dixon et al., 1983) ; il est par conséquent logique, qu'ils agissent comme substances antimicrobiennes efficaces *in vitro* contre les microorganismes (Cowan, 1999).

I.3.4.1.1. Activité antibactérienne

Des études *in vivo* sur animaux se sont révélées encourageantes (quercétine chez le cochon d'inde infecté par *Shigella*, sophoraisoflavone en injection intrapéritonéale chez des souris infectées par *Salmonella typhimurium*) (Cushnie et al., 2005). Il est suggéré que les isoflavonoïdes agiraient en interférant avec l'incorporation de métabolites et de nutriments dans les cellules bactériennes ou en affectant les acides nucléiques (Botta et al., 2009). Il semble que la position et le type des prénylations soient importants pour l'activité. En effet, on a les meilleures activités avec les groupements isoprényles en position 3' (cycle B) et en 6 (cycle A). De plus, une hydroxylation en position 5 augmenterait l'activité. La présence d'un groupement hydroxyle aliphatique sur l'isoprényle pourrait être mise en relation avec une action sur les souches de *S. aureus* méticilline résistantes. De plus une *méta* dihydroxylation, soit sur le cycle A ou sur le cycle B, augmente l'activité (Botta et al., 2009; Halbwirth, 2010).

I.3.4.1.2. Activité antifongique

De nombreux flavonoïdes possèdent des activités antifongiques; le plus grand nombre appartient aux flavanones et aux flavanes. Quelle que soit la classe de flavonoïdes considérée, il apparaît que le caractère lipophile des composés augmente l'activité, permettant aux molécules de pénétrer plus facilement à travers la membrane fongique (Grayer et al., 2006; Jimenez-Gonzalez et al., 2008). De plus, la présence d'une chaîne isoprène apparaît comme importante pour l'activité mais pas essentielle (Jimenez-Gonzalez et al., 2008).

I.3.4.1.3. Activité antivirale

Le flavonoïde le plus étudié est de loin la génistéine ; néanmoins les mécanismes d'action ne sont pas clairement élucidés (Andres et al., 2009). Des isoflavanones ainsi que des isoflavonoïdes prénylés ont une activité antivirale sur le VIH. Des études suggèrent qu'une absence de groupement hydroxyle en position 4' et une absence de substituant en position 5 est nécessaire à l'activité (Botta et al., 2009). Des flavones (baicaléine, robustaflavone et hinokiflavone) sont décrites comme inhibant la reverse transcriptase du VIH-1, d'autres (gardénine A, 3,2'-dihydroxyflavone) inhibent la protéinase de VIH-1 ; l'intégrase de VIH-1 ou la transcription virale. Dans une étude sur 34 flavonoïdes naturels ou de synthèse, la chrysin apparaît comme la molécule présentant le meilleur index thérapeutique contre VIH-1. Plusieurs mécanismes d'action sont proposés, incluant une inhibition de la polymérase virale, un attachement à l'acide nucléique viral ou aux protéines de la capsid virale (Cushnie et al., 2005). Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe.

I.3.4.2. Activité antioxydante

L'intérêt métabolique des antioxydants alimentaires fait à l'heure actuelle l'objet d'un grand nombre de travaux. Parmi ces antioxydants, de nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle prépondérant des polyphénols.

En effet, les flavonoïdes apportent une protection contre les radicaux libres en empêchant leur liaison avec les lipides membranaires des cellules ; ce qui se traduit par une diminution du malonyl dialdéhyde (péroxyde lipidique) et par la protection de la composition hématologique en permettant une bonne régénération érythrocytaire et une prévention contre la leucopénie et la thrombopénie observées en présence des radicaux libres (Chandana et al., 2008; Chaudhuri et al., 2007). Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et al., 1995). En fait, leur activité antiradicalaire nécessite:

- la structure ortho-diphénolique du cycle B, qui est essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé ;
- la double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo-, qui est responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aryloxy ;
- les hydroxyles en positions 3 et 5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale (Siess et al., 2000).

Les flavonoïdes et en particulier la quercétine qui présente les trois éléments de structure décrits ci-dessus, sont des piègeurs efficaces des radicaux hydroxyles et peroxydes particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique. Enfin, les flavonoïdes possédant une structure catéchol sur le cycle B, et en particulier la (+)-catéchine, sont des piègeurs de l'oxygène singulet, une forme réactive de l'oxygène (Erben-Russ et al., 1987).

I.3.4.3. Activité anti-inflammatoires et effets sur le système immunitaire

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Da Silva et al., 1994; Galati et al., 1994) et sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (Middleton, 1996). Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (Mookerjee et al., 1986; Namgoong et al., 1994). Les flavones (apigénine, lutéoline et 7,3',4' -trihydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que seule la myricétine est active sur les lymphocytes B. L'explication est encore mal connue.

L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourrait s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine tyrosine kinase) (Mookerjee et al., 1986; Namgoong et al., 1994). Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes (Middleton, 1996) . La

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

I.3.4.4. Intérêt des flavonoïdes contre l'obésité

Certains flavonoïdes sont supposés avoir un intérêt dans le métabolisme lipidique en diminuant la lipidémie. L'effet de quelques flavanones (la naringénine, la naringine, l'hespéretine et l'hesperidine) sur la conversion des préadipocytes en adipocytes, sur une lignée cellulaire AML-I a été étudié (Morikawa et al., 2008) . Les deux flavonoïdes sous forme aglycone, à savoir la naringénine et l'hespéretine, ont induit un arrêt de la croissance des cellules entraîné par une apoptose. L'impact de la naringénine sur différentes protéines impliquées dans l'apoptose a été déterminé. Le résultat était que dans les cellules traitées avec ce flavonoïde, les taux de protéines antiapoptotiques (p-Akt, NF- κ B, et Bcl-2) étaient diminués, et ceux de Bad (protéines pro-apoptotiques) augmentés. L'exposition des cellules à la naringénine ou à l'hespéretine durant de courtes périodes a augmenté la taille des gouttes lipidiques dans le cytoplasme. De plus, l'expression de la *fatty acid* synthase (intervenant dans la synthèse des acides gras) et des PPAR- γ a été augmentée dans les cellules traitées à la naringénine. Ces résultats suggèrent que l'apoptose induite par les flavanones n'intervient pas sur la conversion des pre-adipocytes en adipocytes. De ce fait, les adipocytes sembleraient ne pas être une cible directe pour les activités hypolipémiantes des flavanones (Morikawa et al., 2008).

I.3.4.5. Intérêt des flavonoïdes contre le cancer

Parmi les flavonoïdes les plus actifs sur les cellules tumorales, il ya la quercétine et la catéchine qui sont très abondantes dans les aliments. La quercétine prévient la cancérogenèse, surtout le cancer de la peau et du colon. La présence de 20 % de quercétine dans l'alimentation chez les animaux diminue le cancer du côlon et y prévient l'apparition des cryptes anormales (Pietta, 2000).

La catéchine, est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxydesoxyguanosine (8-OHDG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN. Il a été prouvé que la catéchine est plus active que la vitamine E sur les radicaux libres (Pietta, 2000; Tomofuji et al., 2009).

I.4. GÉNÉRALITÉS SUR LES MICROORGANISMES, LES MALADIES INFECTIEUSES , LES ANTIOXYDANTS, LES ANTI INFLAMMATOIRES ET LA CYTOTOXICITÉ

I.4.1. Les Microorganismes

I.4.1.1. Généralités

Les bactéries sont des microorganismes de 1 à 10 μm de diamètre. Elles sont des parasites si elles vivent aux dépens d'autres organismes ; dans le cas contraire elles sont des saprophytes (Seto et al., 1997).

Les champignons sont très répandus dans la nature (levures et moisissures) et peuvent vivre en parasite ou en saprophyte chez les hommes ou les animaux. Les mycoses sont des infections causées par des champignons.

Les substances anti-microbiennes sont des molécules capables d'inhiber le développement des microorganismes tels que les bactéries, les champignons, les levures et même les virus. Ces molécules sont d'origines diverses : biologique (végétaux, microorganismes), synthétique ou héli synthétique (Aissatou, 2005; Prots et al., 2003). Les antibiotiques sont des substances chimiques élaborées par les microorganismes et qui ont le pouvoir de s'opposer à la multiplication des germes microbiens (médicaments bactériostatiques) ou de les détruire (médicaments bactéricides).

La Figure 22 ci-dessous, présente les structures de quelques antibiotiques couramment utilisés (Fozing, 2011).

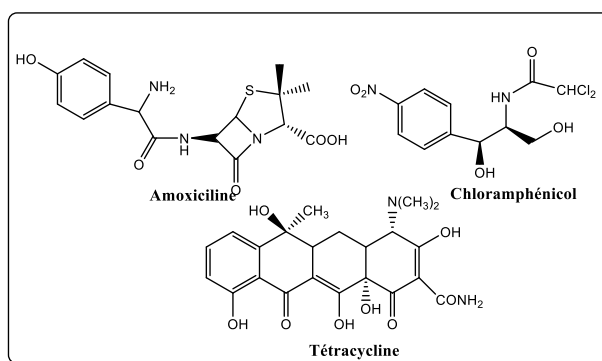


Figure 22: Quelques antibiotiques couramment utilisés

Les antifongiques sont des substances détruisant les champignons responsables des mycoses (fongicides) ou empêchant leur croissance et leur multiplication.

La Figure 23 ci-dessous présente les structures de quelques antifongiques couramment utilisés (Fozing, 2011).

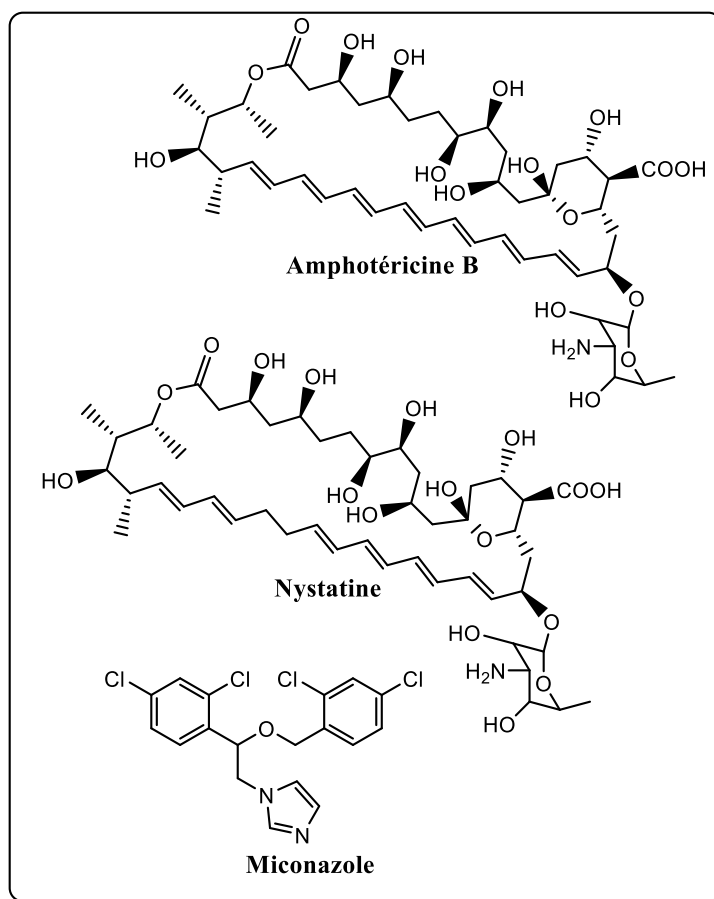


Figure 23: Quelques antifongiques couramment utilisés

I.4.1.2. Exemple de classification des bactéries

Les bactéries sont classées selon :

- **Leur morphologie.**

On distingue :

- Les bactéries en forme arrondie ou coque ou cocci. Parmi celles-ci on peut citer le gonocoque, le staphylocoque, le méningocoque...
- Les bactéries en forme de bâtonnet ou bacille. On peut citer : le bacille de Koch, *Escherichia coli*, *Salmonella sp...*

- **Leur affinité à la coloration de Gram.**

Le Danois Gram a mis au point en 1884 une technique qui permet de classer les bactéries en Gram+ et Gram-. Elle consiste à faire agir sur les bactéries de la violette gentiane puis une solution iodo-iodurée. Si la paroi des cellules bactériennes conserve la coloration violette, même après lavage à l'éthanol, elles sont dites Gram+ ; mais s'il y a décoloration elles sont dites Gram- (Aissatou, 2005).

I.4.1.3. La concentration minimale inhibitrice (CMI).

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotique inhibant de 18 à 24 heures la multiplication des bactéries

(bactériostase). Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories sensible, résistant ou intermédiaire à l'action d'un agent antimicrobien.

Une souche est dite sensible à un antibiotique lorsque sa CMI est nettement inférieure à la concentration sanguine obtenue après administration d'une dose utilisable en thérapeutique. A l'opposé, elle est dite résistante lorsque la CMI de l'antibiotique est trop élevée pour être atteinte sans utiliser des doses toxiques. Si la CMI se situe entre les deux extrêmes, la sensibilité de la souche microbienne est dite intermédiaire. Les organismes ne pourront pas être atteints avec une antibiothérapie standard mais ils pourront l'être par un traitement par voie générale à forte dose ou par voie locale, ou encore si l'antibiotique se concentre où se trouve l'affection.

La détermination de la CMI d'un antibiotique sur une souche microbienne peut être réalisée soit par la méthode par dilution, soit par diffusion de l'antibiotique (Berthe et al., 1988).

❖ **La méthode de diffusion**

Des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé de Muller Hinton préalablement ensemencé avec une suspension de bactéries (10^6 bactéries /mL) en phase exponentielle de croissance. A partir du disque, l'antibiotique diffuse dans la gélose, sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration). Après incubation du milieu de culture (18 heures à 37°C), on constate que chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. La multiplication des microorganismes s'arrête là où il existe dans la gélose une concentration d'antibiotique supérieure ou égale à la CMI. Pour chaque antibiotique, on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur approchée de la CMI de l'agent antimicrobien vis-à-vis de la souche étudiée. En effet, pour un antibiotique donné, une relation existe entre la valeur des diamètres d'inhibition de croissance et celle des CMI. Cette relation étant établie par des études comparatives préalables portant sur un grand nombre de souches appartenant à des espèces différentes (Berthe et al., 1988).

❖ **La méthode par dilution**

C'est la méthode de référence qui peut être utilisée en milieu solide ou liquide. Lorsque la mesure de la CMI est effectuée selon une technique en milieu liquide, on distribue dans un premier temps dans une série de tubes à hémolyse stériles, sous un même volume des concentrations décroissantes d'antibiotique (habituellement en progression géométrique de raison 2). Puis on ajoute dans chaque tube sous un même volume une culture bactérienne en phase exponentielle de croissance, dilué de façon à obtenir une concentration finale d'environ 10^6 bactéries /mL (inoculum bactérien optiquement visible). La CMI de l'antibiotique sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration inhibant après 18 à 24 heures de

contact à 37°C toute croissance bactérienne visible à l'œil nu. Le principe de la technique en milieu solide est identique, l'antibiotique étant incorporé dans un milieu de culture rendu solide par la présence de gélose. L'intérêt de cette technique en milieu solide réside dans la possibilité d'étudier un grand nombre de souches bactériennes (Berthe et al., 1988).

❖ **La méthode bio-autographique.**

Elle consiste à la dilution rapide ainsi qu'à l'isolement des constituants actifs à travers une cible. Les chromatogrammes sont recouverts d'un milieu de culture incorporé de microorganismes. Après une incubation de 24 heures à 37°C, un révélateur approprié permet d'observer l'activité (Mogode, 2005).

I.4.2. Les Maladies infectieuses

I.4.2.1. Généralités

Il y a quelques décennies, les maladies infectieuses semblaient être maîtrisées grâce à la généralisation des mesures d'hygiène et à l'utilisation des antibiotiques et des vaccins. Les progrès scientifiques et technologiques laissaient même croire à une possible éradication de nombreuses pathologies ; celle de la variole à la fin des années 1970 par la vaccination généralisée en a été le symbole (Sansonetti et al., 2006). La résurgence des maladies infectieuses et des parasitoses ajoutée à l'émergence régulière de nouveaux agents infectieux ont démenti ce pronostic optimiste. Les faits sont éloquentes :

(i) la permanence d'endémies dans les pays en développement et leurs corollaires, le risque de pathologies d'importation dues à l'explosion des voyages intercontinentaux et à la globalisation du commerce ;

(ii) la résistance des microbes aux antibiotiques et antiparasitaires disponibles;

(iii) le sida et les hépatites (B et C) devenus endémiques ;

(iv) les toxi-infections d'origine alimentaire ;

(v) les infections acquises en milieu hospitalier (ou infections nosocomiales) ;

(vi) la menace de catastrophes économiques dues à la résurgence d'épizooties avec le risque croissant de transmission à l'homme ;

(vii) les risques plausibles du bioterrorisme ; sans oublier l'impact du réchauffement global de la planète sur les agents infectieux, leurs réservoirs et leurs vecteurs (Connolly et al., 2004; Desenclos et al., 2005).

I.4.2.2. Prévalence et fardeau économique des maladies infectieuses

Avec une mortalité de près de 15 millions chaque année, les maladies infectieuses et parasitaires sont responsables de 26,3 % des décès causés par l'ensemble des maladies et des traumatismes survenant sur la planète (OMS, 2002). Les principaux types d'infections responsables

de décès sont les infections respiratoires aiguës (3,1 millions), le VIH/sida (1,5 - 2,7 millions, avec 1,6 million pour l'Afrique), les maladies diarrhéiques (2 millions avec 760 000 enfants), la tuberculose (1,6 million) et le paludisme (660 000 décès) par an. La rougeole cause encore 745 000 décès en dépit de l'existence d'un vaccin efficace, bien toléré et abordable (OMS, 2014, 2013; Onusida., 2013).

L'Afrique et l'Asie du Sud-est supportent la plus forte charge de mortalité. Plus de 90 % des maladies infectieuses humaines surviennent dans les pays en voie de développement, particulièrement chez les enfants, dans les régions les plus déshéritées, où l'hygiène générale et individuelle est insuffisante et où les politiques de prévention sont inexistantes, inadaptées ou insuffisamment financées (McMichael, 2004).

Cependant, le développement industriel génère aussi dans les pays industrialisés de nouvelles conditions d'émergence infectieuse, comme les infections alimentaires par des agents prenant avantage de la chaîne du froid ou de l'industrialisation de la chaîne alimentaire, les infections nosocomiales survenant dans un environnement hospitalier de plus en plus complexe, alors que la multi-résistance va croissante, les infections opportunistes chez les patients immuno-compromis et les infections des voyageurs (McMichael, 2004). Il est également important de signaler qu'un pourcentage important de cancers (de 15 à 20 %) sont probablement causés par un agent infectieux, viral ou bactérien (Sansone et al., 2006). Les cancers du foie, du col utérin et de l'estomac pourraient être quasi éradiqués par la mise au point ou l'utilisation (lorsque disponibles) de vaccins, respectivement contre les virus des hépatites B (vaccin disponible) et C, certains papillomavirus (vaccins en partie disponibles) et *Helicobacter pylori*. Il est par ailleurs probable que des infections constituent un facteur de risque dans l'étiologie de maladies touchant une large fraction de la population du globe, telles que l'athérosclérose avec *Chlamydia pneumoniae* (Yamashita et al., 1998) et le diabète avec *Helicobacter pylori* (Jeon et al., 2012).

Les décès et la morbidité liés aux maladies infectieuses et parasitaires humaines ont un coût économique et social considérable et un effet sur la croissance qui peuvent être évalués globalement en incorporant les coûts directs imputables aux soins médicaux et les coûts indirects imputables à la réduction d'années d'espérance de vie et de productivité dus à des morts prématurées ou à des complications chroniques. Ce poids porte essentiellement sur les populations les plus défavorisées de la planète (McMichael, 2004). Il va sans dire que la prévention et le contrôle des maladies infectieuses dans les régions endémiques représente une approche socio-économique rentable autant qu'humaniste (OMS, 2002; Sansone et al., 2006).

I.4.2.3. Agents infectieux : Microbes et Parasites

Les organismes causant les infections chez l'homme appartiennent à une très large gamme de groupes taxonomiques et vont des virus aux vers.

I.4.2.3.1. Les virus

Les virus infectent toutes les formes de vie, des bactéries à l'homme en passant par les champignons, les plantes et les animaux (Mims et al., 1993). Ils portent l'information génétique dans leur ADN ou ARN, mais étant métaboliquement inertes par eux-mêmes, ils ne peuvent se répliquer qu'après avoir infecté un hôte, parasitant ainsi l'habilité de l'hôte à transcrire l'information génétique (Kayser et al., 2008).

I.4.2.3.2. Les bactéries

Les bactéries sont des cellules procaryotes avec une organisation cellulaire caractéristique; elles ont un effet bénéfique direct ou indirect soit pour leur potentiel usage commercial, soit pour leur action sur l'organisme humain (flore commensale) ou sur l'environnement dans lequel nous vivons (Mims et al., 1993). Par rapport au grand nombre de bactéries vivant librement, il y en a relativement peu qui causent des pathologies avec un impact important sur le bien-être des humains. Leur importance est telle que les principales ont été bien étudiées et sont actuellement bien connues. Cependant de nouveaux pathogènes continuent à émerger entraînant l'apparition d'infections non encore connues. Ainsi des cas d'infections à *Photorhabdus asymbiotica*, bactérie pourtant entomopathogène, ont été récemment signalés aux Etats-Unis et en Australie (Costa et al., 2010).

I.4.2.3.3. Les champignons parasites

Les champignons sont des microorganismes eucaryotes dont 200 seulement, parmi plus d'un million d'espèces existantes, ont été décrits jusqu'à présent comme agents infectieux chez l'homme. Seulement une douzaine de ces espèces pathogènes sont responsables de 90 % des mycoses. De nombreuses mycoses sont relativement bénignes, c'est le cas des dermatomycoses. Cependant, ces dernières années, le nombre de mycoses menaçant le pronostic vital a augmenté, de par notamment l'augmentation du nombre de patients présentant un déficit immunitaire, quelle qu'en soit la cause. La plupart des champignons pathogènes vivent librement ; ils entrent dans l'organisme de l'hôte par inhalation ou à travers les plaies. Certains existent dans la flore normale du corps humain (*Candida*) et sont inoffensifs à moins qu'il y ait une défaillance des défenses immunitaires (Kayser et al., 2008).

I.4.2.3.4. Les protozoaires

Les protozoaires sont des eucaryotes unicellulaires vivant librement dans l'environnement, mais parasitant l'homme. Ils causent ainsi des infections dont la prévalence est particulièrement importante dans les pays chauds. La transmission des parasites protozoaires

se fait principalement par deux voies, les piqûres d'insectes suceurs de sang et l'ingestion accidentelle d'agents infectieux. La restriction géographique de certaines espèces est due à la distribution des insectes vecteurs et/ou aux conditions climatiques nécessaires pour compléter le développement du parasite dans l'insecte (Sansone et al., 2006). Les infections acquises par voie orale dépendent peu des conditions climatiques, cependant la transmission oro-fécale est favorisée par de mauvaises conditions sociales et hygiéniques, ainsi que par une augmentation de la survie des agents infectieux dans des conditions chaudes et humides (McMichael, 2004).

I.4.2.4. Relation hôte-bactéries pour les maladies infectieuses

Certains microorganismes coexistent avec l'hôte dans une relation équilibrée, ils constituent ce qu'on appelle la flore indigène ou flore commensale du corps que l'on retrouve chez des individus bien portants. Certaines de ces espèces sont bénéfiques pour l'hôte, leur importance étant mise à mal par l'antibiothérapie (Murray et al., 2009).

Une infection se développe quand un agent pathogène pénètre dans l'organisme, s'y multiplie et fait apparaître des symptômes de la maladie suite à des lésions cellulaires ou à des réactions immunitaires (Mims et al., 1993). Les vertébrés ont toujours été exposés aux infections microbiennes depuis des centaines de millions d'années. Comme résultat de ce contact constant pouvant engendrer la maladie ou la mort, ils ont développé des systèmes de reconnaissance des invasions étrangères hautement efficaces, avec des réponses immunitaires et inflammatoires pour restreindre la croissance et la propagation des microorganismes ainsi que pour les éliminer du corps. Si ces réponses étaient totalement efficaces, il y aurait très peu d'infections microbiennes, les microorganismes ne pouvant pas persister dans l'organisme de l'hôte (Kayser et al., 2008).

I.4.2.5. Traitement des maladies infectieuses

La prise en charge et la prévention des maladies infectieuses se réalise essentiellement par l'usage des médicaments (chimiothérapie), l'utilisation des vaccins (immunisation) et des mesures d'assainissement de l'environnement (meilleures conditions d'hygiène, de nutrition, etc.) (Walsh, 2003). La chimiothérapie et l'immunisation diffèrent sur plusieurs points (Geddes, 2005; Murray et al., 2009; Walsh, 2003).

- **Spécificité** : au niveau des antibiotiques, elle constitue leur habilité à détruire les cellules du microbe et non celles de l'hôte, ce qui suppose que l'antibiotique devrait idéalement toucher une cible présente uniquement dans le microbe. La spécificité des vaccins est assez différente, car les cibles spécifiques sur lesquelles ils doivent agir existent déjà chez l'hôte, dans le système immunitaire, et demandent seulement à être activées.

- **Résistance** : Le développement de la résistance affecte aussi bien les antibiotiques que les vaccins.

- **Observance et praticabilité** : Une différence majeure entre antibiotiques et les vaccins réside dans le fait que les antibiotiques sont destinés à soigner une pathologie et doivent être administrés régulièrement, tandis que les vaccins sont destinés à prévenir la pathologie et sont administrés quelques fois seulement, souvent une seule fois.

Une autre approche pour combattre les maladies infectieuses repose sur l'aspect épidémiologique. L'épidémiologie concerne les moyens par lesquels les maladies surviennent, se propagent et s'éradiquent dans une communauté ; les études épidémiologiques peuvent donc contribuer efficacement à prendre des mesures nécessaires au contrôle d'une maladie. Par exemple, si une maladie infectieuse est transmise par un insecte vecteur, une stratégie alternative d'attaque repose sur le contrôle du vecteur ; la transmission par voie oro-fécale peut être prévenue par la surveillance de la qualité de l'eau et de l'évacuation des eaux usées ; les infections se transmettant par les produits sanguins peuvent être en partie contrôlées par des dépistages systématiques au niveau des centres de transfusion.

Enfin, l'hôpital constitue un environnement où le contrôle est particulièrement crucial ; on y trouve en effet des patients souffrant de plusieurs pathologies, dont les infections qui se propagent facilement dans cet environnement confiné. Il existe de nombreux médicaments combattant les maladies infectieuses, mais le développement rapide des résistances suscite à rechercher de nouvelles molécules ou d'envisager d'autres moyens pour combattre celles-ci.

I.4.2.5.1. Traitement d'infections bactériennes : les antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle, semi-synthétique ou synthétique qui arrêtent la croissance des microorganismes ou les tuent. Les antibiotiques qui stoppent la croissance des microbes sont bactériostatiques, ceux qui tuent les microbes sont bactéricides. Certains antibiotiques peuvent être bactériostatiques dans certaines circonstances, et bactéricides dans d'autres ment des processus cruciaux dans les cellules microbiennes. La plupart des molécules introduites en thérapeutique des maladies infectieuses dans les 60 dernières années ont été des produits naturels, élaborés par des microorganismes dans des conditions particulières pour affecter les microbes voisins, soit pour réguler leur croissance, soit tout simplement pour les tuer (Murray et al., 2009). Les produits naturels possédant l'activité antimicrobienne sont des produits du métabolisme secondaire aux voies primaires et fonctions vitales du métabolisme. Lorsque les microorganismes producteurs d'antibiotiques entrent en phases stationnaires de croissance et font face à une compétition pour l'espace vital et les substances nutritives, ils déclenchent les gènes qui encodent la production des molécules d'antibiotiques et les utilisent pour réguler la croissance de leurs voisins. Les producteurs d'antibiotiques ont ainsi un avantage sélectif de croissance, y compris d'accès aux substances nutritives par rapport à leurs voisins mourants (Walsh, 2003). La production d'antibiotiques par

les microbes nécessite des mécanismes de "self-protection" des producteurs afin de se protéger de l'action létale des antibiotiques.

Les antibiotiques sont groupés en classes en rapport avec leurs cibles dans les bactéries. Il y a quatre principales cibles :

- La synthèse de la paroi bactérienne
- La synthèse des protéines par les bactéries
- La synthèse de l'ADN ou de l'ARN bactérien
- La synthèse des folates

Le développement rapide de résistances nécessite la poursuite des recherches en vue de trouver de nouveaux antibiotiques et de prolonger la durée d'utilisation des antibiotiques existants. Parmi les stratégies envisageables, il y a la recherche de nouvelles cibles, la recherche de nouvelles molécules et la recherche de composés non-antibiotiques pouvant soigner les infections.

- **Recherche de nouvelles cibles**

Les biologistes caractérisent sans cesse de nouveaux gènes ou enzymes essentiels à la survie des bactéries ou à leur virulence. C'est à partir de ces cibles moléculaires que les laboratoires de recherche envisagent les antibiotiques du futur, qu'il s'agisse des modifications de molécules actuelles ou de molécules radicalement nouvelles (Tytgat et al., 2009). La plupart des antibiotiques actuels proviennent du criblage des produits naturels et ont été choisis surtout de manière empirique, en fonction de leur effet antibactérien, de leur pharmacocinétique ainsi que de leur toxicité. Dans bien des cas, on ne connaissait pas leur mécanisme d'action. Leur cible réelle (enzyme ou gène bactérien) n'a été identifiée que pendant ou après leur développement clinique (Walsh, 2003). Actuellement, les antibiotiques sont groupés en quelques grandes classes chimiques dont chacune agit sur un mécanisme biologique vital pour l'agent infectieux. Mais un nombre croissant de souches microbiennes, en particulier en milieu hospitalier, devient résistant à ces médicaments, ce qui pose un sérieux problème de santé publique (Perry et al., 2009). L'exploration des processus métaboliques essentiels des bactéries et la caractérisation des enzymes qui les catalysent constituent donc des voies importantes de recherche de nouveaux points d'attaque potentiels. Cela permet d'espérer la mise au point de nouveaux antibiotiques contre lesquels les bactéries n'ont encore développé aucune résistance. Autrefois empirique, la démarche des laboratoires devient donc plus rationnelle : c'est à partir des protéines cibles parfaitement connues que des molécules inhibitrices sont recherchées, et certaines de ces molécules deviendront probablement les antibiotiques de demain (Falconer et al., 2009) . Les laboratoires partent souvent des antibiotiques connus pour développer des dérivés plus actifs, soit en modifiant la molécule d'origine de manière à la faire agir sur une

cible légèrement différente, soit en lui adjoignant un inhibiteur de résistance lorsque le mécanisme est connu. Dans certains cas, la modification structurale peut aboutir à un changement de mécanisme d'action.

La recherche basée sur les nouvelles cibles doit se faire dans le cadre d'une stratégie à plus long terme pour créer de nouvelles classes d'antibiotiques agissant sur des cibles jusqu'ici inexplorées.

- **Recherche de nouvelles molécules**

La recherche de nouveaux antibiotiques part de deux sources, les produits naturels et les composés synthétiques. Les produits naturels ont fourni de nombreux médicaments à la thérapeutique et ont servi à l'hémi-synthèse de beaucoup d'autres. L'objectif de molécules de synthèse entièrement nouvelles n'ayant pas rencontré le succès espéré, les laboratoires se sont intéressés aux antibiotiques existants en améliorant leur efficacité, stabilité, pharmacocinétique ou en diminuant les effets indésirables par des modifications chimiques. Cette approche a permis par exemple d'obtenir cinq générations de pénicillines, quatre générations de céphalosporines, deux générations de carbapénems (Lam, 2007). Une stratégie alternative dans la recherche de nouvelles molécules oriente diverses équipes de recherche vers les composés inhibant les mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cette stratégie a déjà donné de bons résultats tels que le développement des inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam), qui sont co-administrés avec des β -lactames (amoxicilline) donnant une combinaison de composés comme l'Augmentin.

I.4.2.5.2. Traitement d'infections fongiques

Le traitement des infections fongiques fait appel à un nombre restreint d'antifongiques pouvant être classés comme suit.

- (i) Les polyènes (Amphotéricine B, Nystatine) détruisent la structure de la membrane en se fixant sur les stérols membranaires.
- (ii) Les azolés (Kétoconazole, Fluconazole, Itraconazole, etc.) inhibent la synthèse de l'ergostérol dans la membrane, action essentiellement fongistatique.
- (iii) Le 5-fluorocytosine (Flucytosine) interfère avec la synthèse de l'ADN.
- (iv) L'échinocandine inhibe la synthèse du glucane de la paroi cellulaire.
- (v) L'allylamine inhibe la biosynthèse de l'ergostérol.
- (vi) La griséofulvine inhibe la mitose des cellules fongiques (Murray et al., 2009; Walsh, 2003).

Le développement de nouveaux antifongiques demeure nécessaire étant donné que les champignons, comme les autres microorganismes pathogènes, développent des mécanismes de résistance. Cette résistance repose notamment sur la modification de la perméabilité

membranaire (diminution de l'influx et augmentation de l'efflux) et sur des mutations aboutissant à des produits géniques présentant une affinité moindre pour les antifongiques. La recherche peut aussi s'orienter vers les inhibiteurs de la résistance, notamment les inhibiteurs des pompes à efflux (Kayser et al., 2008).

I.4.2.6. Place des plantes médicinales dans la lutte contre les résistances aux antibiotiques

La résistance des microorganismes aux antibiotiques constitue un sérieux problème qui concerne presque tous les antibiotiques et qui se manifeste dans tous leurs champs d'application. D'où l'intérêt sans cesse croissant de chercher de nouveaux composés pouvant agir soit directement sur les microorganismes, soit indirectement en inhibant un ou plusieurs mécanismes de résistance. Cette recherche nécessite de disposer de méthodes d'évaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits de plantes et des composés purs. Les méthodes les plus couramment utilisées sont la microdilution qui permet de déterminer la CMI, la diffusion sur agar permettant de mesurer le diamètre d'inhibition, tandis que la CCM bioautographie permet la localisation des composés actifs sur une plaque chromatographique. Si ces méthodes classiques permettent d'évaluer l'effet antimicrobien des composés testés, une fois l'activité établie, des méthodes plus élaborées sont requises pour élucider le mécanisme d'action de ces composés. Les nouveaux composés actifs peuvent être recherchés dans les plantes médicinales, car celles-ci constituent une source potentielle de composés antimicrobiens et/ou inhibiteurs des mécanismes de résistances aux antibiotiques. En effet, de nombreux composés d'origine végétale ont déjà démontré des propriétés antimicrobiennes; ces composés agissent suivant plusieurs mécanismes:

(i) formation de complexes avec des macromolécules telles que les protéines et les polysaccharides, inhibant ainsi leurs fonctions (polyphénols) ;

(ii) rupture de membranes microbiennes (flavonoïdes lipophiles, terpénoïdes, défensines);

(iii) inhibition de l'adhésion de protéines microbiennes aux récepteurs polysaccharidiques de l'hôte (polypeptides).

Les plantes médicinales fournissent également des composés qui n'ont pas nécessairement un effet direct sur les microorganismes, mais qui augmentent ou restaurent l'activité des antibiotiques en inhibant les mécanismes de résistance. Ces composés appartiennent à diverses classes phytochimiques et agissent comme inhibiteurs des pompes à efflux (flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes), inhibiteurs des PBP-2A (quinones, terpénoïdes), provoquant la perméabilité des membranes bactériennes (terpénoïdes) et inhibiteurs des bêtalactamases (alkyles gallates).

I.4.3. Les Antioxydants

I.4.3.1. Généralités sur les antioxydants

Le concept selon lequel le dioxygène, molécule indispensable pour la vie peut entraîner des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés actifs tels que les radicaux libres, est encore mal perçu dans le domaine médical. Pourtant de très nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont suggéré le rôle de ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose et la cancérogénèse. Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants composés d'enzymes, de vitamines, de protéines et d'oligo-éléments. En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ERO. Un stress survient lorsqu'il y aura un déséquilibre dans cette balance pro oxydants/antioxydants en faveur des ERO. Le potentiel oxydant d'un individu dépend de ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. De très nombreuses études ont montré que les personnes ayant des concentrations sanguines faibles en antioxydants (vitamines A, C ou E) ou des concentrations élevées en marqueurs d'oxydation des lipides ou de l'ADN, ont plus de risque de développer des maladies cardiovasculaires ou un cancer que des personnes ayant un bilan oxydant normal résultant d'une alimentation équilibrée en fruits et légumes (Amadou, 2005).

On désigne par antioxydant (ou piègeurs de radicaux libres) toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, peut retarder ou empêcher de manière significative l'oxydation de ce substrat. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs (Boyd et al., 2003).

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles, collectivement connus sous le nom d'oxygène actif (Boyd et al., 2003).

I.4.3.2. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions ou de métaux de transition (Amadou, 2005) (Figure 24) (Rock, 2006).

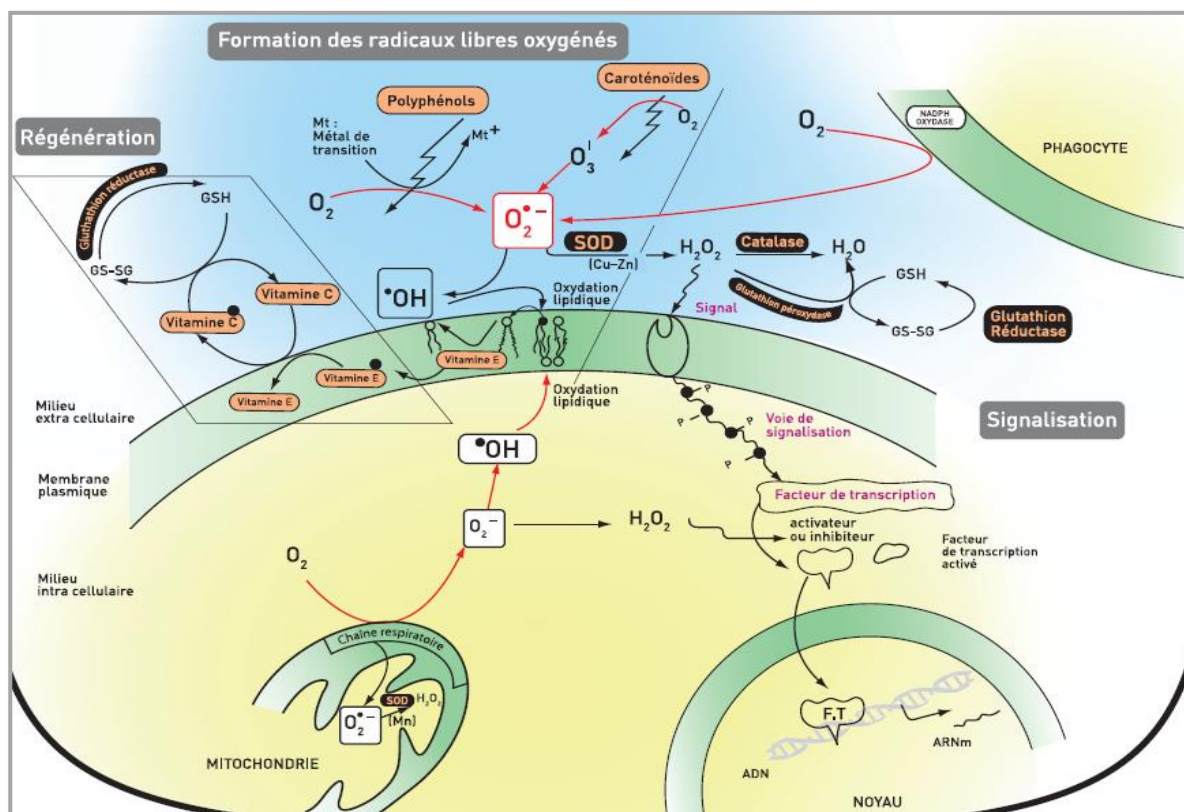


Figure 24: : Mécanisme d'action des Espèces Réactives de l'Oxygène

I.4.3.3. Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés en deux grands groupes (Aissatou, 2005).

I.4.3.3.1. Les antioxydants naturels

On distingue trois types :

- Les antioxydants primaires : ce sont des enzymes qui participent à la neutralisation en radicaux libres excédentaires. On peut citer : l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxyde, certaines protéines de transport comme la ferritine et la ceruloplasmine.
- Les antioxydants secondaires : ils sont apportés par l'alimentation. Ce sont : les vitamines (A et E), les polyphénols (stilbénoides, flavonoïdes, tanins, anthocyanes), les caroténoïdes (β -carotène et α -carotène) et les oligo-éléments.
- Les antioxydants tertiaires : ils comprennent l'enzyme réparatrice de l'ADN et de la méthionine sulfoxyde réductase.

La Figure 25 ci-dessous présente quelques antioxydants naturels (Marc et al., 2004).

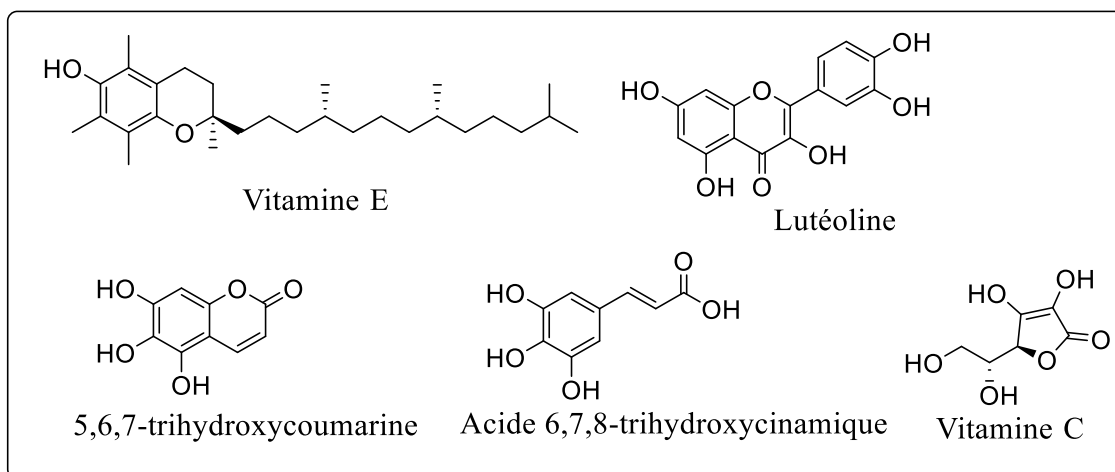


Figure 25: Quelques antioxydants naturels.

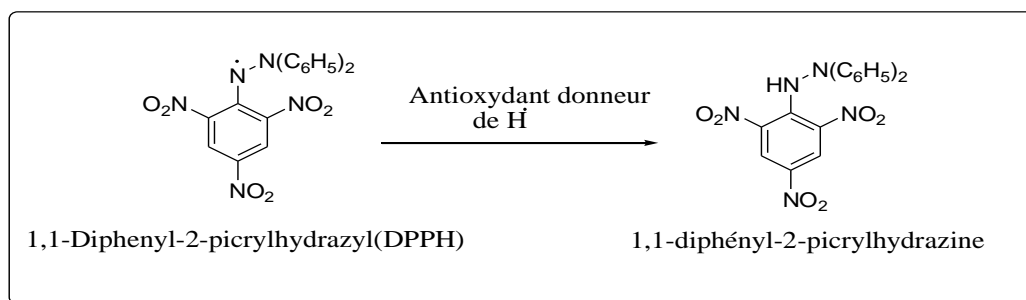
I.4.3.3.2. Les antioxydants de synthèse

Ce sont des produits utilisés dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments. On peut citer : le Butylhydroxytoluène (BHT), le Butylhydroxyanisole (BHA).

I.4.3.4. Test pour la mesure du potentiel antioxydant

I.4.3.4.1. Test à la DPPH

Le test est basé sur la dégradation du radical DPPH. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH de coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte (Figure 26). La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer la EC_{50} , généralement interprétée sur la base



de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (EC_{50}), le résultat dépend de la concentration initiale en DPPH. Ce test n'est pas suffisant mais utile comme premier système d'évaluation du potentiel antioxydant des échantillons à tester (Brand-William et al., 1995).

Figure 26: Piégeage du radical libre DPPH par un antioxydant donneur de H·

En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode en ramenant par exemple les résultats à un équivalent Trolox. Cette méthode est utilisée pour mesurer la capacité antioxydante totale des extraits végétaux et alimentaires.

Le principe consiste à déposer des extraits, fractions ou produits purs à tester sur des plaques CCM de gel de silice GF 254 en aluminium et développer dans des systèmes appropriés. Après séchage, on gicle les plaques CCM avec une solution méthanolique à 2mg/mL de DPPH. Des activités anti-radicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-verte sur fond violet.

I.4.3.4.2. Activité chélatrice

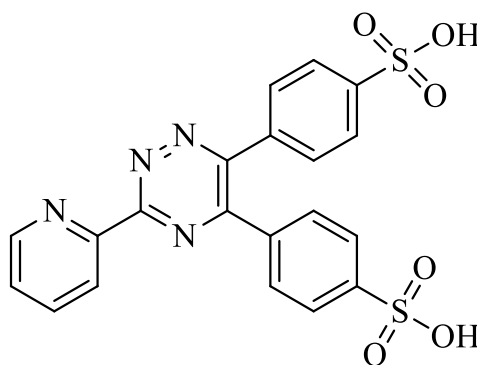
Certaines espèces chimiques possèdent la capacité de chélation des ions des métaux de transition. La chélation des ions des métaux de transition est une activité antioxydante très importante car ces ions peuvent intervenir dans la production des radicaux libres (prooxydant) (Le et al., 2006). Parmi les espèces d'ions métalliques, les ions Fe^{2+} sont les prooxydants les plus puissants à cause de leur réactivité élevée (Gülçin, 2012).

La capacité chélatrice d'un échantillon est déterminée selon une méthode qui est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après le traitement des échantillons avec les ions Fe^{2+} . Des volumes égaux des solutions d'échantillon ou du chélateur standard (EDTA) à différentes concentrations sont additionnés à un même volume de solution de $FeCl_2$ et de méthanol. Après un temps d'incubation bien déterminé, une quantité de ferrozine (acide 3-(2-pyridyl)-5,6-bis (4-phényl)-sulfonique) (**104**) est ajoutée, et le mélange est agité et laissé réagir pendant environ 10 minutes pour permettre la complexation du fer résiduel. L'absorbance du complexe Fe^{2+} -ferrozine de couleur rouge est mesurée à une longueur d'onde déterminée (généralement 562nm). L'activité chélatrice est exprimée en pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous (Le et al., 2006).

$$\text{Activité chélatrice (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.



104 : ferrozine (acide 3-(2-pyridyl)-5,6-bis (4-phényl)-sulfonique)

I.4.4. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont définis comme étant des substances qui agissent sur la douleur et le gonflement qui apparaissent suite à une agression d'un agent pathogènes. Elles bloquent la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation (comme les prostaglandines) et donc diminuent la sensation de douleur mais aussi l'inflammation (Orliaguet et al., 2013). Elles sont utilisées lorsque la réaction inflammatoire se prolonge de façon anormale (inflammation chronique) et entraîne des dommages aux tissus. Ces molécules sont classées en anti-inflammatoires stéroïdiens (cortisone et dérivés), antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS) et anti-inflammatoires naturels.

I.4.4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

C'est une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antalgique, antipyrétique (contre la fièvre) et antiagrégant plaquettaire pour certains. C'est une catégorie de médicaments renfermant des nombreuses molécules telles que le diclofénac, l'ibuprofène, l'aspirine et l'indométacine (Hassan et al., 2019).

Leur mode d'action repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase 1 et/ou 2, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette propriété commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), des prostacylines et des thromboxanes, importants médiateurs de l'inflammation. Malheureusement, ils sont également associés à de nombreux effets délétères car leur utilisation prolongée provoque des troubles gastro-intestinaux (comme les saignements intestinaux) et le dysfonctionnement plaquettaire (Capet et al., 2021). D'autres effets secondaires comme l'hypertension associée au dysfonctionnement rénal ont été également mentionnés

I.4.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens constituent une classe des médicaments qui sont des dérivés synthétiques de la cortisone. Parmi eux, on peut citer : le méthylprednisolone, le bêtaméthasone, la prednisone et la prednisolone. Ce sont des puissants antiinflammatoires très utilisés doués également de propriétés immuno-modulatrices et (Coutinho et Chapman, 2011).

Parlant de leur mécanisme d'action, les glucocorticoïdes ont, à l'image des AINS, une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines qui s'exerce spécifiquement sur la phospholipase A2, au début du métabolisme de l'acide arachidonique. Ils ont une action à la fois cytoplasmique et génomique, ayant pour conséquences une modulation de la transcription et de l'expression des médiateurs (Dejean and Richard, 2012).

En effet, les corticoïdes agissent par le biais d'un récepteur qui est composé de 3 domaines distincts : le premier domaine fixe les glycoprotéines (partie N-terminale), le second sert à l'ancrage du complexe glucocorticoïde- récepteur à l'ADN nucléaire (partie intermédiaire), le troisième domaine va activer ou bloquer le promoteur des gènes (partie C-terminale). Ce récepteur est localisé dans le cytoplasme des cellules sous forme inactive et lié à un complexe protéique dont la « heat-shock protein » HSP 90 (protéine de choc thermique) et des immunophilines (protéines facilitant l'association d'autres protéines) (Mitre-Aguilar et al., 2015). Lorsque les glucocorticoïdes se fixent à leur récepteur, ils l'activent, ceci induit automatiquement une modification de la conformation du complexe protéique (protéines chaperonnes) dans le cytoplasme. Conséquence, migration de l'ensemble ligand-récepteur dans le noyau (translocation nucléaire) pour se fixer sur des séquences d'ADN spécifiques appelés : les séquences GRE (Glucocorticoid Response Element). Ces séquences sont présentes sur le promoteur des gènes de nombreux médiateurs de la réponse inflammatoire. Les glucocorticoïdes en se fixant donc sur le promoteur des gènes vont soit bloquer l'action des facteurs de transcription nucléaire qui jouent un rôle important dans le cadre de la réponse à l'agression tels que NF- κ B, soit stimuler la transcription des gènes (par exemple la lipocortine-1, thymosine,..). En bref, les glucocorticoïdes se fixent sur le promoteur des gènes des médiateurs pro-inflammatoires et bloquent leur action (Roquilly et Asehnoune, 2019).

