

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة غرداية

N° d'enregistrement

Université de Ghardaïa

/...../...../...../...../.....



كلية العلوم والتكنولوجيا

Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم التعليم المشترك في العلوم والتكنولوجيا

Département de tronc communs en sciences et technologies

Mémoire de fin d'étude, en vue de l'obtention du diplôme

Master

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie analytique

Thème

**Élucidation structurale d'un flavonoïde
par RMN multi-impulsionnelle**

Présenté par :

ABDENNEBI Amel

Soutenue publiquement le 09/06/2026

Devant le jury composé de :

Raache Imane	MCB	Université de Ghardaïa	Présidente
Benchadi Wassila	MCB	Université de Ghardaïa	Directrice
Bencheikh Salah Eddine	MCB	Université de Ghardaïa	Examinateur

Année universitaire 2025/2026

Résumés

المخلص

هذا العمل يتناول دراسة الفلافونويدات وكذلك التحقق البنوي لأحد المركبات المعزولة من نبات شوك الجمل، الذي جمع من منطقة غرداية (ضاية بن ضحوة).

الجزء الأول من هذه الدراسة مخصص لمراجعة بيليوغرافية حول الفلافونويدات، متضمنة تصنيفها، وخصائصها الفيزيائية-الكيميائية، ونشاطاتها البيولوجية، وكذلك الطرق الرئيسية المستخدمة في تحديد بنيتها التركيبية. كما تم تقديم دراسة نباتية وفقية لنبات شوك الجمل.

الجزء التجريبي تمحور حول استخلاص المركبات الفينولية بالنقع، تبعه استخلاص سائل-سائل أتاح الحصول على مستخلص خام كلوروفرمي. تم تنقية هذا الأخير لاحقا بواسطة تقنيات كروماتوغرافية مختلفة، لا سيما كروماتوغرافيا العمود وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة. أسفرت هذه المراحل عن عزل مركب نقي على شكل راسب صلب بكمية مقدارها 1.3 ملغم.

علاوة على ذلك، تم تحديد البنية الكيميائية للمركب المعزول بفضل التحليل المشترك لبيانات طيفية مستخلصة من التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية (UV)، والتحليل الطيفي للكتلة (MS)، والرنين المغناطيسي النووي أحادي وثنائي البعد، بما في ذلك تقنيات ^1H RMN و ^{13}C RMN و COSY و HSQC و HMBC.

تكامل النتائج الطيفية السابقة قاد إلى استنتاج الهيكل البنائي للمركب المعزول، وتأكيده كمركب الأبيجينين.

كلمات مفتاحية: شوك الجمل، فلافونويدات، كروماتوغرافيا، رنين مغناطيسي نووي متعدد الأبعاد، توضيح بنوي، ^1H RMN، ^{13}C RMN، COSY، HSQC، HMBC، الأبيجينين

Résumé

Ce travail porte sur l'étude des flavonoïdes ainsi que sur l'élucidation structurale de l'un des composés isolés de la plante *Atractylis carduus*, récoltée dans la région de Ghardaïa (Daïa Ben Dahoua).

Première partie de cette étude est consacrée à une synthèse bibliographique relative aux flavonoïdes, incluant leur classification, leurs propriétés physicochimiques, leurs activités biologiques ainsi que les principales méthodes utilisées pour leur caractérisation structurale. Une étude botanique et phytochimique de la plante *Atractylis carduus* a également été présentée.

Partie expérimentale a porté sur l'extraction des composés phénoliques par macération, suivie d'une extraction liquide-liquide ayant permis l'obtention d'un extrait chloroformique brut. Ce dernier a ensuite été purifié par différentes techniques chromatographiques, notamment la chromatographie sur colonne (CC) et la chromatographie sur couche mince (CCM). Ces étapes ont conduit à l'isolement d'un composé pur sous forme d'un précipité solide (1,3 mg).

Par ailleurs, la structure chimique du composé isolé a été déterminée grâce à l'analyse combinée des données spectrales obtenues par spectroscopie UV, spectrométrie de masse (SM) et résonance magnétique nucléaire unidimensionnelle et bidimensionnelle, incluant les techniques RMN ^1H , RMN ^{13}C , COSY, HSQC et HMBC.

L'ensemble des résultats obtenus a permis d'identifier le composé isolé comme étant l'Apigénine.

Mots-clés : *Atractylis carduus*, flavonoïdes, chromatographie, RMN multidimensionnelle, élucidation structurale, RMN ^1H , RMN ^{13}C , COSY, HSQC et HMBC, Apigénine



Dédicace

À mon cher père, **ABDENNABI Mohamed**, qui a été mon soutien et mon pilier tout au long de mon parcours académique.
À ma chère mère, **BELKEBIR Aïcha**, source de tendresse et d'encouragement constant, dont les prières m'ont toujours accompagnée.
À moi-même...

Pour la patience, les efforts et les moments difficiles que j'ai traversés afin d'arriver jusqu'ici, et pour ne jamais avoir abandonné malgré les obstacles.

À mes frères et sœurs, piliers de ma vie et source de ma force :
Ismail, Hayat, Asma et Mohamed Nour El Islam.

Aux âmes pures qui nous ont quittés pour l'au-delà...
Qu'Allah leur accorde sa miséricorde et les accueille dans son vaste paradis. Vous resterez toujours présents dans nos cœurs, dans les détails de nos réussites.
À mon oncle, à mes cousins, ainsi qu'à mes tantes, à mes deux grands-pères et à mes deux grands-mères.

Je vous remercie pour votre amour, votre soutien et votre présence précieuse dans ma vie.

À mes neveux et nièces, précieux trésors : **Adam, Hadil, Razan**, espoirs de demain et joie de la famille.

Je dédie ce travail aussi à **Souad LARABI, Driss BELKBIR, Asma ABDENNABI** et **Hayat ABD ENNABI**, pour leur aide, leur soutien et leurs précieux encouragements.

À mes proches amies, que Dieu vous garde pour moi.
À toute la famille **ABDENNABI**, dans son ensemble,
et à toutes les personnes qui m'ont sincèrement aimée et encouragée.
Je dédie ce travail avec tout mon amour et ma profonde gratitude.

AMEL



REMERCIEMENTS

Je rends grâce à Dieu le Tout Puissant de m'avoir accordé la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail.

Ce mémoire représente l'aboutissement de plusieurs années d'efforts, de sacrifices et d'apprentissage. À travers ces quelques lignes, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers toutes les personnes qui m'ont soutenue tout au long de ce parcours.

Mes sincères remerciements s'adressent particulièrement à mon encadreuse,

***Dr : BENCHADI Wassila,** pour son accompagnement, sa confiance ainsi que ses précieux conseils durant toute la réalisation de ce mémoire.*

Je remercie également les membres du jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'évaluer ce travail.

Enfin, à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, j'adresse mes plus sincères remerciements du fond du cœur.



LISTE DE FIGURE

Figure 1 : Structure de base des flavonoïdes	3
Figure 2 : Biosynthèse des flavonoïdes	8
Figure 3 : Différents aspects d' <i>Atractylis carduus</i>	17
Figure 4 : Structures des flavonoïdes isolés du genre <i>Atractylis</i>	20
Figure 5 : Structure interne et externe d'un spectre RMN 300 MHz	26
Figure 6 : Appareil de spectrophotométrie UV-Visible et son schéma descriptif interne	28
Figure 7 : Dispositif expérimentale et schéma de fonctionnement d'un spectromètre de masse	29
Figure 8 : Dispositif expérimental pour le développement d'une plaque de CCM	27
Figure 9 : chromatographie de colonne	31
Figure 10 : Localisation de la wilaya de Ghardaïa en Algérie	33
Figure 11 : Localisation de Daïa ben dahoua dans la wilaya de Ghardaïa	33
Figure 12 : La plante <i>Atractylis carduus</i>	34
Figure 13 : Étapes de macération (a) et de filtration (b) de la plante <i>Atractylis carduus</i>	35
Figure 14 : Étapes de l'extraction liquide-liquide successive dans une ampoule à décanter	36
Figure 15 : Protocole de préparation de différents extraits de la partie d' <i>Atractylis carduus</i>	37
Figure 13 : Chromatogramme sur couche mince de l'extrait	35
Figure 14 : Dispositif de chromatographie liquide sous vide (VLC)	36
Figure 15 : CCM du composé pur obtenu de F4 (CHCl ₃ /MeOH : 95/5 %)	38
Figure 16 : Chromatogramme sur couche mince de l'extrait au chloroforme (Révélation sous UV et en lumière visible)	39
Figure17 : Dispositif de chromatographie liquide sous vide (VLC)	40
Figure 18 : CCM du composé pur obtenu de F4(CHCl ₃ /MeOH : 95-5%)	42
Figure 19 : Spectre UV-Visible du compose purifie	44
Figure 20 : Spectre de masse ESI-MS du composé	44
Figure 21 : Spectre RMN ¹ H	45
Figure 22 : Spectre RMN ¹³ C découplé	46
Figure 23 : Spectre COSY de la partie aromatique du composé	46
Figure 24 : Cycle A du composé A	46

Figure 25 : Cycle B du composé A	47
Figure 26 : Structure flavonoïdique dérivée de la flavone	47
Figure 27 : Spectre HSQC J-modulé	48
Figure 28 : Spectre HSQC J-modulé	48
Figure 29 : Spectre HMBC	49

LISTE DE TABLEAUX

Tableau 1: Structures chimiques et exemples des Flavone et des Flavonol _____	5
Tableau 2: Structures chimiques et exemples des Flavanones et des Dihydroflavonol _____	6
Tableau 3: Structures chimiques et exemples des dérivés de flavanes et des anthocyanidols ____	6
Tableau 4: Structures chimiques et exemples des Chalcones et des Aurones. _____	7
Tableau 5: Structures chimiques et exemples des Isoflavones et des Néoflavones. _____	8
Tableau 6: Les différentes interactions influençant la solubilité des flavonoïdes _____	10
Tableau 7: Distribution naturelle des principales molécules de flavonoïdes dans les plantes et les aliments. _____	12
Tableau 8: Relation entre la fluorescence sous lumière et les structures flavonoides _____	14
Tableau 9: Effets des réactifs sur le spectre UV _____	15
Tableau 10: flavonoïdes isolés du genre Atractylis _____	23
Tableau 11: materiel et reactifs utilises dans l'etude _____	25
Tableau 12: Rassemblement des différentes fractions de la VLC de l'extrait de chloroforme _	40
Tableau 13: Purification de la fraction F10 et regroupement des sous-fractions. _____	41
Tableau 14: Déplacements chimiques RMN 1H et 13C du composé dans CD3OD _____	50

LISTE DES ABREVIATIONS

APCI : L'ionisation chimique à pression atmosphérique

CC: Chromatographie sur colonne

CCM: Chromatographie sur couche mince

CDCl₃: Chloroforme deutéré

CHCl₃: Chloroforme

COSY: Correlation spectroscopy

DEPT: Distortionless enhancement by polarization transfer

DMSO: Diméthylsulfoxyde

EI: Ionisation électronique

ESI : L'électro spray ou ionisation par électro-nébulisation

ESI: Electrospray ionization

EtOH: Éthanol

FAB : Le bombardement par atomes rapides

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HPLC: High Performance liquid chromatography

HSQC: Heteronuclear single quantum coherence

Hz: Hertz

IE : L'ionisation par impact électronique

J: Constante de couplage

m/z: Rapport masse/charge

MeOH: Méthanol

NOESY: Nuclear overhauser effect spectroscopy

ppm: Parties par million

Rf: Rapport frontal

RMN 1D: Résonance magnétique nucléaire unidimensionnelle

RMN 2D: Résonance magnétique nucléaire bidimensionnelle

RMN: Résonance magnétique nucléaire

SM : Spectrométrie de masse

UV: Ultraviolet

VLC: Vacuum liquid chromatography

δ : Déplacement chimique

λ_{max} : Longueur d'onde maximale

Table des matières

Résumés	I
Dédicaces	II
Remerciements	III
Liste de figure	IV
Liste de tableaux	V
Liste des abréviations explicitées	VI
Introduction générale	1

Chapitre I : Généralité sur les flavonoïdes

I.1. Généralités sur les flavonoïdes	4
I.2. Définition	4
I.3. Classification des flavonoïdes	4
I.3.1. Flavones et flavonols	5
I.3.2. Flavanones et dihydroflavanols	5
I.3.3. Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols	6
I.3.4. Chalcones et auronés	7
I.3.5. Isoflavones et néoflavones	7
I.4. Biosynthèse des flavonoïdes	8
I.5. Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes	10
I.6. Propriétés biologiques	10
I. 6.1. Activité antimicrobienne	10
I.6.2. Activité anti-inflammatoire	11
I.6.3. Activité antioxydante	11
I.6.4. Action sur le système cardiovasculaire	11
I.6.5. Rôle dans la prévention du diabète	11
I.6.6. Activité antitumorale	11
I.6.7. Intérêt industriel	12

I.7. Distribution des flavonoïdes	12
I.8. Caractérisation structurale des flavonoïdes	13
I.8.1. Caractéristiques chromatographiques	13
I.8.2. Caractéristiques spectrophotométriques	14
I.8.2.1. Bande I	14
I.8.2.2. Bande II	14

Chapitre II : Rappel botanique

II.1. Famille des Astéracées	18
II.2. Genre <i>Atractylis</i>	18
II.3. Description botanique de <i>Atractylis carduus</i>	18
II.4. Origine et répartition géographique	19
II.5. Activités biologiques	20
II.6. Principaux flavonoïdes isolés du genre <i>Atractylis</i>	20
II.7. Utilisation en médecine traditionnelle	20

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Matériel et produits	25
III.2. Chimie structurale	25
III.2.1. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	25
III.2.1.1. Principe	25
III.2.2. RMN monodimensionnelle (1D)	26
III.2.2.1. RMN ¹ H	26
III.2.2.2. RMN ¹³ C	26
III.2.2.3. DEPT 135° et JMOD	27
III.2.3. RMN bidimensionnelle (2D)	27
III.2.3.1. Corrélations homonucléaires COSY, NOESY	27
III.2.3.2. Corrélations hétéronucléaires HSQC, HMBC	28
III.2.4. Spectroscopie UV	28
III.2.4.1 Principe	28

III.2.5. Spectrométrie de masse (SM)	29
III.2.5.1 Principe	29
III.3. Chimie extractive	30
III.3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	30
III.3.1.1 principe	30
III.3.2 Chromatographie sur colonne (CC)	30
III.3.2.1 principe	31
III.3.2.2. Types de chromatographie sur colonne utilisés	31

Chapitre IV : Partie expérimentale

IV. Étude phytochimique de l'espèce <i>Atractylis carduus</i>	33
IV.1. Récolte du matériel végétal	33
IV.2. Préparation du matériel végétal	33
IV.3. Extraction de la plante	34
IV.3.1. Extraction solide/liquide	34
IV.3.2. Extraction liquide/liquide	35
IV.4. Séparation et purification de l'extraie	38
IV.4.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	38
IV.4.2. Séparation chromatographique sur colonne	39
IV.4.3. Fractionnement et purification de l'extrait chloroformique	40
IV.4.4. Étude de la fraction F-4	41
IV.5. Techniques et condition d'analyses spectroscopiques	42
IV.5.1. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	42
IV.5.2. Spectroscopie de masse (MS)	43

Chapitre V : Résultats et discussion

V. Elucidation structurale du composé	44
---------------------------------------	----

Conclusion générale

Conclusion générale	51
Références bibliographiques	53

Introduction générale

Introduction générale

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes naturels présents dans de nombreuses plantes. Ce sont généralement des composés colorés qui peuvent se présenter sous différentes formes, notamment sous forme de glycosides liés à des sucres. Ils dérivent d'une structure de base appelée phénylchromone, constituant un groupe important de composés phénoliques [1].

On compte plus de 6000 types de flavonoïdes répartis dans presque toutes les plantes vasculaires, telles que les arbres, les fleurs, les fruits et les légumes. Ces pigments sont responsables des différentes colorations observées dans les végétaux, notamment les couleurs jaunes, orange et rouge. Les flavonoïdes sont présents dans plusieurs aliments et boissons consommés quotidiennement, comme les agrumes, les légumes, le vin rouge, le thé, le café et la bière [2].

De nombreuses plantes médicinales contiennent également des flavonoïdes, et les préparations riches en ces composés sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour leurs diverses propriétés thérapeutiques [3].

Les flavonoïdes sont largement connus pour leurs activités biologiques aussi bien chez les plantes que chez l'homme. Cependant, la majorité des études réalisées jusqu'à présent se sont concentrées sur des espèces végétales déjà bien identifiées. En revanche, plusieurs plantes issues de flores locales ou peu explorées n'ont pas encore fait l'objet d'études structurales approfondies [4].

