

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABOU BEKR
BELKAÏD

FACULTÉ DE MÉDECINE

DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEM



وزارة التعليم العالي

والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد

كلية الطب

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR

L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME : ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE PRÉLIMINAIRE DU
Cotula anthemoides

Présenté par :

BENMANSOUR Yassine
YELLES CHAUCHE Fatima Zohra Rania

Soutenu le 26 / 10 / 2020

Le Jury

Président :

Pr SELKA Med Adil

Professeur à la faculté de médecine

Membres :

Dr KAZI-TANI Choukry

Maître de conférence à la faculté de médecine

Dr BABA-AHMED Sihem

Maître assistante à la faculté de médecine

Encadreur :

Pr DALI-YAHIA M. K.

Professeur à la faculté de médecine

Remerciements

On tient à exprimer nos sincères et vifs remerciements à Monsieur le Professeur DALI-YAHIA M. K, notre encadrant de mémoire pour la confiance qu'il nous a accordée dans la réalisation de ce travail, sa disponibilité, et ses conseils éclairés.

On aimerait également remercier Monsieur le Professeur SELKA Med Adil pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous sommes très honorés de la présence en tant qu'examinateur de Dr KAZI-TANI Choukry, Maître de conférence à la faculté de médecine, on le remercie sincèrement.

On adresse également nos remerciements à Madame, BABA-AHMED Sihem, Maître assistante à la faculté de médecine, pour avoir accepté de juger ce travail.

Nos remerciements les plus forts reviennent également à nos familles

Enfin, on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

A nos chères mères et nos chers pères

A notre bébé attendu

A nos soeurs et frères Khadidja, Ghouti et Wassila

A nos neveux et nièces

A Dr BENMANSOUR Madani

*A tous mes amies : sarra jojo mounia soumia
meriem nadia djihene sanae fati*

A amina chichi et jija

A notre ami imad

A tous nos collègues

Yassine & fatima zohra

SOMMAIRE

| | |
|---|----|
| <i>Remerciements</i> | I |
| <i>Dédicace</i> | II |
| Liste des abréviations | VI |
| Liste des figures | IX |
| Liste des tableaux | X |
| INTRODUCTION | 1 |
| Première partie : Synthèse bibliographique | 3 |
| I. Étude botanique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 4 |
| I.1. Caractères généraux de la famille des Astéracées | 4 |
| I.1.1. La classification des Astéracées..... | 6 |
| I.1.2 Répartition géographique..... | 8 |
| I.1.3 Caractères botaniques généraux des Astéracées | 9 |
| I.1.3.1 Caractères botaniques macroscopiques des Astéracées | 9 |
| I.1.3.2 Caractères botaniques microscopiques des Astéracées | 10 |
| I.2 Caractères généraux du genre <i>Cotula</i> | 11 |
| I.2.1 Classification du genre <i>Cotula</i> | 11 |
| I.2.2 Répartition géographique du genre <i>Cotula</i> | 13 |
| I.2.2.1 Caractères botaniques généraux du genre <i>Cotula</i> | 15 |
| I.2.2.1.1 Caractères macroscopiques..... | 15 |
| I.3 Caractères généraux de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 16 |
| I.3.1 Répartition géographique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 16 |
| I.3.2 Caractères botaniques de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 18 |
| II. Étude phytochimique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 21 |
| II.1 Principaux métabolites secondaires rencontrés chez les Asteraceae | 21 |
| II.1.1 Les lactones sesquiterpéniques | 21 |
| II.1.2 Les flavonoïdes | 21 |
| II.1.3 Les alcaloïdes..... | 21 |
| II.1.4 Les coumarines..... | 22 |
| II.1.5 Les lignanes | 22 |
| II.1.6 Acides-phénols..... | 22 |
| II.2 Principaux métabolites secondaires présents chez le genre <i>Cotula</i> | 23 |
| II.3 Principaux métabolites secondaires connus chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 23 |
| III. L'usage thérapeutique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 24 |
| III.1 Plantes médicinales appartenant à la famille des Astéracées | 24 |
| III.2. Utilisation thérapeutique du genre <i>Cotula</i> | 26 |

| | |
|---|----|
| III.2.1. Pharmacologie du genre <i>Cotula</i> | 26 |
| III.2.2 Médecine traditionnelle du genre <i>Cotula</i> | 27 |
| III.3 Utilisation thérapeutique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 28 |
| III.3.1 Pharmacologie de <i>Cotula anthemoides</i> | 28 |
| III.3.2 Usage traditionnel de <i>Cotula anthemoides</i> | 28 |
| Deuxième partie : Étude pratique (Expérimentale) | 31 |
| I. Matériels et méthodes..... | 32 |
| I.1. Matériel végétal..... | 32 |
| I.1.1. Critères de choix de la plante collectée | 32 |
| I.1.2. Identification botanique de l'espèce étudiée | 32 |
| I.1.3. Zone de collecte..... | 32 |
| I.1.4. Période de collecte..... | 32 |
| I.2. Analyse physico-chimique..... | 33 |
| I.2.1. Screening phytochimique | 33 |
| I.2.2. Analyse par chromatographie sur couche mince..... | 37 |
| I.3. Analyse par UPLC-MS | 39 |
| I.3.1. Préparation des extraits..... | 39 |
| I.3.2. Procédure..... | 39 |
| I.4. Rappel sur la technique d'UPLC-MS..... | 40 |
| I.4.1. La chromatographie liquide LC : | 40 |
| I.4.1.1 Généralités..... | 40 |
| I.4.1.2 Différents types de chromatographie liquide..... | 41 |
| I.4.1.3 Chromatographie liquide haute pression HPLC..... | 42 |
| I.4.1.3.1 Définition | 42 |
| I.4.1.3.2 Différents composants d'une chaîne HPLC..... | 43 |
| I.4.2 La spectrométrie de masse MS: | 48 |
| I.4.2.1 Généralités..... | 47 |
| I.4.2.2 Différents composants d'un spectromètre de masse..... | 48 |
| I.4.2.3 Caractéristiques de la spectrométrie | 49 |
| I.4.3 La technique de couplage UPLC-MS | 51 |
| II. Limites d'étude | 52 |
| II.1. L'analyse macroscopique et microscopique..... | 52 |
| II.2. Screening phytochimique préliminaire..... | 52 |
| II.3. La chromatographie sur couche mince..... | 52 |
| III. Résultats et Interprétations | 52 |
| III.1 Résultats et Interprétations d'UPLC-MS..... | 52 |
| IV. Discussion..... | 55 |

| | |
|--|-----|
| IV.1 Discussion des résultats botaniques | 55 |
| IV.2 Discussion des résultats de l'étude phytochimique préliminaire | 56 |
| CONCLUSION..... | 60 |
| Références | 61 |
| Annexes | 68 |
| Annexe 1 : Phytochimie des Astéracées..... | 68 |
| Annexe 2 : Phytochimie du genre <i>Cotula</i> | 74 |
| Annexe 3 : Principaux métabolites secondaires connus chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 82 |
| Annexe 4 : Chromatogrammes UPLC-MS | 93 |
| Annexe 5 : Exemple de table Excel utilisée pour le calcul de masse moléculaire à partir d'adduits observés dans les spectres de masses ESI..... | 95 |
| Annexe 6 : Spectres de masse correspondants aux principaux pics observés sur les chromatogrammes UPLC-MS..... | 96 |
| Annexe 7 : Les métabolites secondaires suspectés d'être présents dans l'extrait méthanolique de <i>Cotula anthemoides</i> | 102 |

Liste des abréviations

| | |
|----------------|--|
| CCM | : Chromatographie sur Couche Mince |
| UPLC-MS | : Ultra Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry |
| m/z | : Rapport masse sur charge |
| Ac | : Acide |
| MeOH | : Méthanol |
| AcEOt | : Acétate d'éthyle |
| APCI | : Atmospheric pressure chemical ionisation |
| ESI | : Ionisation par électrospray |
| DNP | : Dictionary of natural products |
| PM | : Phase mobile |
| C° | : Degré Celsius |
| KV | : kilovolt |
| UV | : UltraViolet |
| cm | : Centimètre |
| g | : Gramme |
| min | : Minute |
| mm | : Milimètre |
| ml | : Mililitre |
| µm | : Micromètre |
| µl | : Microlitre |
| Mpa | : Mégapascal |
| APG | : Angiosperm Phylogeny Group |

Glossaire des termes scientifiques

- Capitule** : Partie d'une plante formée de fleurs insérées les unes à côté des autres sur l'extrémité élargie du pédoncule, formant une seule fleur
- Aigrette** : Touffe de poils sur les akènes ou les graines de certaines plantes comme le pissenlit, servant à la dissémination par le vent
- Phylogénétique** : Relatif à la phylogénèse, branche de la génétique traitant des modifications génétiques au sein des espèces animales ou végétales
- Akène** : Fruit sec indéhiscent dont les parois sont distinctes de l'unique graine qu'il renferme
- Synapomorphique** : En phylogénétique, un caractère synapomorphique, ou synapomorphie, est un caractère dérivé, partagé par deux ou plusieurs taxons-frères.
- Port** : l'aspect général et le mode de croissance d'une plante.
- Latex** : Est une substance liquide, à consistance plus ou moins épaisse, sécrétée par certaines plantes ou par certains champignons et circulant dans les canaux lactifères.
- Succulentes** : Une plante succulente, est une plante charnue adaptée pour survivre dans des milieux arides du fait des caractéristiques du sol, du climat ou à forte concentration en sel.
- Involucre** : Désigne une collerette d'écaillés ou de bractées libres et compactes ou soudées ensemble à la base d'une inflorescence, notamment chez les Apiacées, ou les Astéracées.
- Pistil** : L'élément végétal qui regroupe les organes reproducteurs femelles d'une fleur
- Liguliflore** : Plante de la famille des composées, n'ayant que des fleurs en languette.
- Androcée** : Ensemble des étamines d'une fleur.
- Clade** : Groupement de plusieurs embranchements de plantes ou d'animaux ayant une organisation et une origine commune.
- Angiosperme** : Plante à fleurs
- Dicotylédone** : Dont la graine a deux cotylédons.
- Corolle** : Ensemble des pétales d'une fleur.

- Décombante** : En botanique qualifie un organe de la plante qui, s'élevant d'abord, retombe ensuite vers la terre.
- Phylarie** : L'une des bractées involucreales sous-tendant le capitule d'une plante composite
- Entorse** : Lésion douloureuse d'une articulation.
- Cataplasme** : Bouillie médicinale que l'on applique, entre deux linge, sur une partie du corps.
- Adduit** : En spectrométrie de masse, l'ionisation d'une molécule.

Liste des figures

| | |
|---|-----|
| Figure 1 : Les sous familles des Astéracées selon la classification phylogénétique | 4 |
| Figure 2 : Position des Astéracées par rapport à la classe des Angiospermes | 5 |
| Figure 3 : Carte de répartition mondiale et la richesse en espèces d'Asteraceae | 8 |
| Figure 4 : Répartition géographique du genre <i>Cotula</i> dans le monde | 13 |
| Figure 5 : Répartition géographique du genre <i>Cotula</i> dans le Nord-Africain | 14 |
| Figure 6 : Répartition géographique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> dans le monde | 16 |
| Figure 7 : Répartition géographique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> dans l'Afrique du Nord | 17 |
| Figure 8 : Photos de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 18 |
| Figure 9 : Dessin schématique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 20 |
| Figure 10 : Schéma d'extraction d'alkaloïdes totaux | 33 |
| Figure 11 : Schéma d'extraction de résidus d'alkaloïdes totaux..... | 34 |
| Figure 12 : Photos de différentes étapes de préparation d'une CCM | 38 |
| Figure 13 : photos des taches des dépôts non colorés après traitement par une lampe UV | 39 |
| Figure 14 : Schéma d'un pic au sein d'un chromatogramme | 41 |
| Figure 15 : Représentation schématique d'une chromatographie..... | 41 |
| Figure 16 : Schéma explicatif de fonctionnement d'un injecteur à boucle d'échantillonnage. | 44 |
| Figure 17 : Schéma de principe de fonctionnement d'une chaîne d' HPLC | 45 |
| Figure 18 : Exemple d'un spectre en ionisation par impact électronique | 48 |
| Figure 19 : Principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse. | 49 |
| Figure 20 : Nombre de formules brutes en fonction de l'erreur de masse. | 50 |
| Figure 21 : Classification des différents genres d'espèces selon les différents tribus de la famille d'Astéracées..... | 56 |
| Figure 22 : Chromatogrammes UPLC-MS en mode positif et en mode négatif de l'extrait méthanolique de <i>Cotula anthemoides</i> | 93 |
| Figure 23 : Chromatogrammes UPLC-MS en mode positif et en mode négatif de l'extrait AcOEt de <i>Cotula anthemoides</i> | 94 |
| Figure 24 : Exemple de table pour le calcul de la masse moléculaire à partir d'adduits observés dans les spectres de masse ESI positif et ESI négatif..... | 95 |
| Figure 25 : Spectres de masses correspondants aux principaux pics de l'UPLC-MS de l'extrait AcEOt de <i>Cotula anthemoides</i> | 96 |
| Figure 26 : Spectres de masses correspondants aux principaux pics de l'UPLC-MS de l'extrait AcEOt de <i>Cotula anthemoides</i> | 97 |
| Figure 27 : spectres de masses correspondants aux principaux pics d'UPLC-MS de l'extrait Méthanol de <i>Cotula anthemoides</i> | 98 |
| Figure 28 : spectres de masses correspondant aux principaux pics de l'UPLC-MS de l'extrait Méthanol de <i>Cotula anthemoides</i> | 99 |
| Figure 29 : spectres de masses correspondants aux principaux pics de l'UPLC-MS de l'extrait Méthanol de <i>Cotula anthemoides</i> | 100 |
| Figure 30 : Spectres de masses correspondants aux principaux pics d'UPLC-MS de l'extrait Méthanol de <i>Cotula anthemoides</i> | 101 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau 1 : La classification phylogénétique APG III des Asteracées | 6 |
| Tableau 2 : La classification classique des Astéracées | 7 |
| Tableau 3 : Classification de Cronquist (1981) du genre <i>Cotula</i> | 11 |
| Tableau 4 : Classification APG III (2009) du genre <i>Cotula</i> | 12 |
| Tableau 5 : Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des Astéracées | 24 |
| Tableau 6 : Pharmacologie du genre <i>Cotula</i> | 26 |
| Tableau 7 : Usage thérapeutique de l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 30 |
| Tableau 8 : Gamme de dilution pour mesurer l'indice de mousse | 36 |
| Tableau 9 : Comparaison entre UPLC et HPLC..... | 46 |
| Tableau 10 : Temps de rétention, données MS et composés présumés à partir de l'extrait de Méthanol des parties aériennes de <i>C.anthemoides</i> | 54 |
| Tableau 11 : les propriétés thérapeutiques des métabolites secondaires probablement présents chez <i>Cotula anthemoides</i> | 57 |
| Tableau 12 : Les principaux acides-phénols présents chez les Astéracées | 68 |
| Tableau 13 : Les principaux coumarines présents chez les Astéracées | 69 |
| Tableau 14 : Les principaux lignanes présents chez les Astéracées | 70 |
| Tableau 15 : Les principaux flavonoïdes présents chez les Astéracées | 71 |
| Tableau 16 : Les principaux lactones sesquiterpiniques présents chez Astéracées..... | 71 |
| Tableau 17 : Les principaux diterpènes présents chez les Astéracées | 73 |
| Tableau 18 : Flavonoïdes présents chez le genre <i>Cotula</i> | 74 |
| Tableau 19 : Germacranolides présents chez le genre <i>Cotula</i> | 76 |
| Tableau 20 : Eudesmanolides présents chez le genre <i>Cotula</i> | 77 |
| Tableau 21 : Guaianolides présents chez le genre <i>Cotula</i> | 77 |
| Tableau 22 : Glaucolides (squelette eudesmane) présents chez le genre <i>Cotula</i> | 78 |
| Tableau 23 : Glaucolides (squelette germacrane) présents chez le genre <i>Cotula</i> | 79 |
| Tableau 24 : Dérivés phénoliques présents chez le genre <i>Cotula</i> | 80 |
| Tableau 25 : Alcaloïdes présents chez le genre <i>Cotula</i> | 81 |
| Tableau 26 : Flavonoïdes présents chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 82 |
| Tableau 27 : Dérivés phénoliques présents chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 84 |
| Tableau 28 : Coumarine présent chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 85 |
| Tableau 29 : Acides présents chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 85 |
| Tableau 30 : Monoterpènes présents chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 86 |
| Tableau 31 : Sesquiterpènes présents chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 89 |
| Tableau 32 : Triterpène pentacyclique présent chez l'espèce <i>Cotula anthemoid</i> | 90 |
| Tableau 33 : Autres composés présents chez l'espèce <i>Cotula anthemoides</i> | 90 |
| Tableau 34 : Structures et masses exactes des métabolites secondaires suspectés chez <i>Cotula anthemoides</i> | 102 |

INTRODUCTION

Les plantes sont considérées comme une origine de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs principes actifs (médicaments) . Parmi environ les 303 000 espèces de plantes terrestres connues(1), 1% d'entre elles ont fait l'objet d'études pharmacologiques dont elles ont conduit à la découverte de nombreux médicaments comme la digoxine , la morphine , l'eucaliptol ... , qui sont incontournables dans le traitement de plusieurs maladies et symptômes (insuffisance cardiaque , douleurs intenses , toux ...) . Il reste donc potentiellement de nombreux principes actifs à découvrir .

La flore algérienne se caractérise par 5128 espèces exotiques surtout des espèces ornementales et de 3139 espèces naturelles , la flore du sahara central compte près de 480 espèces de plantes vasculaires , plus de la moitié d'entre elles sont représentées dans le massif du hoggar (2) avec 30 plantes aromatiques . Plus de 900 espèces algériennes sont rares, très rares ou endémiques, dont certaines n'ont jamais fait l'objet d'études phytochimiques poussées et encore moins d'études pharmacologiques .

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore du sahara Algérien, nous sommes intéressés à l'espèce *Cotula anthemoides* utilisée en médecine traditionnelle et qui fait partie de la famille des Astéracées qui est considérée comme vaste (plus de 400 espèces en Algérie) et riche en plantes médicinales (Chardon-Marie, Camomilles , Artichaut) dont on va démontrer le potentiel thérapeutique de ses métabolites secondaires tout en confirmant son statut de plante médicinale à usage traditionnel.