Il est à noter que l'utilisation de ces corticostéroïdes a des inconvénients. Ils sont bien connus pour provoquer l'hyperglycémie, une sensibilité accrue aux infections et des troubles psychiatriques (Capet et al., 2021).

I.4.4.3. Les anti-inflammatoires naturels

Les composés phytochimiques issus du règne végétal et fongique sont très nombreux avec une gamme variée d'activités biologiques (Dhingra et al., 2018). Certains parmi eux, possèdent une activité anti-inflammatoire et ont pour cibles particulières la COX-1 et -2, les lipoxigénases (LOX), le NO, la phospholipase A2 (PLA2), etc. Ces molécules présentent un intérêt grandissant car elles offrent des avantages par rapport aux anti-inflammatoires classiques, avec moins d'effets secondaires (Maroon et al., 2010). On trouve parmi les molécules anti-inflammatoires d'origine naturelle, la ciclosporine A, composé isolé du champignon *Tolypocladium inflatum*. Elle est capable d'inhiber l'IL-2. La curcumine isolée de *Curcuma Zongu L.* qui montre cliniquement une efficacité comparable à celle de la phénylbutazone. L'oléorésine de diverses espèces de *Copuiferu L.* (Fabaceae), la magnoshinine et la magnosaline, isolées des fleurs de *Magnolia salicifolia*, dont les essais pharmacologiques réalisés confirment l'utilisation en médecine traditionnelle des fleurs contre l'inflammation chronique des sinus.

I.4.5. La Cytotoxicité

La cytotoxicité est la propriété d'un agent toxique à détruire des cellules vivantes, par exemple : les médicaments cytostatiques. Cibles biologiques de l'action des cytotoxiques Les membranes cellulaires peuvent être le siège d'altérations diverses telles que la peroxydation lipidique, la perte de la perméabilité sélective de la membrane plasmique. Au niveau des mitochondries, ces toxiques inhibent la phosphorylation oxydative, la bêtaoxydation des acides gras, la respiration cellulaire, et par conséquent, entraînent une chute de la concentration en ATP.(Robert R., 2007)

Au niveau des lysosomes, ils inhibent les capacités de dégradation de la cellule. Le patrimoine génétique peut-être altéré par les génotoxiques.

I.4.5.1. Mécanismes biochimiques impliqués dans la mort cellulaire

L'élévation de la concentration cytosolique en Ca^{2+} qui était maintenue grâce à un contrôle très strict du transport membranaire et par des réserves internes situées dans les mitochondries et le réticulum endoplasmique, une rupture de cette régulation est souvent le premier événement du développement de la toxicité cellulaire. (Robert R., 2007)

La déplétion en ATP et/ou la diminution du rapport ATP/ADP sont des événements consécutifs à des atteintes mitochondriales directes ou indirectes, ils entraînent des troubles de l'anabolisme, un arrêt de la plupart des fonctions cellulaires essentielles, une élévation du Ca^{2+} intracellulaire par inhibition des ATPases contrôlant l'homéostasie calcique. Une altération de l'état d'oxydoréduction lié à l'effondrement du taux de glutathion réduit (GSH), ainsi que les activités enzymatiques de la superoxyde dismutase et la catalase qui déterminent le statut antioxydant des cellules.(Roger et al., 2005)

I.4.5.2. Méthodes d'études de la cytotoxicité

Il existe trois grands groupes de méthodes d'études de la cytotoxicité :

- des méthodes fondées essentiellement sur des perturbations de la perméabilité membranaire ;
- des méthodes fondées sur des altérations de la prolifération cellulaire ;
- autres méthodes.

I.4.5.3. Méthodes fondées essentiellement sur des perturbations de la perméabilité membranaire (Jean-Louis et François, 2006)

On distingue deux types :

- la méthodes de cytotoxicité utilisant des colorants : basées sur l'utilisation d'un colorant qui, en fonction de ses caractéristiques, pénètre dans les cellules vivantes ou mortes. La proportion relative des cellules colorées ou non est un reflet exact du nombre de cellules vivantes ou mortes et donc de

la viabilité de l'ensemble de la population cellulaire, en relation directe avec la concentration du toxique étudié.

Il existe 3 types de colorants :

- Les colorants vitaux ou d'exclusion (cellules mortes).
 - Les colorants supravitaux ou d'inclusion (rouge neutre pour les cellules vivantes).
 - Les colorants nécessitant une étape de métabolisation (sel de tétrazolium).
- la méthodes mesurant le relargage des molécules dans le milieu extra cellulaire : ces méthodes comprenant une méthode enzymatique (mesure de l'activité de la LDH) et une méthode radioactive (mesure de la libération du chrome radioactif (^{51}Cr) lié de manière non covalente aux acides aminés basiques de protéines intracellulaires libérés par les cellules mortes dans le milieu et quantifié par un compteur gamma (*Jean-Louis et François, 2006*).

I.4.5.3.1. Méthodes fondées sur les altérations de la prolifération

Elles reposent sur le principe que tout effet toxique, en tuant des cellules ou en bloquant le cycle cellulaire, diminue la prolifération de la population. On distingue 2 groupes de méthodes : méthodes de numération, et les méthodes biochimiques qui quantifient l'ADN, les protéines totales, reflet du nombre de cellules (*Jean-Louis and François, 2006; Robert R., 2007; Roger et al., 2005*).

I.4.5.4. Autres méthodes

Ils existent d'autres méthodes à principes différents, exemple : les méthodes morphologiques fondées sur l'étude des altérations cellulaires jusqu'à la lyse (*Jean-Louis and François, 2006; Robert R., 2007; Roger et al., 2005*).

CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSIONS

II.1. ETUDES PHYTOCHIMIQUES

II.1.1. Extraction et isolement des constituants chimiques des plantes étudiées

II.1.1.1. Extraction et isolement des constituants des écorces de *Boswellia dalzielii*

Les écorces de *B. dalzielii*, préalablement séchées à l'air libre et réduites en poudre (3,5Kgs), ont été placées dans un percolateur et macérées au méthanol (5 L) pendant 48 heures

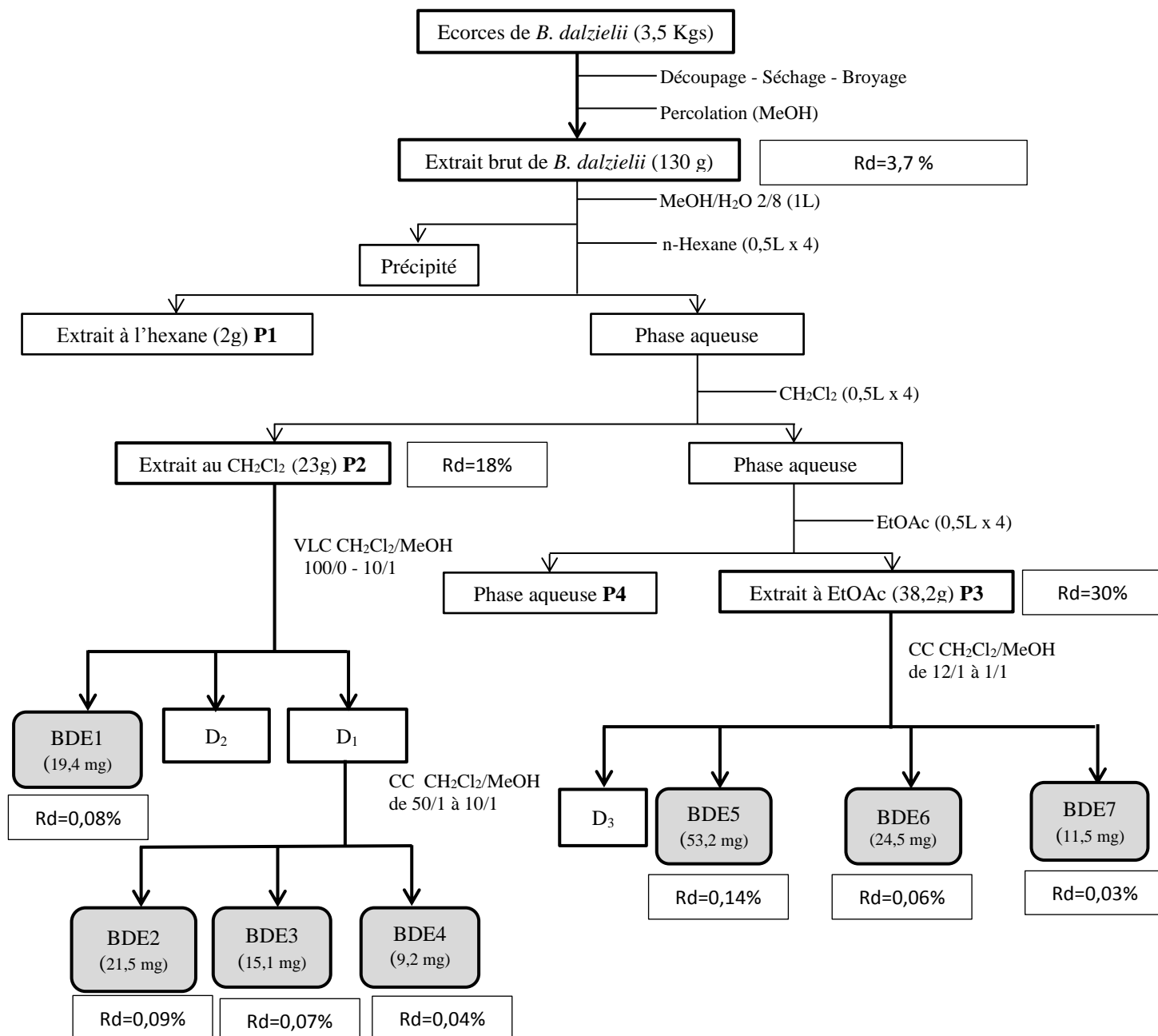


Schéma 3: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces de *B. dalzielii*

jusqu'à épuisement. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C sous pression réduite pour conduire à l'obtention de 130g d'extrait brut. Une partie de cet

extrait (115g) a été mise en suspension dans 1 L d'un mélange MeOH-H₂O (2:8) puis partitionnée avec 500 mL du n-hexane, du dichlorométhane et de l'acétate d'éthyle quatre fois pour donner trois fractions et un résidu (Schéma 3).

II.1.1.1. Extraction et isolement des constituants chimiques des racines de *Echinops gracilis*

Les racines de *E. gracilis* ont été découpées, séchées à l'air libre puis broyées finement. La poudre obtenue (3,0 kgs) a été extraite à l'acétate d'éthyle (AcOEt) à froid par percolation pendant 72 heures. Après concentration à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite, 40 g d'extrait brut a été obtenue. 33.8 g de cet extrait a été soumis à la chromatographie sur colonne (CC) de gel de silice avec Hex-AcOEt de polarité croissante (100:0 à 0:100). L'isolement des constituants chimiques a été réalisé suivant le protocole ci-dessous.

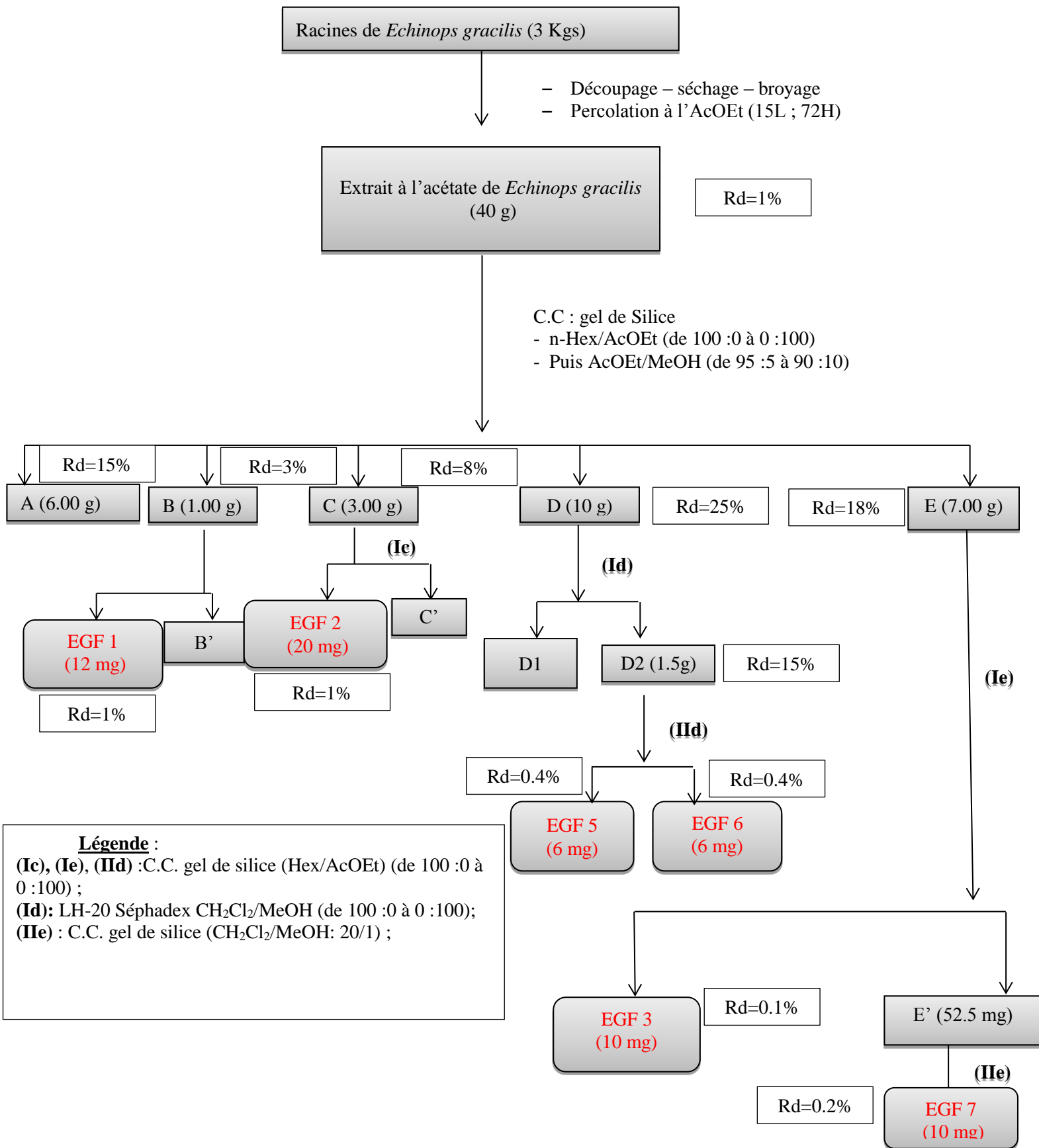


Schéma 4: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de *Echinops gracilis*

II.1.1.1. Extraction et isolement des constituants des parties aériennes de *Echinops gracilis*

Trois kilogrammes de poudre issue des parties aériennes séchées ont été macérées à température ambiante dans 12 L de MeOH pendant 72 H, pour donner 190 g d'extrait, après concentration à l'évaporateur rotatif. Cet extrait a fait l'objet d'un épuisement à l'Hexane (0.5L X 4) (P1'). La phase aqueuse de MeOH/H₂O 80% a été traitée avec de l'acétate d'éthyle (EtOAc) (0.5L X 4), pour donner 19.5 g d'extrait (P2'). L'isolement des constituants chimiques a été effectué selon le protocole du schéma ci-dessous ;

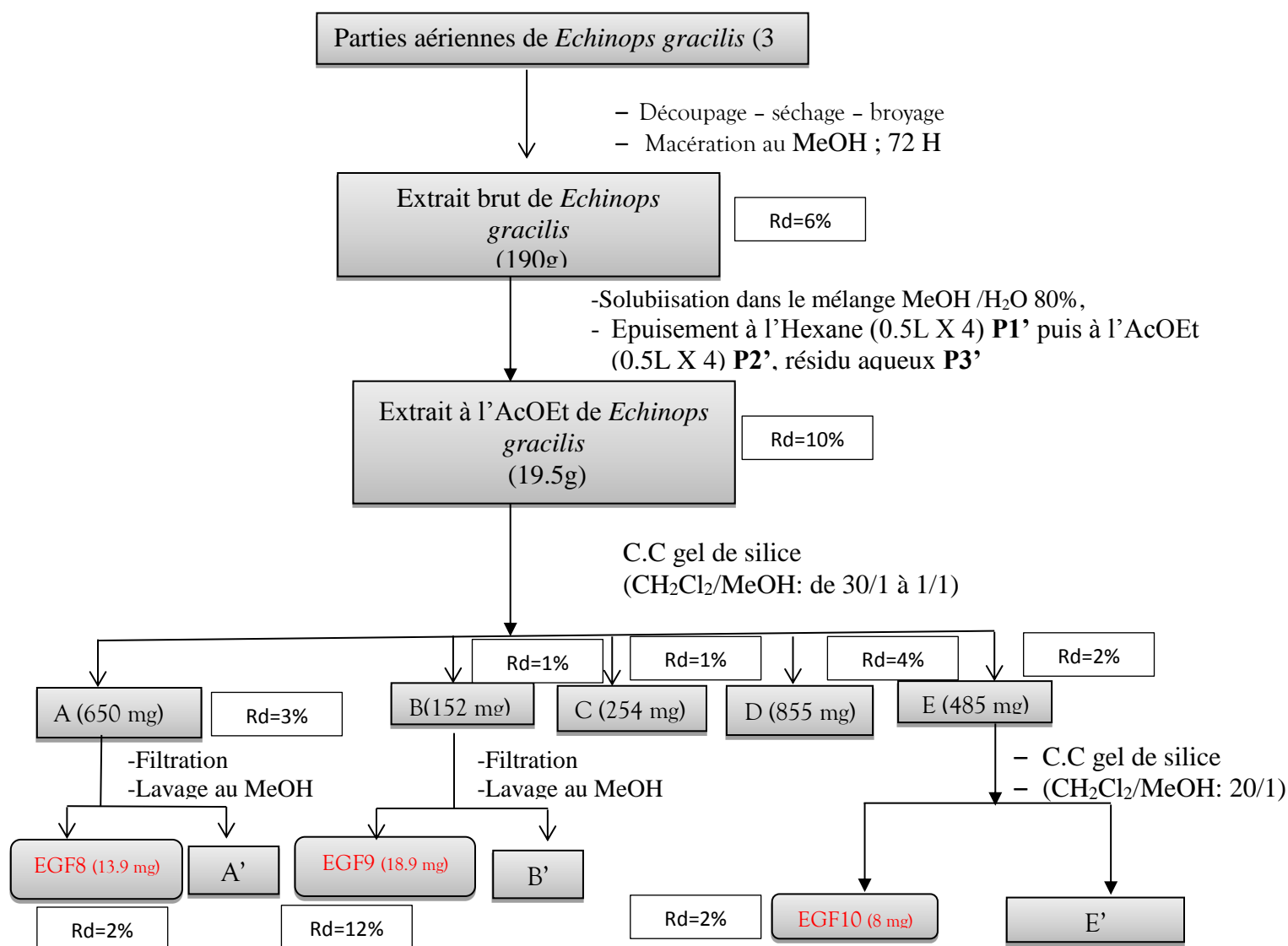
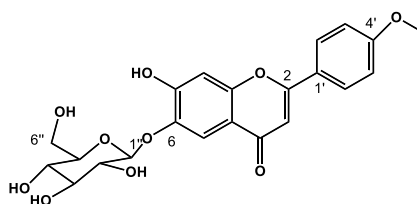


Schéma 5: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des parties aériennes de *Echinops gracilis*

Récapitulatif des composés isolés

Boswellia dalzielii

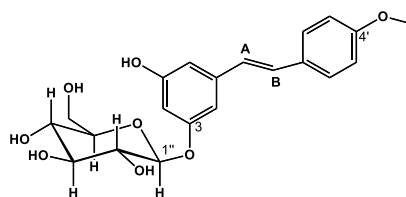
Flavonoïde



BDE2

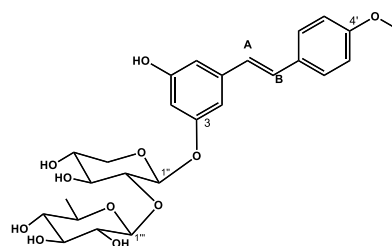
105 : 7-hydroxy-4'-méthoxy-6-(*O*- β -*D*-glucopyranosyl)-flavone

Stilbènes



BDE6

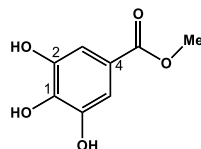
106: 4'-méthoxy-3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-*E*-resvératrol



Composé BDE7

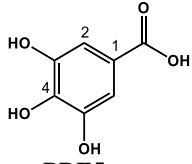
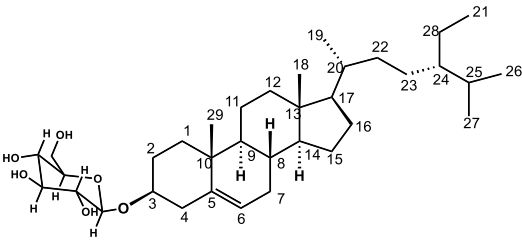
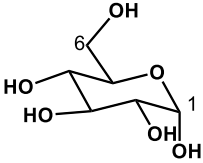
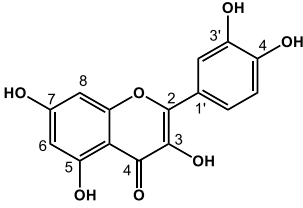
107:4'-méthoxy-3-*O*-[2''-*O*-rhamnopyranosyl]-xylopyranosyl]-(*E*)-resvératrol

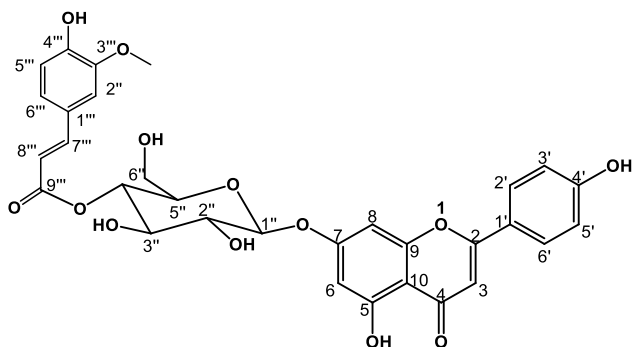
**Dérivés
d'acide
benzoïques**



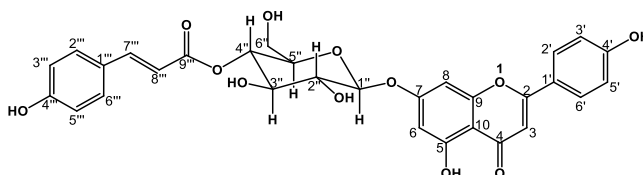
BDE4

108: Gallate de méthyle

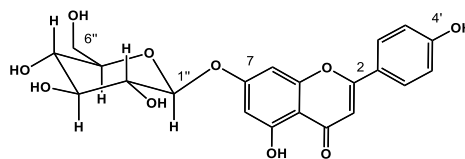
	 <p style="text-align: center;">BDE5</p> <p style="text-align: center;">...</p>
Stérol	 <p style="text-align: center;">BDE1</p> <p style="text-align: center;">109: 3-O-β-D-glucopyranosyl-β-sitostérol</p>
sucre	 <p style="text-align: center;">BDE3</p> <p style="text-align: center;">110 : α-D-glucopyranoside</p>
<i>Echinops gracilis</i>	
Flavonoïdes	 <p style="text-align: center;">EGF7</p> <p style="text-align: center;">53: Quercétine</p>



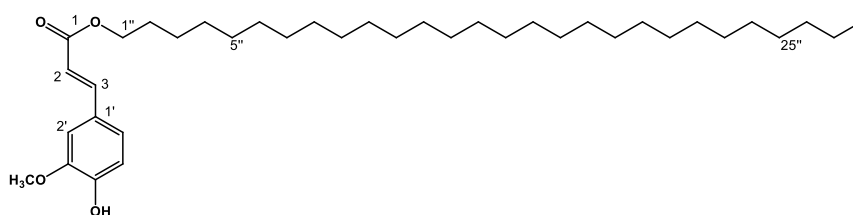
Composé EGF8
111: 7-O-(4''-feruloyl)-β-D-glucopyranosyl apigénine



Composé EGF9
112: 7-O-(4''-trans-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranosyl-apigénine

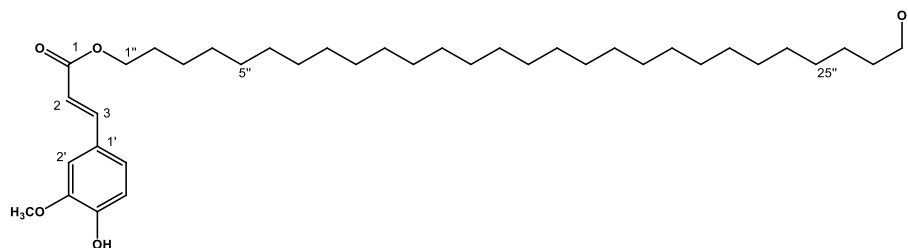


EGF10
113: 7-O-β-D-glucopyranosyl apigénine

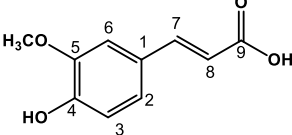
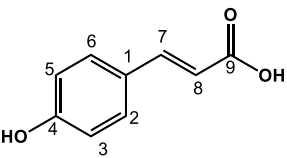
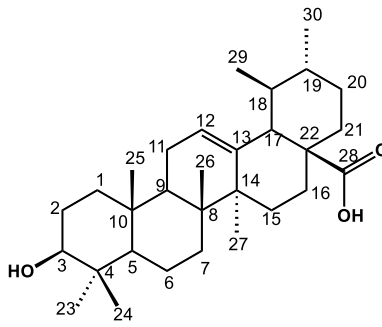
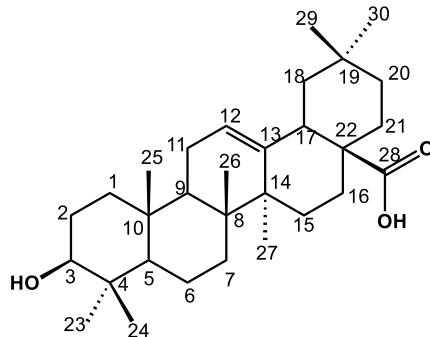


EGF1
114: Erythrasinate

**Phényl
propanoïdes**



EGF2
115: Vogélate

	 <p style="text-align: center;">EGF3 98 : Acide férulique</p>
	 <p style="text-align: center;">Composé EGF4 116: Acide <i>p</i>-coumarique</p>
Triterpènes pentacyclique	 <p style="text-align: center;">EGF5 117: Acide ursolique</p>
	 <p style="text-align: center;">EGF6 118: Acide oléanolique</p>

II.1.2. Analyses structurales des composés isolés

II.1.2.1. Analyses structurales des composés isolés des écorces de *Boswellia dalzielii*.

II.1.2.1.1. Identification du stérol BDE1

Le composé **BDE1** se présente sous forme de solide amorphe blanc soluble dans le chloroforme. Il donne avec le réactif de Liebermann Burchard une coloration bleu-verdâtre indiquant qu'il est un stéroïde. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z=577$ correspondant à la formule brute $C_{35}H_{60}O_6$ renfermant 6 insaturations.

L'analyse du spectre RMN 1H de ce composé (Figure 27) montre des déplacements chimiques dans l'intervalle de 0,77-0,94, suggérant ainsi la présence des méthyles (12H, H-19, 26, 27, 24). On observe un singulet à 0,64 attribué aux protons méthyléniques (H-29). Le proton oléfinique est observé à 5,35. Les signaux observés à 0,87 et 0,88 sont attribués aux protons méthyléniques du fragment isopropényle. Des protons méthyliques (H-19) ont été observés à 0,95. Dans la zone de 2,89-4,27, on observe les protons du glucose sous forme de multiplet. Le proton du groupe -CH du glycoside (proton anomérique) résonne à 4,20 sous forme de doublet avec une constante de couplage $J = 7,9$ Hz suggérant qu'il s'agit d'un β glucoside. Le proton H-3 a été observé à 2,98. Les protons d'hydroxyle du fragment osidique ont montré une résonance entre 3,37-3,55 et ont été attribués respectivement, aux protons des carbones C-2', C-3' C-4' et C-6'.

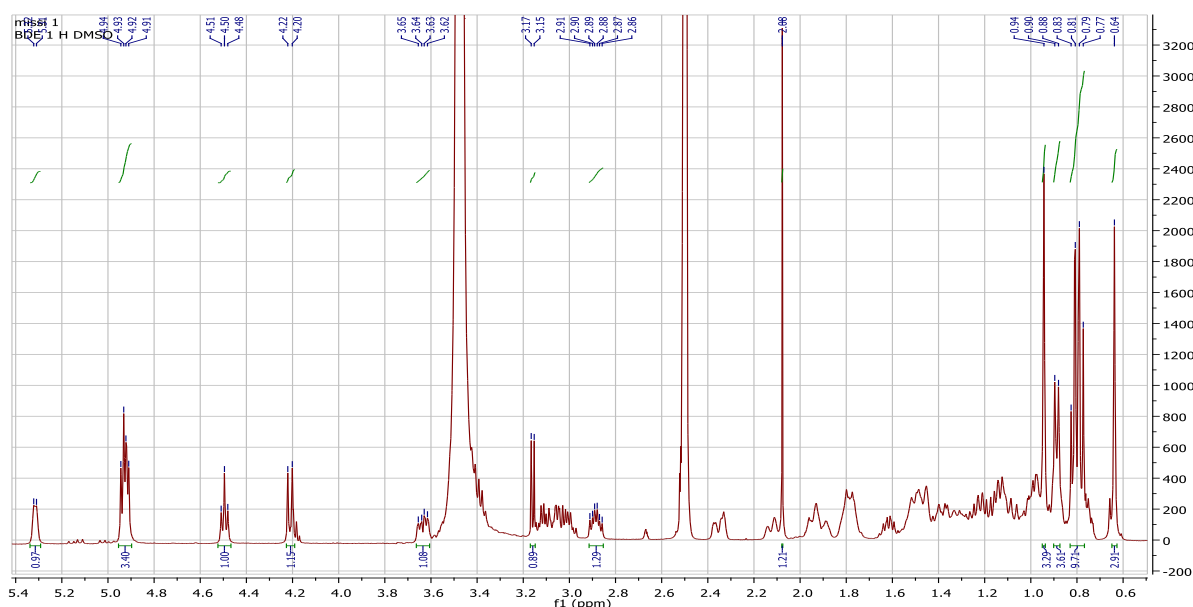


Figure 27: Spectre RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE1

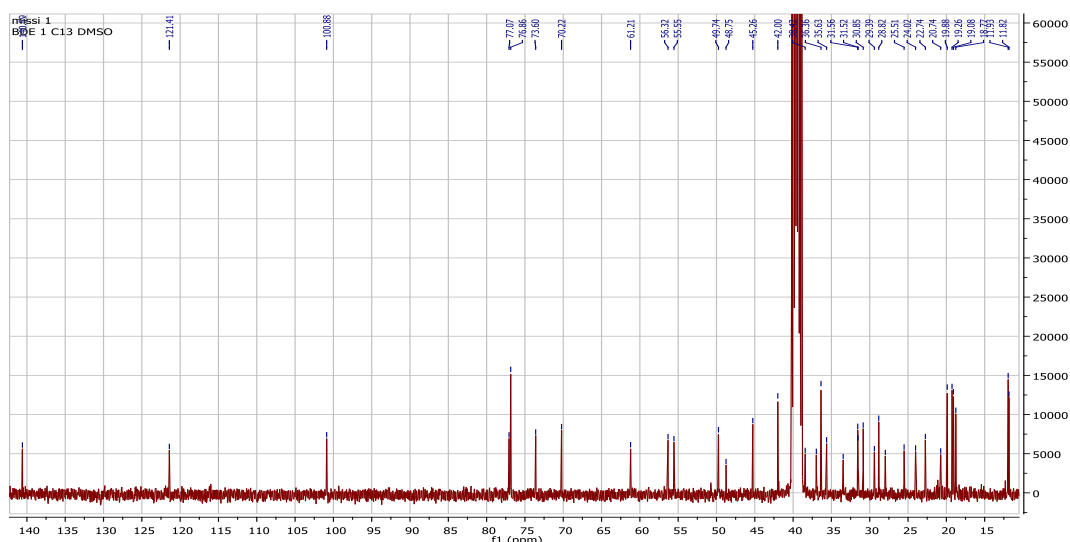
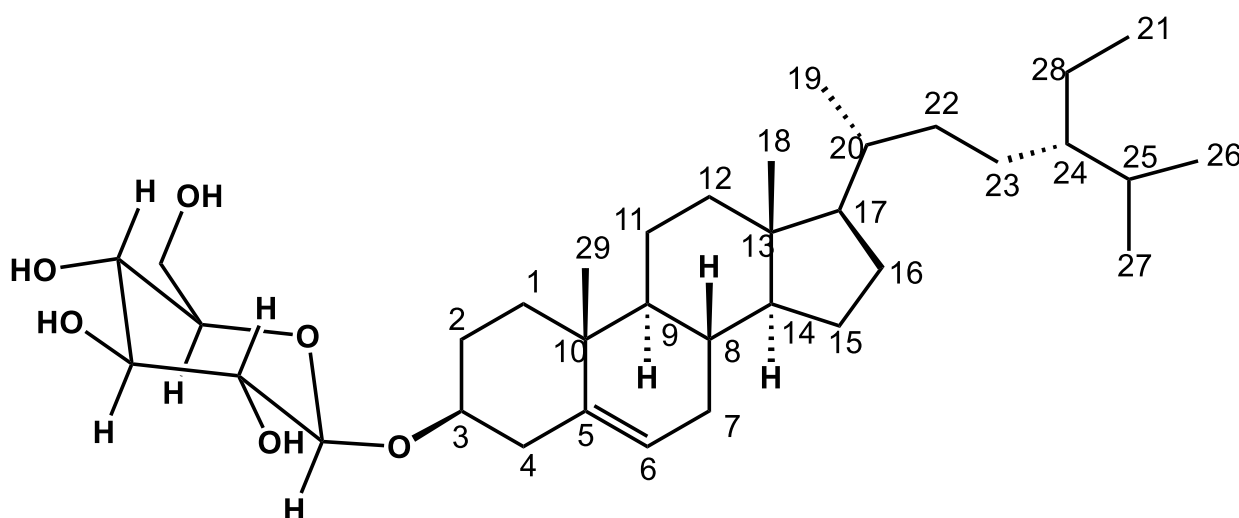


Figure 28: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE1

Le spectre de RMN ^{13}C du composé BDE1 (Figure 28) indique 35 signaux de carbone, dont 6 sont pour le fragment osidique et 29 carbones attribuables au fragment de l'aglycone. Les signaux de carbone du fragment osidique observés à 61,2 (C-6'), 70,2 (C-4'), 73,6 (C-2'), 76,9 (C-5'), 77,0 (C-3'), et 100,9 (C-1') sont bien compatibles avec ceux du fragment glycopyranosyle. Les signaux de l'aglycone sont observés à 140,6 (C-5), 121,4 (C-6), 48,7 (C-3), 56,3 (C-14), 55,55 (C-17), 49,7 (C-9), 45,3 (C-22), 42,0 (C-13), 30,8 (C-4), 38,4 (C-12), 37,0 (C-1), 36,4 (C-10), 35,6 (C-18), 33,5 (C-20), 31,5 (C-7), 31,6 (C-8), 29,4 (C-2), 28,8 (C-25), 27,0 (C-16), 25,5 (C-21), 24,0 (C-15), 22,7 (C-23), 20,7 (C-11), 19,8 (C-26), 19,3 (C-27), 19,0 (C-19), 18,7 (C-28), 11,9 (C-24) et 11,8 (C-29).

La comparaison de toutes ces données avec celles de la littérature (Tableau 14) nous a permis d'attribuer à **BDE1** la structure (**119**) qui est celle du 3-*O*- β -D-glucopyranosyl- β -sitostérol (Peshin et al., 2017).



BDE1

119: 3-*O*- β -D-glucopyranosyl- β -sitostérol

Tableau 14: Données de RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) de BDE1 comparées à celles de la littérature (100 MHz, CDCl₃)

	Composé BDE1	Littérature (Peshin et al., 2017).
Position	δ_c	δ_c
1(CH ₂)	37,0	36,8
2(CH ₂)	29,4	29,3
3(CH)	76,9	76,9
4(CH ₂)	39,4	39,3
5(qC)	140,6	140,4
6(CH)	121,4	121,2
7(CH ₂)	31,6	31,4
8(CH)	30,9	31,3
9(CH)	49,7	49,6
10(qC)	36,4	36,2
11(CH ₂)	20,7	20,6
12(CH ₂)	38,4	38,3
13(qC)	42,0	41,8
14(CH)	56,3	56,1
15(CH ₂)	24,0	23,8
16(CH ₂)	28,0	27,8
17(CH)	55,6	55,4
18(CH ₃)	11,8	11,6
19(CH ₃)	19,3	19,1
20(CH)	35,6	35,5
21(CH ₃)	18,8	18,6
22(CH ₂)	33,5	33,3
23(CH ₂)	25,5	25,4
24(CH)	45,3	45,1
25(CH)	28,8	28,6
26(CH ₃)	19,9	19,7
27(CH ₃)	19,1	18,9
28(CH ₂)	22,7	22,1
29(CH ₃)	11,8	11,8
1'(CH)	100,9	100,7
2'(CH)	73,6	73,4
3'(CH)	77,0	76,9
4'(CH)	70,2	70,0
5'(CH)	76,9	76,7
6'(CH ₂)	61,2	62,8

II.1.2.1.2. Identification du flavonoïde BDE2

Le composé BDE2 se présente sous forme d'un solide amorphe jaune, soluble dans le méthanol. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire [M+H]⁺ à $m/z=446,12$, correspondant à la formule brute C₂₂H₂₂O₁₀, renfermant 12 insaturations.

L'exploitation du spectre RMN ¹³C de BDE2 (Figure 30) nous montre des signaux correspondant à un total de 22 carbones. Dans la zone des champs forts, on observe le signal

d'un méthoxyle à δ 54,9 ; les signaux des carbones d'un sucre à δ 60,2 ; 69,1 ; 72,9 ; 76,5 ; 76,9 ; 100,4 qui correspondent à ceux d'un glucose (Agrawal et al., 1992; De Bruyn et al., 1975)

Dans la zone des champs faibles, on observe les signaux des carbones oléfiniques α et β à δ 128,8 et 129,7, respectivement ; les signaux très intenses des carbones du système aromatique AA'BB' à δ 127,4 et 115,1.

Son spectre RMN ^1H (Figure 29) présente des signaux correspondant, après intégration, à un total de 22 protons. Dans la zone des champs forts, on observe les signaux des protons du glucose parmi lesquels, le doublet du proton anomérique à δ 4,80 avec une constante de couplage 7,5 Hz. On observe aussi le singulet de trois protons du méthoxyle à δ 3,73. Dans la zone des champs faibles, on observe 02 doublets à δ 6,93 et 7,52 correspondant à un système aromatique AA'BB'; on observe également des singulets à δ 6,58 ; 6,75 et 6,96 correspondant respectivement, aux protons H-8, H-3, H-5 d'une chromone trisubstituée

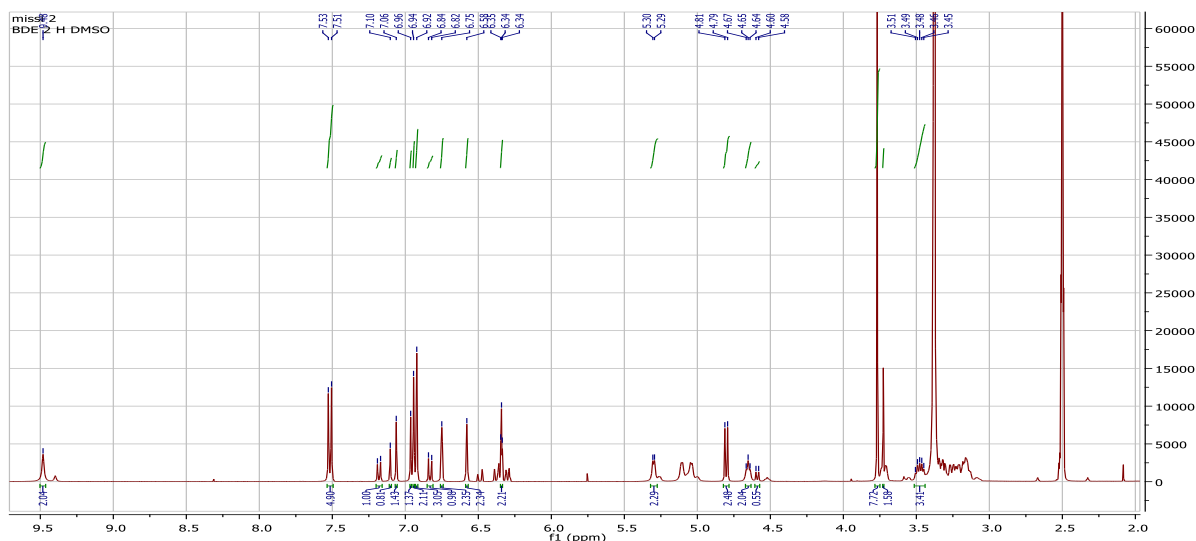


Figure 29: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE2

Sur son spectre HMBC (Figure 31), nous observons :

- La corrélation entre le proton anomérique à 4,78 ppm et le carbone C-6 à 161,4 ppm qui permet d'établir la jonction entre le fragment osidique et l'aglycone en position 6 ;
- La corrélation entre les protons du méthoxyle à 3,74 ppm et le carbone C-4' à 162,4 ppm qui permet d'établir la jonction entre le groupement méthoxyle et l'aglycone en position 4'

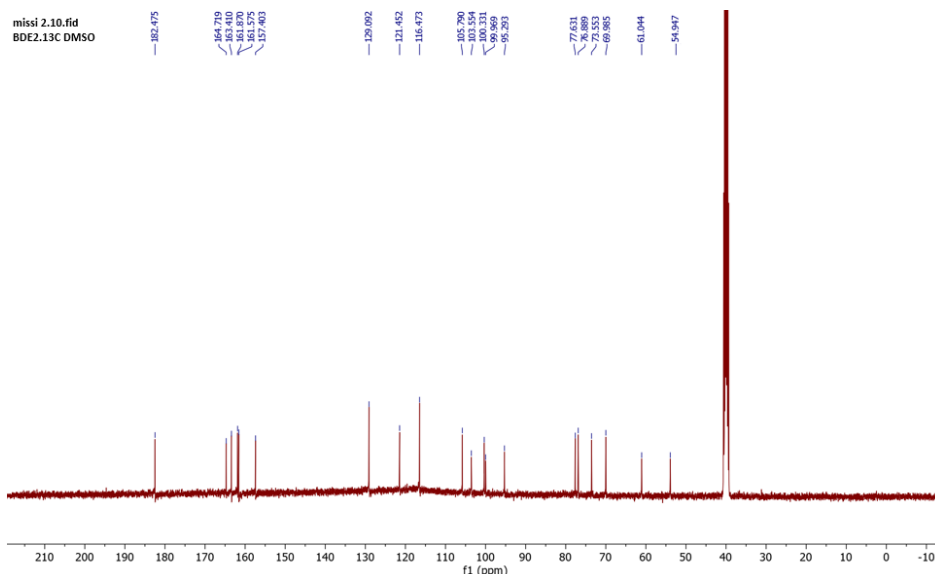


Figure 30: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE2

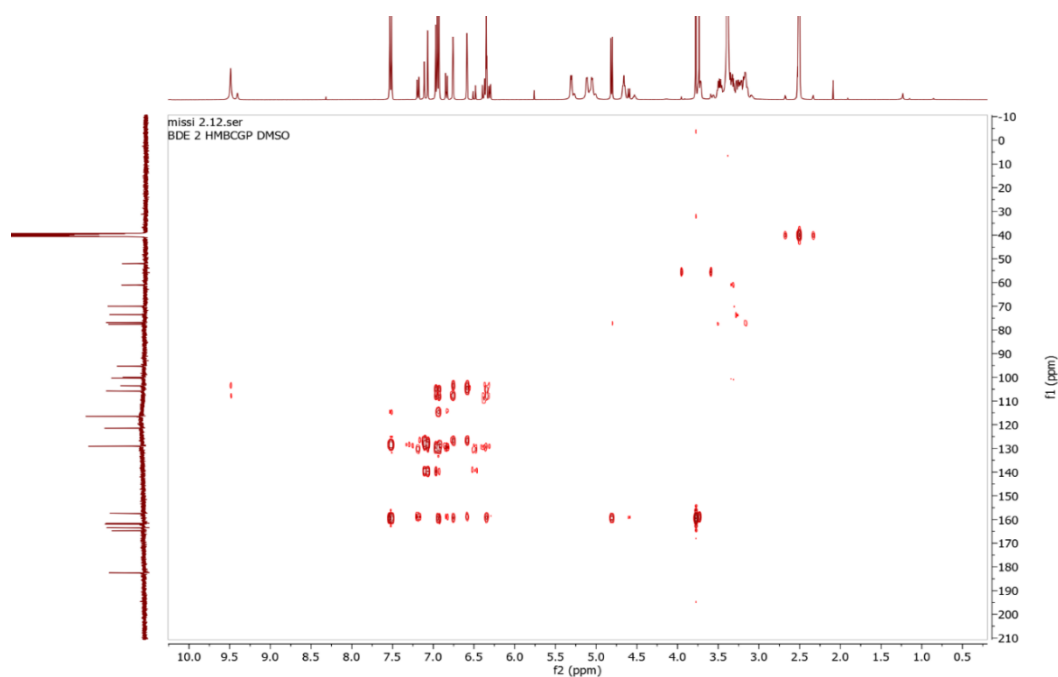
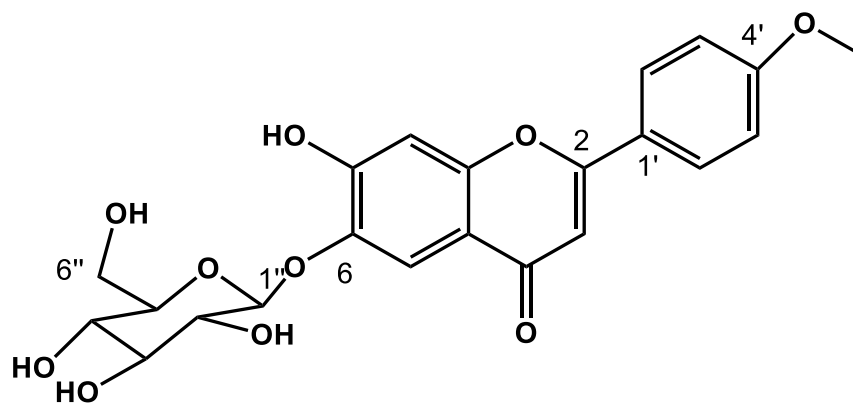


Figure 31: Spectre HMBC du composé BDE2

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature (Tableau 15) (Redaelli et al., 1980) nous permettent d'attribuer à BDE2 la structure (120) qui est celle du 7-hydroxy-4'-méthoxy -6-(- O - β - D -glucopyranosyl) -flavone.



BDE2

120 : 7-hydroxy-4'-méthoxy-6-(-*O*- β -*D*-glucopyranosyl)-flavone

Tableau 15: Données de RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) de BDE2 comparées à celles de la littérature (100 MHz, DMSO-*d*₆)

	Composé BDE2		Littérature (Agrawal et al., 1992; Carola et al., 2006; Redaelli et al., 1980)
Position	δ_C	δ_H (nH, J en Hz, m)	δ_C
2	164,7		164,0
3	102,7	6,75 (1H, s)	102,8
4	182,4		181,6
5	99,9	6,96 (1H, s)	99,7
6	161,9		161,0
7	163,4		162,6
8	95,3	6,58 (1H, s)	94,6
9	157,4		156,6
10	105,5		105,5
1'	121,4		120,7
2' ; 6'	129,1	7,51 (2H, J=8,5, d)	128,3
3' ; 5'	116,4	6,93 (2H, J=8,5, d)	115,7
4'	161,4		160,8
O-CH3	54,9		55,5
1''	100,3	4,80 (1H, J=7,5, d)	99,3
2''	73,6	3,30-3,33 (1H, m)	73,0
3''	77,6	3,30-3,33 (1H, m)	77,0
4''	69,9	3,40-3,45 (1H, m)	69,4
5''	76,9	3,40-3,45 (1H, m)	76,3
6''	61,0	3,86 ; 3,40-3,45 (1H, m)	60,5

II.1.2.1.3. Identification du sucre BDE3

Le composé BDE3 se présente sous forme de cristaux incolores. Il fond entre 148 et 150°C et réagit positivement au test de molish caractéristique des sucres. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z = 181,06$, correspondant à la formule moléculaire brute $C_6H_{12}O_6$, renfermant 01 instauration.

Son spectre RMN 1H (Figure 32) présente un ensemble de signaux correspondant, après intégration, à un total de 12 protons. Tous ces signaux sont observés dans la zone des champs forts, en particulier, le doublet du proton anomérique à δ 4,89 avec une constante de couplage de 3.5Hz suggère la configuration d'un α -glucose. Les multiplets dans les intervalles de déplacements chimique 3,00-3,20 et 3,45-3,70 sont caractéristiques des protons du glucose.