Parmi les plantes riches en métabolites secondaires, « *Atractylis carduus* », appartenant à la famille des Astéracées, attire un intérêt particulier en raison de sa richesse en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes. Cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle pour diverses applications thérapeutiques. Plusieurs études ont montré que les espèces du genre « *Atractylis* » possèdent des activités biologiques importantes telles que les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, ce qui justifie l'intérêt porté à l'isolement et à l'identification de leurs constituants chimiques [4].

Dans ce contexte, notre objectif est de répondre à la problématique suivante :

Quelle est la structure chimique précise des flavonoïdes extraits de « *Atractylis carduus* », et comment peut-on déterminer leur configuration moléculaire en utilisant la résonance magnétique nucléaire bidimensionnelle (RMN-2D) ?

La détermination des structures chimiques peut être réalisée grâce à différentes techniques analytiques telles que la spectroscopie infrarouge (IR), la spectrométrie de masse (SM) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) [5].

Le présent travail sera principalement consacré à l'utilisation de la RMN bidimensionnelle (RMN-2D), une technique particulièrement performante dans l'élucidation structurale des molécules organiques complexes. Contrairement à la RMN unidimensionnelle, la RMN-2D permet d'établir des corrélations entre les différents noyaux présents dans la molécule, facilitant ainsi l'attribution des signaux et la détermination précise de l'enchaînement des atomes. Les expériences COSY, HSQC et HMBC permettent notamment de mettre en évidence les corrélations proton-proton ainsi que les corrélations proton-carbone à courte et longue distance, apportant des informations essentielles pour l'identification structurale des flavonoïdes isolés.

Ce mémoire est organisé en quatre chapitres :

- Le premier chapitre présente une étude bibliographique sur les flavonoïdes et leurs principales propriétés.
- Le deuxième chapitre est consacré à la plante *Atractylis carduus* et à ses caractéristiques générales.
- Le troisième chapitre traite de la partie expérimentale, incluant l'extraction, la purification et l'identification structurale des composés isolés par différentes techniques spectroscopiques, notamment la RMN-2D.
- Enfin, le quatrième chapitre est dédié à la présentation et à la discussion des résultats obtenus.

Chapitre I

Généralité sur les flavonoïdes

I.1. Généralités sur les flavonoïdes

La découverte des flavonoïdes remonte à 1936, par le scientifique Albert Szent-Györgyi, qui les désigna initialement sous le nom de « vitamine P ». Les recherches ultérieures ont montré qu'ils ne correspondent pas à la définition des vitamines, entraînant l'abandon de cette appellation[1].

Le terme « flavonoïdes » dérive du latin flavus, signifiant « jaune », en référence aux pigments végétaux jaunes où ils ont été identifiés pour la première fois [2]. Avec l'évolution des études, il englobe désormais une vaste gamme de composés partageant une structure chimique de base commune, au-delà des seules teintes jaunes.[3]

Les flavonoïdes font partie de la vaste famille des polyphénols (ou composés phénoliques), des molécules d'origine végétale caractérisées par la présence de plusieurs groupements phénoliques[4]. Ces substances, aux structures variées, regroupent plusieurs classes principales : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes et les lignanes[3].

I.2. Définition

Les flavonoïdes sont caractérisés par un squelette carboné de base comportant 15 atomes de carbone organisés selon une structure générale C6-C3-C6 (Figure I.1). Cette structure commune à tous les flavonoïdes est constituée de deux noyaux benzéniques aromatiques, désignés cycles A et B, reliés entre eux par une chaîne de trois atomes de carbone formant généralement un hétérocycle oxygéné de type pyrane (cycle C)[5].

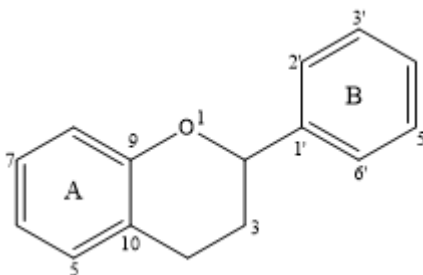


Figure 1: structure de base des flavonoïdes[5]

I.3. Classification des flavonoïdes [6][7][11][13]

Les flavonoïdes sont classés en différentes catégories en fonction du mode de cyclisation ainsi que du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C. Au sein d'une même classe, les composés se distinguent par la nature des substituants portés par les cycles A et B de la molécule. À l'état naturel, les flavonoïdes se présentent très fréquemment sous forme de glycosides ; une ou plusieurs

fonctions hydroxyles y sont alors glycosylées. La partie non glucidique de la molécule est appelée aglycone, ou génine. Ces composés se répartissent en dix classes principales : flavones, isoflavones, chalcones, aurones, flavonols, flavanones, dihydroflavanols, néoflavones, flavane-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanes.

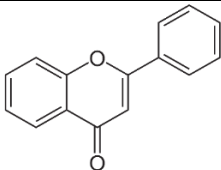
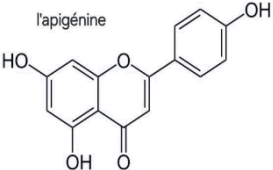
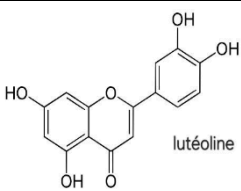
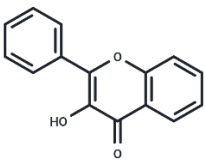
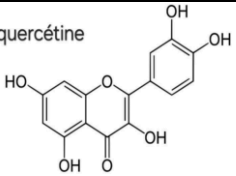
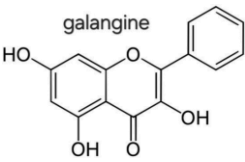
Les flavonoïdes se produisent sous forme d'aglycones et de glycosides :

- Les flavonoïdes aglycones : sont des flavonoïdes sans sucre attaché.
- Les flavonoïdes glycosidiques : sont des flavonoïdes liés dans les positions 3 ou 7 avec un sucre (L-rhamnose, D-glucose, glucorhamnose, galactose or arabinose etc....)

I.3.1. Flavone et flavonol :

Le cycle A de ces deux types de molécules est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C-5 et en C-7. D'autre part, le cycle B est substitué en C-4' ou di-substitué en C-3' et C-4' par des groupements OH ou méthoxyles (OCH₃). Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un OH en C-3.

Tableau 1: Structures chimiques et exemples des Flavone et des Flavonol[8][6]

	Structure chimique	Exemple
Flavone		 Iapigénine  Lutéoline
Flavonol		 quercétine  galangine

I.3.2. Flavanones et dihydroflavanols

Ces molécules se caractérisent par l'absence de la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, ainsi que par la présence de centres d'asymétrie. Les dihydroflavanols se distinguent des flavanones par le groupement hydroxyle en position C-3.

Tableau 2: Structures chimiques et exemples des Flavanones et des Dihydroflavanols[6][9].

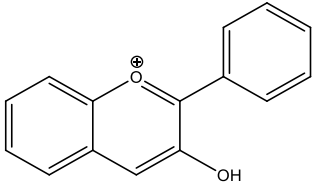
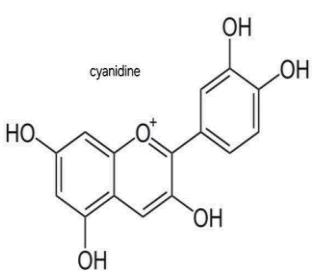
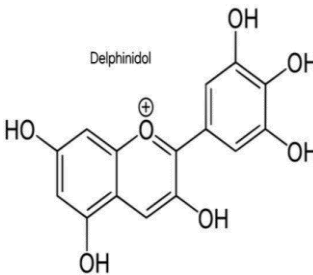
	Structure chimique	Exemple
Flavanones		 naringin eriodictyol
Dihydroflavanols		 Taxifolin Aromadendrin

I.3.3. Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols

Ces molécules présentent systématiquement un groupement hydroxyle en position C-3 et se distinguent par l'absence du groupe carboxyle en C-4. Cette position peut être hydroxylée (flavan-3,4-diols) ou libre (flavan-3-ols et anthocyanidols). Les anthocyanosides se caractérisent par l'implication du groupe hydroxyle en C-3 dans une liaison glycosidique.

Tableau 3: Structures chimiques et exemples des dérivés de flavanes et des anthocyanidols[6][10].

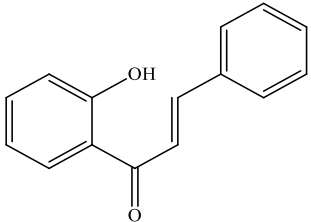
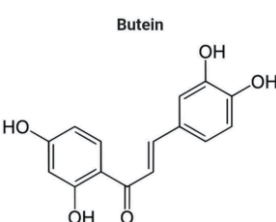
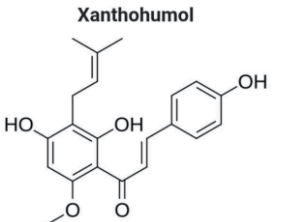
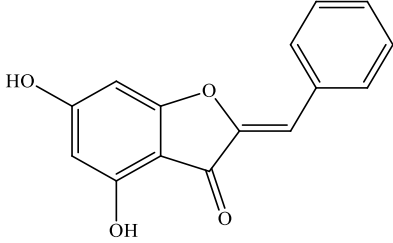
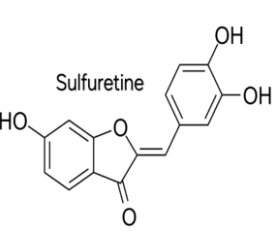
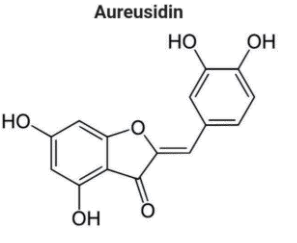
	Structure chimique	Exemple
Flavan-3-ols		 Epicatechin Catechin
Flavan-3,4 diols		 Leucocyanidin Leucopellargonidine

anthocyanidols		 
----------------	---	--

I.3.4. Chalcones et Aurones

Les chalcones présentent un noyau pyranique central ouvert et se composent de deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée cétonique et insaturée. Le noyau B reste fréquemment non substitué, tandis que les substitutions sur le cycle A correspondent souvent à celles observées chez les autres flavonoïdes. Les aurones se distinguent par une structure de 2-benzylidèncoumaranone.

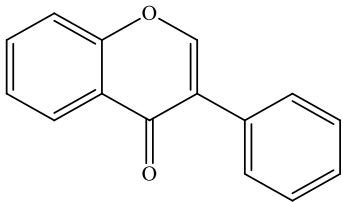
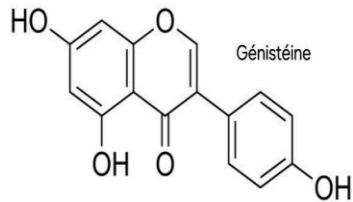
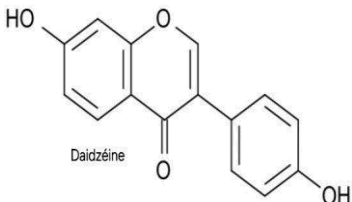
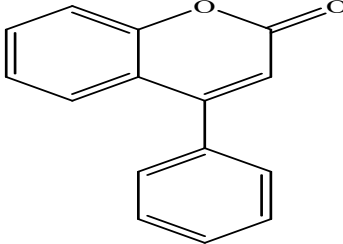
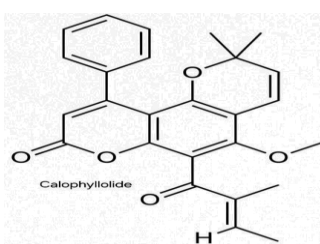
Tableau 4: Structures chimiques et exemples des Chalcones et des Aurones[11][12].

	Structure chimique	Exemple
Chalcones		 
Aurones		 

I.3.5 Isoflavones et neoflavones

Les isoflavones se distinguent des autres flavonoïdes par la position du cycle B en C-3. Les néoflavones constituent une classe rare de flavonoïdes, caractérisée par une liaison du cycle B en position différente de celle observée dans le squelette classique des flavones. Le calophyllolide, isolé de *Calophyllum inophyllum*, est le premier néoflavone identifié.

Tableau 5: Structures chimiques et exemples des Isoflavones et des Néoflavones[13][14].

	Structure chimique	Exemple
Isoflavones		 Génistéine  Daidzéine
neoflavones		 Calophyllolide  Dalbergine

I.4. Biosynthèse des flavonoïdes

L'origine des flavonoïdes transparaît dans leur structure, qui rappelle celle des chalcones : elle résulte de la condensation d'un noyau de type triacétate, correspondant au cycle A, et d'un dérivé de l'acide cinnamique, correspondant au cycle B, suivie de la formation du cycle pyranique central[4].

L'étape essentielle de la biosynthèse des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone-synthase, de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester du coenzyme A dérivé d'un acide hydroxycinnamique, généralement le 4-coumaroyl-CoA. L'incorporation du caféoyl-CoA reste limitée à quelques espèces, l'hydroxylation supplémentaire du noyau B intervenant généralement à un stade plus tardif. Le produit de cette réaction est une chalcone, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone, ou, en présence d'une polyacétate-réductase dépendante du NADPH, une 6'-désoxychalcone, la 4,2',4'-trihydroxychalcone. Dans des conditions physiologiques normales, la chalcone s'isomérise spontanément en flavanone racémique. En réalité, cette cyclisation est catalysée par la chalcone-isomérase, qui favorise la fermeture du cycle correspondant[15].

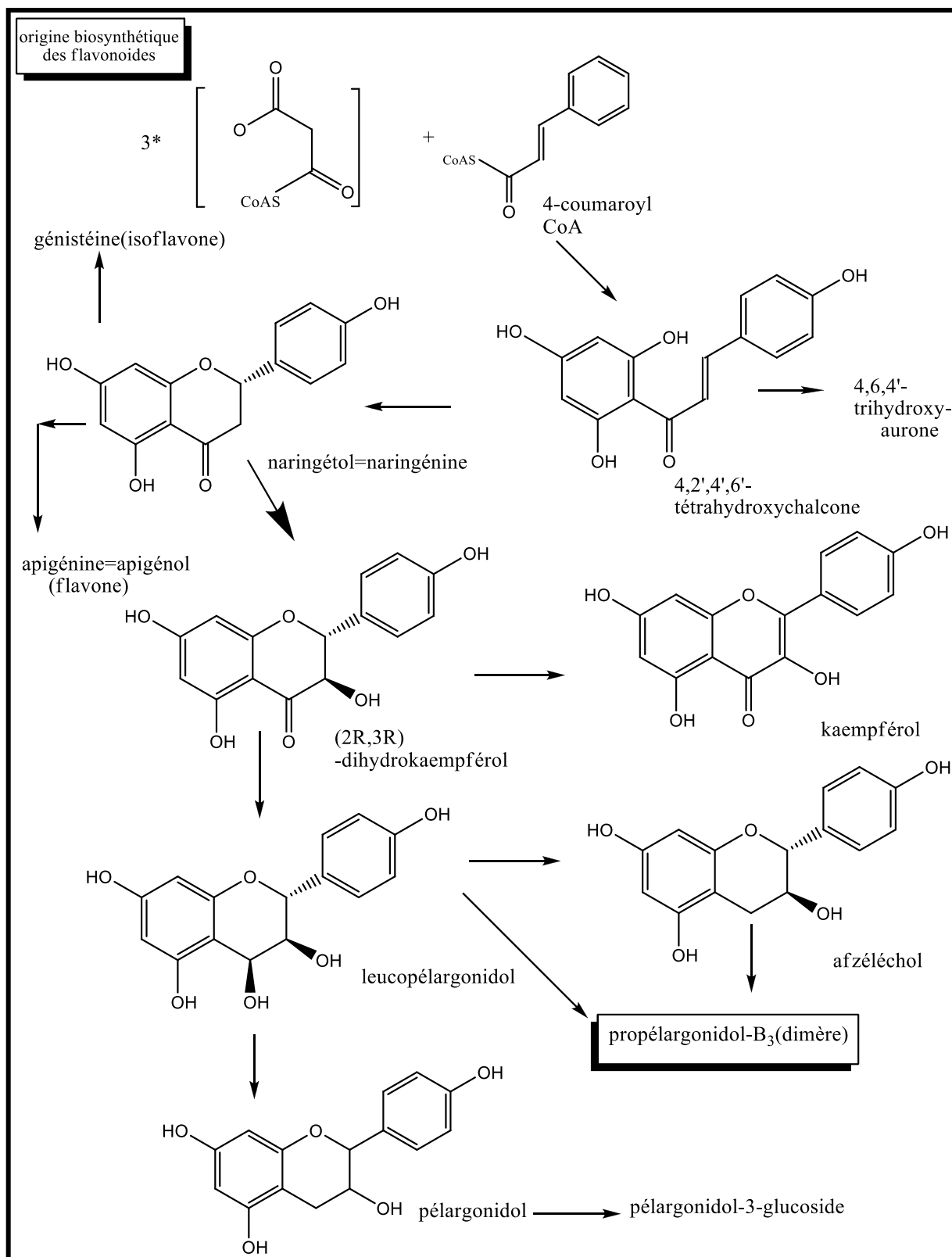


Figure 2: Biosynthèse des flavonoïdes [15]

I.5. Propriétés Physico-chimiques des flavonoïdes [16]

Il est difficile de prédire la solubilité d'un composé dans un solvant en raison des différences structurales au sein d'une même famille. Toutefois, la solubilité des flavonoïdes non glycosylés dépend en partie de la présence de solvants apolaires ou de faible polarité, comme l'éther éthylique, les solvants halogénés, l'hexane. En revanche, les hétérosides ont une solubilité plutôt élevée dans des solvants polaires tels que l'acétone et les alcools, ainsi que dans l'eau.