_ Le présent travail consiste à effectuer

- Un profil phytochimique de l'espèce avec des méthodes physicochimiques sur divers extraits par :
 - Le screening phytochimique , les réactions de précipitation , les réactions colorées , les réactions de fluorescence
 - La chromatographie sur couche mince (CCM)
 - La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (UPLC-MS)
- Faire une corrélation entre nos résultats et les données de la littérature scientifique afin de confirmer l'intérêt thérapeutique de cette espèce

_ Le manuscrit comprend deux parties :

- La première , les données bibliographiques , comportant :
 - Une présentation botanique, la phytochimie, l'usage thérapeutique de la famille des Astéracées, du genre *Cotula* et de l'espèce *Cotula anthemoides*
 - La deuxième partie décrit :
 - « Matériels et Méthodes » en détaillant chacune des expériences menées
 - « Résultats et Interprétations » de nos données expérimentales

- « Discussion » traitant tous nos résultats obtenus par rapport aux données de la littérature scientifique

Première partie
Synthèse
bibliographique

I. Étude botanique de l'espèce *Cotula anthemoides*

Cotula anthemoides c'est une espèce du genre *Cotula* et de la famille des Astéracées, c'est pour ça on va commencer d'abord par la description des caractères généraux de ces deux derniers.

I.1. Caractères généraux de la famille des Astéracées

- Asteraceae (Martinov, 1820) = Compositae (Giseke, 1792)
- Les Astéracées du grec qui signifie étoile « Aster » (3)

Les Astéracées sont subdivisées en 5 sous-famille selon la classification phylogénétique

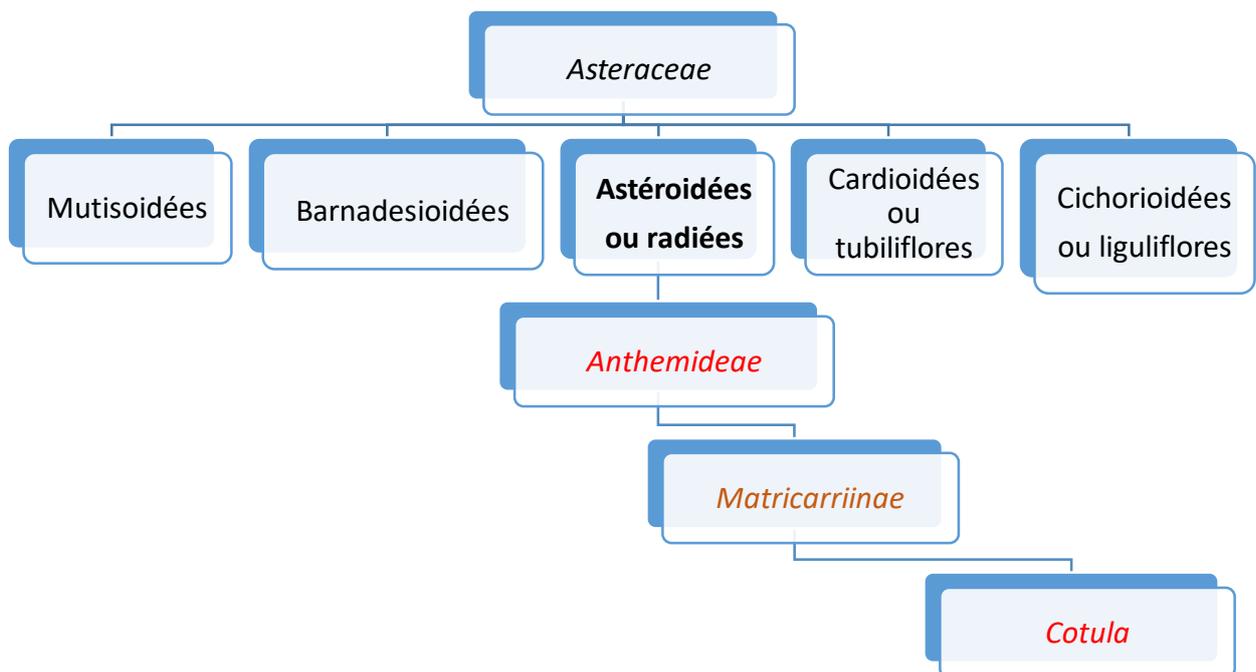


Figure 1: Les sous familles des Astéracées selon la classification phylogénétique (3)

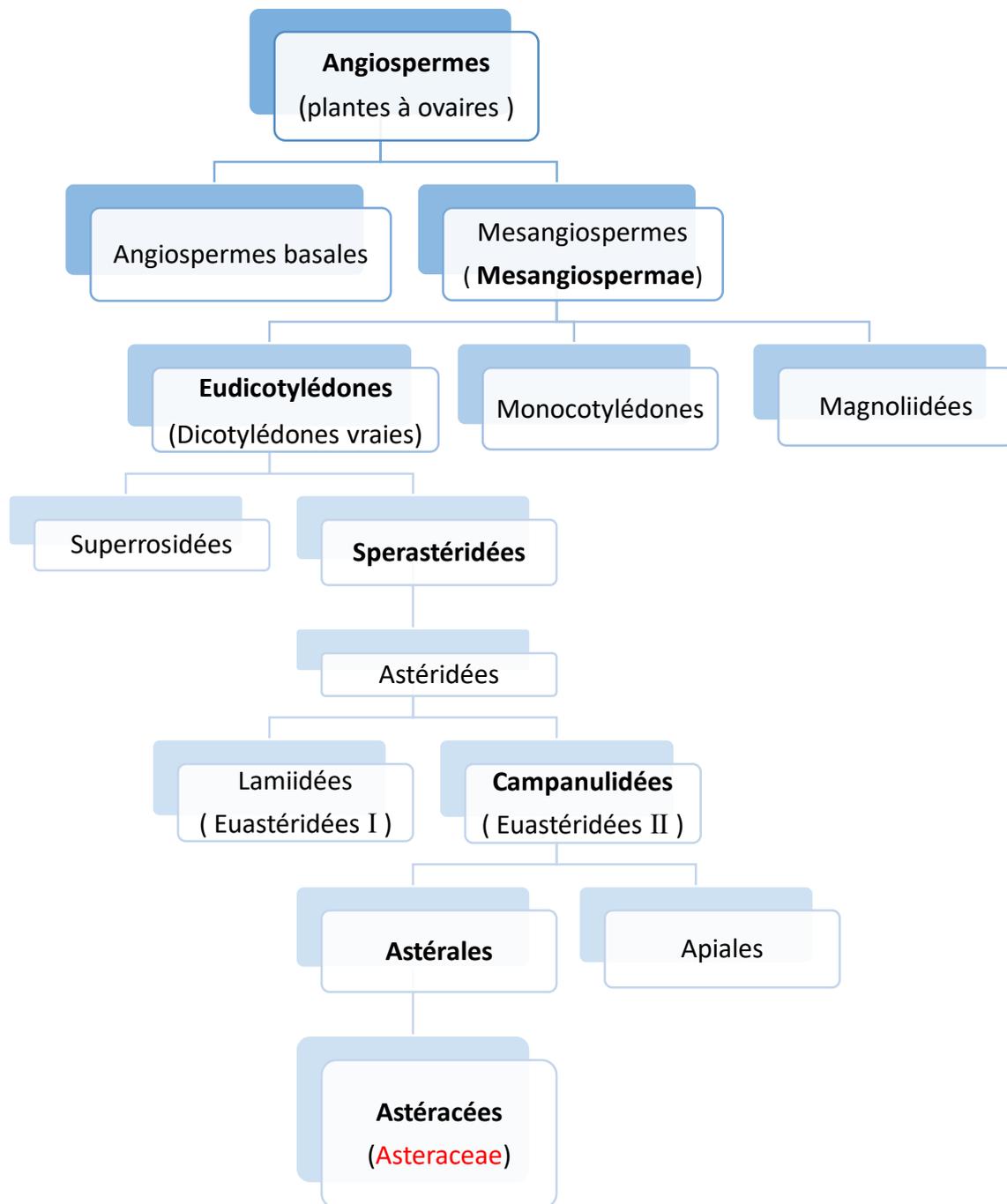


Figure 2 : Position des Astéracées par rapport à la classe des Angiospermes .(4)

I.1.1. La classification des Astéracées

Tableau 1 : La classification phylogénétique APG III des Asteracées (5)

| Classification phylogénétique APG III (2009) | |
|---|----------------------|
| Clade | Angiospermes |
| Clade | Dicotylédones vraies |
| Clade | Astéridées |
| Clade | Campanulidées |
| Ordre | <i>Asterales</i> |
| Famille | <i>Asteraceae</i> |

Tableau 2 : La classification classique des Astéracées (4)

| Classification de Cronquist (1981) | |
|---|----------------------|
| Règne | <i>Plantae</i> |
| Sous-règne | <i>Tracheobionta</i> |
| Division | <i>Magnoliophyta</i> |
| Classe | <i>Magnoliopsida</i> |
| Sous-classe | <i>Asteridea</i> |
| Ordre | <i>Asterales</i> |
| Famille | <i>Asteraceae</i> |

I.1.2 Répartition géographique

- La plus grande famille de plantes dicotylédones
- Comprend près de 23 000 espèces (5)
- 1500 genres décrites dont 750 endémiques (6)
- En Algérie, les Astéracées compte environ :
 - 109 genres
 - Plus de 408 espèces (7)



Figure 3 : Carte de répartition mondiale et la richesse en espèces d'Astéracées (8)

I.1.3 Caractères botaniques généraux des Astéracées

Les Astéracées se caractérisent par les éléments botaniques suivants :

- L'inflorescence est un capitule .
- Les anthères sont syngénésiques, les étamines sont soudées ensemble par les bords de leurs anthères, formant ainsi un tube.
- Les ovules sont à la base de l'ovaire.
- L'ovaire n'a qu'un seul ovule.
- Elles contiennent des sesquiterpènes dans leurs huiles essentielles, mais ne contiennent pas d'iridoïdes .
- Le fruit a généralement une aigrette .
- Le fruit est un achène (ce qui s'écrit également akène ou achaine).

Aucune de ces caractéristiques, prise séparément , ne peut être considérée Comme synapomorphique. (3)

I.1.3.1 Caractères botaniques macroscopiques des Astéracées

Appareil végétatif

Très variable

Port :

Ce sont généralement des herbes , vivaces à quelques exceptions annuelles (*Ageratum conyzoides* , *Acmella oleracea* ...) (9) ou ligneuses telles que des arbustes avec Launée arborescente , *Launaea arborescens*, des lianes avec le Seneçon grimpant, *Delairea odorata* , et plus rarement des arbres avec le Seneçon en arbre, *Baccharis halimifolia*. (10)

Système racinaire :

- Est une racine pivotante (dicotylédones) à ramifications peu nombreuses et quelques fois fibreuses

La tige :

- La tige est généralement dressée mais elle peut aussi être couchée ou plus rarement grimpante, de taille très variable
- Pouvant contenir une sève élaborée laiteuse (latex), quelque fois comestible (11)

Les feuilles :

- Sont sans stipules alternées (*Aster*) ou opposées (*Helianthus*)
- Parfois verticillées (*Eupatorium*)
- Ou regroupées en rosette (*Bellis, Taraxacum*)
- Ils sont principalement simple ,profondément découpées
- Sauf dans les pays tropicaux sont succulentes ou se réduire à des écailles (3)

Appareil reproducteur

Fleur :

Inflorescence :

- De petites fleurs serrées (capitule)
- Entourées d'une collerette de bractées (involucre)

Corolle soudée :

- Soit régulière et en tube
- Soit irrégulière et a deux lèvres (fleurs rayonnantes)
- Ou irrégulière avec languette dentée (fleurs ligulées)

L'androcée :

- Est formée d'étamines à anthères généralement soudées en tube

Gynécée :

- Consiste en un seul pistil composé 2 carpelles d'un seul style à deux fente d'un ovaire inférieur à une loge (locule) ayant un ovule à sa base.
- Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen ; On trouve souvent un nectaire en forme d'écaille ou de petite coup à la base du style. (12)

Fruit : Akène

I.1.3.2 Caractères botaniques microscopiques des Astéracées

- On trouve un liber pérимédullaire ou des faisceaux libéroligneux qui sont médullaires chez les liguliflores
- Et on trouve également des poils tecteurs , des poils sécréteurs et des canaux sécréteurs
- Présence de laticifères articulés en réseau chez les liguliflores dans le liber externe.
- On trouve aussi des cellules sécrétrices isolées , ainsi que des canaux oléifères (3)

I.2 Caractères généraux du genre *Cotula*

Le genre *Cotula* comprend environ 80 espèces généralement des plantes annuelles ou vivaces (13), parfois aquatiques comme *Cotula coronopifolia* (14)

- Trois sont représentées dans la flore saharienne d'Algérie :
Qui sont appelées communautairement "guertoufa"

- *C.anthemoides*

- *C.cinerea*

- *C.coronopifolia* (15)

I.2.1 Classification du genre *Cotula*

Tableau 3 : Classification de Cronquist (1981) du genre *Cotula*

| Classification de Cronquist (1981) | |
|---|----------------------|
| Règne | <i>Plantae</i> |
| Sous-règne | <i>Tracheobionta</i> |
| Division | <i>Magnoliophyta</i> |
| Classe | <i>Magnoliopsida</i> |
| Sous-classe | <i>Asteridae</i> |
| Ordre | <i>Asterales</i> |
| Famille | <i>Asteraceae</i> |
| Genre | <i>Cotula</i> |

Tableau 4 : Classification APG III (2009) du genre *Cotula* (16)

| Classification APG III (2009) | |
|--|--------------------------------|
| Clade | Angiospermes |
| Clade | Dicotylédones vraies |
| Clade | Noyau des dicotylédones vraies |
| Clade | Astéridées |
| Clade | Campanulidées |
| Ordre | <i>Asterales</i> |
| Famille | <i>Asteraceae</i> |
| Sous-famille | <i>Asteroideae</i> |
| Tribu | <i>Anthemideae</i> |
| Sous-tribu | <i>Cotulinae</i> |
| Genre | <i>Cotula</i> |

I.2.2 Répartition géographique du genre *Cotula*

- Dans le monde

Les espèces du genre *Cotula* sont trouvées en Afrique du Sud, en Australie, en Europe et certaines sont également étendues à l'Asie, l'Amérique du Sud, l'Amérique du Nord et l'Afrique du Nord.

L'évolution de la signalisation des espèces du genre *Cotula* au fil des années (1770-2020) est proportionnelle au changement de la couleur des points du plus claire au plus foncé

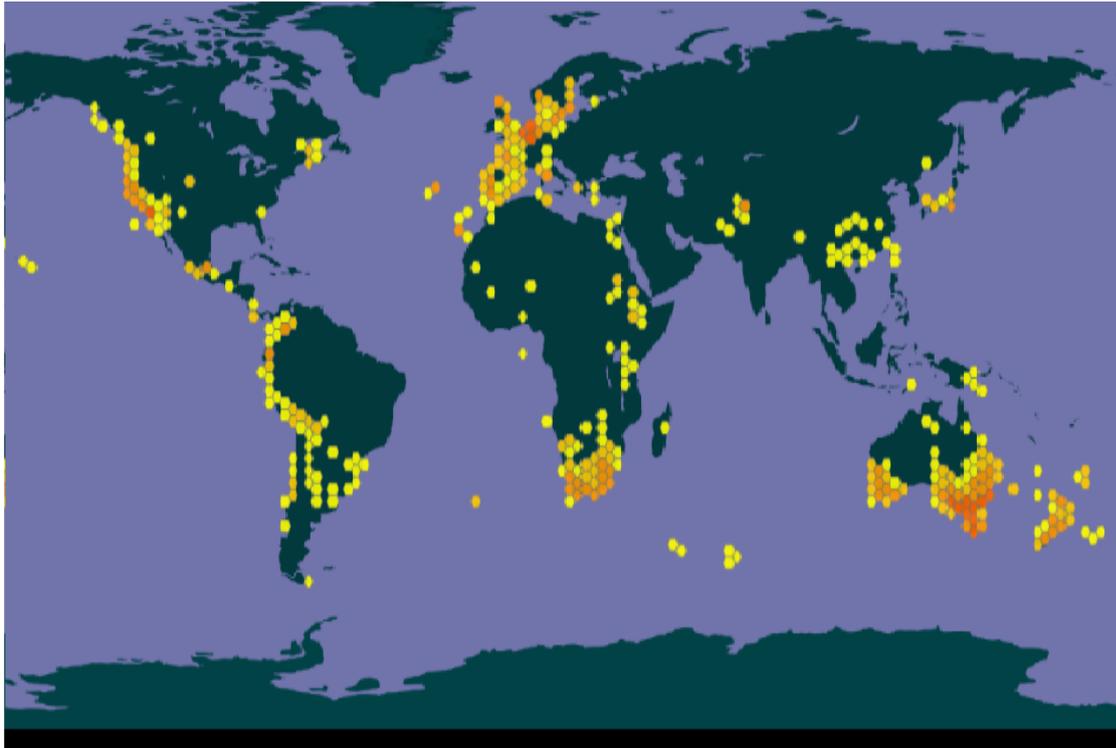


Figure 4 : Répartition géographique du genre *Cotula* dans le monde (17)

- En Afrique

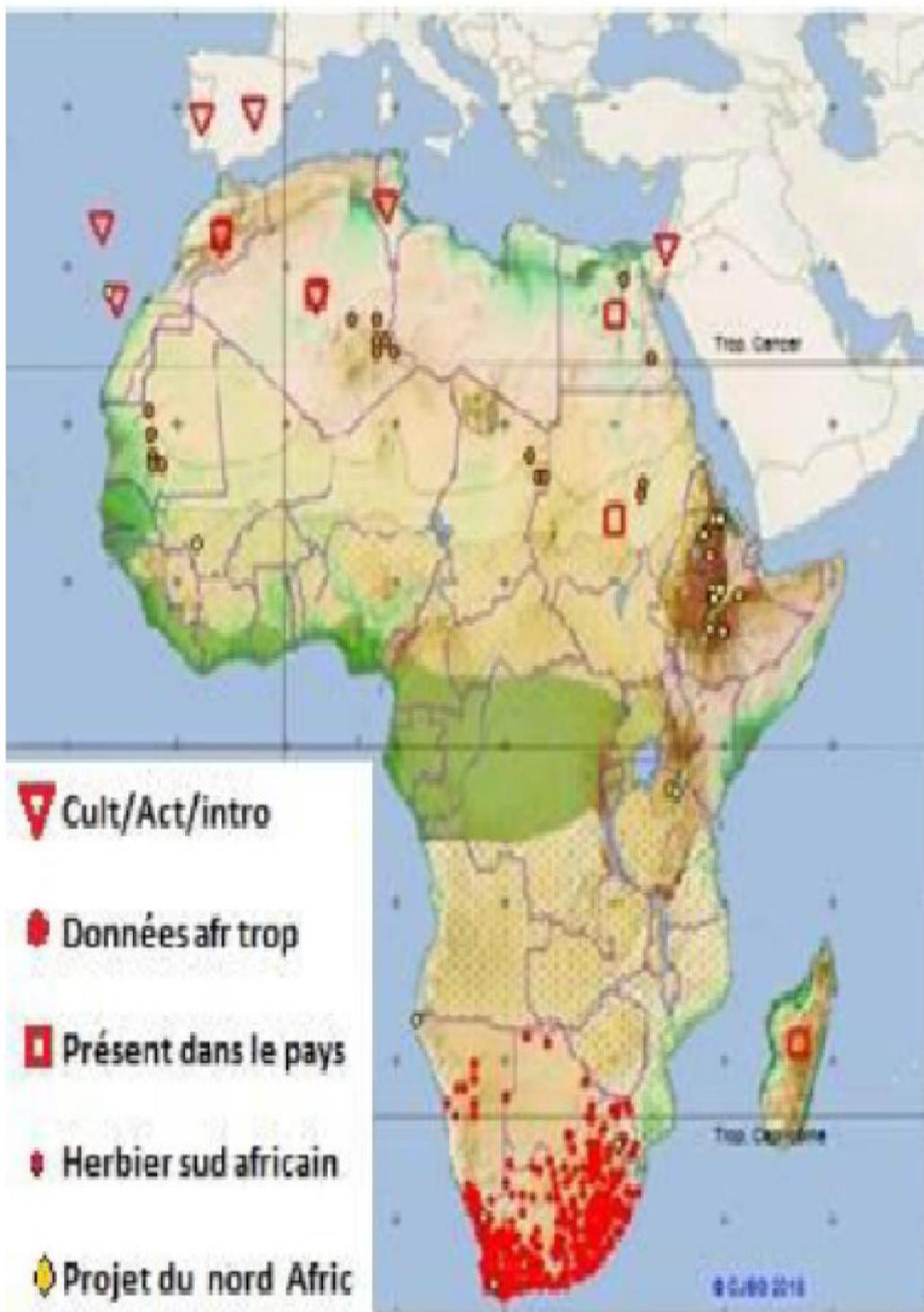


Figure 5 : Répartition géographique du genre *Cotula* dans le Nord-Africain (Source: CJB&SANBI, 2012)

1.2.2 Caractères botaniques généraux du genre *Cotula*

1.2.2.1 Caractères macroscopiques

Appareil végétatif

Port:

Herbes poilues annuelles ou vivaces à croissance lente, le plus souvent parfumées et velues.