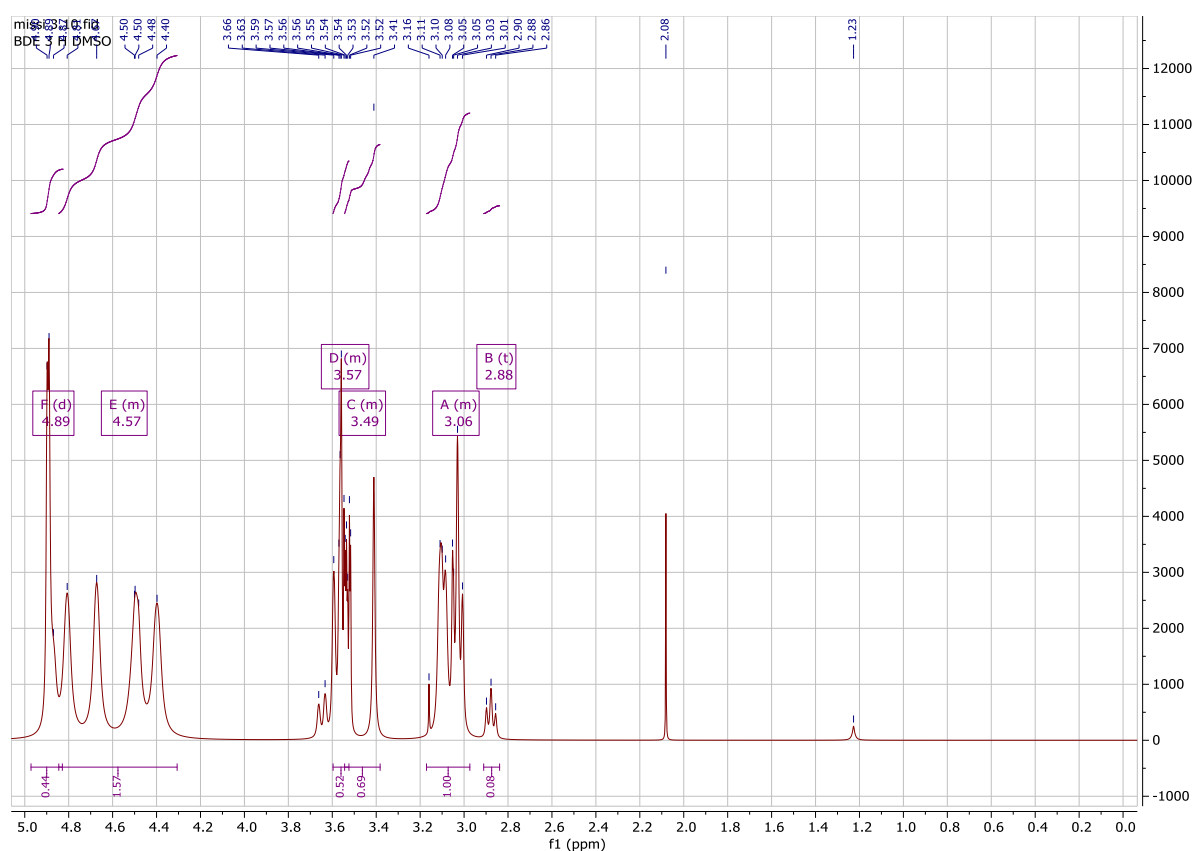


Figure 32: Spectre RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE3

Le spectre ^{13}C (Figure 33) montre six signaux caractéristiques des pics du glucose avec un signal à 92,26 attribuable au carbone anomérique et confirmé par le spectre 1H avec la présence à 4.89 du signal du proton anomérique avec une constante de couplage de 3.5Hz qui nous indique qu'il s'agit du α -D-glucose qui sera la structure numéro (121). La comparaison des données expérimentales avec celles de la littérature (Agrawal et al., 1992) est consignée dans le Tableau 16.

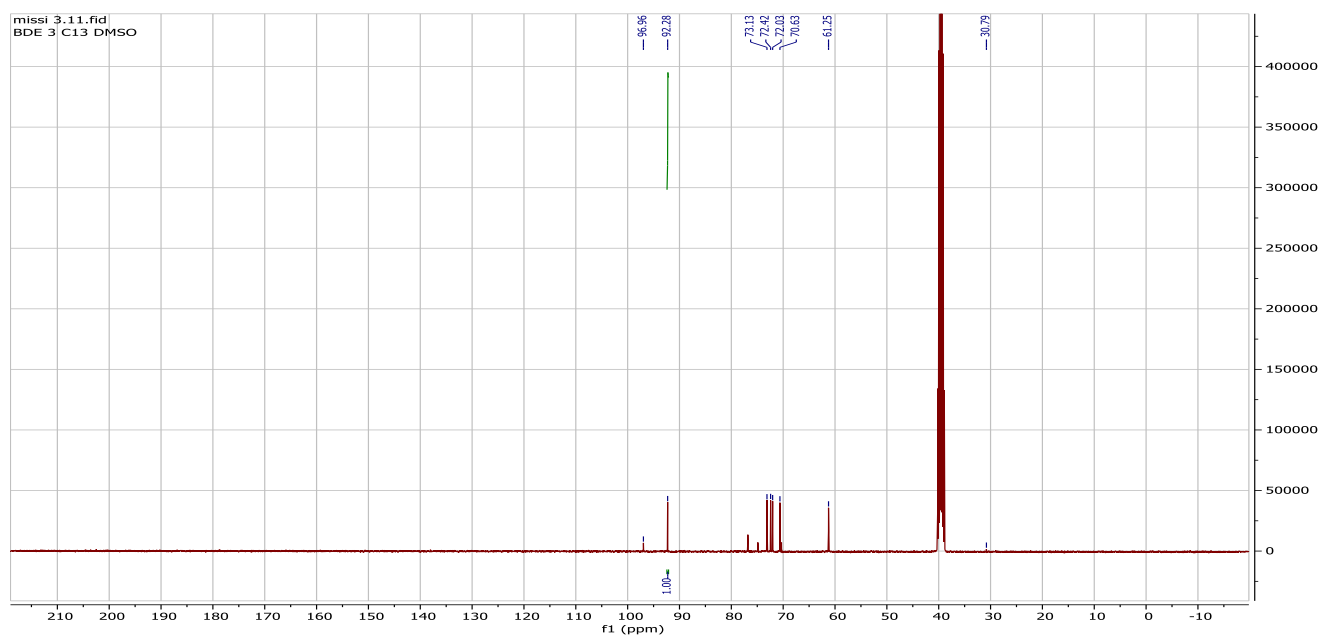
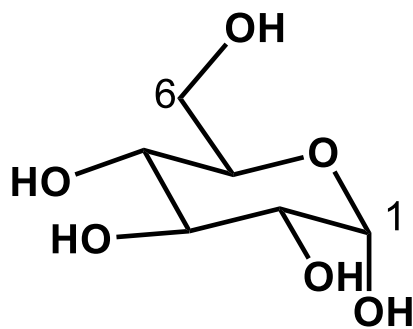


Figure 33: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE3



BDE3
121 : α -D-glucopyranoside

Tableau 16: Données de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*₆) et ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*₆) de BDE3 comparées à celles de la littérature (100 MHz, pyridine-*d*₅) (Agrawal et al., 1992)

Position	BDE3		Littérature (Agrawal et al., 1992)	
	δ_{C}	δ_{H} (nH, <i>J</i> en Hz, m)	δ_{C}	δ_{H} (nH, <i>J</i> en Hz, m)
1	92,3	4,89 (1H, <i>J</i> = 3,6, d)	93,0	5,23(1H, <i>J</i> = 3,6, d)
2	72,4	3,06 (1H, m)	72,4	3,54(1H, m)
3	73,1	3,49 (1H, m)	73,7	3,72(1H, m)
4	70,6	3,00 (1H, <i>J</i> =8,4 ;8,4, t)	70,7	3,42(1H, <i>J</i> =8,4 ;8,4, t)
5	72,0	3,57 (1H, m)	72,3	3,84(1H, m)
6	61,3	4,57 (2H, m)	61,8	3,76. 3,84(2H, m)

II.1.2.1.4. Identification structurale du dérivé d'acide benzoïque BDE4

Le composé **BDE4** se présente sous forme de solide jaune, soluble dans le méthanol. Il fond entre 261 et 262 °C et répond positivement au test du chlorure ferrique, caractéristique des phénols. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z=185,14$, correspondant à la formule brute $C_8H_8O_5$ renfermant 05 insaturations.

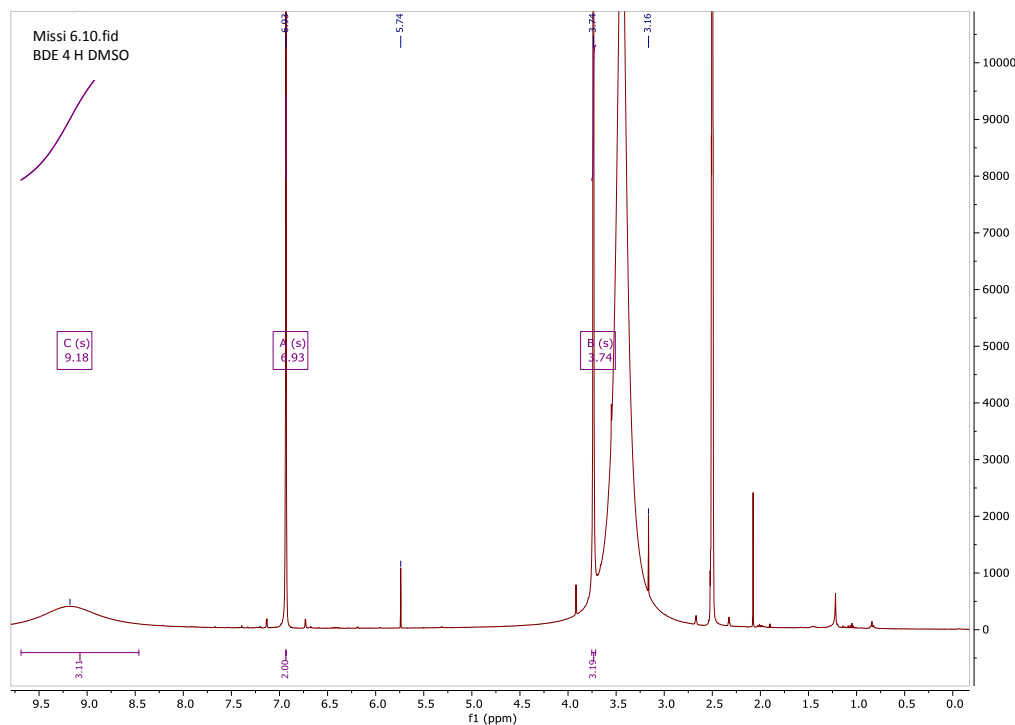


Figure 34: Spectre RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE4

Le spectre RMN 1H du composé BDE4 (Figure 34) montre un singulet à δ_H 3,75 correspondant à un groupement méthoxyle, un singulet à δ_H 6,94 attribuable à 2 protons d'un noyau benzénique tétrasubstitué et un signal large de faible intensité à 9,20 caractéristique de 3 H phénoliques.

Son spectre RMN ^{13}C (Figure 35) montre 06 signaux de carbone dont 01 à δ 51,7 assimilable au carbone d'un groupement méthoxyle, un pic à 166,80 correspondant au carbone d'un groupe carboxyle et 4 autres signaux entre 108,94 et 146,06 renvoyant aux carbones d'un noyau benzénique dont certains sont déblindés par la présence d'atomes d'oxygènes.

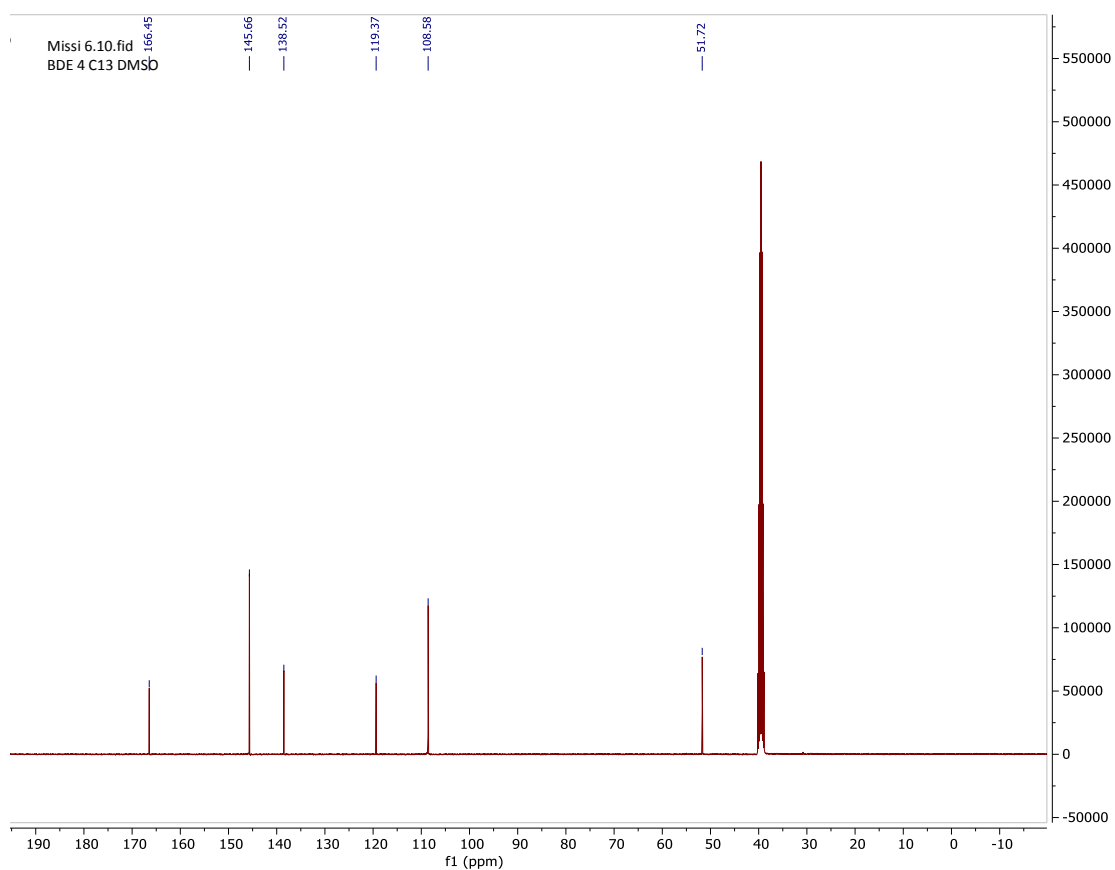
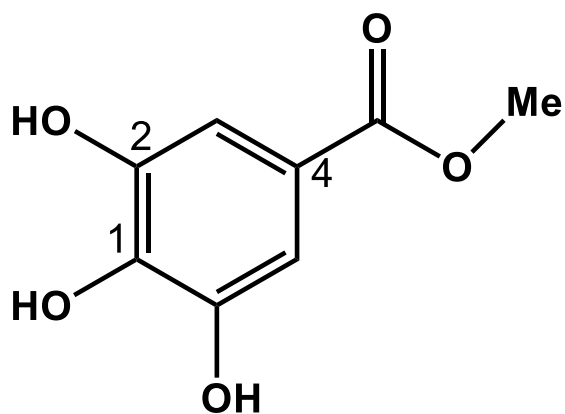


Figure 35: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé BDE4

L'ensemble de ces données comparées à celles de la littérature (Tableau 17) (Lee et al., 2005) ont permis d'identifier BDE4 comme étant la structure (122) qui est celle du gallate de méthyle.



BDE4
122: Gallate de méthyle

Tableau 17: Données de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6) et ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) de BDE4 comparées à celles de la littérature RMN ^1H (300 MHz, MeOD) et ^{13}C (75 MHz, MeOD)

Position	BDE4		Littérature (Lee et al., 2005)	
	δ_{C}	δ_{H} (nH, <i>J</i> en Hz, m)	δ_{C} gallate de méthyle	δ_{H} (nH, <i>J</i> en Hz, m)
1	138,5		139,8	
2,6	108,6	6,93 (2H, s)	146,5	7,03 (2H, s)
3,5-OH	145,7		110,7	
4-OH	119,4		121,5	
O=C	166,5		169,1	
O-CH₃	51,7	3,74 (3H, s)	52,3	3,81 (3H, s)

II.1.2.1.5. Identification du dérivé d'acide benzoïque BDE5

Le composé BDE5 se présente sous forme de solide jaune soluble dans le méthanol ; il fond entre 209 et 211°C et répond positivement au test du Chlorure ferrique caractéristique des phénols. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z = 171,02$ correspondant à la formule brute $C_7H_6O_5$ renfermant 5 insaturations.

Son spectre RMN 1H (Figure 36) présente quatre signaux regroupés dans la zone des champs faibles correspondant, après intégration, à 06 protons. On observe notamment:

- 01 singulet à δ 6,91 correspondant à 02 protons équivalents du cycle aromatique ;
- 03 singulets à δ 9,18 et 12,22 , correspondant respectivement aux protons des groupements hydroxyle, à savoir 01 OH en para, 02 OH en méta et 01 OH de l'acide carboxylique.

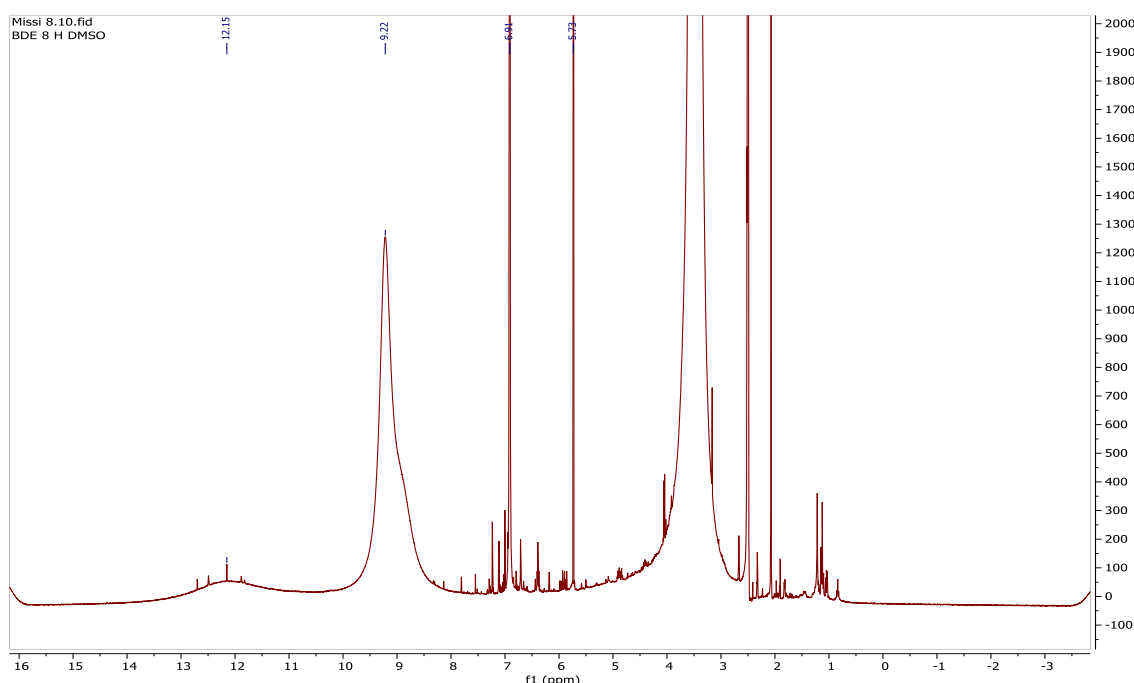


Figure 36: Spectre RMN 1H (400 MHz, DMSO) du composé BDE5.

Son spectre RMN ^{13}C (Figure 37) présente, un total de 05 signaux dans la région des champs faibles, correspondant, après intégration à un total de 07 carbones dont 06 carbones aromatiques et 01 carbone d'acide carboxylique

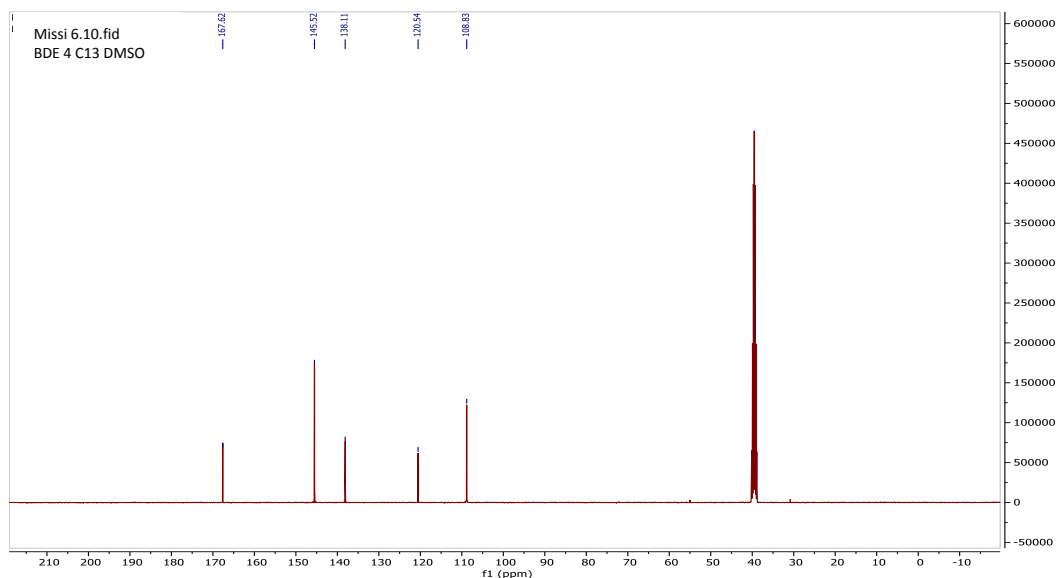
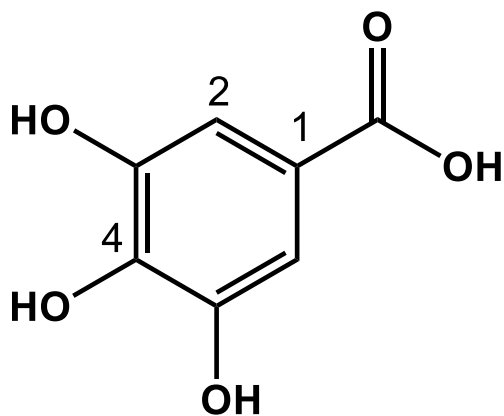


Figure 37: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO) du composé BDE5

Toutes ces informations comparées à celle de la littérature (Tableau 18) (Sraavan et al., 2015), nous permettent d'attribuer au composé BDE5, la structure (**56**) qui est celle de l'acide gallique



BDE5

56: acide gallique

Tableau 18: Données de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*₆) et ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*₆) de BDE5 comparées à celles de la littérature RMN ^1H (300 MHz, DMSO-*d*₆) et ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*₆)

Position	BDE5		Littérature (Sravan et al., 2015)	
	δ_{C}	δ_{H} (nH, <i>J</i> en Hz, m)	δ_{C} Acide gallique	δ_{H} (nH, <i>J</i> en Hz, m)
1	120,5		120,4	
2,6	108,8	6,91 (2H, s)	108,7	6,91 (2H, s)
3,5-OH	145,5	9,22	145,4	9,18
4-OH	138,1		138,0	
O=C-OH	167,6	12,15	167,5	12,22

II.1.2.1.6. Identification du stilbène BDE6

Le composé BDE6 se présente sous forme de poudre blanche soluble dans le méthanol. Il est positif au test du chlorure ferrique caractéristique des phénols. Son spectre de masse ESI MS présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z=405,15$ correspondant à la formule brute $C_{21}H_{24}O_8$ renfermant 10 insaturations.

Son spectre RMN ^{13}C (Figure 38) présente des signaux correspondant à un total de 21 carbones. Dans la zone des champs forts, on observe le signal d'un méthoxyle à δ 55,7 ; les signaux à δ des carbones du glucose parmi lesquels le signal du carbone lié au proton anomérique à δ 102,4 et celui du méthylène à δ 62,6 (Agrawal et al., 1992; De Bruyn et al., 1975);

Dans la zone des champs faibles, on observe les signaux des carbones oléfiniques α et β à δ 128,8 et 129,7, respectivement ; les signaux très intenses des carbones du système aromatique AA'BB' à δ 127,4 et 115,1.

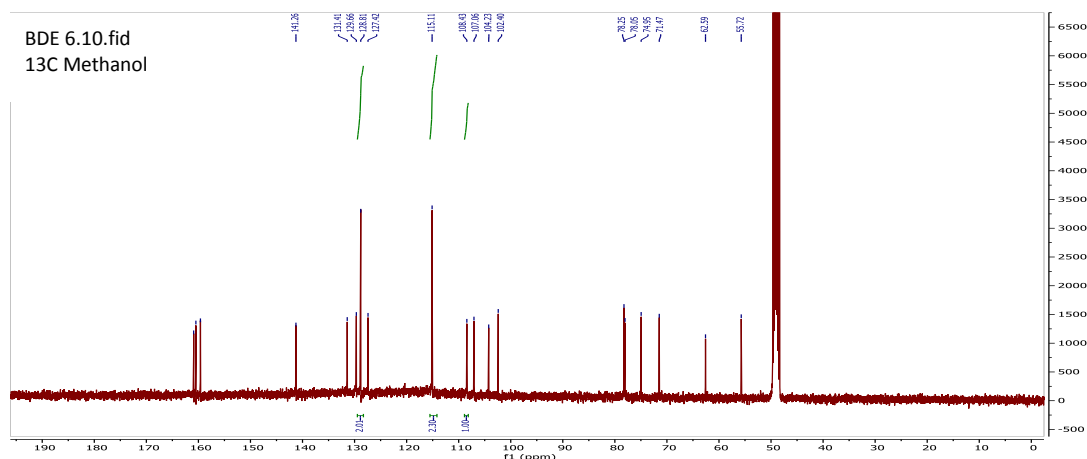


Figure 38: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d₆) du composé BDE6

Son spectre RMN 1H (Figure 39) présente des signaux correspondant, après intégration, à un total de 24 protons. Dans la zone des champs forts, on observe :

- Les signaux du glucose entre 3,35 et 5,00 en particulier le doublet du proton anomérique à δ 4,90 avec une constante de couplage de 7,37 Hz indiquant une configuration β du glucose (Agrawal et al., 1992; De Bruyn et al., 1975);

- Le singulet intense à δ 3,80 correspondant au méthyle d'un groupement méthoxyle.

Dans la zone des champs faibles, on observe :

- 03 singulets large bande à δ 6,46, 6,63, 6,81, correspondant aux protons d'un noyau benzénique trisubstitué ;
- 02 doublets à δ 6,89 et 7,05 avec une constante de couplage de 16 Hz, correspondant aux protons oléfiniques α et β , respectivement en position trans ;

- 02 doublets à δ 6,90 et 7,45 avec des constantes de couplage de 8.8 Hz correspondant aux protons aromatiques d'un système AA'BB'.

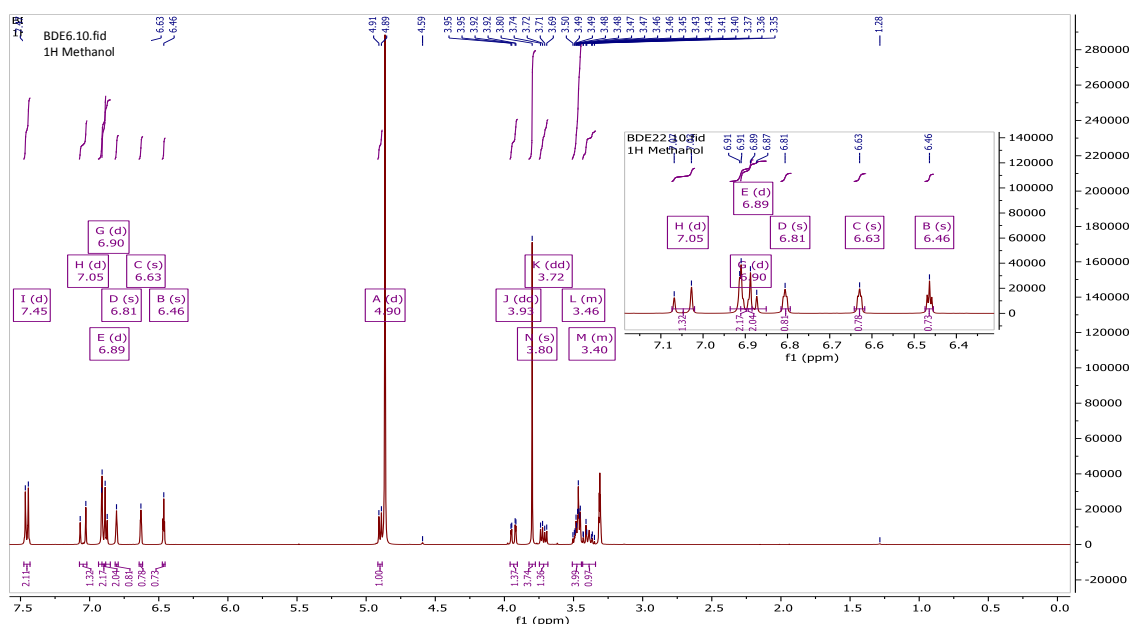
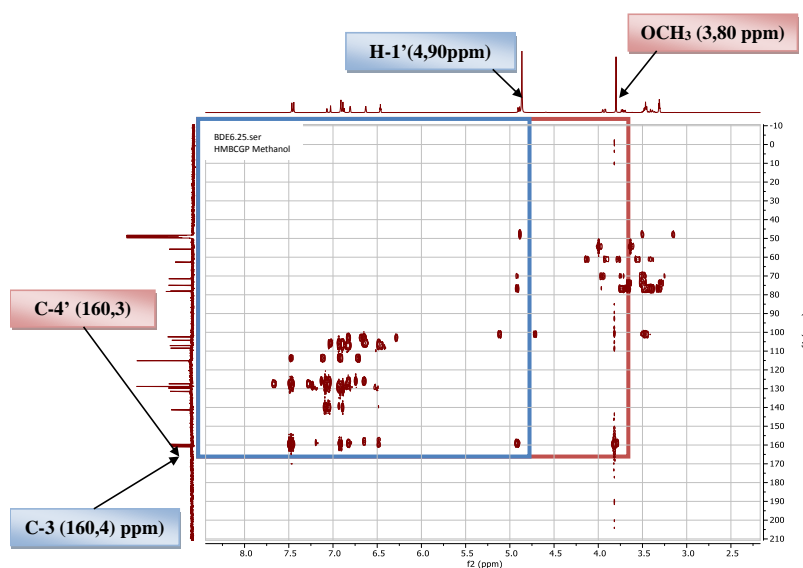


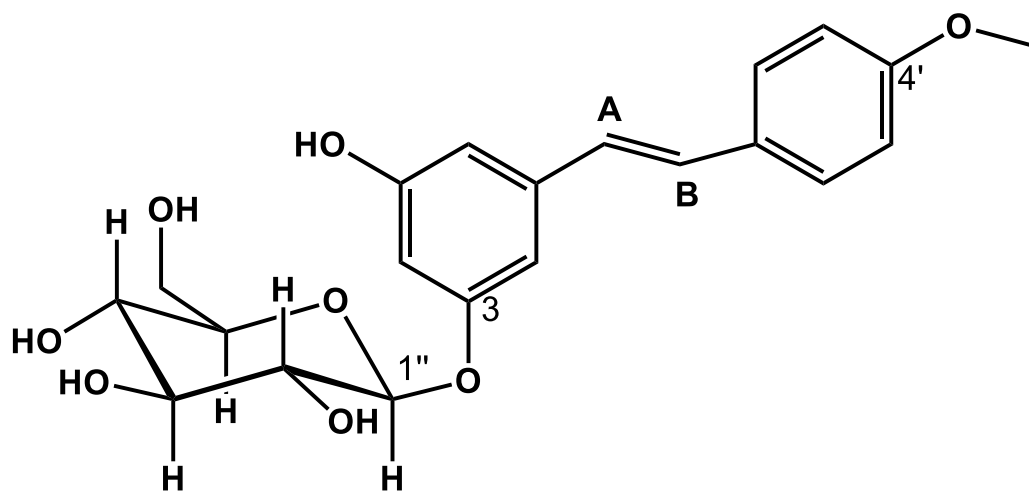
Figure 39: Spectre RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) du composé BDE6

Sur son spectre HMBC, on observe :

- les corrélations entre les protons du fragment oléfiniques H-A (δ 6.89) et H-B (δ 7.03) et les carbones C-1 à δ 141.2, C-2 à δ 108.1 et C-6 à δ 107.8 du cycle A d'une part et ceux du cycle B (C-1' à δ 131.3 et C-2',6' à δ 128.9) d'autre part, ce qui nous permet de joindre tous ces fragments en un squelette de type stilbène ;
- la corrélation entre le proton anomérique du glucose H-1' à δ 4,81 et le carbone en position 3 à δ 160.4 du cycle A, permet de rattacher le glucose en position 3 du stilbène ;



Toutes ces informations comparées à celle de la littérature (Tableau 19), nous ont permis d'attribuer au composé BDE6 la structure (123) du 4'-méthoxy -3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(*E*)-resvératrol (Dai et al., 2009).



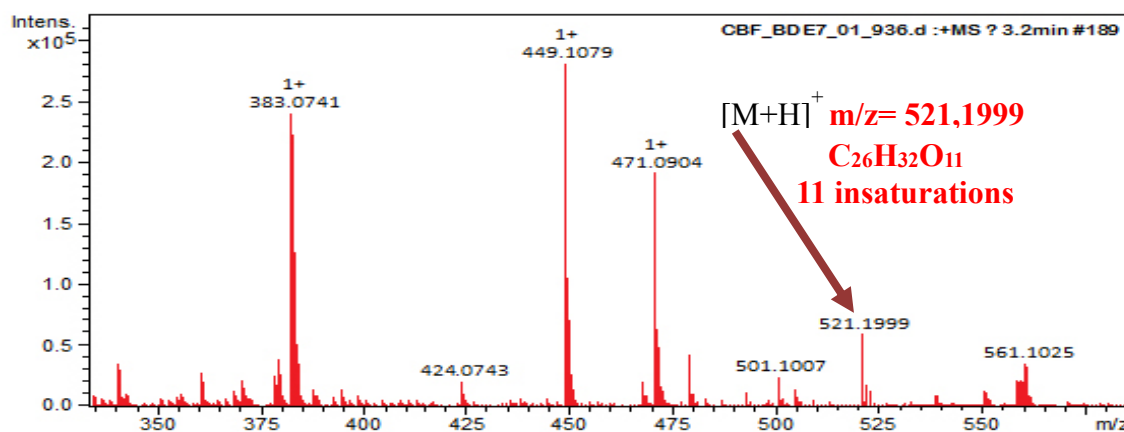
123: 4'-méthoxy -3-*O*- β -D-glucopyranosyl-*E*-resvératrol

Tableau 19: Données de RMN ¹H (400 MHz, MeOH) et ¹³C (100 MHz, MeOH) de BDE6 comparées à celles de la littérature RMN ¹H (600 MHz, MeOH) et ¹³C (150 MHz, MeOH)

Position	BDE6		Littérature (Dai et al., 2009)	
	δ _C	δ _H (nH, <i>J</i> en Hz, m)	δ _C	δ _H (nH, <i>J</i> en Hz, m)
1	141,3		139,2	
2	107,1	6,83 (1H, brs)	105,2	6,75 (1H, brs)
3	160,4		158,6	
4	104,2	6,59 (1H, m)	102,9	6,36 (1H, m)
5	159,6		158,4	
6	108,4	6,77 (1H, brs)	107,2	6,60 (1H, brs)
A	128,8	6,94 (1H, <i>J</i>=16,2, d)	126,0	6,87 (1H, <i>J</i> =16,2, d)
B	129,7	7,04 (1H, <i>J</i>=16,2, d)	128,1	7,09 (1H, <i>J</i> =16,2, d)
1'	131,4		129,1	
2', 6'	127,4	7,45 (1H, <i>J</i>=8,4, d)	127,7	7,48 (1H, <i>J</i> =8,4, d)
3', 5'	115,1	6,92 (1H, <i>J</i>=8,4, d)	114,2	6,92 (1H, <i>J</i> =8,4, d)
4'	160,3		158,8	
4'-OCH₃	55,7	3,79 (3H, s)	55,1	3,73 (3H, s)
Glucose				
1''	102,4	4,90 (1H, <i>J</i>=7,2, d)	100,8	4,81 (1H, <i>J</i> =7,2, d)
2''	75,0	3,30-3,33 (1H, m)	73,0	3,38 (1H, m)
3''	78,3	3,30-3,33 (1H, m)	76,6	3,20-3,34 (1H, m)
4''	71,4	3,40-3,45 (1H, m)	69,8	3,16 (1H, m)
5''	76,1	3,40-3,45 (1H, m)	76,2	3,16 (1H, m)
6''	62,6	3,86 ; 3,40-3,45 (1H, m)	60,4	3,48 ; 3,70 (1H, m)

II.1.2.1.7. Détermination structurale du stilbène BDE7

Le composé BDE7 se présente sous forme de cristaux blancs solubles dans le méthanol ; il fond entre 190 et 192°C et répond positivement au test du chlorure ferrique caractéristique des phénols. Son spectre de masse en LC MS (Figure 40) présente le pic de l'ion pseudo moléculaire (M+H)⁺ à $m/z = 521.1999$, correspondant à la formule brute C₂₆H₃₂O₁₁ renfermant



11 insaturations.

Figure 40: Spectre LC-MS du composé BDE7

Son spectre RMN ¹³C (Figure 41) présente un total de 25 signaux correspondant à un total de 26 carbones dont 13 carbones dans la zone des champs forts, correspondant à 01 méthoxyle à $\delta 57,7$; 05 carbones du xylose, particulièrement le carbone anomérique à $\delta 102,3$; le carbone méthylénique à $\delta 67,5$ et 06 carbones du rhamnose dont le carbone anomérique à $\delta 102,0$, le carbone méthylique à $\delta 17,9$ (Agrawal et al., 1992; De Bruyn et al., 1975). Dans la zone des champs faibles, on observe les carbones de la double liaison à $\delta 126,4$ et $139,9$; les carbones aromatiques du système AA'BB' à $\delta 116,7$ et $128,9$; les carbones du cycle aromatique trisubstitué.

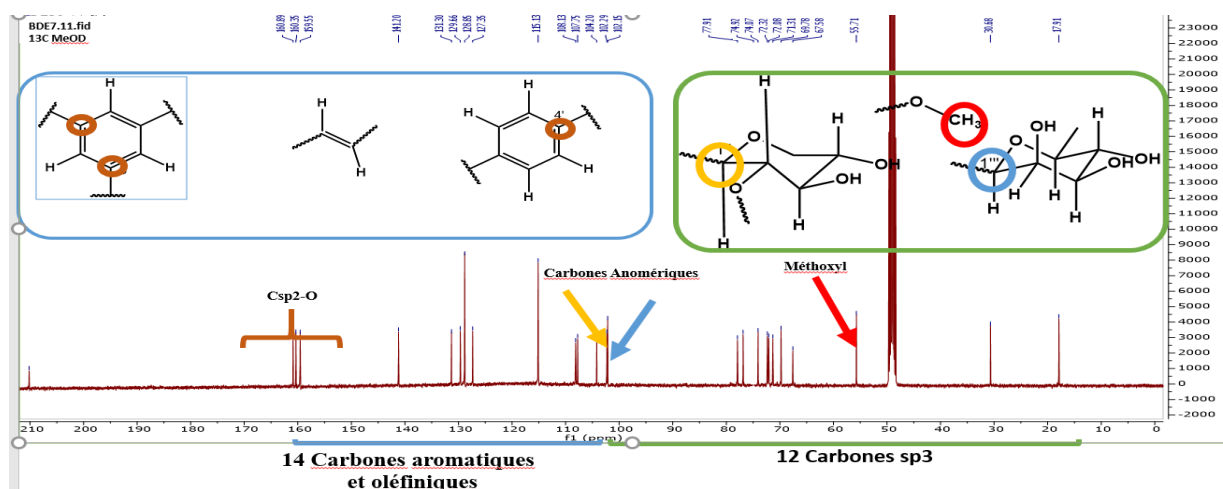
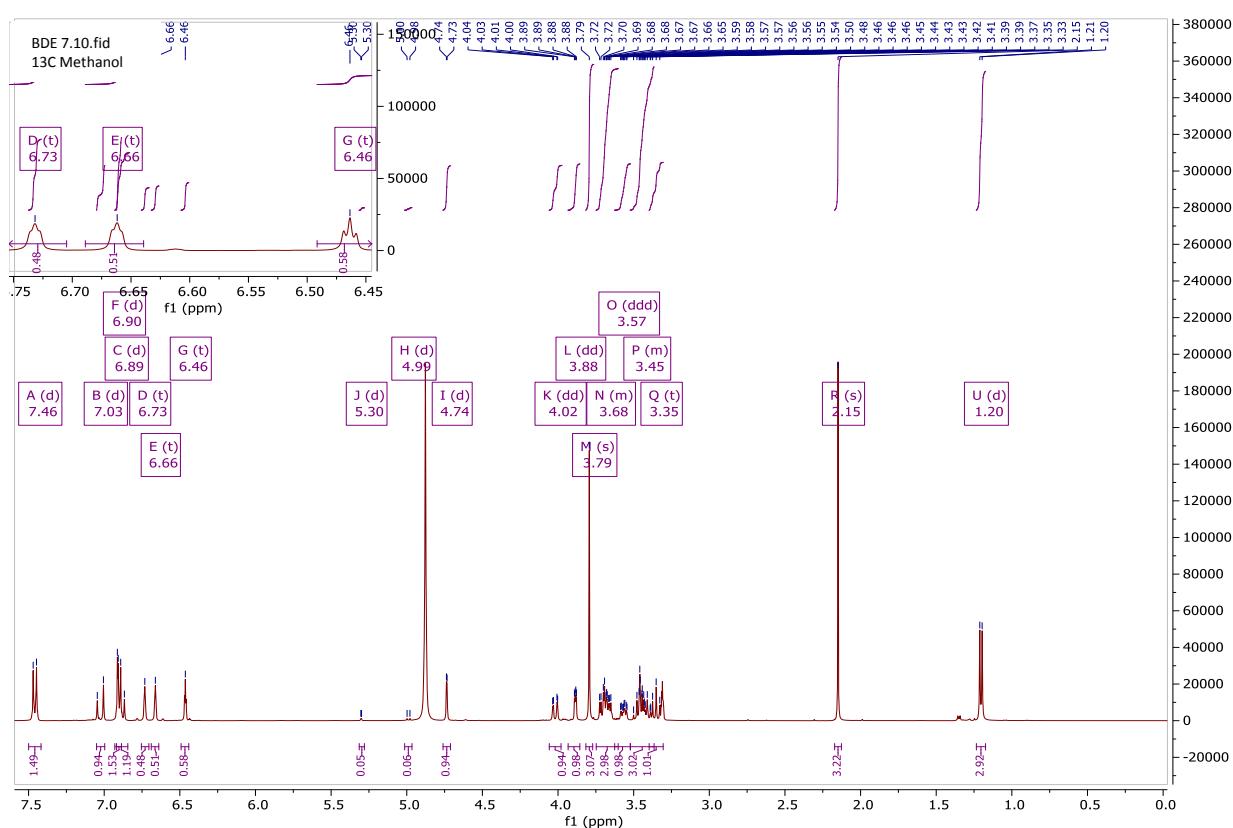


Figure 41: Spectre RMN ¹³C (100MHz, MeOD) du composé BDE7

Son spectre RMN ¹H (Figure 42) présente 20 signaux repartis sur 02 zones correspondant, après intégration, à un total de 34 protons.

Dans la zone des champs faibles, on observe des signaux caractéristiques d'un squelette de type stilbène (Ha et al., 2020) notamment, trois triplets à δ 6,46 ; 6,66 ; 6,73 correspondant à 03 protons d'un cycle aromatique trisubstitué ; des doublets à δ 6,89 et 7,03 avec des constantes de couplage de 16,4 Hz, correspondant à deux protons en position *trans* d'une double liaison disubstituée. Enfin, on observe 02 doublets (2H) à δ 6,90 et 7,46 avec des constantes de couplage de 8,6 Hz, correspondant à un système AA'BB' (Ha et al., 2020).

Dans la zone des champs forts, on observe des signaux des protons du xylose et du rhamnose entre δ 3,20 et 5,00, en particulier le proton anomérique du xylose à 4,88, le proton anomérique du rhamnose à δ 4,73 et son méthyle à δ 1,20 . On observe dans la même zone à δ 3,79 un singulet (3H), correspondant à un groupement méthoxyle.



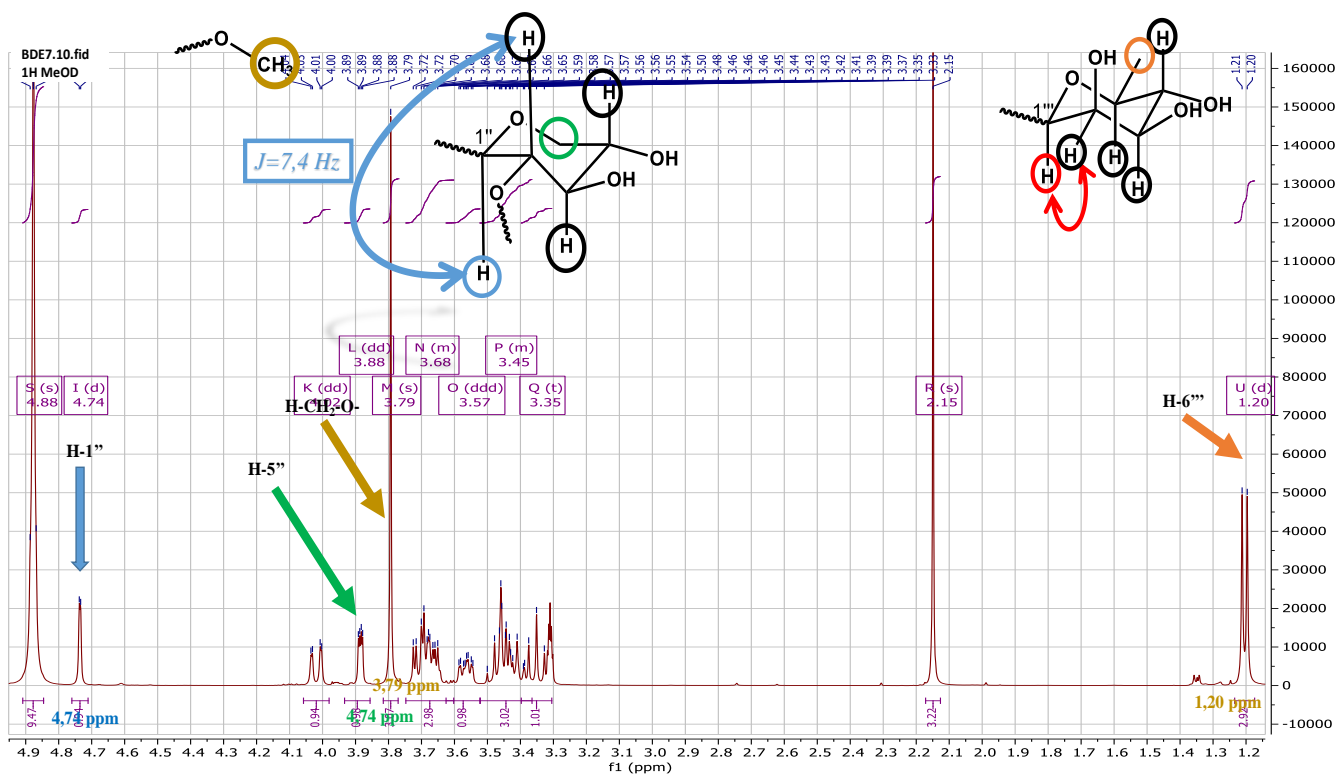
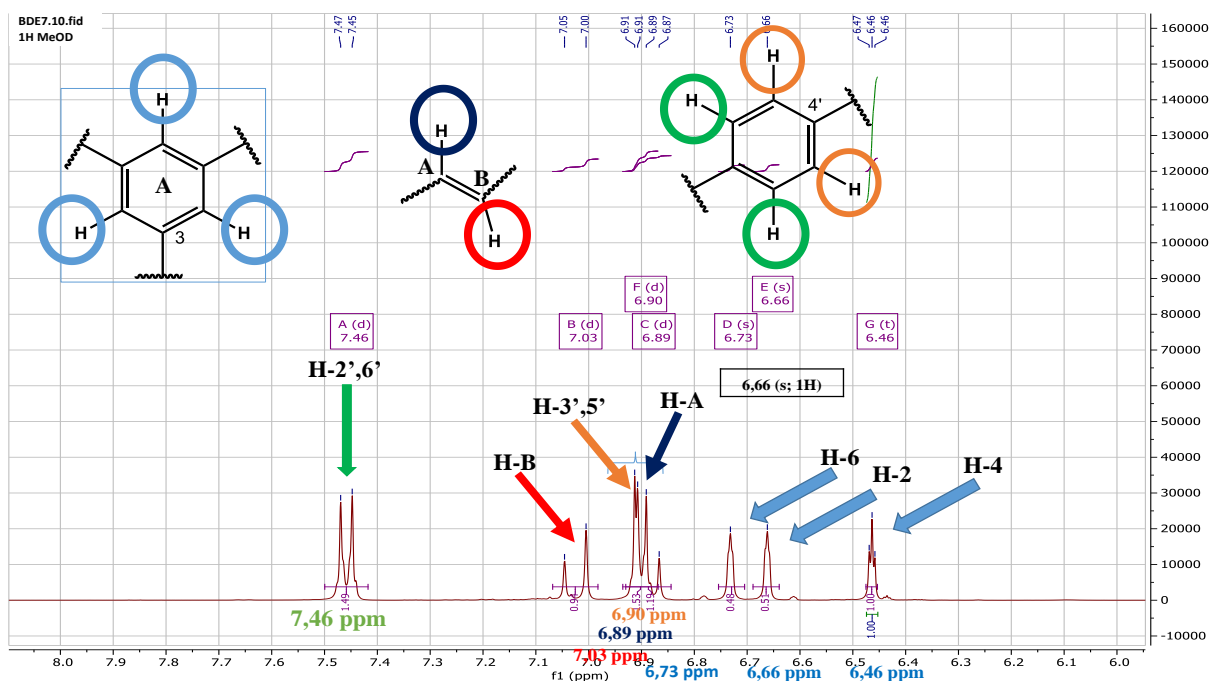
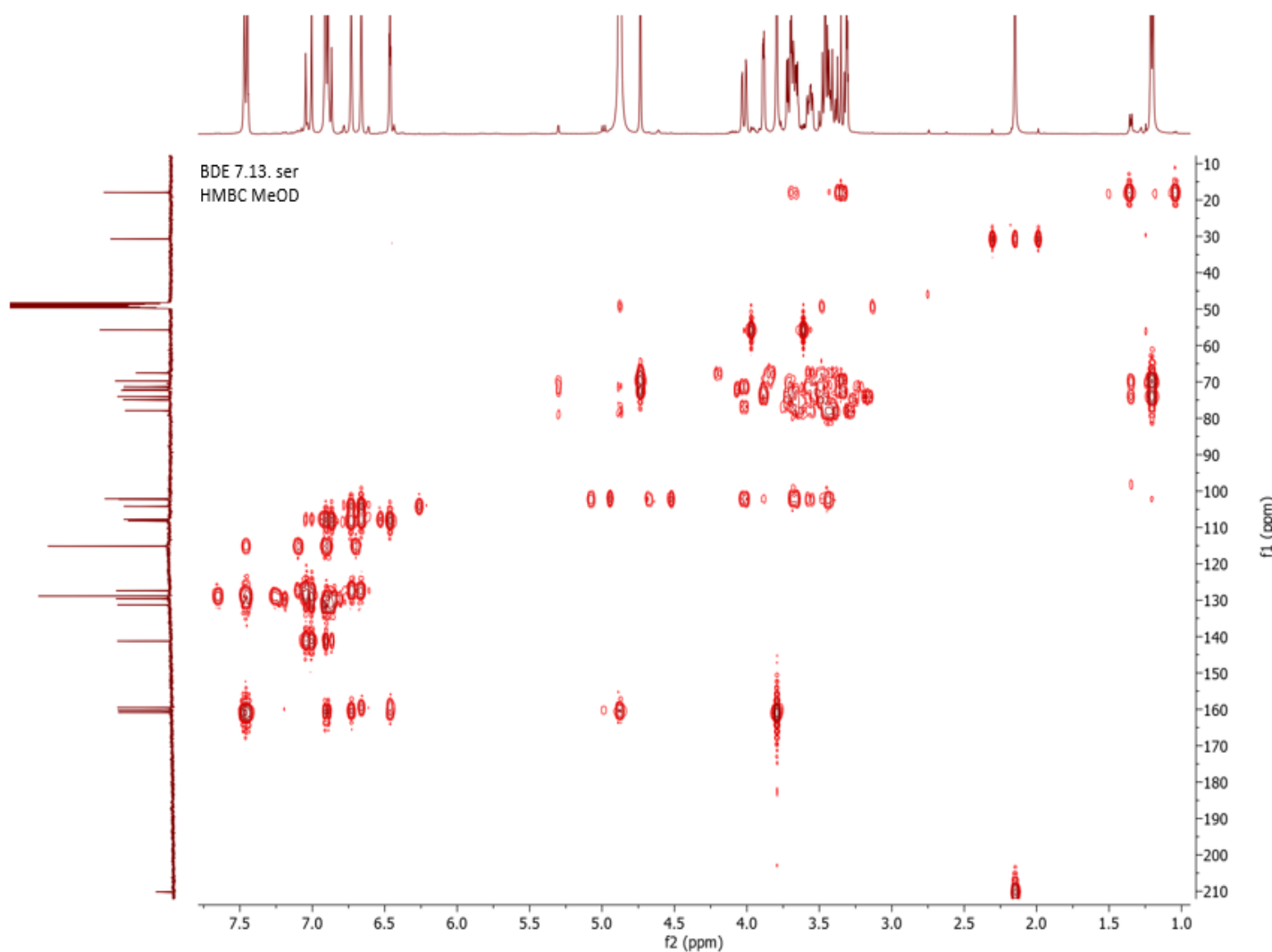


Figure 42: Spectre RMN ^1H (400MHz, MeOD) du composé BDE7

Sur son spectre HMBC (Figure 43) on observe :

- les corrélations entre les protons du fragment oléfinique H-A (δ 6.89) et H-B (δ 7.03) et les carbones C-1 à δ 141.2, C-2 à δ 108.1 et C-6 à δ 107.8 du cycle A d'une part et ceux du cycle B (C-1' à δ 131.3 et C-2',6' à δ 128.9) d'autre part, ce qui nous permet de joindre tous ces fragments en un squelette de type stilbène ;

- la corrélation entre le proton anomérique du xylose H-1'' à δ 4.88 et le carbone en position 3 à δ 160.4 du cycle A, permet de rattacher le xylose en position 3 du stilbène ;
- la corrélation entre le proton anomérique du rhamnose H-1''' à δ 4.73 et le carbone en 2'' à δ 74.9 du xylose, permet de faire une jonction 1''' \rightarrow 2'' entre le rhamnose et le xylose.