Selon différentes interactions, il peut se développer en présence d'un solvant.

Tableau 6: Les différentes interactions influençant la solubilité des flavonoïdes [16]

Interaction	Effet sur la solubilité
Interactions hydrophobes	Impliquant les cycles aromatiques (A et B) et les substituants carbonés aliphatiques, lorsque des solvants apolaires sont utilisés.
Les flavonoïdes non glycosylés	Se dissolvent généralement dans des solvants apolaires ou de faible polarité (éther éthylique, solvants halogénés, hexane).
Interactions dipolaires	Se produisent entre les solvants polaires et les groupes fonctionnels des flavonoïdes tels que le carbonyle, l'éther, l'ester et l'hydroxyle.
Les différences structurales	Au sein d'une même famille sont très importantes, ce qui complique la prédiction de la solubilité.
Liaisons hydrogène	Possibles entre le solvant (eau, alcool, amine) et les groupes donneurs ou accepteurs de liaisons hydrogène présents sur le flavonoïde.O
Les Hétérosides (flavonoïdes glycosylés)	Sont plutôt dissous dans les solvants polaires tels que l'acétone et l'alcool, ainsi que dans l'eau.
Les interactions électrostatiques	Sont observées entre les groupes hydroxyles et carboxyliques, ou pour les anthocyanes à un pH spécifique.

I.6. Propriétés biologiques

I.6.1. Propriété antimicrobienne

Les flavonoïdes exercent une toxicité marquée envers les microorganismes. Leur mécanisme d'action implique l'inhibition d'enzymes hydrolytiques, telles que les protéases, ou d'autres

interactions inactivant les adhésines microbiennes, les protéines de transport, ainsi qu'une activité antivirale dirigée principalement contre les virus herpès, de la grippe et le VIH [17]

Les flavonols issus de fractions de propolis manifestent des effets significatifs contre le virus herpès simplex sexuellement transmissible, considéré comme un facteur à haut risque de transmission du VIH [18].

I.6.2. Propriété anti-inflammatoire

L'acide arachidonique est métabolisé sous l'action des cyclooxygénases et des lipoxygénases en prostaglandines et en leucotriènes, respectivement, ce qui induit des phénomènes inflammatoires. Certains flavonoïdes sont capables de moduler le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes[19]

Les flavones et les flavanols, sous forme libre ou glycosylée, tels que la myricétine et la quercétine, présentent une activité inhibitrice de la cyclooxygénase[20].

I.6.3. Propriété antioxydante

Les flavonoïdes sont principalement reconnus pour leur activité antioxydante. Ils participent à la neutralisation des radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote[19].

I.6.4. Action sur le système cardiovasculaire

Dans le vin rouge, les flavonoïdes interviennent dans les mécanismes de protection cardiovasculaire par plusieurs voies. Ils contribuent à la diminution de la cholestérolémie, inhibent les enzymes cyclooxygénase et lipoxygénase impliquées dans les processus oxydatifs et inflammatoires, et réduisent ainsi le risque de lésions au niveau du système vasculaire[21][22]. Ils inhibent également les mécanismes vasoconstricteurs et diminuent le flux transmembranaire de calcium par inhibition des protéines kinases, ce qui favorise la vasodilatation[23].

I.6.5. Rôle dans la prévention du diabète

Les flavonoïdes préviennent la cataracte diabétique par inhibition de l'aldose réductase du cristallin[24].

I.6.6. Rôle antitumoral

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de défense anticancéreuse. Les flavanols exercent un effet cytotoxique sur les cellules cancéreuses de la

prostate, et ces effets sont corrélés à leur capacité à inhiber certaines enzymes clés de la lipogenèse[24].

I.6.7. Intérêt industriel

Les flavonoïdes sont utilisés comme colorants dans les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique[25].

I.7. Distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes prédominent dans le règne végétal et se répartissent dans toutes les parties des végétaux supérieurs, notamment les feuilles, fruits, graines, racines et tiges...[26]. Chez certaines espèces, seules des classes spécifiques de flavonoïdes s'avèrent présentes. Par exemple, les anthocyanes et les flavonols abondent dans les fruits et légumes ; les isoflavones caractérisent le soja ; les flavanones prédominent dans les agrumes ; tandis que les chalcones se concentrent fréquemment dans les pétales floraux. Le tableau suivant illustre la distribution des principales familles de flavonoïdes dans le règne végétal [27][28].

Tableau 7: Distribution naturelle des principales molécules de flavonoïdes dans les plantes et les aliments[29].

Famille	Molécules principales	Distribution
Flavones	Apigénine	Herbes aromatiques (persil, romarin, thym), céleri
	Lutéoline	Céleri, persil
	Lutéoline-7-apiosylglucoside	Poivron rouge
	Chrysine	Pomme, peau de fruits
Flavanone	Hespéritine	Citrus et agrumes
	Naringine	
	Taxifoline	
	Quercétine	Oignon, olive, pomme, tomate
	Myricétine	Vin rouge

Flavonol	Kaempférol	Thé noir, radis, raisin, brocoli
Isoflavone	Daidzeine-7-glucoside	Soja
	Genisteine-7-glucoside	
flavan-3-ol	(+)-catéchine	Thé vert et noir, vin rouge
	(-)-epicatéchine,	
	(-)-epigallocatechine	
Anthocyane	Cyanidine	Fruits et légumes rouges et violets (pommes, raisins, baies, kaki, cassis...)
	Pelargonidine	

I.8. Caractérisation structurale des flavonoïdes [29]

I.8.1 Caractéristiques chromatographiques

L'observation de la couleur de fluorescence sous lumière ultraviolette constitue également un indicateur utile pour orienter l'identification de la structure des flavonoïdes. Les fluorescences observées après révélation dépendent en effet de la nature et de la substitution du squelette flavonique, ce qui en fait un critère complémentaire d'analyse chromatographique.

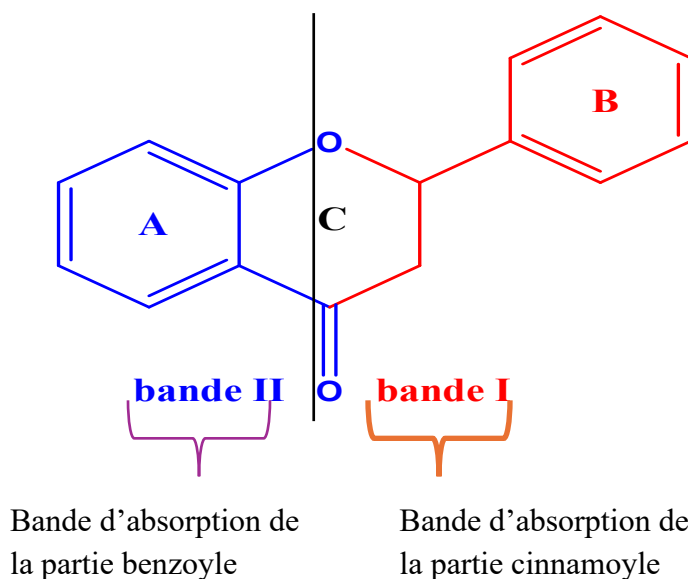
Tableau 8:Relation entre la fluorescence sous lumière et les structures flavonoides[29]

Couleur	Nature des composes
VIOLETTE NOIRE	Flavones avec 5,6,7 ou 5,7,8 trihydroxy flavone. Flavonol avec substitue en 3
BLEUE	Flavone ou flavonol sans OH en 5 . Flavanone avec OH en 3 ou flavavanol. Flavonol avec 3-OH et sans 5-OH .
JAUNE OU JAUNE TERNE	Flavonol avec 3-OH et avec ou sons 5-OH
ORANGE FLUORESCENT JAUNE-VERT	Isoflavones
BLEU-VERT	Flavanone sans 5-OH
JAUNE-VERT	Aurones
VERTE	Chalcones

I.8.2 Caractéristiques spectrophotométriques [29]

La spectrophotométrie d'absorption UV-visible représente l'une des méthodes les plus importantes pour l'identification des structures flavonoïques. Elle repose essentiellement sur l'enregistrement du spectre dans un milieu alcoolique, généralement le méthanol ou l'éthanol, et se caractérise par deux bandes d'absorption principales :

- **Bande I** : elle présente un maximum d'absorption compris entre 300 et 400 nm. Elle est attribuée au système cinnamoyle, résultant de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison C2=C3 et le noyau B. Elle fournit ainsi des informations sur les variations structurales du cycle B et de l'hétérocycle C.
- **Bande II** : elle présente un maximum d'absorption compris entre 240 et 280 nm. Elle est attribuée au système benzoyle, dérivé de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A, et renseigne sur les variations structurales du cycle A.



Le tableau 9 présente les intervalles des maxima d'absorption des deux bandes en milieu méthanolique pour différentes classes de flavonoïdes.

Le maximum d'absorption de chaque bande dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyle et méthoxyle sur le squelette flavonique. L'augmentation du nombre de groupements hydroxyle déplace le maximum d'absorption vers des longueurs d'onde plus élevées, tandis que les groupements méthoxyle ou glycosyle le déplacent vers des longueurs d'onde plus faibles. Le spectre méthanolique d'un composé flavonique peut être modifié par l'ajout de plusieurs réactifs, notamment NaOH, NaOAc, AlCl₃, H₃BO₃ et HCl.

Tableau 9: Effets des réactifs sur le spectre UV[29]

Réactifs	Déplacement (nm)		Interprétation
	Bande I	Bande II	
MeOH	310-350	250-280	Flavone
	330-360	250-280	Flavonol (3-OR)
	350-385	250-280	Flavonol (3-OH)
NaOMe (NaOH)	+40 à 60 avec stabilité d'intensité	4'-OH	
	+50 à 60 avec diminution d'intensité	3-OH et 4'OR	

	Faible déplacement avec 4'-OR diminution d'intensité	
	Apparition d'une 3 ^{ème} bande entre bande I et II	7-OH
	Absence de bande entre 320-335	7-OR
	Transformation de bande I en une Inflexion.	5-OH (seul hydroxyle libre)
AlCl₃/MeOH	+20 à 45	5-OH
	+60	3-OH
AlCl₃+HCl/AlCl₃	-30 à -40	Ortho di OH sur le noyau B
	-20 à -25	Ortho di OH sur le noyau A (en plus ortho di OH sur le noyau B)
AlCl₃+HCl/MeOH	+35 à 55	5-OH
	+17 à 20	5-OH (avec 6-oxygénation)
	+50 à 60	3-OH ou 3-OH et 5-OH
NaOAc/MeOH	+5 à 20	7-OH
	Déplacement très faible	7-OR
	Diminution d'intensité avec le temps	6,7; 7,8 ou 3',4'di OH
	Le spectre se décompose avec le temps	5, 6,7 ; 5, 7,8 ou 3, 3',4'-tri OH
NaOAc+H₃BO₃/MeOH	+12 à 36	3',4' di OH
	+5 à 10	6,7 ou 7,8 di OH

Chapitre II

Rappel botanique

II.1. Famille Astéracées

Le mot « Aster » du grec signifie étoile en relation avec la forme de la fleur [30][31].

Les Astéracées sont une grande famille de plantes dicotylédones appelée aussi Composées (Compositae), cette famille se distingue essentiellement par structure florale uniforme. La famille des Astéracées est une importante famille qui comprend près de 23000 espèces [32], réparties en 1500 genres décrits dont 750 en Méditerranée [30]. Bien que tous les types biologiques se retrouvent chez les Composées : arbres, lianes, arbustes, ...

La famille des Astéracées présente une répartition cosmopolite à l'échelle mondiale, à l'exception de l'Antarctique. Ses membres sont principalement des plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces.

II.2. Genre *Atractylis*

Atractylis est un genre de plantes de la famille des Astéracées, principalement réparti sur les côtes et les îles de la région méditerranéenne. Ce genre est représenté par 16 espèces dans la flore d'Afrique du Nord, dont 5 sont présentes dans le Sahara [33]. Les *Atractylis* sont des plantes herbacées, très épineuses, annuelles, bisannuelles ou vivaces, et présentent un aspect de petit chardon.

Leurs capitules sont entourés de feuilles supérieures (appelées feuilles involucales). Les bractées externes, de forme oblongue-linéaire, se rétrécissent en une épine robuste et sont bordées de dents épineuses. Après fécondation l'ovaire infère donne un fruit sous forme d'akène ellipsoïdale et surmonté d'une aigrette de poils appelée Pappus de couleur blanche assurant sa dispersion. Localement, les plantes *Atractylis* sont appelées « Assenant awragh » [33].

II.3. Rappel botanique

Atractylis carduus : est une plante vivace répandue dans le nord du Sahara (figure 3c). Elle se caractérise par des feuilles très épineuses, des capitules de fleurs jaunes ne dépassant pas 2 cm de diamètre (figure 3b), des tiges épaisses, des rameaux très feuillés et une taille variant de 10 à 20 cm [34].

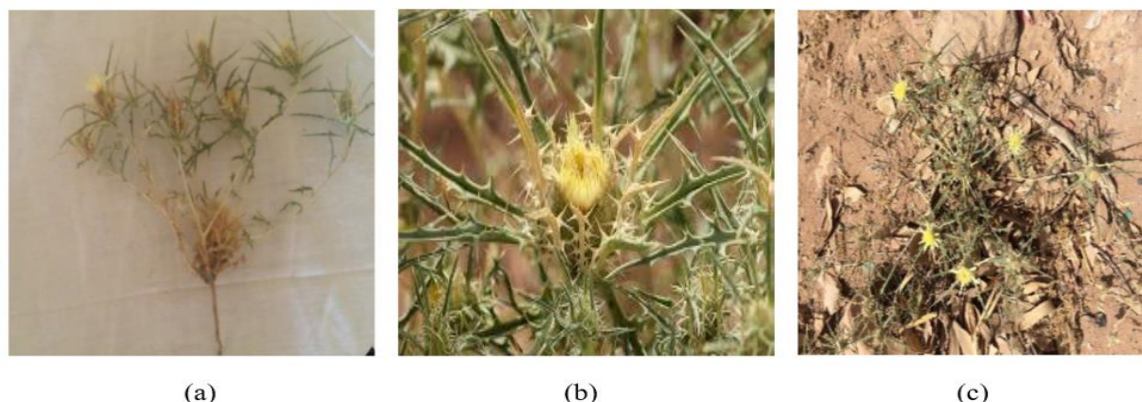


Figure 3: Différents aspects *Atractylis carduus*

Famille : Astéracées

Espèce : *Atractylis carduus* ou *Atractylis flava* Desf (ou *Atractylis cancellatus* (Forsk.))

Nom en anglais : yellow quenouille thistle

Nom arabe : chouik jalwa (شويك جلوة) chouk el-djamel (شوك الجمل) jalwa chawkiya (جلوة شوكية)

Nom berbère : asannane awraghe te Kasma

II.4. Origine d'*Atractylis carduus*

Publiée pour la première fois en Égypte, elle est également présente dans plusieurs régions [34]:

- Afrique du Nord : Algérie, Tunisie, Libye, Maroc (Sahara).
- Moyen-Orient : Arabie saoudite, Yémen, Oman.
- Asie du Sud-Ouest : Irak, Iran, Pakistan, Afghanistan.
- Présence discutée : sud de l'Espagne et Jordanie.

