

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ ABOU-BEKR BELKAÏD – TLEMCEM



MÉMOIRE

Présenté à :

FACULTÉ DES SCIENCES – DÉPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : **CHIMIE PHARMACEUTIQUE**

Par :

M^{lle} HAMMOUDI AMINA

Sur le thème

Synthèse et évaluation de l'activité antioxydante de deux analogues de l'oxyde de carline

Soutenu publiquement le 25 juin 2019 à Tlemcen devant le jury composé de :

M ^R KAJIMA MULENGI JOSEPH	Professeur	Université de Tlemcen	Président
M ^{ME} AMEL BENSMAIN	Professeur	Université de Tlemcen	Examinatrice
M ^{ME} WASSILA DRICI	Professeur	Université de Tlemcen	Examinatrice
M ^R DIB MOHAMMED EL AMINE	Professeur	Université de Tlemcen	Promoteur

Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA)
Tlemcen- Algérie

ANNÉE 2018 – 2019

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes parents pour leur patience, leur sacrifice et compréhension, eux qui m'ont tout donné et qui ont été toujours là à me soutenir et à m'encourager durant tout mon cursus.

A ma chère petite sœur notre futur médecin à qui je souhaite une bonne continuation dans son domaine et qu'elle reste toujours splendide et vivante.

A toute ma famille et mes chères amies.

A mes camarades de ma promotion.

A tout ce qui me sont chères

Remerciements

Je tiens à remercier premièrement *ALLAH* pour la patience et le courage qui m'a donné pour accomplir ce travail sans son aide rien ne serait réaliser.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements et mon profond respect à mon encadrant *Mr DIB MOHAMED EL AMINE* tout d'abord d'avoir accepté de m'encadrer et pour son aide, ses conseils éclairés et son attention pour la réalisation de ce mémoire.

Mes plus vifs remerciements vont également au *Mr KAJIMA MULENGI JOSEPH* le professeur responsable de notre spécialité de Master Chimie Pharmaceutique de nous avoir permis de profiter d'une bonne formation.

Je tiens à remercier également *Mr ARRAR ZOHEIR* le directeur du laboratoire de recherche Chimie Organique Substances Naturelles et Analyse (COSNA) Université de Tlemcen où notre recherche a été effectuée, et à tout le personnel du laboratoire.

J'adresse mes profonds remerciements avec un grand plaisir à la doctorante *MAMI IMANE* pour son aide énorme et son temps qu'elle m'a donné pour terminer ma recherche.

Je tiens à exprimer aussi mes remerciements à tous les enseignants qui nous ont étudiés durant les deux années de master.

Avec un grand honneur je tiens à remercier l'ensemble de jury d'avoir accepté d'évaluer mon travail.

Enfin un grand MERCI à tous ce qui ont participé de loin ou de près pour la finition de ce modeste travail.

ABREVIATIONS

H.E : Huile essentielle

MS : Spectrométrie de masse

IR : Infra-rouge

E⁺: Electrophile

Ac: Acétyle

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

DMF : Diméthyle formamide

Ni : Nickel

THF : Tétrahydrofurane

DPPH : Diphénylpicrylhydrazyle

CI₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %

DCM : Dichlorométhane

t,a : température ambiante

ORAC : Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène.

TMSOTf : Triméthylsilyle-O-triflate

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ERO : Espèces Réactives d'Oxygène

NADPH : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

ARN : Acide Ribonucléique

VEB : Virus d'Epstein-Barr

VHB: Virus de l'Hépatite B

FDA: Food and Drug Association

AAPH : 2,2-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride

CCM : Chromatographie sur couche mince

éq : équivalent

Rf: Rapport frontal

UV: Ultra-Violet

Et: Ethyle

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

BHA: hydroxy anisol butylé.

SOD: Superoxyde dismutase

BHT: Hydroxy toluène butylé.

Mono sub: Mono substitué

Arom: Aromatique

ABTS: Acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

IRTF: Spectroscopie infrarouge à transformer de Fourier

LISTE DES SCHEMAS :

Schéma 1: Synthèse de l'oxyde de carline	5
Schéma 2 :Synthèse de deux analogues de l'acide caféique.....	7
Schéma 3 :Synthèse de deux analogues de la curcumine	7
Schéma 4 :Synthèse de deux analogues de thymol	8
Schéma 5 :Synthèse des analogues de la catéchine	9
Schéma 6:Représentation globale des analogues de l'oxyde de carline	21
Schéma 7: Mécanisme de la réaction de Vilsmeier-Haack	22
Schéma 8: Mécanisme de la condensation de Knoevenagel avec le cyano acétate de méthyle	23
Schéma 9: Mécanisme de la condensation de Knoevenagel avec le malonate de diéthyle.....	24

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1: Principaux antioxydants et leurs sources alimentaires	12
Tableau 2: Différentes caractéristiques des tests DPPH et FRAP	17
Tableau 3: Composition chimique de l'huile essentielle des racines de <i>C. caeruleus</i>	19
Tableau 4: Pourcentages d'inhibition du DPPH à différentes concentrations de l'H.E, oxyde de carline, CarOx-CHO, analogue 1 et analogue 2.....	25

LISTE DES FIGURES :

Figure 1: <i>Carthamus caeruleus</i>	3
Figure 2 : Structure de l'oxyde de carline d'après <i>Semmler et Ascher</i>	4
Figure 3 : Structure de l'oxyde de carline	5
Figure 4: Racines de <i>Carthamus caeruleus</i>	14
Figure 5: Montage d'hydrodistillation de type Clevenger.....	14
Figure 6: Isolement de l'oxyde de carline par colonne.....	14
Figure 7: % d'inhibition de l'H.E, carlina oxide et CarOx-CHO	25
Figure 8: % d'inhibition de l'analogue 1	25
Figure 9: % d'inhibition de l'analogue 2	25
Figure 10: Résultats du test DPPH des analogues 1 et 2	25
Figure 11: Pouvoir réducteur de l'H.E	28
Figure 12: Pouvoir réducteur de carlina oxide et CarOx-CHO	28
Figure 13: Pouvoir réducteur des analogues 1 et 2	28
Figure 14: Résultats du test FRAP de l'analogue 1	28
Figure 15: Résultats du test FRAP de l'analogue 2.....	28

SOMMAIRE :

I. INTRODUCTION GENERALE :

II. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE :

A. Chapitre 1: <i>Carthamus caeruleus</i>	3
1. Introduction :	3
2. Composition chimique :	3
3. Effet thérapeutique :	3
B. Chapitre 2 : Oxyde de carline	4
1. Introduction :	4
2. Historique :	4
3. Activité biologique :	5
C. Chapitre 3 : Synthèse des analogues de molécules naturelles antioxydante	6
D. Chapitre 4 : Stress oxydant	9
1. Introduction :	9
2. Les radicaux libres :	10
3. Les espèces réactives d'oxygène « ERO »:	10
4. Pathologies de stress oxydant :	10
E. Chapitre 5 : Les antioxydants	11
1. Introduction :	11
2. Origines des antioxydants :	11
III. CONCLUSION :	12

IV. PARTIE EXPERIMENTALE :

A. Matériels et méthodes :	13
B. Procédé d'extraction de l'HE de <i>Carthamus caeruleus</i> :	13
C. Isolement de carlina oxide par chromatographie sur colonne :	14
D. La synthèse des analogues de l'oxyde de carline :	14
1. La synthèse de l'intermédiaire CarOx-CHO par formulation de Vilsmeier-Haack :	14
2. Synthèse du premier analogue par condensation de Knoevenagel :	15
3. Synthèse du deuxième analogue par condensation de Knoevenagel :	16
E. Evaluation de l'activité antioxydante :	16
1. Par inhibition du radical libre DPPH :	17

2. Par réduction du fer : FRAP	18
V. RESULTATS ET DISCUSSION :	
A. Introduction :	19
B. Composition chimique de l'H.E de <i>C. caeruleus</i> :	19
C. Isolement de l'oxyde de carline de l'huile essentielle :	20
D. Synthèse des analogues de carlina oxide :	20
1. Préparation de l'intermédiaire CarOx-CHO :	21
2. Synthèse du premier analogue :	22
3. Synthèse du deuxième analogue :	23
E. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante :	24
1. Analyse par DPPH :	24
2. Analyse par FRAP :	28
VI. CONCLUSION GENERALE :	
VII.REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	32

**INTRODUCTION
GENERALE**

Les antioxydants empêchent la formation de radicaux libres, ils sont donc extrêmement importants pour le traitement et la gestion de nombreuses maladies. Par conséquent, ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour la recherche de nouveaux composés antioxydants. Les molécules oxydantes peuvent causer des dommages considérables à l'ADN, aux protéines et aux lipides. C'est l'une des principales causes du vieillissement et de nombreuses maladies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, le déclin du système immunitaire et le dysfonctionnement du cerveau [1].

L'intérêt pour les antioxydants naturels est déterminé par l'universalité de leur action dans divers systèmes rédox et partant, par un large éventail d'applications possibles : les produits phytochimiques antioxydants sont considérés comme des ingrédients fonctionnels des produits pharmaceutiques, des aliments fonctionnels, des suppléments diététiques, des cosmétiques et autres.

Les produits naturels ont toujours suscité beaucoup d'intérêt en raison de leurs propriétés importantes. Pendant des siècles, de nombreuses molécules de sources naturelles ont été utilisées en médecine traditionnelle, en cosmétique et en nutrition. Nombre d'entre eux ont été utiles pour mieux comprendre certains processus cellulaires et biologiques complexes [1]. La perspective d'évaluer un grand nombre de composés naturels biologiquement actifs restant à découvrir et à étudier, semble vraiment intéressante. De plus, les composés naturels donnent de nouvelles idées pour de nouvelles stratégies de synthèse. Un certain nombre de composés naturels tels que le β -carotène [2], l'acide caféique [3], resvératrol [4] et la curcumine [5] ont été étudiés pour leur rôle potentiel dans différents types de cancers des modèles animaux tels que la vessie, la tumeur pulmonaire et le cancer du côlon.

Plusieurs chercheurs ont procédé à la synthèse des analogues de molécules naturelles antioxydantes [6-9], leurs résultats expérimentaux ont montré que les nouvelles molécules synthétiques possèdent

généralement des pouvoirs antioxydants plus importants que les molécules mères naturelles.

L'oxyde de Carline a été isolé pour la première fois en 1889 [10] et a été signalé dans la famille des astéracées, en particulier dans les huiles essentielles de *Carlina acanthifolia*, *Carlina radix*, *Carlina acaulis* et *Carthamus caeruleus* et présente un pouvoir antioxydant très fort [11,12].

L'objectif principale de ce travail est i) d'extraire l'huile essentielle, ii) isoler la composante active de l'huile de *Carthamus caeruleus*, iii) synthétisé deux analogues de l'oxyde de carline et iv) tester le potentiel antioxydant de l'oxyde de carline et des deux analogues pour développer de nouveaux antioxydants.

**ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE**

A. Chapitre 1: Carthamus caeruleus

1. Introduction :

Carthamus caeruleus est une plante annuelle semblable au chardon connu aussi sous le nom « cardoncelle bleu » et elle appartient à la famille des Astéracées [13] (**Figure1**). C'est une plante d'origine Moyen-Orient, elle préfère généralement les lieux secs et ensoleillés tel que les régions méditerranéennes jusqu'en Asie : l'Afrique du Nord, Australie, les deux Amériques ainsi qu'en Europe [14].