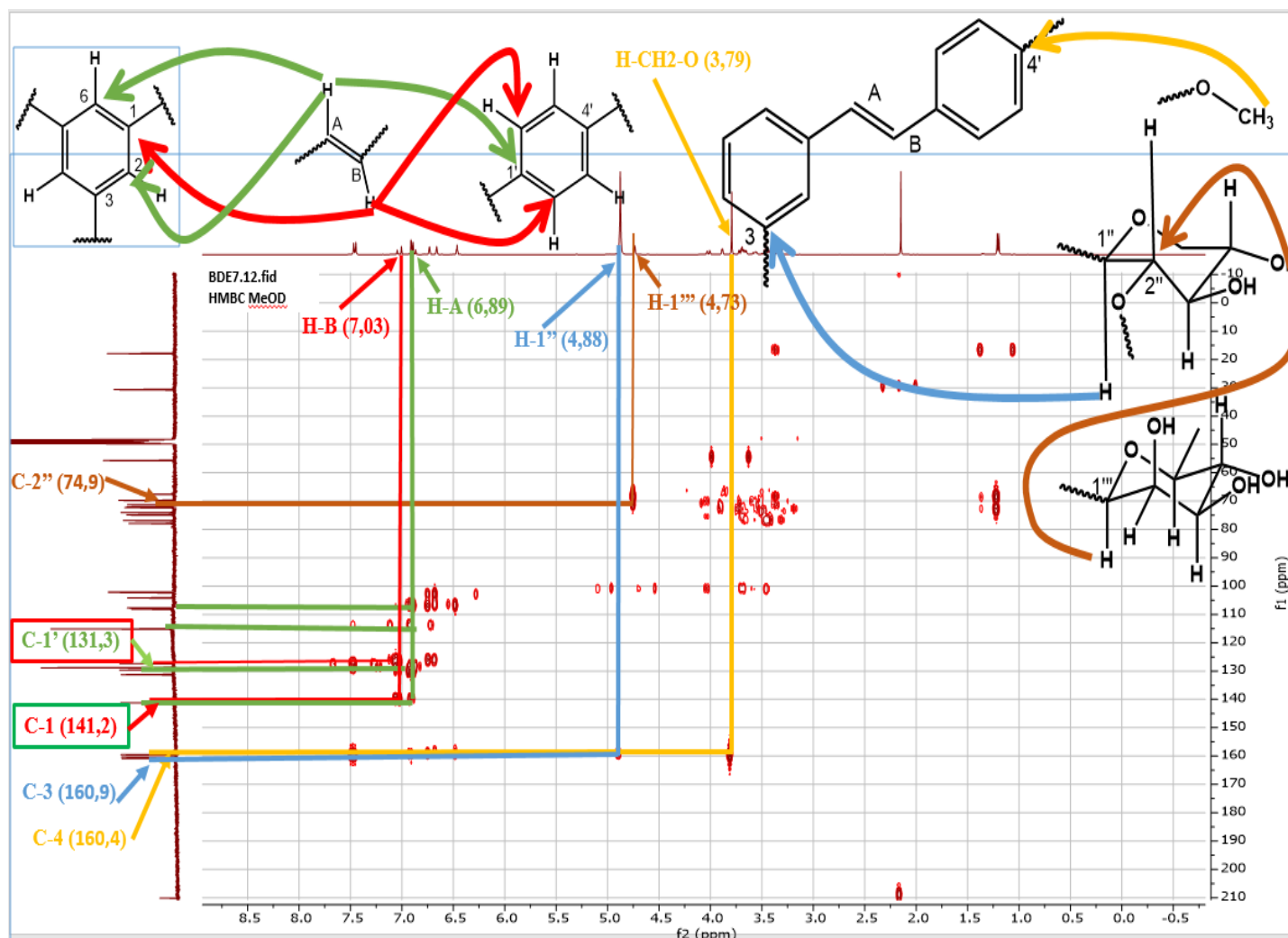
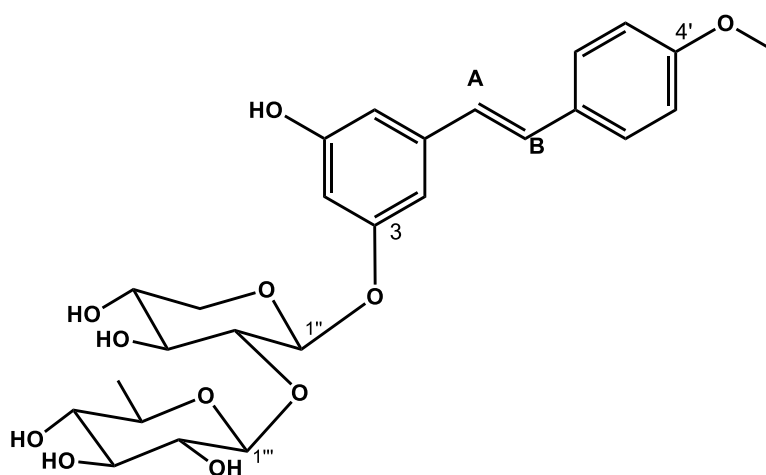


Figure 43: Spectre HMBC du composé BDE7

Sur la base de toutes ces analyses (

Tableau 20) et des données de la littérature, la structure (**124**) ci-dessous a été attribuée au composé BDE7 qui est celle du 4'-méthoxy-3-*O*-[2''-*O*-rhamnopyranosyl]-xylosyl]-(*E*)-resvératrol un nouveau stilbène glycosylé.



Composé BDE7

124:4'-méthoxy -3-*O*-[2''-*O*-rhamnopyranosyl]-xylopyranosyl]-(*E*)-resvératrol

Tableau 20: Données de RMN ¹H (400 MHz, MeOD) et ¹³C (100 MHz, MeOD) de BDE7

Position	BDE7		
	δ_C	δ_H (nH, <i>J</i> en Hz, m)	HMBC
1	141,2		6,89 ; 7,03
2	108,1	6,66 (1H; s)	6,89 ; 7,03
3	160,9		4,88
4	102,3	6,46 (1H; s)	
5	159,6		
6	107,8	6,73(1H; s)	6,89 ; 7,03
A	127,4	6,89 (1H; <i>J</i> =16,3; d)	
B	129,7	7,03 (1H; <i>J</i> =16,3; d)	
1'	131,3		6,89 ; 7,03
2', 6'	128,9	7,46 (2H; <i>J</i> =8,8; d)	6,89 ; 7,03
3', 5'	115,1	6,90 (2H; <i>J</i> =8,8; d)	
4'	160,4		
4'-OCH ₃	55,7	3,79 (3H; s)	
Xylose			
1''	102,3	4,88 (1H; <i>J</i> =7,6; d)	
2''	74,9	3,30-3,33 (1H, m)	4,73
3''	77,9	3,30-3,33 (1H, m)	
4''	71,3	3,40-3,45 (1H, m)	
5''	67,5	3,40-3,45 (1H, m)	
Rhamnose			
1'''	102,0	4,73 (1H; <i>J</i> = 1,6; d)	
2'''	72,3	3,40-3,45 (1H, m)	
3'''	72,1	3,68 (1H, m)	
4'''	74,1	3,30-3,45 (1H, m)	
5'''	69,8	3,40-3,45 (1H, m)	
6'''	17,9	1,21 (3H; <i>J</i> = 6,2; d)	

II.1.3. Investigation phytochimique des racines de *Echinops gracilis*

II.1.3.1. Analyses structurales des composés isolés

II.1.3.1.1. Identification du phénylpropanoïde EGF1

Le composé EGF1 se présente sous forme de cristaux blancs sous forme d'aiguille, soluble dans le chloroforme. Il fond entre 78 et 80°C et réagit positivement au test des phénols avec du chlorure ferrique. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 587.50, correspondant à la formule brute $C_{38}H_{66}O_4$ renfermant 06 insaturations.

Son spectre RMN 1H (Figure 44) présente des signaux correspondant, après intégration à un total de 66 protons. Dans la zone des champs forts, on observe :

- 01 triplet à δ 0.88 correspondant à un méthyle terminal ;
- 01 singulet large à δ 1.28 correspondant à 24 protons méthyléniques aliphatiques ;
- 01 multiplet à δ 1.69 correspondant aux protons d'un méthylène ;
- 01 singulet à δ 3.96 correspondant aux protons d'un méthoxyle ;
- 01 triplet à δ 4.18 correspondant aux protons d'un méthylène déblindé par un oxygène.

Dans la zone des champs faibles, on observe :

- 02 doublets à δ 6.29 et 7.62 avec des constantes de couplage de 16 Hz, correspondant aux protons oléfiniques ;
- 02 doublet à δ 6.92 et 7.09 avec des constantes de couplage de 8.4Hz, correspondant à deux protons d'un noyau aromatique positionnés en *ortho*;
- 01 singulet large bande à δ 7.03, correspondant à un proton aromatique, positionné en *ortho* et *mé*ta vis-à-vis des autres protons aromatiques.

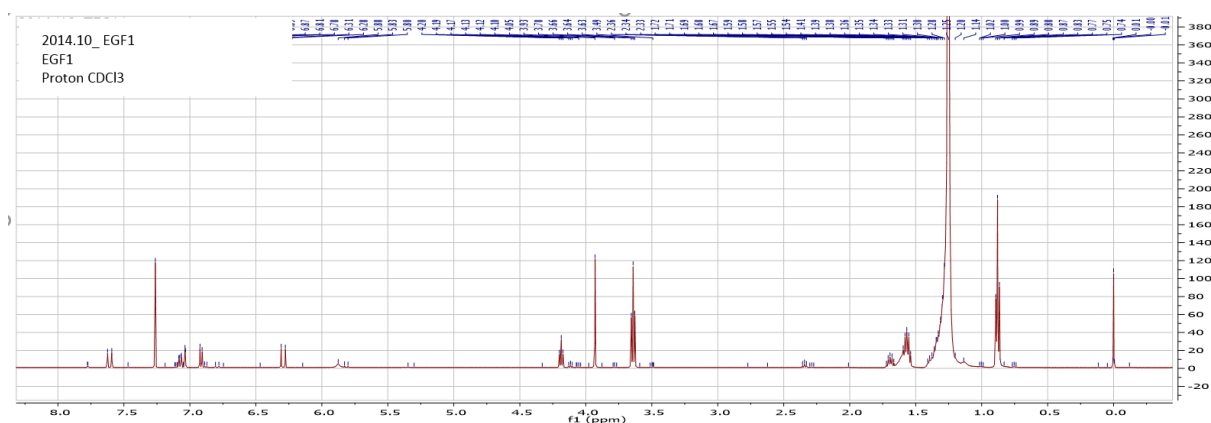


Figure 44: Spectre RMN 1H (500MHz, $CDCl_3$) du composé EGF1

Son spectre RMN ^{13}C ATP (Figure 45) présente 22 signaux parmi lesquels : 02 signaux de méthyles à δ 14.1 et 55.9, correspondant respectivement au carbone du méthyle d'une chaîne aliphatique et du méthyle d'un méthoxyle ; 07 signaux des carbones méthyléniques dont le plus

intense à δ 29.2 correspondant à un ensemble de carbones méthyléniques équivalents ; 02 signaux de carbones sp^2 oléfiniques protonés à δ 109.2 et 144.6 ; 03 signaux de carbone sp^2 aromatiques protonés à δ 115.6, 114.7 et 123.0 ; 03 signaux de carbone sp^2 aromatiques non protonés à δ 127.0, 146.7 et 147.9 . Soit un total, après intégration, de 38 carbones.

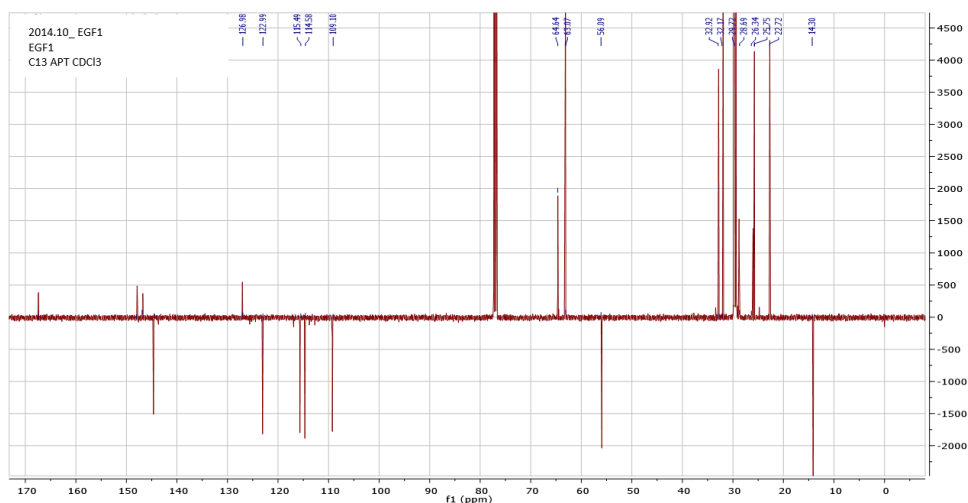
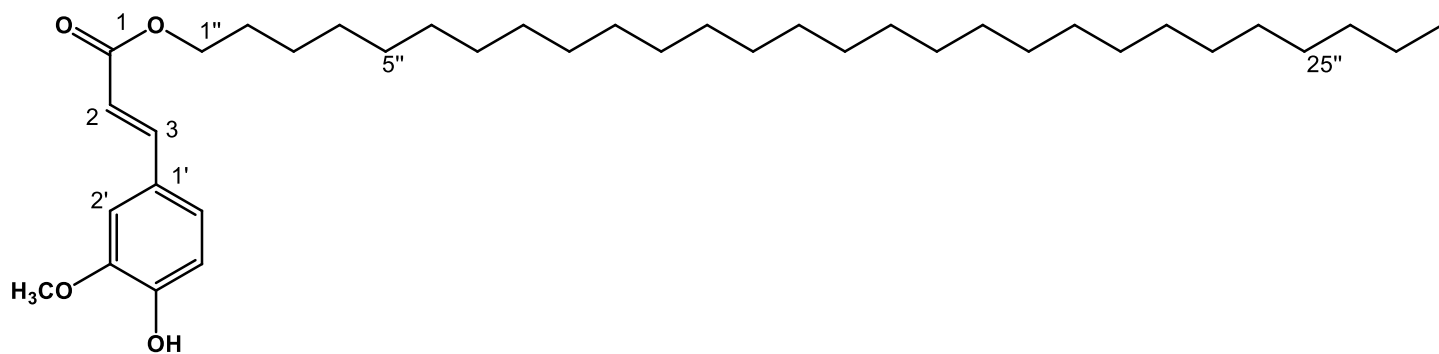


Figure 45: Spectre RMN ^{13}C (125MHz, $CDCl_3$) du composé EGF1

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature (Tableau 21) (Ali et al., 2011), ont permis d'attribuer à EGF1 la structure (**125**) qui est celle de l'érythrasinate



EGF1
125: Erythrasinate

II.1.3.1.2. Identification du phénylpropanoïde EGF2

Le composé EGF2 se présente comme des cristaux blancs en forme d'aiguilles, soluble dans le chloroforme. Il fond entre 124 et 125°C et réagit positivement au test des phénols avec du chlorure ferrique. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 603.49, correspondant à la formule brute $C_{38}H_{66}O_5$ renfermant 06 insaturations.

Son spectre RMN 1H est similaire à celui de EGF1 à la seule différence que le triplet du méthyle terminale à δ 0,88 est remplacé par le triplet du méthylène terminale déblindé par un oxygène à δ 3,58 (Figure 46).

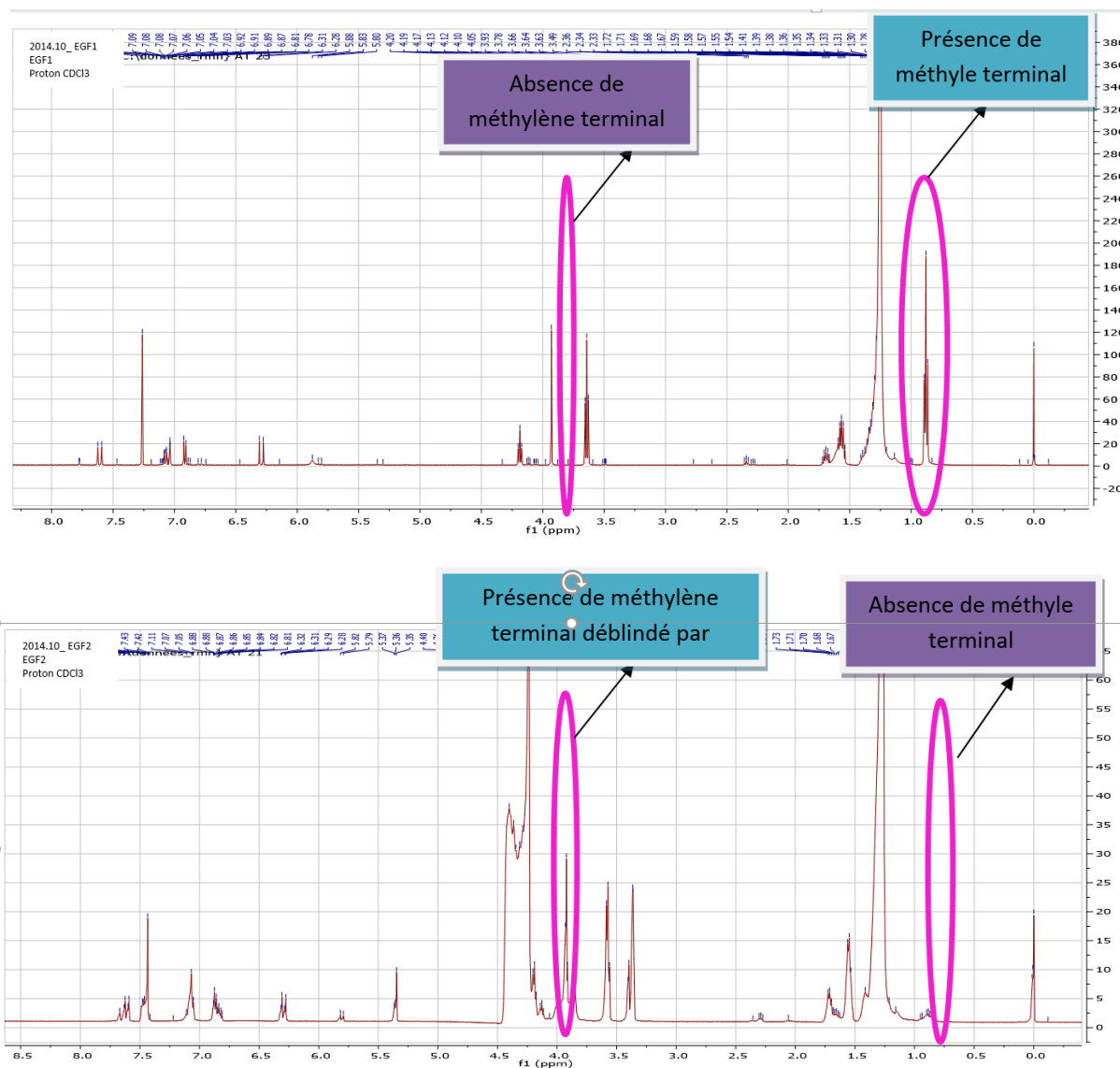


Figure 46: Superposition des spectres RMN 1H (500MHz, $CDCl_3$) du composé EGF2 et EGF1

Son spectre RMN¹³C ATP est similaire à celui de EGF1 à la seule différence d'un signal de méthyle terminal absent (Figure 47).

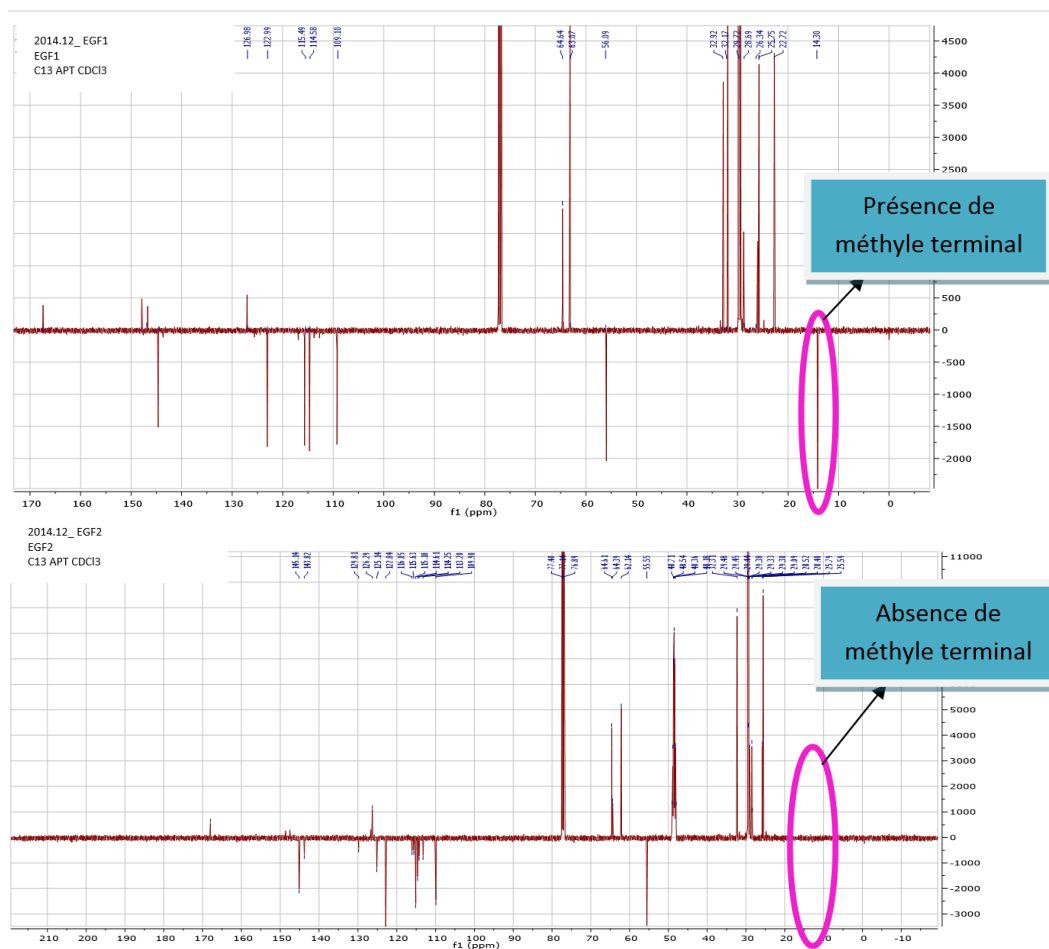
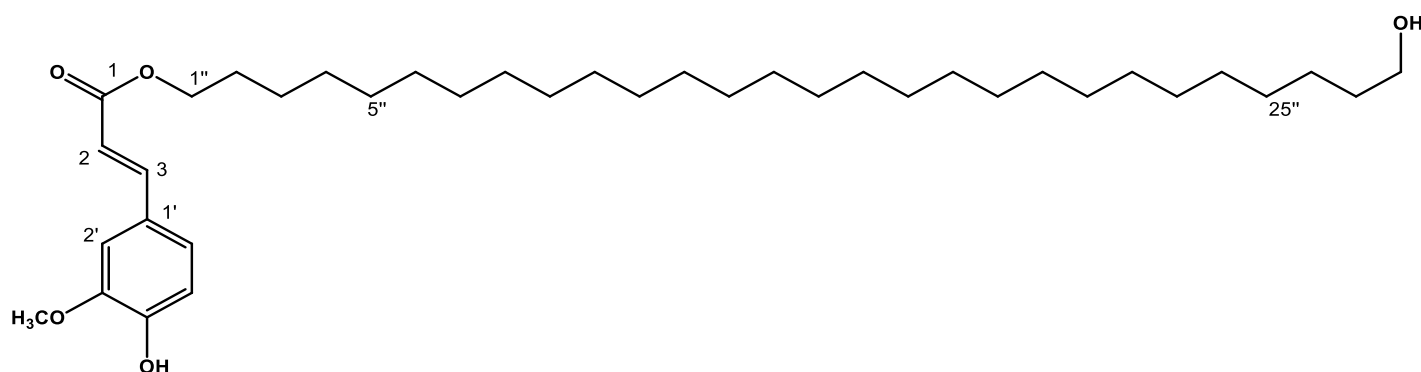


Figure 47: Superposition des Spectres RMN ¹³C (125MHz, CDCl₃) du composé EGF2 et EGF1

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature (Tableau 21) (Ali et al., 2011), ont permis d'attribuer à EGF2 la structure (126) de la vogélate



**EGF2
126: Vogélate**

Tableau 21: Données de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) et ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de EGF1 et EGF2 comparées à celles de la littérature RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) et ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)

N°	EGF1		EGF2		Littérature (Ali et al., 2011)			
	δ_{C}	δ_{H} (nH, J en Hz, m)	δ_{C}	δ_{H} (nH, J en Hz, m)	δ_{C1}	δ_{H} (nH, J en Hz, m)	δ_{C2}	δ_{H} (nH, J en Hz, m)
1	167,4	-	168,7	-	167,4	-	167,3	-
2	109,2	6,29 (1H, $J = 16$, d)	110,4	6,30 (1H, $J = 16$, d)	109,3	6,27 (1H, $J = 16,0$, d)	109,2	6,27 (1H, $J = 16$, d)
3	144,6	7,62 (1H, $J = 16,0$, d)	145,6	7,61 (1H, $J = 16,0$, d)	144,6	7,59 (1H, $J = 16,0$, d)	144,5	7,59 (1H, $J = 16,0$, d)
1'	127,0	-	126,8	-	127,0	-	127,5	-
2'	115,6	7,03 (1H, br,s)	115,9	7,07 (1H, br,s)	115,7	7,02 (1H, br,s)	115,6	7,01 (1H, $J=1,8$, d)
3'	146,7		148,2		147,9		147,8	
4'	147,9	-	149,2	-	146,7	-	146,1	-
5'	114,7	6,92 (1H, $J = 8,4$, d)	115,0	6,87 (1H, $J = 8,4$, d)	114,7	6,89 (1H, $J = 8,4$, d)	114,6	6,89 (1H, $J = 8,1$, d)
6'	123,0	7,09 (1H, $J = 8,4$, d)	123,1	7,08 (1H, $J = 8,4$, d)	123,0	7,05 (1H, $J = 8,1;8,8$, d)	123,0	7,06 (1H, $J = 8,4$, d)
1''	64,6	4,18 (2H, $J = 6,4$, t)	64,7	4,19 (2H, $J = 6,4$, t)	64,6	4,16 (2H, $J = 6,4$, t)	64,5	4,16 (2H, $J = 6,6$, t)
2''	28,8	1,69 (2H, m)	28,7	1,71 (2H, m)	28,8	1,69 (2H, m)	28,7	1,67 (2H, m)
3''	26,0	1,28 (br,s)	26,2	1,55 (br,s)	26,0	1,23 (br,s)	26,3	1,55 (br,s)
4''	29,7		29,8		29,4			
5'' to 24''	29,2		29,5		29,7			
25''	29,5		29,2		29,3			
26''	31,9		32,1		31,9			
27''	22,7		25,7		22,7			
28''	14,1		0,88 (3H, $J = 6,0$, t)		62,3		3,58 (2H, $J = 6,0$, t)	
OCH ₃	55,9	3,96 (3H, s)	56,7	3,92 (3H, s)	55,9	3,96 (3H, s)	55,9	3,92 (3H, s)

II.1.3.1.3. Identification du phénylpropanoïde EGF3

Le composé EGF3 se présente sous forme d'aiguilles incolores solubles dans le DMSO (diméthylsulfoxyde). Il fond entre 209 et 212°C et réagit positivement au test du chlorure ferrique caractéristique des phénols. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z=195.06$, correspondant à la formule brute $C_{10}H_{10}O_4$ renfermant 6 insaturations.

Son spectre RMN¹H (Figure 48) présente un ensemble de signaux totalisant après intégration, un ensemble de 10 protons. Dans la zone des champs forts, on observe 01 singulet à δ 3.81, correspondant à 03 protons d'un groupement méthoxyle. La zone des champs faibles présente 02 doublets à δ 6.34 et 7.50 avec des constantes de couplage de 15 Hz, indiquant la présence des protons oléfiniques ; on distingue également les signaux des protons d'un système ABX aromatique, dont 01 doublet à δ 6.79 avec une constante de couplage de 9 Hz, 01 doublet de doublet à δ 7.08 avec des constantes de couplage de 8 et 2 Hz et 01 doublet à δ 7.08 avec une constante de couplage de 2 Hz.

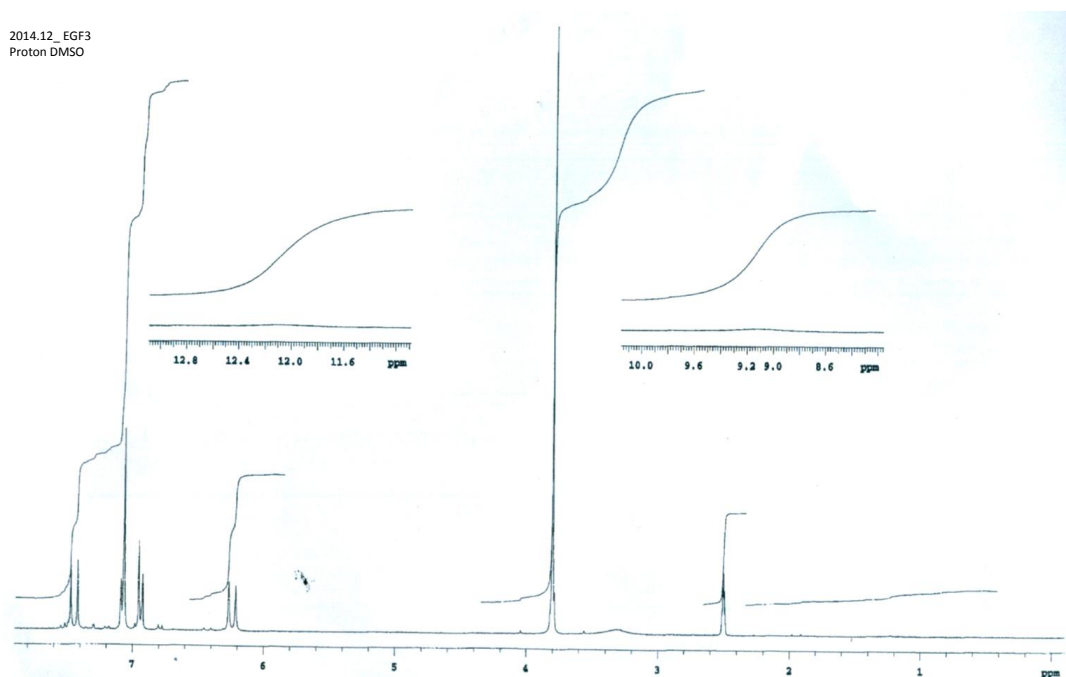


Figure 48: Spectre RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) du composé EGF3

Son spectre RMN ¹³C (Figure 49) présente des signaux correspondant à un total de 10 carbones. Dans la zone des champs forts on distingue le signal du carbone de méthyle à δ 56,1. Dans la zone des champs faibles on observe les signaux des carbones oléfiniques à δ 115,0 et 144,3 ; les carbones aromatiques du système ABX à δ 127,6; 121,0 et 123,0; les carbones aromatiques non protonés à δ 123,8 ; 116,1 et 148,3; enfin, le carbonyle à δ 168,4.

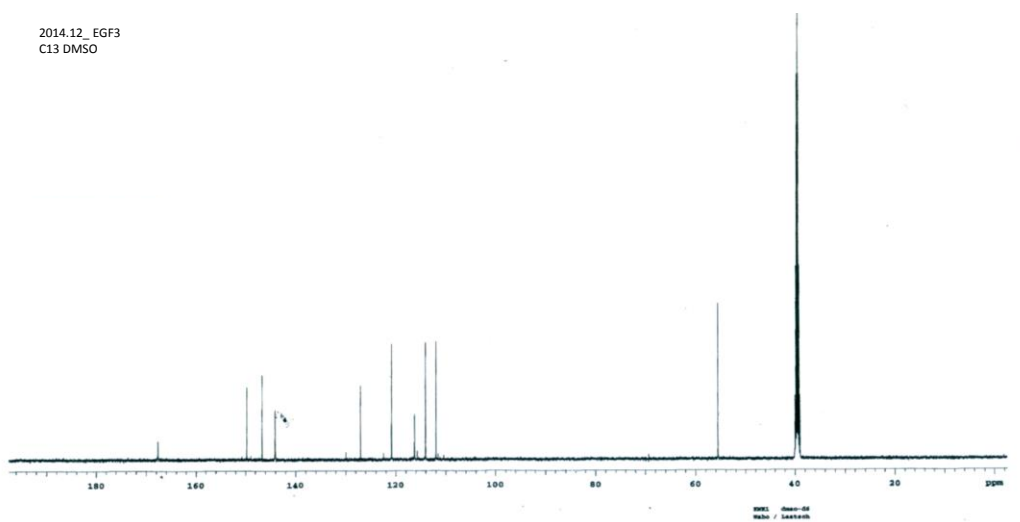
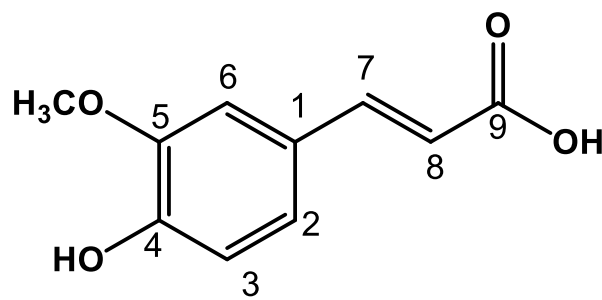


Figure 49: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé EGF3

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature (Tableau 22) (El-Moaty, 2016) ont conduit à attribuer à EGF3, la structure (**98**) qui est celle de l'acide férulique.



EGF3
98 : Acide férulique

II.1.3.1.4. Identification du phénylpropanoïde EGF4

Le composé EGF4 se présente sous forme d'aiguilles incolores solubles dans le DMSO (diméthylsulfoxyde). Il fond entre 218 et 220°C et réagit positivement au test du Chlorure ferrique caractéristique des phénols. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z = 165.06$, correspondant à la formule brute $C_9H_8O_3$ renfermant 6 insaturations.

Son spectre RMN¹H (Figure 50) présente des signaux totalisant après intégration, 08 protons. Tous les signaux sont agglomérés dans la zone des champs faibles dont 02 doublets à δ 6,27 et 7,48 avec des constantes de couplage de 15 Hz, indiquant la présence des protons oléfiniques ; on distingue également les signaux des protons d'un système AA'BB' aromatique. Il s'agit de 01 doublet à δ 6,79 avec une constante de couplage de 8 Hz, et 01 doublet à δ 6,78 avec une constante de couplage de 8 Hz.

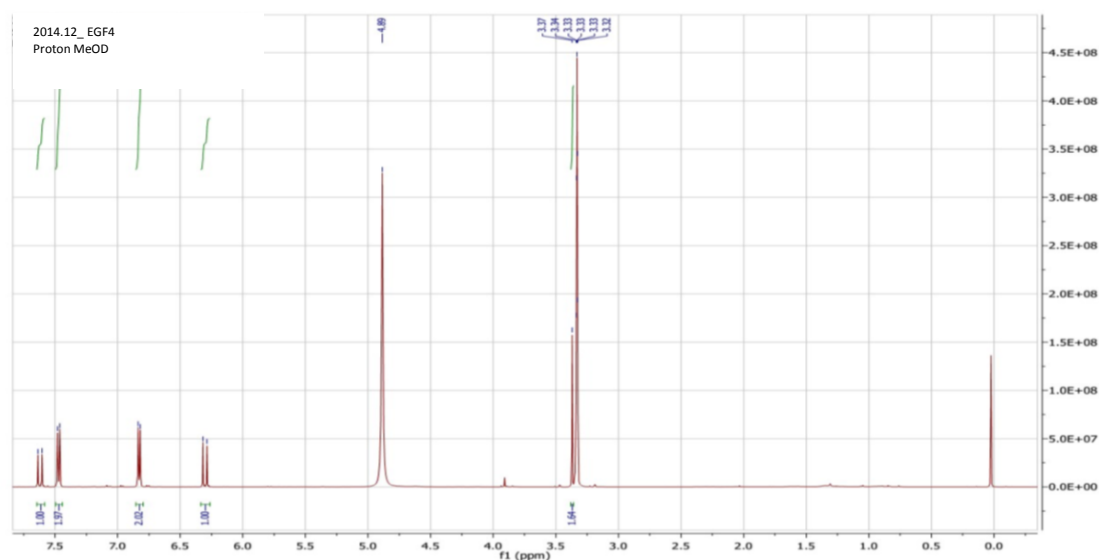


Figure 50: Spectre RMN ¹H (500 MHz, MeOD) du composé EGF4

Son spectre RMN¹³C (Figure 51) présente des signaux correspondant à un total de 8 carbones. Dans la zone des champs forts, on distingue les signaux des carbones du méthyle à δ 56,1. Dans la zone des champs faibles, on observe les signaux des carbones oléfiniques à δ 115,8 et 144,6 ; les carbones aromatiques du système AA'BB' à δ 130,5 et 116,2 ; les carbones aromatiques non protonés à δ 125,7 et 160,8 ; et enfin, le carbonyle à δ 168,4

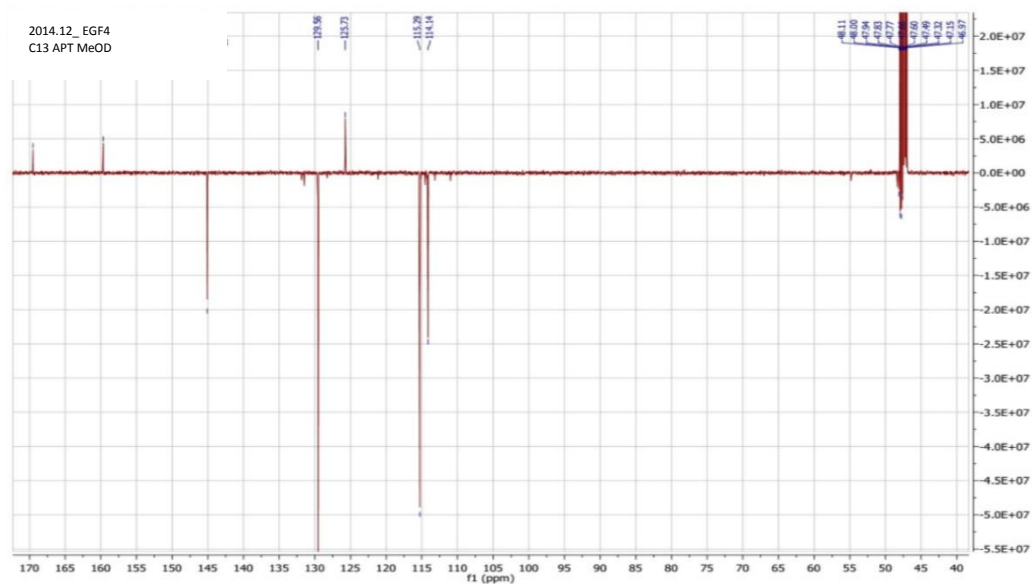
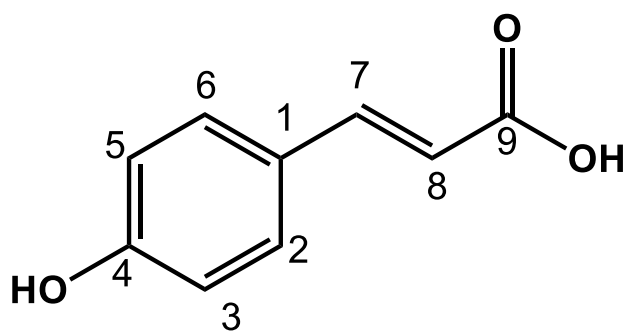


Figure 51: Spectre RMN ^{13}C APT (125 MHz, MeOD) du composé EGF4

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature (Tableau 22) (Filho et al., 2008), ont permis d'attribuer à EGF4, la structure (127) qui est celle de l'acide *p*-coumarique.



**Composé EGF4
127: Acide *p*-coumarique**

Tableau 22: Données de RMN ^1H (500 MHz, DMSO/MeOD) et ^{13}C (125 MHz, DMSO/MeOD) de EGF3 et EGF4 comparées à celles de la littérature

EGF3			EGF4			Litt. EGF3 (El- Moaty, 2016)	Litt. EGF4 (Filho et al., 2008)
N°	δ_{C}	δ_{H} (nH, J en Hz, m)	N°	δ_{C}	δ_{H} (nH, J en Hz, m)	δ_{H} (nH, J en Hz, m)	
1	123,8		1	125,7			
2	127,6	6,79 (1H, $J = 9,0$, d)	2;6	130,5	6,79 (2H, $J = 8,0$, d)	7,12 (1H, $J = 7,5$, d)	
3	116,1	7,08 (1H, $J = 2$, d)	3;5	116,2	6,78 (2H, $J = 8,0$, d)		
4	148,3		4	150,8	-		
5	121,0	6,9 (1H, $J = 2$, d)				6,90 (1H, $J = 2,5$, d)	
6	123,0	7,08 (1H, $J = 8$ et 2, dd)				7,00 (1H, $J = 7,5$, 2,5, dd)	
7	144,3	7,50 (1H, $J = 15$, d)	7	144,6	7,48 (1H, d, $J = 15,0$)	7,40 (1H, $J = 18$, d),	
8	115,0	6,34 (1H, $J = 15$, d)	8	115,8	6,27 (1H, d, $J = 15,0$)	6,30 (1H, $J = 18$, d)	
9	168,4		9	168,4			
OH	-	8,90 (s)	OH	-	8,90 (s)	8,90(s, OH)	
OCH ₃	56,1	3,81 (3H, s)		-	-	3,84 (3H, s, OCH ₃)	

II.1.3.1.5. Identification du triterpène EGF5

Le composé EGF5 se présente sous forme de cristaux en aiguille de couleur blanche solubles dans le chloroforme. Il fond entre 237 et 240°C et réagit positivement au test de Liebermann-Burchard en donnant une coloration rose pourpre, caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse ESI TOF présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z=457.36$ correspondant à la formule brute $C_{30}H_{48}O_3$ renfermant 07 insaturations.

Son spectre RMN 1H (Figure 52) présente un ensemble de signaux qui, après intégration, donne un total de 48 protons. Tous les signaux sont agglomérés dans la zone des champs forts entre 0.67 et 5.5. On distingue notamment:

- 05 singulets de méthyles liés à des carbones non protoné à δ 0.67, 0.66, 0.74, 0.86, 0.89, 1.04 ;
- 02 doublets à δ 0.81 et 0.91 correspondant à 02 méthyles liés chacun à un CH ;
- 01 amas de multiplets entre δ 1.00 et 1.80, correspondant à des protons axiaux et équatoriaux des méthylènes cycliques ;
- 01 doublet de doublet à δ 0.68 et 3.14, correspondant respectivement à 01 proton lié à un carbone quaternaire déblindé ;
- 01 triplet à δ 5.21, correspondant au proton oléfinique.

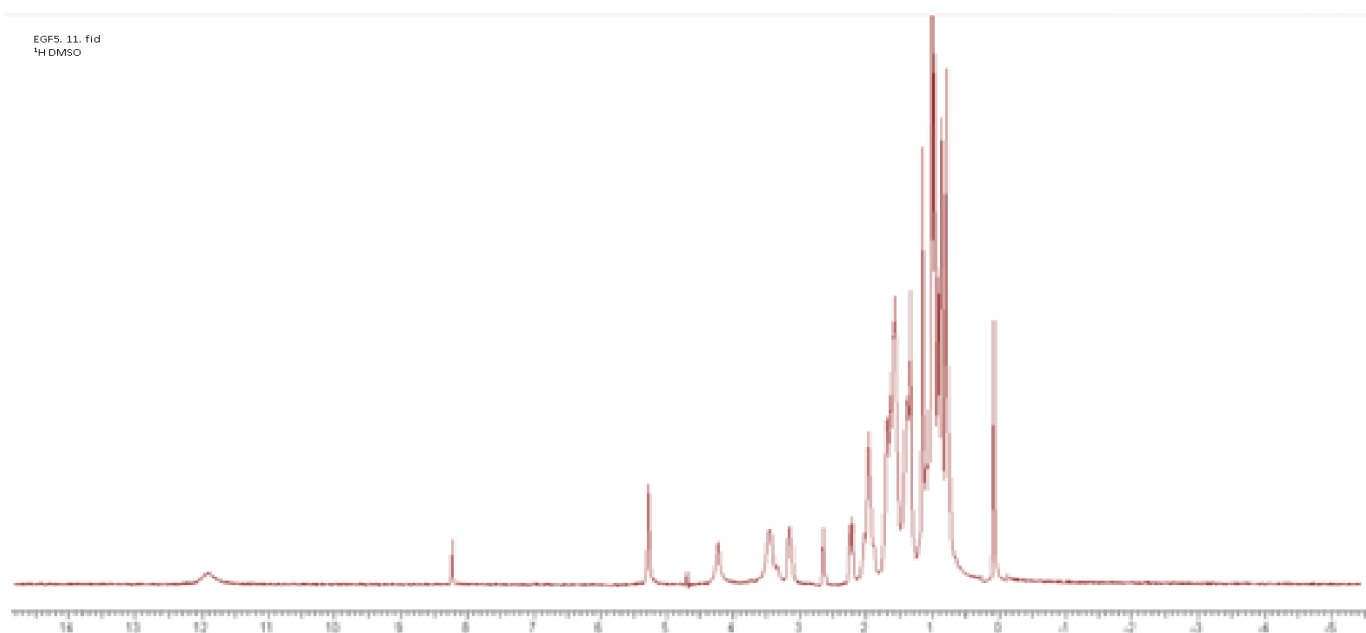
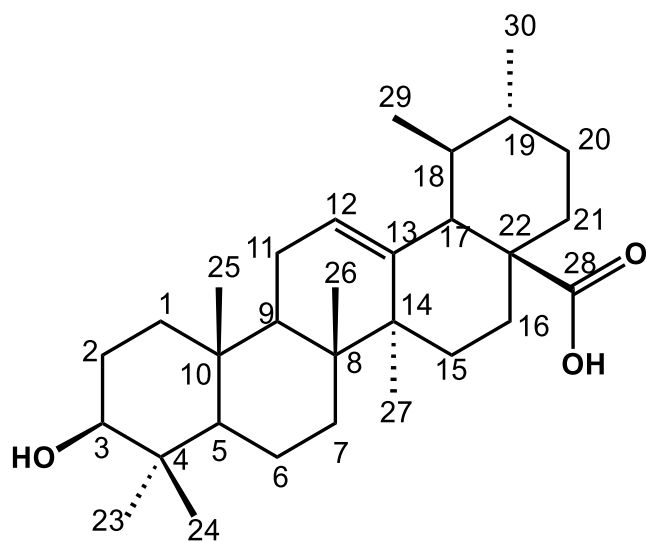


Figure 52: Spectre RMN 1H (500MHz, $CDCl_3$) du composé EGF5

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature (Tableau 23) d'une part et une CCM comparative avec un échantillon authentique d'autre part, ont permis d'identifier EGF5 comme étant le composé (**128**) qui est l'acide ursolique.