Le genre *Atractylis* est reconnu pour sa richesse en métabolites secondaires. Les premières études réalisées sur l'espèce *Atractylis carduus* (*A. flava*) en Égypte ont permis l'isolement de plusieurs métabolites, notamment des flavonoïdes triterpéniques [35]. Parmi les flavonoïdes identifiés en 1992 sur l'espèce *carduus*, on compte la lutéoline, l'apigénine, la quercétine et leurs dérivés glycosidiques.

En 2016, une étude a démontré que *Atractylis carduus* contient 30 composés appartenant à différentes classes de métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les triterpènes, les stéroïdes et les saponines [36].

II.5. Activité biologique d'*Atractylis carduus*

Une étude égyptienne menée sur les parties aériennes d'*A. carduus* a montré que ces extraits exercent une activité antibactérienne contre des bactéries Gram-positives (*Staphylococcus*) et Gram-négatives (*Klebsiella pneumoniae*) [36]. Par ailleurs, une étude tunisienne a mis en évidence que l'extrait acétate d'éthyle d'*Atractylis serratuloides* est actif contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* [37].

Un extrait des racines de la plante *Atractylodes japonica* a un effet antimicrobien surtout sur *Staphylococcus aureus* [37].

Une autre étude en Algérie a montré que les extraits éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle, n-butanol de la plante entière *Atractylis flava* Desf. Possèdent une activité antioxydante et une activité modérée sur *Staphylococcus aureus* [36].

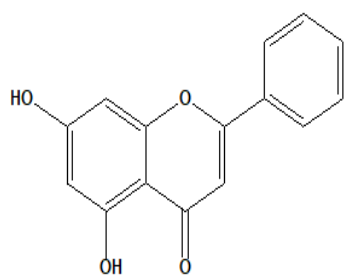
II.6. Principaux flavonoïdes isolés du genre *Atractylis*

Le genre *Atractylis* est une source riche en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes. Ces métabolites secondaires sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires [38]. Plusieurs études phytochimiques ont permis d'isoler et d'identifier une variété de flavonoïdes à partir de différentes espèces d'*Atractylis*, dont *A. flava*, *A. gummifera*. Les structures chimiques de ces composés sont présentées dans la **Figure 3**, tandis que le **Tableau 10** résume quelques flavonoïdes isolés avec leurs sources biologiques et références bibliographiques [39].

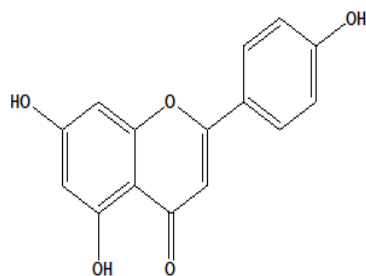
II.7. Utilisation en médecine traditionnelle

Les plantes *Atractylis* ont été utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les troubles circulatoires et tumoraux, l'hépatite, les parasitoses intestinales, les intoxications liées aux morsures de serpent, ainsi que les ulcères.

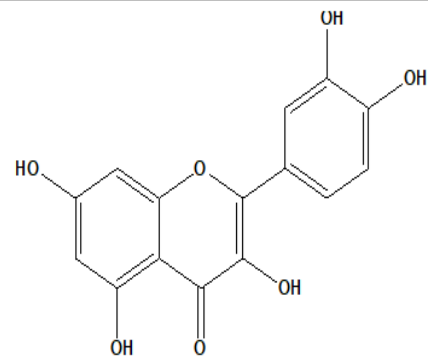
Atractylis gummifera L : connue sous le nom de chardon à glu (addad) en Algérie. *Atractylis gummifera* connue pour être toxique en usage interne à cause de ses propriétés narcotiques [40], La racine séchée sert à stopper les hémorragies et pour faciliter l'accouchement. Cette plante est utilisée dans la pharmacopée traditionnelle, surtout pour le traitement de diverses maladies telles que psoriasis, les ulcères syphilitiques et l'épilepsie [41], et réputée par ses propriétés antipyrétiques, émétique, diurétique et comme vermifuge [42][43].



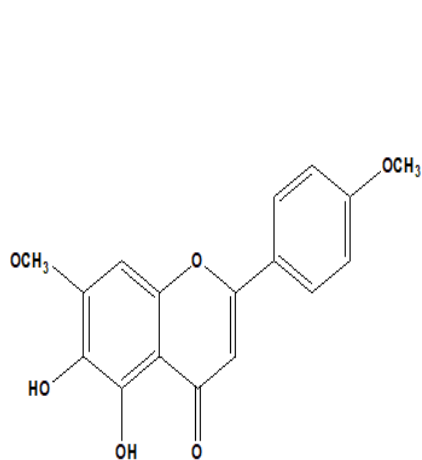
1



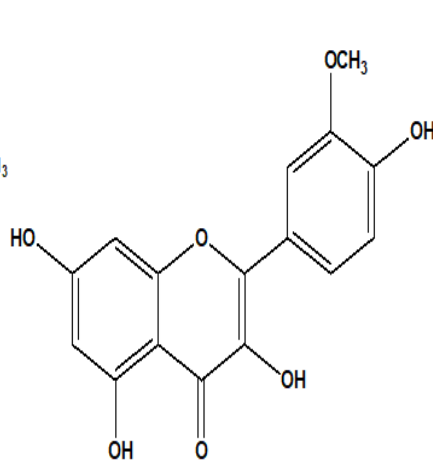
2



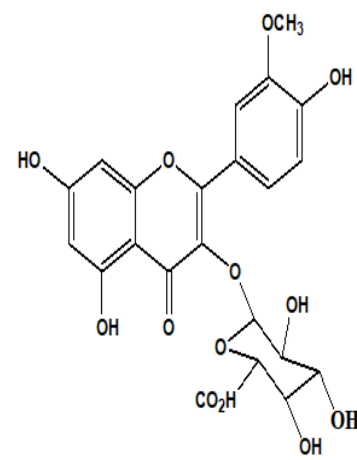
3



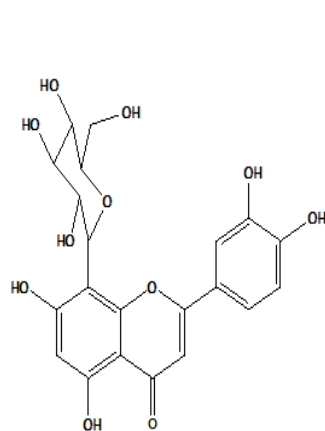
4



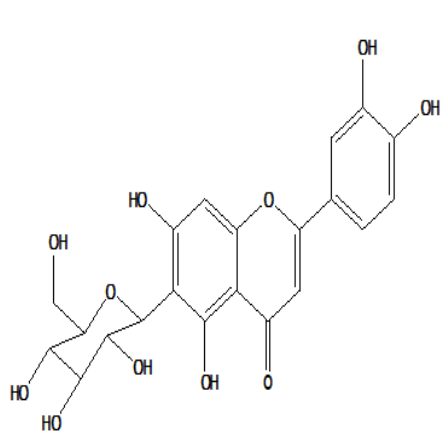
5



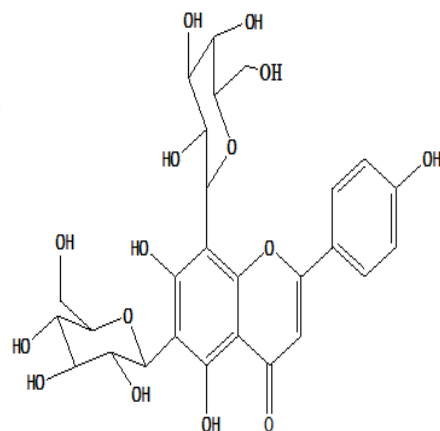
6



7



8



9

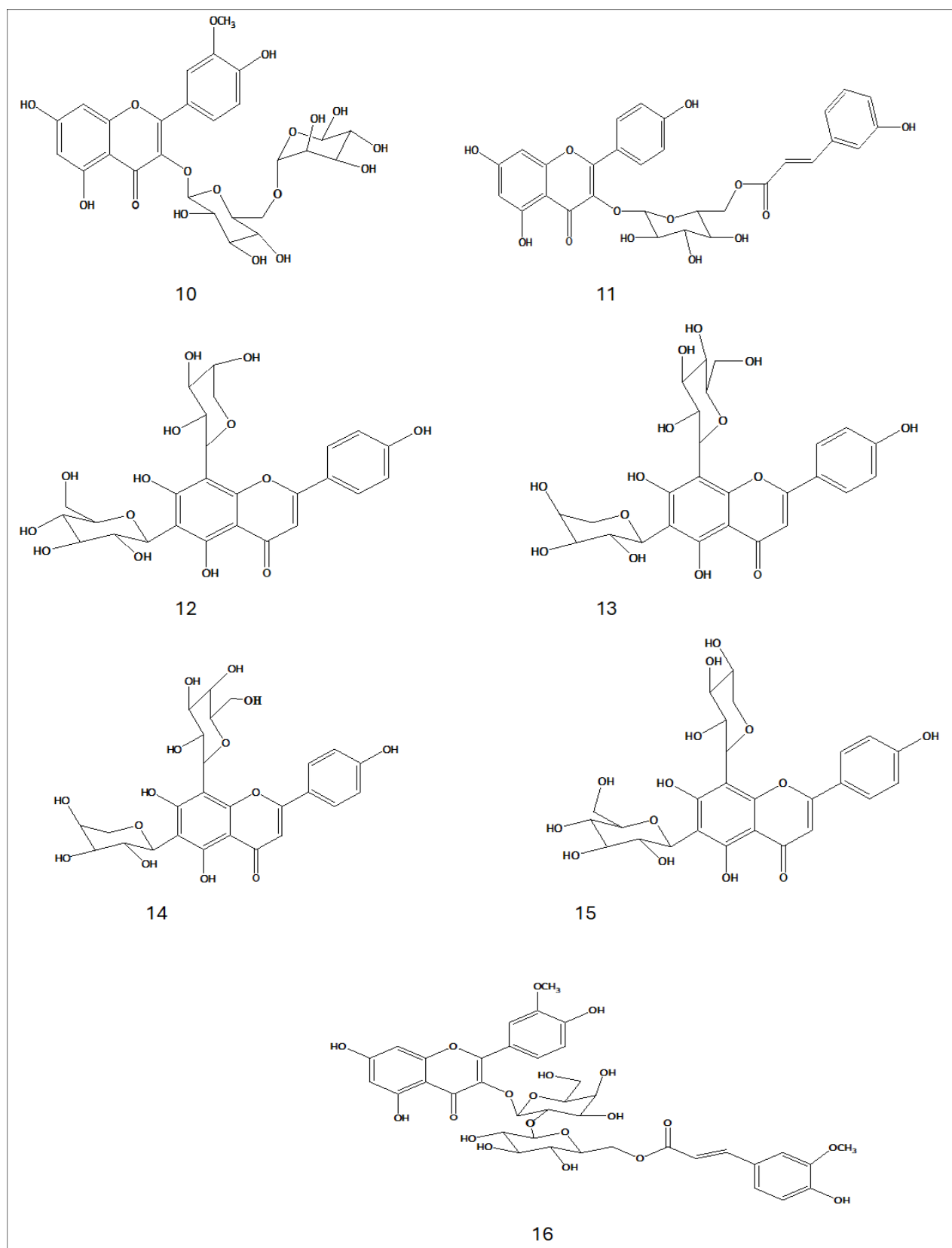
Figure 4: Structures des flavonoïdes isolés du genre *ATRACTYLIS* [40]

Tableau 10: flavonoïdes isolés du genre *ATRACYLIS* [40]

N°	Composés	Source biologique	Références
13	Isoschaftoside	<i>A. gummifera</i>	[45]
14	Neocorymboside		
4	Ladanéine q		[37]
5	Isorhamnétine		[36]
3	Quercétine		[46] [36]
1	Chrysine	<i>A. flava</i>	[44]
2	Apigénine		
6	Isorhamnétine-3- <i>O</i> -glucuronide		
7	Orientine		[45]
15	Vicenine 3	<i>A. flava</i>	[46]
16	Atraflavoside B		[46]
9	Isorhamnétine-3- <i>O</i> -robinobioside	<i>A. flava</i>	[37]
10	Tiliroside		[46]
11	Narcissine		[46] [36]
12	Schaftoside		[46] [36]
8	Isoorientine		[37]

Chapitre III

Matériels et méthodes

Les travaux expérimentaux dans le cadre de cette étude ont été effectués au Laboratoire de Chimie 1, Faculté des Sciences et de la Technologie, Université de Ghardaïa.

III.1. Matériels et produits

Tableau 11:matériels et réactifs utilisés dans l'étude

Solvants et réactifs	Verrerie	Appareils
- Le matériel végétal - Méthanol à 80% - Eau distillée - Chloroforme <i>n</i>-Butanol <i>n</i>-Hexane - Acétate d'éthyle	- Béchers - Flacons en verre - Entonnoir - Ampoule à décanter - Papier filtre (<i>Whatman</i>) - Tiges en verre - Éprouvettes graduées - Pipettes	- Broyeur - Balance de précision - Évaporateur rotatif (<i>Rotavapor</i>) - Spectrophotomètre UV-Vis - Agitateur magnétique - Spectromètre de masse SM - Spectromètre RMN 1D et 2D (Résonance Magnétique Nucléaire - RMN)

III.2. Chimie structurale

L'élucidation des structures de molécules organiques fait généralement appel à l'association de plusieurs méthodes spectroscopiques, telles que la spectrométrie de masse, la spectroscopie infrarouge ainsi que la RMN du proton (^1H) et du carbone (^{13}C). Ces techniques permettent d'obtenir rapidement les informations clés nécessaires à la détermination structurale.

III.2.1. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La RMN représente une méthode spectroscopique fondamentale dans l'analyse structurale des molécules. Elle est principalement employée pour déterminer la structure des composés organiques. Parmi les noyaux les plus couramment analysés figuraient le proton ^1H , le carbone ^{13}C , le phosphore ^{31}P et l'azote ^{15}N [46] .

III.2.1.1 Principe [47]

Cette technique est basée sur le phénomène de magnétisation des noyaux atomiques. Les noyaux de ces atomes possèdent un moment magnétique nucléaire, ce qui les fait se comporter comme de petits aimants caractérisés par une grandeur quantique appelée « spin ». La RMN

examine le comportement de ces noyaux en présence d'un champ magnétique externe. Ce champ provoque un dédoublement des niveaux d'énergie du spin nucléaire, permettant l'induction de transitions par absorption d'un rayonnement électromagnétique approprié.

Les échantillons se dissolvent dans un solvant deutéré, tel que le méthanol, le chloroforme ou la pyridine, qui présentent des déplacements chimiques spécifiques. Le tube contenant l'échantillon se soumet au champ magnétique, ce qui génère des spectres exploitables pour l'élucidation structurale (Figure 5).



III.2.2. RMN monodimensionnelle (RMN – 1D)

III.2.2.1. RMN proton (^1H)

Le spectre RMN du proton représente une méthode puissante pour la détermination structurale des composés organiques inconnus. Il fournit des informations essentielles, telles que les différents types d'hydrogènes présents dans la molécule analysée en fonction de leur environnement électronique, le nombre d'hydrogènes voisins d'un proton donné, ainsi que le déplacement chimique caractéristique de chaque proton[48].

III.2.2.2. RMN carbone (^{13}C)

Dans cette expérience, chaque atome de carbone occupant un environnement unique génère une crête distincte sur le spectre. Cette technique révèle généralement l'ensemble des carbones de la molécule. L'analyse repose sur les déplacements chimiques observés, qui dépendent de

l'environnement de chaque atome de carbone. Elle permet de distinguer les carbones primaires CH_3 , secondaires CH_2 , tertiaires CH et, dans une moindre mesure, les carbones quaternaires[50].

III.2.2.3. DEPT 135° et Jmod [50]

Le spectre DEPT-135 (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) : est une technique plus sensible et plus rapide que les autres méthodes de RMN du carbone¹³. Il repose sur le transfert de polarisation des protons vers les atomes de carbone afin d'améliorer l'intensité des signaux. Dans ce spectre, les signaux des carbones CH et CH_3 apparaissent orientés vers le haut (signaux positifs), tandis que les carbones CH_2 apparaissent orientés vers le bas (signaux négatifs). Les carbones quaternaires, ne portant aucun hydrogène, ne sont pas observés dans le spectre.

Le J-MOD (J-Modulated Spin-Echo) est également une technique de RMN ¹³C unidimensionnelle reposant sur une séquence d'écho de spin modulée par le couplage scalaire J. Contrairement au DEPT, cette technique permet d'observer tous les types de carbones, y compris les carbones quaternaires. Les carbones CH et CH_3 donnent des signaux positifs, alors que les carbones CH_2 et les carbones quaternaires donnent des signaux négatifs.