Feuilles

- Alternes, parfois opposées ou rosulées.
- Pinnatifides ou pinnatisectes
- Rarement non divisées

Appareil reproducteur

Fleur :

- Involucre bi-sérié, phyllaries sub-égaux, marge scarieuse .
- Capitule petit à médiocre, pédonculé, hétérogames ou homogames, disciforme ou discoïde, rarement rayonnant, terminal solitaire.
- Réceptacle plat à conique.
- Externes ou rayons femelles, uni- à multi-sériés, plus nombreuse que les fleurons discoïdes.
- Corolle courte, sans ou avec ,2-4 dents, conique. Disc-fleurons bisexués, peu pédicellés, fertiles ou stériles, avec un tube jaune à 4 dents.
- Anthères obtus , entiers , ovés-appendiculaires .
- Branches de style obtuses ou tronquées, incluses.

Fruit:

- Akènes souvent ailés , glabres, à 1-4 nervures et chauves. (18)

I.3 Caractères généraux de l'espèce *Cotula anthemoides*.

- Une plante également connue sous les noms vernaculaires :
 - Al Ouazwaza
 - El guertoufa (Ozenda1958)
- Ses synonymes :
 - *C.dichrocephala* Sch.Bip. exA.Rich
 - *C.microcephala* DC
 - *C.chinensis* Kitam *C.chinensis* Kitam
 - *Artemisia nilotica* L (19)

I.3.1 Répartition géographique de l'espèce *Cotula anthemoides*.

- Une plante qui pousse dans les sols peu ensablés
- Très fréquente au Sahara septentrional et Sahara central d'Afrique. Aussi connue dans les régions du Sud d'Afrique
- Egalement localisée dans le Nord de l'Inde, Sud-Ouest de la Chine
- Rare en Algérie (Tassili des Ajjers) (20)

- **Dans le monde**



Figure 6 : Répartition géographique de l'espèce *Cotula anthemoides* dans le monde (17)

- En Afrique

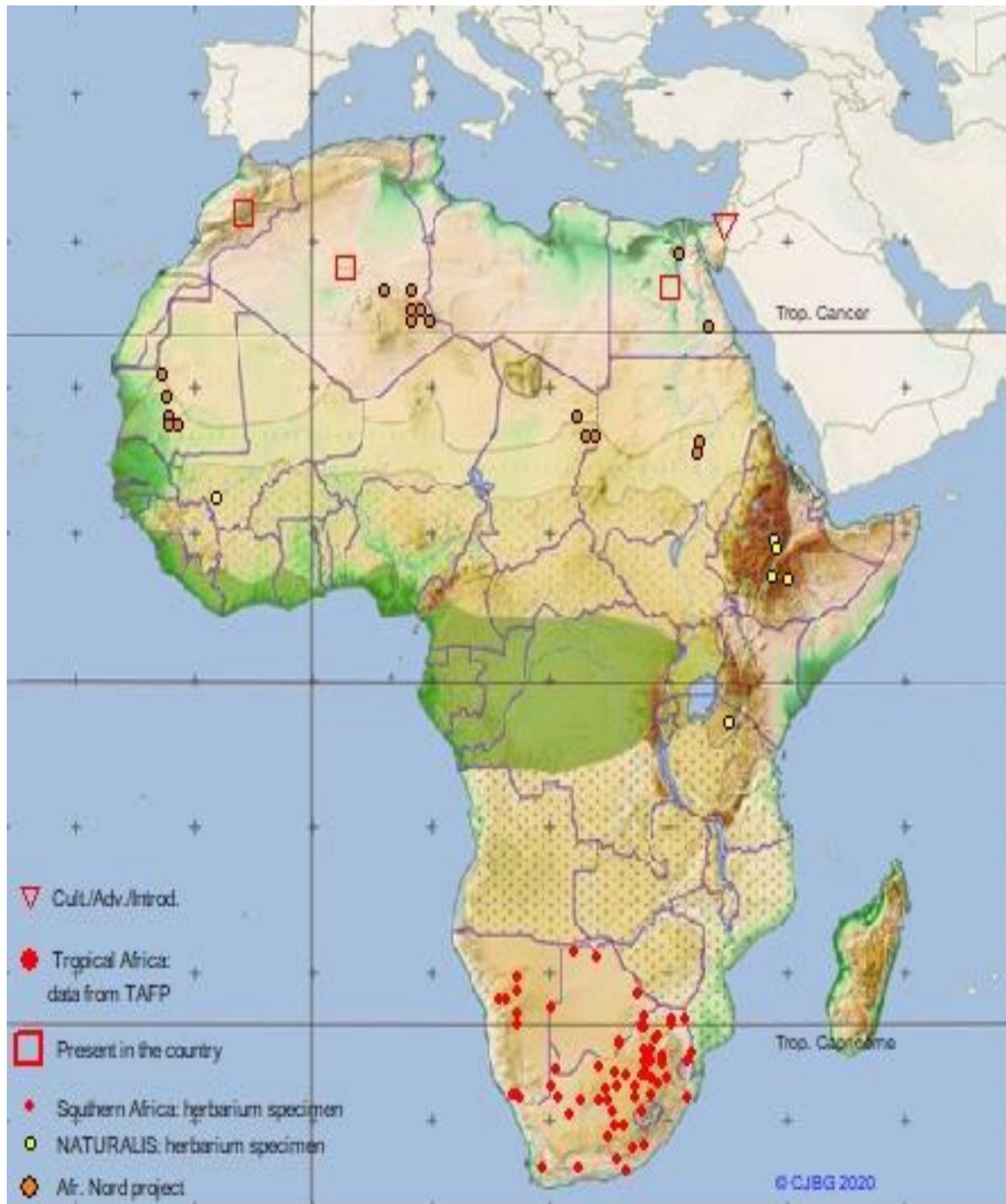


Figure 7: Répartition géographique de l'espèce *Cotula anthemoides* dans l'Afrique du Nord (21)

I.3.2 Caractères botaniques de l'espèce *Cotula anthemoides*

I.3.2.1 Caractères macroscopiques



Figure 8 : Photos de l'espèce *Cotula anthemoides*

Appareil végétatif

Port :

- Plante herbacée glabre vert pâle , procumbente ou décombante , à plusieurs branches
- Annuelle, terrestre , très petite.droite jusqu'à 30 cm

Racine

- pivotante portant des tiges partiellement ligneuses au niveau du collet

Feuilles

- Alternes , ovales-oblongues , pinnatisectes à 2 pinnatis avec :
- Des lobes dentés
- Lancéolées dans leur contours
- Pétiole semi-amplexicaule

Appareil reproducteur

Fleur :

- Fleurons externes femelles avec une corolle discrète, c'est deux fois plus longue que celles des corolles à fleur-disque, fertiles.
- Disque-fleurons bisexaul, fertile , avec .2 mm de long, ± corolle campanulée, fertile

Pédoncule

- De 4 - 5 cm de long

Capitule

- Subglobuleuse jaune , 4 - 6 mm de diamètre , solitaire sur filiforme

Fruit:

- Akène à aigrette nulle ou variable

Floraison :

- En mars-juillet. (22)



Figure 9 : Dessin schématique de l'espèce *Cotula anthemoides* (23)

II. Étude phytochimique de l'espèce *Cotula anthemoides*

II.1 Principaux métabolites secondaires rencontrés chez les Asteraceae

Cette grande famille botanique se caractérise par son aptitude à synthétiser plus de 800 flavonoïdes différents, regardés par certains auteurs comme des marqueurs chimiotaxonomiques pertinents dans la classification des espèces au sein des Astéracées (24)(25), au même titre que les lactones sesquiterpéniques (26)

Les métabolites secondaires élaborés par les espèces de cette famille sont capables de les prémunir efficacement contre les prédateurs, semble s'orienter de plus en plus vers les lactones sesquiterpéniques (26) (27), les diterpènes, les triterpènes et les dérivés polyacétyléniques, en abandonnant la voie classique des alcaloïdes.

Pratiquement, les alcaloïdes pyrrolizidiniques sont seulement élaborés chez quelques espèces d'Astéracées comme *Tussilago farfara*, *Eupatorium cannabinum*, *Senecio vulgaris* et *Senecio jacobaea*. (28)

II.1.1 Les lactones sesquiterpéniques

Ce sont des sesquiterpènes à fonction lactone, elles sont très majoritaires chez les Astéracées et souvent localisées dans les poils sécréteurs situés au niveau des tiges, des feuilles et des bractées de l'inflorescence (29), par exemples : Tussilagone (*Tussilago farfara*), Hélénaline (*Arnica montana*), Cnicine (*Cnicus benedictus*), Artémisinine (*Artemisia annua*), Alantolactone (*Inula helenium*) et Ambrosine (*Ambrosia maritima*) (**Annexe 1**) (**Tableau 16**)

II.1.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes se caractérisent par une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones, elles sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation (30), exemples : Apigénol et Lutéolol isolés chez *Chamaemelum nobile* (**Annexe 1**) (**Tableau 15**)

II.1.3 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes de nature basique qui présentent généralement des effets physiologiques puissants, ce sont la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique (31), ils sont présents chez certaines espèces d'Astéracées comme *Achillea millefolium* (32)

II.1.4 Les coumarines

Les coumarines sont des produits naturels qui se trouvent chez certaines espèces d'Astéracées comme *Hieracium pilosella* (Ombelliférone) (**Annexe 1**) (**Tableau 13**) et *Achillea millefolium* (32)

II.1.5 Les lignanes

Il y a principalement la silydianine, la silychristine et la silybine dont cette dernière est le principal constituant actif d'un mélange de flavonolignanes (silymarine) extraits de Chardon-Marie (*Silybum marianum*) (**Annexe 1**) (**Tableau 14**)

II.1.6 Acides-phénols

Plusieurs acides-phénols peuvent se retrouver simultanément chez la même espèce comme le cas de *Cynara scolymus* (acide chlorogénique, cynarine et acides caféylquiniques) et *Solidago virgaurea* (virgauréoside, léiocarposide) (**Annexe 1**) (**Tableau12**)

II.2 Principaux métabolites secondaires présents chez le genre *Cotula*

L'espèce égyptienne *C.cinerea* a fait l'objet d'une étude chimique qui a permis d'identifier trois flavonoïdes : Kaempferitine, Quercétrine, Quercétine

Une autre étude chimique sur les parties aériennes de *C.cinerea* qui a abouti à l'isolement de la Lutéoline et ses dérivées ainsi que L'apigénine-7-O- α -L-rhamnoside et isoschaftoside (**Annexe 2**) (**Tableau 18**)

Une étude phytochimique Algérienne réalisé sur les parties aériennes de *Cotula cinerea* a conduit à l'identification d'un Germacranolide et 17 flavonoïde : Chrysofenol-D, Chrysofenetine, Oxyaniline-B, Axillarine, Quercétine et ces dérivé, Pedaletine, Isokaempferid, Apigénine et ces dérivé, Lutéoline et ces dérivé, Glucosylrhamnetine, 7-O- α -Dglucosylaxillarine (**Annexe 2**)

Une étude de la plante *Cotula cornopifolia* a permis d'isoler deux alcaloïde : Cotuzine A et B et un dérivé phénolique : courimen (**Annexe 2**) (**Tableau 25**)

Un nouveau isoflavonoïde : 3beta-isovaleryloxycoestunolide a été isolé de l'espèce *Cotula hispida* (**Annexe 2**)

Une autre étude effectuée sur *Cotula cinerea*, poussant en Egypte à identifier cinq sesquiterpènes dont quatre germacranolide et un guaianolide et autres sesquiterpènes lactones parmi eux : deux eudesmanolides, cinq guaianolides et sept glaucolides (**Annexe 2**)

En 1968 une étude porté sur sept espèce du genre *Cotula* de l'Australie deux composées ont été isolés de *C.bipinnata*, trois de l'espèce *C.filicula* et un composé de *C.plumosa* (**Annexe 2**)

II.3 Principaux métabolites secondaires connus chez l'espèce *Cotula anthemoides*

L'espèce *C.anthemoides* a été très peu étudiée chimiquement selon la recherche bibliographique. Une étude réalisé sur les graine a permis d'identifier un isoflavonoïde glycoside et un flavone (**Annexe 3**) (**Tableau 26**)

En 2012 une étude phytochimique a abouti à mettre en évidence 5 composés : Methoxy-2-oxo-2H-chromene-8-carboxylic acid methyl ester, l'acide Gibberlie, l'acide Urosolique, Coumarin, alpha-Pinene (**Annexe 3**)

Une autre étude chimique réalisé en 2018 a permis d'isolé 6 flavonoïde dont 5 flavones glucosylé et un flavonol glucosylé nouveau dans règne végétale, trois dérivés phénolique, un phénolglucosylé, dérivé d'un Acide tubéronique, acide propanoïque et un nucléoside (**Annexe 3**) (**Tableau 26,27**)

III. l'usage thérapeutique de l'espèce *Cotula anthemoides*

III.1 Plantes médicinales appartenant à la famille des Astéracées

Si les Labiées (sauges, menthes...) sont bien connues, les Astéracées le sont moins mais offrent cependant une variété de plantes dont on peut faire des infusions, des décoctions, des macérations, des extraits aqueux ou hydroalcooliques à usage médicinal.

À l'exception de quelques cas rares (tussilage, absinthe, séneçon) leur utilisation en automédication ne présente pas de risque particulier. Pour des usages internes, les Astéracées nous offrent des plantes bien utiles surtout pour la digestion et pour soulager le foie, parmi ces nombreuses plantes médicinales (33), on va citer quelques espèces dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille d'Astéracées (3)

| Nom en français | Nom scientifique | Usage thérapeutique |
|-------------------------|-----------------------------|--|
| Le Chardon-Marie | <i>Silybum marianum</i> | Traitement des hépatites toxiques et virales, les cirrhoses , désintoxication alcoolique |
| La Camomille romaine | <i>Chamaemelum nobile</i> | Stomachique, anti-inflammatoire, effet locale comme adoucissant et antiprurigineux |
| L'Armoise commune | <i>Artemisia vulgaris</i> | Stimuler l'appétit , emménagogue |
| L'Aurône mâle | <i>Artemisia abrotanum</i> | Troubles hépatiques, diurétique, stimulant aromatique |
| L'Achillée millefeuille | <i>Achillea millefolium</i> | Antispasmodique digestive, anti-inflammatoire |
| La Grande Camomille | <i>Tanacetum parthenium</i> | Préventive des crises migraineuses, douleurs des règles |
| La Verge d'or | <i>Solidago virgaurea</i> | Diurétique, anti-inflammatoire, analgésique |
| La Grande Bardane | <i>Arctium lappa</i> | Traitement de la furonculose, l'acnée et certaines dermatoses grâce à ses propriétés antimicrobiennes et antifongiques |

| | | |
|-------------|------------------------|--|
| L'Artichaut | <i>Cynara scolymus</i> | Cholérétique aide à traiter les troubles hépatobiliaires, diurétique , facilite le transit intestinale, combattre le cancer du foie et du côlon, réduit les risques d'anomalies du tube neural chez le fœtus |
|-------------|------------------------|--|

III.2. Utilisation thérapeutique du genre *Cotula*

III.2.1. Pharmacologie du genre *Cotula*

Tableau 6 : Pharmacologie du genre *Cotula* .