EGF5
128: Acide ursolique

II.1.3.1.6. Identification du triterpène EGF6

Le composé EGF6 se présente sous forme de cristaux en aiguille de couleur blanche soluble dans le chloroforme. Il fond entre 301 et 303°C et réagit positivement au test de Liebermann-Burchard en donnant une coloration rose pourpre, caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse ESI TOF, présente le pic de l'ion moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z = 457.36$ correspondant à la formule brute $C_{30}H_{48}O_3$ renfermant 07 insaturations.

Son spectre RMN 1H (Figure 53) présente un ensemble de signaux qui donne un total de 48 protons. Tous les signaux sont agglomérés dans la zone des champs forts entre 0.75 et 5.5. On distingue :

- 07 singulets de méthyles liés à des carbones non protonés à δ 0.75, 0.77, 0.91, 0.92, 0.93, 0.99 et 1.14 ;
- 01 amas de multiplets entre δ 1.00 et 1.90, correspondant à des protons axiaux et équatoriaux des méthylènes cycliques ;
- 01 doublet de doublet à δ 3.22, correspondant à 01 proton lié à un carbone quaternaire fortement déblindé ;
- 01 mutiplet à δ 5.28, correspondant au proton oléfinique.

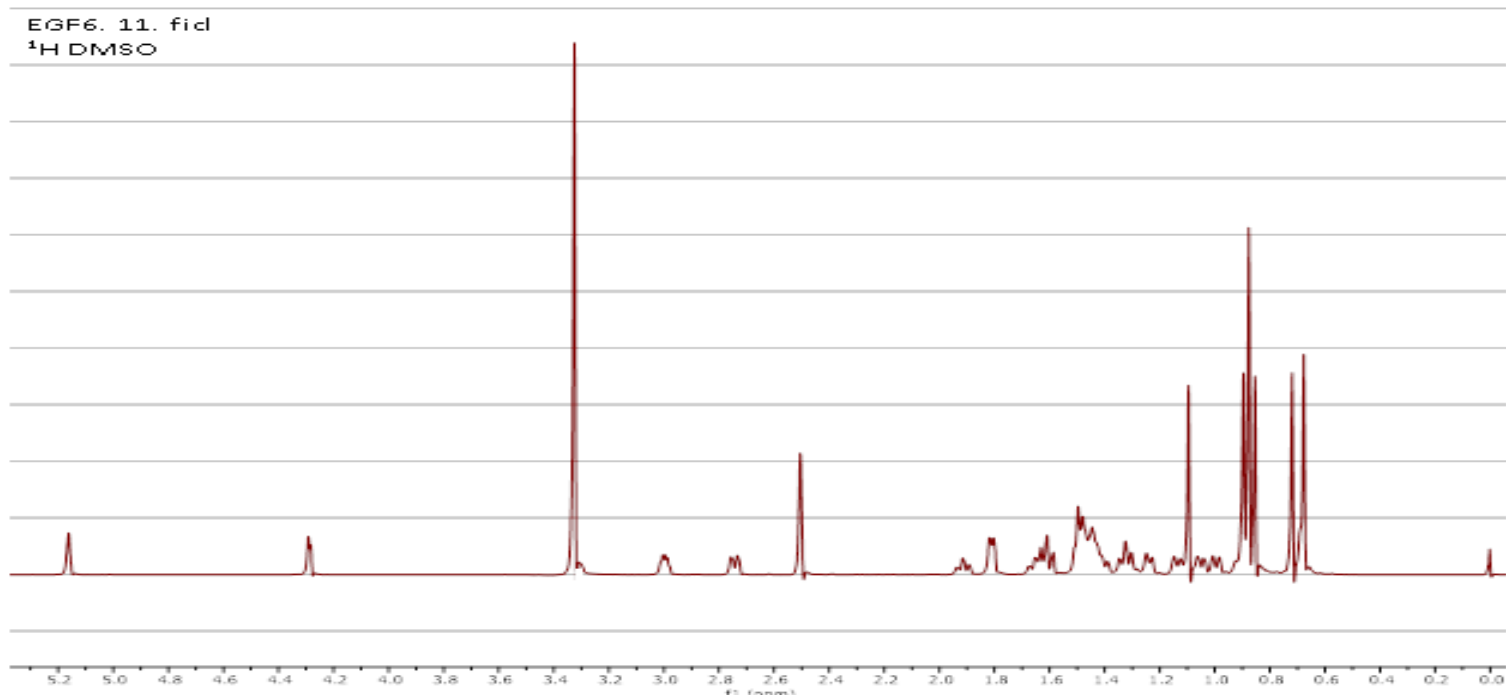


Figure 53: Spectre RMN 1H (500MHz, $CDCl_3$) du composé EGF6

Son spectre RMN ^{13}C (Figure 54) présente un ensemble de signaux, correspondant à un total de 30 carbones parmi lesquels 07 méthyles à δ 15.5, 15.7, 17.3, 23.7, 26.1, 28.2 et 33.2 ; 05 carbones quaternaires non protonés à δ 38.5, 39.4, 37.2, 41.7 et 46.7 ; 02 carbones sp^2 à δ 122.8, 143.8 et 183.3 correspondant respectivement aux carbones oléfiniques et au carbonyle.

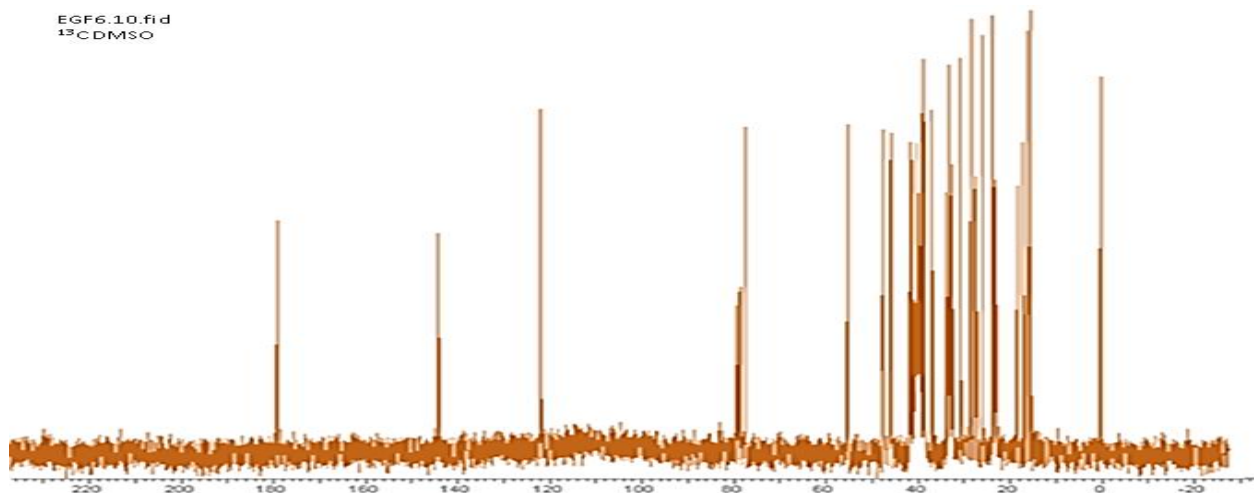
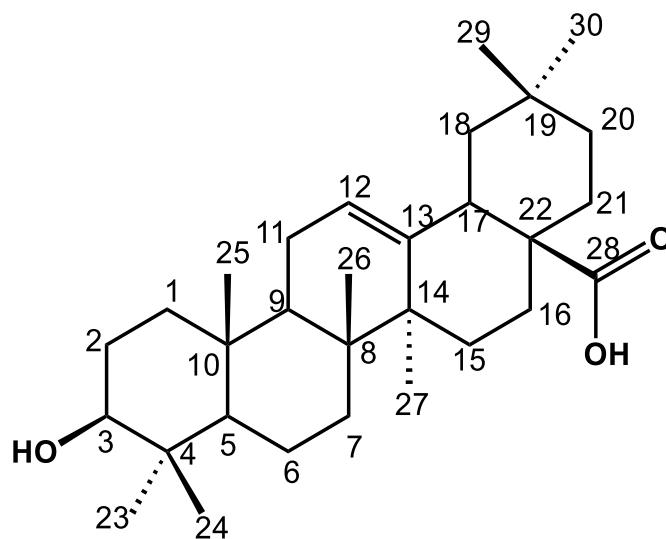


Figure 54: Spectre RMN ¹³C (125 MHz, DMSO) du composé EGF6

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature (Tableau 23) (Begum et al., 2004) d'une part et la CCM comparative avec un échantillon authentique d'autre part, ont permis d'attribuer à EGF6 la structure (**129**) qui est celle de l'acide oléanolique.



EGF6
129: Acide oléanolique

Tableau 23: Données de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) et ¹³C (125 MHz, CDCl₃) de EGF5 et EGF6 comparées à celles de la littérature ¹³C (100 MHz, C₅D₅N)

EGF5		EGF6		Littérature (Kemertelidze et al., 1992; Peter et al., 1986)		
N°	δ _C	δ _H (nH, m, J en Hz)		δ _H (nH, m, J en Hz)	δ _{C5}	δ _{C6}
1	38,0	1,00 ^a (1H, J = 2,8, 13,0, m) 1,53 ^e (1H, J = 2,8, 3,4, 13,0, m)	38,9	0,98 ^a (1H, m) 1,64 ^e (1H, m)	38,7	38,4
2	24,0	1,80 ^a (1H, J = 9,0, 2,8, 13,0, m) 1,80 ^e (1H, J = 6,0, 3,4, 13,0, m)	27,3	1,61 ^a (1H, m) 1,63 ^e (1H, m)	23,5	27,4
3	78,8	3,14 ^e (1H, J = 10,0, 4,8, dd)	77,2	3,22 ^e (1H, J = 10,0, 4,8, dd)	79,0	77,7
4	38,2	-	38,5	-	39,6	38,6
5	52,8	0,68 ^e (1H, J = 12,0, 2,0, dd)	55,3	0,75 (1H, J = 12,0, 2,0, dd)	52,7	55,4
6	18,0	1,28 ^a (1H, J = 12,0, 10,0, m) 1,48 ^e (1H, J = 2,0, 3,0, 9,0, m)	18,5	1,38 ^a (1H, J = 12,0, 2,0, m) 1,56 ^e (1H, J = 2,0, 3,0, 9,0, m)	18,3	17,9
7	32,7	1,26 ^a (1H, J = 2,0, 3,0, 9,0, m) 1,45 ^e (1H, J = 9,0, m)	32,6	1,30 ^a (1H, J = 2,0, 3,0, 9,0, m) 1,55 ^e (1H, J = 9,0, m)	33,0	32,5
8	38,5	-	39,4	-	39,1	39,3
9	47,0	1,46 (1H, J = 6,0, 12,0, m)	47,8	1,56 (1H, J = 6,0, 12,0, dd)	47,6	47,6
10	36,5	-	37,2	-	36,7	36,8
11	22,3	1,83 ^a (1H, J = 4,0, 11,0, 12,0, m) 1,86 ^e (1H, J = 4,0, 6,0, 11,0, m)	23,1	1,61 ^a (1H, J = 4,0, 11,0, 12,0, m) 1,64 ^e (1H, J = 4,0, 6,0, 11,0, m)	23,7	23,2
12	124,6	5,21 (1H, J = 4,0, t)	122,8	5,28 (1H, J = 4,0, H-12, m)	125,8	121,8
13	138,2	-	143,8	-	138,0	144,2
14	41,6	-	41,7	-	42,0	41,7
15	27,5	1,80 ^e (1H, J = 4,0, 3,0, 14,0, m)	27,8	1,08 ^a (1H, J = 4,0, 13,6, 14,0, m) 1,11 ^e (1H, J = 4,0, 3,0, 14,0, m)	29,4	27,2

16	24,8	1,53 ^a (1H, $J = 4,0, 13,0, 13,6$, m) 1,92 ^e (1H, $J = 4,0, 13,0, 3,0$, m)	23,5	1,88 ^a (1H, m, $J = 4,0, 13,0, 13,6$) 1,88 ^e (1H, m, $J = 4,0, 13,0, 3,0$)	23,3	23,2
17	46,8	-	46,7	-	47,9	46,0
18	52,4	2,10 ^a (1H, $J = 2,0, 11,0, dd$)	41,1	2,82 ^a (1H, $J = 11,0, dd$,)	55,3	41,6
19	38,4	1,31 ^a (1H, $J = 6,6, 11,3, dd$)	46,0	1,15 ^a (1H, $J = 11,0, m$)	30,6	46,0
20	38,4	1,31 (1H, m, $J = 2,0, 6,3$)	30,8	-	30,4	30,2
21	30,2	1,27 ^a (1H, $J=2,2, 14,0, m$) 1,43 ^e (1H, $J = 13,0, 1,4, 3,0, 13,0, m$)	33,9	1,22 ^a (1H, $J = 2,2, 14,0, 13,0, m$) 1,35 ^e (1H, $J = 1,3, 2,9, 13,0, m$)	27,3	33,7
22	36,3	1,51 ^a (1H, $J = 1,4, 1,4, m$) 1,58 ^e (1H, $J = 13,0, 2,2, 3,0, 13,0, m$)	32,7	1,43 ^a (1H, $J = 1,3, 14,0, 13,0, m$) 1,78 ^e (1H, $J = 2,1, 3,0, 13,0, m$)	37,0	32,6
23	28,2	0,89 (3H, s)	28,2	0,99 (3H, s)	23,4	28,0
24	16,1	0,67 (3H, s)	15,7	0,77 (3H, s)	17,0	15,6
25	15,2	0,86 (3H, s)	15,5	0,92 (3H, s)	17,0	14,8
26	16,8	0,74 (3H, s)	17,3	0,75 (3H, s)	15,5	16,8
27	23,4	1,04 (3H, s)	26,1	1,14 (3H, s)	27,2	25,5
28	177,3	-	179,3	-	176,0	178,5
29	18,0	0,81 (3H, $J = 6,6, d$)	33,2	0,91 (3H, s)	21,1	32,8
30	21,1	0,91 (3H, $J = 6,3, d$)	23,7	0,93 (3H, s)	23,4	23,2

II.1.3.1.7. Identification du flavonoïde EGF7

Le composé EGF 7 se présente sous forme d'aiguille de couleur jaune, soluble dans le DMSO. Il fond entre 313 et 315°C et répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre **de masse ESI TOF**, présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z = 303.04$, correspondant à la formule brute $C_{15}H_{10}O_7$ renfermant 11 insaturations.

Son spectre RMN 1H (Figure 55) présente un ensemble de signaux correspondant, après intégration à 10 protons résonnant dans la zone des champs faibles. On distingue :

- 02 doublets à δ 6,19 et 6,41 avec une constante de couplage de 2,0 Hz, correspondant à 02 protons du cycle A en position méta;
- Des signaux correspondant au système aromatique de type ABX, en l'occurrence 01 doublet à δ 6,89 avec une constante de couplage de 8,5 Hz, 01 doublet de doublet à δ 7,45 avec des constantes de couplage de 8,5 et 2,2 Hz et 01 doublet à δ 7,69 avec une constante de couplage de 2,2 Hz.

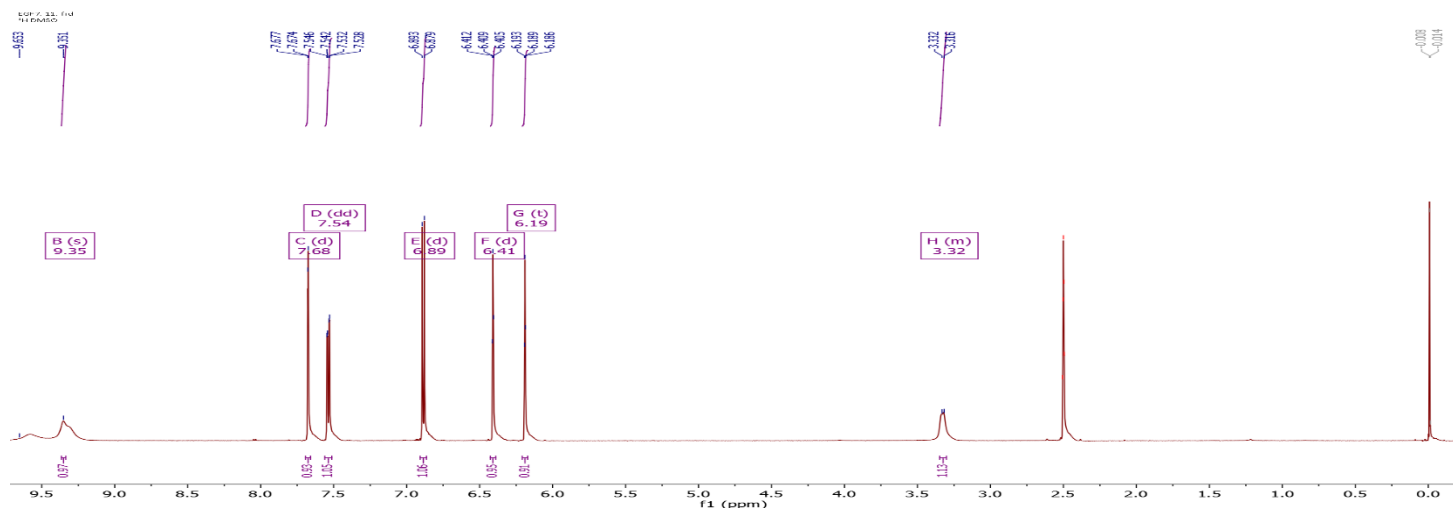


Figure 55: Spectre RMN 1H (500MHz, $CDCl_3$) du composé EGF7

Son spectre RMN ^{13}C (Figure 56) présente des signaux de 15 carbones. On observe notamment :

- 05 signaux des carbones aromatiques déblindés à δ 135,8; 160,8; 164,0; 146,9 et 147,8 ;
- 02 signaux de carbones oléfiniques à δ 135,8 et 145,1 ;
- 01 signal du carbonyle à δ 175,9.

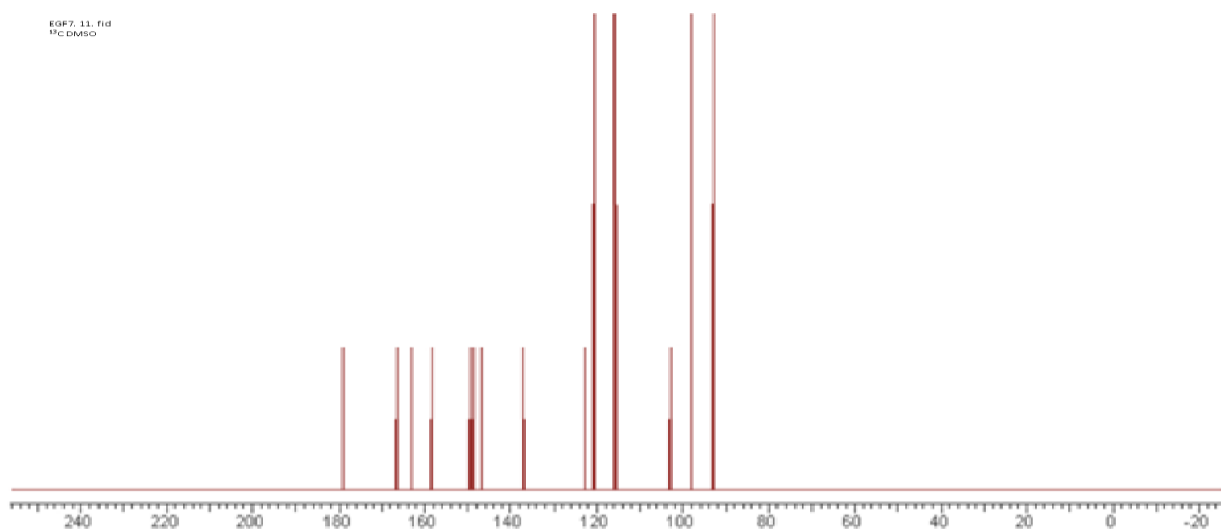
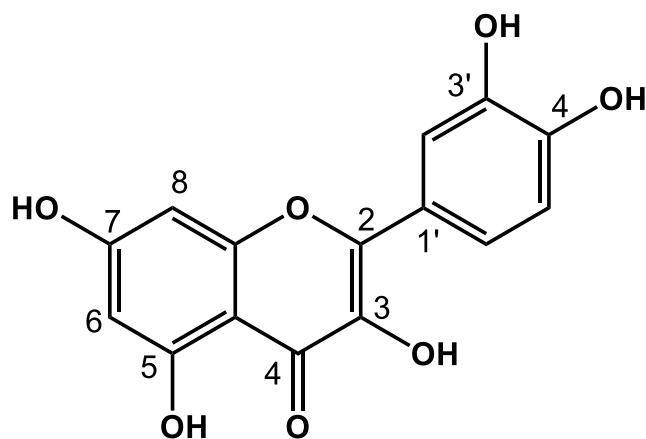


Figure 56: Spectre RMN ¹³C (125 MHz, DMSO) du composé EGF7

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature (Tableau 24) (Sinha et al., 2012) ont permis d'identifier EGF7 comme étant la quercétine (**53**)



EGF7
53: Quercétine

Tableau 24: Données de RMN ¹H (300 MHz, DMSO) et ¹³C (125 MHz, DMSO) de EGF7 comparées à celles de la littérature

N°	EGF 7		Littérature (Sinha et al., 2012)
	δ_C	δ_H (nH, <i>J</i> en Hz, m)	δ_C
2	145,1	-	147,4
3	135,8	-	136,2
4	175,9	-	176,4
5	160,8	-	161,2
6	98,3	6,19 (1H, <i>J</i> = 2,0, d)	98,7
7	164,0	-	164,4
8	93,41	6,41 (1H, <i>J</i> = 2,0, d)	93,8
9	156,2	-	157,0
10	103,1	-	98,7
1'	122,0	-	122,5
2'	115,10	7,69 (1H, <i>J</i> = 2,2, d)	115,6
3'	146,9	-	145,5
4'	147,8	-	148,2
5'	115,7	6,89 (1H, <i>J</i> = 8,5, d)	115,7
6'	120,1	7,55 (1H, <i>J</i> = 8,5 ; 2,2, d)	116,1
5-OH	12,98	(1H, s)	

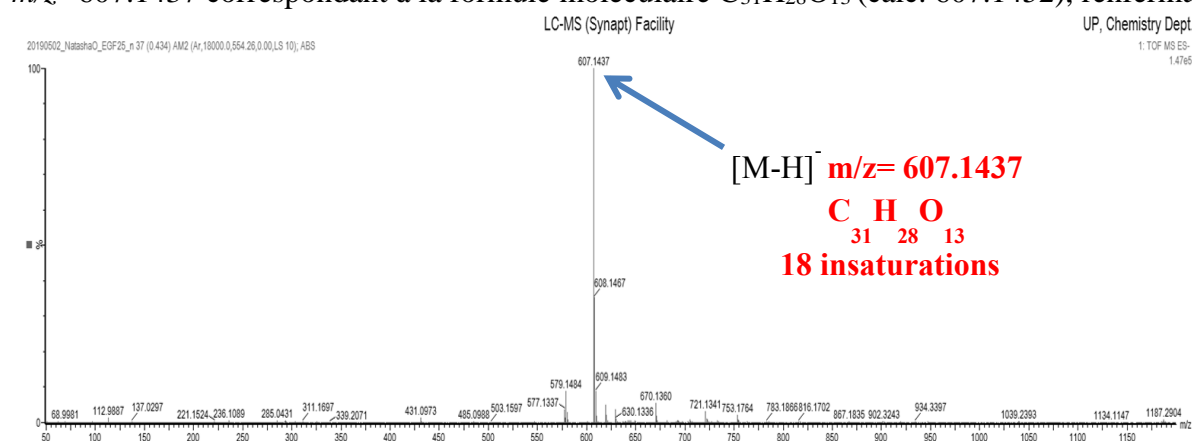
II.1.4. Investigation phytochimique des parties aériennes de *Echinops*

Gracilis

II.1.4.1. Détermination structurale des composés isolés des parties aériennes de *Echinops gracilis*

II.1.4.1.1. Détermination structurale du flavonoïde EGF8

Le composé EGF8 se présente sous forme de poudre amorphe jaune soluble dans le MeOH ; il répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre de masse ESI TOF MS (Figure 57), présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M-H]^-$ à $m/z=607.1437$ correspondant à la formule moléculaire $C_{31}H_{28}O_{13}$ (calc. 607.1452), renfermant



18 insaturations.

Figure 57: Spectre de masse TOF ESI du composé EGF8

Son spectre UV (Figure 58) montre des bandes d'absorption à λ_{max} 240 nm et 275 nm ($\log \epsilon = 1.48$) qui sont caractéristiques des flavones. Son spectre IR (Figure 59) présente des vibrations des groupements hydroxyles (3350 cm^{-1}), carbonyles α,β -insaturés (1638 cm^{-1}) et aromatiques (1510 cm^{-1}).

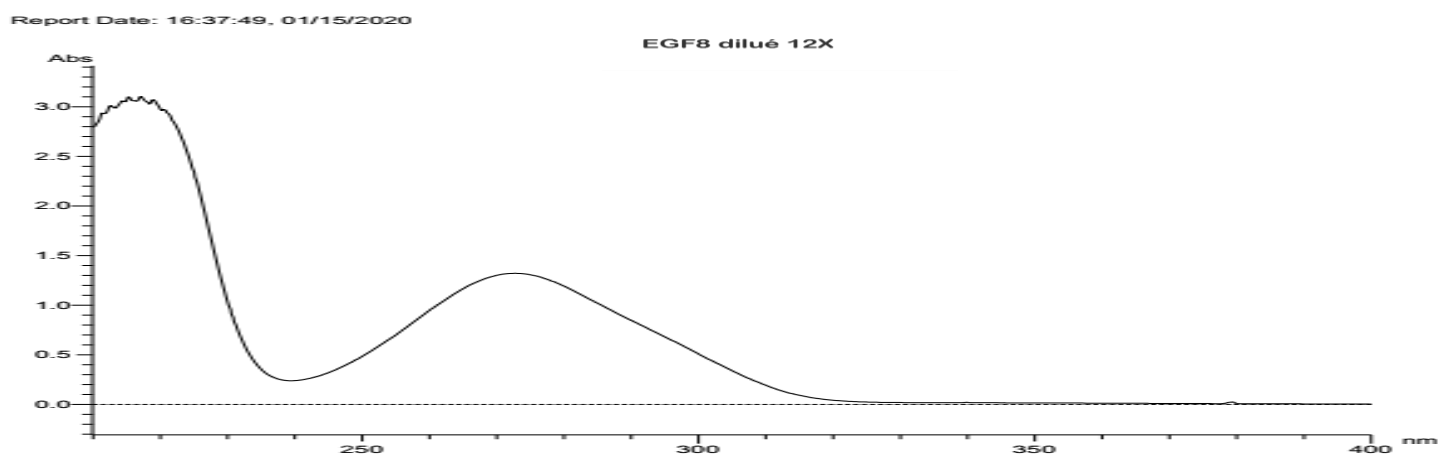


Figure 58: Spectre UV du composé EGF8

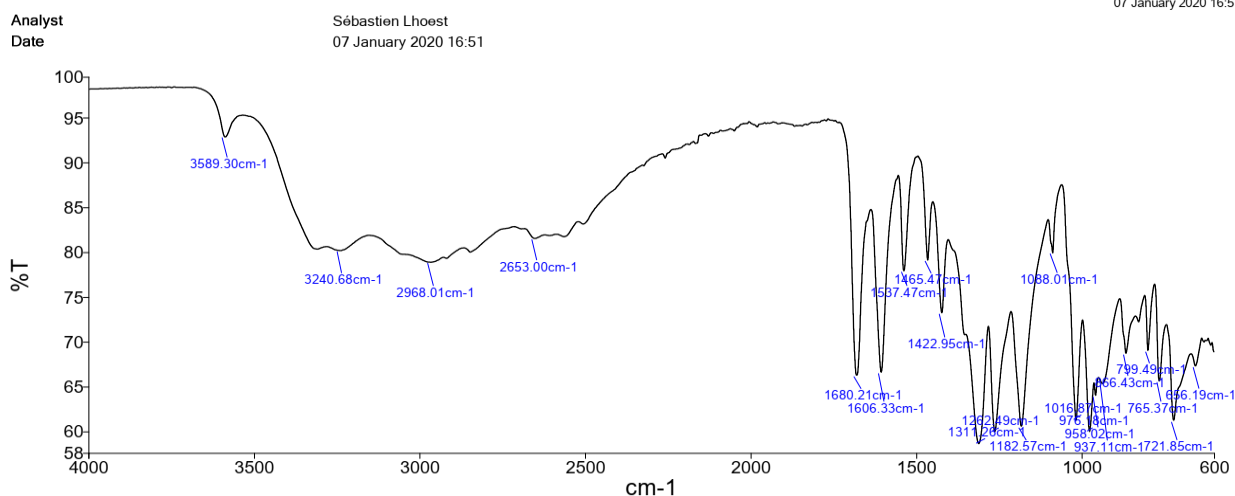
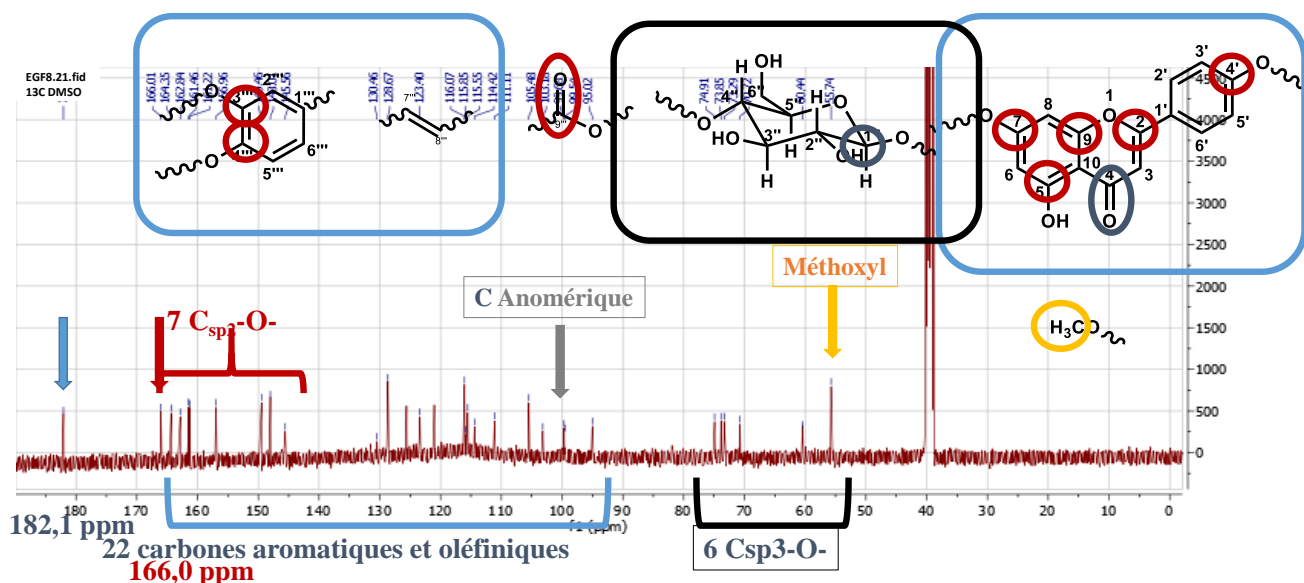


Figure 59: Spectre IR du composé EGF8

Son spectre RMN ^{13}C (Figure 60) confirme la présence de 31 carbones dont 2 carbonyles parmi lesquels 1 carbonyle des esters, 22 carbones aromatiques et oléfiniques dont 7 sont déblindés par des oxygènes, 7 carbones hydroxylés hybridés sp^3 parmi lesquels 6 sont ceux du glucoside avec le carbone anomérique à 99,7 ppm (Agrawal et al., 1992) et le carbone d'un



méthoxy à 55,5ppm.

Figure 60: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO) du composé EGF8

Son spectre RMN ^1H (Figure 63), présente 3 domaines de pics. Tout d'abord, Le signal du proton d'un hydroxyle chélaté à δ 12,99 conforme au proton de l'hydroxyle en position 5 d'un squelette de type flavone.

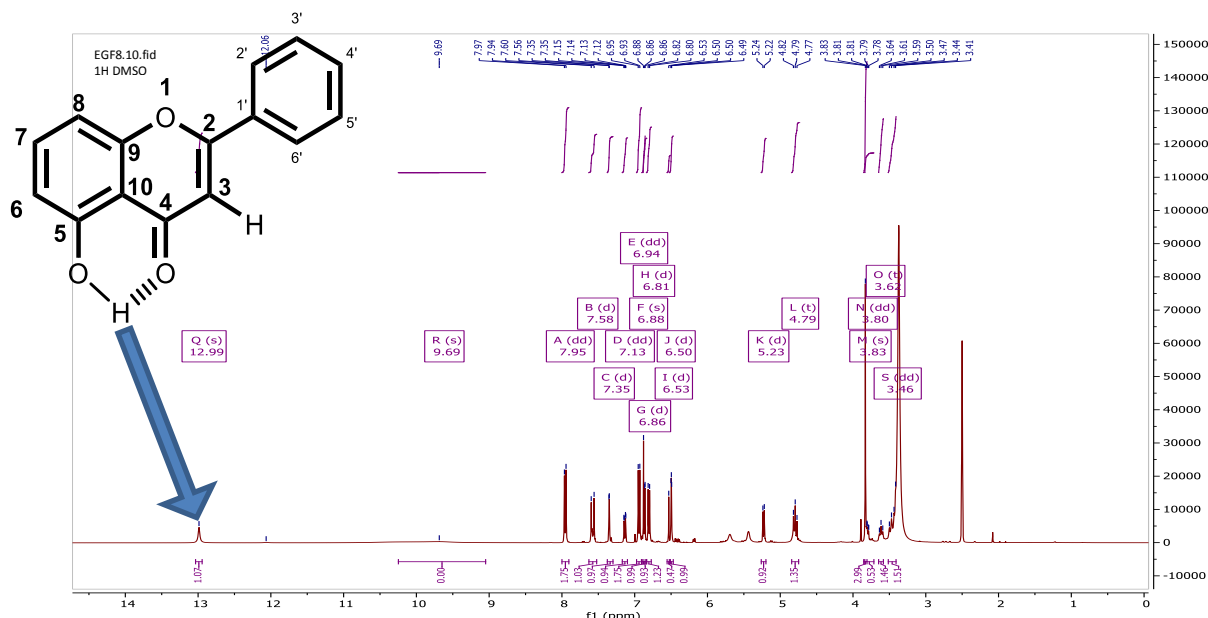


Figure 61: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO) du composé EGF8

Ensuite, le domaine des protons oléfiniques et aromatiques où l'on observe:

- un singulet à 6,88 caractéristique du proton H-3 de l'hétérocycle C du squelette de type flavone ;
- deux doublets à 6,50 et 6,86 de deux protons dans un couplage méta, caractéristique d'un noyau A disubstitué d'un squelette de type flavone ;
- les doublets d'un système aromatique AA'BB' à 7,95 et 6,94 d'un cycle B disubstitué, d'un squelette de type flavone.

Toujours dans ce domaine de protons aromatiques, nous observons :

- les signaux doublets d'un système ABX aromatique à 6,81, 7,13 et 7,35 ;
- les signaux des protons trans d'une double liaison disubstituée à 7,58 et 6,53 ($J = 15,8 \text{ Hz}$).

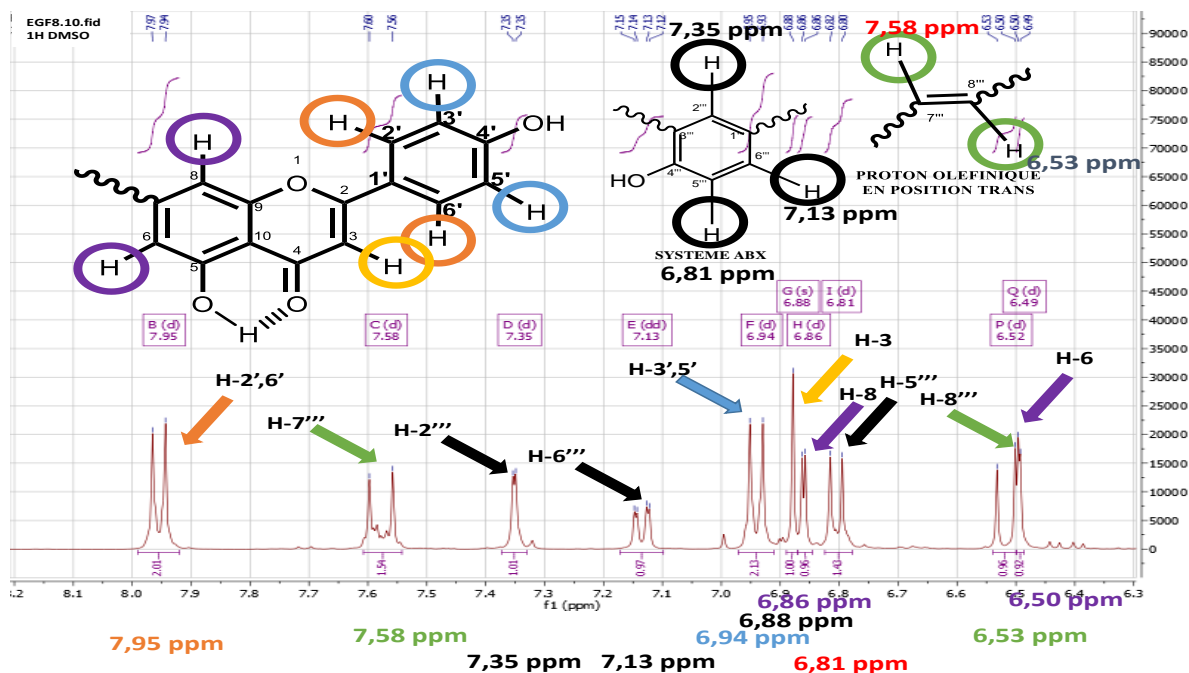


Figure 62: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO) du composé EGF8

Dans le domaine des champs forts, on observe des signaux des protons du glucose entre δ 3,20 et 5,30, particulièrement le doublet du proton anomérique du sucre à δ 5,23 avec une constante de couplage de 7,7 Hz, suggérant qu'il s'agit d'un β glucoside. Nous observons en plus du multiplet du méthylène du glucose à δ 3,46 et de tous les autres signaux des autres protons du fragment β glycoside, le signal singulet d'un méthoxy à 3,83.

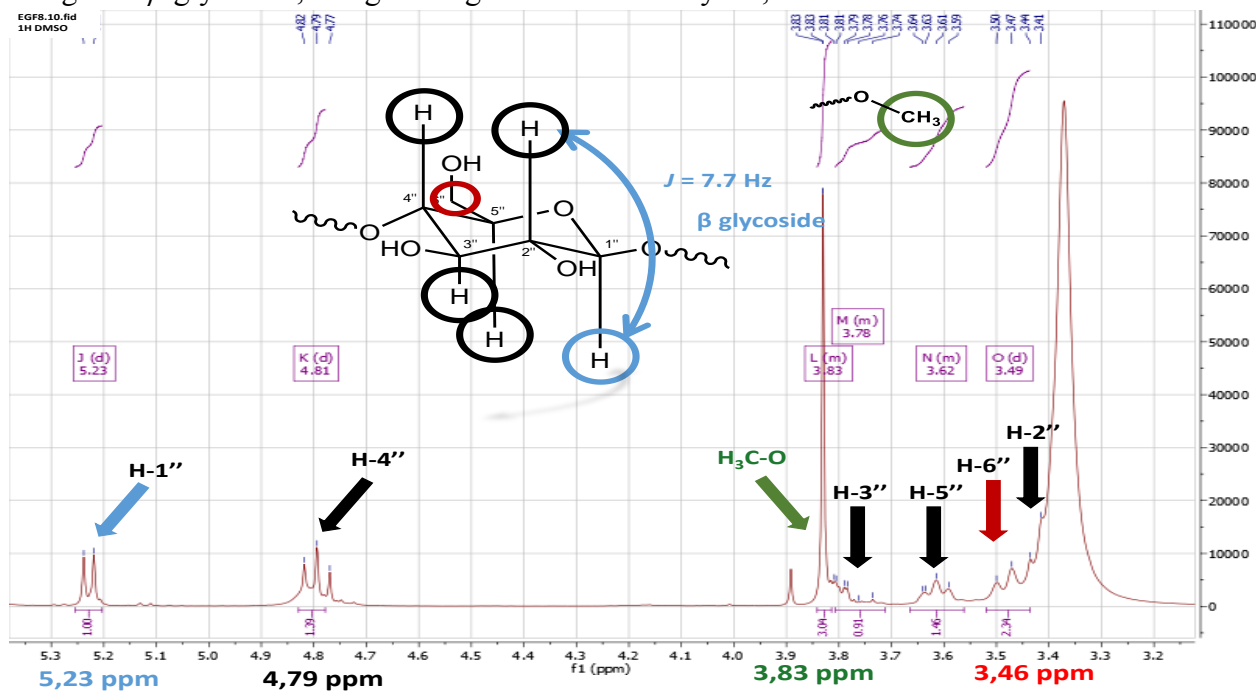


Figure 63: Spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO) du composé EGF8

Sur le spectre HMBC (Figure 65), on observe :

- les corrélations (Figure 64) entre les protons du fragment oléfinique (H-7'''(7,58) et H-8'''(6,53)) et le carbonyle de type ester (C-9'''(166,0) d'une part et d'autre part avec les carbones du système de spin ABX (C-1'''(125,56) et C-2'''(111,1)), ce qui permet de joindre ces fragments en un fragment de type dérivé d'acide cinnamique ;
- la corrélation entre le proton anomérique H-1'' à δ 5,23 et le carbone C-7 à δ 162,8 qui permet de rattacher le groupement osidique au carbone n° 7 du fragment flavonique ;
- la corrélation entre le proton H-4'' (δ 4,81) du glucoside et le carbonyle C-9'''(166,0) du fragment cinamique, permet de rattacher l'ester cinamique en position C4'' du sucre ;
- la corrélation entre les protons du méthoxyle à 3,83 et le carbone aromatique C-3''' à 148 ppm, permet de rattacher le groupement méthoxyle en position 3'''.

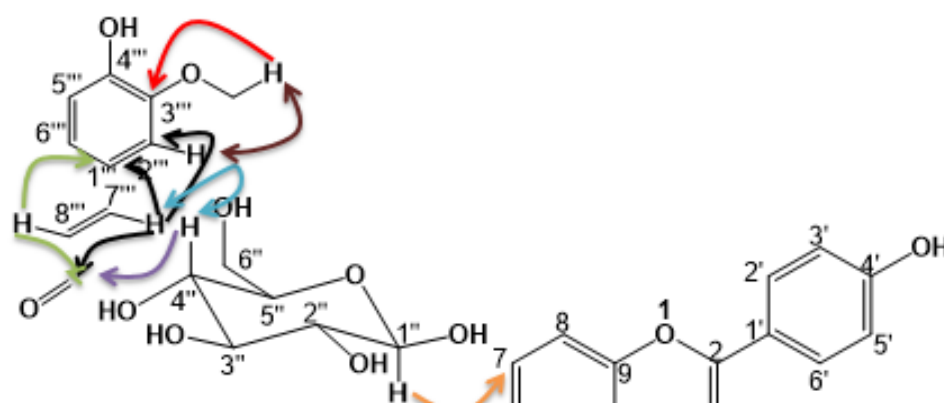


Figure 64: Quelques corrélations HMBC et NOESY dans le composé EGF8

Légende :
 Corrélation HMBC
 Corrélation NOESY

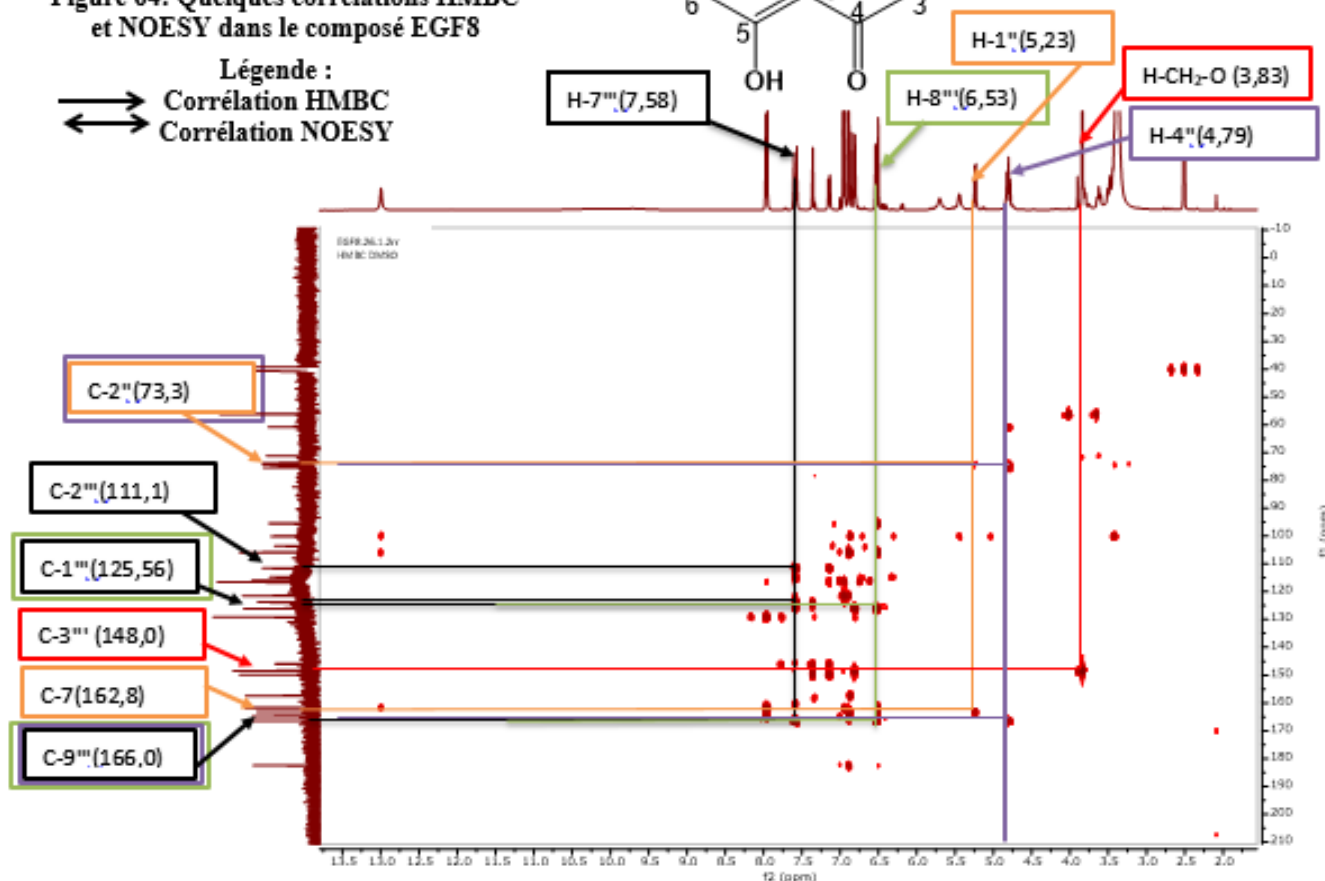


Figure 65: Spectre HMBC du composé EGF8

Son spectre NOESY (Figure 66) montre la corrélation entre le proton oléfinique H7''' et le proton H4'' du sucre d'une part et d'autre part la corrélation des protons du méthoxyle avec le proton H2''' du système aromatique cinamique, ce qui nous permet d'orienter la double liaison en position axial

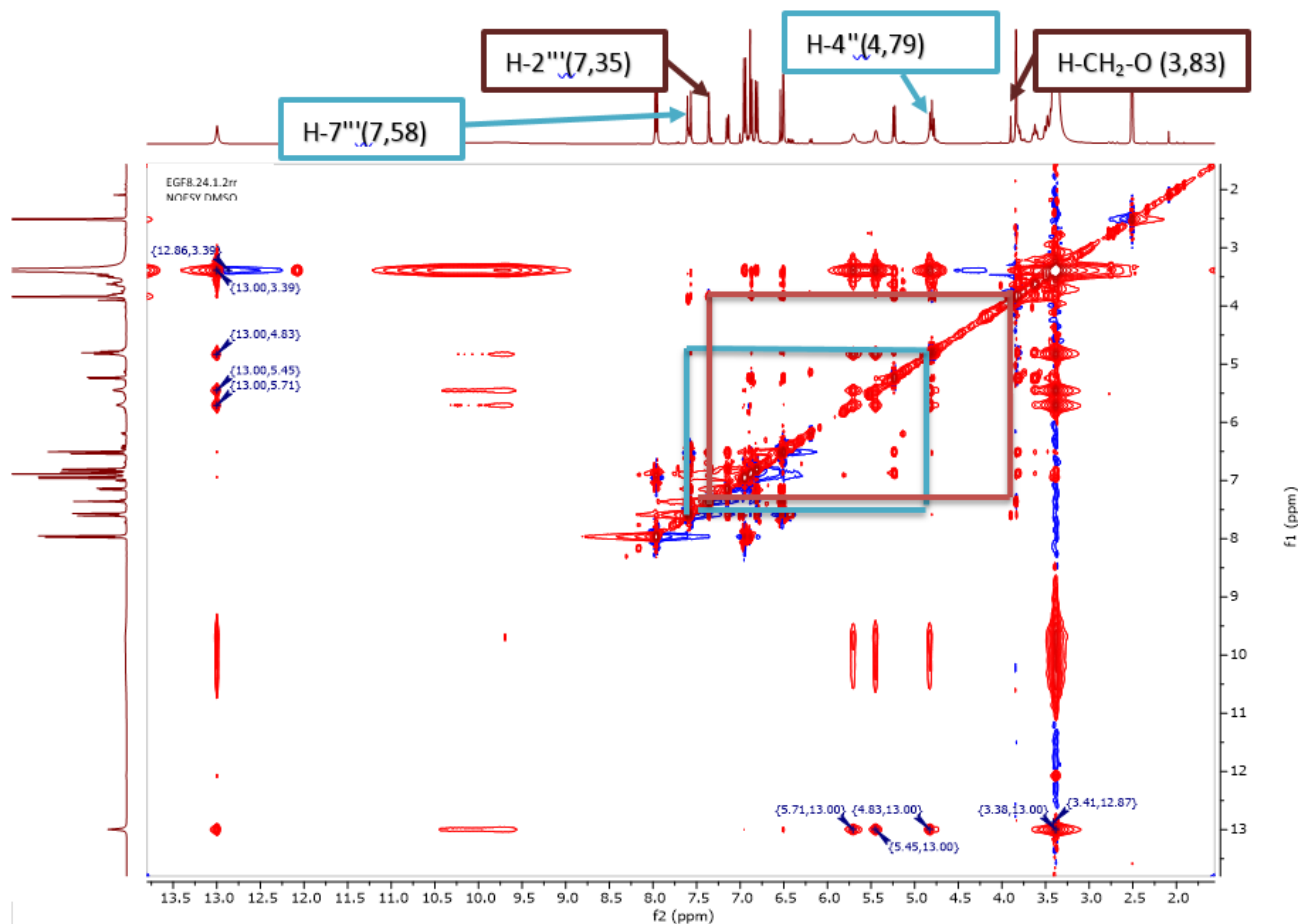
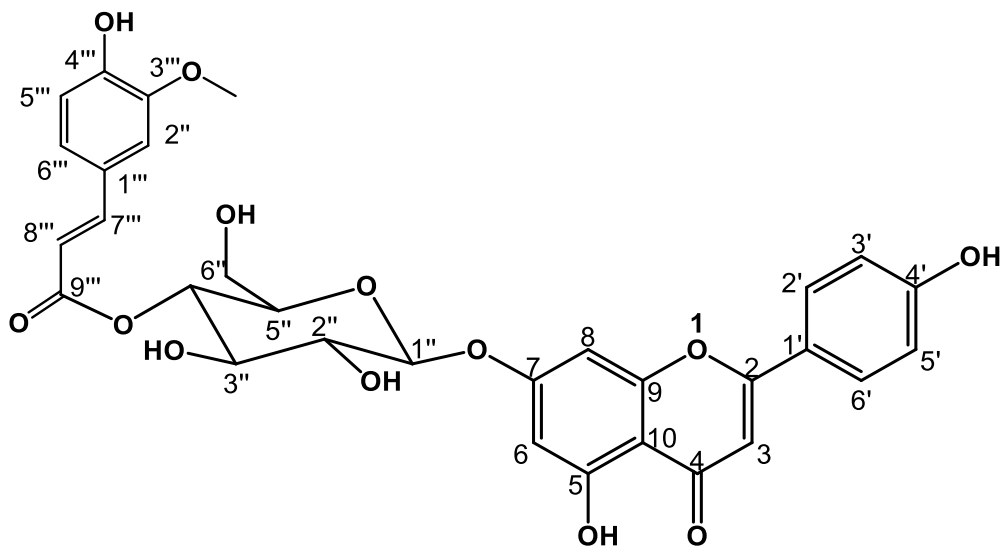


Figure 66: Spectre NOESY du composé EGF8

L'analyse des données RMN de EGF8 montre que sa structure est similaire à celle de la 7-*O*-(4''-*trans*-*p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine (Abdel-Rahim et al., 2001) et de la chrysoeriol-7-*O*-(4'-*O*-(*E*)-coumaroyl)- β -glucopyranoside (Rivière et al., 2009), à la seule différence de la présence d'un groupement méthoxyle en position 3''' matérialisé par le signal à δ 55.7, le système ABX et la corrélation NOESY du proton β oléfinique à δ 7.58 avec le proton méthylique à δ 3.83 et le proton H-2''' du système ABX (Figure 64). Ainsi, sur la base des analyses qui précèdent (Tableau 25), la structure (**130**) a été attribuée au composé EGF8 qui est celle d'un nouveau flavonoïde glycosylé, la 7-*O*-(4''-feruloyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine.