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

III.2.3. RMN bidimensionnelles (RMN 2D) [51]

Les expériences de RMN 2D reposent sur une succession de trois intervalles temporels : le temps de préparation, le temps d'évolution et le temps de détection. Dans certains cas, une période de mixage s'ajoute avant la détection.

III.2.3.1. Corrélations homonucléaires

- **COSY (1H – 1H)** : Cette expérience révèle les couplages scalaires 2J et 3J (entre protons séparés par deux ou trois liaisons), c'est-à-dire entre protons voisins ou adjacents.
- **NOESY (1H – 1H)** : Cette technique observe les corrélations spatiales entre protons d'une même molécule via les effets Overhauser.

III.2.3.2. Corrélations hétéronucléaires

- **HSQC (1JH-C)** : Elle met en évidence les couplages chimiques entre carbones et protons directement liés. Elle ne détecte toutefois pas les déplacements chimiques des carbones quaternaires.
- **HMBC (2JH-C, 3JH-C)** : Cette méthode résout les limitations précédentes en détectant les couplages à longue distance 2JHC, 3JH-C et permet d'identifier les carbones quaternaires couplés aux protons.

III.2.4. La spectroscopie UV [52]

Les techniques de spectroscopie UV-visible (figure 6) sont des méthodes analytiques basées sur l'interaction entre la matière et le rayonnement ultraviolet et visible. Elles permettent d'obtenir des informations sur la nature chimique des composés ainsi que sur leurs propriétés physico-structurales et optiques.

III.2.4.1. Le principe

Repose sur le fait que chaque fonction chimique ou groupement chromophore absorbe la lumière à des longueurs d'onde spécifiques, ce qui permet l'identification et la caractérisation des molécules. Cette technique est largement utilisée en analyse qualitative et quantitative en chimie. De plus, la mesure de l'absorbance dans le domaine UV-visible permet de déterminer la composition d'un mélange en la comparant à des échantillons de référence.

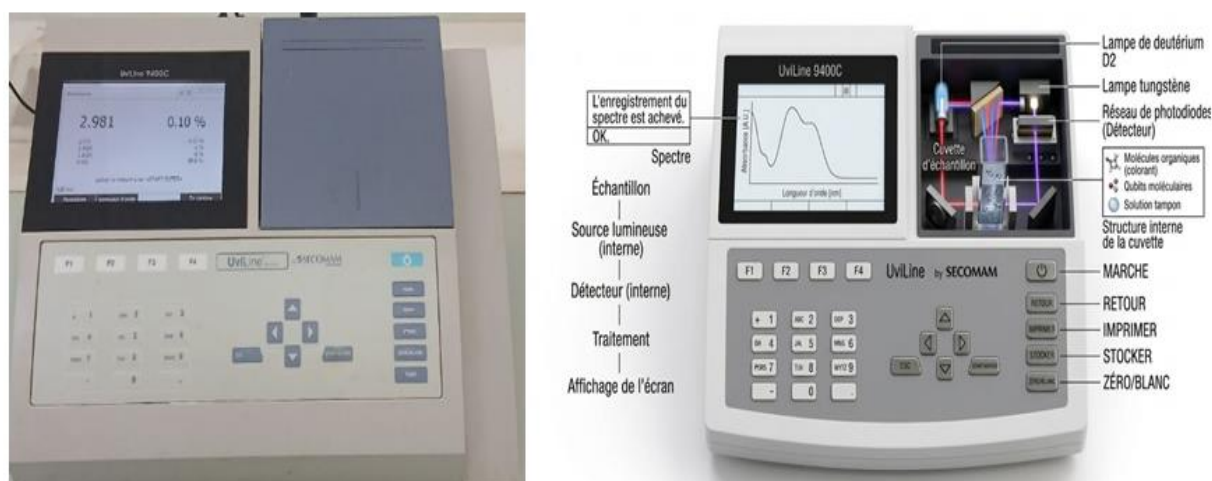


Figure 6:Appareil de spectrophotométrie UV-Visible (UviLine) et son schéma descriptif interne[adaptée].

III.2.5. La spectrométrie de masse (SM) [52]

La spectrométrie de masse (SM) constitue une méthode de détection d'une grande sensibilité, permettant de déterminer la masse moléculaire d'un composé pur ou d'obtenir des données structurales grâce à l'analyse des fragments ioniques produits (Figure7).

III.2.5.1. Principe

Son principe repose sur l'ionisation des molécules introduites dans l'appareil. L'ion moléculaire ainsi formé permet la détermination de la masse molaire du composé. Des ruptures de liaisons chimiques peuvent survenir au sein de cet ion, générant des ions fragments caractéristiques, car cette dissociation suit des mécanismes bien définis et non aléatoires. L'ensemble de ces ions constitue le spectre de masse, dont l'analyse révèle la structure moléculaire.

Les méthodes d'ionisation les plus couramment utilisées incluent :

- **L'électro spray ou ionisation par électro-nébulisation (ESI) :** ionisation douce des molécules en solution.
- **L'ionisation par impact électronique (IE) :** bombardement par électrons provoquant la fragmentation.
- **L'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) :** ionisation à pression atmosphérique pour composés peu polaires.
- **Le bombardement par atomes rapides (FAB) :** bombardement par atomes rapides pour composés peu volatils.

Dans la technique FAB, l'ion moléculaire n'apparaît pas toujours. On observe généralement l'ion correspondant au poids moléculaire augmenté d'un proton ($[M+H]^+$). D'autres ions adduits se forment en présence d'impuretés salines ou par addition de chlorure de sodium ($[M+Na]^+$) ou de chlorure de potassium ($[M+K]^+$). Ces données permettent de déduire le poids moléculaire du composé étudié.

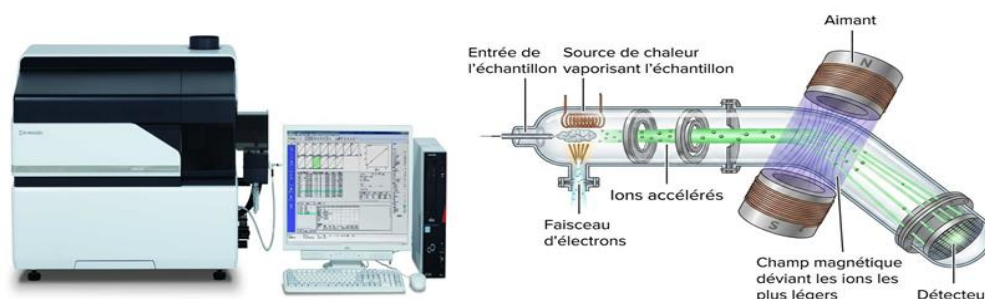


Figure 7: Dispositif expérimental et schéma de fonctionnement d'un spectromètre de masse[57].

III.3. Chimie extractive

Les méthodes chromatographiques sont largement utilisées pour la séparation, l'identification et la purification des composés chimiques. Elles comprennent plusieurs techniques telles que la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie sur colonne.

III.3.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM) [53]

La chromatographie sur couche mince (CCM) (figure 8) est une technique de séparation rapide et simple, utilisée pour révéler les constituants d'un mélange et suivre l'avancement des réactions chimiques. Elle repose sur l'utilisation d'une fine couche de matériau adsorbant (tel que le gel de silice) déposée sur une plaque en verre, en plastique ou en métal.

III.3.1.1. Principe

La CCM repose sur la capillarité et la différence d'affinité des composés entre la phase mobile (le solvant) et la phase stationnaire (la couche adsorbante). Les substances migrent à des vitesses différentes selon leur adsorption sur la couche mince, permettant leur séparation en taches distinctes, révélées sous UV ou à l'aide d'un réactif approprié.

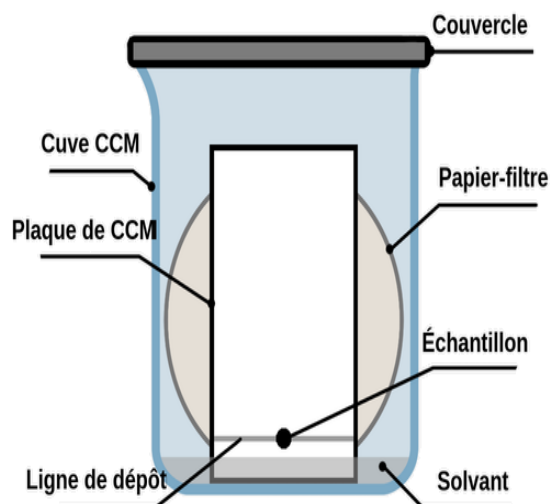


Figure 8: Dispositif expérimental pour le développement d'une plaque de CCM[40].

III.3.2. Chromatographie sur colonne [54]

La chromatographie sur colonne (figure 9) est une technique de séparation des constituants d'un mélange basée sur la différence de leur affinité entre une phase stationnaire solide et une phase mobile liquide ou gazeuse qui traverse une colonne remplie de matériau adsorbant.

III.3.2.1. Principe

Le principe repose sur la migration différentielle des composés à travers une colonne contenant une phase stationnaire. Les molécules les plus retenues par la phase stationnaire migrent lentement, tandis que celles ayant une plus grande affinité pour la phase mobile sont éluées plus rapidement.

III.3.2.2. Types de chromatographie sur colonne utilisés

Dans ce travail, nous avons utilisé trois types de chromatographie sur colonne :

- **Chromatographie sur colonne classique** : séparation des composés par gravité selon leur affinité entre phase stationnaire (silice/alumine) et phase mobile.
- **Chromatographie sur gel de Sephadex LH-20** : utilisée pour la séparation des composés phénoliques et des métabolites secondaires selon la taille et l'affinité.
- **Chromatographie sur silice (flash)** : technique rapide utilisant une légère pression pour accélérer la séparation sur une phase stationnaire en silice.

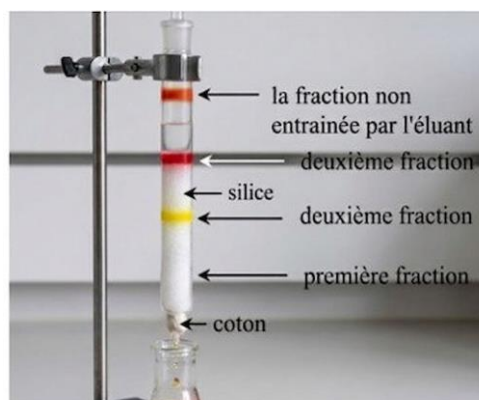


Figure 9:Chromatographie de Colonne[59]

Chapitre IV

Partie expérimentale

IV. Étude phytochimique de l'espèce *Atractylis Carduus*

IV.1. Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude a été récolté dans la région de Ghardaïa (figure 10), près de la commune de Daïa Ben Dahoua (figure 11), wilaya de Ghardaïa (Algérie), située sur la route nationale N°147, à environ 11 km au sud-ouest de la ville de Ghardaïa, au mois de Mai.



Figure 10 : Localisation de la wilaya de Ghardaïa en Algérie.

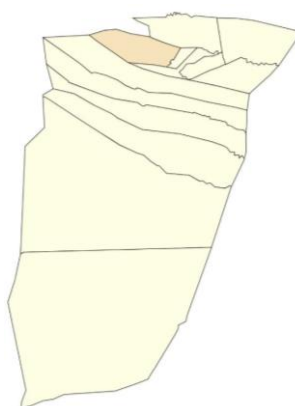


Figure 11 : Localisation de Daïa Ben Dahoua dans la wilaya de Ghardaïa.

IV.2. Préparation du matériel végétal :

La préparation du matériel végétal comprend plusieurs étapes successives : la récolte, le séchage, le découpage, le broyage et enfin la conservation.

Selon ces étapes, nous avons préparé notre échantillon végétal comme suit :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des parties aériennes de la plante *Atractylis carduus* (figure12), notamment les feuilles et les fleurs. Après la récolte, les échantillons ont été laissés à sécher à l'ombre, à température ambiante, dans un endroit aéré pendant une semaine (7 jours).



Figure 12 :la plante *Atractylis carduus*

Une fois séchée, la matière végétale a été découpée à l'aide de ciseaux puis broyée. La poudre obtenue a été conservée à température ambiante, dans un endroit sec, à l'abri de l'humidité et de la lumière.

IV.3. Extraction de la plante

L'extraction de la plante a été réalisée en deux étapes :

- ✓ Extraction à partir du matériel végétal (extraction solide - liquide)
- ✓ Fractionnement de l'extrait obtenu (extraction liquide- liquide).

IV.3.1. Extraction solide/liquide

La macération est une technique d'extraction qui consiste à mettre une plante ou une partie de la plante dans un solvant aqueux ou hydroalcoolique pendant plusieurs heures.

Selon cette méthode, nous avons procédé comme suit :

- On a utilisé 300g de matière végétale, parties aériennes (fleurs et feuilles) d'*Atractylis carduus*.
- On a employé un mélange hydroalcoolique (méthanol/eau) 70/30 (v/v) pendant 48 heures à température ambiante (figure 13 a).
- On a filtré le mélange sur papier filtre après macération ; on a répété cette opération deux fois avec renouvellement du solvant (figure 13 b).

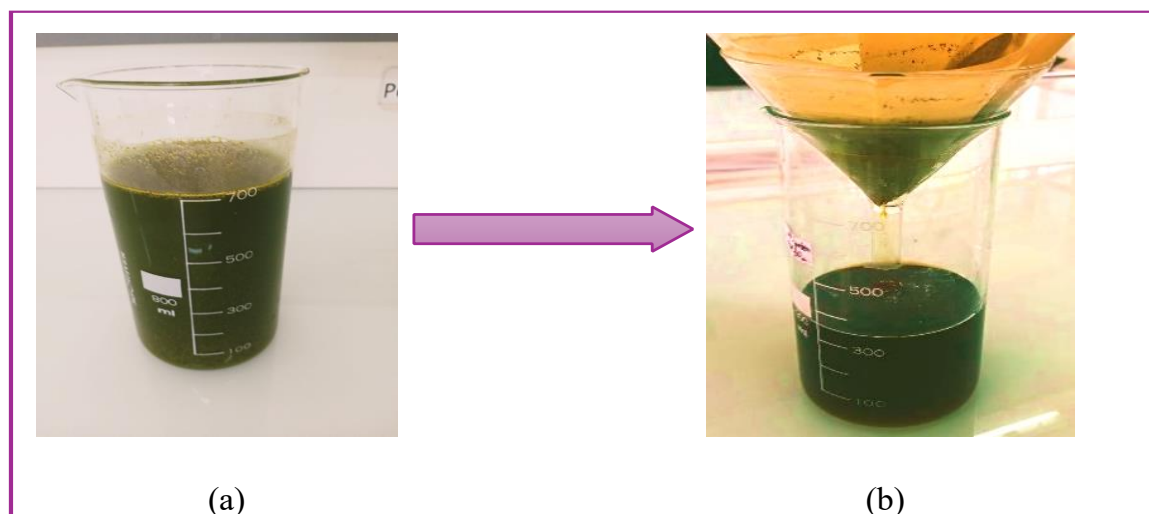


Figure 13: Étapes de macération (a) et de filtration (b) de la plante *Atractylis Cardous*.

L'extrait brut obtenu a été mis à une autre extraction type liquide / liquide par des solvants différents.

IV.3.2. Extraction liquide/liquide

L'extraction liquide/liquide est une technique de séparation basée sur la différence de solubilité des composés entre deux phases liquides non miscibles. Cette opération a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Réalisation d'extractions successives dans une ampoule à décanter de 500 mL en commençant par l'éther de pétrole, suivi de chloroforme puis du n-butanol.l,
- Répétition de l'opération deux fois pour chaque solvant en utilisant un volume correspondant au tiers du volume de la phase aqueuse.
- Mélange des phases aqueuse et organique puis repos pendant au moins 20 minutes jusqu'à l'obtention de deux phases bien séparées (figure 14).



Figure 14: Étapes de l'extraction liquide-liquide successive dans une ampoule à décanter.