Figure 1:*Carthamus caeruleus*

2. Composition chimique :

Une étude antérieure [15] sur l'espèce de *Carthamus caeruleus* a montré que l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat des racines de cette plante contient majoritairement l'oxyde de carline à des pourcentages de 80% et 78,6%, respectivement. Les rendements les plus élevés de l'huile essentielle (1,1 à 2,5%) ont été observés chez les échantillons qui se trouvent dans les régions situés en altitude dans la Wilaya de Tlemcen (Bouhlou, El Aricha, Sebdou, Beni snous, Terny e).

3. Effet thérapeutique :

En Algérie les racines du *Carthamus caeruleus* sont utilisées comme un traitement naturel des brûlures (cicatrisant) soit en poudre ou comme une crème préparée dans le lait [15]. Elle est aussi exploitée pour guérir les inflammations articulaires et comme lotion pour le

traitement du collant et le cancer [16]. L'huile essentielle du *Carthamus caeruleus* possède de fortes propriétés antioxydantes, antibactérienne (des effets significatifs sur les bactéries tel que : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Acinetobacter bowi*) et antifongique (contre *Candida albicans*) [17].

B. Chapitre 2 : Oxyde de carline

1. Introduction :

L'oxyde de carline ou bien carlina oxide est une molécule organique (benzyl-2-furylacétylène) constituée d'un motif furane, benzyle et un groupement acétylène. Il a été isolé pour la première fois en 1889 ce qui en fait l'un des plus anciens polyacétylènes connus.

L'oxyde de carline est présent majoritairement dans certaines plantes beaucoup plus chez la famille des Astéracées tel que : *Carlina acaulis*, *Carlina acanthifolia* et *Carlina radix* [18, 19, 20].

2. Historique :

En 1909, *Semmler et Ascher* [21], ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle des racines de *Carlina acaulis*, et ils ont montré que le principal constituant était un corps de formule $C_{13}H_{10}O$ qu'ils l'appelèrent oxyde de carline (en allemand : carlinoxyde) et ils ont lui attribué une structure allénique (**Figure 2**).

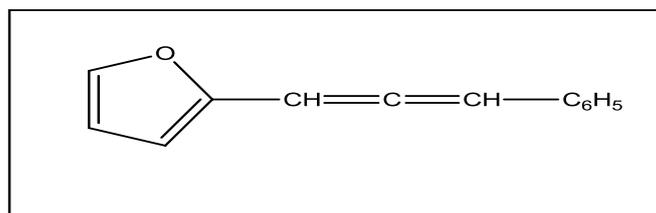


Figure 2 : Structure de l'oxyde de carline d'après *Semmler et Ascher*

En se basant sur l'observation de *Gilmann et Burtner* qui ont proposé la présence d'une triple liaison dans la molécule, *Pfau et coll* [18], ont réalisé une étude sur la structure chimique de l'oxyde de carline en 1935 par synthèse de cet oxyde en condensant le furylacétylène au moyen de son dérivé organomagnésien avec le chlorure de

benzyle, le produit final était moins stable. Par comparaison des spectres Raman du produit synthétique et l'oxyde de carline naturel, ils les ont trouvés identiques ce qui a menait à la confirmation de l'observation de *Gilmnn et Burtner* sur la structure chimique correcte de l'oxyde de carline (**Figure 3**).

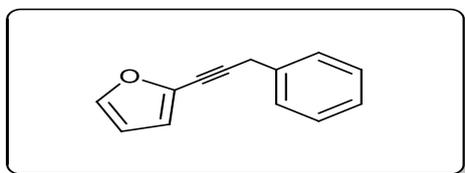


Figure 3 : Structure de l'oxyde de carline

Tandis qu'en 1967, *Atkinson et col* [22], ont essayé de synthétiser une série de dérivés de furyl acétylène parmi eux il y avait l'oxyde de carline. La réaction entre l'iodofurane et le sel cuivreux de phénylpropyne en présence de pyridine à reflux pendant 6h permet d'obtenir carlina oxide après purification (**Schéma 1**).

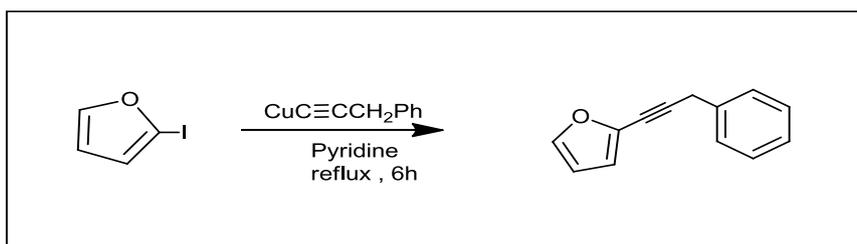


Schéma 1: Synthèse de l'oxyde de carline

Cependant, aucun travail n'a été réalisé sur cette molécule de point de vue hémisynthèse et sur les études des analogues de la carline.

3. Activité biologique :

Des études antérieures ont montré que l'oxyde de carline a de grandes activités antioxydantes, antimicrobiennes (contre gram-positive bactérie : *Bacillus subtilis*, *Entérocoques faecalis*, *Staphylococcus aureus* et gram-négative : *Klebsiella Pneumoniae*), anti-inflammatoires, antiulcéreux et antifongiques (contre *Candida albicans* et *Aspergillus niger*) [23].

C. Chapitre 3 : Synthèse des analogues de molécules naturelles antioxydante

D'autre part, plusieurs analogues de molécules naturelles antioxydantes ont été préparés et étudiés pour leurs activités antioxydantes :

➤ L'acide caféique ou l'acide 3,4-hydroxycinnamique un composé naturel présent dans plusieurs produits agricoles tel que : le café, l'huile d'olive, les fruits et légumes [24]. L'acide caféique et ses analogues ont tiré l'attention de plusieurs chercheurs à cause de leurs activités biologique précisément l'activité antioxydante [25].

Pour arriver à bien comprendre la relation entre la structure et l'activité biologique, *Son et Lewis* [6], ont développé une série des analogues amides d'acide caféique (**Schéma 2**).

Les amides ont été synthétisés à partir de l'acide caféique et l'amine correspondant en présence de BOP (Benzotriazole-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium hexafluorophosphate) en tant que réactif de couplage.

Parmi les analogues synthétisés ils ont remarqué que les composés qui ont plus de groupes hydroxyle et de groupes donneurs de proton (-NH-CO et -SH) donnent un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH le plus élevé, c'est le cas des composés N-trans-cafféoyldopamine et N-trans-cafféoyl-L-cysteine méthyle ester à **CI₅₀ = 24,22 μ mol et 23,36 μ mol** respectivement.

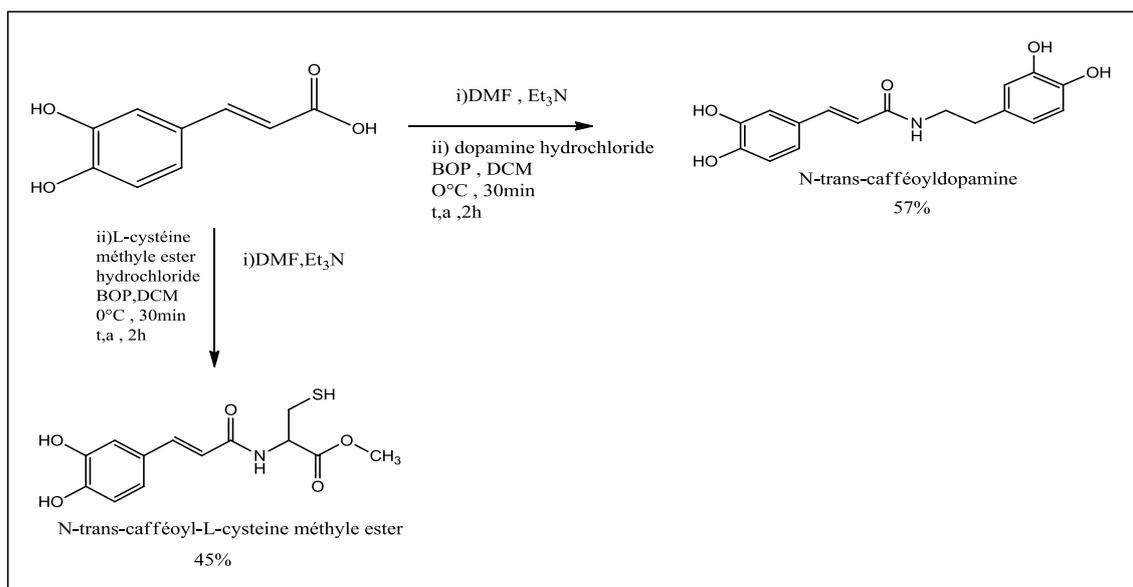


Schéma 2 : Synthèse de deux analogues de l'acide caféique

➤ *Selvam et col* [7], ont développé une série d'analogues de la curcumine (**Schéma 3**), ces analogues (analogue avec cycle pyrazole : **CI₅₀ = 9,70 μM** et analogue avec cycle isoxazole : **CI₅₀ = 10,71 μM**) ont montré une activité antioxydante plus importante que celle de la curcumine (**CI₅₀ = 11,06 μM**).

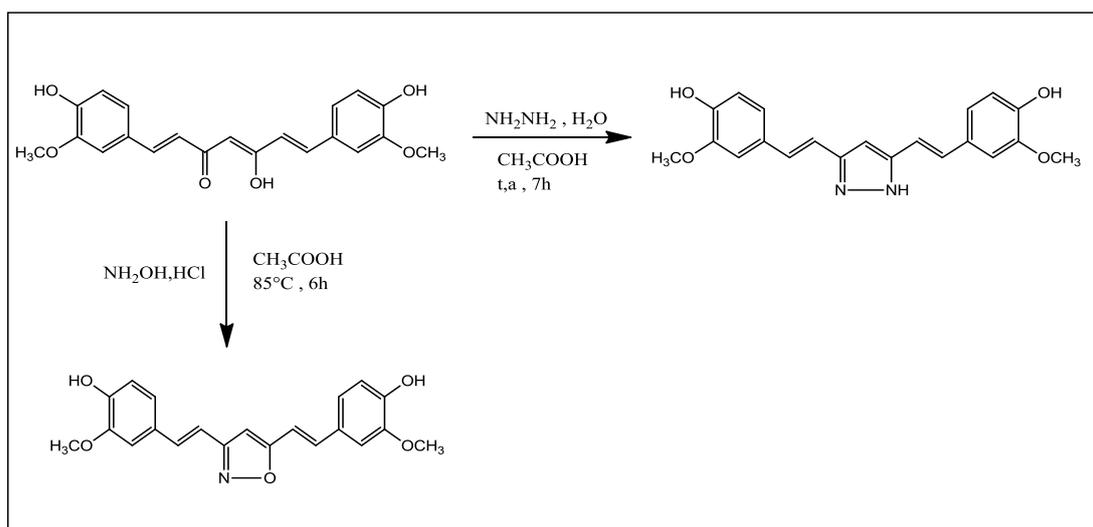


Schéma 3 : Synthèse de deux analogues de la curcumine

Le remplacement du fragment dicétone de la curcumine par un cycle pyrazole améliore significativement l'activité de piégeage des radicaux libres par DPPH.