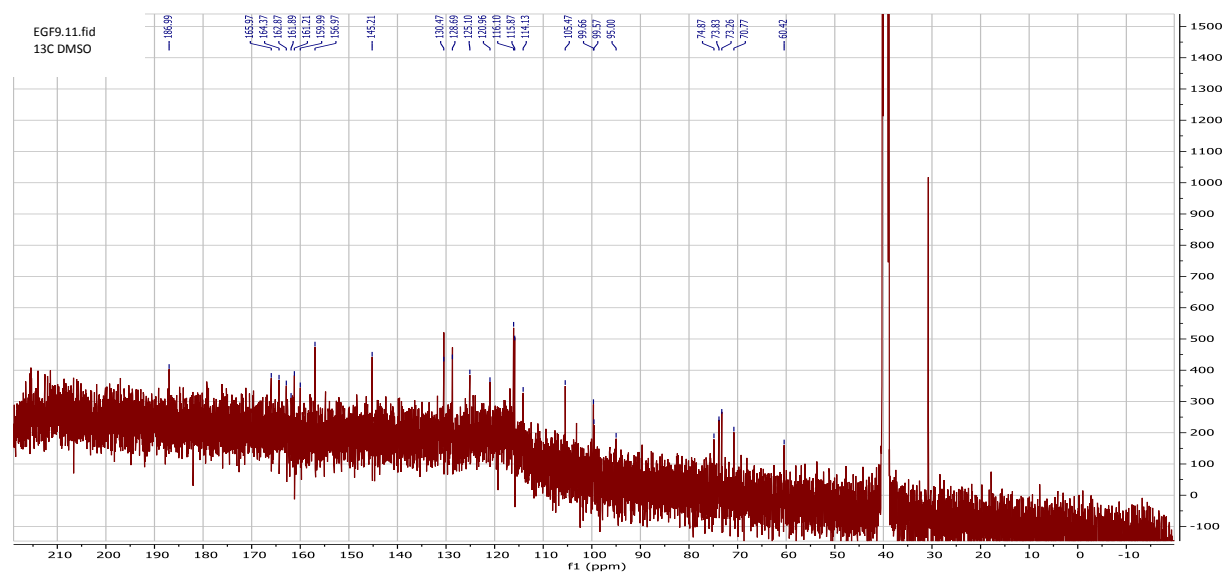
Composé EGF8
130: 7-O-(4'-feruloyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine

Tableau 25: Données de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*₆) et ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*₆) de EGF8

Position	EGF8		
	δ_{C}	δ_{H} (nH, <i>J</i> en Hz, m)	HMBC
2	164,4		
3	103,2	6,88 (s, 1H)	
4	182,1		
5	161,4		
6	99,5	6,50 (d, <i>J</i> = 2,2, 1H)	
7	162,8		5,23
8	95,0	6,86 (d, <i>J</i> = 2,2, 1H)	
9	157,0		
10	105,5		
1'	121,0		
2';6'	128,7	7,95 (dd, <i>J</i> = 2, 8,8, 1H)	
3';5'	116,1	6,94 (dd, <i>J</i> = 2, 8,8, 1H)	
4'	161,2		
1'''	125,6		7,58 ; 6,53
2'''	111,1	7,35 (d, <i>J</i> = 2,0, 1H)	7,58
3'''	148,0		3,83
4'''	149,5		
5'''	115,6	6,81 (d, <i>J</i> = 8,1, 1H)	
6'''	123,4	7,13 (dd, <i>J</i> = 8,1, 2, 1H)	
7'''	145,5	7,58 (d, <i>J</i> = 15,8, 1H)	
8'''	114,4	6,53 (d, <i>J</i> = 15,8, 1H)	
9'''	166,0		7,58 ; 4,81
1''	99,7	5,23 (d, <i>J</i> = 7,7, 1H)	
2''	73,3	3,49 (m, 1H)	
3''	74,9	3,80 (dd, <i>J</i> = 8,1, 2,0, 1H)	
4''	70,7	4,79 (t, <i>J</i> = 9,7, 1H)	
5''	73,9	3,62 (m, 1H)	
6''	60,4	3,46 (m, 2H)	
5-OH		12,99	
4'-OH		9,70	
OCH ₃	55,7	3,83 (s, 3H)	

II.1.4.1.1. Identification du flavonoïde EGF9

Le composé EGF9 se présente sous forme de poudre amorphe jaune soluble dans le MeOH; il répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre de masse ESI TOF MS en mode négatif, présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M-H]^-$ à $m/z=577.1424$ correspondant à la formule moléculaire $C_{30}H_{26}O_{12}$ (calc. 577.1427), renfermant 18 insaturations. Son spectre RMN ^{13}C (Figure 67) confirme la présence de 30 carbones dont 01 méthylène, 05 méthines sp^3 , 12 carbones sp^2 protonés, 12 carbones sp^2 non protonés parmi lesquels 02 carbonyles. Son spectre UV présente des bandes d'absorption à λ_{max} 240 nm et 275 nm ($\log \epsilon = 1.48$) qui sont caractéristiques des flavones. Son spectre IR présente des vibrations des groupements hydroxyle (3350 cm^{-1}), carbonyle α,β -insaturé (1638 cm^{-1}) et



aromatique (1510 cm^{-1}).

Figure 67: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO) du composé EGF9

Son spectre RMN 1H (Figure 68), est similaire à celui du composé **116** à la seule différence que, le signal singulet du méthoxyle n'existe plus.

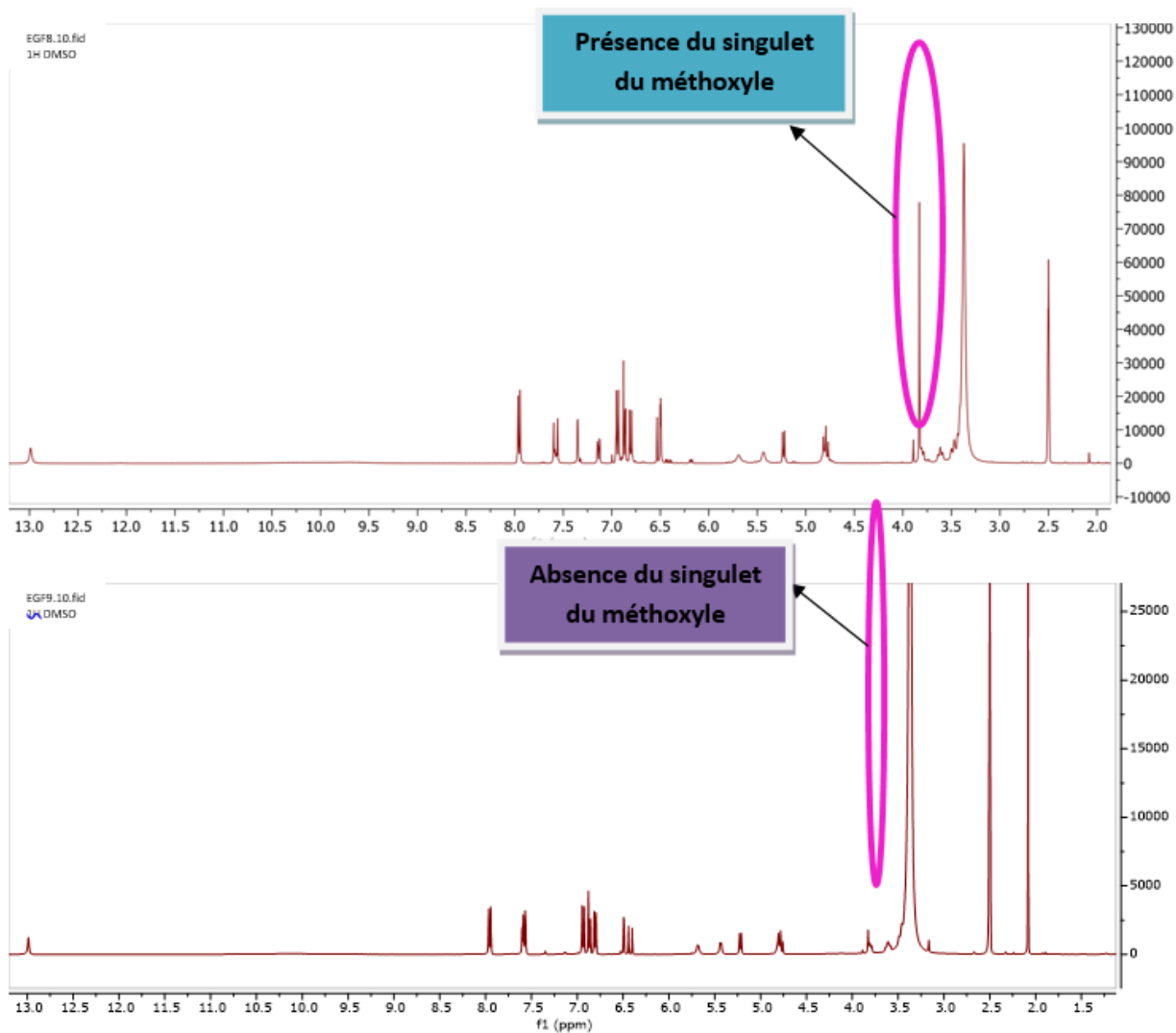
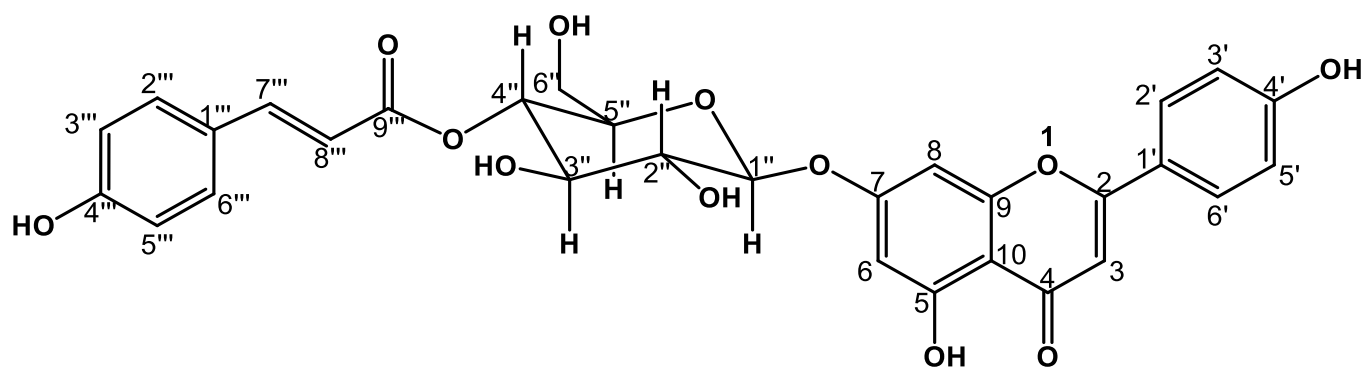


Figure 68: Superposition des Spectres RMN ¹H (400 MHz, DMSO) du composé EGF9 et EGF8

L'analyse des données RMN de EGF9 comparée à celles de la littérature (Tableau 26), nous a permis de lui attribuer la structure (**131**) qui est celle de la 7-O-(4''-*trans-p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranosyl apigénine (Abdel-Rahim et al., 2001)



Composé EGF9

131: 7-O-(4''-trans-*p*-coumaroyl)-β-*D*-glucopyranosyl-apigénine

Tableau 26: Données de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*6) et ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*6) de EGF9 comparées à celles de la littérature RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*6) et ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*6)

Position	Composé EGF9		Littérature (Abdel-Rahim et al., 2001)	
	δ_C	δ_H (nH, <i>J</i> en Hz, m)	δ_C	δ_H (nH, <i>J</i> en Hz, m)
2	164,4		164,3	
3	103,2	6,88 (1H, s)	104,1	6,88 (1H, s)
4	187,0		182,0	
5	161,9		161,4	
6	99,6	6,50 (1H, <i>J</i> = 2,2, d)	99,5	6,49(1H, <i>J</i> = 2,2, d)
7	162,9		162,8	
8	95,0	6,86 (1H, <i>J</i> = 2,2, d)	95,1	6,86 (1H, <i>J</i> = 2,2, d)
9	157,0		156,9	
10	105,5		105,4	
1'	121,0		121,0	
2';6'	128,7	7,95 (2H, <i>J</i> = 8,8, d)	128,6	7,95 (2H, <i>J</i> = 2, 8,0, dd)
3';5'	116,1	6,94 (1H, <i>J</i> = 8,8, d)	115,8	6,94 (1H, <i>J</i> = 2, 8,8, dd)
4'	161,2		161,2	
1'''	125,1		125,2	
2''';6'''	130,5	7,58 (2H, <i>J</i> = 8,5 Hz, d)	130,4	7,60 (1H, <i>J</i> = 8,7 Hz, d)
3''';5'''	115,9	6,81 (2H, <i>J</i> = 8,1, d)	115,9	6,81 (2H, <i>J</i> = 8,7, d)
4'''	160,0		160,2	
7'''	145,2	7,58 (1H, <i>J</i> = 15,8, d)	145,3	7,60 (1H, <i>J</i> = 16, d)
8'''	114,1	6,53 (1H, <i>J</i> = 15,8, d)	114,2	6,43 (1H, <i>J</i> = 13, d)
9'''	166,0		166,2	
1''	99,7	5,23 (1H, <i>J</i> = 7,7, d)	99,7	5,23 (1H, <i>J</i> = 7,8, d)
2''	73,4	3,49 (1H, m)	73,2	3,49 (1H, m)
3''	74,9	3,80 (1H, <i>J</i> = 8,1, 2,0, dd)	74,8	3,80 (1H, m)
4''	70,8	4,79 (1H, <i>J</i> = 9,7, t)	70,7	4,79 (1H, <i>J</i> = 9,7, t)
5''	73,8	3,62 (1H, m)	73,8	3,60 (1H, m)
6''	60,4	3,46 (2H, m)	60,4	4,80, 3,80 (2H, m)
5-OH		12,99 (1H, s)		
4'-OH		10,15 (1H, s)		

II.1.4.1.2. Identification du flavonoïde EGF10

Le composé EGF10 se présente sous forme de solide amorphe jaune soluble dans le MeOH ; il fond entre 180 et 182°C et répond positivement au test de shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre de masse ESI TOF-MS présente le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M-H]^-$ à $m/z=431.1056$ correspondant à la formule moléculaire $C_{21}H_{20}O_{10}$ (calc. 431.1059), renfermant 12 insaturations. Son spectre RMN ^{13}C (Figure 69) confirme la présence de 21 carbones dont 01 méthylène, 05 méthines sp^3 , 07 carbones sp^2 protonnés, 08 carbones sp^2 non protonnés parmi lesquels 01 carbonyle. Son spectre UV montre des bandes d'absorption à λ_{max} 240 nm et 275 nm ($\log \epsilon = 1.48$) qui sont caractéristiques des flavones. Son spectre IR présente des vibrations des groupements hydroxyle (3350 cm^{-1}), carbonyle (1638 cm^{-1}) et aromatique (1510 cm^{-1}).

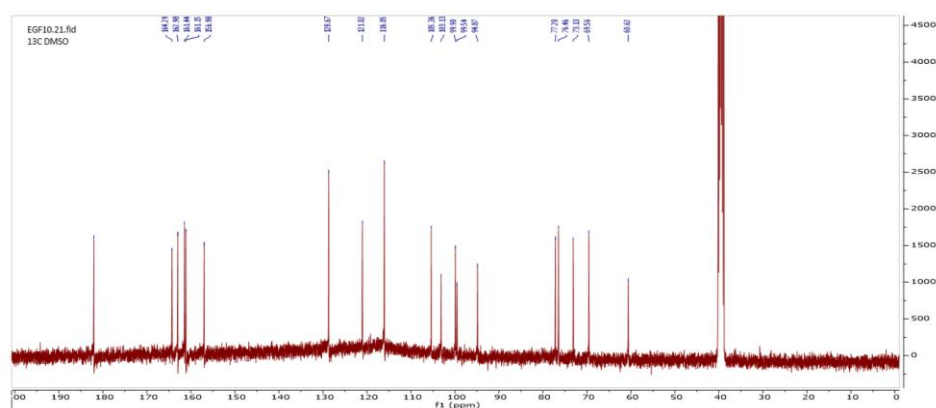


Figure 69: Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO) du composé EGF10

Son spectre RMN 1H (Figure 70), la zone des champs faibles, présente les signaux d'un système aromatique de type $AA'BB'$ à δ 7.95 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', H-6') et δ 6.94 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', H-5') pour le cycle B; les protons d'un chromone de flavone substitué en 2, 5 et 7 à δ 6.50 (d, $J = 2.2$, 1H, H-6), 6.86 (d, $J = 2.2$, 1H, H-8) et 6.88 (s, 1H, H-3) enfin les protons de l'hydroxyle chélaté en position 5. Dans la zone des champs forts, on observe des signaux des protons du sucre entre δ 3.20 et 5.00, particulièrement, le doublet du proton anomérique du glucose à δ 5.23 (d, $J = 7.7$, 1H, H-1'') avec une constante de couplage de 7.7 Hz suggérant qu'il s'agit du β -glucoside et le multiplet du méthylène du glucose à 3.46 (m, 2H, H-6'') (Agrawal et al., 1992; De Bruyn et al., 1975).

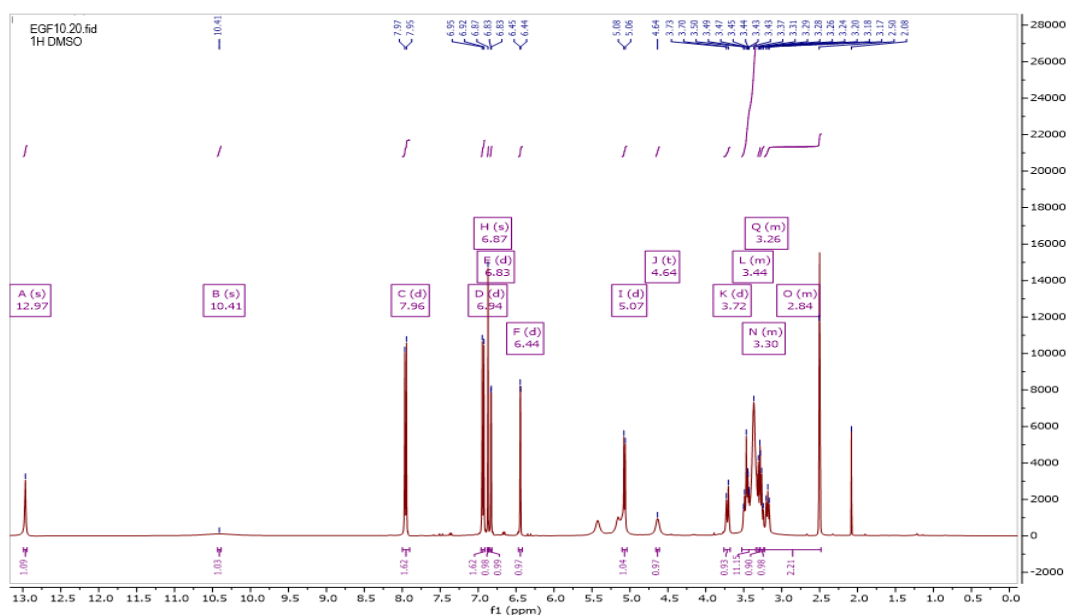


Figure 70: Spectre RMN 1H (400 MHZ, DMSO du composé EGF10

Sur le spectre HMBC, la corrélation entre le proton anomérique H-1' à δ 5.23 et le carbone en C-7, confirme la liaison du groupement osidique en position 7.

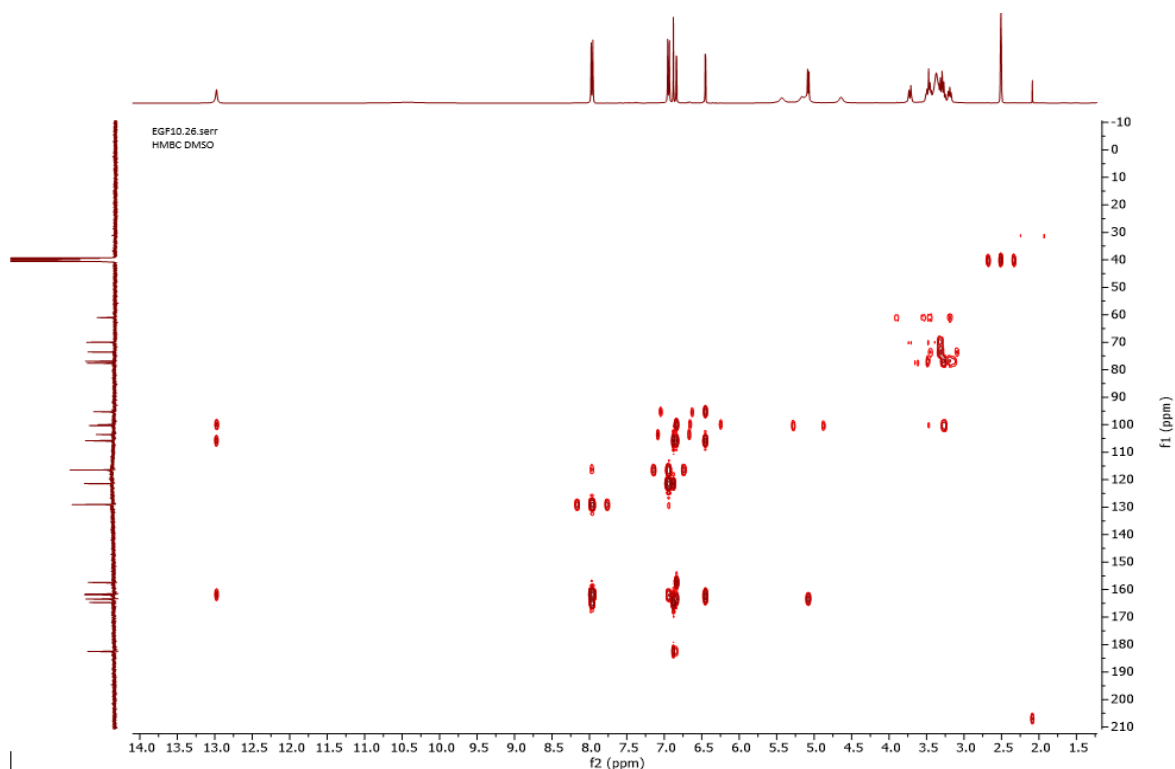
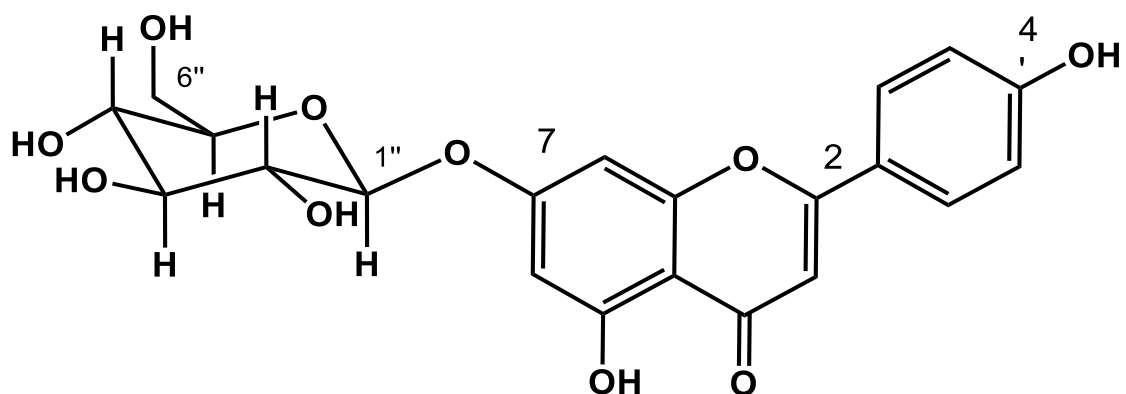


Figure 71: Spectre HMBC du composé EGF10

L'analyse des données RMN de EGF10 comparée à celles de la littérature (Figure 34) (Redaelli et al ., 1980) nous ont permis d'attribuer à EGF10 la structure (132) qui est celle de la 7-O- β -D-glucopyranosyl apigénine.



EGF10

132: 7-O-β-D-glucopyranosyl apigénine

Tableau 27: Données de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6) et ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) de EGF10 comparées à celles de la littérature ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6)

	Composé EGF10	Littérature (Redaelli et al ., 1980)
Position	δ_{C}	δ_{C}
2	164,3	164,0
3	103,1	102,8
4	182,1	181,6
5	161,4	161,0
6	99,9	99,7
7	163,0	162,6
8	94,9	94,6
9	157,0	156,6
10	105,4	105,5
1'	121,0	120,7
2' ; 6'	128,7	128,3
3' ; 5'	116,0	115,7
4'	161,2	160,8
1''	99,5	99,3
2''	73,1	73,0
3''	77,2	77,0
4''	69,6	69,4
5''	76,5	76,3
6''	60,6	60,5
5-OH		
4'-OH		

II.2. ETUDES BIOLOGIQUES

II.2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits des parties aériennes de *Echinops gracilis* et de quelques composés isolés

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des composés **116** et **117** a été effectuée sur les isolats cliniques de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *H. influenzae*. Les capacités antimicrobiennes de ces composés sont présentées dans le tableau ci-dessous. Les critères de l'activité antimicrobienne se déclinent comme suit : les substances avec une CMI < 100 µg/mL ont été considérées comme fortement actives ; 100 < CMI = 625 µg/mL modérément actifs et faiblement actif quand CMI > 625 µg/ml (Kuetze, 2010).

Les composés **116** et **117** ont montré une inhibition des isolats cliniques de *E. coli*, de *P. aeruginosa*, de *K. pneumoniae* et *H. influenzae*, avec des CMI d'une valeurs de 31.25 ; 15.63 ; 31.25 ; 125 µg / ml (composé **116**) et 62.50 ; 62.50 ; 31.25 ; 62.50 µg / ml (composé **117**) (voir le tableau ci-dessous). Ces résultats montrent que, la présence d'un groupement méthoxyle comme seule différence entre les composés testés, augmente l'activité antibactérienne de **116** comparée à celle de **117**. Ces analyses confirment les travaux de Li et collaborateurs, qui stipulent que les flavones substituées possèdent, des activités antimicrobienne et anti oxydante significatives.

Tableau 28: Paramètres d'inhibition (CMI et CMB) de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des composés 116 ET 117 sur les isolats cliniques de *E. coli*, de *P. aeruginosa*, de *K. pneumoniae* et de *H. influenzae*

Souches bactériennes	Composés isolés et extrait à l'acétate d'éthyle	Paramètres d'inhibition (µg/mL)			activité
		CMI	CMB	CMB /CMI	
<i>E. coli</i>	117	62,5	125	2,00	Bactéricide
	116	31,25	125	4,00	Bactériostatique
	Extrait	468,75	937,5	2,00	Bactéricide
	Levofloxacin	3,91	7,81	2/00	Bactéricide
<i>P. aeruginosa</i>	117	62,50	125	2,00	Bactéricide
	116	15,63	62,5	4,00	Bactériostatique
	Extrait	117,19	937,5	8,00	Bactériostatique
	Levofloxacin	7,81	15,63	2,00	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i>	117	31,25	125	4,00	Bactériostatique
	116	31,25	125	4,00	Bactériostatique
	Extrait	1875	7500	4,00	Bactériostatique
	Levofloxacin	7,81	62,5	8,00	Bactériostatique
<i>H. influenza</i>	117	62,50	125	2,00	Bactéricide
	116	125	125	1,00	Bactéricide
	Extract	1875	1875	1,00	Bactéricide
	Levofloxacin	7,81	15,63	2,00	Bactéricide

II.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des parties aériennes de *Echinops gracilis* et des composés isolés

II.2.2.1. Test de décoloration du radical cation ABTS

Les capacités antioxydantes de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des composés sur la décoloration de la couleur bleue verte du radical cation ABTS ont été mesurées relativement à la capacité de piégeage de l'acide gallique comme contrôle positif. L'extrait à l'acétate d'éthyle des parties aériennes de *Echinops gracilis* montre une forte activité dans le piégeage du radical cation ABTS (voir figure ci-dessous). Cette activité a été comparée à celle de l'acide gallique. À 60 µg/mL, l'activité de l'extrait était semblable à celle du standard, avec un pourcentage d'inhibition de 92.99 % et de 89.36 % respectivement. Les composés isolés **116** et **117** ont présenté des capacités antioxydantes inférieures à celles de l'extrait et de l'acide gallique. Cependant, la capacité de piégeage de **116** était meilleure que celle de **117** (voir figures ci-dessous). Plus précisément, l'extrait à l'acétate d'éthyle et les composés **116** ET **117** ont montré des capacités de piégeage du radical cation ABTS, avec des SC₅₀ de 13.59 ± 0.84 µg/mL, 28.54 ± 2.18 µg/mL, 108.25 ± 4.32 µg/mL et 9.06 ± 0.9 µg/mL respectivement (voir Tableau ci-dessous).

Les résultats indiquent clairement que **116** a une meilleure activité de piégeage du radical cation ABTS comparativement à **117**.

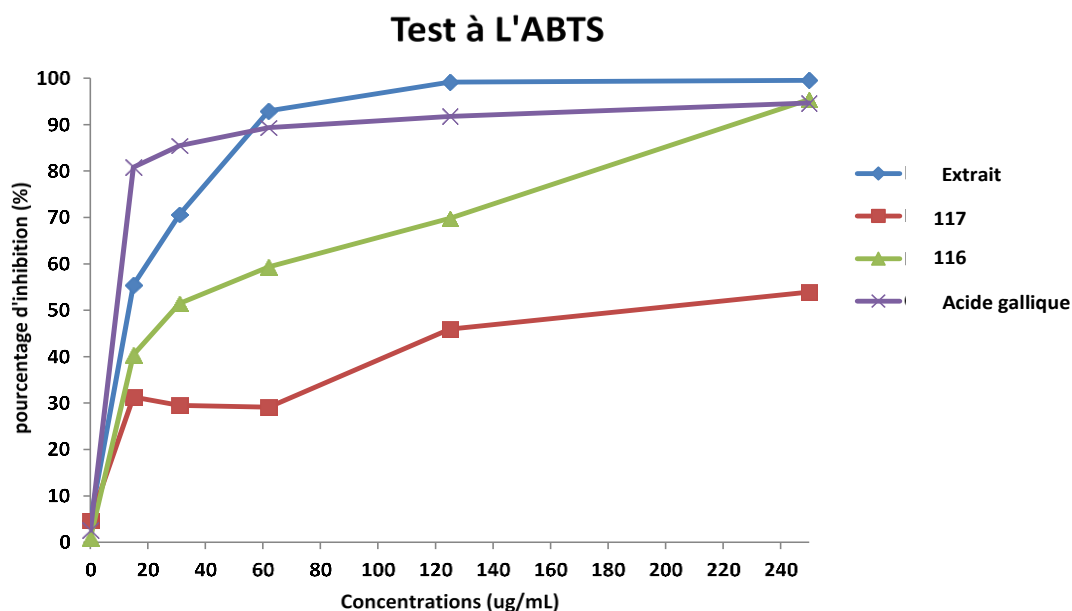


Figure 72: Variation du pourcentage de piégeage du radical ABTS⁺ en fonction de la concentration

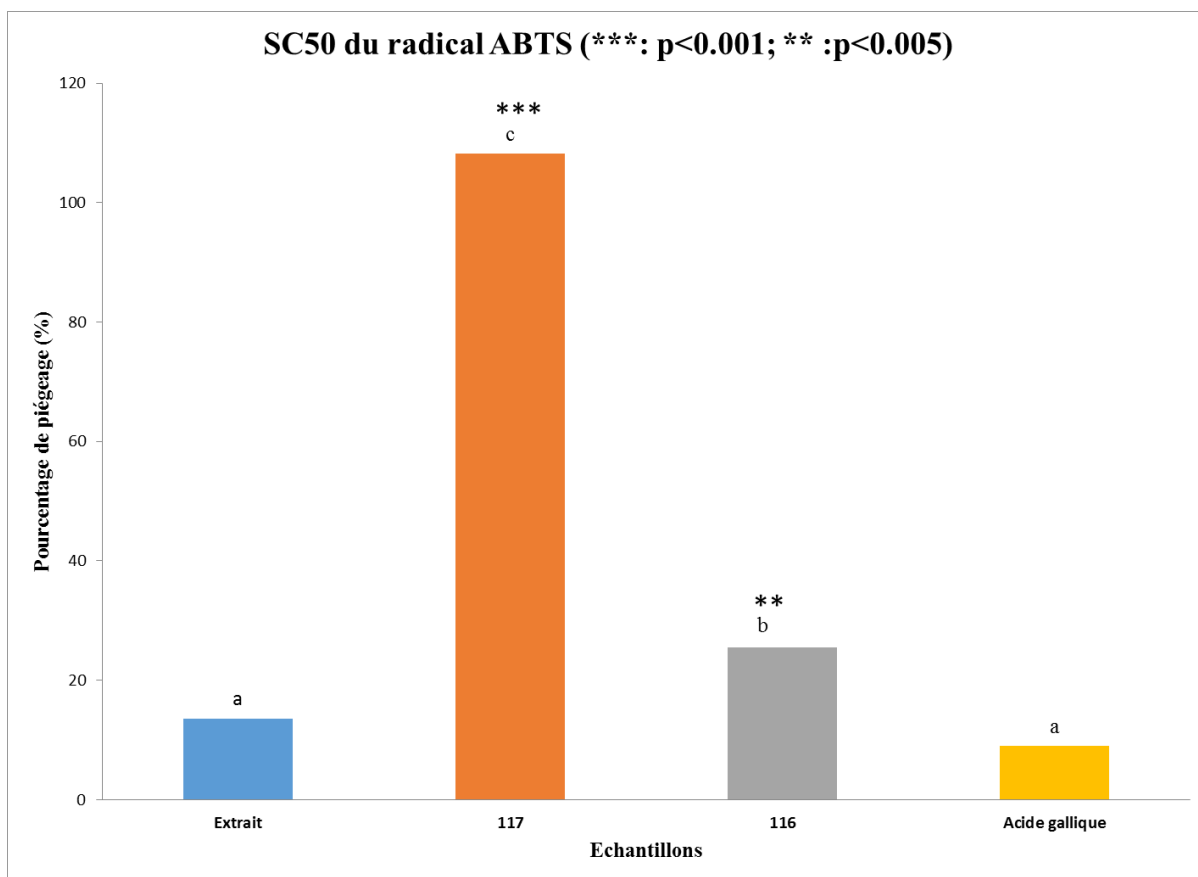


Figure 73: Concentration de piégeage (SC₅₀) du radical cation ABTS^{•+} de l'extrait à l'acétate d'éthyle et des composés 116 et 117. L'acide gallique a été employé comme composé de référence. Les différences statistiques entre l'acide gallique et les échantillons ont été analysées suivant le test de Dunnett (* * * $p < 0.001$; * * : $p < 0.05$) et le test de Tukey (a,b,c : $a > b > c$); $p < 0.05$).

II.2.2.2. Evaluation du pouvoir réducteur des composés isolés de *Echinops gracilis*

Le potentiel réducteur de l'extrait à l'acétate d'éthyle, des composés **116** et **117** et de l'acide gallique était 169.61 ± 4.72 , 59.83 ± 0.97 , 51.21 ± 2.02 et 318.96 ± 0.22 mg EAG/g de matière sèche, respectivement. Les résultats ont été obtenus à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (voir figure ci-dessous). Les composés **116**, **117** et l'extrait à l'acétate d'éthyle des parties aériennes de *Echinops gracilis* ont montré un potentiel réducteur modéré.

On sait que l'activité antioxydante des flavonoïdes est liée à la présence des groupements hydroxyles libres. Les composés **116** et **117** diffèrent par la présence d'un groupement méthoxyl en position 3". Les résultats ci-dessus ont montré que l'activité antioxydante du composé **116** est meilleure que celle de **117**. Par conséquent, on pourrait conclure que la présence du groupement méthoxyle en position 3" serait responsable de l'augmentation de la capacité antioxydante.

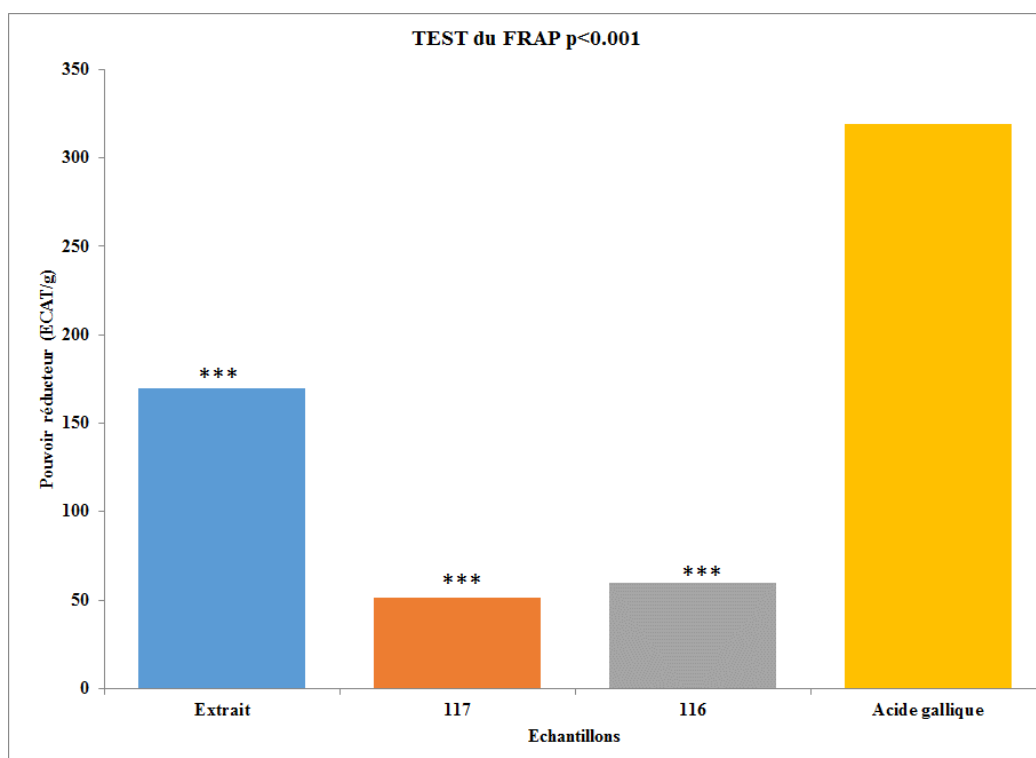


Figure 74: Pouvoir réducteur de 116, 117 et l'extrait à l'acétate d'éthyle avec l'acide gallique comme standard . Les différences statistiques entre l'acide gallique et les échantillons ont été analysées suivant le test de Dunnett (* * * : p < 0.001)

Tableau 29: Récapitulatif de l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

Echantillons	FRAP	ABTS
	PR (mg EAG/g)	SC ₅₀ (µg/mL)
Extrait	169,61 ± 4,72	13,59 ± 0,84
117	51,21 ± 2,02	108,25 ± 4,32
116	59,83 ± 0,97	28,54 ± 2,18
Acide gallique	318,96 ± 0,22	9,06 ± 0,93

Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type.

PR (mg EAG/g) =Pouvoir Réducteur en mg d'Equivalent d'Acide Gallique

II.2.3. Evaluation de l'activité antiinflammatoire des extraits de racines de *Echinops gracilis* et de quelques composés isolés

L'extrait à l'acétate d'éthyle ainsi que les composés **111** à **98** issus de celui-ci ont fait l'objet de test d'activités anti-inflammatoires par l'action d'antiprotéinase et la dénaturation protéinique. L'extrait à l'acétate d'éthyle de *E. gracilis* a montré un pouvoir inhibiteur avec une CI₅₀ d'une valeur de 125.54 µg/mL et il à été efficace dans le blocage de la dénaturation de l'albumine induite par la chaleur (Tableau 30 et Figure 75). On a observé l'inhibition maximum de 78% avec une CI₅₀ de 463.5 µg/mL à 1000 µg/mL avec le composé **111** comparé au diclofénac de sodium, une drogue anti-inflammatoire standard, qui a montré l'inhibition maximum de 91%

avec une CI_{50} de 183.7 $\mu\text{g/mL}$ à la même concentration (Tableau 31 et Figure 76). C'est le premier rapport sur l'activité anti-inflammatoire des composés **111** et **112**.

Tableau 30: Effet de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines de *E. gracilis* sur la dénaturation de l'albumine

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	dénaturation Protéinique (BSA)	Action inhibitrice antiprotéinase	Standard
50	31,23 \pm 1,58	5,40 \pm 0,84	0,00 \pm 0,00
100	42,81 \pm 4,80	18,48 \pm 0,19	26,37 \pm 8,76
200	66,97 \pm 2,34	38,56 \pm 5,33	69,01 \pm 2,00b
500	74,07 \pm 1,10	54,25 \pm 3,58	87,15 \pm 1,03
1000	80,21 \pm 0,64	72,50 \pm 8,07	91,66 \pm 0,08
$F_{(4, 10)}$	204,35	101,47	293,70
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (CI)	125,54 (106,04-145,98)	391,48 (338,28-460,23)	183,75 (147,41-227,11)

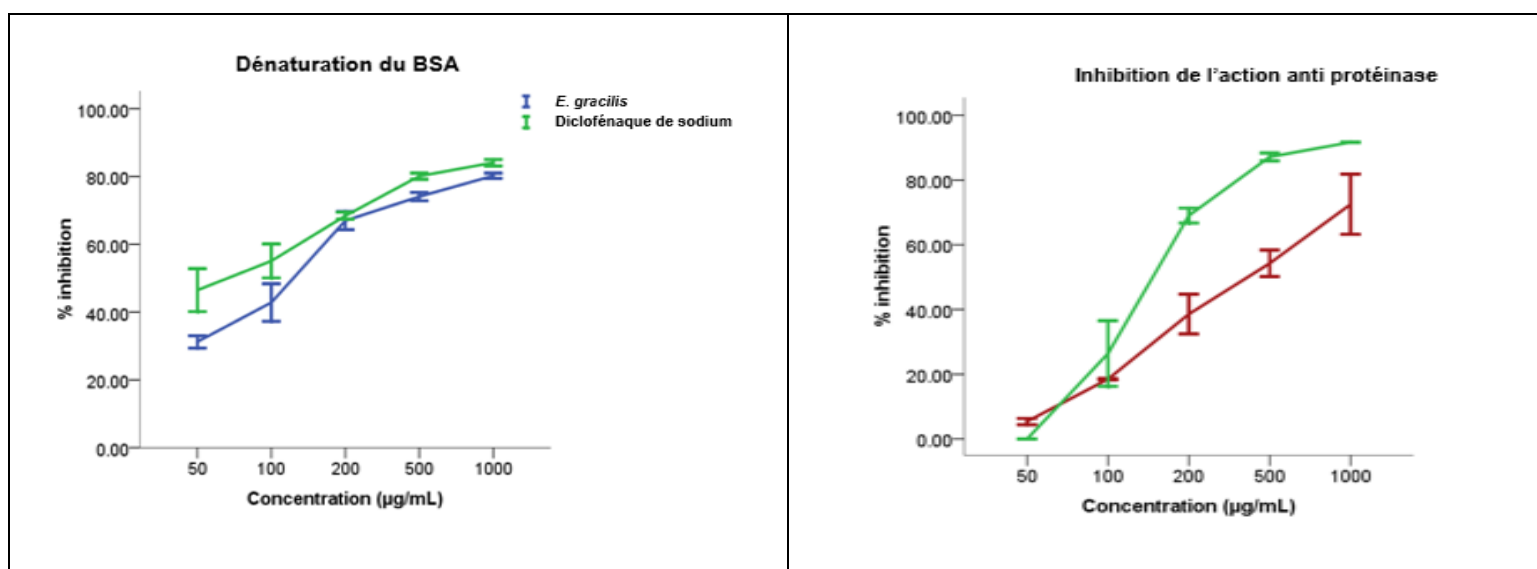


Figure 75: Pourcentage d'inhibition de l'extrait à l'acétate d'éthyle des racines de *E. gracilis* en fonction de la dénaturation du BSA et de l'action anti protéinase

Tableau 31: Effet des composés 111, 112 et 98 sur la dénaturation d'albumine et l'action inhibitrice de la protéinase

méthodes du Test	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	111	112	98	Diclofénac de Sodium
Dénaturation du BSA	50	1,35 \pm 1,35	8,08 \pm 0,67e	23,38 \pm 1,39	0,0 \pm 0,0
	100	5,67 \pm 0,71	12,54 \pm 0,61	25,75 \pm 1,31	26,37 \pm 5,06
	200	22,06 \pm 5,22	29,16 \pm 1,06	27,99 \pm 0,72	69,01 \pm 2,00
	500	51,23 \pm 0,83	59,43 \pm 1,55	29,39 \pm 1,38	87,15 \pm 1,03
	1000	78,33 \pm 1,46	71,86 \pm 0,58	33,73 \pm 0,93	91,66 \pm 0,08
	$F_{(5, 14)}$	2546,95	490,77	32,81***	293,70
	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	463,49	413,71	29209,00	183,75 (147,41-227,11)

	(IC)	(426,65-505,97)	(372,44-463,37)	(2962,6-5,77E14)	
Action inhibitrice de la protéine	50	nd	nd	nd	0,0±0,0
	100	nd	nd	nd	26,37±5,06
	200	nd	nd	nd	69,01±2,00
	500	nd	nd	nd	87,15±1,03
	1000	nd	nd	nd	91,66±0,08
	F _(5, 14)	-	-	-	-
CI ₅₀ (μg/mL) (IC)		-	-	-	183,75 (147,41-227,11)

Chaque valeur est la moyenne calculée à partir de 3 résultats du test. IC₅₀: Concentration correspondant à 50% d'inhibition, nd= non déterminé, IC=Intervalle de Confiance

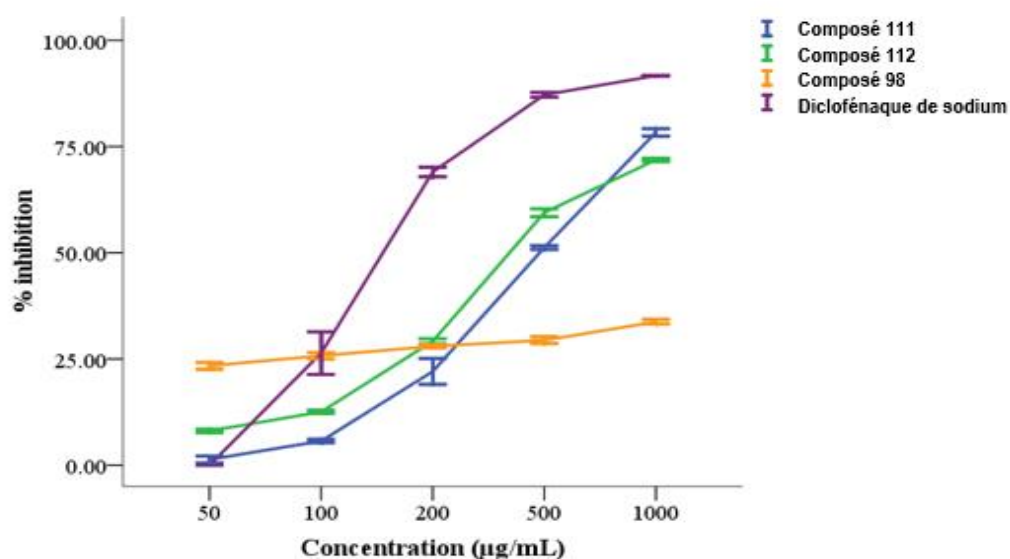


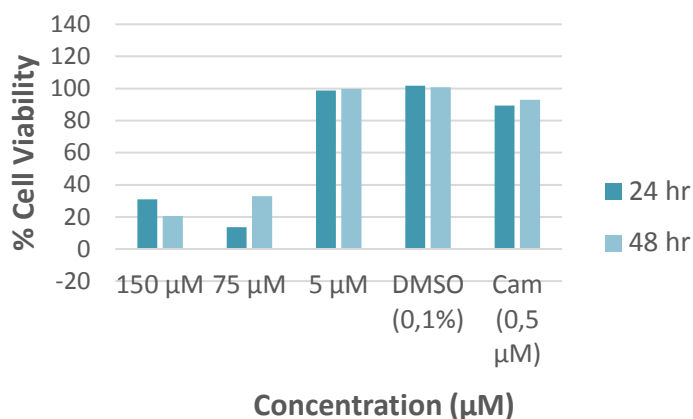
Figure 76: Pourcentage d’Inhibition des composés 111, 112 et 98 en fonction de la dénaturation du BSA

II.2.4. Evaluation de l’activité cytotoxique des composés 116, 117 ET 118.