On a traité les trois phases organiques recueillies (éther de pétrole, chloroforme, *n*-butanol) avec une petite quantité de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) pour éliminer les traces d'eau, puis on les a filtrées. On a évaporé les solvants à une température n'excédant pas 35°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavape) et on les a pesés. Les masses obtenues étaient :

- Masse de l'extrait éther de pétrole = 2 g
- Masse de l'extrait chloroformique = 3 g
- Masse de l'extrait *n*-butanol = 4 g

Le rendement d'extraction est calculé selon la relation suivante :

$$R\% = \frac{m_{\text{extrait}}}{m_0} \times 100$$

R (%) : le rendement en (%).

m_{extrait} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g).

m_0 : la masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

- Le rendement de l'extrait éther de pétrole = 0,66%
- Le rendement de l'extrait chloroformique = 1%
- Le rendement de l'extrait *n*-butanol = 1,33%

L'ensemble des étapes de cette étude, comprenant l'extraction solide-liquide initiale suivie du fractionnement liquide-liquide séquentiel, est résumé dans le schéma suivant :

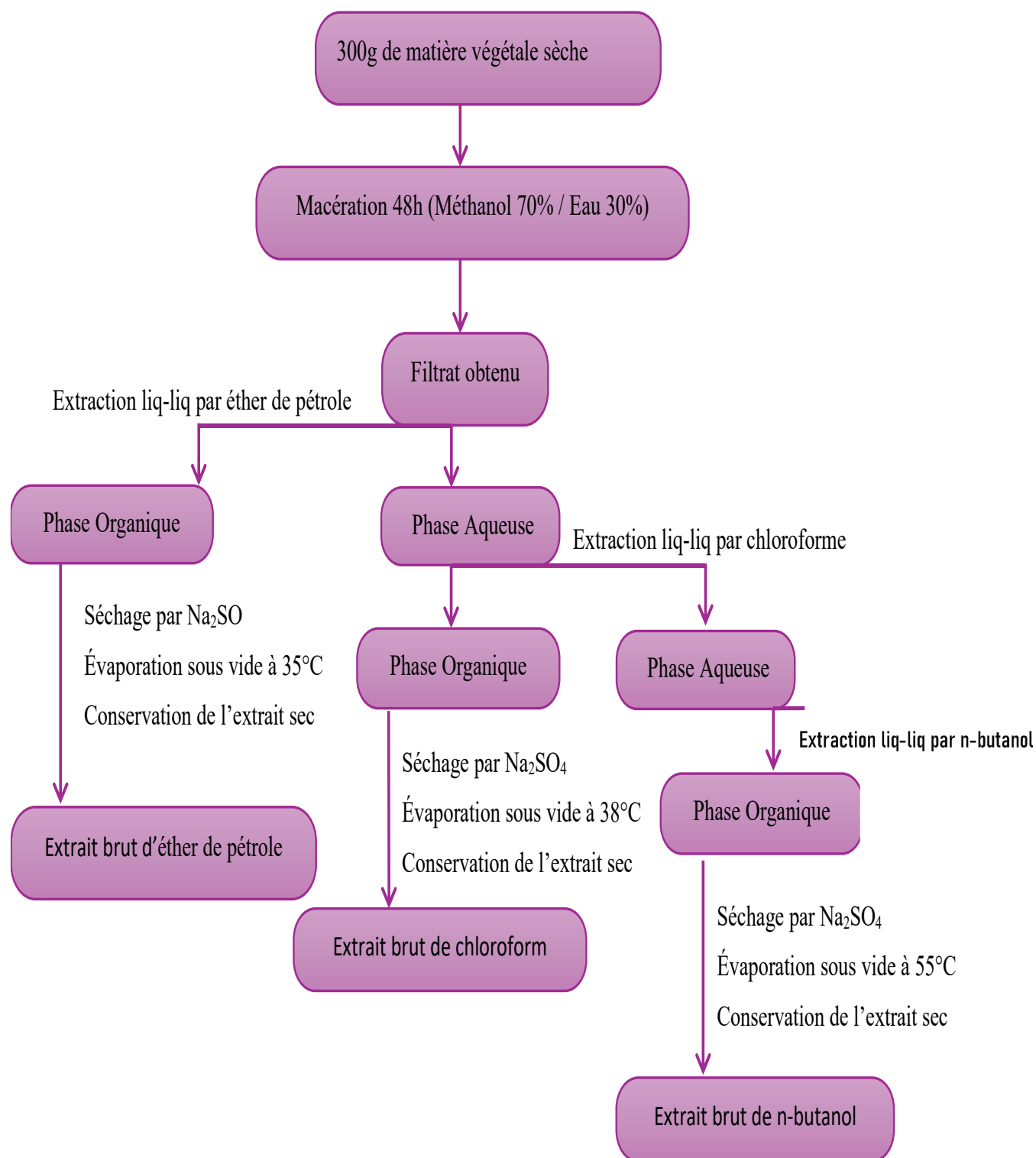


Figure 15: Protocole de préparation de différents extraits de la partie *Atractylis Carduus*.

IV.4. Séparation et purification de l'extraie

IV.4.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique utilisée pour la séparation et l'identification des composés chimiques. Les analyses ont été effectuées en phase normale sur des plaques d'aluminium Silica gel Kieselgel 60 F254 (Merck).

Cette opération a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Préparation de la cuve chromatographique par introduction du système éluant constitué d'un mélange de chloroforme et de méthanol, puis saturation en vapeur de solvant après fermeture de la cuve.
- Traçage d'une ligne de dépôt à environ 1,5 cm du bord inférieur de la plaque chromatographique.
- Dépôt d'environ 0,5 μL de chaque échantillon à l'aide d'une micropipette sous forme de taches d'environ 2 mm de diamètre, avec séchage rapide après chaque dépôt.
- Placement de la plaque dans la cuve contenant l'éluant puis fermeture de la cuve afin de permettre le développement du chromatogramme.
- Arrêt de la chromatographie lorsque le front du solvant atteint environ 1 cm de l'extrémité supérieure de la plaque.
- Séchage du chromatogramme à l'air libre.
- Observation des plaques sous lampe UV.

Dans le cadre de notre étude, une analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur trois extraits en utilisant différents systèmes d'élution afin d'optimiser les conditions de séparation. L'extrait chloroformique a été retenu pour la suite des travaux en raison de sa richesse en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes (figure 16). Cette étape préliminaire a permis de sélectionner le système d'élution le plus approprié avant de procéder à la séparation par chromatographie sur colonne.

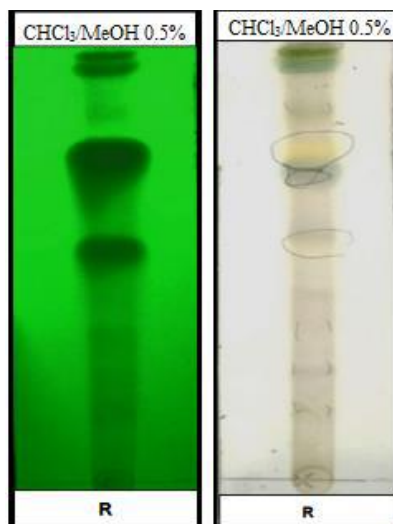


Figure 16: Chromatogramme sur couche mince de l'extrait au chloroforme (Révélation sous UV et en lumière visible).

IV.4.2. Séparation chromatographique sur colonne

La chromatographie à colonne ouverte (CC) est une technique de séparation basée sur la gravité terrestre, largement utilisée en chimie organique.

Les phases stationnaires utilisées au cours des différentes opérations de séparation et de purification sont : une silice Kieselgel Merck (230-400 Mesh), en phase normale.

Cette opération a été réalisée selon les étapes suivantes :

- On a placé un morceau de coton légèrement imbibé de n-hexane au fond de la colonne VLC.
- Après, on a introduit le gel de silice sous forme de suspension (slurry) dans le n-hexane, puis on a appliqué le vide pour assurer un compactage optimal et homogène de la phase stationnaire.
- Ensuite, on a dissous 3g d'extrait chloroformique et on a effectué un dépôt rigoureux et uniforme à la surface de la phase stationnaire.
- Après cela, on a procédé à la séparation par élution sous vide en utilisant un gradient de polarité croissante : n-Hexane/AcOEt, puis AcOEt/MeOH.
- Ensuite, on a collecté les fractions dans des tubes séparés, puis on a effectué un contrôle par CCM afin de regrouper les fractions contenant des métabolites identiques, lesquelles fractions ont été rassemblées dans le tableau suivant (tableau12) :

Tableau 12:: Rassemblement des différentes fractions de la VLC de l'extrait de chloroforme

Fraction	Fraction collectées	Observation sur CCM
F1	1- 4	2 Taches + traînée
F2	5	4 Taches + traînée
F3	6	Traînée
F4	7-8	2 Taches + traînée
F5	9	1 Taches + traînée
F6	10	2 Taches + traînée
F7	11	Traînée
F8	12-13	Traînée
F9	14-18	3 Taches + traînée
F10	19-20	2 Taches + traînée
F11	21-24	2 Taches + traînée
F12	25	3 Taches + traînée

IV.4.3. Fractionnement et purification de l'extrait chloroformique

La fraction F10 (100 mg) est chromatographiée sur une colonne de gel de silice en utilisant comme éluant un mélange de chloroforme/méthanol (Figure 17). La purification de cette fraction a été effectuée selon le tableau suivant, et les fractions similaires récupérées ont été regroupées en 10 sous-fractions (Tableau 13).



Figure17: Dispositif de chromatographie liquide sous vide (VLC).

Tableau 13: Purification de la fraction F10 et regroupement des sous-fractions.

Fraction	Fractions collectées	Masse en mg	Système d'élution% CHCl₃/MeOH
F1	1-6	2	CHCl ₃ (100%)
F2	7-10	0,8	CHCl ₃ – MeOH 99,5/0,5
F3	11	3,9	CHCl ₃ – MeOH 99,5/0,5
F4	12-14	52,8	CHCl ₃ – MeOH 99,5/0,5
F5	15-30	25,5	CHCl ₃ – MeOH 99,5/0,5
F6	31-48	6,4	CHCl ₃ – MeOH 99/1
F7	49-66	4,6	CHCl ₃ – MeOH 95/5
F8	67	0,8	CHCl ₃ – MeOH 90/10
F9	68	2	CHCl ₃ – MeOH 50/50
F10	69	0,9	MeOH 100%

IV.4.4. Étude de la fraction F-4

Après l'obtention de la sous-fraction F4 (52,8 mg), un processus de purification par précipitation a été réalisé dans un système binaire de solvants (CHCl₃/MeOH), permettant d'isoler un composé pur sous forme d'un dépôt solide de 1,3 mg. La pureté de ce composé a été rigoureusement contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM) dans un système d'élution ((CHCl₃/MeOH) :95/5%), révélant une tache unique et nette (Figure 18).



Figure 18 : CCM du composé pur obtenu de F4($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 95-5%)

Le composé se présente sous la forme d'une poudre jaune. Après révélation à l'aide d'une solution acide suivie d'un chauffage, il développe une coloration jaune.

IV.5. Techniques et condition d'analyses spectroscopiques

Ainsi purifié et stabilisé, ce composé est parfaitement préparé pour subir les analyses spectroscopiques d'élucidation structurale, notamment la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN 1D et 2D) pour cartographier son squelette carboné et ses protons, ainsi que la Spectrométrie de Masse (SM) pour déterminer sa masse moléculaire exacte et sa formule brute.

IV.5.1. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres RMN de résonance magnétique nucléaire RMN ^1H et ^{13}C sont enregistrés sur un appareil BRUKER à 600,17 MHz pour 1D et 150,93 MHz avec le TMS comme référence. À chaque fois, le solvant deutéré employé pour dissoudre les produits en vue de la réalisation des spectres est spécifié. Pour ce faire, la procédure expérimentale d'introduction de l'échantillon et de l'enregistrement des spectres a été menée selon les étapes successives suivantes :

- Choix d'un solvant deutéré approprié (CDCl_3 ou DMSO-d_6) puis dissolution complète de l'échantillon dans environ 0,6 mL, suivie d'une filtration dans un tube RMN standard (5 mm) afin d'éliminer les particules solides.
- Vérification d'une hauteur de liquide d'environ 4 cm, puis fixation du tube dans le spinner et réglage de sa profondeur à l'aide du gauge afin d'assurer le bon positionnement de l'échantillon dans le champ magnétique.

- Introduction du tube dans l'appareil Bruker à l'aide du système de levage pneumatique (lift), suivie de la descente progressive de l'échantillon dans l'aimant après arrêt du flux d'air.
- Réalisation du shimming et du lock afin d'homogénéiser le champ magnétique et stabiliser la fréquence du solvant avant l'enregistrement des spectres RMN monodimensionnels et bidimensionnels (^1H , ^{13}C , COSY, HSQC et HMBC).

IV.5.2 Spectroscopie de masse (MS)

Les spectres de masse de basse résolution en mode ESI-MS sont acquis par ionisation electrospray (ESI) à l'aide des spectromètres Thermofinnigan MSQ et Micromasse Q-TOF, et sont exprimés en rapport m/z .

Le protocole expérimental pour la préparation et l'injection de l'échantillon a été réalisé selon les étapes suivantes :

- Dissolution de l'échantillon en quantité micrométrique dans un solvant HPLC (MeOH), suivie de dilutions successives pour obtenir une concentration très faible (ppm) afin d'éviter le colmatage du système.
- Injection par infusion directe à l'aide d'une seringue en verre de précision (gastight), puis fixation sur une pompe d'infusion automatique reliée au spectromètre de masse par un capillaire fin.
- Réglage d'un débit faible et constant (quelques $\mu\text{L}/\text{min}$) pour assurer une introduction régulière de la solution vers la source ESI.
- Génération des ions à la source ESI sous l'effet d'un champ électrique élevé et d'un flux d'azote, puis analyse du rapport m/z dans un analyseur de masse (Q-TOF ou MSQ) et enregistrement du spectre.

Chapitre V

Résultats et discussion

V. Elucidation structurale du composé

Le spectre UV-Visible montre deux bandes caractéristiques des flavones (figure 19) : la bande I à $\lambda_{\max} = 348$ nm (cycle B) et la bande II vers 267 nm avec un épaulement à 250 nm (cycle A).

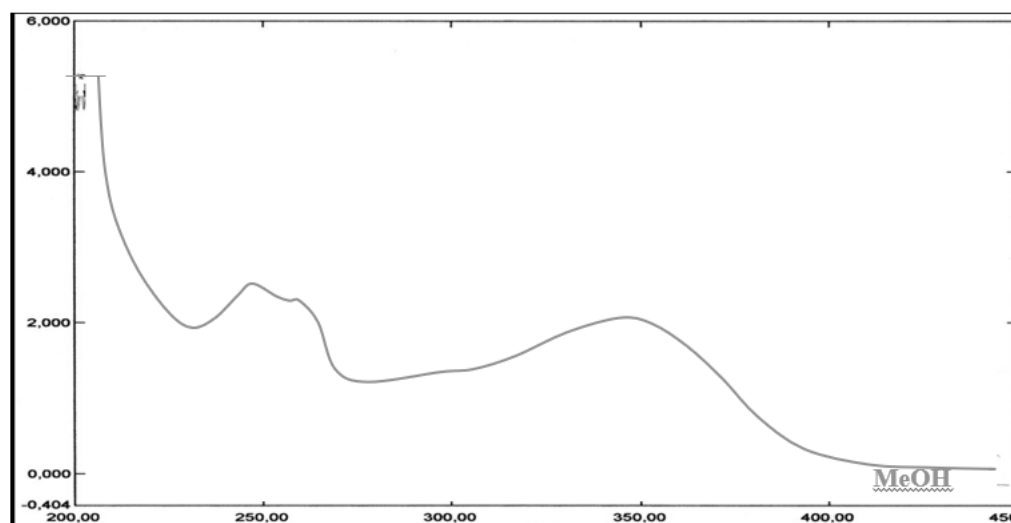


Figure 19 Spectre UV-Visible du composé purifié

Le spectre de masse (figure 20) fait apparaître un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 309 $[M+K]^+$, compatible avec la formule brute $C_{15}H_{10}O_5$.