➤ Le thymol une molécule naturelle extrait à partir de la *Thymus vulgaris* connue par ses activités antioxydantes, à cet effet *Shen et al* [8], ont procédé à une synthèse de deux analogues de thymol par réaction de Mannich (**Schéma 4**). Les deux analogues de thymol ont été testés pour leur activité antioxydante par l'inhibition moyenne de la xanthine oxydase, les tests effectués dépendaient de la concentration.

Les données ont révélé que l'analogue synthétique THMO a montré un potentiel antioxydant (**69,6% à 100 µM**) plus important que celui de thymol lui-même (**30,4% à 100µM**) et celui du deuxième analogue THPY (**36,5% à 100µM**).

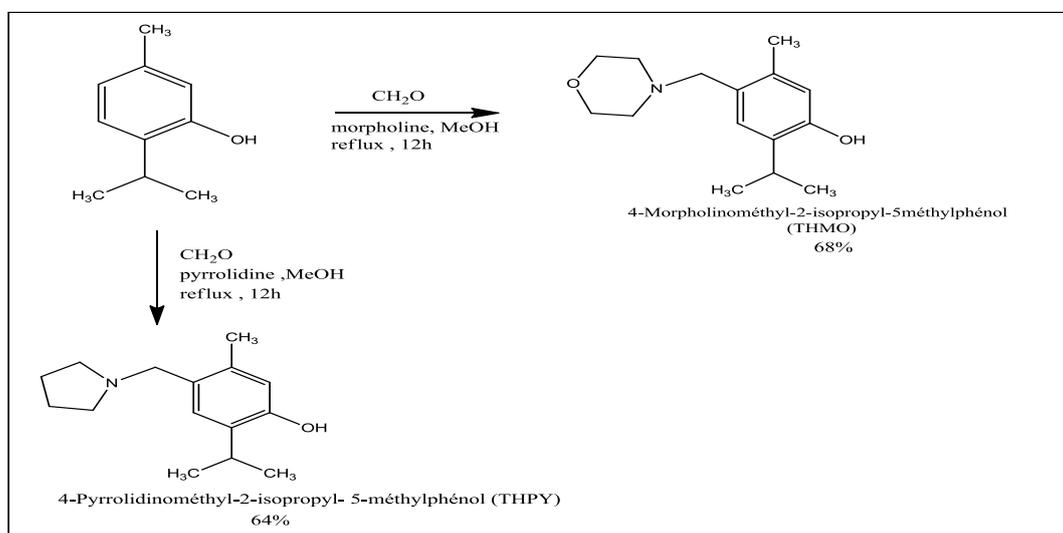


Schéma 4 : Synthèse de deux analogues de thymol

➤ La catéchine est une molécule naturelle très abondante notamment dans le thé vert et qui présente plusieurs intérêts thérapeutiques dans la prévention de l'obésité et l'amélioration du contrôle du glucose surtout chez les patients avec un diabète de type 2, elle est connue aussi par son activité antioxydante [26].

A cet effet, *Hakamata et col* [9], ont procédé à la synthèse d'une série d'analogues de cette molécule (**Schéma 5**).

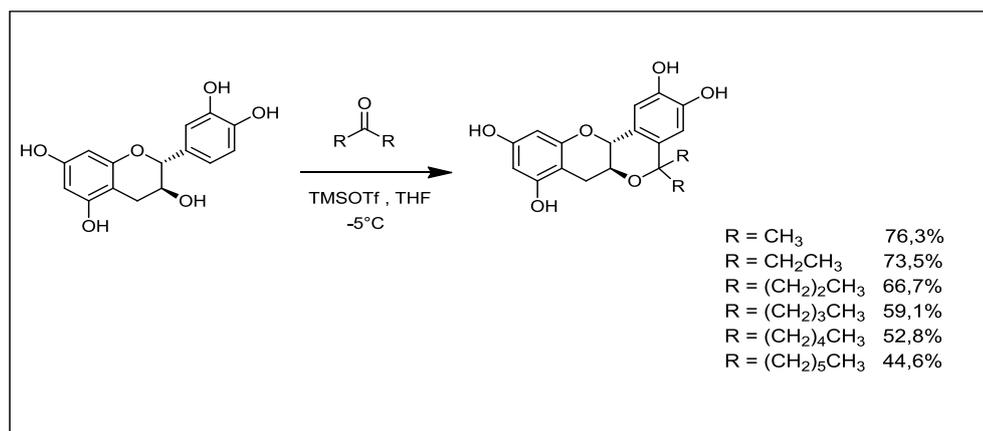


Schéma 5 : Synthèse des analogues de la catéchine

Les analogues synthétisés ont été évalués pour leur activité de piégeage des radicaux libres contre le AAPH, les données expérimentales ont montré que plus la chaîne latérale augmente (1-3), plus l'activité antioxydante augmente avec des **CI₅₀** de **220** à **98nM**, respectivement, cependant lorsque la longueur de la chaîne passe de 4 à 6, l'activité de piégeage des radicaux libres diminue et ils ont attribué ça au fait que l'augmentation de la chaîne engendre la formation des micelles amphiphiles dans un solvant aqueux.

D. Chapitre 4 : Stress oxydant

1. Introduction :

Le stress oxydant qui est avant tout une réponse à une modification des conditions habituelles de vie cellulaire, est défini par Selye en 1950 : « Il s'agit de réponses de l'organisme aux facteurs d'agressions physiologiques et psychologiques qui nécessitent la mise en jeu de processus d'adaptations », d'autre part, c'est un déséquilibre entre les systèmes oxydants (radicaux libres) et les pouvoirs antioxydants d'une cellule, d'un organisme ou d'un compartiment cellulaire [27], il peut résulter d'une défaillance des systèmes antioxydants protégeant notre organisme d'un effet néfaste des radicaux libres.

Lors d'un stress oxydant, les ERO non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les

macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN.

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information [28].

2. Les radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique capable d'avoir une existence indépendante ou libre caractérisé par la présence d'un ou plusieurs électrons célibataires ce qui lui confère une grande réactivité et instabilité donc une durée de vie courte alors il aura toujours tendance à remplir son orbitale pour devenir plus stable en captant un électron : il va donc se réduire en oxydant par la suite un autre composé [29].

3. Les espèces réactives d'oxygène « ERO »:

Toute réaction impliquant de l'O₂ et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des espèces réactives d'oxygène « ERO », en effet, ils peuvent être produites par des agents physiques comme les rayonnements, des réactions chimiques et surtout enzymatiques (NADPH oxydase au cours de l'inflammation et les cytochromes P450 lors de la détoxification des xénobiotiques), ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO .

Les « ERO » exercent des effets sur les acides nucléiques, ARN, ADN nucléaire et mitochondrial (génétoxicité), sur les lipides membranaires, conduisant à des intermédiaires toxiques, sur les protéines à des niveaux différents [28].

4. Pathologies de stress oxydant :

Le stress oxydant peut être la cause initiale de plusieurs maladies tel que : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome

de détresse pulmonaire aigu, œdème pulmonaire et vieillissement accéléré [30].

Il existe aussi des maladies où le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs :

- Maladie d'Alzheimer
- Stérilités masculines
- Maladies virales : VEB, VHB
- Rhumatismes
- Athérome
- Asthme
- Insuffisance respiratoire

E. Chapitre 5 : Les antioxydants

1. Introduction :

Un produit naturel représente un mélange complexe de bon nombre d'ingrédients « Chimiques », sa composition varie selon l'origine, les conditions de culture, la production, ainsi que la conservation [31].

Parmi les produits naturels qui existent on peut trouver les antioxydants qui ont pour but de lutter contre le problème de la nécessité et le danger d'oxygène. La nature a développé de très importants antioxydants naturels qui sont définis comme étant toutes substances capables de neutraliser les radicaux libres [32].

2. Origines des antioxydants :

Les antioxydants sont d'origine diverse (synthétiques ou naturels) et agissent en synergie soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène comme $O_2^{\cdot -}$ et H_2O_2 conduisant à la formation de l'eau et de l'oxygène sous l'effet des enzymes par exemple : la catalase (CAT), le superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GPx) [33].

Certains antioxydants piègeurs proviennent de l'alimentation (non-enzymatique) comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), les caroténoïdes (carotènes et xanthophylles) ou les polyphénols (notamment les flavonoïdes). Il existe aussi des piègeurs endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle [34].

D'autres antioxydants sont disponibles dans le marché (synthétiques) tel que : tertibutyl-p-hydroxyanisole et 3-tertibutyl-p-hydroxyanisole (BHA), le 2,6-ditertibutyl-4-méthylphénol (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) [35].

<u>Nutriments antioxydants</u>	<u>Sources alimentaires</u>
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
β-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poissons, œufs, viandes, céréales, volaille
Zinc	Viandes, pain complet, légumes verts, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises

Tableau 1: Principaux antioxydants et leurs sources alimentaires

II. CONCLUSION :

La littérature est riche dans le domaine de synthèse des analogues de molécules naturelles antioxydantes par différentes stratégies et méthodes pour arriver à des molécules plus puissantes et plus actives, mais elle reste aussi pauvre en ce qui concerne la conception des analogues synthétiques de l'oxyde de carline, le composé le plus abondant dans l'H.E des racines de *C. Caeruleus*.

Deux analogues synthétisés par condensation de Knoevenagel et passés par un intermédiaire élaboré par formulation de Velsmeier-Haack, va faire une première approche dans la synthèse des analogues de l'oxyde de carline, ces deux nouveaux analogues vont être évalués pour leur activité antioxydante. Pour cela, les résultats seront représentés dans la partie suivante.

PARTIE
EXPERIMENTALE

A. Matériels et méthodes :

Chromatographie sur couche mince CCM :

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60.

Les différents éluants utilisés seront indiqués pour chaque cas.

Chromatographie sur colonne :

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées à l'aide d'une colonne en verre (2,5cm de diamètre interne et 70 cm de longueur) ouverte à gel de silice fine 60, les éluants utilisés et leurs proportions seront mentionnées dans chaque cas.

Point de fusion :

Les températures de fusion des produits synthétisés sous forme solide ont été mesurées à l'aide d'un banc-kofler.

Infra-rouge :

Les analyses infra-rouges ont été réalisées au centre de mesure au laboratoire de recherche COSNA, les différents échantillons étaient traités à l'aide d'un spectroscope infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).

UV-visible :

Les analyses UV ont été réalisées sur un spectrophotomètre Thermo-Scientific Helios γ au laboratoire COSNA.

B. Procédé d'extraction de l'HE de *Carthamus caeruleus* :

Dans un montage d'hydrodistillation de type Clevenger, nous avons soumis 500 g de matière végétale de *Carthamus caeruleus* à une extraction pendant 6h dans 3L d'eau. La cueillette de la plante a été faite en Juin 2018 dans la région de Beni Snous.

$$\text{Calcul du rendement : } \frac{\text{La masse en gramme d'huile essentielle}}{\text{La masse en gramme de matière végétale}} \times 100$$



Figure 4: Racines de *Carthamus caeruleus*



Figure 5: Montage d'hydrodistillation de type Clevenger

C. Isolement de l'oxyde de carline par chromatographie sur colonne :

Afin d'isoler carlina oxide le composé majoritaire de l'H.E des racines de *Carthamus caeruleus*, nous avons soumis 2g d'huile essentielle à un fractionnement par colonne, le rendement final du composé majoritaire par rapport à la quantité utilisée est de 80%.