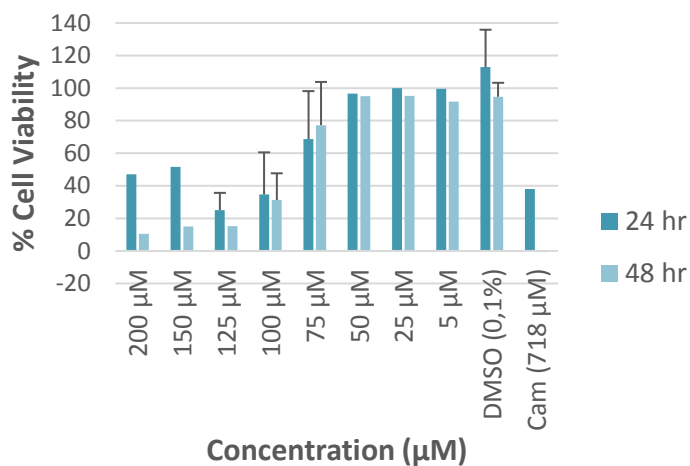
L’activité cytotoxique de la **116**, **117** et **118** a été évaluée contre des lignées cellulaires de cancer du sein MCF-7 et du cancer du col de l’utérus HeLa à différentes concentrations en utilisant la méthode MTT (Mosmann, 1983), avec le camptothécine comme contrôle positif. **116**, composé nouveau et **118** ont présenté la meilleure activité cytotoxique contre les lignées cellulaires HeLa, comparativement à **117**. Ils ont montré un fort effet cytotoxique contre les lignées cellulaires HeLa à 75 μM après 24 heures avec un pourcentage de viabilité cellulaire des cellules cancéreuses inférieur à 1% pour **118** et 10% pour **116**. **117** n’a présenté aucune activité cytotoxique contre les lignées cellulaires cancéreuses HeLa à une concentration inférieure à 100 μM. Aucun des trois composés n’a montré une activité cytotoxique contre les lignées cellulaires MCF-7 à une concentration inférieure à 100 μM. Le pourcentage de cellules

vivantes (viabilité cellulaire) après le traitement des composés d'essai à différentes concentrations est donné à la figure ci dessous. Les viabilités cellulaires ont été converties à partir des absorbances du formazan formé après le traitement au MTT. Il est évident que la viabilité cellulaire diminuait à mesure que la concentration des composés d'essai augmentait.

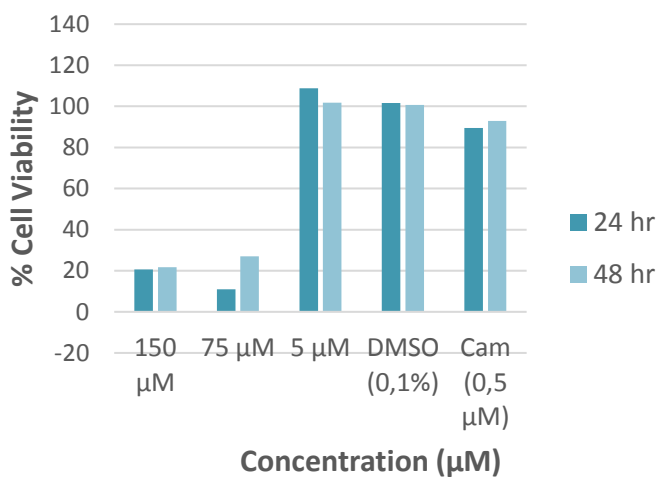
116 + cellules HeLa



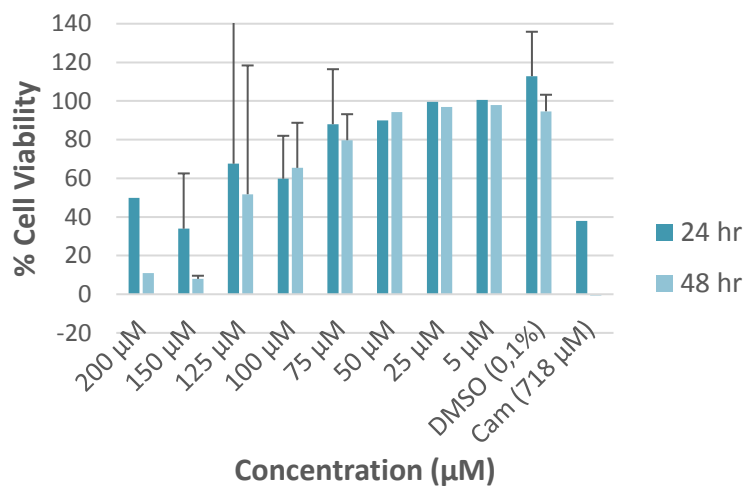
116 + MCF-7 cells



117 + cellules HeLa



117 + cellules MCF-7



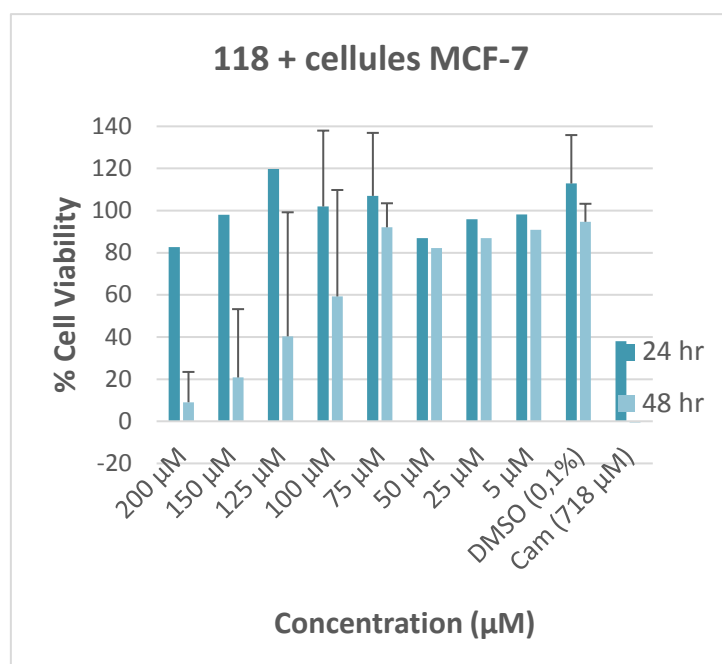
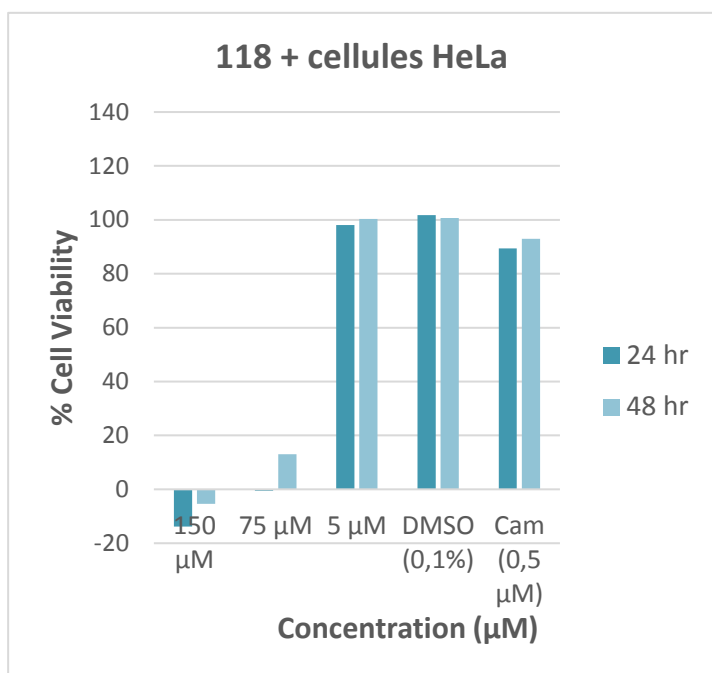


Figure 77: Viabilité cellulaire (%) des lignées cellulaire MCF-7 et HeLa après traitement (24 et 48 heures) à différentes concentration des composés testés

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le présent travail avait pour thème, l'étude chimique de deux plantes médicinales camerounaises (*Boswellia dalzielii* Hutch. Et *Echinops gracilis* O. Hoffm) et l'évaluation de l'activité biologique de quelques extraits et composés isolés avec pour objectif général, de contribuer à la recherche de nouvelles solutions thérapeutiques antibactériennes, anti oxydante, anti inflammatoire et cytotoxique, pour l'efficacité de la lutte contre les infections bactériennes.

Au terme de nos investigations, du point de vue chimique, Nous avons premièrement procédé à des macérations par percolation, à des partitions liquide-liquide et des dégrossissements par chromatographie sur colonne et flash. Après concentration des différentes phases, des extraits ont été obtenus. Chaque extrait a été soumis au screening phytochimique puis à l'isolement proprement dite, par combinaison de plusieurs techniques chromatographiques. Sept (7) composés dont un (1) nouveau, ont été isolés des écorces du tronc de *Boswellia dalzielii*, une plante de la famille des Burseraceae et dix (10) composés dont un nouveau issu de *Echinops gracilis*, une plante de la famille des Asteraceae non encore explorée jusqu'alors. Dix-sept (17) composés au total ont été isolé, notamment : cinq flavonoïdes (la 7-hydroxy-4'-méthoxy-6-*O*- β -*D*-glucopyranosylflavone (**105**), la quercétine (53), le 7-*O*-(4"-fêruloyl)- β -*D*-glucopyranosylapigénine (**111** nouveau composé), le 7-*O*-(4"-*trans*-*p*-coumaroyl)- β -*D*-glucopyranosylapigénine (**112**), le 7-*O*- β -*D*-glucopyranosylapigénine (**113**), quatre phénylpropanoïdes (l'érythrasinate (**114**), la Vogélate (**115**), l'acide fêrulique, l'acide *p*-coumarique (**116**), deux triterpènes pentacycliques (l'acide ursolique (**117**), l'acide oléanolique (**118**)), deux stilbènes (le 4'-méthoxy -3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(*E*)-resvératrol (**123**), le 4'-méthoxy-3-*O*- [2''-(*O*-rhamnopyranosyl)-xylopyranosyl]-(*E*)-resvératrol (**107** nouveau composé)), un phytostérole (le 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- β -sitostérol (**109**)), deux dérivés d'acide benzoïque (le gallate de méthyle (**108**) et l'acide gallique (**56**)) et un sucre (le α -glucopyranoside (**121**)).

La détermination des structures de tous ces composés a été rendue possible, grâce à l'analyse de leurs données spectrales et en particulier, la RMN ¹H et ¹³C uni- et bi-dimensionnelle, en conjonction avec la spectrométrie de masse, faisant appel non seulement à l'impact électronique mais aussi aux méthodes d'ionisation douce telle que l'électrospray.

Sur le plan biologique qui est la deuxième partie de notre travail, des tests antibactériens, anti oxydants, anti-inflammatoires et cytotoxiques ont été effectués sur certains composés.

- Les tests antibactériens ont été réalisés sur les isolats cliniques de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenza* suivant la méthode de microdilution. L'extrait à l'acétate d'éthyle, le 7-*O*-(4"-fêruloyl)- β -*D*-glucopyranosyl

apigénine (**116**) et le 7-*O*-(4"-*trans-p*-coumaroyl)- β -*D*-glucopyranosyl apigénine (**117**) isolés des parties aériennes de *Echinops gracilis* ont été pour la première fois répertoriés comme possédant une activité anti bactérienne. Le composé nouveau (**116**) a été significativement actif sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumonia* avec des concentrations minimales inhibitrices de 31,25, 15,63 et 31,25 $\mu\text{g/mL}$, respectivement ;

- Les tests antioxydants ont été effectués sur l'extrait à l'acétate d'éthyle et quelques composés isolés des parties aériennes de *Echinops gracilis*, suivant la méthode de décoloration du radical cation ABTS et de l'évaluation du pouvoir réducteur selon la méthode du FRAP. L'extrait à l'acétate d'éthyle, le composé (**116**) et le composé (**117**) isolés des parties aériennes de *Echinops gracilis* ont été pour la première fois, répertoriés comme possédant une activité anti oxydante avec des concentrations de piégeage du radical cation ABTS (CI_{50}), d'une valeur de $13,59 \pm 0,84 \mu\text{g/mL}$, $108,25 \pm 4,32 \mu\text{g/mL}$, et $28,54 \pm 2,18 \mu\text{g/mL}$, respectivement ;

- Les tests anti-inflammatoires ont été effectués pour la première fois sur des composés isolés des racines de *Echinops gracilis*. L'extrait à l'acétate d'éthyle a montré une capacité inhibitrice, avec une CI_{50} de $125,54 \mu\text{g/mL}$. Il a aussi été efficace dans le blocage de la dénaturation protéinique, induite par la chaleur. Les composés **111** et **112** ont montré respectivement, une inhibition maximum de 78% et de 71% avec une CI_{50} de $463,5 \mu\text{g/mL}$ et $413,7 \mu\text{g/mL}$, comparé au Diclofénac qui a montré une inhibition maximum de 91%, avec une CI_{50} de $183,7 \mu\text{g/mL}$. L'extrait à l'acétate d'éthyle, l'érythrasinate (**111**) et la vogélate (**112**) ont été pour la première fois, répertoriés comme possédant une activité anti inflammatoire ;

- Les tests cytotoxiques ont été effectués sur des cellules souches du cancer du sein (MCF-7) et celles du cancer du col de l'utérus (HeLa), suivant le test MTT. Les composés **116** et **118** (le 7-*O*- β -*D*- glucopyranosyl apigénine) ont montré un fort effet cytotoxique contre les lignées cellulaires HeLa du cancer du col de l'utérus, à $75 \mu\text{M}$ après 24 heures, avec un pourcentage de viabilité des cellules cancéreuses inférieur à 1% pour le composé **118** et 10% pour **116**.

Ces multiples découvertes scientifiques, nous ont permis d'entrevoir le potentiel que représente des extraits de plante et de composés isolés, qui agrègeraient à la fois des activités antibactérienne, antioxydante et/ou anti-inflammatoire. Au regard de tous ces résultats, on pourrait conclure que les nombreux usages en médecine traditionnelle de ces plantes, seraient dus à la présence en leur sein de principes actifs doués d'activités biologiques intéressantes. Les préparations à base de la plante entière *E. gracilis* pourraient effectivement posséder, un large spectre d'action biologique tandis que les composés **111**, **112**, **116** et **117** pourraient être utilisé en synergie d'action biologique antibactérienne, anti oxydante et. anti inflammatoire. C'est pourquoi, nous envisageons de procéder :

- Aux test de toxicité ;

- À une analyse plus élargie de la cytotoxicité afin de dégager avec précision un indice de sélectivité cellulaire ;
- À des synthèses et héli synthèses des composés en vue d'augmenter les quantités et de les soumettre aux autres tests biologiques, ceci dans le but d'établir une Relation-Structure-Activité ;
- A la domestication de *Echinops gracilis* et à la formulation appropriée d'un Médicament Traditionnel Améliorés (MTA).

CHAPITRE III. MATÉRIELS ET MÉTHODES

III.1. MATERIELS

III.1.1. Instrumentation

III.1.1.1. Point de fusion (P.F.)

Les points de fusion ont été mesurés à l'aide d'un appareil digital électrothermal IA9000 series (Bibby scientific Great Britain). Les valeurs ont été relevées après observation du changement d'état au microscope et n'ont pas été corrigées

III.1.1.2. Spectres ultraviolets (UV)

Les spectres UV des composés isolés ont été mesurés en solution méthanolique à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis de type Perkin Elmer-Lambda 15, piloté par un ordinateur Celebris 466 (Digital) et géré par le logiciel d'applications PE (Perkin Elmer). Les résultats obtenus sont présentés dans le chapitre III.5 sous la forme: λ_{\max} nm (log ϵ), où λ_{\max} nm représente les longueurs d'onde des maxima en nm. ϵ est l'absorbance molaire à ces longueurs d'onde, si la couche de solution traversée (l) est exprimée en centimètres et la concentration (c) en moles par litre dans la formule suivante (loi de Beer-Lambert) :

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

III.1.1.3. Spectres infra-rouge (IR)

Les spectres infra-rouge des composés ont été mesurés sur un appareil de type Perkin-Elmer 1600 Series FT-IR; Perkin-Elmer 297; Beckman DU-640; Shimadzu FT-IR (pastilles de KBr). Pour cela, une quantité de 1 mg d'échantillon a été mélangée à 100 mg de KBr (qualité IR). La pastille a été obtenue à l'aide d'une presse Beckman DU-640; Shimadzu FT-IR. Le balayage des nombres d'onde a été fait entre 4000 et 600 cm^{-1} sur une durée de 20 minutes.

III.1.1.4. Spectres de masse (MS)

Les spectres de masse en introduction directe et en LC/MS ont été réalisés sur un spectromètre de masse à trappe d'ions Thermo-Finnigan® LCQ Deca XP Max. Les interfaces d'ionisation APCI ou ESI ont été utilisées comme sources d'ionisation. L'appareil a été contrôlé par le logiciel Xcalibur.

La spectrométrie de masse (ESIM) a été réalisée sur QSTARXL de la compagnie AB Sciex. Les spectres à haute résolution ont été enregistrés sur spectromètres Waters GTC Premier avec une source d'ionisation CI et Waters LCT avec une source d'ionisation ESI.

III.1.1.5. Spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire 1D et 2D ont été enregistrés sur des spectromètres de type Brüker Avance 400 (400 MHz) ou Brüker Avance 500 avec cryosonde selon la quantité des produits à analyser.

Les échantillons ont été solubilisés dans les solvants deutérés DMSO- d_6 , CD₃OD, dans des tubes analytiques de 5 mm de diamètre.

Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en par rapport au tétraméthylsilane (TMS); les constantes de couplage sont exprimées en Hz. Les multiplicités sont indiquées par les abréviations s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet), dd (doublet de doublet) ...

III.1.2. Matériel végétal

III.1.2.1. Récolte

Les écorces de *Boswellia dalzielii* ont été récoltées à Garoua (région du Nord Cameroun) en janvier 2012 et identifiées par M. Victor Nana par comparaison à un échantillon numéro 64925/HNG/CAM qui se trouve à l'Herbier National de Yaoundé, Cameroun (Tableau 32).

La plante entière de *Echinops gracilis* a été récolté à Fongo-Tongo (région de l'ouest Cameroun), en Janvier 2014 et identifié par Dr. Tsabang Nole (ethnobotaniste). Un échantillon de référence 66943/HNC/CAM se trouve à l'Herbier National de Yaoundé, Cameroun (Tableau 32).

Tableau 32: Plantes étudiées et lieux de récolte

Plantes	Famille	Parties récoltées	Lieu de récolte	Botaniste	Références
<i>Boswellia dalzielii</i>	Burseraceae	Ecorces du tronc	Garoua	M. Nana Victor	Specimen de comparaison numéro 64925/HNG/CAM
<i>Echinops gracilis</i>	Asteraceae	Racines	Fongo-tongo	Dr. Tsabang Nole	Echantillon déposé sur la référence numéro 66943/HNC/CAM
		Feuilles			

III.1.2.2. Séchage et broyage

Le matériel végétal a été découpé, séchée à l'air libre pendant 2 à 3 semaines. Les écorces de *Boswellia* tout comme les racines et les parties aériennes de *Echinops* ont été ensuite broyées finement pour être soumises à des extractions

III.2. METHODES

III.2.1. Criblage phytochimique

III.2.1.1. Test de Shinoda

À une solution alcoolique de l'échantillon, ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré, puis quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes se manifeste par une effervescence, suivie d'un changement de coloration qui peut être violette ou rouge brique.

III.2.1.2. Test au chlorure ferrique

À une solution méthanolique de produit, ajouter quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique. La présence des phénols se manifeste par un changement de coloration suite à la formation d'un ion complexe $[\text{Fe}(\text{ArO})_6]^{3-}$ de couleur violette ou bleue.

III.2.1.3. Test de Liebermann-Burchard

Quelques milligrammes de produit sont dissouts dans le dichlorométhane (1 mL) et à la solution obtenue, on ajoute quelques gouttes d'anhydride acétique, puis d'acide sulfurique concentré. Les terpénoïdes se manifestent par une coloration rouge violacé et les stéroïdes donnent une coloration vert bleuâtre.

III.2.2. Méthodes chromatographiques

III.2.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les analyses sur couche mince (CCM) sont effectuées en phase normale, dans la plupart des cas, avec des plaques de gel de silice 60 F₂₅₄ (Merck) déposés sur feuille de plastique, ce qui constitue la phase stationnaire. Ces plaques sont ensuite plongées dans des cuves chromatographiques, remplies à environ 0,5 cm avec une phase mobile, qui peut être généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants, selon le type de séparation recherchée.

Après son développement, la plaque CCM est observée à la fluorescence UV (254 et 366 nm) et par la suite révélée. Le réactif utilisé pour la révélation des plaques a été la vanilline sulfurique qui a été préparée comme il est décrit ci-dessous.

Réactif à la Vanilline sulfurique (Révélateur universel).

Préparer une solution composée de 1 g de vanilline, 3 ml d'acide sulfurique et 100 mL d'éthanol 95%. Après pulvérisation, chauffer la plaque de CCM à 110°C pendant 1 minute environ. Les colorations apparues sur la plaque varient selon le type de composés.

III.2.2.2. Chromatographie de partage

Pour une séparation grossière et rapide, la chromatographie de partage a été réalisée selon le principe de la VLC (Chromatographie Liquide sous Vide) (Hostettmann et al., 1998). Le rapport de la quantité de phase sur la masse de l'échantillon était d'un facteur 4 à 10. Les fractionnements ont été effectués dans des entonnoirs Büchner avec verre fritté, sous un léger vide fourni par une pompe à vide. Les échantillons ont été introduits sous forme solide en les mélangeant avec de 2 à 2,5 fois leur poids en phase. Des mélanges de proportion croissante de dichlorométhane dans le méthanol ont été utilisés pour la séparation sans sécher la phase entre les différents éluants.

III.2.2.3. Chromatographie liquide sur colonne ouverte (CC)

Les chromatographies sur colonnes ont été réalisées dans des colonnes en verre avec comme phase stationnaire du gel de silice 60 Å 40-63 µm (Merck). La taille et le diamètre de la colonne sont choisis en fonction de la quantité d'échantillon à purifier et de la résolution souhaitée. La quantité de silice utilisée est généralement 20 à 30 fois supérieure à la quantité d'échantillon déposée. Les échantillons à fractionner ont été déposés sous forme solide mélangé avec la silice ou sous forme liquide. Les chromatographies d'exclusion sont réalisées sur gel de Sephadex® LH20 (Sigma Aldrich).

III.2.3. Isolement des composés

III.2.3.1. Extraction et isolement des constituants des écorces de *Boswellia dalzielii*

Les écorces de *B. dalzielii* ont été découpées, séchées à l'air libre puis broyées finement. La poudre obtenue (3.5 kg) a été macérée dans un percolateur avec 15L de MeOH pendant 48 heures. Une partie de l'extrait brut (115 g) a été dissoute partiellement dans 1 L d'un mélange hydro-méthanolique (80 : 20) et partitionné avec des volumes de 500 ml d'hexane, 500 ml de dichlorométhane et 500 ml d'acétate d'éthyle. Après concentration et évaporation des différents solvants à l'aide d'un évaporateur rotatif, les phases organiques ont donné 29, 23 et 38.2 g d'extraits respectivement. La phase aqueuse a été évaporée et séchée pour donner 51,8 g de résidu (Tableau 33).

Tableau 33: Partitionnement de l'extrait méthanolique des écorces de *B. dalzielii*

Solvants	Extrait des écorces du tronc de <i>B. dalzielii</i>	
	Partition	Masse
Hexane	P1	29g
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (80-20) (500mL x 3 répétitions)	P2	23g
AcOEt (500mL x 7 répétitions)	P3	38g
MeOH/H ₂ O (résiduel)	P4	51g

L'extrait au dichlorométhane (Partition P2, m=23g) issu de la séparation liquide-liquide de l'extrait méthanolique des écorces du tronc de *B. dalzielii*, a été soumis à une Chromatographie Liquide sous Vide (CLV), sur une colonne de gel de silice de granulométrie 63-200 mesh et éluée avec un gradient de CH₂Cl₂-MeOH. 111 fractions de 175 ml chacune ont été collectées et regroupées en trois séries D0 (1-21), D1 (22-67) et D2 (68-111). Le tableau ci-contre indique les différentes séries obtenues.

Tableau 34: Chromatogramme de la partition P2

Eluant	Fractions	Séries	Observations
CH ₂ Cl ₂	1-21	D0	Une tache en CCM. Présence de solide blanc amorphe après concentration des fractions. BDE1 OK pour RMN
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (100-1)	22-36	D1	Mélange de composés
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (50-1)	37-48		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (40-1)	49-67		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (30-1)	68-80	D2	Mélange de composés
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (20-1)	81-96		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (12-1)	104-111		
MeOH	112-116	D3	Lavage

Les fractions 1-21 ont été regroupées, sur la base de la CCM puis évaporées. Le résidu obtenu, laissé à température ambiante, se présente sous forme de solide blanc amorphe (BDE1 : 19,4 mg) solubles dans le chlorure de méthylène.

La fraction D1 a été purifiée par CC avec CH₂Cl₂/MeOH (50:1 à 10:1) comme solvant d'éluion pour donner 03 composés indexés BDE2 (21.5 mg), BDE3 (15.1 mg), BDE4 (9.2 mg) (voir tableau ci-dessous)

Tableau 35: Chromatogramme sous fraction P2-D1

Eluant	Fractions	Observations
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (50-1)	1-8	Une tache en CCM. Présence de solide amorphe jaune après évaporation des fractions. BDE3 OK pour RMN
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (40-1)	9-18	Mélange de composés
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (30-1)	19-41	Une tache en CCM. Présence de cristaux incolore après évaporation des fractions. BDE4 OK pour RMN
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (20-1)	42-52	Mélange de composés
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (10-1)	53-56	Une tache en CCM. Présence de solide jaune après concentration des fractions. BDE2 OK pour RMN
MeOH	57-60	Lavage

L'extrait à l'acétate d'éthyle (Partition P3, m=38g) issu de la séparation liquide-liquide de l'extrait méthanolique des écorces du tronc de *B. dalzielii*, a été soumis à une Chromatographie sur Colonne (CC) de gel de silice de granulométrie 63-200 mesh et éluée avec un gradient de CH₂Cl₂-MeOH. 185 fractions de 175 ml chacune ont été collectées et regroupées en sept séries D4(1-56), D5 (57-88), D6 (89-119), D7 (120-150), D8 (151-165), D9 (166-177), D10 (178-185) et trois composés purs indexés BDE5 (53.2 mg), BDE6 (24.5 mg) et BDE7 (11,5 mg) (Schéma 3). Le tableau ci-contre indique les différentes séries obtenues.

Tableau 36: Chromatogramme de la partition P3

Eluants	Fractions	Séries	Observations
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (10-1)	1-56	D4	Mélange de composés.
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (8-1)	57-88	D5	Mélange de composés et présence de cristaux blancs dans les flacons 68 et 69 lavés à l'acétone. BDE5 OK pour RMN
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (6-1)	89-119	D6	Mélange de composés et présence de cristaux jaunes dans les flacons 91, 92, 93, 113 soluble dans le méthanol et l'acétone. Après filtration BDE6 OK pour RMN
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (4-1)	120-150	D7	Mélange de composés.
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (2-1)	151-165	D8	Mélange de composés et présence de cristaux blancs dans plusieurs flacons. Après filtration OK pour BDE7
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1-1)	166-177	D9	Mélange de composés.
MeOH	178-185	D10	Lavage

III.2.3.2. Extraction et isolement des constituants de *Echinops gracilis*

Echinops gracilis a fait l'objet de deux protocoles d'extraction et d'isolement selon la partie étudiée et la polarité des composés recherchés.

Les racines de cette plante ont été découpées, séchées à l'air libre puis broyées finement. La poudre obtenue (3,0 kgs) a été extraite à l'acétate d'éthyle (AcOEt) à froid par percolation pendant 72 heures. Après concentration à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite, 40 g d'extrait brut a été obtenue. 33.8 g de cet extrait ont été soumis à la chromatographie sur colonne (CC) de gel de silice avec le système Hex-AcOEt de polarité croissante (95:5 à 50:50) et CH₂Cl₂-MeOH (88:12). Quatre-vingt-huit fractions de 250 mL chacune ont été recueillies puis, sur la base de CCM, regroupés pour donner cinq séries principales [A (6 g, n - Hex/EtOAc (95:5, v/v), B (1 g, n - Hex/EtOAc (75:25), v/v), C (3.0 g, n - Hex/EtOAc (65:35, v/v), D (10 g, n - Hex/EtOAc (1:1, v/v), E (7.0 g, CH₂Cl₂ / MeOH (88:12), v/v)], le tableau ci-contre présente les différentes séries.

Tableau 37: Chromatogramme de de l'extrait méthanolique des racines de *Echinops gracilis*

Eluant	Fractions	Séries	Observations
Hex/EtOAc (95:5)	1-19	A	Mélange de composés
Hex/EtOAc (75:25)	20-42	B	Mélange de composés + EGF1
Hex/EtOAc (65:35)	43-57	C	Mélange de composés
Hex/EtOAc (1:1)	58-77	D	Mélange de composés
CH ₂ Cl ₂ / MeOH (88:12)	78-88	E	Mélange de composés
MeOH			lavage

La fraction A contenait un mélange complexe n'a pas été étudiée ; le composé EGF1 (12 mg) a cristallisé dans la fraction B ; la fraction C a été soumise à une chromatographie sur colonne (CC) de gel de silice avec un gradient Hex-AcOEt pour donner le composé **112** (20 mg) ; la fraction D a été soumise à une chromatographie sur colonne (CC) de séphadex LH20 avec un gradient CH₂Cl₂/ MeOH pour donner trois sous fractions D1, D2 et D3. D2 (0.5 g) et D3 (1.0 g) ont été regroupées et puis chromatographiées sur une colonne de gel de silice, avec un gradient Hex/EtOAc (100:0, 95:5, 90:0, et 80:20) pour conduire aux composés EGF5 (6 mg) et EGF6 (6 mg) ; la fraction E a fait l'objet d'une chromatographie sur colonne de gel de silice avec un gradient n-Hex/AcOEt pour donner les composés **98** (10 mg) et EGF4 (9 mg) ; la fraction E a été soumise à une chromatographie sur colonne avec le système de solvant (n-Hex/AcOEt) de polarité croissante, après regroupement, une des sous fractions de E (52.5 mg) présente, un mélange cristallin ; celui-ci a fait l'objet d'une séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un gradient CH₂Cl₂/MeOH, pour aboutir au composé EGF7 (10 mg).

En ce qui concerne les parties aériennes de *Echinops gracilis*, 3 kgs de poudre issue de ces parties ont été macérées à température ambiante dans 12 L de MeOH pendant 72 H, pour donner 190 g d'extrait, après concentration à l'évaporateur rotatif. Cet extrait a été dissout partiellement dans 1 L d'un mélange hydro-méthanolique (80 : 20) et partitionné avec des volumes de 500 ml d'hexane, et 500 ml d'acétate d'éthyle. Après concentration et évaporation des différents solvants à l'aide d'un évaporateur rotatif, les phases organiques ont donné 10 g (**P1'**) et 19.5 g (**P2'**) d'extraits respectivement. La phase aqueuse a été évaporée et séchée pour donner 80.8 g de résidu (**P3'**) (Tableau 38).

Tableau 38: Partitionnement de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *E. gracilis*

Solvants	Extrait des parties aériennes de <i>E. gracilis</i>	
	Partition	Masse
Hexane	P1'	10g
AcOEt (500mL x 7 répétitions)	P2'	19g
MeOH/H ₂ O (résiduel)	P3'	80g

Les 19.5 g d'extrait à l'acétate d'éthyle ont été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice avec le gradient CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante (de 30:1 à 1:1). Quarante-vingt-cinq fractions de 250 mL chacune ont été obtenues et regroupées, sur la base de leur profil CCM, en cinq principales fractions [A (650 mg), B (152), C (254 mg), D (855 mg) et E (485 mg)], le tableau ci-contre présente les différentes séries.

Tableau 39: Chromatogramme de la partition P'2

Eluant	Fractions	Séries	Observations
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (30-1)	1-17	A	Mélange de composés + EGF8
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (20-1)	18-29	B	Mélange des composés + EGF9
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (10-1)	30-51	C	Mélange des composés
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (5-1)	52-64	D	Mélange des composés
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1-1)	65-79	E	Mélange des composés
MeOH	80-85	F	Lavage

Les composés EGF8 (13.9 mg) et EGF9 (18.9 mg) ont été obtenus directement à partir de la colonne principale dans les fractions A et B. La fraction E (485 mg) a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice comme adsorbant et le système CH₂Cl₂/MeOH comme gradient d'éluion, pour donner le composé EGF10 (8 mg). (Schéma 4 et Schéma 5).

III.2.4. Activités biologique

III.2.4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des composés purs et de l'extrait méthanolique de la plante a été réalisée selon la méthode de microdilution en milieu liquide (CLSI, 2017). Le Blue Alamar a été utilisé pour révéler la croissance ou l'absence de croissance des bactéries exposées à des concentrations décroissantes de substances actives après incubation. Cette évaluation a consisté à déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) par méthode de microdilution à l'aide d'une microplaque de 96 puits.

Principe :

Cette méthode colorimétrique est basée sur la capacité qu'ont les cellules viables à métaboliser, par réduction la résazurine (forme oxydée de Blue Alamar) en résorufine (forme réduite de Blue Alamar).

L'indicateur redox Blue Alamar sous forme oxydé (résazurine), de couleur bleue est réduit en présence des cellules bactériennes en croissance en résorufine de coloration rose ou rouge. Si par contre, la croissance des cellules bactériennes est complètement inhibée, la coloration bleue est maintenue (Lancaster et al., 1993).

Procédure :

Pour chaque échantillon à tester, une solution mère de l'extrait méthanolique a été préparée à une concentration de 15000 µg/mL, les composés purs et l'antibiotique (Levofloxacin) quant à eux ont été préparés à 1000 µg/mL. A partir de 100 µL de chaque solution mère, une série de dilutions géométriques de raison 1/2 a été réalisée dans 100 µL de bouillon contenu dans les cupules de la microplaque. La série de dilutions nous a permis d'obtenir une gamme de concentrations allant de 7500 mg/mL jusqu'à 7,324 µg/mL pour

l'extrait de plante et 500 à 0,488 µg/mL pour les composés. 100 µL d'inoculum de charge 10^6 UFC/mL ont été par la suite ensemencés. Les gammes finales de concentrations d'essais étaient de 3750 à 3,662 µg/mL pour l'extrait de plante et 250 à 0,244 µg/mL pour les composés. Deux témoins ont été ajoutés à la série, un témoin positif (bouillon Mueller Hinton et microorganisme) et un témoin négatif (bouillon Mueller Hinton et solution d'extrait de plante). Les tests ont été réalisés en triplicate et les microplaques incubées pendant 24h à 37°C.

Après incubation, le virage progressif du bleu violacé au rose rougeâtre en présence du Blue Alamar indiquait la croissance visible des bactéries, tandis que la persistance de la coloration bleue violacé impliquait l'effet antibactérien des substances testées. La CMI a été déterminée comme étant la plus petite concentration de substance testée ayant inhibée toute croissance visible du germe.

Pour la détermination des CMB, 50 µL des puits de la troisième colonne test dont concentration $CMI \geq$ ont été repiqués dans 150 µL de milieu MHB et l'ensemble incubé à 37°C pendant 24 heures, puis la croissance bactérienne a été mise en évidence par ajout de 40 µL d'une solution de Blue Alamar dans chaque puit des trois colonnes tests. L'ensemble a été ré-incubé à 37°C pendant une heure. La CMB a été définie comme la plus faible concentration en extrait à laquelle aucune croissance visible du germe n'a été observée (CLSI, 2017).

Le rapport CMB/CMI a permis de déterminer le profil bactériologique de chaque échantillon testé. L'effet bactéricide sera observé si le rapport CMB/CMI est inférieur à 4, bactériostatique si CMB/CMI est compris entre 4 et 16, et tolérante vis-à-vis du microorganisme mis en présence, si le rapport CMB/CMI est supérieur à 16 (Fauchère et al., 2002).

III.2.4.2. Evaluation de l'activité anti inflammatoire

III.2.4.2.1. Inhibition de la dénaturation des protéines

Cette technique est basée sur la capacité des substances bioactives à inhiber ou réduire la dénaturation des protéines tissulaires, fonctionnelles et structurales induite par les chocs thermiques qui augmentent, la vibration et la rotation de ces macromolécules avec pour conséquence, l'augmentation de l'instabilité des liaisons faibles.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait, des composés isolés et du Diclofenac (Référence) a été évaluée en utilisant la technique d'inhibition de la dénaturation des protéines telle que décrite par Padmanabhan et collaborateurs (Padmanabhan et al., 2012). Le milieu réactionnel est composé de l'échantillon à tester dont les concentrations vont variées (50, 100, 200, 500 et 1000 µg/L), d'une solution aqueuse de BSA (Bovine Serum Albumin) 5% et d'une solution de PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH=6.4). Les échantillons ont été incubés au 27 °C pendant 15 minutes et puis, après refroidissement, ils ont été chauffés au 70 °C pendant 10

minutes ; la turbidité a été mesurée à 660 nm. L'expérience a été exécutée en triple. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculée comme suit :

$$\text{pourcentage d'inhibition} = \frac{(\text{ABS Contrôle} - \text{ABS de l'échantillon})}{\text{ABS Contrôle}} * 100$$

III.2.4.3. Action antiprotéinase

Cette méthode repose sur l'habilité des substances anti inflammatoires à inhiber ou réduire l'activité catalytique des enzymes protéolytiques produites par les cellules immunitaires au cours des mécanismes inflammatoires

Le test a été réalisé selon la méthode modifiée de Sakat et collaborateurs (Sakat et al., 2010). Le milieu réactionnel (2 ml) contenait 0.06 mg de trypsine, 1 mL de solution de HCl (1M, pH 7.4 et 1mL d'échantillon à tester de concentration variable (100 – 500 µg/ml). Le mélange a été incubé au 37 °C pendant 5 minutes ensuite on y a ajouté 1 ml de caséine à 0.8%, l'incubation a été prolongée de 20 minutes puis, 2 ml d'acide perchlorique à 70% ont été ajoutés pour arrêter la réaction. La suspension nuageuse a été centrifugée et l'absorbance du surnageant a été mesurée à 210 nm. L'expérience a été exécutée en triple. Le pourcentage d'inhibition de l'action protéinase a été calculée comme suit :

$$\text{pourcentage d'inhibition} = \frac{(\text{ABS Contrôle} - \text{ABS de l'échantillon})}{\text{ABS Contrôle}} * 100$$

Mélange de la réaction a contenu de magnésium, 1 ml d'amortisseur de Tris HCl (1M, pH 7.4) et échantillon d'essai de 1 ml des différentes concentrations (100 – 500 µg/ml). Le mélange a été incubé au °C 37 pendant 5 minutes et alors 1 ml de 0.8% caséine (W/V) a été ajouté. Le mélange a été incubé pendant des 20 minutes additionnelle. 2 ml d'acide perchlorique de 70% ont été ajoutés pour arrêter la réaction.

III.2.4.4. Evaluation des activités antioxydantes

III.2.4.5. Test de décoloration du radical cation ABTS

Cette méthode est basée sur l'habilité à piéger le radical cation ABTS, par des substances anti radicalaires, à travers leurs capacités à augmenter la durée de vie de l'anion ABTS. Dans cette méthode, l'oxydation du radical ABTS se traduit par une diminution de l'absorbance à 734 nm due au changement de coloration de la solution qui passe du bleu clair au jaune.

La méthode utilisée pour déterminer l'activité antioxydante des échantillons consiste à suivre la vitesse de décoloration du radical cation ABTS^{•+} comme décrit par Lien et collaborateurs (Lien et al., 1999). L'ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazolin-6-sulfonique)) a été préparé en mélangeant 0.0384 g d'ABTS et 0.00662 g de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) avec 10 ml d'eau distillée. Le mélange a été incubé pendant 16 heures à la température ambiante à l'abris de la lumière avant l'emploi. Pour l'analyse réelle, la solution

d'ABTS a été diluée avec de l'éthanol et l'absorbance a été ajustée sur 0.700 (± 0.02) à 734 nm et stable à 30°C (densité optique initiale). Dans un tube à essai, 3.0 ml de cette solution diluée d'ABTS ont été ajoutés dans 30 μ L d'échantillon à différentes concentrations. Les tubes ont été agités afin d'homogénéiser le mélange. La lecture de l'absorbance a été faite à 734 nm juste après agitation. L'acide gallique a été utilisé comme antioxydant de référence aux mêmes concentrations que les échantillons. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

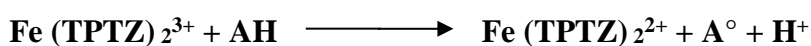
$$I(\%) = \frac{(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillons/acide gallique})}{Abs \text{ contrôle}} \times 100$$

Où, $Abs_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du tube de référence et $Abs_{\text{échantillon/acide gallique}}$ est l'absorbance du tube des échantillons à tester.

III.2.4.6. Test du pouvoir réducteur : FRAP

* Principe

Il est basé sur la réduction du complexe ferrique tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) au complexe ferreux tripyridyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ) en présence d'un antioxydant. L'intensité de la coloration bleue traduit cette réduction dont l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde maximale de 593 nm.



***Procédure :** La détermination du pouvoir réducteur ferrique antioxydant a été évaluée par la méthode décrite par (Benzie et Strain, 1999). 1950 μ L de solution de FRAP ont été pipetées et introduites dans les tubes puis, 50 μ L d'extrait ou de composé à différentes concentrations y ont été ajoutés. Les tests ont été réalisés en triplicata, le mélange a été incubé pendant 30 min à l'obscurité et la densité optique a été mesurée à 593 nm grâce au spectrophotomètre de type brand Thermo-Fisher-Scientific: Evolution 300 UV-VIS. La solution de FRAP a été préparée de la manière suivante : 14,1mg de TPTZ ont été dilués dans 9ml de HCL à 40 mM ensuite, le chlorure ferrique ($FeCl_2$) à 20 mM et le tampon acetate 300 mM à PH 3,6 ont été respectivement mélangés à la proportion 1; 1; 10 pour former la solution de FRAP. Quant-aux extraits et aux composés, différentes concentrations de ceux-ci ont été obtenus à partir d'une concentration mère de 4mg/ml par une série de dilution avec de l'eau distillée et du méthanol 1/1; plusieurs concentrations réelles des extraits et composés ont été obtenues dans 2 ml à savoir 0,1 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,025 mg/ml; 0,0125 mg/ml; 0,00625 mg/ml et 0,0031mg/ml.

***Expression des résultats du FRAP :** La courbe de régression de la fonction absorbance = f (c en mg/ml) de l'acide gallique permet d'exprimer l'équivalence des extraits en mg/g d'acide gallique. La moyenne du rapport des équivalences des concentrations en acide gallique sur des différentes concentrations des extraits et composés nous a permis de trouver l'équivalence en mg d'acide gallique par g de matière sèche (EAG/g MS).

III.2.4.7. Evaluation des activités cytotoxiques

La cytotoxicité des échantillons a été testée sur les cellules MCF-7 (lignées de cellules mammaires cancéreuses humaines) à l'aide du test colorimétrique MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) comme indiqué précédemment par Quassinti et collaborateur (Quassinti et al., 2013), ce test étant basé sur l'activité d'une enzyme mitochondriale, la succinate déshydrogénase.

En présence du substrat MTT de couleur jaune, les sels de tétrazolium du substrat sont transformés en cristaux insolubles de formazan de couleur violette grâce à l'activité de la succinate déshydrogénase.

L'intensité de cette coloration est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. La quantité de sel formazan produite par les cellules à partir du MTT est mesurée par la spectrophotométrie.

Les lignées cellulaires humaines mammaires cancéreuses (human breast carcinoma cell line) (MCF-7) a été cultivée dans le milieu de Eagle modifié par Dulbecco (Dulbecco's modified Eagle's medium : DMEM) avec 2 mM L-glutamine, 100 IU / mL pénicilline, 100 mg / mL streptomycine et supplémenté avec 10 % HI-FBS.

Le médicament anticancéreux cisplatine (0,01-50 μg / mL) a été utilisé comme témoin positif. Les cellules ont été incubées pendant 72 h dans une atmosphère humidifiée de 5% de CO₂ à 37 °C. A la fin de l'incubation, chaque puits a reçu 10 μl de MTT (5 mg / mL dans PBS), après avoir éliminé le surnageant, les plaques ont été incubées pendant 4 h à 37 °C, les cristaux de formazan formés sont solubilisés dans 100 μL de diméthylsulfoxyde DMSO après l'aspiration du milieu.

Les plaques ont été agitées pendant environ 30 min, puis lues au spectrophotomètre à 540 nm en utilisant un Titertek Multiskan microElisa (Labsystems, Helsinki, Finland).

Le nombre de cellules vivantes après 48 h d'incubation en présence ou non des composés à tester ou de produits de référence est directement proportionnel à l'intensité de la coloration violette mesurée. La cytotoxicité a été exprimée par la concentration inhibant la croissance cellulaire de 50 % (IC₅₀) (qui est la concentration qui inhibe de moitié la prolifération cellulaire globale). Les valeurs d'IC₅₀ ont été déterminées avec le logiciel GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, S. Diego, CA, USA).

III.3. Caractéristique physico-chimique et spectroscopiques des composés isolés

III.3.1. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés des écorces de du tronc de *Boswellia dalzielii*

BDE 1 : 3-O-β-D-glucopyranosyl-β-sitostérol

Solide amorphe blanc

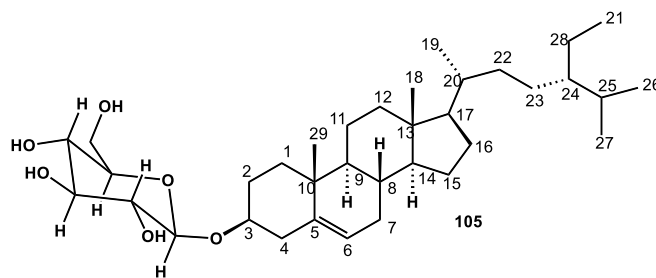
$m/z=576 [M]^+$

Soluble dans le chloroforme

Test de Liebermann Burchard : positif

Formule brute : C₃₅H₆₀O₆

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 14)



BDE2 : 7-hydroxy-4'-méthoxy-6-O-β-D-glucopyranosylflavone

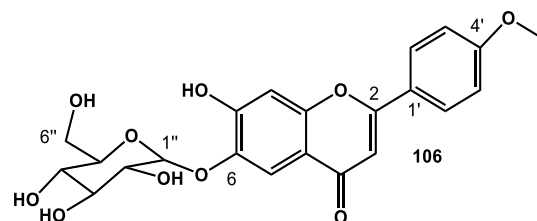
Solide amorphe jaune,

$m/z=446 [M]^+$

Soluble dans le méthanol.

Formule brute C₂₂H₂₂O₁₀,

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 15)



BDE3 : α-D-glucopyranoside

Cristaux incolores.

Fond entre 148 et 150°C

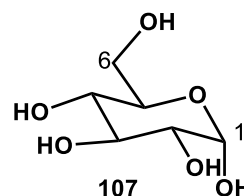
$m/z=181 [M+H]^+$

Test de molish : positif

Formule moléculaire brute C₆H₁₂O₆

RMN ¹H (400 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 16)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 16)



BDE4 : Gallate de méthyle

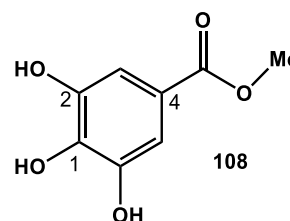
Solide jaune,

Fond entre 261 et 262°C

$m/z=185 [M+H]^+$

Soluble dans le méthanol.

Test du chlorure ferrique : positif



Formule brute C₈H₈O₅

RMN ¹H (400 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 17)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 17)

BDE5 : Acide Gallique

solide jaune

Fond entre 209 et 211°C

$m/z=171[M+H]^+$

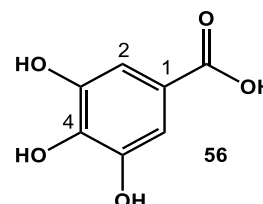
Soluble dans le méthanol ;

Test du Chlorure ferrique : positif

Formule brute C₇H₆O₅

RMN ¹H (400 MHz, DMSO *d*₆) (Tableau 18)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 18)



BDE6 : 4'-méthoxy -3-O-β-D-glucopyranosyl-E-

resvératrol

Poudre blanche

$m/z=405[M+H]^+$

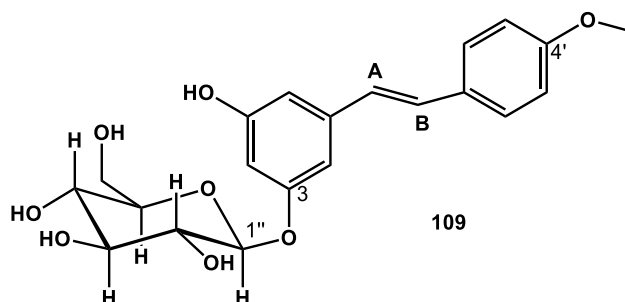
Solubles dans le méthanol.