| Espèce | Activité pharmacologique | Partie étudiée | Référence |
|-----------------------------|--|--|-----------|
| <i>Cotula coronopifolia</i> | Antibactérienne Antifongique | Extrait+le principe actif isolé (6-méthoxy-1-benzafuran-4-ol) | (34) |
| | Antioxydante Antifongique | Extrait de l'huile essentielle | (35) |
| <i>Cotula cinerea</i> | Anticorrosive Inhibiteur efficace avec un pourcentage d'inhibition de (95%) | Extrait de feuilles | (36) |
| | Antibactérienne : une sensibilité élevée a la souche d' <i>Escherichia coli</i> et <i>staphylococcus aureus</i> jusqu'à la concentration 1/8 | Extrait de l'huile essentielle | (37) |
| | Molluscicide : actif contre <i>Bulinus truncatus</i> | Extrait d'éther éthylique Extrait d'acétate d'éthyle Extrait de n- butanol | (38) |
| | Larvicide : élevée contre les larves de moustique <i>Anophèles labranchiae</i> | Extrait aqueux Extrait d'alcool Extrait de latex | (39) |
| | Antipyrétique | Extrait de n-butanol Extrait d'acétate d'éthyle | (40) |
| | Antiparasitaire Anticandidal : contre <i>Candida albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. glabrata</i> et <i>C. parapsilosis</i> | Extrait de l'huile essentielle isolée des parties aériennes | (41) |

| | | | |
|----------------------------------|--|----------------------------------|------|
| | Analgésique | Extrait d'éther éthylique | (42) |
| | Analgésique Cytotoxique Antioxydante Peut être considérée comme une source de nouveaux agents anti-tumoraux | Extrait des composés phénoliques | (43) |
| <i>Cotula hemisphaerica wall</i> | Anti-inflammatoire Antimicrobienne Antalgique Antiprotozoaire | Extrait aqueux | (44) |
| | Contraceptive masculine | Extrait éthanolique | (45) |

III.2.2 Médecine traditionnelle du genre *Cotula*

- En médecine traditionnelle marocaine utilisait *Cotula cinerea* , « Al gartoufa » , pour le traitement du système digestif et comme anti-inflammatoire, antalgique et antiseptique (46)
- Elle est indiquée aussi pour les coliques, les diarrhées, la toux et le refroidissement broncho-pulmonaire ; la plante est généralement appliquée sous forme de décoction , macération .(47)
- Dans le Sahara algérien plus précisément à Ouargla , *Cotula cinerea* est destinée contre la colique , la diarrhée , la toux , le rhumatisme et la stérilité (48)
- La plante est également utilisée dans le traitement de la fièvre et la toux, et sous forme de cataplasmes contre maux de tête et migraine (49)

III.3 Utilisation thérapeutique de l'espèce *Cotula anthemoides*

III.3.1 Pharmacologie de *Cotula anthemoides*

- L'investigation biologique de l'espèce *Cotula anthemoides* a révélé que l'huile essentielle a un effet antibactérien sur les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* .
- Les extraits de *C.anthemoides* possèdent une meilleure inhibition contre l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase ce qui peut être expliqué par la richesse de *C.anthemoides* en polyphénols . (50)

Ceci est confirmé par une étude effectuée par Kim et al sur des polyphénols, suggère que ces composés pourraient être utiles dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (51)

III.3.2 Usage traditionnel de *Cotula anthemoides*

En alimentation :

Guertoufa (camomille sauvage du désert) est une plante aromatique et potagère qui s'invite durant le mois de RAMADHAN comme une épice dans les assiettes de chorba, Harira ou El-Hassa, plats incontournables pour rompre le jeûne dans le sud algérien (52)

Au maroc les nomades l'utilisent aussi pour conserver le beurre fondu :

Le beurre liquide est filtré sur un entonnoir tapissé avec un paquet de plantes dont il entraîne au passage les principes liposolubles conservateurs et l'arôme . (53)

En thérapeutique :

Tableau 7 : Usage thérapeutique de l'espèce *Cotula anthemoides*

| Usage | Forme galénique | Mode d'emploi | Pays | Référence |
|---|--|--|------------------------------------|-----------|
| Traitement des engelures (soulager démangeaisons et gonflements intenses) | Décoction de la plante entière | Les parties du corps affectées sont trempées dans cet extrait pendant environ 15 minutes au coucher tous les jours pendant 5-6 jours | Inde (bandipora nord du cachemire) | (54) |
| Maux de tête, fièvre, douleurs musculaires, perte de cheveux, douleurs articulaires et entorses | | | | (55) |
| Fracture osseuse | L'appâtage des parties aériennes | Appliqué sur les os fracturés et attaché avec de la laine pendant toute la nuit pendant 5 à 10 jours | Inde (Shopian, kashmir) | (56) |
| Rhumatisme | La partie aérienne est broyée et transformée en pâte avec de l'eau tiède | Appliqué à l'extérieur au coucher pendant une semaine | | |
| | Toutes la plante chauffée à l'huile de moût et à la décoction | Appliqué à l'extérieur sur les parties affectées 2-3 fois par jour | (57) | |

| | | | | |
|---|-------------------|---|---|------|
| Troubles pulmonaires Troubles gastrique | Infusion | | Afrique du sud | (58) |
| Bouille Ulcère Acné Bouton avec un accent particulier sur la maladie des escarboucles | La plante entière | Additionée seulement au miel ou mélangé à d'autres plantes médicinales | Inde (Purulia du Bengale occidental) | (59) |
| Enrichit la gonorrhée Sanguine L'ophtalmie Les maux de tête Les douleurs thoracique La gale | Fleurs | | Inde (rajasthan « pays des rois » nord-ouest de l'Inde) | (60) |
| Toutes les douleurs | Huile | | | |
| Douleurs dentaires et gingivales | feuilles | Les feuilles fraîches ou séchées sont utilisées en frictions sur les gencives | Maroc (draà) | (53) |

Deuxième partie Étude pratique (Expérimentale)

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériel végétal

C'est la partie aérienne de *Cotula anthemoides* espèce aromatique saharienne

I.1.1. Critères de choix de la plante collectée

Ce choix est basé sur trois critères :

- **Critère organoleptique**

Afin de valoriser une plante aromatique

- **Critère ethnobotanique**

Une utilisation en médecine traditionnelle de cette plante est connue. Ce pouvoir pharmacologique peut être prouvé, si on confirme la présence de certains composés.

- **Critère chimio taxonomique**

Les espèces du genre *Cotula*.

I.1.2. Identification botanique de l'espèce étudiée

Pour s'assurer de l'identité botanique de nos échantillons, nous les avons comparés avec des spécimens présents au niveau laboratoire de pharmacognosie et nous nous sommes confirmés par les clés mentionnées dans les flores, tel que :

- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Quezel & Santa, 1963)

- Flore du Sahara (Ozenda, 1977)

I.1.3. Zone de collecte

Aïn sefra, une commune de la wilaya de Naâma, située dans le Nord-Ouest d'Algérie

I.1.4. Période de collecte

L'échantillonnage des parties aériennes de la plante a été effectué au moment de la floraison par notre encadrant Pr DALI YAHIA M.K.

I.2. Analyse physico-chimique

I.2.1. Screening phytochimique

- Caractérisation des alcaloïdes

Préparation des extraits :

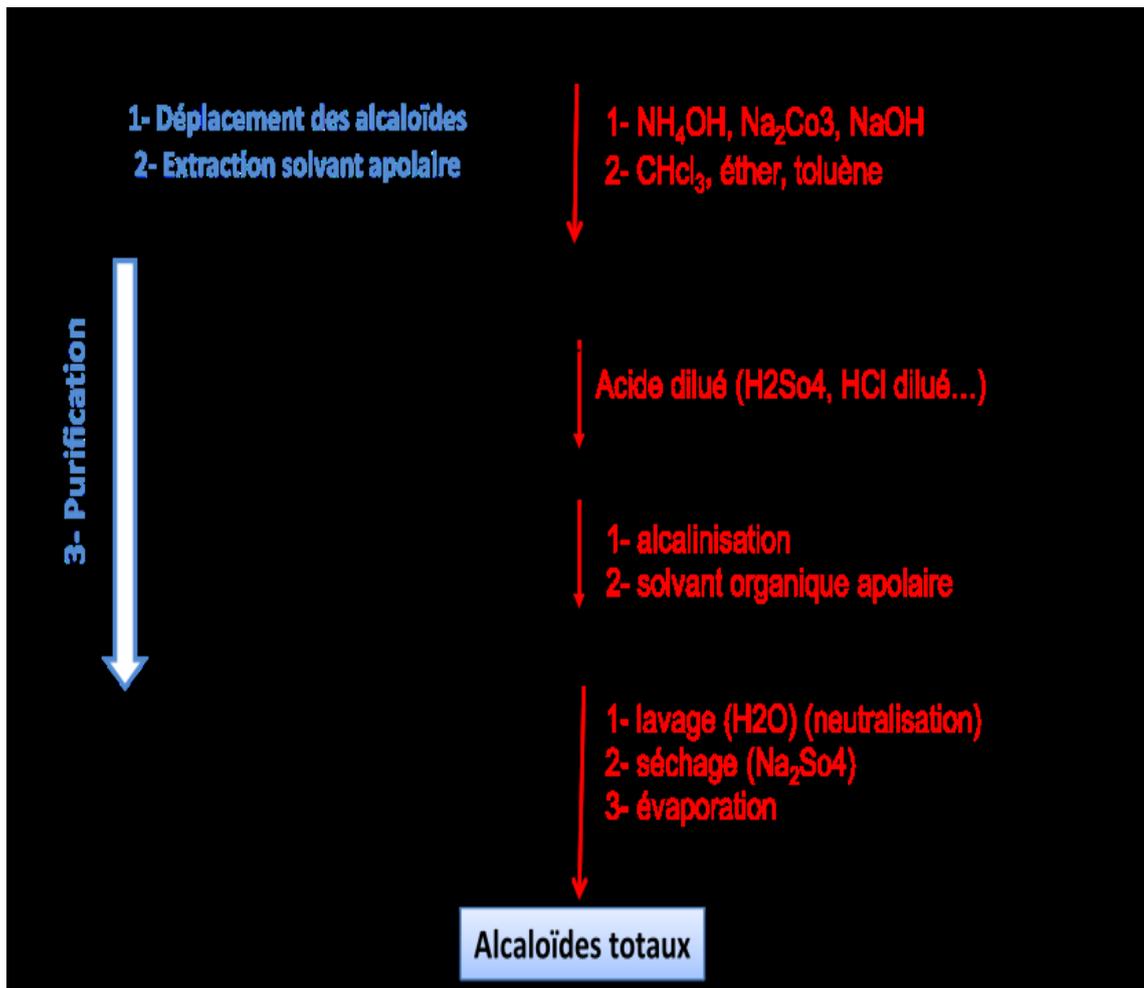


Figure 10 : Schéma d'extraction d'alcaloïdes totaux

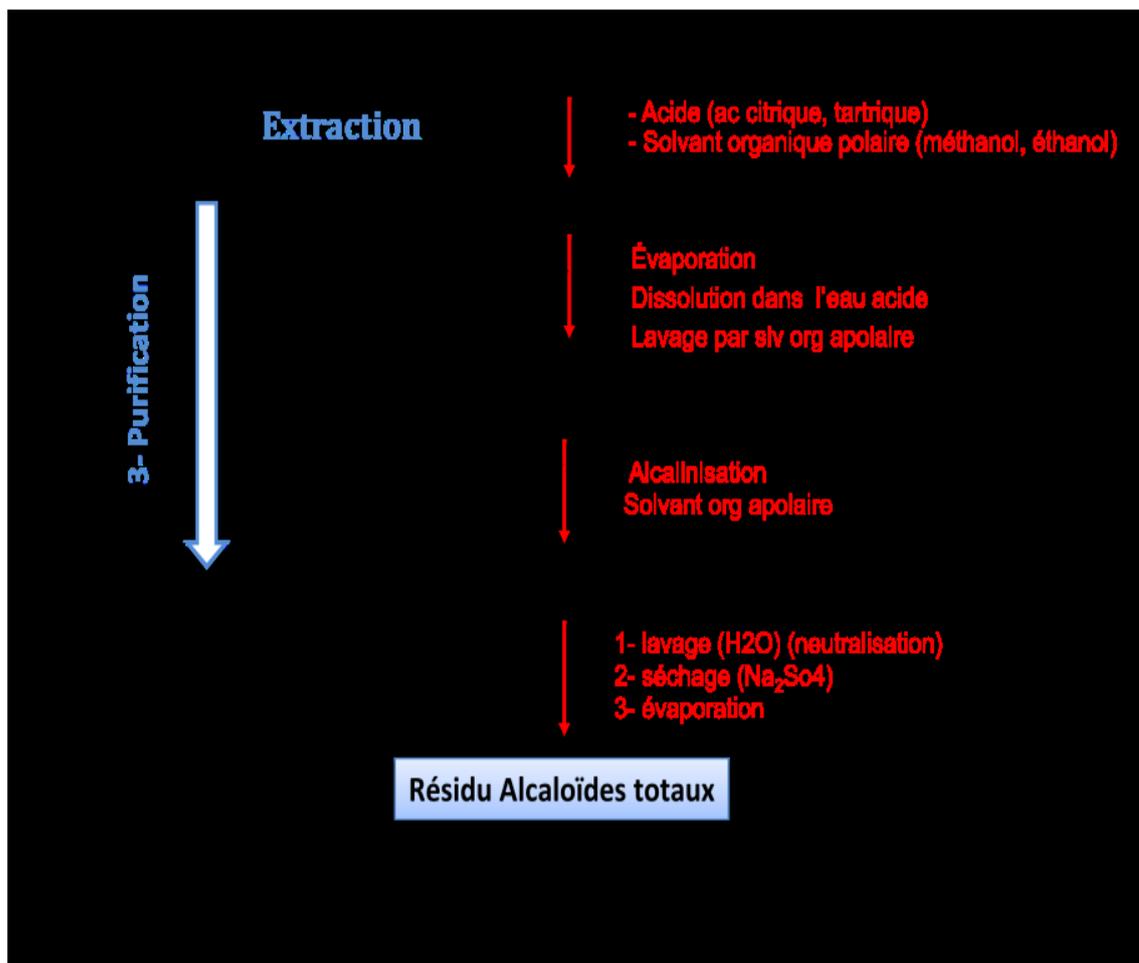


Figure 11 : Schéma d'extraction de résidus d'alcaloïdes totaux

Protocole :

La caractérisation générale des alcaloïdes s'effectue par les réactions de précipitations (Dragendorff, Mayer, Bouchardat) sur un extrait aqueux acide de la drogue, les précipités obtenus donnent une idée de la teneur de la drogue en alcaloïdes

- **Caractérisation des tanins**

Extraction :

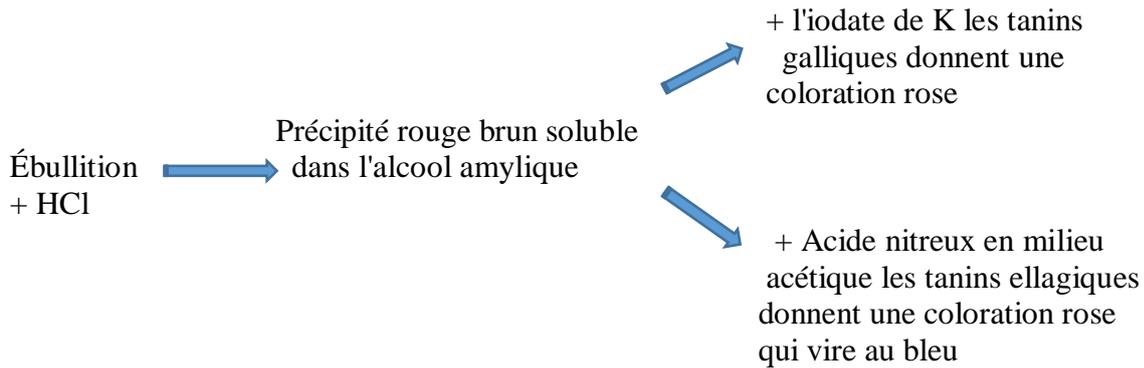
Mélange d'eau et d'acétone → Distillation → Purification de la solution extractive par le dichlorométhane.

Protocole :

Tanins galliques et ellagiques FeCl₃ précipité bleu noir
 Tanins condensés → Précipité brun verdâtre

Tanins cathéchiques Ebullition 15 min précipité
 Réactif de Stiasny + Formol + HCl

Réaction de bate-smith :

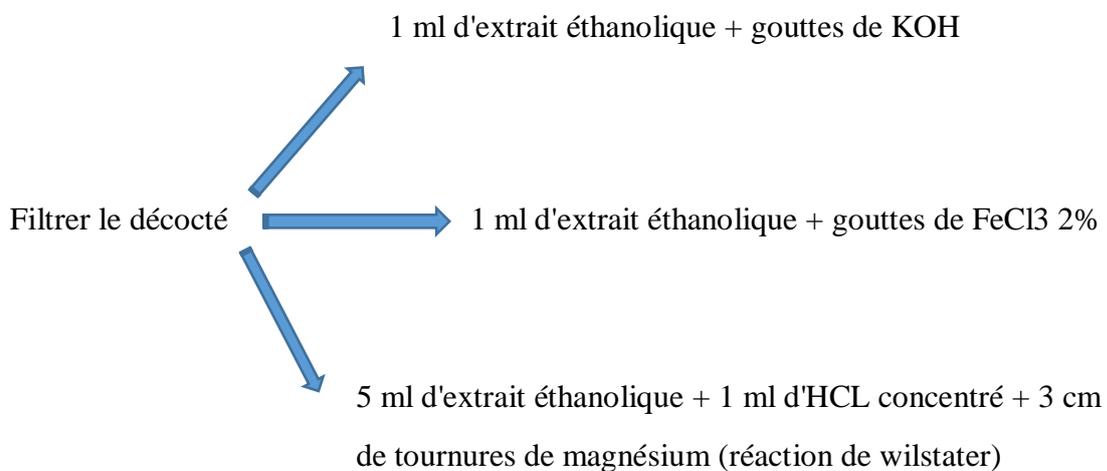


- **Caractérisation des flavonoïdes et des polyphénols**

Extraction :

Préparation d'un décocté éthanolique à 10% (10 min au reflux)

Protocol :



- Milieu alcalin → Coloration jaune naturelle des flavonoïdes est exalté

- La réaction de wilstater →
Flavonones : Rouge violacée
Flavonols : Rouge cerise
Flavones : Orange

- Noyaux phénoliques + FeCl₃ →
Noyau phénol : Coloration violette
Noyau cathécol : Coloration verte
Noyau pyrogallol : Coloration rouge

- **Caractérisation des coumarines**

Extraction :

L'extraction des coumarines s'effectue par l'alcool et les solvants organiques, on peut les isoler à l'état de complexes plombiques.

Protocol :

- La CCM des drogues à coumarines présente des taches dont la coloration est exaltée en présence d'ammoniac, elle varie du blanc /jaune/pourpre.
- Les coumarines ont un spectre UV caractéristique

- **Caractérisation des saponosides**

Extraction :

Les saponosides sont solubles dans l'eau et les alcools, il est judicieux de procéder à une délipidation préalable.