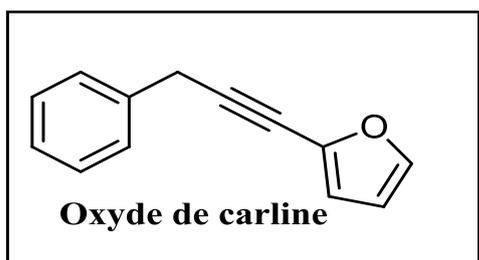


Figure 6: Isolement de l'oxyde de carline par colonne

D. La synthèse des analogues de l'oxyde de carline :

1. La synthèse de l'intermédiaire CarOx-CHO par formulation de Vilsmeier-Haack :

Selon le protocole de *Traynelis et al* [36], Dans un milieu anhydre et dans un ballon muni d'un réfrigérant, on additionne 0.58 ml (1,13éq) de POCl_3 goutte à goutte à l'aide d'une seringue à une solution de DMF (0,48ml, 1,13éq) sous agitation et à une température de bain de glace et laisser pendant 40 min.

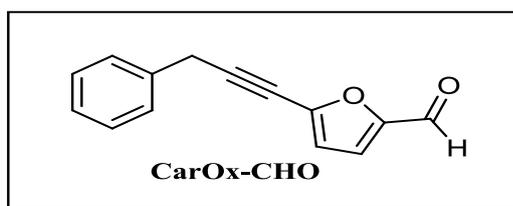
Ensuite, on ajoute 1g (1éq) de l'oxyde de carline goutte à goutte pendant 15 min et laisser à une température de 90°C pendant 2h (suivie par CCM).

Après refroidissement, on ajoute de l'eau glacée et on neutralise avec une solution de K_2CO_3 60% jusqu'à pH=8-9. L'extraction est réaliser avec une solution de chloroforme $CHCl_3$ ($3 \times 25ml$), puis on sèche avec du sulfate de magnésium. Après évaporation sous vide, on obtient une masse de 1.19 g de produit impur (une pate huileuse de couleur noir).

○ **Purification par chromatographie sur colonne :**

Nous avons soumis toute la quantité obtenue (1,19g) à une purification par chromatographie sur colonne, l'éluant utiliser est hexane/éther : 8/2

Après évaporation nous avons obtenu une masse de produit pur de 0,57g.

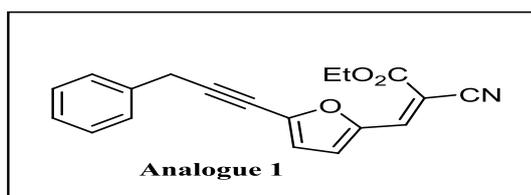


2. Synthèse du premier analogue par condensation de Knoevenagel :

Dans un ballon muni d'un réfrigérant, on mélange 122,5mg (1éq) du produit de formulation CarOx-CHO, 0,11g (2,5éq) d'acétate d'ammonium NH_4AcO et 0,057g (1éq) de cyanoacétate de méthyle. Le mélange est porté à reflux pendant 2h à 80°C sous agitation. Le mélange refroidi est traité avec une solution de HCl 5% (1ml), l'extrait au dichlorométhane CH_2Cl_2 ($3 \times 20ml$) est lavé avec une solution saturée de NH_4Cl puis séché avec du sulfate de magnésium et évaporé sous vide pour obtenir une masse de 0.32 g du produit impur (de couleur rouge brique et sous forme visqueuse).

○ **Purification par chromatographie sur colonne :**

La masse obtenue par synthèse est soumise à une purification par chromatographie sur colonne en utilisant comme éluant hexane/éther : 9/1. La masse du produit pur obtenu après évaporation est de 116 mg.



3. Synthèse du deuxième analogue par condensation de Knoevenagel :

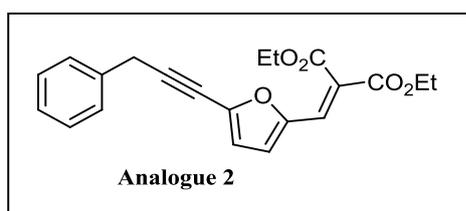
Dans un ballon muni d'un réfrigérant, on place 207,5 mg (1éq) du produit de formulation CarOx-COH, 0,188g (2,5éq) d'acétate d'ammonium et 0,158g (1éq) de malonate de diéthyle sous reflux pendant 2h à 80°C et sous agitation.

Après refroidissement, on traite la solution avec 1 ml de HCl 5%, l'extraction est faite par du CH₂Cl₂ (3× 20ml) ensuite lavé avec une solution saturée de NH₄Cl, séché avec du sulfate de magnésium et enfin évaporé sous vide. La masse du produit impur (liquide de couleur marron foncé) est de 1,49 g.

○ Purification par chromatographie sur colonne :

La masse obtenue a été purifiée par chromatographie sur colonne avec comme éluant hexane/éther : 8/2

La masse après évaporation du produit pur est de 235 mg.



E. Evaluation de l'activité antioxydante :

De nombreuses méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante ont été décrit dans la littérature : ORAC, FRAP, DPPH, ABTS, AAPH, β-carotène..., chaque méthode a ces propriétés, ces avantages et ces inconvénients.

Dans notre cas nous allons travailler avec le test DPPH (2,2-diphényl-picrylhydrazyl) qui est basé sur le piégeage du radical libre, et la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power) utilisé pour

mesurer la capacité des échantillons à réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} par le transfert d'un électron.

Le tableau suivant résume quelques caractéristiques de chaque méthode :

Tests	DPPH [37]	FRAP [38]
Mécanismes réactionnelles	Transfert d'électron	Transfert d'électron
Nature de molécules analysées	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles

Tableau 2: Différentes caractéristiques des tests DPPH et FRAP

1. Par inhibition du radical libre DPPH :

Le DPPH est un radical libre de couleur violette relativement stable absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 515-520 nm. Afin de mesurer ou vérifier la capacité de piégeage des radicaux libres des molécules dites antioxydantes, on utilise le DPPH qui se transforme en couleur jaune lorsqu'il est réduit [39].

En se basant sur le protocole de *Takao et col* [40], une solution de DPPH est préparée en solubilisant 3mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol, après incubation pendant 30min.

Différentes solutions de différentes concentrations de l'huile, carlina oxide, CarOx-COH, et les deux analogues sont préparées puis complétées par des volumes équivalents de DPPH et incubées pendant 40 min. Une lecture d'absorbance dans une longueur d'onde de 517nm est effectuée.

L'activité antioxydante est déterminée par rapport à un témoin négatif selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Activité antioxydante} = (\text{Absorbance du témoin} - \text{Absorbance d'échantillon} / \text{Absorbance du témoin}) \times 100$$

Calcul de la concentration efficace CI_{50} :

C'est la concentration nécessaire de l'échantillon pour réduire 50% de radical libre DPPH. Les CI_{50} sont déterminées graphiquement

par la régression linéaire du graphe tracé (pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'échantillon).

2. Par réduction du fer : FRAP

La méthode de FRAP est fondée sur la réduction du fer ferrique Fe^{3+} (couleur jaune) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en fer ferreux Fe^{2+} (couleur bleu vert) en présence des antioxydants, l'intensité de la coloration est mesurée par spectrométrie à 700 nm [41].

Selon le protocole de *Karagozler et col* [42], 0.5 ml des échantillons à différentes concentrations sont mélangés avec 1,25ml d'une solution tampon de pH = 6,6 et 1,25ml d'une solution de potassium ferrocyanide 1%, le mélange est incubé pendant 20 min à 50°C. Après refroidissement à température ambiante, 1,25ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés, le tout est centrifugé pendant 10 min. 0,5ml du surnageant est ajouté à 1,25ml d'eau distillée et 0,25ml de FeCl_3 à 0,1%.

La lecture des absorbances des différents échantillons est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 700nm.

Afin d'explorer les résultats obtenus, des graphes de l'absorbance en fonction des concentrations de différents échantillons seront tracer, l'augmentation des absorbances signifie une augmentation de la capacité réductrice.

**RESULTATS ET
DISCUSSION**

F. Introduction :

Au cours des dernières décennies, les produits naturels se sont avérés utiles en tant que remède pour la santé humaine et en tant que suggestion pour la conception de molécules pharmacologiques potentielles, en particulier dans les domaines des anticancéreux et des antiviraux. Déjà en 2006, la FDA (Food and Drug Association) estimait que près de 70% des médicaments approuvés dans le monde étaient ; des produits naturels, des produits semi-synthétiques à noyau naturel, des mimétiques de produits naturels [43].

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats de l'extraction jusqu'à l'évaluation de l'activité antioxydante.

G. Composition chimique de l'H.E de *C. caeruleus* :

Les travaux réalisés sur l'huile essentielle de *C. caeruleus*, ont conduit à l'identification de l'oxyde de carline, un composé acétylénique représentant 90.5% de l'huile essentielle totale (**Tableau 3**).

No. ^a	Composés	Lit/Ir _a ^b	Ir _a ^c	Ir _p ^d	<u>HE^e</u>	Identification ^f
1	Oxyde de carline	-	1580	2380	90,5	IR SM, RMN
2	Phytone	1844	1846	2131	tr	IR, SM
3	Acide hexadécanoïque	1942	2005	1944	5,3	IR, SM
% d'identification					95,8	

^a L'ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-wax

^e Huile essentielle collective ; ^f IR : Indice de Rétention ; SM : Spectrométrie de Masse en mode impact électronique.

Tableau 3: Composition chimique de l'huile essentielle des racines de *C. caeruleus*

H. Isolement de l'oxyde de carline de l'huile essentielle :

Dans le but d'isoler le composé majoritaire de l'huile essentielle des racines de *Carthamus caeruleus*, nous avons réalisé une chromatographie sur colonne en utilisant de l'hexane à 100% comme éluant. La masse obtenue du composé majoritaire (oxyde de carline) dans 2 g d'huile essentielle est de 1,6 g.

Caractéristiques de la molécule oxyde de carline :

Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Rendement	Aspect	Rf
C ₁₃ H ₁₀ O	182	80%	Liquide orange	0,23 (éluant : hexane 100%)

Données spectrales : IR (cm⁻¹)

Liaisons	=C-H arom	C-H (CH₂)	C≡C	C=C arom	=C-H arom mono sub
Fréquence (cm⁻¹)	3030	2924	2216	1458– 1487 (3 bandes)	697–740 (2 bandes)

I. Synthèse des analogues de l'oxyde de carline :

Le choix de nos analogues élaborés par hémisynthèse est basé sur le fait d'avoir plus d'hétéroatomes dans la structure générale, par conséquent, avoir plus d'atomes donneurs de proton ou d'électron et aussi des groupements attracteurs (ester et le nitrile), afin d'augmenter l'activité antioxydante par la libération d'un électron [6].

La synthèse des deux analogues de l'oxyde de carline est passée par un intermédiaire CarOx-CHO préparé par formulation de Vilsmeier-Haack (**Schéma 6**).