Test du chlorure ferrique : positif

Formule brute C₂₁H₂₄O₈

RMN ¹H (400 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 19)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 19)



BDE7 : 4'-méthoxy -3-O- [2''-(O-rhamnopyranosyl)-xylopyranosyl]-(E)-resvératrol

Cristaux blancs

Fond entre 190 et 192°C

$m/z=520[M+H]^+$

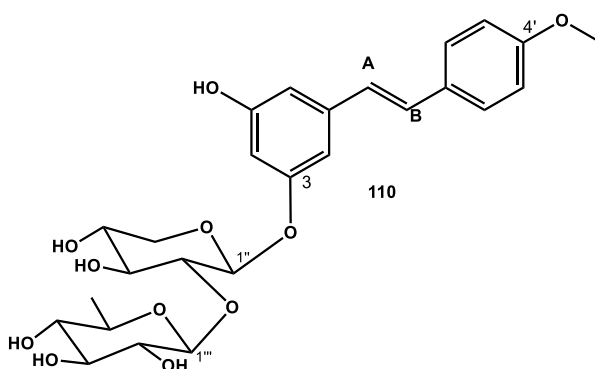
Solubles dans le méthanol ;

Test du chlorure ferrique : positif

Formule brute de C₂₆H₃₂O₁₁

RMN ¹H (400 MHz, DMSO *d*₆) (Tableau 20)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 20)



III.3.2. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés des racines de *Echinops gracilis*

EGF1 : Erythrasinate

Cristaux blancs en forme d'aiguille,

Fond entre 78 et 80°C

$m/z=603$ $[M+H]^+$

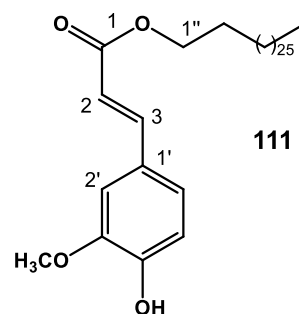
Soluble dans le chloroforme.

Test du chlorure ferrique : positif

Formule brute $C_{38}H_{66}O_4$

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (voir Tableau 21)

RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) (voir Tableau 21)



EGF2 : Vogélate

Cristaux blancs en forme d'aiguilles,

Fond entre 124 et 125°C

$m/z=602$ $[M]^+$

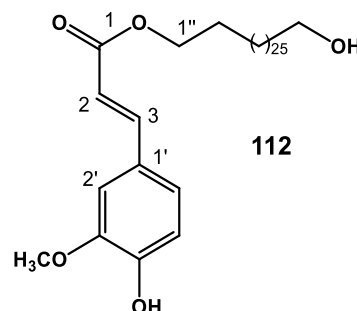
Soluble dans le chloroforme

Test chlorure ferrique : positif

Formule brute $C_{38}H_{66}O_5$

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (voir Tableau 21)

RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) (voir Tableau 21)



EGF3 : Acide férulique

Aiguilles incolores

Fond entre 210 et 212°C

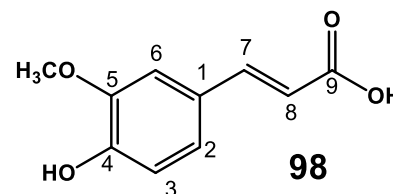
$m/z=194$ $[M]^+$

Solubles dans le DMSO (diméthylsulfoxyde).

Formule brute $C_{10}H_{10}O_4$

RMN 1H (500 MHz, DMSO d_6) (voir Tableau 22)

RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO d_6) (voir Tableau 22)



EGF4 : Acide *p*-coumarique

Aiguilles incolores

Fond entre 218 et 220°C

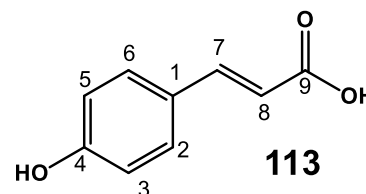
$m/z=164$ $[M]^+$

Solubles dans le DMSO (diméthylsulfoxyde).

Formule brute $C_9H_8O_3$

RMN 1H (500 MHz, MeOD) (voir Tableau 22)

RMN ^{13}C (125 MHz, MeOD) (voir Tableau 22)



EGF5 : Acide ursolique

Cristaux en aiguille de couleur blanche

Fond entre 237 et 240°C

$m/z=457$ $[M+H]^+$

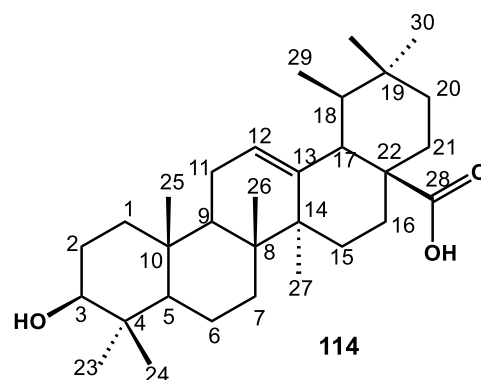
Soluble dans le chloroforme.

Test de Liebermann-Burchard : positif

Formule brute $C_{30}H_{48}O_3$

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (voir Tableau 23)

RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) (voir Tableau 23)



EGF6 : Acide oléanolique

Cristaux en aiguille de couleur blanche

Fond entre 301 et 303°C

$m/z=456$ [M]⁺

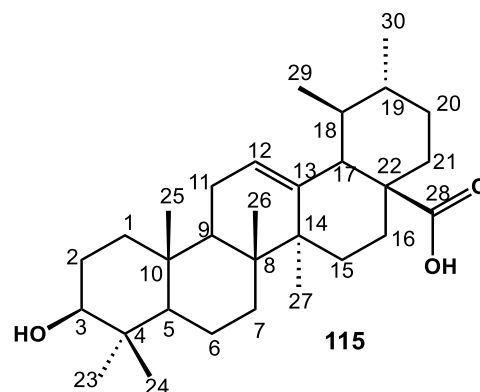
Soluble dans le chloroforme.

test de Liebermann-Burchard : positif

Formule brute C₃₀H₄₈O₃

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) (voir Tableau 23)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) (voir Tableau 23)



EGF7 : Quercétine

Aiguille de couleur jaune,

Fond entre 313 et 315°C

$m/z=302$ [M]⁺

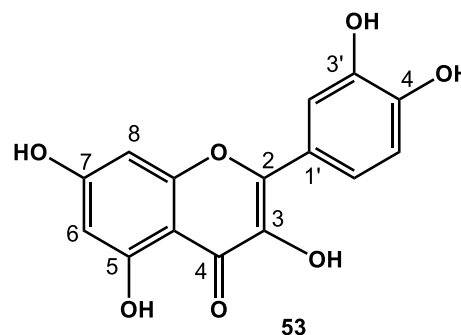
Soluble dans le DMSO.

Test de Shinoda : positif

Formule brute C₁₅H₁₀O₇.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 24)

RMN ¹³C (125 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 24)



III.3.3. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés des parties aériennes de *Echinops gracilis*

EGF8 : 7-O-(4''-féruloyl)-β-D-glucopyranosylapigénine

Solide amorphe jaune

$m/z=607$ [M-H]⁻

Soluble dans le MeOH,

Test de shinoda : positif

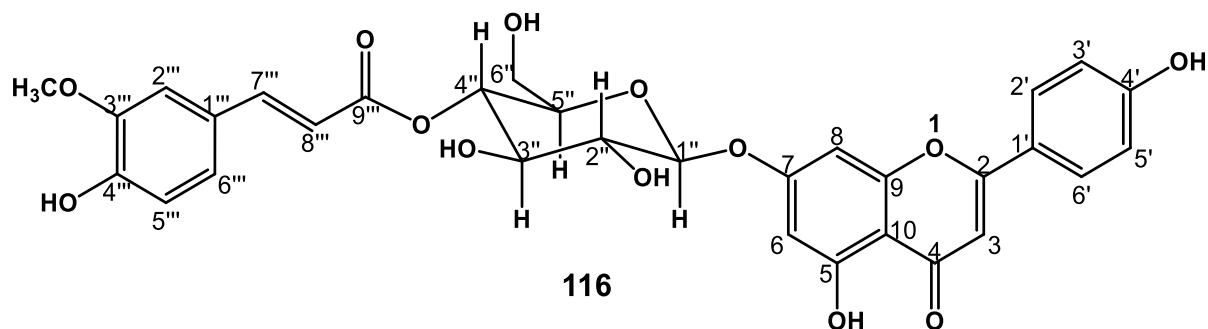
Formule moléculaire C₃₁H₂₈O₁₃ (calc. 607.1452),

Spectre UV : λ_{max} 240 nm, 275 nm (log ε = 1.48)

Spectre IR : 3350 cm⁻¹ (OH), 1638cm⁻¹ (carbonyle α,β-insaturé), 1510 cm⁻¹ (aromatique).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 25)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 25)



EGF9 : 7-O-(4''-*trans*-*p*-coumaroyl)-β-D-glucopyranosylapigénine

Solide amorphe jaune

$m/z=579$ [M+H]⁺

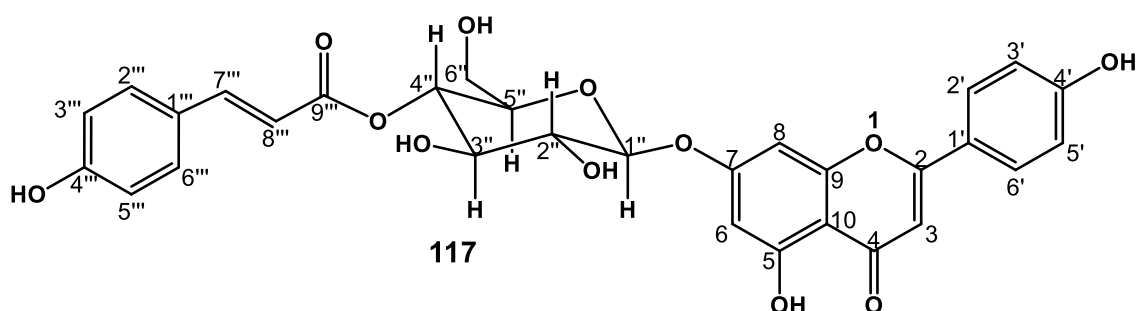
Soluble dans le MeOH,

Test de shinoda : positif

Formule moléculaire C₃₀H₂₆O₁₂

RMN ¹H (500 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 26)

RMN ¹³C (125 MHz, DMSO *d*₆) (voir Tableau 26)



EGF10 : 7-O-β-D-glucopyranosylapigénine

Solide amorphe jaune

$m/z=431$ [M-H]⁻

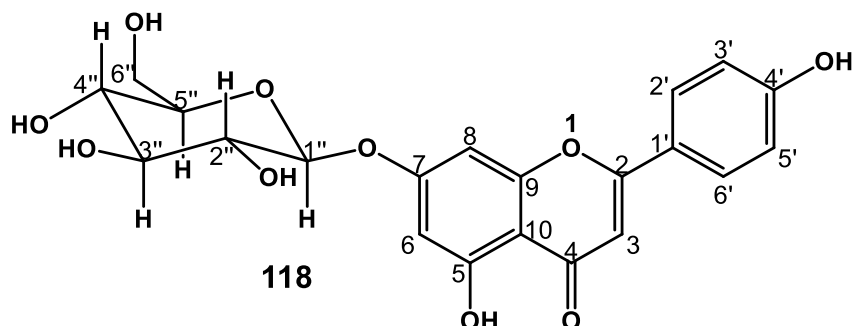
Soluble dans le MeOH,

Test de shinoda : positif

Formule moléculaire C₂₁H₂₀O₁₀

RMN ¹H (500 MHz, DMSO *d*₆)
(voir Tableau 27)

RMN ¹³C (125 MHz, DMSO *d*₆)
(voir Tableau 27)



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdel-Rahim, Ibrahim, Sayed, Rashwan, O., Abdel-Sattar, E., 2001. Flavonoids form *Chrozophora oblongifolia*. *Bull. Fac. Cairo Univ.* 39, 103–108.
- Abdel-Tawab, M., Werz, O., Schubert-Zsilavec, M., 2011. «*Boswellia serrata*: an overall assessment of in vitro, preclinical, pharmacokinetic and clinical data.». *Clin. Pharmacokinet* 50, 349–369.
- Adjanooun, J., Aboubakar, N., Dramane, K., Ebot, M., Ekpere, J., Enoworock, E., Kamanyi, A., Kamsu, K., Keita, A., Mben, K., Mbi, C., Mbiele, A., Mbome, I., Mubini, N., Nancy, W., Focho, D., Gbile, Z., 1996. Traditional medicinal pharmacopoeia: contribution to ethnobotanical and floristics studies in Cameroon, CNPMS (Centre National de Production de Manuels Scolaires).
- Agrawal, P., K., 1992. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochem.* 31, 3307–3330.
- Aissatou, M.D., 2005. Etude des plantes médicinales de Niafunke (region de Tombouctou), *Phytochimie et Pharmacologie de Maerua crassifolia Forst (Capparidaceae)*. Université de Bamako-Mali.
- Al-Harrasi, A.S., Al-Saidi., 2008. Phytochemical analysis of the essential oil from botanically certified oleogum resin of *Boswellia Sacra* (Omni Luban). *Mol.* 13, 2181–2189.
- Ali, MS, Ali, M., Ahmed, Z., Waffo., A., 2011. Vogelate: A New long-chained ester from *Erythrina vogelii* Hook. (Fabaceae) of Cameroon. *J. Chem. Soc. Pak.* 3, 412–416.
- Amadou, D., 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). Université de Bamako-Mali.
- Ammon, H.P., 2006. Boswellic acids in chronic inflammatory diseases. *Planta Med.* 72, 1100–1116.
- Andersen, M., Markham, K.R., 2006. *FLAVONOIDS: Chemistry, Biochemistry and Applications*. CRC Press 1205.
- Andres, A., Donovan, S.M., Kuhlenschmidt, M.S., 2009. Soy isoflavones and virus infections. *J. Nutr. Biochem.* 20, 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.04.004>
- Anthony, J.P., Fyfe, L., Smith, 2005. Plant active components - a resource for antiparasitic agents? *Trends Parasitol.* 21, 10–19.
- Aron, P.M., Kennedy, J.A., 2008. Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Mol. Nutr. Res.* 52, 79–104.
- Assefa, M., Dekebo, H., Kassa, H., Habtu A., Fitwi G., Redi-Abshiro, M., 2012. Biophysical and chemical investigations of frankincense of *Boswellia papyrifera* from North and Northwestern Ethiopia. *J. Chem. Pharm. Res.* 4, 1074–1089.
- Audier, H., 1966. Etude des composés flavoniques par spectrométrie de masse. *Bull. Soc. Chim.*

Fr. 9, 2892–2899.

Barkely, T.M., L., Strother, J.L. Brouillet, 2006. Asteraceae. In :Flora of North America, Vol. 19. ed. Oxford University Press., New york.

Barreda, V.D., Palazzesi, L., Tellería, M.C., Olivero, E.B., Raine, J.I., Forest, F., 2015. Early evolution of the angiosperm clade Asteraceae in the Cretaceous of Antarctica. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 112, 10989–10994. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423653112>

Baser, K.H., Demirci, B., A., D., E., D., 2003. Essential oils of some *Boswellia* spp., Myrrh and *Opopanax*. Flav. Fragr. J. 18, 153–156.

Becchi, M., Fraise, D., 1989. Fast atom bombardment and fast atom bombardment collision-activated dissociation/mass- analysed ion kinetic energy analysis of C- glycosidic flavonoids. Biomed. Env.Mass Spectrom. 18, 122–130. <https://doi.org/10.1002/bms.1200180207>

Bednar, R.A., Hadcock, J.R., ., 1988. Purification and characterization of chalcone isomerase from soybeans. J. Biol.Chem. 263, 9582–9588.

Beentje, H.J., 2000. Flora of Tropical East Africa, Part 1, Kew. 1. ed.

Begum, S., Hassan, S., Ali, S., Siddiqui., B., 2004. Chemical constituents from the leaves of *Psidium guajava*. Nat. Prod. Res. 18, 135–140.

Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzym. 299, 15–27. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)

Berthe, P., J.L., G., M., S., 1988. Les bactéries des infections humaines. Bactériologie. Flammarion, Paris.

Boland, G.M., Donnelly, D.M., ., 1998. Isoflavonoids and related compounds. Nat. Prod. Rep. 15, 241–260.

Botta, B., P., Menendez, G., Zappia, R., Lima, R. Torge, et G.M., 2009. Prenylated isoflavonoids: botanical distribution, structures, biological activities and biotechnological studies. An update (1995-2006). Curr. Med. Chem. 16, 3414–3468.

Boullard, B., 1988. Dictionnaire de botanique, Ellipse. ed.

Boutaghane, N., 2013. Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch Bip) Coss et Kralik ex Batt (Asteraceae). Université de Constantine.

Boyd, B., Ford, C., Koepke, M.C., Horn, G., McAnalley, S., McAnalley., B., 2003. Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. Glycosci.& Nutr. 4, 7.

Brand-William, W., Cuvelier, M.E., Betset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate

- antioxidant activity. *ebensen Wiss. Technol.* 28, 37–297.
- Bremer, K., Dewolf, J.R.G., 1994. *Asteraceae cladistics and classification*, Vol. 97. ed. Rhodora., Portland.
- Burkill, H.M., 1985. *Useful plants of Tropical Africa*, Vol. 1. ed. White Friars Press.
- Cain, C.C., Saslowsky, D.E., Walker, R.A., Shirley, B.W., 1997. Expression of chalcone synthase and chalcone isomerase proteins in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Mol. Biol.* 35, 377–381.
- Capet, C., Druesne, L., Chassagne, P., Doucet, J., 2021. Les effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) chez le sujet âgé. *Rev. Gériatr* 26, 379–384.
- Chandana, V., Vijayakumar, M., 2008. Effect of quercetin, flavonoids and α -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 589.
- Chaudhary, P.K., R.S., Thakur., 1986. An acylated flavone apigenin 7-O- β D (4'' cis p coumaroyl) glucoside from *Echinops echinatus*. *Phytochem.* 25, 1770–1771.
- Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B., Sengupta, P., 2007. Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects. *Int..J. Biol Macromol.* 41, 42–48.
- Çigdem, A., T.Ö., Gülten, T., M., R., Murat., 2016. Phenolic Contents and Antioxidant Properties of *Echinops ritro* L. and *E. tournefortii* Jaup. *Et. Spach Extract. Int. J. Sec. Metab.* 3, 74–81.
- CLSI, 2017. M38-A_reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. *Clin. Lab. Stand.Inst.* 37, 1–2.
- Connolly, M.A., M., G., M.J., R., P., Salama, P., Spiegel, D.L., H., 2004. Communicable diseases in complex emergencies: impact and challenges. *Lancet* 364, 1974–1983.
- Cornelius, CW, Wanjala, U, R., Majinda, T, unner R., 2001. A new stilbene glycoside from *Elephantorrhiza goetzei*. *Fito.* 72, 649–655.
- Costa, S.C., Chavez, C.V., G.Jubelin, A., G., J.M., E., M., B., R., Z., 2010. Recent insight into the pathogenicity mechanisms of the emergent pathogen *Photobacterium asymbiotica*. *Microbes Infect.* 12, 182–189.
- Coutinho, A., Chapman, K., 2011. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol. Cell. Endocrinol.* 335, 2–13.
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564–582.
- Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N., 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability, and effect on health. *Nat. Prod. Rep.* 26, 1001–1043.

- Cushnie, T., Lamb, A., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents* 26, 343–356.
- Da Silva, E., Oliveira, A., Lapa, A., 1994. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 42, 118–122.
- Dai, L.M., Tang, J., Li, H.L., Shen, Y.H., Peng, C.Y., Zhang, W.D., 2009. A new stilbene glycoside from the n-butanol fraction of *Veratrum dahuricum*. *Chem. Nat. Compd.* 45, 325–329. <https://doi.org/10.1007/s10600-009-9352-8>
- Dalziel, J.M., 1973. *The useful plants of west Tropical Africa. The Crown Agents for overseas Governments and Administration, London.*
- Dalziel, J.M., 1910. Notes on the Botanical Resources of Yola Province, Northern Nigeria. *Bull. Misc. Inform.* 5, 133–142.
- De Bruyn, A., Anteunis, M., 1975. ¹H NMR study of 2-deoxy-D-arabino-hexopyranose (2-deoxy glucopyranose) , 2-deoxy-D-lyxo-hexopyranose (2-deoxy galactopyranose) and 2'-deoxy lactose. Shift increment studies in 2-deoxy carbohydrates. *Bull. SOC. Chim. Belg.* 84, 1201–1209.
- Degenhardt, J., Koellner, T.G., Gershenzon, J., 2009. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochem.* 70, 1621–1637.
- Dejean, C., Richard, D., 2012. Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *La Rev. Med. Interne* 34, 265–268.
- Dekebo, A., Dagne, E., Odd, R.G., Aren, J.A., 2002. Triterpenes from the Resin of *Boswellia neglecta*. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 16, 87–90.
- Desenclos, J.C., H., D.V., 2005. Emergent infectious diseases: importance for public health, epidemiology, promoting factors, and prevention. *Méd. Mal. Infect.* 35, 49–61.
- Dhingra, A., Chopra, B., Bonthagarala, B., 2018. Natural Anti-Inflammatory Agents: Recent Progress and Future Perspectives. *Ann. Pharmacol. Pharm.* 3, 1158.
- Dimmitt, M.A., 2016. *Burseraceae (torchwood family). Sonora desert museum, Arizona.*
- Dixon, R.A., Dey, M., P., Lamb, J., C., 1983. Phytoalexins: Enzymology and molecular biology. *Adv. Enzymol.* 55, 1–136.
- Duke, J.A., Ayensu, E.S., 1985a. *Medicinal Plants of China, Vol. 2.* ed. Reference Publications, Inc., Michigan, USA.
- Duke, J.A., Ayensu, E.S., 1985b. *Medicinal plants of China, Vol. 1.* ed. Reference Publications, Inc., Michigan, USA.
- Dupont, F., Guignard, 2012. *Botanique. Les familles de plantes, 15ème édit.* ed. Elsevier-Masson.

- El-Hilah, F., B.A., Fatiha, D., Jamila, B., Lahcen, Z.N., 2015. Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. *J. Anim. Plant Sci.* 25, 3886–3897.
- El-Moaty, H., 2016. Chemical constituents of *Echinops spinosissimus* Turra. *Int. J. Adv. Res.* 7, 1129–1136.
- Erben-Russ, M., Bors, W., Saran, M., 1987. Reactions of linoleic acid peroxy Radicals with phenolic antioxidants: a pulse Radiolysis study. *Int. J. Radiat. Biol.* 52, 393–412.
- Etuk, E.U., Agaie, B.M., Onyeyili, P.A., Ottah, C.U., 2006. Toxicological studies of aqueous stem bark extract of *Boswellia dalzielii* in albino rats. *Indian J. Pharmacol.* 38, 359–360.
- Falconer, S.B., E.D., Brown., 2009. New screens and targets in antibacterial drug discovery. *Curr. Opin. Microbiol.* 12, 497–504.
- Fauchère, Jean-Louis, Avril, Jean-Loup, 2002. *Bactériologie générale et médicale.*
- Filho, A., De Sousab, J., Soares, S., Furtado, N., Silva, M., Cunha, W., Gregorio, L., Nanayakkara, N., Jairo, K., Bastos., J., 2008. Antimicrobial activity of the extract and isolated compounds from *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae). *Z Naturforsch 63c*, 40–46.
- Forkmann, G., Heller, W., 1999. Biosynthesis of flavonoids. *Compr. Nat. Prod. Chem.* 713–746.
- Fozing, A., 2011. Etude Chimique des écorces du tronc et des feuilles de *Morusmesozygia* STAPF. (Moraceae), évaluation des activités biologiques et hémisynthèse de quelques composés. Université de Yaoundé I.
- FranceAgriMer, 2018. marché des plantes et parfums aromatiques et medicinale. Panorama.
- Fuhrman, B., Lavy, A., Aviram, M., 1995. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Amer. J. Clin. Nutr.* 61, 349–354.
- Galati, E., Monforte, M., Kirjavainen, S., Forestieri, A., Trovato, A., Tripodo, M., 1994. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco.* 40, 709–712.
- Garnatje, T., J., Valles, S., Garcia, O., Hidalgo, M., Sanz, MA., Siljak-Yakovlev, S., Canela., 2004. Genome size in *Echinops* L. and related genera (Asteraceae, Cardueae): karyological, ecological and phylogenetic implications. *Biol. Cell.* 96, 117–124.
- Geddes, A., 2005. The future of infectious diseases. *Antibiot.* 2, 75–76.
- Geerling, C., 1982. Guide de terrain des ligneux sahéliens et soudano-guinéens, 2e édition. ed. Wageningen.
- Goyal, S., Sharma, P., Ramchandani, U., Shivastanva, S.K., Dubey, P.K., 2011. Novel Anti-Inflammatory Topical Herbal Gels Containing *Withania Somnifera* and *Boswellia Serrata*. *Int.*

- J. Pharm. Biol. Arch. 2, 1087–1094.
- Grayer, R.J., Veitch, N.C., 2006. Chalcones, dihydrochalcones, and auronones. flavonoids: chemistry, biochemistry and applications.
- Gülçin, I., 2012. Antioxidant activity of food constituents: An overview. Arch. Toxicol. 86, 345–391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>
- Gunther, H., 1994. La spectroscopie de RMN, Masson. ed. Paris.
- Ha, M.T., Kim, M., Kim, C.S., Park, S.E., Kim, J.A., Woo, M.H., Choi, J.S., Min, B.S., 2020. Tetra-aryl cyclobutane and stilbenes from the rhizomes of *Rheum undulatum* and their α -glucosidase inhibitory activity: Biological evaluation, kinetic analysis, and molecular docking simulation. Bioorganic Med. Chem. Lett. 30, 127049. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127049>
- Hachi, M., T., Hachi, N., Belahbib, J., Dahmani, L., Zidane., 2015. Contribution a l'étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale utilisée au niveau de la ville de Kenitra (Maroc). IJIAS 11, 745–770.
- Halbwirth, H., 2010. The creation and physiological relevance of divergent hydroxylation patterns in the flavonoid pathway. Int. J. Mol. Sci. 11.
- Harborne, J.B., 1966. Comparative Phytochemistry, Acad. press. London.
- Harborne, J.B., Williams, C.A., », 2000. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochem. 55, 481–504.
- Harkati, B., 2011. Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : *Scorzonera undulata*. Université de Mentouri.
- Harley, M.M., Song, U., H.I., B., 2005. Pollen morphology and systematics of Burseraceae. Gran. 44, 282–299.
- Hartmann, R.M., Fillmann, H.S., Martins, M.I., Meurer, L., Marroni, N.P., 2014. *Boswellia serrata* has beneficial anti-inflammatory and antioxidant properties in a model of experimental colitis. Phytother. Res. 28, 1392–1398.
- Hassan, G., Hegazy, G., Ibrahim, N., Fahim, S., 2019. New ibuprofen derivatives as H₂S and NO donors as safer anti-inflammatory agents. Futur. Med. Chem. 11, 3029—3045.
- Hassler, M., Roskov, Y., Ower G., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., K.P.M., 2020. World Plants: Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World (version Nov 2018) [WWW Document]. URL www.catalogueoflife.org/col.
- Heba, I.A.E.M., 2016. Chemical constituents of *Echinops spinosissimus turra*. Int. J. Adv. Res. 4, 1129–1136.
- Hemingway, R.W., Foo, L.Y., Porter, L.J., 1982. Linkage isomerism in trimeric and polymeric 2,3-cis-procyanidins. J Chem. Soc. 1, 1209–1216.

- Hostettmann, K., A., Hostettmann, M., Marston., 1998. preparative chromatography techniques. Applications in natural product isolation, 2nd editio. ed. Berlin Heidelberg.
- Hostettmann, K., Marston, A., Ndjoko, K., Wolfender, J.L., 2000. The Potential of African Plants as a source of Drugs. *Curr. Org. Chem.* 4, 973–1010.
- Hsu, Y.T., 1967. Study on the chinese drugs used as cancer remedy. *JSAR* 3.
- Hymete, A., Rohloff, J., Kjøsen, H., Iversen, T.H., 2005. Acetylenic thiophenes from the roots of *Echinops ellenbeckii* from Ethiopia. *Nat. Prod. Res.* 19, 755–761. <https://doi.org/10.1080/1478641042000301711>
- Ilyas, I., Muhammad, H., 2004. Studies on the traditional uses of plants of Malam Jabba valley, District Swat, Pakistan. *Ethnobot. Leafl.*
- Isorez, G., 2007. Contribution à la chimie des flavonoïdes : Accès à des analogues de pigments du vin rouge. Université Louis Pasteur.
- Jean-Louis, A., François, C., 2006. *Physiologie générale*. Elsevier, Masson.
- Jeon, C.Y., M.N., Haan, C., Cheng, E.R., Clayton, E.R., Mayeda, J.W., Miller, A.E., Aiello., 2012. *Helicobacter pylori* infection is associated with an increased rate of diabetes. *Diabetes Care* 35, 520–525.
- Jimenez-Gonzalez, L., Alvarez-Corral, M., Munoz-Dorado, M., Rodriguez-Garcia, I., 2008. Pterocarpan: interesting natural products with antifungal activity and other biological properties. *Phytochem. Rev.* 7, 125–154.
- Judd, W.S., C.S., Campbell, E.A., Kellogg, P.F., Stevens, M.J., Donoghue., 2008. *Plant systematics: a phylogenetic approach*, 3rd ed. ed. Sunderland.
- Jurd, L., 1962. *Compounds, the Chemistry of flavonoid*, Geissman. ed. Pergamon Press, Oxford.
- Kadeem, J., 2007. Identification of quercetin in *Echinops tenuisectus* family Compositae. *Al Mustansiriya. J. Pharm. Sci.* 4, 64–79.
- Kallunki, J., Heywood, V., 1994. *Flowering Plants of the World*. Britto. 46, 316.
- Kayser, F.H., Böttger, R.M., Zinkernagel, O., Haller, J., Eckert, Deplazes., 2008. *Microbiologie Médicale*. Paris.
- Kemertelidze, E.P., Gvazava, L.N., Alania, M.D., Kikoladze, V.S., Tsitsishvili, V.G., 1992. Digitoside, a novel triterpene glycoside from *digitalis ciliata*. *J. Nat. Prod.* 55, 217–220. <https://doi.org/10.1021/np50080a010>
- Kiyekbayeva, L.N., Datkhayev, U.M., Derbisbekova, U.B., Akhtaeva, N.C., Litvinenko, Y.A., 2017. Phytochemical investigation and technology production of alkaloids in the Kazakh endemic plant *Echinops albicaulis* Kar.Et Kir. (Asteraceae). *Int. J. Green Pharm.* 11, S312–S319.

- Koike, K., Z., Jia, H., Guo, T., Nikaido, Y., Liu, Y., Guo, D., Zhao., 2002. A New Neolignan Glycoside from the Roots of *Echinops grijisii*. *Nat. Med.* 56, 255–257.
- Kuete, V., 2010. Potential of Cameroonian plants and derived products against microbial infections: A review. *Planta Med.* 76, 1479–1491. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250027>
- Lahlou, M., 2013. The Success of natural products in drug discovery. *Pharmacol. Pharm.* 4, 17–31.
- Lahmer, N., Belboukhari, N., Cheriti, A., 2012. Méthodes et techniques de la séparation chirale des flavanones. *Phytochem. Bioactiv. Subst. J.* 6, 1–9.
- Lam, K.S., 2007. New aspects of natural products in drug discovery. *Trends microbiol.* 15, 279–283.
- Lancaster, V., M., Fields, D., R., 1993. Dual attribut continuous monitoring of cell proliferation/cytotoxicity. *Am. Biotechnol. Lab.* 11, 48–50.
- Le, K., F., Chui, K., Ng., 2006. Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chem.* 105, 353–363.
- Lee, Hang-Young, Jeong, Heon-Sang, 2005. Isolation and identification of antimicrobial substance from *Canavalia gladiata*. *Food Sci. Biotech.* 14, 268–274.
- Letouzey, R., 1982. *Manuel de Botanique Forestière : Afrique tropicale, Tome 2B.* ed, Kew Bulletin. Nogent-sur-Marne.
- Lien, E.J., Ren, S., Bui, H.H., Wang, R., 1999. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 26, 285–294. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00190-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00190-7)
- Lin, C.C., Lin, C.H., Chiu, H.F., Hu, M.F., 1992. The Pharmacological and pathological studies on Taiwan folk medicine (VII). The anti-inflammatory effect of *Echinops grijisii*. *Am. J. Chin. Med.* 22, 127–134.
- Mabry, T.J., 1969. The ultraviolet and nuclear magnetic resonance, Analysis of flavonoids in perspective in phytochemistry. Acad. Press 1–45.
- Mabry, T.J., Makham, K.R., Thomas, M.B., 1970. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag 12, 35–230.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Billot, J., 1990. *Fruit phenolics*, Boca Raton: CRC Press.
- Malzy, P., 1954. Quelques plantes du Nord Cameroun et leurs utilisations. *J. Agric. Trop. Bot. Appl.* 1, 317–332.
- Marc, F., Davin, A., L., Deglène-Benbrahim, . Fernand, M., Baccaunaud, P., Fritsch., 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Méd. Sci.* 20, 458–463.
- Marc, V., Catsaras, 2001. Mécanismes d'action des toxines bactériennes et hygiène des denrées alimentaires. *Bull. Acad. Vét. Fr.* 154, 291–296.

- Markham, K.R., 1989. Flavones, flavonols and their glycosides, in: Meth. Plant Biochem. Academic Press Limited, pp. 197–235. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-461011-8.50012-3>
- Markham, K.R., 1982. Technique of flavonoids identification. Acad. Press 113.
- Markham, K.R., 1976. ¹³C NMR of flavonoids-II, Flavonoids other than flavone and flavonol aglycones. Tetrahedron 32, 2607–2612.
- Markham, K.R., Geiger, H., 1993. The flavonoids Advances in research since 1986. London.
- Markham, K.R., Mabry, J., T., 1968. A procedure for the ultraviolet spectral detection of ortho-dihydroxyl groups in flavonoids. Phytochem. 7, 1197–1200. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)88270-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)88270-9)
- Markham, K.R., Mabry, T.J., 1975. Resonance spectroscopy of flavonoids. In: Harborne, J.B., Mabry, T.J., and Mabry, H. (eds), The Flavonoids, Chapman and ed. London.
- Maroon, J., Bost, J., Maroon, A., 2010. Natural anti-inflammatory agents for pain relief. Surg. Neurol. Int. 1, 80.
- Martens, S., Preu, A., Matern, U., 2010. Multifunctional flavonoid dioxygenases: Flavonol and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. Phytochem. 71.
- Martens, S., Teeri, T., Forkmann, G., 2002. Heterologous expression of dihydroflavonol 4-reductases from various plants. FEBS Lett. 453–458.
- McMichael, A.J., 2004. Environmental and social influences on emerging infectious diseases: past, present and future. Lond. B. Biol. Sci. 359, 1049–1058.
- Messai, L., 2011. Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba alba*). Université de Mentouri Constantine.
- Mezache, Constantine., N., 2010. Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille Asteraceae : *Senecio giganteus* Desf. Et *Chrysanthemum myconis* L. Université Mentour.
- Miara, M.D., M., Hammou, A., S., . H.A., 2013. Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). Phytothér.
- Middleton, E., 1996. The Flavonoids as Potential Therapeutic Agents, ImmunoPharmaceuticals (CRC Press).
- Mims, A., C., Nash, A., J., Stephen., 2001. Minis' pathogenesis of infectious disease, 5e édition. ed. San Diego.
- Mims, C.A., C.A., J.L., Playfair, I.M., Roitt, D., Wakelin, R., Williams., 1993. Medical Microbiology. Europe, London.: Mosby.
- Mitre-Aguilar, I., Cabrera-Quintero, A., Zentella-Dehesa, A., 2015. Genomic and non-genomic effects of glucocorticoids: implications for breast cancer. Int. J. Clin. Exp. Pathol. 8, 1–10.
- Mogode, D.J., 2005. Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl

(Ceasalpniaceae) utilise dans le traitement des dermatoses au Tchad. Université de Bamako-Mali.

Mookerjee, B., Lee, T., Logue, G., Lippes, H., Middleton, E., 1986. The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Progr. Clin. Biol. Res.* 213, 511–520.

Morikawa, K., Nonaka, M., Mochizuki, H., Handa, K., Hanada, H., Hirota, K., 2008. Naringenin and hesperetin induce growth arrest, apoptosis, and cytoplasmic fat deposit in human preadipocytes. *J. Agri. Food Chem.* 22, 11030–11037.

Morreel, K., Goeminne, G., Storme, V., Sterck, L., Ralph, J., Coppieters, W., Breyne, P., Steenackers, M., Georges, M., Messens, E., Boerjan, W., 2006. Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in *Populus*: a case study. *Plant J.* 47.

Mosmann, T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.* 65.

Murray, P.R., K.S., Rosenthal, M.A., Pfaller, 2009. *Medical microbiology*. Elsevier, Philadelphia.

Nacoulma-Ouedraogo, G.O., 1976. *Plantes médicinales et pratiques médicinales traditionnelles au Burkina Faso, cas du plateau central*. université de Ouagadougou.

Namgoong, S., Son, K., Chang, H., Kang, S., Kim, H., 1994. Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 5, 313–320.

Nazifi, A.B., Nuhu, D.B., M., Temidayo, O., Olurische, B., Jamilu, Y.B., 2017. Anticonvulsant activity of methanol stem bark extract of *Boswellia dalzielii* Hutch. (Burseraceae) in mice and chicks. *Afr. J. Pharmacol. Ther.* 6, 64–71.

Ngamo, T.S.L., Ngassoum, M.B., Mapongmestsem, P.M., Noudjou, «.» W.F. 2007., 2007. Use of essential oils of plants as protectant of grains during storage. *Agric. J.* 2, 204–209.

Nwinyi, F.C., Binda, L., Ajoku, G.A., Ariagu, S.O., Gamaniel, 2004. Evaluation of the aqueous extract of *Boswellia dalzielii* stem bark for antimicrobial activities and gastrointestinal effects. *Afri. J. Biotechnol.* 3, 284–288.

Odedra, N.K., 2009. *Ethnobotany of Maher Tribe In Porbandar District, Gujarat, India*. Saurashtra University.

Olukemi, M.A., Kandakai-Olukemi, Y.T., Mawak, J.D., 2005. Antibacterial activity of the stem bark of *Boswellia dalzielii*. *J. Pharm. Bioresour.* 2, 131–136.

OMS, 2014. Premier rapport de l’OMS sur la résistance aux antibiotiques: une menace grave d’ampleur mondiale.

OMS, 2013. *Maladies diarrhéiques* (No. Aide-mémoire N°330).

OMS, 2002. *Rapport sur la Santé du Monde*.

- Onana, J.M., 1998. Les Burseracées du Cameroun : taxonomie, biométrie foliaire et biologie. Thèse Dr. 3e cycle. université de Yaoundé 1.
- Ono, E., Hatayama, M., Isono, Y., Sato, T., Watanabe, R., Yonekura-Sakakibara, K., Mizutani, F., M., Tanaka, Y., Kusumi, T., Nishino, T., Nakayama, T., 2006. Localization of a flavonoid biosynthetic polyphenol oxidase in vacuoles. *Plant J.* 45, 133–143.
- Onobrudu, D.A., 2017. Saponins and Polyphenolics of Methanol Leaf Extract of *Boswellia dalzielii* Hutch. *Arch. Curr. Res. Int.* 8, 1–6.
- Onusida., 2013. Le sida en chiffre. Genève-Suisse:
- Orliaguet, G., Gall, O., Benabess-Lambert, F., 2013. Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Prat. en Anesthésie Réanimation.* 17, 228—237.
- Ouedraogo, A., Thiombiano, A., Guinko, S., 2005. Utilisation, état des peuplements et régénération de cinq espèces ligneuses utilitaires dans l'Est du Burkina Faso. *Boussim I. J.* 1, 173–183.
- Padmanabhan, P., Jangle, N., S., 2012. Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal Preparation, a combination of four medicinal plants. *Int. J. App. Basic Med. Sci.* 2, 109–116.
- Panhwar, A.Q., Abro, H., 2007. Ethnobotanical studies of mahal kohistan (khirthar national park). *Pak. J. Bot.* 39, 2301–2315.
- Pardhy, R.S., Bhattacharyya, S.C., 1978. Tetracyclic Triterpene Acids from the Resin of *B. serrata* Roxb. *Indian J. Chem.* 16B, 171–173.
- Perez, GS, Zavala, SM, Arias, GL, Ramos, LM, 2011. Anti-inflammatory activity of some essential oils. *J. Essent. Oil. Res.* 23, 38–44.
- Perry, C., C., Hall., 2009. Antibiotic resistance: how it arises, the current position and strategies for the future. *Nurs.T.* 105, 20–23.
- Peshin, Tania, Kar, H, 2017. Isolation and characterization of β -Sitosterol-3-O- β -D-glucoside from the extract of the flowers of *Viola odorata*. *Brit. J. Pharma. Res.* 16, 1–8. <https://doi.org/10.9734/bjpr/2017/33160>
- Peter, J., Houghton, MING, L., L.M.N., 1986. Triterpenoids from *Desfontainia spinosa*. *Phytochem.* 25, 1939–1944.
- Pietta, P., 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat.Prod.* 7, 1035–1042.
- Porter, R., 1997. *The greatest benefit to mankind: a medical history of humanity, from antiquity to the present.* London.
- Prasanna, L., Anjaneya, R., Ratnam, L., Venkata, 2015. Chemical profile, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from *Boswellia ovalifoliolata* Bal. et. Henry. *Int. J.*

- Pharma.Clin. Res. 7, 96–101.
- Proietti, G., Strappaghetti, G., Corsano, S., 1981. Triterpenes of *Boswellia frereana*. *Planta med.* 41, 417–418.
- Prots, L., A., Philippon, 2003. Le séquençage de gènes ARNr en bactériologie médicale. *Bio. trib. mag.* 8, 30–33.
- Quassinti, L., Lupidi, G., Maggi, F., 2013. Antioxidant and antiproliferative activity of *Hypericum hircinum* L . subsp *Natural Product Research : Formerly Natural Product Letters* Antioxidant and antiproliferative activity of *Hypericum hircinum* L . subsp . *majus* (Aiton) N . *Robson* 37–41.
- Quézel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. ed. Paris.
- Raffaelli, A., 1997. Selected topics and mass spectrometry in the biomolecular sciences. Kluwer Academic, Netherlands.
- Ramazan, E., Y., Sakine, A., Huseyin, S., Ozkan, G., Nusret, E., Ibrahim, D., Mahfuz, 2014. Antioxidant activities of chemical constituents isolated from *Echinops orientalis* Trauv. *Rec. Nat. Prod.* 8.
- Raynaud, M., 1973. Les toxines microbiennes. *méd. Mal. Infect.* 3, 141–150.
- Redaelli, C., Formentin, L., Santaniellot, E., 1980. Apigenin 7-glucoside and its 2"- and 6"-acetates from ligulate flowers Of *matricaria chamomilla*. *Phytochem.* 19, 985–986.
- Rehman, U.K., M., Sultan, U.k., Subhan, M.S., 2013. Ethnobotanical Study of Common Weed Flora of Sugarcane in District Bannu, Khyber Pakhtunkhawa, Pakistan. *J. Med. Plants. Stud.* !, 49–78.
- Rijkers, T., Ogbazghi, W., Wessel, M., Bongers, F., 2006. The effect of tapping for frankincense on sexual reproduction in *Boswellia papyrifera*. *J. Appl. Ecol.* 43, 1188–1195.
- Rivière, C., Hong, V.N.T., Pieters, L., Dejaegher, B., Heyden, Y. Vander, Van, M.C., Quetin-Leclercq, J., 2009. Polyphenols isolated from antiradical extracts of *Mallotus metcalfianus*. *Phytochem.* 70, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.10.008>
- Robert R., L.R.L., 2007. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Masson Elsevier,.
- Rock, E., 2006. Bases théoriques du stress oxydant et mécanismes d'action des antioxydants. dégénérescence maculaire liée à l'age.
- Roger, L., Larsen, C.-J., Jacques, R., 2005. Cancérologie fondamentale. John Libbey, Eurotext.
- Roquilly, A., Asehnoune, K., 2019. Corticoïdes et sepsis. *Anesthésie & Réanimation.* 5, 186–192.
- Sakat, S., Juvekar, AR., ., Gambhire, M., 2010. In vitro antioxidant and anti-inflammatory

activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. I. J. Pharm. Pharm. Sci. 2, 146–155.

Sánchez-Jiménez, I., Lazkov, G.A., Garnatje, O., Hidalgo, T., 2010. Molecular systematics of *Echinops* L. (Asteraceae, Cynareae): a phylogeny based on ITS and trnL-trnF sequences with emphasis on sectional delimitation. *Taxon* 59, 698–708.

Sansonetti, P., Orth, G., 2006. Les maladies infectieuses, mieux comprendre pour mieux maîtriser, in: *La maîtrise des maladies infectieuses: un défi de santé publique, une ambition médico-scientifique*, Sansonetti. ed.

Sansonetti, P.J., 2001. À nouveau millénaire, nouvelle microbiologie. *Med.Sci.* 17, 687–690.

Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., 2006. *Les polyphénols en agroalimentaire*. Paris.

Savithramma, N., Venkateswarlu, P., Suhrulatha, D., Basha, S.K., Ramana, V., Devi, C., 2010. Studies of *Boswellia ovalifoliolata* Bal and Henry an endemic and endangered medicinal plants. *Int. Q. J. Life Sci.* 5, 359–362.

Seto, R., Nakamura, H., Nanjo, F., Hara, Y., 1997. Preparation of epimers of tea catechins by heat treatment. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61, 1434–1439.

Sharma, K.S., Mehta, S., Mishra., B.K., 1988. Antifertility activity of *Echinops echinatus* in albino rats. *Indian J. Med. Sci.* 42, 23–26.

Siddiqui, M.Z., 2011. *Boswellia serrata*, a potential antiinflammatory agent: an overview. *Ind. J. Pharm. Sci.* 73, 255–261.

Siess, M.H., Le Bon, A.M., Lavier, C., 2000. No Title. *Biofactors* 12, 193–199.

Singh, B., Gambier, S.S., E., Joshi, V.V., Pandey., V.K., 1989. Anti-inflammatory activity of *Echinops echinatus*. *J. Ethnopharmacol.* 25, 189–199.

Sinha, R., Gadhwal, N.K., Joshi, U.J., Srivastava, S., Govil, G., 2012. Modifying effect of quercetin on model biomembranes: Studied by molecular dynamic simulation, DSC and NMR. *Int. J. Curr. Pharma. Res.* 4, 70–9.

Sravan, Kumar, Reddy, T., Heepireddy, Ramakrishna, Chinthala, Vaikunta, Rao L., V., Kurisetty, V., Reddy, Kura, R., MallikarjunaRao, D., 2015. The isolation, characterization and quantification of gallic acid from the fruit extract of *Terminalia chebula*. *Int. J. Med. Pharma. Res.* 3, 983–988.

Stevens, P.F., 2017. Angiosperm phylogeny website [WWW Document]. URL <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. (accessed 7.2.18).

Tahara, S., 2007. A journey of twenty-five years through the ecological biochemistry of flavonoids. *Biosci. Biotech. Biochem.* 71, 1387–1404.

Takhtajan, A., 1997. *Diversity and classification of flowering plants*. New York Columbia Univ. Press.

Tomofuji, T., Ekuni, D., Irie, K., Azuma, T., Endo, Y., Tamaki, N., Sanbe, T., Murakami, J.,

- Yamamoto, T., Morita, M., 2009. Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J. Periodontol.* 80, 1799–1808.
- Tucker, A., 1986. Frankincense and myrrh. *Eco.Bot.* 40, 425–433.
- Tytgat, I., Colacino, E., Tulkens, P.M., Poupaert, J.H., Prevost, M., Van Bambeke, F., 2009. DD-ligases as a potential target for antibiotics: past, present and future. *Curr. Med. Chem.* 16, 2566–2580.
- Uzama, D., Gbubele, J.D., Bwai, M.D., Galadanchi, K.M., 2015. Phytochemical, nutritional and antimicrobial screening of hexane, ethyl acetate and ethanolic extracts of *Boswellia dalzielii* leaves and bark. *Am. J. Biosci. Bioeng.* 3, 76–79.
- Vanimireddy, L.N.R.R., Masuna, S., Thirumani, V.G., Samala, M.R., Dondapati, S., Tadikamalla, P.R., Upadhyayula, S.M., Yenamandra, V., 2003. Two new macrocyclic diaryl ether heptanoids from *Boswellia ovalifoliolata*. *Chem. Pharm. Bull* 51, 1081–1084.
- Vashisth, P., V., Jain, P., Mishra, S., Bharadwaj, N.S.I., Agrawal, R., Sironiya, H., Chokotia, L., Matoli, 2013. *Echinops echinatus* Roxb. - a nature's drugstore: an overview. *Indo Am. j.pharm. res.* 3, 2744–2750.
- Walsh, C., 2003. Antibiotics: actions, origins, resistance. ASM Press 117.
- Weeks, A., Daly, D.C., Simpson, B.B., 2005. The phylogenetic history and biogeography of the frankincense and myrrh family (Burseraceae) based on nuclear and chloroplast sequence data. *Mol. Phylogen. Evol.* 35, 85–101.
- WHO, 2021. Corona virus disease (Covid 19) dashboard [WWW Document].
- WHO, 2020. Antimicrobial-resistance. [WWW Document]. URL <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail> (accessed 10.20.20).
- WHO, 2015. Antimicrobial resistance report. Geneva.
- Wichtl, M., Anton, R., 2003. *Plantes thérapeutiques – tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2ème édit. ed.
- Yamashita, K., Ouchi, M., Shirai, T., Gondo, T., Nakazawa, Ito, H., 1998. Distribution of *Chlamydia pneumoniae* infection in the atherosclerotic carotid artery. *Stroke* 29.
- Ziegler, J., Facchini, P.J., 2008. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59, 735–769.

ANNEXES