2g de poudre végétale + 10 ml d'éther de pétrole $\xrightarrow{\text{Agiter}}$ Éliminer la phase organique $\xrightarrow{5\text{ml éther de pétrole}}$ Éliminer la phase organique $\xrightarrow{\hspace{1cm}}$ poudre délipidée

- Peser 1 g de poudre délipidée dans un ballon
- Réaliser une décoction aqueuse à environ 4 % durant 30 min.
- Diluer le décocté filtré au 1/10^{em}
- Dans des tubes à essais de même taille, réaliser la gamme suivante :

Tableau 8 : Gamme de dilution pour mesurer l'indice de mousse

| Tube | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|-----------------------|----|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|
| Décoction diluée (ml) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| H2O (ml) | 10 | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 |

- Agiter durant 15 secondes.
- Après 15 min de repos, mesurer la hauteur de mousse
- Soit le tube présentant une hauteur de mousse de 1 cm : l'indice de mousse correspond à l'inverse de la dilution du tube en question en tenant compte de toutes les dilutions et du poids de la poudre.

- **Caractérisation des triterpènes et stéroïdes**

Réaction de Lieberman :



I.2.2. Analyse par chromatographie sur couche mince

Principe :

C'est une technique qui permet de

- Séparer les espèces chimiques présentes dans un mélange homogène
- Identifier les espèces chimiques présentes dans l'échantillon :
 Les échantillons témoins et les échantillons à tester, sont spotés sur la plaque de chromatographie la phase fixe et plongée dans l'éluant la phase mobile

Méthode de préparation de la CCM :

- ✓ Un bécher haut contenant un liquide appelé « éluant » sur une hauteur d'environ 0,5 cm fermée de manière à ce qu'il se sature en vapeurs d'éluant et placé sous la hotte selon la dangerosité de l'éluant.
- ✓ La plaque de chromatographie est recouverte d'un gel de silice sur un support d'aluminium.
- ✓ Tracer délicatement au crayon un trait fin à 1 cm du bord inférieur : c'est la ligne de dépôt.
- ✓ Repérer par des croix les emplacements correspondant aux échantillons à tester en gardant un espace minimum avec les bords de la plaque. Marquer par un chiffre les emplacements.
- ✓ Avec une pipette pasteur ou un pic en bois déposer les échantillons.
- ✓ Sécher les dépôts avec un sèche-cheveux.
- ✓ Introduire délicatement la plaque dans le bécher (la ligne de dépôt ne doit pas t'être au contact de l'éluant).
- ✓ Laisser éluer.

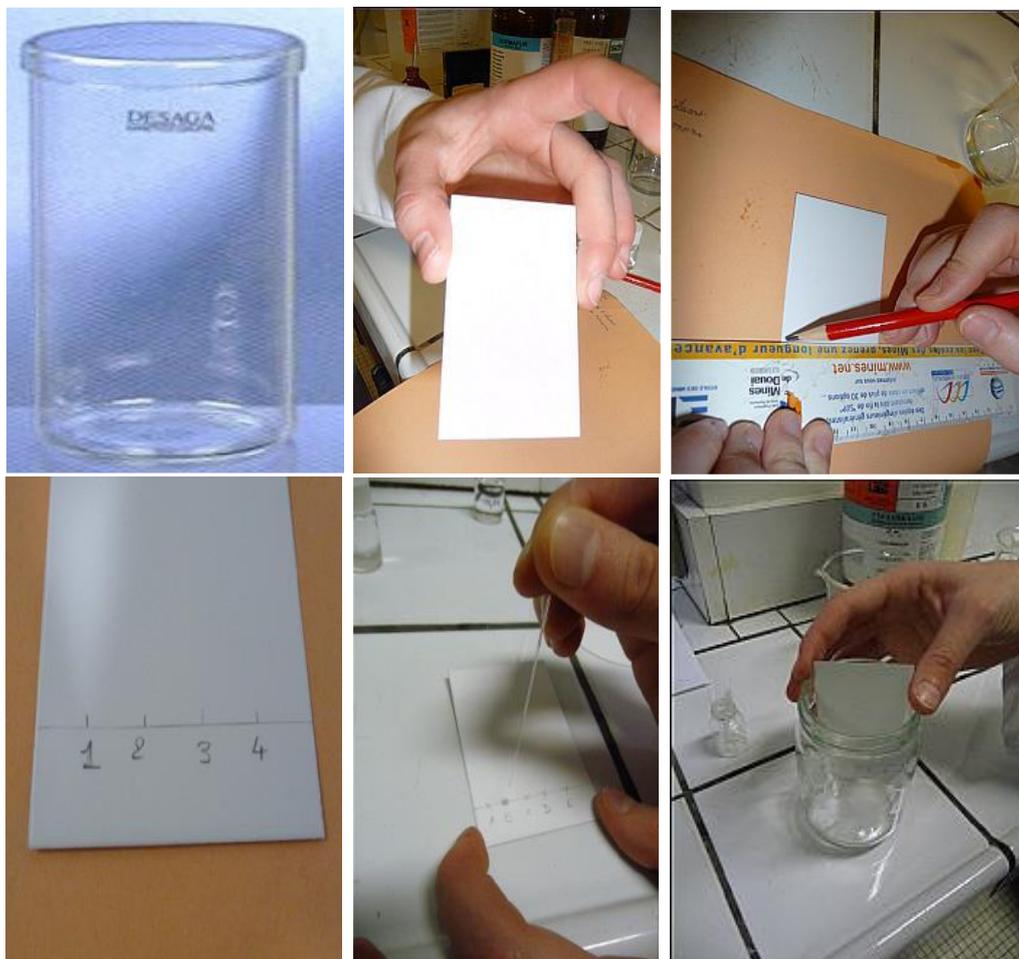


Figure 12 : Photos de différentes étapes de préparation d'une CCM

Exploitations des résultats :

- ✓ La phase stationnaire (phase fixe) constitue la plaque de chromatographie et l'éluant (phase mobile) migre le long de la phase stationnaire en entraînant les espèces chimiques déposées à des hauteurs différentes.
- ✓ Une tache correspond à une espèce chimique.
- ✓ Deux taches correspondant à deux dépôts différents qui sont à la même hauteur indiquent la même espèce chimique.
- ✓ Un dépôt avec plusieurs taches montre que c'est un corps pur ou bien l'échantillon est un mélange.
- ✓ Plus l'espèce chimique est entraînée par l'éluant, plus une tache est haute.
- ✓ Pour faire apparaître les taches des dépôts non colorés, on place le chromatogramme sous une lampe UV

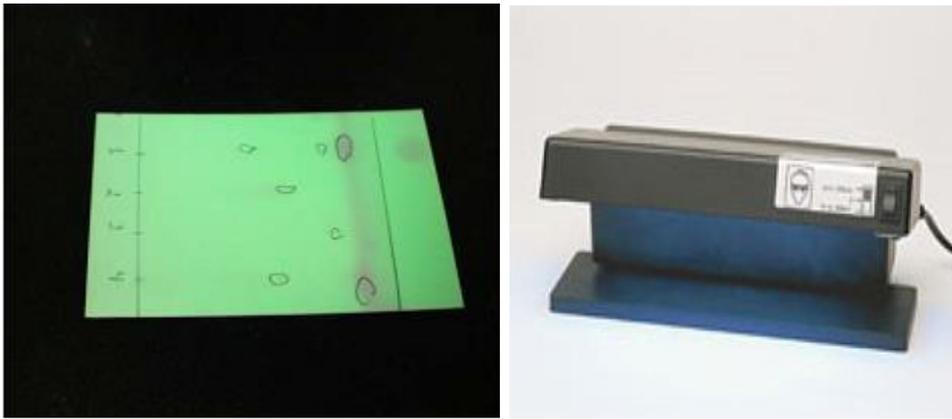


Figure 13 : photos des taches des dépôts non colorés après traitement par une lampe UV

I.1.3. Analyse par UPLC-MS

Les analyses par l'UPLC-MS ont été effectuées en 2014 par notre encadrant Pr DALI YAHIA M.K. au sein du laboratoire de la pharmacognosie (UMR-CNRS 8638 COMETE) de la faculté de pharmacie de paris, à l'aide d'un spectromètre de masse ZQ 2000 Waters (Saint-Quentin, France).

I.3.1. Préparation des extraits

Les échantillons utilisés pour cette analyse sont constitués par deux extraits bruts l'un méthanolique et l'autre à l'acétate d'éthyle.

La même poudre a été extraite pour la première fois par le méthanol, puis, une filtration s'applique suivi d'un épuisement par l'acétate d'éthyle.

I.3.2. Protocole

Les expériences de LC-MS ont été effectuées à l'aide d'un système waters ACQUITY UPLC Système (Waters Corp. Milford, USA) dont la colonne est un modèle HSS C18 à phase inversée constituée de microparticules à 1,7 μm de diamètre. La longueur de la colonne est de 100 mm pour un diamètre interne de 2,1 mm. Ce système est couplé à un spectromètre de masse haute définition SYNAPT G2 (Waters Corp. Milford, USA). À chaque expérience LC-MS, 5 μl d'échantillon ont été injectés. L'échantillon à analyser a été préparé de la manière suivante : Dissolution de 10 mg/ml l'extrait d'acétate d'éthyle dans du méthanol RS pour UHPLC-MS, puis microfiltration à travers une membrane PTFE 0,2 μm . L'élution en mode gradient est réalisée avec deux solvants.

- Solvant A : Solution aqueuse d'acide formique à 0,1%
- Solvant B : Acétonitrile / acide formique (99,9 ; 0,1)

L'élution (avec un débit de 0,4 ml/min) a débuté avec le mélange des deux solvants A/B (95:5) pendant six minutes, puis changement par augmentation du solvant B jusqu'à 100% en deux minutes, puis maintien du solvant B pendant deux minutes supplémentaire les données spectrales de masse ont été acquises après électronebulisation (ESI) en mode positif et en mode négatif, selon les paramètres suivants :

| | EST positif | ESI négatif |
|---|-------------|-------------|
| Tension capillaire | 3,25 kV | -2,5 kV |
| Tension du cône source | 30 V | -40V |
| Tension du cône d'extraction | 4V | 4V |
| Température de la source et de la désolvation | 120 °C | 550 °C |

L'azote a été appliqué comme gaz de désintégration à un débit de 900 litres/h. les spectres de masse ont été acquis sur la gamme m/z de 100 à 1200 à une résolution de masse de 22000 FWHM (largeur à mi-hauteur).

I.4. Rappel sur la technique d'UPLC-MS

UPLC-MS c'est une abréviation scientifique qui désigne le couplage de deux techniques analytiques :

- UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) c'est une chaîne de chromatographie liquide ultra performance.
- MS (Mass Spectrometry) c'est la spectrométrie de masse.

I.4.1.La chromatographie liquide LC :

I.4.1.1 GENERALITES

- La chromatographie liquide c'est une technique d'analyse pour séparer les constituants d'un mélange même très complexe en vue de les identifier et de les quantifier, son principe se base sur :

- Les composés de l'échantillon (solutés) à séparer sont entraînés par un fluide liquide (solvant) que l'on appelle la phase mobile (éluant)

- Selon les propriétés physico-chimiques de ces composés ils interagissent ou au contraire n'interagissent pas avec un support (ou matrice) fixe (un solide ou un liquide fixé) que l'on appelle la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique : il y a donc une distribution ou partition des composants entre ces deux types de phase .

- Le flux du fluide vecteur étant continu, c'est la rétention plus ou moins longue des différentes molécules sur le support fixe, qui va les séparer les unes des autres dont plus les interactions entre un composé et la phase stationnaire sont importantes plus que le composé sera élué tardivement et vice versa.

- En sortie de la colonne un détecteur approprié va détecter et caractériser les différents solutés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

- Le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté), caractérise qualitativement un composé.

- L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

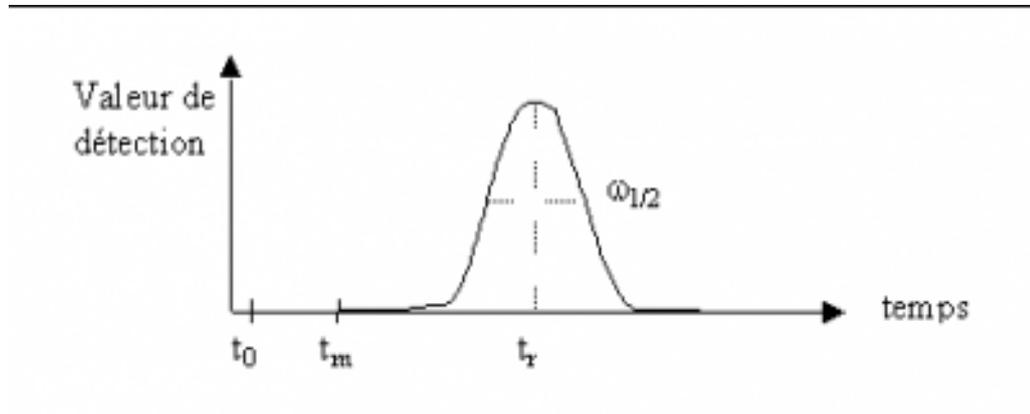


Figure 14 : Schéma d'un pic au sein d'un chromatogramme

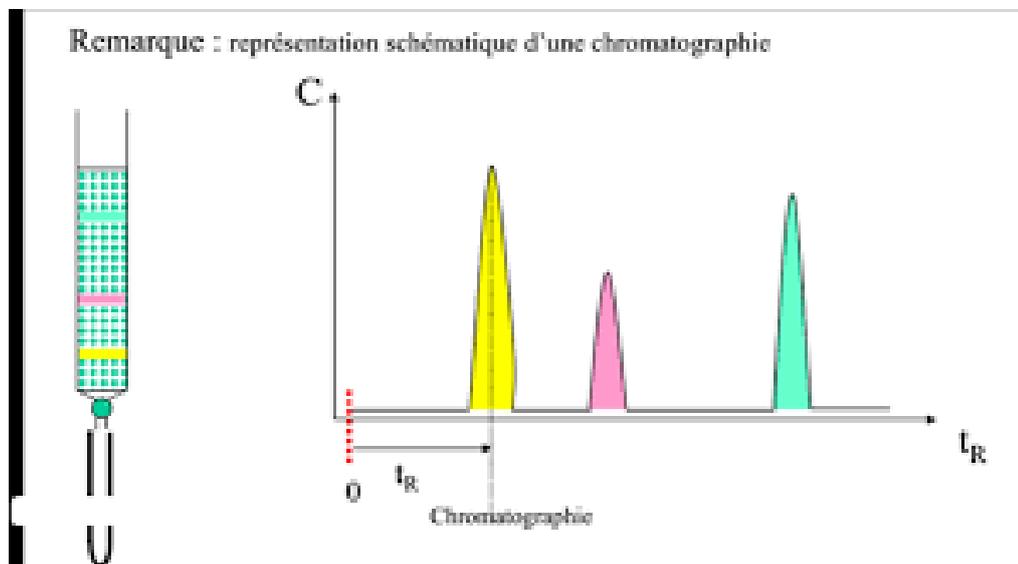


Figure 15 : Représentation schématique d'une chromatographie

I.4.1.2 Différents types de chromatographie liquide

-Quatre types de modes de séparation en chromatographie liquide sont couramment employés en fonction de la phase stationnaire.

- **Chromatographie d'adsorption** :

Est un phénomène de surface en phase normale (phase stationnaire polaire qui est généralement des particules de silice et phase mobile apolaire).

Les molécules peuvent se fixer sur l'adsorbant (phase stationnaire) en établissant des liaisons (dipôle-ion, dipôle-dipôle ou liaison de van der Waals) avec ce dernier. Les composés polaires sont donc plus retenus que les composés apolaires.

- **Chromatographie de partage** : (80% des séparations) :

Elle consiste à greffer des Groupements sur les particules de silice afin d'améliorer les performances. La chromatographie de partage à polarité de phases inversée (=phase stationnaire apolaire et phase mobile polaire) donne actuellement les meilleures performances

- **Chromatographie d'échange d'ions** : pour séparer les ions :

La phase stationnaire est une résine chargée négativement pour retenir les cations ou positivement pour retenir les anions.

- **Chromatographie d'exclusion** : pour séparer les molécules en fonction de leur taille.

La phase stationnaire est un gel (structure poreuse). Les molécules de petites tailles vont pénétrer dans les pores du gel et être retenues par ceux-ci au contraire des molécules plus volumineuses qui seront peu retenues.

I.4.1.3 Chromatographie liquide haute pression HPLC

I.4.1.3.1 Définition

- HPLC signifie chromatographie liquide haute pression ou haute performance, c'est une forme avancée de la chromatographie liquide dont au lieu d'introduire le solvant en fléau et de lui permettre de s'écouler vers le bas sous l'influence de la densité, dans la chaîne

HPLC l'échantillon est obligatoirement par le fléau des hautes pressions jusqu'à presque 400 atmosphères, ce qui va conduire à une séparation plus rapide et plus efficace.

HPLC recouvre une grande partie du domaine de la chromatographie en phase gazeuse auquel s'ajoute celui de l'analyse des composés thermosensibles et non volatils ou de masses moléculaires à la fois très grande et même polaires.

I.4.1.3.2 Différents composants d'une chaîne HPLC

Une chaîne HPLC se compose de :

-Réservoir de la phase mobile:

Qui contient plusieurs flacons d'éluants (solvants de Polarités différentes) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'élution (mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables) à l'aide de la pompe doseuse.

-Dégazeur :

Il permet de retirer le gaz (dioxygène) présent dans le(s) solvant(s) afin d'éviter d'endommager les échantillons ou la phase stationnaire .

Il existe deux types de dégazeurs sont utilisés en HPLC :

Dégazeur à gaz inerte : On fait un barbotage d'un gaz inerte dans la phase mobile Pour retirer le gaz dissous dans le liquide : l' helium est le gaz inerte le plus utilisé

Dégazeur par vide : cette méthode consiste à descendre en pression dans une enceinte où se trouve le solvant à l'aide d'une pompe à vide primaire , et ainsi séparer le gaz dissous dans le fluide. Est bien plus efficace , ne requiert plus de gaz inerte. La pression dans l'enceinte est de l'ordre du millibar.

-Pompe :

Elle sert à stocker et délivrer en continu la phase mobile et à l'injecter sous pression dans la colonne. Elle permet de travailler :

- En mode isocratique (avec 100% d'un même éluant tout au long de l'analyse).
- En mode gradient (avec une variation de la concentration des constituants du mélange d'éluant)
- Elle a un débit variable de quelques μl à plusieurs ml/min .

-Injecteur :

- Des tubes en acier inoxydable, en Téflon , en PEEK ou en silice fondue permettent de relier la ou les pompes à l'injecteur chromatographique.

- Il y a plusieurs types d'injecteurs dont l'injecteur à boucle d'échantillonnage d'une capacité fixe (10;20;50 μl) est le plus utilisé.