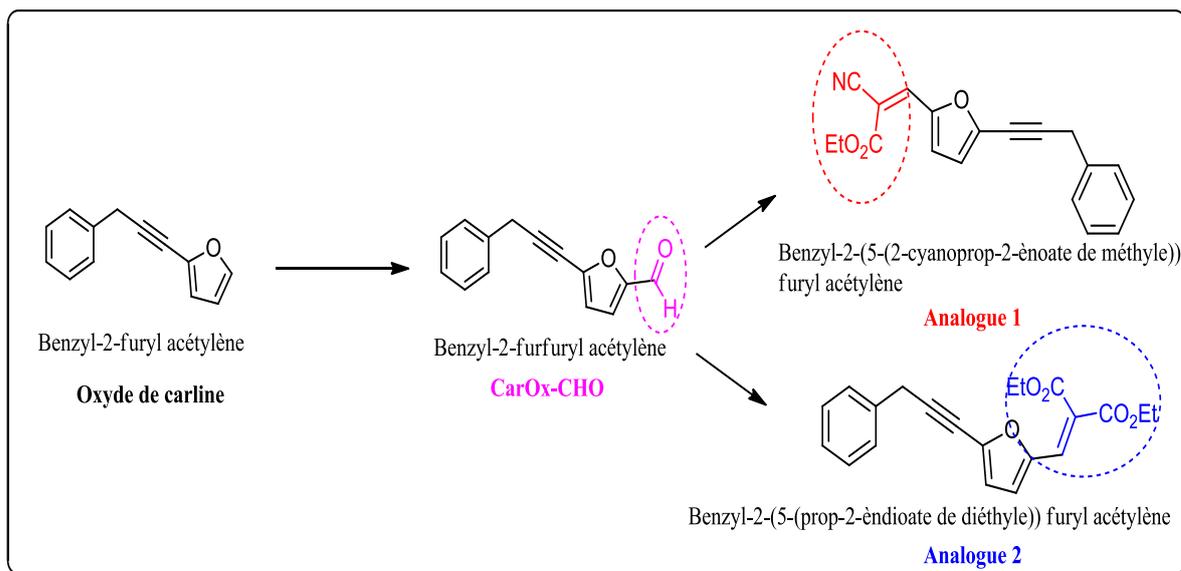
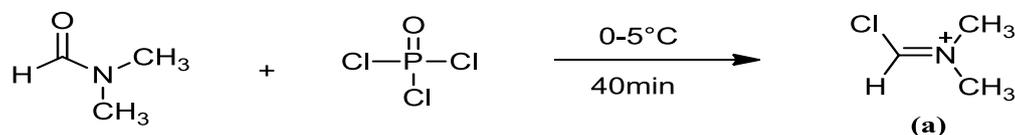


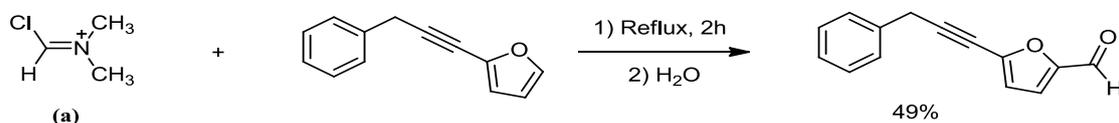
Schéma 6: Représentation globale des analogues de l'oxyde de carline

1. Préparation de l'intermédiaire CarOx-CHO :

Dans un premier temps, on a commencé par la synthèse de l'intermédiaire CarOx-CHO par formulation de Vilsmeier-Haack. La première étape consiste à la préparation de l'intermédiaire de Vilsmeier (a) en réagissant le diméthyle formamide (DMF) avec le trichlorure de phosphoryle (POCl_3).



L'intermédiaire (a) va par la suite réagir avec la molécule oxyde de carline pour donner CarOx-CHO après hydrolyse et purification par chromatographie sur colonne. Le produit final est obtenu sous forme d'un liquide orange foncé avec un rendement de 49%.



Mécanisme :

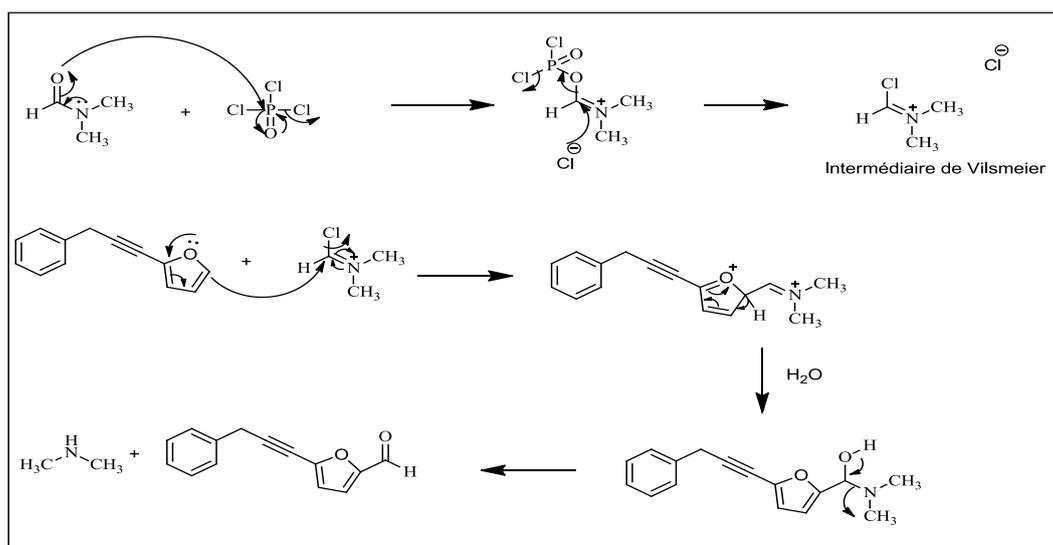


Schéma 7: Mécanisme de la réaction de Vilsmeier-Haack

Caractéristiques du produit synthétisé :

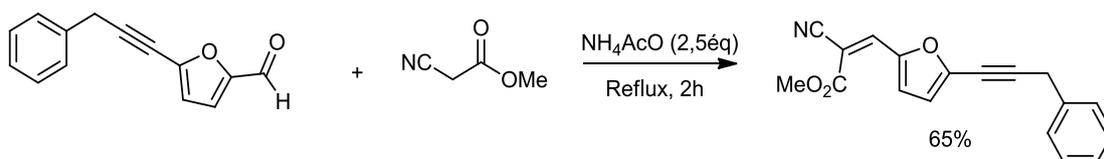
Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Rendement	Aspect	Rf
C ₁₄ H ₁₀ O ₂	210	49%	Liquide de couleur orange foncé	0,31 (éluant : hexane/éther) (8/2)

Données spectrales : IR (cm⁻¹)

Liaisons	C≡C	C=O de l'aldéhyde	HC=O de l'aldéhyde
Fréquence (cm ⁻¹)	2229	1678	2825

2. Synthèse du premier analogue :

La synthèse du premier analogue est faite par condensation de Knoevenagel en utilisant le CarOx-CHO déjà préparé et le cyanoacétate de méthyle qui joue le rôle du méthylène actif en présence d'une base faible, l'acétate d'ammonium très efficace pour ce type de réaction. Le produit final est obtenu après traitement par du HCL à 5% et purification par chromatographie sur colonne, et sous forme d'un solide jaune-orange avec un rendement de 65%.



Mécanisme :

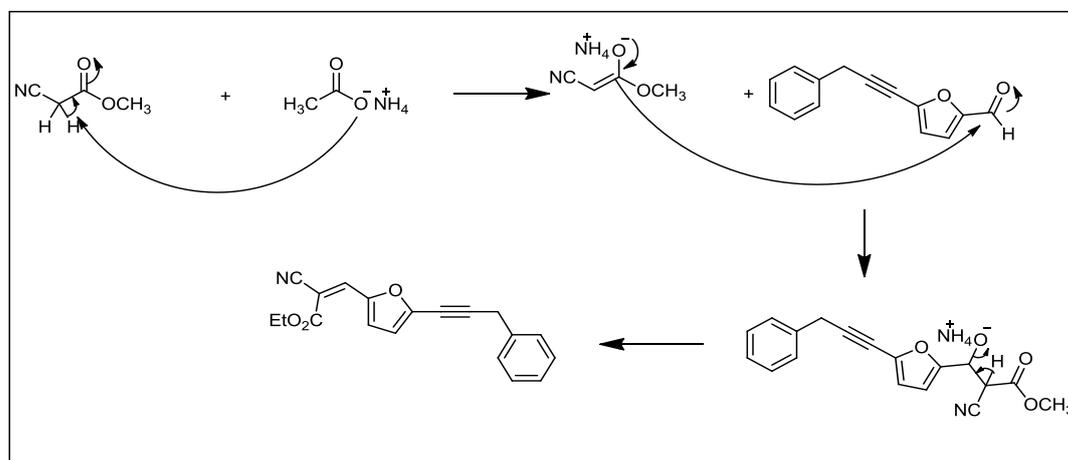


Schéma 8: Mécanisme de la condensation de Knoevenagel avec le cyano acétate de méthyle

Caractéristiques du produit synthétisé :

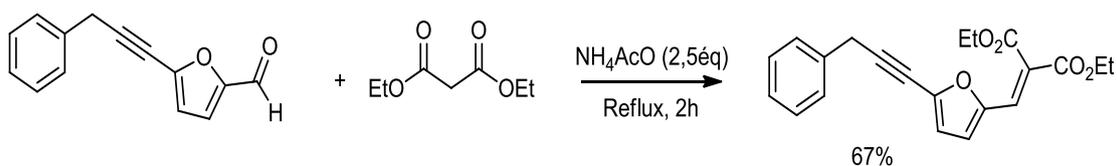
Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Rendement	Aspect	T _f	R _f
C ₁₉ H ₁₅ O ₃ N	305	65%	Solide de couleur jaune-orange	70°C	0,11 (éluant : hexane/éther) (9/1)

Données spectrales : IR (cm⁻¹)

Liaisons	C≡N	C≡C	C=O de l'ester	C=C	C-O de l'ester
Fréquence (cm ⁻¹)	2360	2220	1717	1602	1219

3. Synthèse du deuxième analogue :

Selon le même protocole, que nous avons préparé le deuxième analogue mais avec du malonate de diéthyle comme une source du méthylène actif et toujours en présence de la même base faible l'acétate d'ammonium. Le produit final sous forme liquide orange est obtenu après 2h de reflux et purification avec un rendement de 67%.