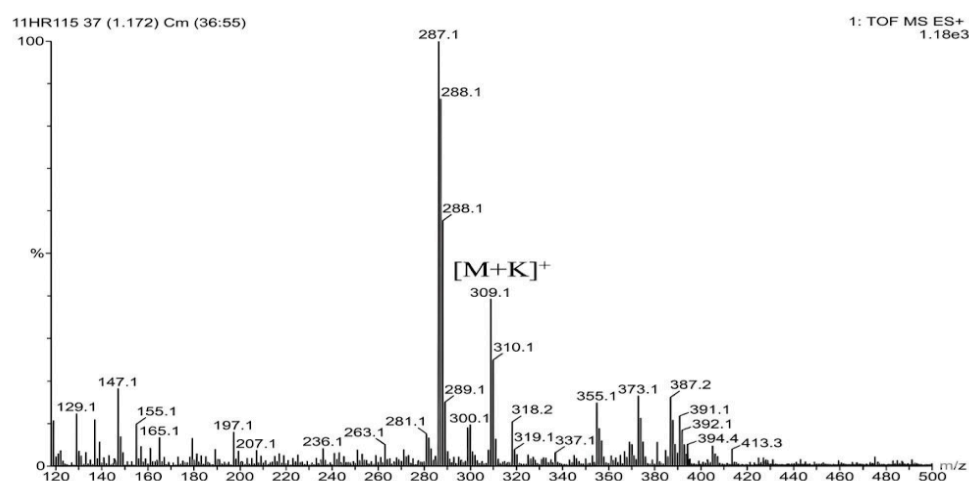


Figure 20: Spectre de masse ESI-MS du composé

La détermination de la structure du composé s'appuie essentiellement sur l'interprétation des spectres RMN 1H et ^{13}C , complétée par une confrontation des résultats avec des données bibliographiques. L'examen du spectre RMN 1H (Figure 17) met en évidence :

- Deux doublets, chacun intégrant deux protons, apparaissant à δH 7,40 (d, $J = 8,8$ Hz) et δH 6,90 (d, $J = 8,8$ Hz), attribués aux protons H-2'/H-6' et H-3'/H-5' du noyau B d'un flavonoïde substitué en position 4'.
- Deux larges signaux singulets à δH 6,21 et δH 6,49, assignés respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A.
- Un singulet à δH 6,59, caractéristique d'un proton oléfinique H-3 typique des flavones.

Le spectre RMN ^{13}C (Figure 21) révèle la présence de 15 atomes de carbone.

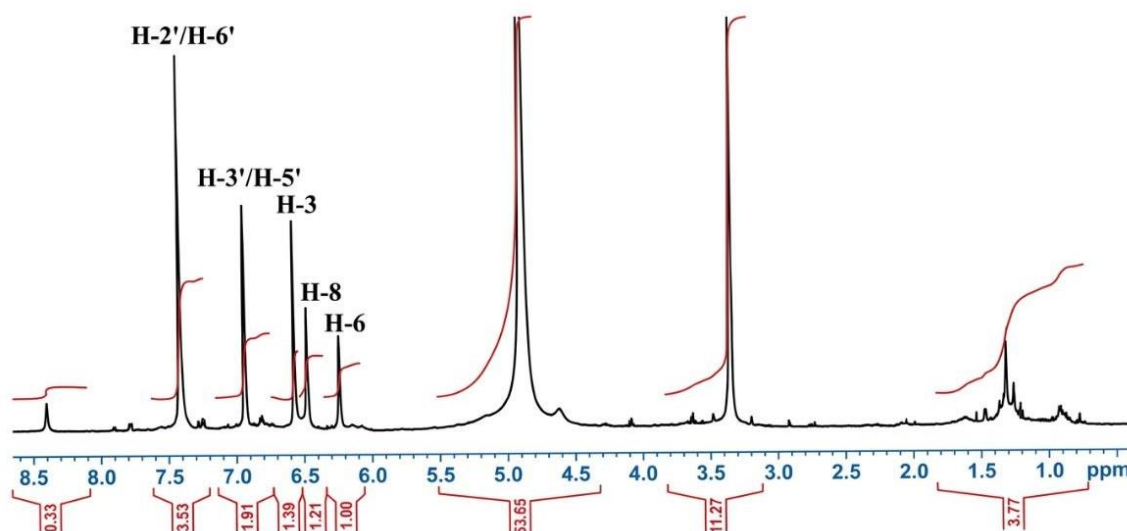


Figure 21 :specter RMN 1H

Le spectre RMN ^{13}C (Figure 22) met en évidence un total de 15 signaux carbonés. Parmi ceux-ci, huit correspondent à des carbones quaternaires observés aux déplacements chimiques δC 164,6 (C-2), 182,4 (C-4), 161,8 (C-5), 164,9 (C-7), 149,5 (C-9), 103,9 (C-10), 122,3 (C-1') et 158,0 (C-4'). Les sept autres signaux sont attribués à des carbones méthioniques (CH), localisés à δC 102,4 (C-3), 98,7 (C-6), 93,5 (C-8), 127,5 (C-2'/C-6') ainsi qu'à 115,3 (C-3'/C-5').

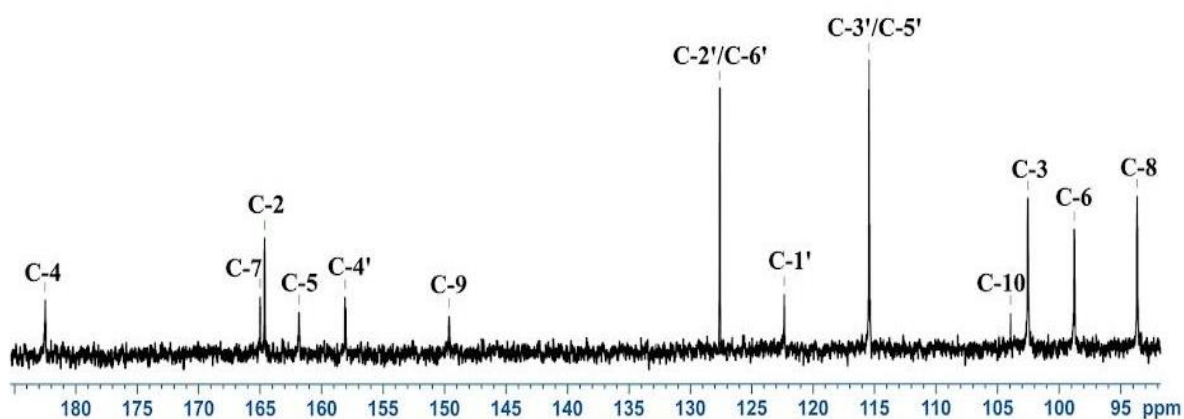
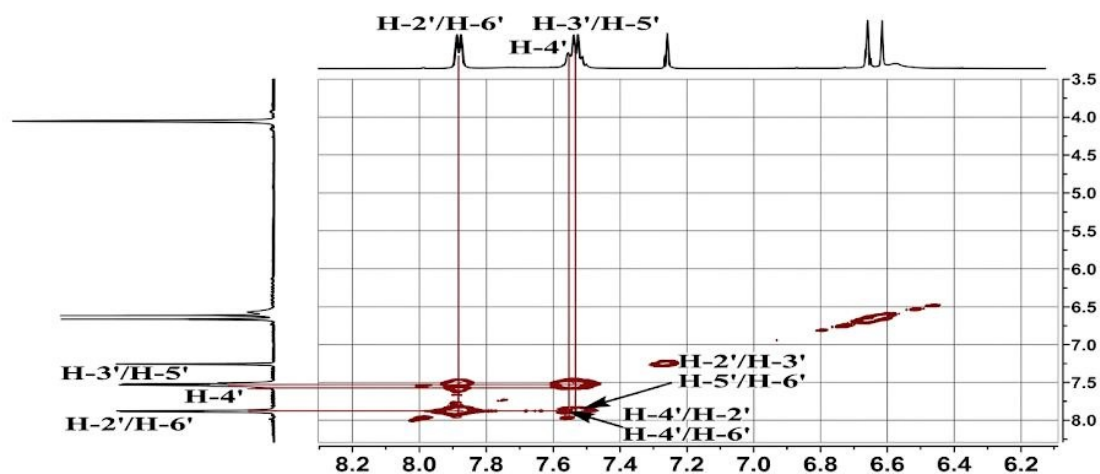
Figure 22 : Spectre RMN ^{13}C découplé

Figure 23 : Spectre COSY de la partie aromatique du composé

Un signal sous forme de singulet à $\delta\text{H} = 6,62$ ppm d'un cycle aromatique penta substitué (cycle A) attribuable au proton H-8 (Figure 24).

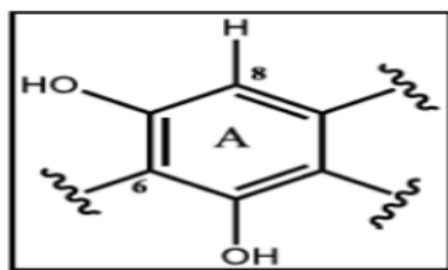


Figure 24 : Cycle A de composé A

Selon le spectre COSY, trois autres protons équivalents appartenant au second noyau aromatique (cycle B) résonant à 7,53 (m, 2H), 7,88 (m, 2H) et 7,55 (s, 1H) attribuables respectivement aux protons aromatiques (H-3', H-5'), (H-2', H-6') et H-4' (Figure 25).

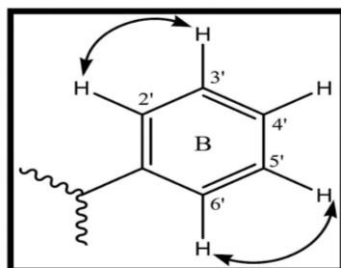


Figure 25 : Cycle B du composé A

Un autre signal apparaît à δ_H 6,66 sous forme d'un singulet correspondant à un proton. La corrélation observée en HSQC (Figure 26) avec un carbone résonant à δ_C 105,4 permet de l'attribuer au proton H-3. Les valeurs des déplacements chimiques ainsi que les différentes données spectrales recueillies confirment que la molécule isolée est un flavonoïde possédant une structure de type flavone.

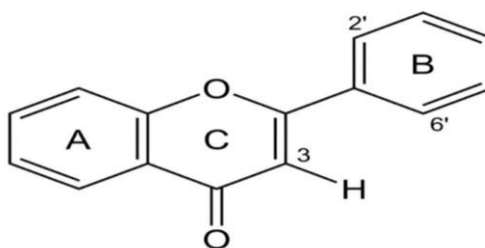
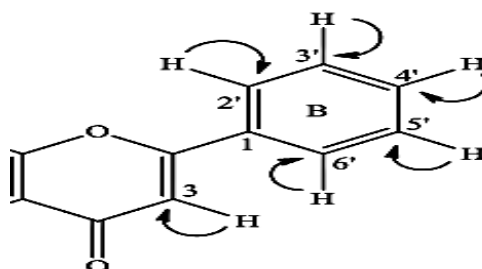


Figure 26 : Structure flavonoïde dérive du flavone

Leurs carbones sont détectés par expérience HSQC (Figure 27) à δ_C 126,4 (C-2', H-2'), δ_C 129,2 (C-3', H-3'), δ_C 132,0 (C-4', H-4'), δ_C 129,2 (C-5', H-5') et δ_C 126,4 (C-6', H-6') et δ_C 105,4 (C-3, H-3).



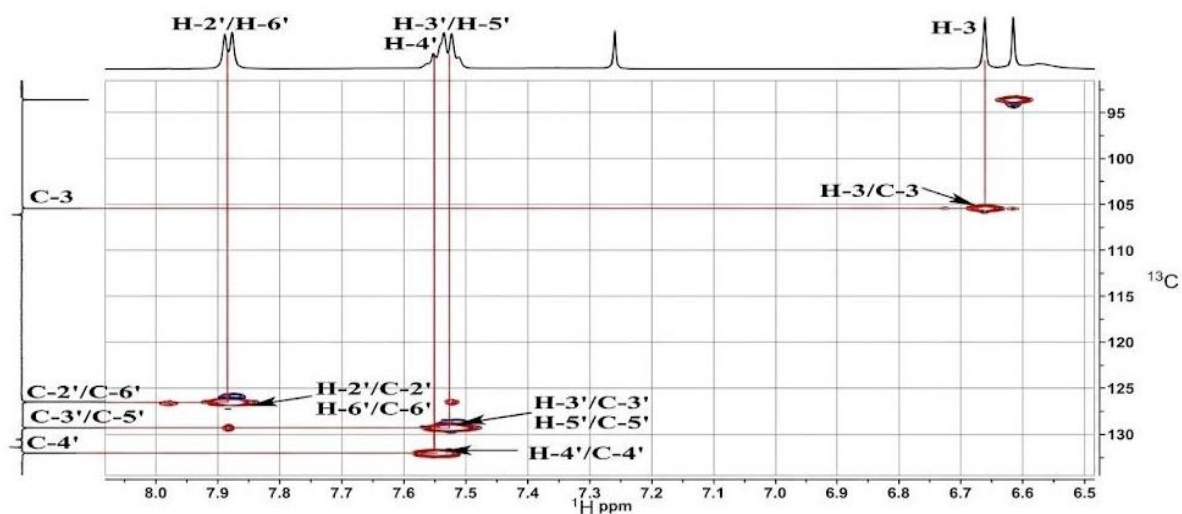


Figure 27 : Spectre HSQC J-modulé

L'analyse structurale du composé A peut débuter par le signal du proton H-8 (6,62 ppm) du noyau A qui corrèle sur le spectre HSQC avec son carbone résonant à 93,8 ppm (Figure 28).

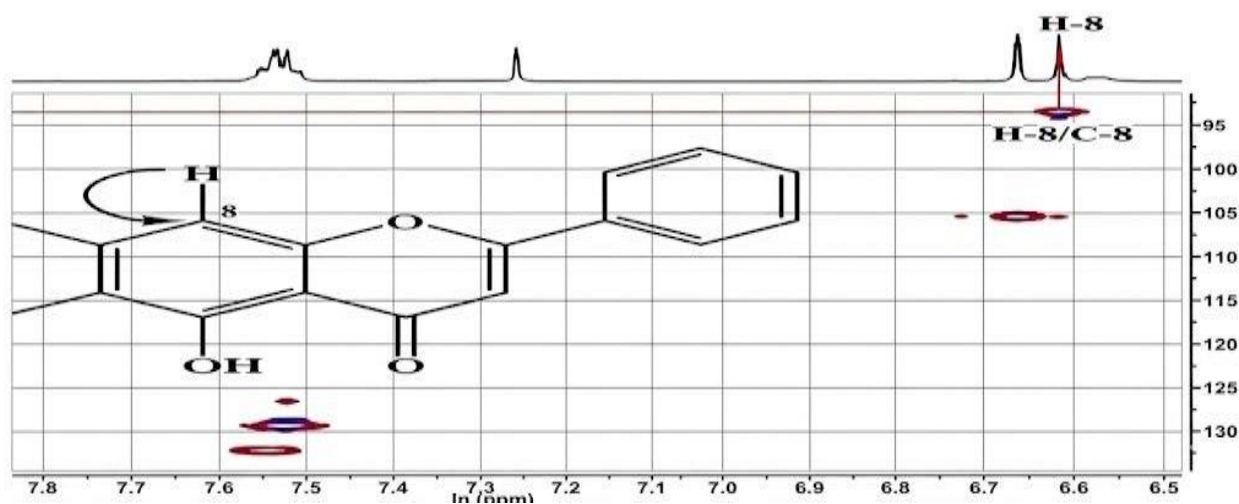


Figure 28 : Spectre HSQC J-modulé

Le proton H-8 déjà identifié corrèle dans l'expérience HMBC en 3J avec un carbone aromatique quaternaire résonant à 106,1 ppm attribuable au carbone C-10, un carbonyle (183,2 ppm, C-4), et un carbone oxygéné résonant à 130,5 ppm (C-6). Le déplacement chimique de ce dernier confirme qu'il est porteur d'un oxygène. (Figure 29).

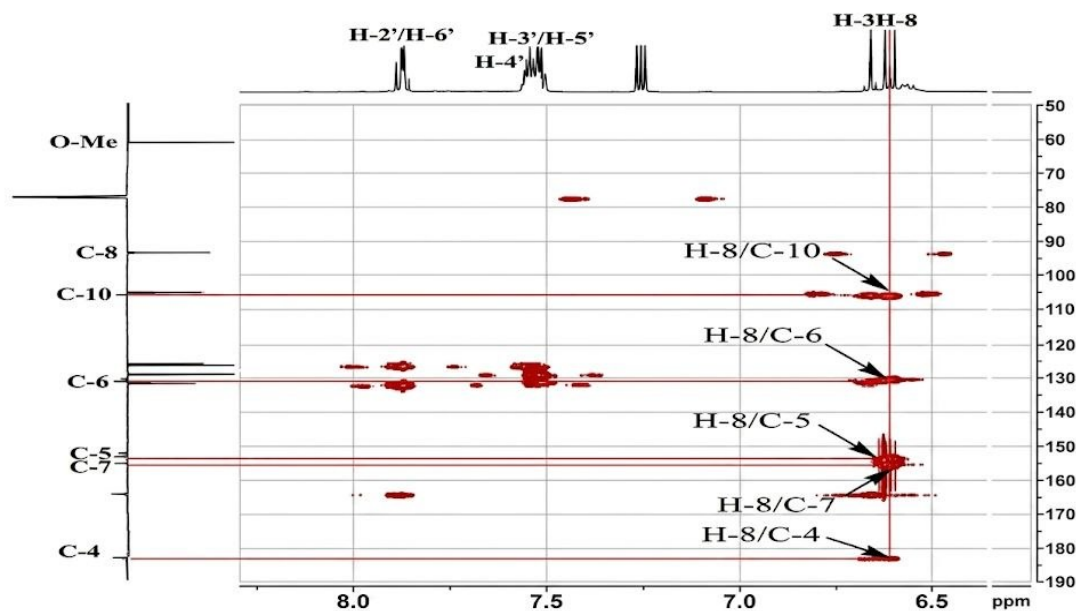


Figure 29 : Spectre HMBC

Sur la base des résultats spectroscopiques obtenus (Tableau 14), la structure proposée pour le composé étudié correspond à la 4',5,7-trihydroxyflavone (apigénine). Cette substance a déjà été identifiée dans plusieurs espèces végétales, notamment *Chresta scapigera* (Asteraceae) [58] et *Halophila johnsonii* (Hydrocharitaceae) [59]. Les études publiées lui attribuent différentes activités biologiques, parmi lesquelles des propriétés antiallergiques [60] ainsi qu'un potentiel anticancéreux.