- Cette boucle permet d'introduire l'échantillon sans modifier la pression dans la colonne

- La vanne à boucle d'échantillonnage possède 2 position. La première permet le remplissage de la boucle d'injection de volume fixe, la seconde permet la mise en circulation de l'échantillon dans le système chromatographique.

- Le remplissage de la boucle d'injection se fait à l'aide d'une seringue comme montre la figure suivante :

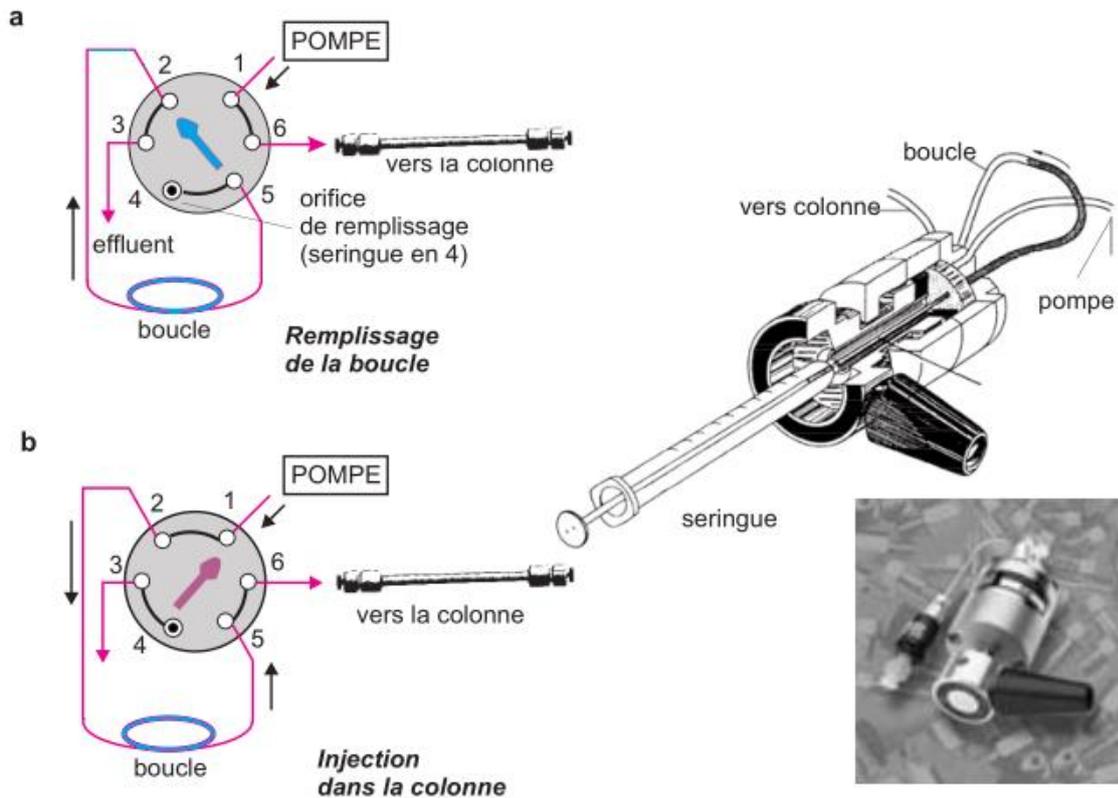


Figure 16 : Schéma explicatif de fonctionnement d'un injecteur à boucle d'échantillonnage.

-Colonne :

En chimie analytique, les colonnes en inox ont généralement un diamètre interne de 4,6mm. La longueur est de 5,10,15, ou 25 cm .

- Le remplissage (en silice, silice greffée ou particules polymériques) a une granulométrie de 3, 5 ou 10 μm .

- Le diamètre interne d'une colonne est usuellement de 4 ou 4,6 mm. Si des substances pures doivent être collectées en fin de chromatogramme des colonnes de gros diamètre seront nécessaires.

- La colonne est souvent précédée d'une précolonne, dite colonne de garde, courte (0,4 à 1 cm), remplie de la même phase stationnaire, ce qui sert à retenir certains impuretés, donc augmenter la durée de vie de la colonne principale en préservant ses performances.

- La précolonne est changée périodiquement pour éviter le colmatage de la colonne.

-Détecteur :

qui suit en continu l'apparition des solutés en utilisant les différents phénomènes physico-chimiques.

-Le signal obtenu est enregistré en fonction du temps.

-Généralement on compare le signal obtenu pour la phase mobile et soluté à celui de la phase mobile seule.

-Les détecteurs les plus utilisés sont :

•Réfractomètre (RID) : mesure la variation de l'indice de réfraction du liquide à la sortie de la colonne avec celui de PM pure.

•Détecteur UV-VISIBLE: mesure l'absorption de la lumière par le produit à la sortie de la colonne.

-Un système de traitement des données :

L'analyse des données par un logiciel installé sur un ordinateur permet de nous donner des informations sur le temp de rétention des différents composés, ainsi l'extrapolation des quantités mesurées de chacun.

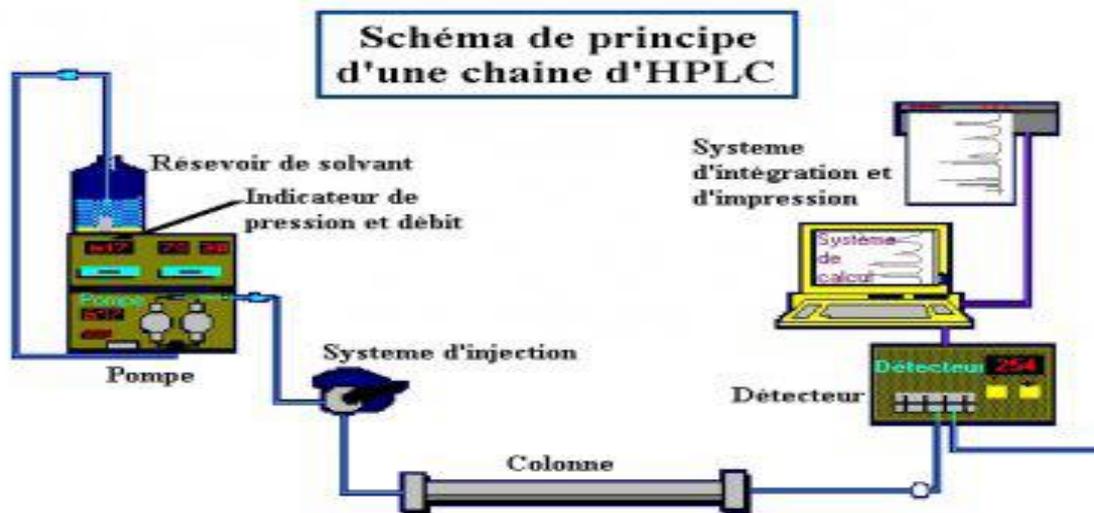


Figure 17 : Schéma de principe de fonctionnement d'une chaîne d' HPLC (61) (62)

I.4.1.4 Chromatographie liquide ultra performance UPLC

-L'UPLC (ultra performance liquid chromatography) elle a les mêmes principes que l'HPLC.

L'UPLC améliore L'HPLC dans trois domaines :

- Résolution chromatographique (très bonne)
- Vitesse d'analyse (plus rapide)
- Sensibilité (plus élevée)

Tableau 9 : Comparaison entre UPLC et HPLC.

| | Caractéristiques | HPLC | UPLC |
|-----------|---------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| 1. | La taille des particules | 3 à 5 μm | Moin de 2 μm |
| 2. | Contre-pression maximale | 35-40 MPa | 103,5 MPa |
| 3. | Colonne analytique | Ultima C ₁₈ | Acquity UPLC BEH C ₁₈ |
| 4. | Dimensions de la colonne | 150 \times 3,2 mm | 150 \times 2,1 mm |
| 5. | Température de la colonne | 30°C | 65° C |
| 6. | Volume d'injection | 5 ml (std. In100% MeOH) | 2 ml (std.In100% MeOH) |

- Les colonnes ACQUITY UPLC BEH C18 et C8 sont les colonnes universelles de choix pour la plupart des séparations UPLC.

- Conçues, testées et garanties pour être utilisées dans le cadre d'applications utilisant des pressions pouvant atteindre 1000bar , ces colonnes présentent robustesse, efficacité et vitesses d'analyses inégales.

- La chimie de chaque colonne contient une combinaison différente d'hydrophobicité, d'activité silanol, de stabilité hydrolytique et d'interaction chimique avec les analytes.

Avantages d'UPLC

- La consommation des solvants est moindre
- Le temps et le cout sont réduits
- Efficacité plus élevée grâce aux particules inférieures à 2 μm
- Efficacité 3 fois supérieure à celle des particules de 5 μm
- Résolution supérieure de 70% à celle des particules de 5 μm
- Pour les séparations en gradient, la capacité des pics (nombre de pics par Unité de temps) est utilisée pour mesurer le pouvoir de résolution
- Informations de meilleure qualité et analyse d'un plus grand nombre d'échantillons en un temps donné.
- La longueur de la colonne peut être divisée par 3 en transposant une méthode développée sur une colonne de granulométrie 5 μm en 2 μm et en conservant la même efficacité

- Les séparations peuvent être réalisées à un débit 3 fois supérieur
- La vitesse d'analyse est multipliée par 9 sans perte de résolution
- En spectrométrie de masse, les pics sont plus concentrés ce qui améliore l'efficacité de l'ionisation et rend le système ACQUITY UPLC idéal pour tout couplage MS

Inconvénients de UPLC

- Lors de l'analyse à haute pression développée en raison de la taille fine des particules de la phase stationnaire, L'augmentation de la pression réduit la durée de vie des colonnes.
- En raison d'une pression élevée, nécessite plus d'entretien et réduit la durée de vie de ce type de colonnes. (63)

I.4.2 La spectrométrie de masse MS:

I.4.2.1 Généralités

- La spectrométrie de masse est une technique physique d'analyse, son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (auparavant ionisées) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z) à l'aide d'un champ magnétique B.
- Elle permet de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse en comparant le spectre de masse d'une molécule avec la banque de spectres.
- La valeur m/z d'un pic moléculaire permet de calculer la masse moléculaire.
- Elle apporte également des informations sur la composition et la structure de la molécule identifiée grâce aux pics de fragmentation de cette dernière.
- L'intensité des pic permet d'obtenir une analyse quantitative.

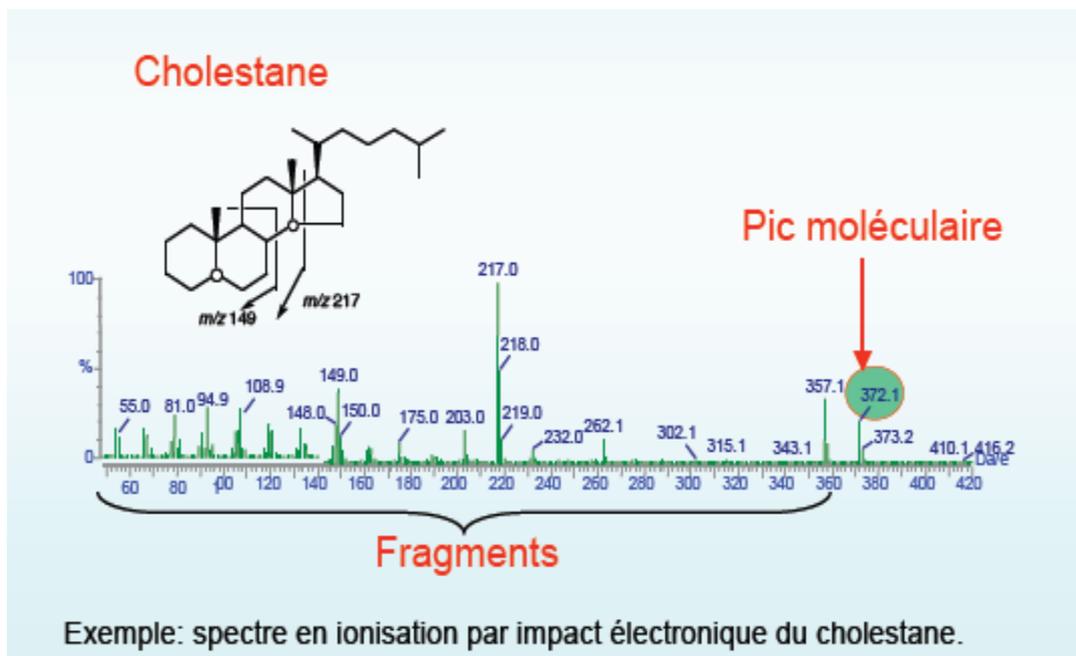


Figure 18 : Exemple d'un spectre en ionisation par impact électronique .

I.4.2.2 Différents composants d'un spectromètre de masse

-Un spectromètre de masse englobe 4 parties :

- Une source d'ion :

Où les ions sont produits en phase gazeuse à partir des états solides, liquides ou gazeux , il existe plusieurs types de source d'ion :

- Electrospray
- MALDI (**la désorption-ionisation laser assistée par matrice**)
- Impact électronique
- APPI (**la photoionisation à pression atmosphérique**)
- FAB-MS (**Le bombardement par atomes rapides**)
- Ionisation chimique

- **Un ou plusieurs analyseurs :**

Dans lequel les ions sont manipulés (transportés, tournés , triés, sélectionnés , séparés , fragmentés...), il y a plusieurs aussi :

- FT-ICR (**la spectrométrie de masse à transformée de Fourier**)
- Orbitrap (Un piège à ions, dans lequel les ions se mettent dans leur orbites à la fréquence en fonction de leur masse sur charge (m/z).)
- Analyseur à Piégeage d'ions (Ion trap)
- Analyseur quadripolaire (constitué de quatre électrodes parallèles de section hyperbolique ou cylindrique).
- Analyseur à temps de vol (TOF)
- Analyseur à secteur magnétique

- **Un détecteur :**

Qui compte les ions et amplifie leurs signaux, c'est-à-dire convertir un courant ionique en courant électronique, il y a deux types :

- Détecteur destructif (détermine la masse sur charge (m/z) en fonction du temps d'arrivage au détecteur et les paramètres de l'analyseur)
- Détecteur non destructif (permet la suivie des ions pendant et après la détection)

Enfin on obtient un spectre de masse à travers **un système informatique** qui collecte toutes les données à partir de ces trois derniers éléments.

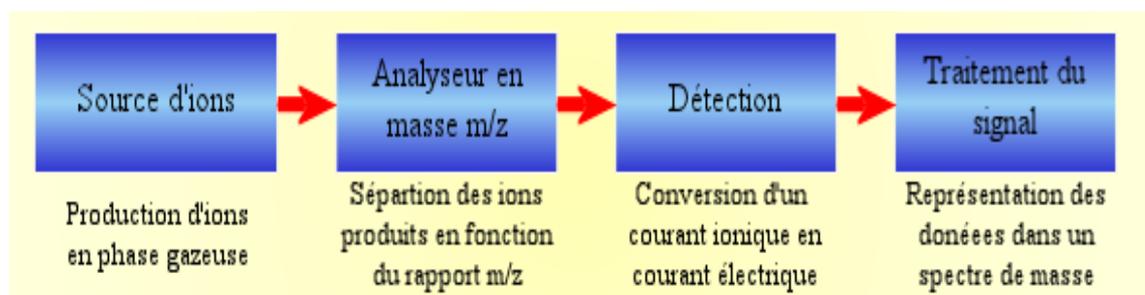


Figure 19: principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse.

I.4.2.3 Caractéristiques de la spectrométrie

Les principales Caractéristiques de la spectrométrie de masse sont :

- Haute résolution permet de distinguer les isotopes naturels d'un élément.
- Analyse rapide (quelque ms) et compatible avec des mélanges séparés par chromatographie en ligne.
- Génère de nombreuses données : spectres MS,MS/MS qui renseignent sur la structure des biomolécules.
- Très sensible : capable d'analyser des quantités de quelque attomoles.
- Compatible avec l'étude de mélanges très complexes comme un protéome entier.
- La (MS/MS) permet de distinguer des isomères qui ont les mêmes masses moléculaires mais qu'ils peuvent présenter des toxicités très différentes.
- **la précision en masse**, ils peuvent proposer les formules brutes exploitables pour les molécules inconnues.

Le nombre de compositions élémentaire proposées par logiciel est proportionnel avec l'erreur de masse comme indique la figure suivante.

| Erreur | Nombre de composition proposé | Composition élémentaire | Masse théorique |
|------------------------|-------------------------------|--|-------------------------------------|
| 0,0001 Da (0.3 ppm) | 2 | C ₈ H ₇ N ₁₀ O ₂ P ₁ ⁻ C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₇ P ₁ ⁻ | 306,04965 306,04966 |
| 0,0003 Da (1 ppm) | 3 | C ₈ H ₇ N ₁₀ O ₂ P ₁ ⁻ C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₇ P ₁ ⁻ H ₁₈ O ₁₈ ⁻ | 306,04965 306,04966 306,04986 |
| 0,0005 Da (1.5 ppm) | 5 | C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O ₇ ⁻ C ₁₂ H ₄ N ₉ O ₂ ⁻ | 306,04935 306,04934 |
| 0,001 Da (3 ppm) | 5 | C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O ₇ ⁻ C ₁₂ H ₄ N ₉ O ₂ ⁻ | 306,04935 306,04934 |
| 0,002 Da (6 ppm) | 15 | C ₂₁ H ₉ N ₁ P ₁ ⁻ C ₁₀ H ₂ N ₁₂ O ₁ ⁻ | 306,04781 306,04800 |

Figure 20 : Nombre de formules brutes en fonction de l'erreur de masse. (64) , (65)

I.4.3 La technique de couplage UPLC-MS :

-UPLC-MS est une technique chimique puissante qui combine les capacités de séparation physique de la chromatographie liquide avec les capacités d'analyse de masse de la spectrométrie de masse.

- Elle est utilisée pour de nombreuses applications qui a une sensibilité et une sélectivité très élevées. En général, son application est orientée vers la séparation et l'identification des composés non volatils les plus lourds extraits.

- L UPLC-MS utilise un système d UPLC, mais au moment où les phases mobiles du liquide quittent la colonne, l'échantillon est vaporisé sous forme de microgouttelettes.

- Celles-ci s'évaporent rapidement et libèrent des molécules ionisées positivement ou négativement selon le mode utilisé, qui sont ensuite séparées dans le SM.