Mécanisme :

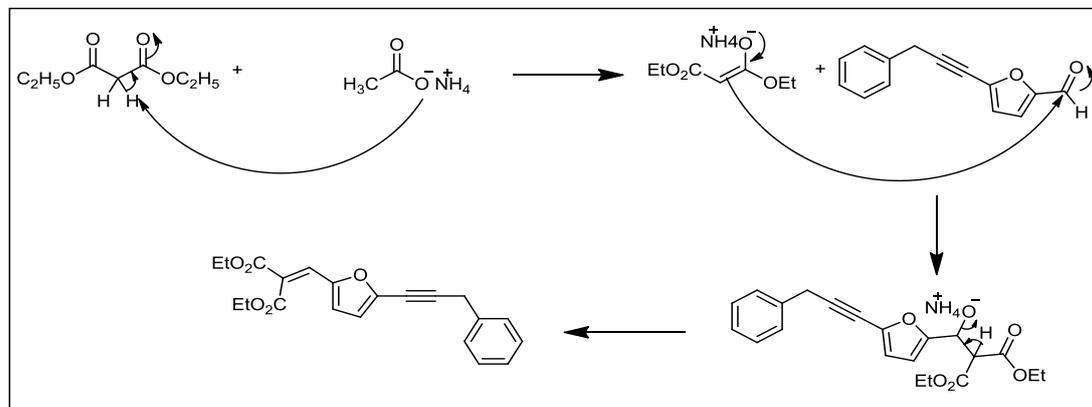


Schéma 9: Mécanisme de la condensation de Knoevenagel avec le malonate de diéthyle

Caractéristiques du produit synthétisé :

Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Rendement	Aspect	Rf
C ₂₁ H ₂₁ O ₅	353	67%	Liquide orange	0,35 (éluant : hexane/éther) (8/2)

Données spectrales : IR (cm⁻¹)

Liaisons	C≡C	C=O de l'ester	C=C	C-O de l'ester
Fréquence (cm ⁻¹)	2227	1719	1623	1209

J. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante :

Les propriétés antioxydantes ont été évaluées à l'aide de deux méthodes différentes : i) l'activité de balayage radicalaire (DPPH) et le pouvoir réducteur (FRAP).

1. Analyse par DPPH :

Les résultats obtenus nous ont permis de tracer les graphes pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations. A partir de ces courbes (**Figure 7, 8 et 9**) que nous avons pu déterminer la valeur

inhibitrice de 50% du radical libre DPPH (CI₅₀), plus cette valeur est petite, plus l'échantillon présente une bonne activité antioxydante.

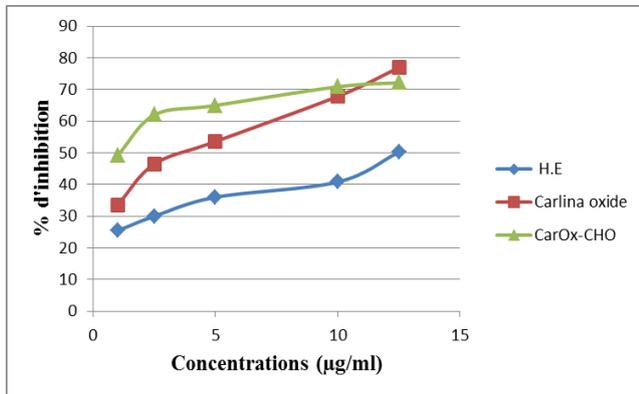


Figure 7: % d'inhibition de l'H.E, carlina oxide et CarOx-CHO

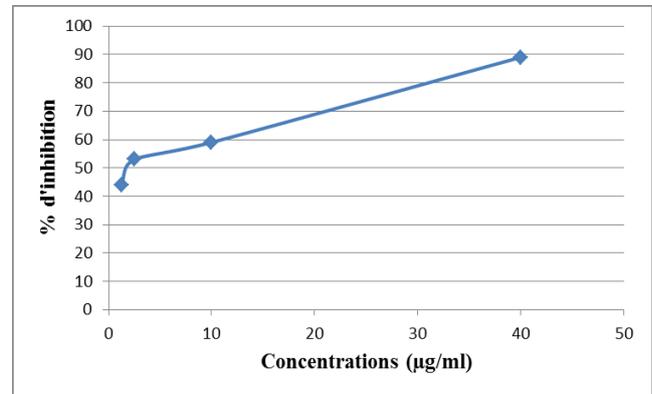


Figure 8: % d'inhibition de l'analogue 1

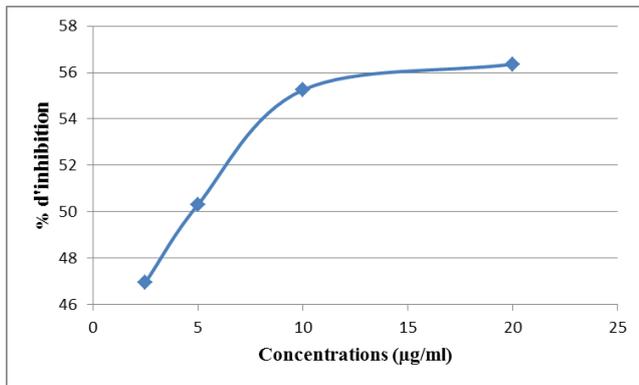


Figure 9: % d'inhibition de l'analogue 2

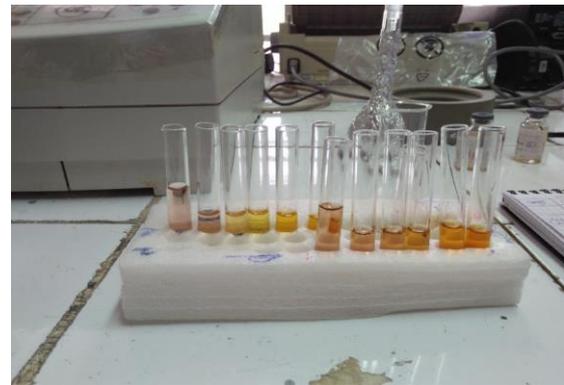


Figure 10: Résultats du test DPPH des analogues 1 et 2

Echantillons		Activité antioxydante				
Huile essentielle du <i>Carthamus caeruleus</i>	Concentrations (µg/ml)	12,5	10	5	2,5	1
	Pourcentage d'inhibition (%)	50,26	40,83	36	30	25,46
	CI ₅₀	12,5				
Oxyde de carline	Pourcentage d'inhibition (%)	76,93	67,86	53,60	46,48	33,60
	CI ₅₀	4				

CarOx-COH	Pourcentage d'inhibition (%)	72,17	70,88	64,99	61,98	49,21
	CI ₅₀	1,04				
	<hr/>					
Analogue 1	Concentrations (µg/ml)	20	10	5	2,5	
	Pourcentage d'inhibition (%)	56	55	50	46	
	CI ₅₀	5				
Analogue 2	Concentrations (µg/ml)	40	10	2,5	1,25	
	Pourcentage d'inhibition (%)	89	59	58	44	
	CI ₅₀	2,30				

Tableau 4: Pourcentages d'inhibition du DPPH à différentes concentrations de l'H.E, oxyde de carline, CarOx-CHO, analogue 1 et analogue 2

○ **Interprétation des résultats :**

La capacité de piégeage des radicaux libres de l'huile essentielle, carlina oxide, CarOx-COH, Analogue 1 et Analogue 2, mesurée par le dosage 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), est présentée dans le **Tableau 4**. L'activité de l'huile essentielle et des analogues est proportionnelle aux concentrations et la valeur la plus faible de la CI₅₀ reflète la meilleure action protectrice. Selon les résultats obtenus ; à une concentration de **12,5 µg/ml** l'H.E a présenté un pourcentage d'inhibition maximal de **50,25%**.

A la même concentration (**12,5 µg/ml**), la molécule naturelle oxyde de carline a pu réduire le DPPH de radicaux libres stables en diphénylpicrylhydrazine de couleur jaune avec un pourcentage d'inhibition plus important que l'huile de **76,93%** et une valeur de la CI₅₀ de **4 µg/ml**.

Tandis que, l'intermédiaire CarOx-CHO a montré un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de **72,17%** très proche à celui de la molécule naturelle et une CI_{50} plus importante que l'oxyde de carline et très faible et intéressante de **1,04** $\mu\text{g/ml}$.

D'autre part, La nouvelle molécule synthétisée (analogue 1) a présenté un pourcentage d'inhibition de **50%** du radical libre DPPH à une concentration de **5** $\mu\text{g/ml}$, alors qu'à la concentration de **40** $\mu\text{g/ml}$, l'analogue 2 présente une activité très importante avec un pourcentage d'inhibition de **89%** et une CI_{50} de **2,30** $\mu\text{g/ml}$ plus élevé que celle de l'analogue 1 et celle de l'oxyde de carline.

Cependant nos différentes espèces ont présenté des concentrations inhibitrices du radical libre DPPH plus faible donc plus importantes que celle du BHT ($CI_{50} = 17$ $\mu\text{g/ml}$)

D'après les résultats expérimentaux du test DPPH et les CI_{50} obtenus des différents échantillons on peut classer nos espèces dans l'ordre suivant selon leurs capacités d'inhibition du radical libre DPPH :

**CarOx-CHO > Analogue 2 > Oxyde de carline > Analogue 1 > H.E
> BHT**

Finalement, les résultats du test DPPH ont donc montré et confirmé ce qu'on a dit avant concernant la présence de différents hétéroatomes dans la molécule qui sert à augmenter la capacité antioxydante par réduction des radicaux libres en lui en donnant un électron comme le cas de notre intermédiaire CarOx-CHO, et aussi la présence des groupement fonctionnelle comme l'ester et le nitrile qui favorisent et augmentent le pouvoir de piégeage des radicaux libres comme le cas des deux analogues qui ont montré un pourcentage d'inhibition supérieur que l'huile essentielle de la plante et même plus puissant que la molécule naturelle oxyde de carline pour le cas de l'analogue 2.

2. Analyse par FRAP :

Selon les résultats expérimentaux du test FRAP, il a été constaté que l'activité antioxydante de tous les échantillons augmentait avec la concentration. Les figures 11, 12 et 13 représentent les absorbances en fonctions de différentes concentrations utilisées.

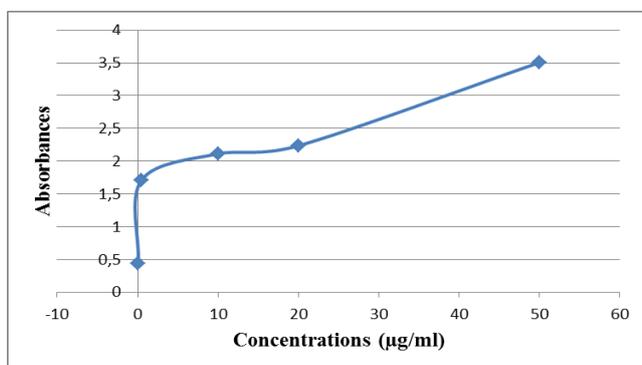


Figure 11: Pouvoir réducteur de l'H.E

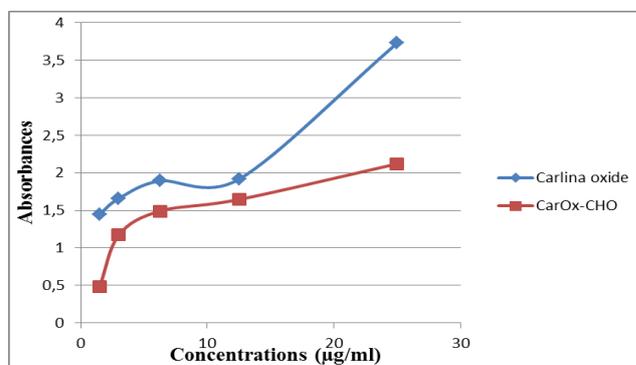


Figure 12: Pouvoir réducteur de Carlina oxide et CarOx-CHO

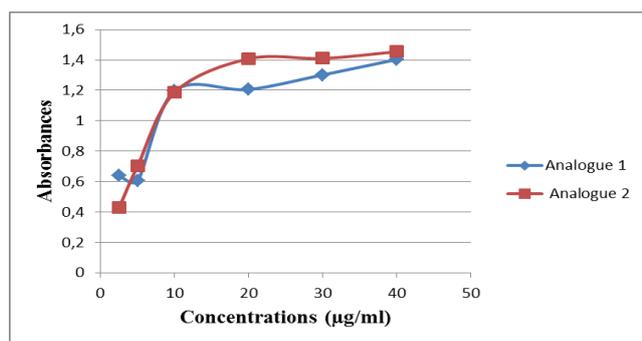


Figure 13: Pouvoir réducteur des analogues 1 et 2



Figure 14: Résultats du test FRAP de l'analogue 1

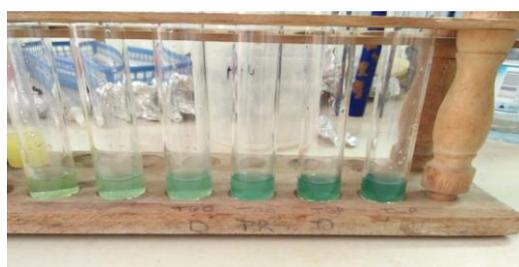


Figure 15: Résultats du test FRAP de l'analogue 2

On remarque d'après les graphes tracés que l'absorbance des différentes espèces a augmenté avec la concentration, ce qui montre que tous nos échantillons présentent une capacité réductrice du fer ferreux Fe^{3+} en fer ferrique Fe^{2+} par le changement de couleur jaune en bleu vert (Figures 14 et 15).