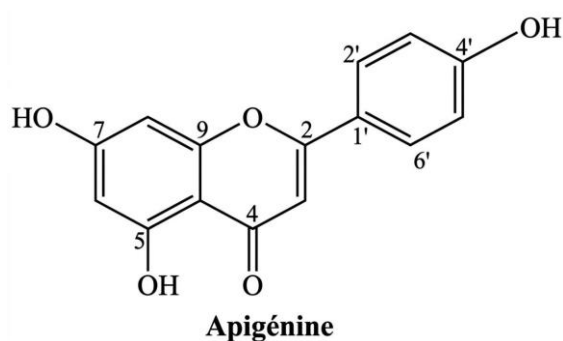


Tableau 14: Déplacements chimiques RMN ^1H et ^{13}C du composé dans CD_3OD

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (m, J en Hz)
2	164,6	-
3	102,4	6,59 (s)
4	182,4	-
5	161,8	-
6	98,7	6,21 (s)
7	164,9	-
8	93,5	6,49 (s)
9	149,5	-
10	103,9	-
1'	122,3	-
2'	127,5	7.40 (d. 8.8)
3'	115,3	6.90 (d. 8.8)
4'	158,0	-
5'	115,3	6.90 (d. 8.8)
6'	127,5	7.40 (d. 8.8)

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail a été consacré à l'étude phytochimique de la plante *Atractylis Carduus* ainsi qu'à l'isolement et l'élucidation structurale d'un flavonoïde par RMN multi-impulsionnelle.

L'étude expérimentale réalisée a permis l'extraction des métabolites secondaires à partir des parties aériennes de la plante, suivie par différentes étapes de séparation et de purification utilisant des méthodes chromatographiques adaptées.

Les analyses spectroscopiques UV, RMN 1D et 2D ainsi que la spectrométrie de masse (MS) ont permis de confirmer la structure du composé isolé et de déterminer ses principales caractéristiques structurales. L'interprétation des différents spectres a permis de mettre en évidence le squelette flavonoïdique du composé étudié ainsi que les corrélations proton–proton et proton–carbone obtenues par les expériences bidimensionnelles.

L'ensemble des données spectroscopiques obtenues a conduit à l'identification du composé isolé comme étant : Apigénine.

Cette étude met en évidence l'importance des techniques spectroscopiques modernes, notamment la RMN multi-impulsionnelle, dans l'élucidation structurale des substances naturelles. Elle souligne également l'intérêt phytochimique de la plante étudiée et contribue à la valorisation des ressources naturelles.

Enfin, ce travail peut constituer une base scientifique pour des recherches ultérieures portant sur l'isolement d'autres composés naturels et l'étude de leurs propriétés biologiques.

Références

Bibliographiques

- [1] M. T. Ben Moussa, "Les Flavonoïdes", Département de pharmacie, Laboratoire de pharmacognosie, Université de Batna 2.
- [2] I. V. Bartish, N. Jeppsson, H. Nybom, et U. Swenson, "Phylogeny of hippophae (elaegnaceae) inferred from parsimony analysis of chloroplast dna and morphology", *Syst. Bot.*, vol. 27, n° 1, pp. 41–54, 2002.
- [3] K. Ghedira, "Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique", *"Phytothérapie"*, vol. 3, n° 4, pp. 162–169, août 2005, doi: 10.1007/s10298-005-0096-8.
- [4] Elise Emeraux, "Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante", 2019.
- [5] O. M. ed Reda et P. Malek Rassoul Yacine Al Hillo Pr, "Elaboration d'un programme de calcul des structures chimiques des composés organiques," Magister, 2005.
- [6] B. H. Havsteen, "The biochemistry and medical significance of the flavonoids, " *Pharmacol. Ther.*, vol. 96, n° 2–3, pp. 67–202, nov. 2002, doi: 10.1016/S0163-7258(02)00298-X.
- [7] A. Crozier, I. B. Jaganath, et M. N. Clifford, "Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health", *Nat. Prod. Rep.*, vol. 26, n° 8, pp. 1001–1043, 2009, doi: 10.1039/b802662a.
- [8] S. Kumar et A. K. Pandey, "Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview", *The Scientific World Journal*, vol. 2013, 2013, doi: 10.1155/2013/162750.
- [9] Jean. Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Lavoisier tec & Doc, 2016.
- [10] H. Doloking, N. Tahar, Mukhriani, et Surya Ningsi, "Flavonoids: A review on extraction, identification, quantification, and antioxidant Activity", *Ad-Dawaa' Journal of pharmaceutical Sciences*, vol. 5, n° 1, août 2022, doi: 10.24252/djps.v5i1.29329.
- [11] J. B. Harborne, Éd, *The flavonoids: Advances in research since 1980*. Boston, MA: Springer US, 1980. doi: 10.1007/978-1-4899-2913-6.
- [12] National center for biotechnology information, "Flavones and flavonols: PubChem classification and chemical properties", PubChem.
- [13] National center for biotechnology information, "Flavanones and dihydroflavanols compound Summary", PubChem.
- [14] National center for biotechnology information, "Structural characteristics of flavan-3-ols and anthocyanidols", PubChem.

- [15] S. Chen, X. Wang, Y. Cheng, H. Gao, et X. Chen, “A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids”, *molecules*, vol. 25, n° 13, juil. 2023, doi: 10.3390/molecules28134982.
- [16] National center for biotechnology information, “Chemistry and structure of chalcones and aurones”, PubChem.
- [17] W. B. Eyton, W. D. Ollis, I. O. Sutherland, O. R. Gottlieb, M. Taveira Magalhães, et L. M. Jackman, “The neoflavanoid group of natural products—I”, *Tetrahedron*, vol. 21, n° 9, pp. 2683–2696, janv. 1965, doi: 10.1016/S0040-4020(01)93924-9.
- [18] National center for biotechnology information, “Isoflavonoids and neoflavonoids: Classification and data”, PubChem.
- [19] T. T. H. Dao, H. J. M. Linthorst, et R. Verpoorte, “Chalcone synthase and its functions in plant resistance”, *Phytochemistry reviews*, vol. 10, n° 3, pp. 397–412, sept. 2011, doi: 10.1007/s11101-011-9211-7.
- [20] A. Lhuillier, “Contribution à l’étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae)”.2007 [En ligne]. Disponible sur: <https://ut3-toulouseinp.hal.science/tel-04622191v1>
- [21] M. M. Cowan, “Plant product as antimicrobial agents”, 1999.
- [22] V. Bankova, “Chemical diversity of propolis and the problem of standardization”, *J. Ethnopharmacol.*, vol. 100, n° 1–2, pp. 114–117, août 2005, doi: 10.1016/j.jep.2005.05.004.
- [23] A. Tapas, D. Sakarkar, et R. Kakde, “Flavonoids as nutraceuticals: A review”, *Tropical journal of pharmaceutical research*, vol. 7, n° 3, sept 2008, doi: 10.4314/tjpr.v7i3.14693.
- [24] R. J. Nijveldt, E. van Nood, D. E. van Hoorn, P. G. Boelens, K. van Norren, et P. A. van Leeuwen, “Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications”, *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 74, n° 4, pp. 418–425, oct. 2001, doi: 10.1093/ajcn/74.4.418.
- [25] J. V. Formica et W. Regelson, « Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids », “Food and chemical toxicology”, vol. 33, n° 12, pp. 1061–1080, déc. 1995, doi: 10.1016/0278-6915(95)00077-1.
- [26] N. E. Daoudi, O. Bouziane, M. Bouhrim, et M. Bnouham, « Natural aldose reductase inhibitors for treatment and prevention of diabetic cataract: A review », *Herba Polonica*, vol. 68, n° 1, pp. 35–58, mars 2022, doi: 10.2478/hepo-2022-0002.
- [27] K. Brusselmans, E. De Schrijver, W. Heyns, G. Verhoeven, et J. V. Swinnen, “Epigallocatechin-3-gallate is a potent natural inhibitor of fatty acid synthase in intact

- cells and selectively induces apoptosis in prostate cancer cells”, *Int. J. Cancer*, vol. 106, n° 6, pp. 856–862, oct. 2003, doi: 10.1002/ijc.11317.
- [28] A. N. Panche, A. D. Diwan, et S. R. Chandra, “Flavonoids: an overview”, *J. Nutr. Sci.*, vol. 5, p. e47, déc. 2016, doi: 10.1017/jns.2016.41.
- [29] A. Aharoni et A. P. O’Connell, “Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthetic pathway”, *J. Exp. Bot.*, vol. 53, n° 377, pp. 2073–2087, oct. 2002, doi: 10.1093/jxb/erf026.
- [30] J. Peterson et J. Dwyer, “Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity”, vol. 18, n° 12, pp. 1995–2018, déc. 1998, doi: 10.1016/S0271-5317(98)00169-9.
- [31] P. C. H. Hollman et M. B. Katan, “Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability”, *Food and Chemical Toxicology*, vol. 37, n° 9–10, pp. 937–942, sept. 1999, doi: 10.1016/S0278-6915(99)00079-4.
- [32] K. R. Markham, *Techniques of flavonoid identification*, Academic Press. 1982.
- [33] B. Harkati, “Contribution à l’étude phytochimique et de l’activité biologique de quelques plantes de la famille des Asteraceae,” Batna, algerie, 2011.
- [34] N. Mezache, “Etude de la composition chimique et de l’activité biologique de quelques extraits de la plante *Atractylis serratuloides*,” Université mentouri de constantine, constantine, Algérie, 2010.
- [35] L. Wang, T. L. Hagemann, H. Kalwa, T. Michel, A. Messing, and M. B. Feany, “Early evolution of the daisy family (Asteraceae) based on island biogeography,” *Nat. Commun.*, vol. 6, no. 1, p. 8966, Nov. 2015, doi: 10.1038/ncomms9966.
- [36] P. Quézel and S. Santa, *Nouvelle flore de l’algérie et des régions désertiques et méridionales*, Éditions du CNRS., vol. 2. PARIS, 1963.
- [37] P. Ozenda, *Flore et végétation du sahara*, 3ème édition. PARIS : CNRS éditions, 2004.
- [38] R.-L. Desfontaines, *Flora atlantica: sive historia plantarum, quae in atlante, agro Tunetano et algeriensi crescunt*, vol. 2. PARIS : Blanchon, 1799.
- [39] S. Malek, M. Abdel-Alaa, J. S. Mossa, and M. I. Nassar, “Flavonoids and triterpenoids from *Atractylis cancellata* L,” *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 33, no. 3–4, 1992.
- [40] Salah Chabani, Catherine Lavaud, Mohammed Benkhaled, Dominique Harakat, and Lakhdar Abed, “Three new oleanane-type triterpene saponins from *atractylis flava*,” *Phytochem. Lett.*, vol. 15, pp. 88–93, 2016.

- [41] Mohamed Bouaziz, Abdelkafi Dhouib, Sami Loukil, Mohamed Boukhris, and Sami Sayadi, “ Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of tunisia,” *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 8, no. 24, 2009.
- [42] M. A. Melakhessou, N. Benkiki, and S. E. Marref, “ Determination of antioxidant Capacity, Flavonoids and total phenolic content of extracts from *Atractylis flava* Desf.,” *Research Journal of Pharmacy and Technology*, vol. 11, pp. 5221–5227, 2018.
- [43] S. Chabani, H. ; Haba, C. Lavaud, M. Benkhaled, and D. Harakat, “Flavonoid glycosides and triterpenoids from *Atractylis flava* Flavonoid glycosides and triterpenoids from *Atractylis flava*,” *Phytochem. Lett.*, vol. 6, no. 1, pp. 9–13, 2013.
- [44] B. Duran, S. Gursoy, M. Cetin, N. Demirkoprulu, Y. Demirel, and B. Gurelik, “*Atractylis gummifera* L. poisoning: an experience of the tunis poison control center.,” *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, vol. 42, no. 5, pp. 663–666, Jan. 2004, doi: 10.1081/CLT-200026966.
- [45] J. Bellakhdar, *La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires.*, 1st ed. PARIS, 1997.
- [46] S. Skalli and Rachida. Soulaymani, “Toxicity of *Atractylis gummifera* L. : A review.,” *J. Ethnopharmacol.*, 2009.
- [47] A. Tahraoui, J. El-Hilaly, Z. H. Israili, and B. Lyoussi, “Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province),” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 110, no. 1, pp. 105–117, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.jep.2006.09.011.
- [48] A. Chaboud, J. Raynaud, and P. Debourlieu, “Flavonoids of *daphne gnidium*,” *Planta Med.*, vol. 54, no. 06, pp. 563–563, Dec. 1988, doi: 10.1055/s-2006-962562.
- [49] S. Chabani, C. Lavaud, M. Benkhaled, D. Harakat, and L. Abed, “C-glycosylflavones from the aerial parts of *Atractylis flava* desf,” vol. 06, no. 04, 2013.
- [50] E. D. . Becker, *High resolution NMR : theory and chemical applications*. Academic Press, 2000.
- [51] L. M. JACKMAN, “Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy in organic chemistry,” in *Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy in organic chemistry*, Elsevier, 1969, pp. xiv–xv. doi:10.1016/B978-0-08-012542-8.50005-0.
- [52] Y.-Cheng. Ning and R. R. Ernst, “Structural identification of organic compounds with spectroscopic techniques”. Wiley-VCH, 2005.
- [53] T. J. Bruno and P. D. and Svoronos, “¹³C-NMR absorptions of major functional groups ”, CRC Taylor & Francis Place, 2012.

- [54] H. Fuwa, T. Goto, and M. Sasaki, "Stereocontrolled synthesis of the A/B-Ring fragment of gambieric Acid B: Reassignment of the absolute configuration of the polycyclic ether region," *Org. Lett.*, vol. 10, no. 11, pp. 2211–2214, Jun. 2008, doi: 10.1021/ol800642t.
- [55] Harald. Gunther, *NMR spectroscopy : an introduction*. Wiley, 1995.
- [56] Stefan. Bienz, Laurent. Bigler, Thomas. Fox, and H. Meier, "Spectroscopic methods in organic chemistry". Georg Thieme Verlag, 2021.
- [57] F. Rouessac and A. Rouessac, *Analyse chimique : "Méthodes et techniques instrumentales modernes"*, 7th ed. Paris: Dunod, 2021.
- [58] E. C. Schinor, M. J. Salvador, I. Y. Ito, and D. A. Dias, "Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolates constituents from *Chresta scapigera*," *Braz. J. Microbiol.*, vol. 38, pp. 145–149, 2007.
- [59] Y. Meng, A. J. Krzysiak, M. J. Durako, J. I. Kunzelman, and J. L. C. Wright, "Flavones and flavone glycosides from *Halophila johnsonii*," *Phytochemistry*, vol. 69, pp. 2603–2608, 2008.
- [60] J. Park, S. Hyunkim, and T. Sungkim, "Inhibition of interleukin-4 production in activated T cells via down-regulation of NF-AT DNA binding activity by Apigenin a flavonoid present in dietary plants," *Immunol. Lett.*, vol. 103, pp. 108–114, 2006.

Annexe



Approval for Final Printing of a Master's Dissertation

	Name and Surname	Signature
Examiner 1	Bencheikh Salah Eddine	
Examiner 2	/	
Supervisor	Benchadi Wassila	

I, the undersigned, Mr: Raache Imane

President of the jury for the student(s): ABD ENNABI Amel

Field: Chemistry; **Specialization:** Analytical Chemistry

Thesis Title: Elucidation structurale d'un flavonoïde par RMN multi-impulsionnelle

Hereby authorize the above-mentioned student(s) to print and submit their final manuscript to the department.

Ghardaia : 09/ 07/ 2026

President of the jury



Head of the department

نيس قسم التعليم المشترك
في العلوم والتكنولوجيا
شوية فيصل