- L'atomisation ou la nébulisation supplémentaire peut contribuer à améliorer la qualité des pulvérisations à haut débit en utilisant un gaz inerte à haut débit, comme l'azote.(66)

- **Deux types d'ionisation** sont disponible pour l'analyse des échantillons :

L'ionisation par électrospray (ESI)

la plus idéal pour les molécules polarisées, qui peuvent fournir leur propre charge

L'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)

la plus efficace avec les espèces non polaires, car les collisions avec le gaz réactif peuvent fournir une charge à la molécule

- Le modèle de spectre de masse de tout les pic obtenu à l'écran sera évalué soit :
Quantitativement par comparaison avec un étalon de référence.
Soit qualitativement par comparaison avec une bibliothèque.

- En comparaison avec les techniques seules, les techniques couplées ont les avantages suivants :

- Analyse plus rapide et plus précise.
- Degré d'automatisation plus élevé.
- Meilleure reproductibilité.
- Réduction de la contamination grâce à son système fermé.
- Séparation et quantification réalisée simultanément et sur le même échantillon. (67) , (68)

II. Limites d'étude.

II.1. L'analyse macroscopique et microscopique

L'analyse macroscopique et microscopique non réalisée vu qu'on a pas pu récolter la plante à cause de la sécheresse au janvier –février et Covid-19.

II.2. Screening phytochimique préliminaire

On a pas pu faire un screening phytochimique à cause de la situation sanitaire en Algérie suite à l'évolution de la pandémie coronavirus COVID-19.

II.3. La chromatographie sur couche mince

On a pas pu faire une CCM à cause de la situation sanitaire en Algérie suite à l'évolution de la pandémie coronavirus COVID-19.

III. Résultats et Interprétations

III.1. Résultats et Interprétations d'UPLC-MS

Lors de l'analyse UPLC-MS les données spectrales acquises ont été toutes traitées par le logiciel MassLynx v.4.1 (Waters Corporation). Dans un tableau ont été regroupés les résultats de spectres MS correspondants aux principaux pics pour repérer les ions moléculaires. Ces ions moléculaires sont le plus souvent des adduits protonés le cas d'une ionisation en mode positif, alors que pour le mode négatif sont généralement le résultat d'une déprotonation.

Certains métabolites lors d'ionisation peuvent générer des ions moléculaires positifs et à la fois négatifs, la détermination de leur masse moléculaire est plus facile.

Les chromatogrammes UPLC (**Annexe 4**) et les spectres MS (**Annexe 6**) sont présentés dans les annexes pour chacun des échantillons d'extraits analysés, qu'ils soient en mode d'ionisation positif ou en mode négatif. Nous avons utilisé une table Microsoft Excel (**Annexe 5**) inspirée du Molecular Weight Calculator (104) pour le calcul de masses moléculaires des adduits.

L'approche par la déréluction nous a permis de réaliser le tableau qui montre les métabolites probablement présents dans des extraits bruts analysés par UPLC-MS avec un niveau de preuve moyen. L'erreur de masse (l'écart de masse) de ces composés présumés avec les masses unitaires à l'origine des ions moléculaires détectés est assez faible.

La méthode UPLC couplée à la MS qui était adoptée dans l'analyse d'extraits bruts, repose sur l'enregistrement des spectres de masse ESI-TOF sous les deux modes : positif et négatif.

Le **tableau 10** résume les données spectrales obtenues (temps de rétention, pic de masse m/z) en fonction des principaux pics observés sur les chromatogrammes de l'extrait de méthanol.

La majorité des ions m/z observés sur les spectres correspond à la masse moléculaire protonée $[M+H]^+$ pour le mode positif et les ions $[M-H]^-$ pour le mode négatif.

L'approche de déréplication permet d'identifier toutes les molécules connues au sein de mélange complexes on se repose sur leurs propriétés physico-chimique. Nous avons adopté ce processus d'analyse avec notre extrait pour une interprétation rapide des données UPLC-MS obtenues simultanément sous les deux mode d'ionisation positif et négatif, et par la suite déterminer certains ions moléculaires correspondant aux métabolites

Tableau 10 : Temps de rétention, données MS et composés présumés à partir de l'extrait de Méthanol des parties aériennes de *C.anthemoides*

| Pic (n°) | TR (min) | m/z positif | m/z négatif | Formule moléculaire attribuée | Masse moléculaire exacte (g/mol) | Composés présumés | Source biologique connue selon DNP 2014 | |
|----------|----------|-------------|-------------|---|----------------------------------|-------------------|---|--------------------------|
| 1 | 0.65 | 278.1357 | 276.1177 | M ₁ =C ₁₉ H ₁₉ NO | 277.1284 | 1 | <i>Anacyclus pyrethrum</i> <i>Achillea ptarmica</i> <i>Achillea falcata</i> <i>Acmella ciliata</i> <i>Acmella ciliata</i> | |
| | | | | M ₂ =C ₁₈ H ₃₁ NO | | 4 | | <i>Achillea nana</i> |
| | | | | M ₃ =C ₁₆ H ₂₃ NO ₃ | | 5 | | <i>Senecio aegyptius</i> |
| 5 | 1.80 | 595.1915 | 593.1772 | M ₄ =C ₂₉ H ₃₄ O ₁₄ | 594.1842 | 6 | <i>Scorzonera cretica</i> | |
| 6 | 1.90 | 195.0749 | 193.0569 | M ₅ =C ₁₀ H ₁₀ O ₄ | 194.0676 | 7 | <i>Cichorium endivia</i> <i>Artemisia annua</i> | |
| | | | | | | 8 | | |
| 10 | 2.21 | 433.1316 | 431.1175 | M ₆ =C ₁₈ H ₂₄ O ₁₂ | 432.1243 | 9 | <i>Griselinia littoralis</i> <i>Rubia peregrina</i> <i>Glycyrrhiza glabra</i> <i>Lindera fruticosa</i> | |
| | | | | | | 10 | | |
| | | | | | | 11 | | |
| | | | | | | 12 | | |
| 15 | 2.90 | 463.1365 | 461.1223 | M ₇ =C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁ | 462.1292 | 13 | <i>Swertia japonica</i> <i>Iris germanica</i> <i>Senecio incanus</i> <i>Artemisia rupestris</i> | |
| | | 667.2076 | 665.1944 | M ₈ =C ₃₀ H ₃₄ O ₁₇ | 666.2003 | 13 14 15 | | |
| | | 667.2076 | 665.1944 | M ₈ =C ₃₀ H ₃₄ O ₁₇ | 666.2003 | 16 17 18 | <i>Garduus pycnocephalus</i> <i>Garduus crispus</i> <i>Stachys spinosa</i> | |

IV. Discussion

IV.1 Discussion des résultats botaniques :

L'usage traditionnel de l'espèce *Cotula anthemoides* dépend de son nom vernaculaire : guertoufa, nom commun avec les 3 espèces *Cotula cinerea*, *Cotula coronopifolia* et *Matricaria pubescens* ainsi al ouazwaza qui est aussi une appellation de *Matricaria pubescens*

A cet effet nous sommes déplacés à GHARDAIA en décembre 2019 dans le but de récolter un échantillon de la Matricaire chose qui ne s'est pas réalisé suite à la sécheresse donc nous l'avons achetée chez un herboriste, par la suite notre plan était de se déplacer aux autres zones de Sahara et de ramener un échantillon de chacune des plantes sous le nom vernaculaire guertoufa et de faire une étude macroscopique comparative pour faire ressortir les différences et les similitudes afin d'enlever cet ambigu du nom vernaculaire et qui serait un aide pour les herboristes afin d'éviter les falsifications mais élaste vue la pandémie (COVID-19), le confinement et le problème de déplacement ceci n'a pas pu être réalisé.

La zone géographique décrite par la littérature actuelle de cette plante est le Tassili des Ajjers. Alors que l'échantillon analysé par notre encadrant Pr DALI YAHIA M.K. est cueilli à Ain Safra. Notre but était de se déplacer à Ain Safra et de récolter un échantillon qui serait étudié macroscopiquement et comparé aux données de la littérature afin de confirmer son identification

L'étude microscopique des espèces du genre *Cotula* sont quasiment inexistantes selon la recherche bibliographique qui se limite à internet et aux données bibliographiques de la bibliothèque Aboubaker Belkaid Tlemcen pour cela on voulait faire une étude microscopique de *Cotula anthemoides* au sein du laboratoire de pharmacognosie (mars-avril...) qu'il était fermé à cause du COVID-19

IV.2 Discussion des résultats de l'étude phytochimique préliminaire

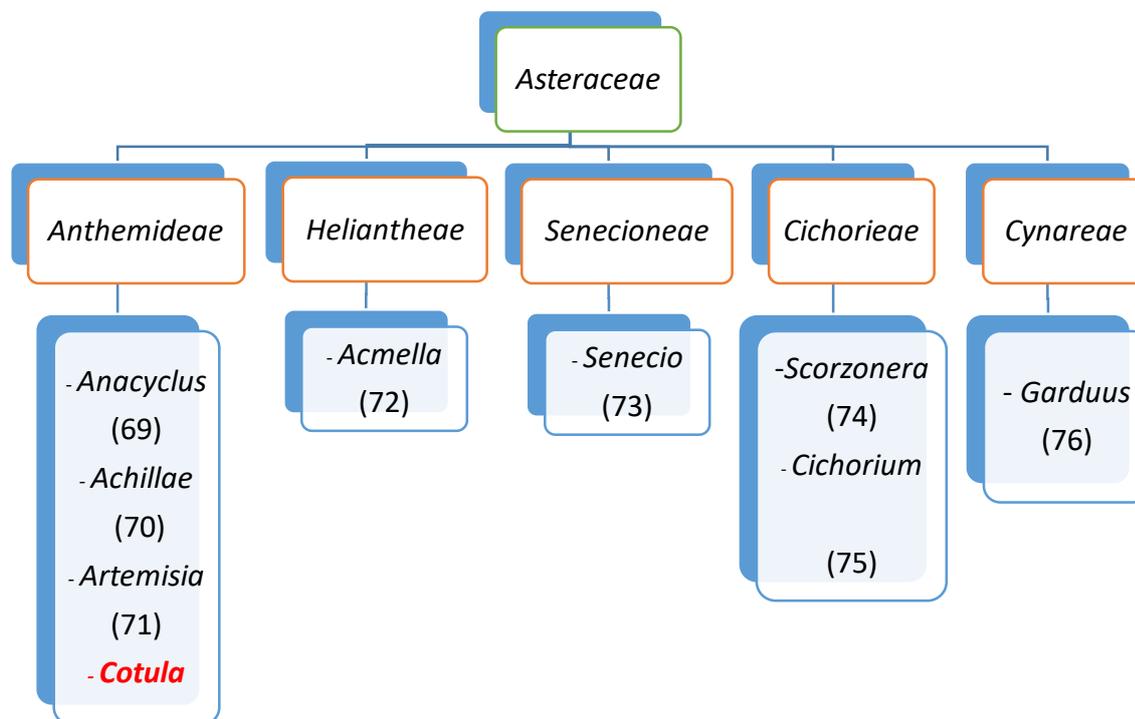


Figure 21 : Classification des différents genres d'espèces selon les différents tribus de la famille d'Astéracées

On voulait faire d'abord un screening phytochimique pour mettre en évidence ou l'absence des alcaloïdes, des polyphénols, des tanins, des flavonoïdes, des terpénoïdes et des saponosides, mais suite à la fermeture du laboratoire de pharmacognosie à cause de COVID 19, ce-ci n'a pas pu être réalisé.

L'analyse par UPLC-MS nous a permis de présumer avec un niveau de preuve moyen 30 métabolites secondaires présents dans notre extrait brut soumis à cette méthode d'extraction.

On s'est intéressé par les métabolites correspondants aux pics d'amplitudes importantes (**Annexe 7**) (**Tableau 34**) et qui sont protonés en mode positif et déprotonés en mode négatif dont la majorité ont marqué présence dans le solvant de méthanol, avec seulement les métabolites correspondants aux pics 6 et 15 qui sont présents dans les deux solvants méthanol et acétate d'éthyle.

Parmi ces 30 métabolites secondaires, les métabolites probablement présents dans l'extrait de méthanol on a un alcaloïde : 8-Methoxy-1-oxo-7(11)-eremophilene-12,8-lactam **5** (77), des amides : N-(2-phenylethyl)-2,4-undecadienne-8,10-dynamide **1,2,3** et N-(2,4-tetradecadienoyl)pyrrolidine 2,4-Tetradecdienoic acid pyrrolididide **4** (pic 1) (**Tableau 11**)

Selon la littérature, parmi les caractéristiques synapomorphiques des Astéracées, l'absence d'iridoïdes donc les iridoïdes Griselinoside et Asperulosidic acid **9,10** à éliminer des propositions possibles donc le pic 10 (**Tableau 12**) correspond probablement à l'un des métabolites suivant : Licoagroside B **11** et Linderofructoside B **12**

Le benzodioxole Piperonyl acetate **7** et le 6-Methoxy-2H-1-benzopyran-2,2-diol **8** ont la même masse proche de métabolite suspecté mais Le Piperonyl acetate **7** est isolé chez une espèce appartenant à un tribu différent de celui de *Cotula* par contre le 6-Methoxy-2H-1-benzopyran-2,2-diol **8** est isolé chez *Artemisia annua* qui appartient au même tribu du genre *Cotula* (**Figure 22**) (**Tableau 13,34**), c'est pour ça on favorise le 6-Methoxy-2H-1-benzopyran-2,2-diol **8** comme étant le métabolite secondaire le plus probable correspondant au plus grand pic (pic 6).

Le 6-Methoxy-2H-1-benzopyran-2,2-diol **8** est de structure et masse proche d'une autre coumarine scopolétine **20**, sachant que tout les deux sont isolés chez la même espèce *Artemisia annua* (78), cela nous oriente vers la possibilité de trouver ce dernier dans notre plante ou l'isolement de 6-Methoxy-2H-1-benzopyran-2,2-diol **8** autant que précurseur du scopolétine **20**

Il ressort aussi de notre étude que les composés Scorzocreticoside II **6**, le dérivé de 7-O-(6-O-acétyl- β -D glucopyranosyl(1-3) β -D glucopyranoside **16** et son isomère Ozturkoside C **17** sont probablement trouvés

De nombreux flavonoïdes sont probablement détecté comme : Isorhamnetin 3-rhamnoside **14**, Dérivé de 2-O-(4-Methoxyphenyl)-7-O- β -D glycopyranoside **15**, Leucanthoside (La swertiajaponine) **13** et Isostachyspinoside **18**.

Lutéoline-7-O- β -D- glucuronopyranoside **22** est le précurseur de la cynaroside **21** (luteoline-7-O- β -D-glucopyranoside) flavonoïde déjà isolé de *Cotula anthemoides* selon les données de la littérature (79)

L'étude Wafaa Tadrent a montré la présence de vicenin-2 **19** (masse proche de métabolite suspecté pic 5 (**Tableau 14**)) et Lutéoline-7-O- β -D-glucuronopyranoside **22** (masse proche de métabolite suspecté pic 15 (**Tableau 15**)) dans l'extrait n-butanol de *Cotula anthemoides*.

Puisque on a utilisé DNP version 2014 et L'étude Wafaa Tadrent réalisée en 2018 on favorise les données les plus récentes donc le métabolite correspondant au pic 5 est vicénin-2 et le métabolite correspondant au pic 15 est Lutéoline-7-O- β -D-glucuronopyranoside

En se basant sur nos résultats et les données de la littérature d'usage traditionnel et d'études pharmacologique de *Cotula anthemoides*, on a essayé de faire une corrélation entre eux :

On a constaté que certains composés (Ozturkoside C **17**, scopolétine **20**, cynaroside **21**, vicenin-2 **19**) ont l'activité anti-inflammatoire avec vicenin-2 a en plus un effet antalgique qui s'accord avec l'usage traditionnel comme traitement de maux de tête fièvre, douleurs musculaires, douleurs articulaires et dentaires.

Un autre composé le dérivé de 7-O-(6-O-acétyl- β -D glucopyranosyl(1-3) β -D glucopyranoside **16** et la vicenin-2 avec leur activité antibactérienne qui s'accord à la fois avec les études pharmacologiques et l'usage traditionnel comme traitement d'ulcère

Une autre étude pharmacologique a montré l'effet anticholinestérase de *Cotula anthemoides* déjà cité parmi les effets thérapeutiques de scopolétine. Ces composés ont d'autres activités thérapeutiques importantes :

Tableau 16 : Les propriétés thérapeutiques des métabolites secondaires probablement présents chez *Cotula anthemoides*

| Molécules | Propriété thérapeutique | Référence |
|--|--|---------------------------|
| Asperulosidic acid | Effet anti-inflammatoire Anti fibrose renale | (80) (81) |
| Licoagroside B | Antioxydant | (82) |
| Linderofruticoside B | inhibiteur de la différenciation des ostéoclastes | (83) |
| La swertiajaponine Leucanthoside | anti-brunissement et antioxydant | (84) |
| Dérivé de 7-O-(6-O-acéthyl-β-D glucopyranosyl(1-3)β-D glucopyranoside) | Anti-bactérien antifongique | DNP |
| Ozturkoside C | antinociceptives et anti-inflammatoires | (85) |
| Scopoletin | Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase Antioxydant Anti-inflammatoire Antiarthrite | (86) (87) (86) (88) |
| Cynaroside | Anti-inflammatoire Anti-oxydant Hépatoprotecteur : entraîne une réduction de la peroxydation lipidique hépatique induite par le bromobenzène (stimulation de l'activité de l'époxyde hydrolase Hypocholestérolémiant Cardioprotecteur -prévient l'apoptose induite par l'H ₂ O ₂ -réduit la production endogène de ROS -maintient la fonction mitochondrial Antiviral | (89) (89) (90) |

| | | |
|-----------|---|----------------------|
| vicenin-2 | Antioxydant Hépatoprotecteur Anti-inflammatoire Antalgique Anti-cancer surtout en co-administration avec docetaxel dans le cancer de la prostate Antispasmodique intestinal Antidiabétique par inhibition de l'alpha-glucosidase, s'oppose à la glycation des protéines | (91) (92) (93) |
|-----------|---|----------------------|

CONCLUSION

Les travaux de notre étude ont concerné la phytochimie de *Cotula anthemoides* qui appartient à la famille des Astéracées et utilisée traditionnellement comme une plante médicinale.