Les résultats obtenus montrent aussi que la molécule naturelle oxyde de carline a présenté la plus grande capacité antioxydante avec une absorbance de **3,73** à une concentration de **25 µg/ml** (**Figure 12**) suivie par l'H.E de *C. caeruleus* (**Figure 11**) et les trois molécules synthétiques CarOx-CHO, l'analogue 2 et l'analogue 1 successivement avec des absorbances maximales de **2,12 ; 1,454 ; 1,403** respectivement (**Figures 12 et 13**).

On peut donc classer les différentes espèces selon leur pouvoir réducteur dans l'ordre suivant :

Oxyde de carline > H.E *Carthamus caeruleus* > CarOx-CHO > Analogue 3 > Analogue 2

De plus, les résultats finaux du test FRAP ont montré que la molécule naturelle et l'huile essentielles sont plus actives que les molécules synthétiques (CarOx-CHO, l'analogue 1 et 2), ce qui est tout à fait contraire des résultats des tests DPPH qui a classé la molécule naturelle en troisième position et l'huile en dernier.

Chaque méthode a sa spécificité et les résultats des deux méthodes (DPPH et FRAP) peuvent être différents selon la nature des échantillons à analyser et leurs mécanismes d'action.

Toutefois, la principale limite de cette méthode (FRAP) réside dans le temps de réaction. En effet, le potentiel de plusieurs molécules ne peut être mesuré par FRAP, comme certains phénols qui réagissent plus lentement et demandent un temps de réaction plus long pour leur détection [44].

**CONCLUSION
GENERALE**

Le principal but visé dans notre recherche est la conception de deux analogues par hémisynthèse à partir d'une molécule naturelle, l'oxyde de carline isolée à partir de l'huile essentielle de la plante *C. caeruleus*.

L'huile essentielle de *C. caeruleus* est récupérée par hydrodistillation afin d'isoler sa composante majoritaire, l'oxyde de carline.

Une autre étape consistée à élaborer deux nouveaux analogues à partir de l'oxyde de carline par condensation de Knoevenagel en passant par un intermédiaire CarOx-CHO synthétisé par réaction de formulation de Vilsmeier-Haack.

Des tests d'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH et FRAP) des deux analogues, de CarOx-CHO, de l'oxyde de carline et de l'huile essentielle de *C. caeruleus* sont réalisés. Les résultats finaux ont montré que les nouvelles molécules synthétisées présentent des capacités antioxydantes très satisfaisantes. Les résultats du test DPPH ont montré que l'intermédiaire CarOx-CHO et l'analogue 2 ont un pouvoir de piégeage des radicaux libres très intéressant qui se caractérise par des valeurs CI_{50} très faibles et même plus importantes que le BHT, alors que pour le test FRAP, l'huile et sa composante prédominante, l'oxyde de carline, ont présenté une capacité réductrice du fer très remarquable par rapport aux molécules synthétisées.

Perspectives :

- ✓ Evaluations des autres activités biologiques telles que : antifongique, et antibactérienne des analogues synthétisés seraient souhaitables.
- ✓ L'élaboration de d'autres analogues en jouant sur les différents sites de la molécule oxyde de carline (benzène et acétylène) afin d'augmenter le pouvoir antioxydant.
- ✓ Une condensation entre l'oxyde de carline et d'autres molécules naturelles connue par leur pouvoir antioxydant peut faire une approche très intéressante dans ce domaine.

**Une alimentation saine variée et surtout riche en antioxydants
reste la meilleur solution pour prévenir le stress oxydant, ses
pathologies et ses conséquences.**

III. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

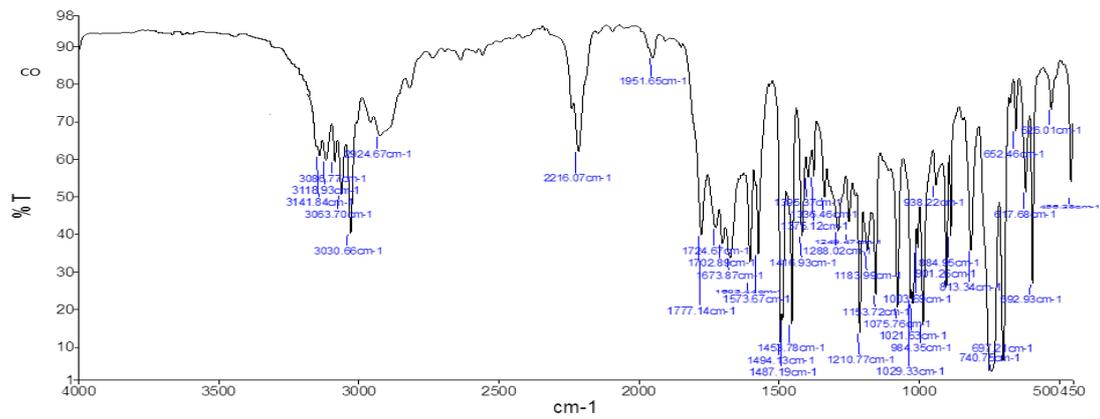
- [1]: Clifford M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food. Agric.* **1999**. 79: 362–372
- [2]: Mayne S.T. Béta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *J. FASEB*. **1996**. 10: 690-701
- [3] : Rajendra Prasad N., Karthikeyan A., Karthikeyan S., Reddy B.V. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. *J. Mol. Cell. Biochem*. **2011**. 349: 11-19
- [4]: Gusman J., Malonne H., Atassi G.A. Reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *J. Carcinogenesis*. **2001**. 22: 1111–1117
- [5] : Zhou Q.M., Sun Y., Lu Y.Y., Zhang H., Chen Q.L., Su S.B. Curcumin reduces mitomycin C resistance in breast cancer stem cells by regulating Bcl-2 family-mediated apoptosis. *J. Cancer. Cell. Int*. **2017**. 17: 84
- [6]: Son S., Lewis B.A. Free Radical Scavenging and Antioxidative Activity of Caffeic Acid Amide and Ester Analogues: Structure-Activity Relationship. *J. Agric. Food.Chem*. **2002**. 50: 468-472
- [7]: Selvam C., Jachak S.M., Thilagavathib R., Chakraborti A.K. Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking of curcumin analogues as antioxidant, cyclooxygenase inhibitory and anti-inflammatory agents. *J. Bioorganic. Med. Chem. Lett*. **2005**. 15: 1793-1797
- [8]: Shen A.Y., Huang M.H., Liao L.F., Wang T.S. Thymol Analogues with Antioxidant and L-Type Calcium Current Inhibitory Activity. *J. Drug. Dev. Res*. **2005**. 64: 195-202
- [9]: Hakamata W., Nakanishi I., Masuda Y., Shimizu T., Higuchi H., Nakamura Y., Saito S., Urano S., Oku T., Ozawa T., Ikota N., Miyata N., Okuda H., Fukuhara K. Planar Catechin Analogues with Alkyl Side Chains: A Potent Antioxidant and an α -Glucosidase Inhibitor. *J. Am. Chem. Soc*. **2006**. 128: 6524-6525
- [10] : Stojanovic-Radic Z., Comic L., Radulovic N., Blagojevic P., Mihajilov-Krstev T., Rajkovic J. Commercial *Carlinae radix* herbal drug: botanical identity, chemical composition and antimicrobial properties. *J. Pharm. Biol*. **2012**. 50: 933-940
- [11]: Djordjevic S., Petrovic S., Ristic M., Djokovic D. Composition of *Carlina acanthifolia* Root Essential Oil. *J. Chem. Nat. Comp*. **2005**. 44(4): 410-412.

- [12]: Djordjevic S., Petrovic S., Ristic S., Djokovic D., Milenkovic M., Vucicevic M., Zizic D., Kukic J. Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J. Ethnopharmacol.* **2007**. 109: 458-463
- [13]: Belabbes R, Thèse sur : Recherche de nouveaux principes actifs présents dans cinq plantes de la famille des Asteracées. Université de Tlemcen, **2018**
- [14]: Boullard B. Plantes médicinales du monde (Réalités et croyances). ESTEM. **2001**. p 515-516
- [15]: Belabbes R, Thèse sur : Enquête ethnobotanique, caractérisation chimique et activités biologiques des volatils de deux plantes médicinales de l'ouest Algérien : *Calendula arvensis* L et *Carthamus sp* L. Université de Tlemcen, **2012**
- [16]: Toubanea A., Rezzoug S.A., Besombes C., Daouda K. Optimization of Accelerated Solvent Extraction of *Carthamus Caeruleus* L. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of extracts. *J. Ind. Crops. Prod.* **2017**. 97: 620–631
- [17]: Saffidine K., Sahli F., Zerroug M.M. Antimicrobial activity of an Algerian medicinal plant: *Carthamus caeruleus* L. *J. Pharmacogn. Commun.* **2013**. 3
- [18]: Link P., Roth K., Sporer F., Wink M. *Carlina acaulis* Exhibits Antioxidant Activity and Counteracts A β Toxicity in *Caenorhabditis elegans*. *J. PubMed.* **2016**. 21(7): 871
- [19]: Dordevic S., Petrovic S., Dobric S., Milenkovic M., Vucicévic D., Zizic S., Kukic J. Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J. Ethnopharmacol.* **2007**. 109: 458-463
- [20]: Stojanovic-Radic Z., Comic L., Radulovic N., Blagojevic P., Mihajilov-Krstev T., Rajkovic J. Commercial *Carlinae radix* herbal drug: Botanical identity, chemical composition and antimicrobial properties. *J. Pharm. Biol.* **2012**. 50: 933-940
- [21]: Pfau A.S., Pictet J., Plattner P., Susz B. Etudes sur les matières végétales volatiles III. Constitution et synthèse du Carlinoxyde. *J. Helvetica. Chimica. Acta.* **1935**. 18: 935–951
- [22]: Atkinson R.E., Curtis R.F., Taylor J.A. Naturally-occurring Thiophens. Part 111.1 Synthesis of Thienyl- and Furyl-acetylene Derivatives from Cuprous Acetylides. *J. Chem. Soc.* **1967**. 578-582

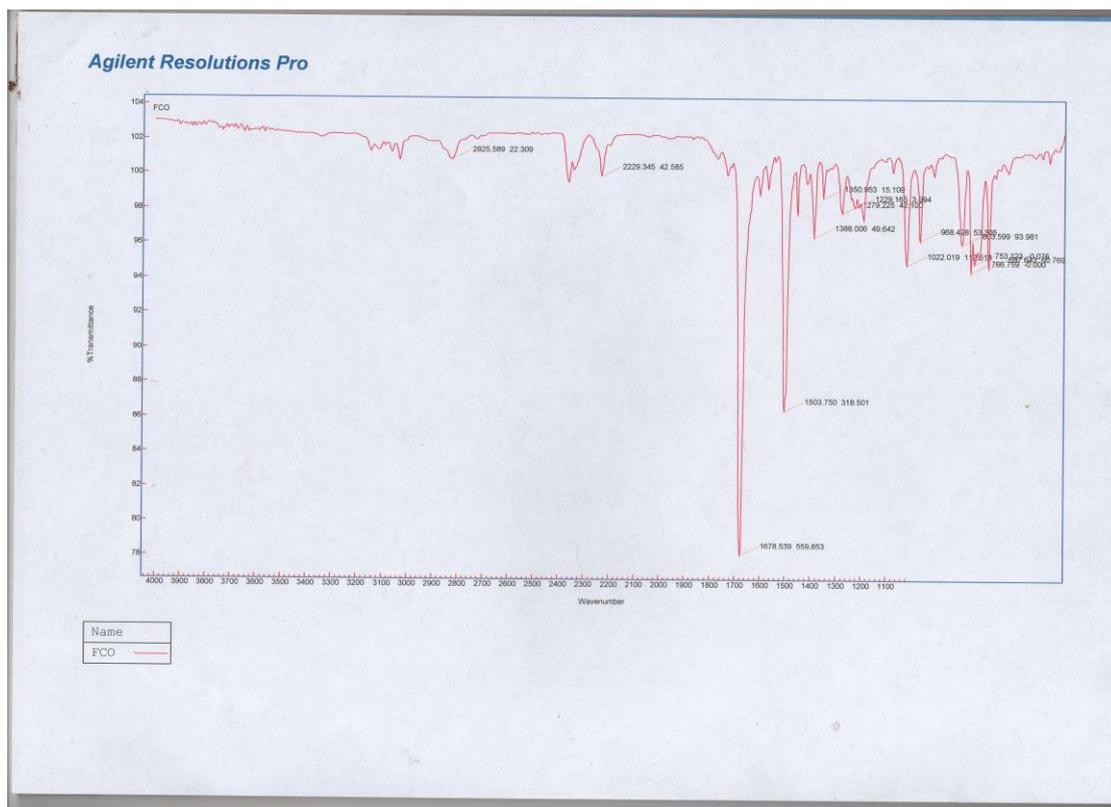
- [23]: Herrmann F., Hamoud R., Sporer F., Tahrani A., Wink M. Carlina Oxide a Natural Polyacetylene from *Carlina acaulis* (Asteraceae) with Potent Antitrypanosomal and Antimicrobial Properties. *J. Planta. Med.* **2011**. 77: 1905-1911
- [24]: Clifford M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food. Agric.* **1999**. 79: 362–372
- [25]: Medina I., Undeland I., Larsson K., Storrø I., Rustad T., Jacobsen C., Kristinová V., Gallardo J.M. Activity of caffeic acid in different fish lipid matrices: A review. *J. Food. Chem.* **2012**. 131: 730–740
- [26]: Amiot M.J., Riollot C., Landrier J.F. Polyphénols et syndrome métabolique. *J. Médecine des maladies métaboliques.* **2009**. 3 : 476-482
- [27]: Barouki R. Stress oxydant et vieillissement. *J. Med. Sci.* **2006**. 22: 266-272
- [28]: Davies K.J. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *J. IUBMB.Life.* **2000**. 50: 279–89
- [29]: Halliwell B. Mechanisms involved in the generation of free radicals. *J. Pathol. Biol.* **1996**. 44: 6-13
- [30]: Davies K.J. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life.* **2000**. 50: 279–89.
- [31]: Favier A. Stress oxydant et pathologies humaines. *J. Ann. Pharm. Fr.* **2006**. 64: 390-396
- [32]: Goossens A. Les allergies de contact aux produits naturels des cosmétiques. *J. Rev. Fr. Allergol.* **2014**. 1-3
- [33]: Lehucher-Michel M P., Lesgards J F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M. Stress oxydant et pathologies humaines. *J. Presse. Med.* **2001**. 30: 1076-1081
- [34]: Leverage X. Stress oxydant et antioxydants. *J. Cah. Nutr. Diét.* **2009**. 44: 219-224
- [35]: Favier A. Stress oxydant et pathologies humaines. *J. Ann .Pharm. Fr.* **2006**. 64: 390-396
- [36]: Traynelis V., Miskel J., Sowa J. Formylation of furans. *J. Org. Chem.* **1957**. 22(10): 1269-1270
- [37]: Brand-William W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *J. Lebensm. Wiss. Technol.* **1995**. 28: 25-30

- [38]: Benzie F.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power: the FRAP essay. *J. Anal. Biochem.* **1996**. 239: 70-76
- [39]: Jhonson I. Antioxydants et anticancéreux. *J. Biofutur.* **1999**. 186: 14-17
- [40]: Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A., Sakata K.A. Simple Screening Method for Antioxidants and Isolation of Several Antioxidants Produced by Marine Bacteria from Fish and Shellfish. *Biosci, Biotechnol, J. Biochem.* **1994**. 58: 1780-1783
- [41]: Tepe B., Sokmen M., Akpulat H.A., Sokmen A. Screening of the Antioxidant Potentials of Six *Salvia* Species from Turkey. *J. Food. Chem.* **2006**. 95: 200-204
- [42]: Karagozler A., Erdag B., Calmaz Emek Y. Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *J. Food. Chem.* **2008**. 111: 400-7
- [43]: Newman D.J., Cragg G. M. Natural products as sources of new drugs aver the last 25 years. *J. Nat. Prod.* **2007**. 70: 461-477
- [44]: Huang D., Ou B., Prior RL. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food. Chem.* **2005**. 53: 1841-1856

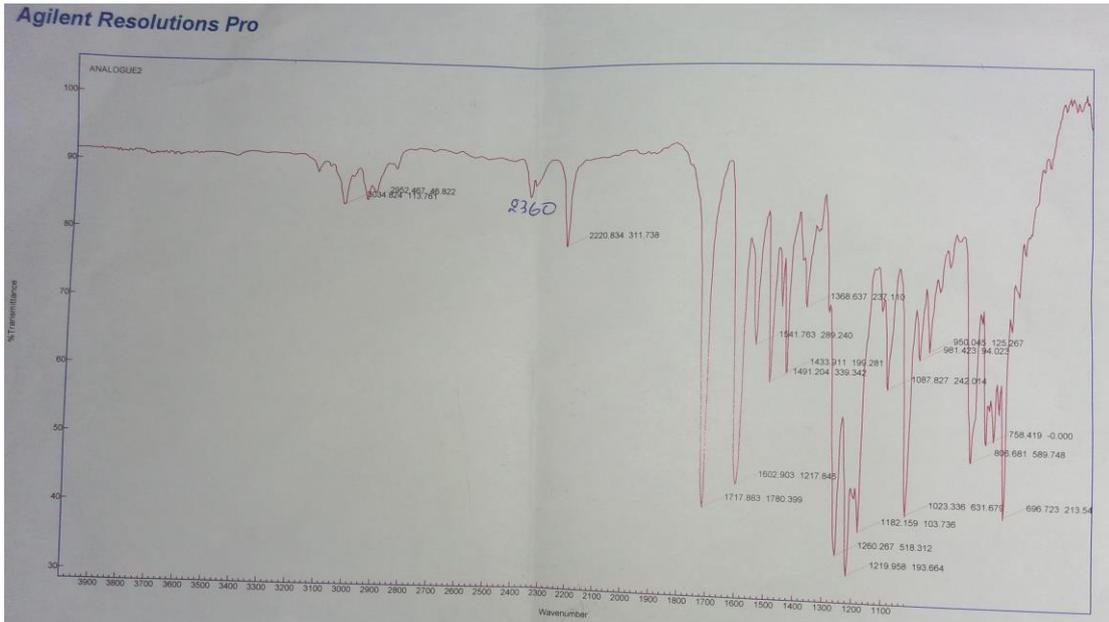
ANNEXE



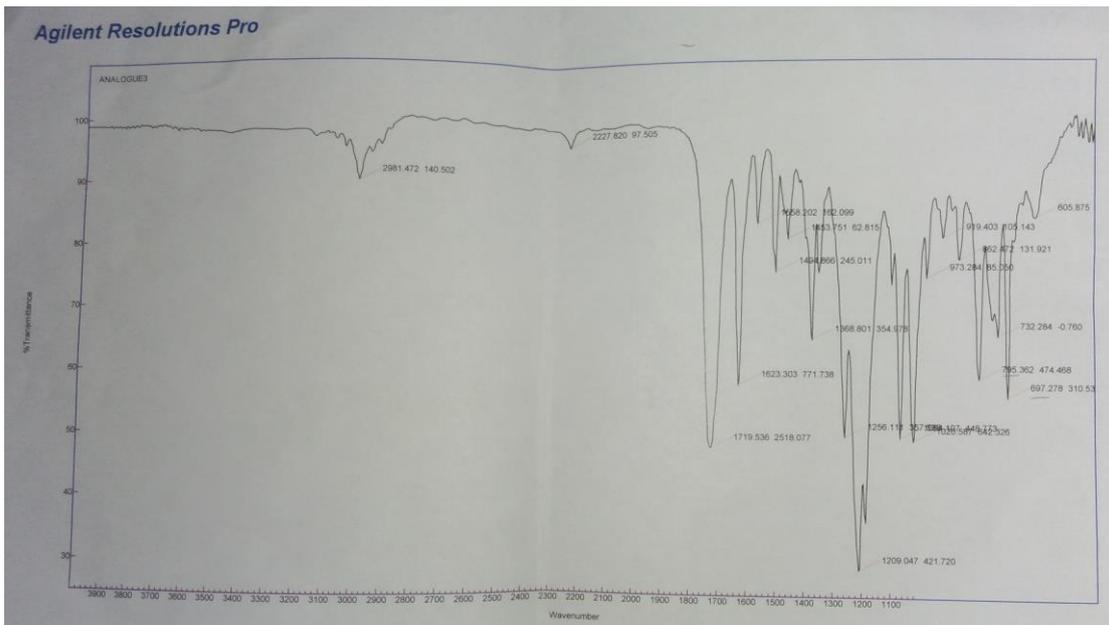
Spectre IR de l'oxyde de carline



Spectre IR de l'intermédiaire CarOx-CHO



Spectre IR de l'analogue 1



Spectre IR de l'analogue 2