Notre étude était malheureusement limitée à cause de COVID-19

L'étude bibliographique nous a permis de constater l'ambigu des noms vernaculaires guertoufa ainsi Al ouazwaza qui sont en commun avec d'autres espèces semblables macroscopiquement et qui peuvent être en cause d'une falsification entre les espèces *Cotula anthemoides*, *Cotula cinerea*, *Cotula coronopifolia* et *Matricaria pubscens*, aboutissant parfois à un usage traditionnel non compatible avec les indications thérapeutiques de chaque espèce

Afin de compléter ce travail un screening phytochimique et une analyse microscopique devrait être réalisé. Il est important tout de même de faire l'étude comparative entre les espèces portant le même nom vernaculaire avec notre espèce

La technique d'UPLC-MS effectuée sur des extraits de *Cotula anthemoides* a montré la présence de 30 métabolites secondaires parmi eux les 2 flavonoïdes : vicenin-2 et cynaroside déjà isolés chez *Cotula anthemoides* et identifiés par RMN et qui ont plusieurs activités pharmacologiques intéressantes : anti-inflammatoire, antibactérienne, antalgique.

Donc cette plante renferme des composés actifs qui peuvent confirmer le statut de plante médicinale traditionnelle comme on peut encore prévoir l'efficacité de ces composés actifs pour traiter d'autres maladies : diabète , maladies cardiovasculaires, cancer...., d'où l'intérêt de faire des études pharmacologiques plus poussées, ainsi considérer cette plante comme une nouvelle source d'exploitation dans les domaines cosmétique et médical.

16. *Cotula*. In: Wikipédia [Internet]. 2019 [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Cotula&oldid=163920995>
17. *Cotula anthemoides* L. [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.gbif.org/species/3112123>
18. *Cotula* in Flora of Pakistan @ efloras.org [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=5&taxon_id=108176
19. Résultats de la recherche - La liste des plantes [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=cotula+anthemoides+L>
20. Flore du Maghreb ASTERACEAE [Internet]. [cité 2 oct 2020]. Disponible sur: <https://www.ville-ge.ch/cjb/flore/html/QSv2-ASTERACEAE.htm>
21. Laurentii Salvii., Linné C von. Caroli Linnaei ... Species plantarum :exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas... [Internet]. Holmiae : Impensis Laurentii Salvii,; 1753 [cité 2 oct 2020]. Disponible sur: <http://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/669>
22. *Cotula anthemoides* dans Flora of Pakistan @ efloras.org [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=5&taxon_id=200023720
23. *Cotula anthemoides* – Recherche Google [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: https://www.google.com/search?q=cotula+anthemoides&sxsrf=ALeKk03-RLd8yq7LttoQoHSeN_CULWPzgz:1601427456810&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwiZ_siV1o_sAhUNmhQKHQqoB1YQ_AUoAXoECAsQAw&cshid=1601427548307533&biw=895&bih=407
24. Bohm BA, Stuessy TF. Flavonoids of the sunflower family (Asteraceae). Springer Science & Business Media; 2001.
25. Emerenciano VP, Militão J, Campos CC, Romoff P, Kaplan MAC, Zambon M, et al. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. *Biochem Syst Ecol.* 2001;29(9):947–957.
26. Hristozov D, Da Costa FB, Gasteiger J. Sesquiterpene lactones-based classification of the family Asteraceae using neural networks and k-nearest neighbors. *J Chem Inf Model.* 2007;47(1):9–19.
27. Seaman FC. Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. *Bot Rev.* 1982;48(2):121–594.
28. Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Tec DocLavoisier Paris. 2009;279–281.
29. Lactone sesquiterpénique (la nobiline) [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.espritsante.com/articles/lactone-sesquiterpenique-nobiline>
30. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/nutrition-flavonoide-15856/> - Recherche Google [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: https://www.google.com/search?hl=fr&biw=895&bih=407&sxsrf=ALeKk03RstqcVkizznkGVMnlplNd_x8qltw%3A1601430629786&ei=ZeRzX_GpL4K3gwfq-4CABg&q=https%3A%2F%2Fwww.futura-sciences.com%2Fsante%2Fdefinitions%2Fnutrition-flavonoide-15856%2F&oq=https%3A%2F%2Fwww.futura-sciences.com%2Fsante%2Fdefinitions%2Fnutrition-flavonoide-15856%2F&gs_lcp=CgZwc3ktYWlQDDoHCCMQ6gIQJzoHCC4Q6gIQJ1DBMFjBMGDORGgBcAF4AIAB4gGIAelBkgEDMi0xmAEAoAEBBoAECqgEHZ3dzLXdperABCsABAQ&sclient=psy-ab&ved=0ahUKEwix8Mf-4Y_sAhWC2-AKHeo9AGAQA4dUDCA0

31. Alcaloïde [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.ecosociosystemes.fr/alcaloide.html>
32. L'Achillée millefeuille (*Achillea millefolium*) [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.altheaprovence.com/achillee-millefeuille-achillea-millefolium/>
33. La santé et le bien-être passent par les astéracées [Internet]. Jardins de France. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.jardinsdefrance.org/la-sante-et-le-bien-etre-passent-par-les-asteracees/>
34. Majouli K. Etudes Chimiques Et Biologiques de La Plante *Cotula Coronopifolia* L. Noor Publishing; 2017. book.
35. Kether FBH, Mahjoub MA, Mahjoub SA, Salah KB, Helal AN, Mighri Z. Chemical composition, in vitro antifungal and antioxidant activities of essential oil from *Cotula coronopifolia* L. growing in Tunisia. *Afr J Microbiol Res.* 2012;6(20):4388–4395.
36. Benmenine AEK, Ouahrani MR, Gherraf N, Sekirifa ML, Baameur L. Potentiodynamic investigation of the anticorrosive action of *Cotula cinerea* extracts on mild steel X52 in 20% H₂SO₄ solution. *J Chem Pharm Res.* 2011;3(3):666–669.
37. Bensizerara D, Menasria T, Melouka M, Cheriet L, Chenchouni H. Antimicrobial Activity of Xerophytic Plant (*Cotula cinerea* Delile) Extracts Against Some Pathogenic Bacteria and Fungi. *Jordan J Biol Sci.* 2013;6(4).
38. Redwane A (Faculty of SS, Markouk M, Lazrek HB, Amarouch H, Jana M. Laboratory evaluation of molluscicidal activity of extracts from *Cotula cinerea* (L) and *Quercus lusitania* var. *infectoria* galls (Oliv.). *Ann Pharm Francaises Fr* [Internet]. 1998 [cité 30 sept 2020]; Disponible sur: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR1999000208>
39. Evaluation of some Moroccan medicinal plant extracts for larvicidal activity - ScienceDirect [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874100002579>
40. Larhsini M, Markouk M, Jaouhari JT, Bekkouche K, Lazrek HB, Jana M. The antipyretic activity of some Moroccan medicinal plants. *Phytother Res.* 2002;16(S1):97–98.
41. Bouzidi LE, Abbad A, Fattarsi K, Hassani L, Leach D, Markouk M, et al. Chemical composition and anticandidal properties of the essential oil isolated from aerial parts of *Cotula cinerea*: a rare and threatened medicinal plant in Morocco. *Nat Prod Commun.* 2011;6(10):1934578X1100601021.
42. Markouk M, Lazrek HB, Jana M. Analgesic effect of extracts from *Cotula cinerea* (L). *Phytother Res.* 1999;13(3):229–230.
43. Guaouguaou F-E, Ahl Bebaha MA, Yadlapalli S, Taghzouti K, Es-Safi NE. Structural characterization of bioactive compounds in *Cotula cinerea* extracts by ultra-high-performance liquid chromatography with photodiode array and high-resolution time-of-flight mass spectrometry detectors. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2020;34(8):e8695.
44. Pandey A, Singh S. Ethno-botanical evidences of common wild medicinal herbs existing on Delhi Ridge: A cChecklist. *J Med Plants Stud.* 2017;5:46–60.
45. Sethi J, Singh J, Gurung N, Aggarwal A. Medicinal Plants as a Potential Source of Male Contraceptive Agents. *Madridge J Pharm Res.* 2017;1(1):7–12.
46. Bellakhdar J. La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Médecine Arabe Ancienne Savoirs Pop.* 1997;189.

47. El Hadj MO, Hadj-Mahammed M, Zabeirou H, Chehma A. Importance des plantes spontanées médicinales dans la pharmacopée traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara Septentrional-Est Algérien). *Sci Technol C Biotechnol*. 2003;73–78.
48. Maiza K, Hammiche V, Brac de la Perrière RA. Traditional saharian pharmacopoeia. In: *WOCMAP I- Medicinal and Aromatic Plants Conference: part 2 of 4* 332. 1992. p. 37–42.
49. Lakhdar M. Traditional uses, phytochemistry and biological activities of *Cotula cinerea* Del: A review. *Trop J Pharm Res*. 2018;17(2):365–373.
50. Tadrent ép Laouadi W, Kabouche Z. Composants et potentiel biologique de *Cotula anthemoides* L et *Pentzia monodiana* MAIRE.(Asteraceae). [PhD Thesis]. 2018 ; جامعة الإخوة منتوري قسنطينة.
51. Kim J-A, Choi J-Y, Son A-R, Park S-H, Xu G-H, Lee J-G, et al. Inhibitory effect of some natural polyphenols isolated from euphorbiaceae plants on melanogenesis. *Korean J Pharmacogn*. 2004;35(2):157–163.
52. Mets traditionnels: la « Guertoufa » fait recette à Ghardaïa - Algérie360 [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.algerie360.com/mets-traditionnels-la-guertoufa-fait-recette-a-ghardaia/>
53. Bellakhdar J. Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits, les sources du savoir (enquête ethnopharmacologique de terrain réalisée de 1969 à 1992) [Internet] [These de doctorat]. Metz; 1997 [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/1997METZ008S>
54. Lone PA, Bhardwaj AK, Bahar FA, Shah KW. A rare study on indigenous uses of medicinal plant home-made remedies for the treatment of chilblains in Bandipora, Kashmir, India. *Ann Phytomedicine*. 2016;5(1):135–141.
55. Lone PA, Bhardwaj AK, Bahar FA. Study of indigenous/traditional medicinal plant knowledge-An endeavour towards new drug discovery. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2015;12(2):73–95.
56. Bhat TA, Nigam G, Majaz M. Study of some medicinal plants of the Shopian district, Kashmir (India) with emphasis on their traditional use by Gujjar and Bakerwal tribes. *Asian J Pharm Clin Res* 5 94. 2012;98.
57. Pandey AK, Tripathi N. Aromatic plants of gorakhpur division: Their antimycotic properties and medicinal value. *Extraction*. 2011;7(2):026.
58. Jacot Guillardmod A. *Flora of Lesotho*. Cramer Lehre. 1971;13:295–299.
59. Mahato G, Hansda B, Banerjee N. Ethnobotanicals used for the Treatment of Skin Diseases with Special Emphasis on Carbuncle Disease from Purulia District of West Bengal in India. *Pharmacogn J*. 2019;11(4).
60. Description de l'usine [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: https://bioinfo.bisr.res.in/project/domap/plant_details.php?plantid=0078&bname=Cotula%20anthemoides
61. Chimactiv - Ressources pédagogiques numériques interactives dans l'analyse chimique de milieux complexes [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/bases/hplc>
62. La HPLC : Principe, appareillage et interet by Mohamed Amine El Kaibi [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: https://prezi.com/sw_ytxeyw-gs/la-hplc-principe-appareillage-et-interet/

63. [PDF] Principle, Instrumentation, and Applications of UPLC: A Novel Technique of Liquid Chromatography | Semantic Scholar [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/Principle%2C-Instrumentation%2C-and-Applications-of-A-Chawla-Ranjan/57789e5d19ea0cbb3a3de56b36512b993ba8b8a8>
64. SPECTROMETRIE DE MASSE [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/spectro/C4.html>
65. Menet M-C. Principes de la spectrométrie de masse. Rev Francoph Lab. 1 déc 2011;2011(437):41-53.
66. Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (LC-MS) [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.airproducts.fr/Industries/Analytical-Laboratories/analytical-lab-applications/product-list/liquid-chromatography-with-mass-spectrometer-lc-ms-analytical-laboratories.aspx?itemId=BA1AEFB4DC584D8495B390A4877D0387>
67. Services LC-MS | Identifier les matériaux | Laboratoires EAG [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://eag.com/fr/techniques/mass-spec/liquid-chromatography-mass-spectrometry-lc-ms/>
68. Advances in LC-MS Instrumentation - Google Livres [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: https://books.google.dz/books?id=rJAWmOW_HuMC&pg=PA87&lpg=PA87&dq=uplc-ms+2005&source=bl&ots=jKzbdVEUvH&sig=ACfU3U3dpF_FOpb1Gzv_DZWzLG6Y0SYi6A&hl=fr&sa=X&ved=2ahUKewiQ_ZfM9LHnAhV0SxUIHcm3D5YQ6AEWA3oECAsQAQ#v=onepage&q=uplc-ms%202005&f=false
69. *Anacyclus pyrethrum* (L.) Link [Internet]. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: <https://www.gbif.org/fr/species/101319515>
70. *Achillea chamaemelifolia* Pourr., 1788 - Achillée à feuilles de Camomille - Taxonomie [Internet]. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/79874/tab/taxo
71. tribu de Artemisia annua - Recherche Google [Internet]. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: https://www.google.com/search?sxsrf=ALeKk03Hsm3dnx0MchVHO-slqX3xgxu-mA%3A1601905891894&ei=4yR7X6_0Ncf4aIXzqogO&q=tribu+de+Artemisia+annua
72. *Acmella ciliata* (Kunth) Cass., 1822 - Taxonomie [Internet]. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/735419/tab/taxo
73. *Senecio aegyptius* L., 1753 - Taxonomie [Internet]. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/611435/tab/taxo
74. *Scorzonera cretica* [Internet]. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: http://www.planetefleurs.fr/Systematique/Asteraceae/Scorzonera_cretica.html
75. Chicorée endive - *Cichorium endivia* | Biodiv'Écrins - Parc national des Écrins [Internet]. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: <https://biodiversite.ecrins-parcnational.fr/espece/91165>
76. *carduus pycnocephalus* [Internet]. [cité 5 oct 2020]. Disponible sur: <https://boowiki.info/art/asteraceae/carduus-pycnocephalus.html>
77. Buckingham J, Baggaley KH, Roberts AD, Szabo LF. Dictionary of Alkaloids with CD-ROM. CRC Press; 2010. 2377 p.
78. Tzeng T-C, Lin Y-L, Jong T-T, Chang C-MJ. Ethanol modified supercritical fluids extraction of scopoletin and artemisinin from Artemisia annua L. Sep Purif Technol. 2007;56(1):18–24.
79. Tadrent ép Laouadi W, Kabouche Z. Composants et potentiel biologique de Cotula anthemoides L et Pentzia monodiana MAIRE.(Asteraceae). [PhD Thesis]. 2018. جامعة الإخوة منتوري قسنطينة;

80. He J, Lu X, Wei T, Dong Y, Cai Z, Tang L, et al. Asperuloside and asperulosidic acid exert an anti-inflammatory effect via suppression of the NF- κ B and MAPK signaling pathways in LPS-induced RAW 264.7 macrophages. *Int J Mol Sci.* 2018;19(7):2027.
81. Xianyuan L, Wei Z, Yaqian D, Dan Z, Xueli T, Zhanglu D, et al. Anti-renal fibrosis effect of asperulosidic acid via TGF- β 1/smad2/smad3 and NF- κ B signaling pathways in a rat model of unilateral ureteral obstruction. *Phytomedicine.* 2019;53:274–285.
82. γ -Pyrone compounds: flavonoids and maltol glucoside derivatives from *Herniaria glabra* L. collected in the Ternopil region of the Ukraine - ScienceDirect [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942218301419>
83. Song M-C, Nigussie F, Yang H-J, Kim H-H, Kim J-Y, Chung D-K, et al. Phenolic glycosides from *Lindera fruticosa* root and their inhibitory activity on osteoclast differentiation. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2008;56(5):707–710.
84. La swertiajaponine comme flavonoïde anti-brunissement et antioxydant - ScienceDirect [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814618300608>
85. Küpeli E, Şahin FP, Çalış İ, Yeşilada E, Ezer N. Phenolic compounds of *Sideritis ozturkii* and their in vivo anti-inflammatory and antinociceptive activities. *J Ethnopharmacol.* 2007;112(2):356–360.
86. Mogana R, Teng-Jin K, Wiart C. Anti-inflammatory, anticholinesterase, and antioxidant potential of scopoletin isolated from *Canarium patentinervium* Miq. (Burseraceae Kunth). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013.
87. Rollinger JM, Hornick A, Langer T, Stuppner H, Prast H. Acetylcholinesterase inhibitory activity of scopolin and scopoletin discovered by virtual screening of natural products. *J Med Chem.* 2004;47(25):6248–6254.
88. Pan R, Gao X-H, Li Y, Xia Y-F, Dai Y. Anti-arthritic effect of scopoletin, a coumarin compound occurring in *Erycibe obtusifolia* Benth stems, is associated with decreased angiogenesis in synovium. *Fundam Clin Pharmacol.* 2010;24(4):477–490.
89. Zou Y, Zhang M, Zhang T, Wu J, Wang J, Liu K, et al. Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Cynaroside from *Elsholtzia bodinieri*. *Nat Prod Commun.* 2018;13(11):1934578X1801301122.
90. Liu M-M, Zhou L, He P-L, Zhang Y-N, Zhou J-Y, Shen Q, et al. Discovery of flavonoid derivatives as anti-HCV agents via pharmacophore search combining molecular docking strategy. *Eur J Med Chem.* juin 2012;52:33-43.
91. Islam MN, Ishita IJ, Jung HA, Choi JS. Vicenin 2 isolated from *Artemisia capillaris* exhibited potent anti-glycation properties. *Food Chem Toxicol.* 2014;69:55–62.
92. Marrassini C, Davicino R, Acevedo C, Anesini C, Gorzalczy S, Ferraro G. Vicenin-2, a potential anti-inflammatory constituent of *Urtica circularis*. *J Nat Prod.* 2011;74(6):1503–1507.
93. Nagaprashantha LD, Vatsyayan R, Singhal J, Fast S, Roby R, Awasthi S, et al. Anti-cancer effects of novel flavonoid vicenin-2 as a single agent and in synergistic combination with docetaxel in prostate cancer. *Biochem Pharmacol.* 2011;82(9):1100–1109.
94. Mahran GH, Salah Ahmed M, Ansari SA. A study of the flavonoid content of *Cotula cinerea*. *Bull Fac Pharm Cairo Univ.* 1976;14:237–246.
95. Ahmed AA, El-Sayed NH, el-Negoumy SI, Mabry TJ. Flavonoids of *Cotula cinerea*. *J Nat Prod.* 1987;50(3):519–520.

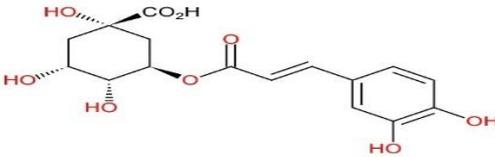
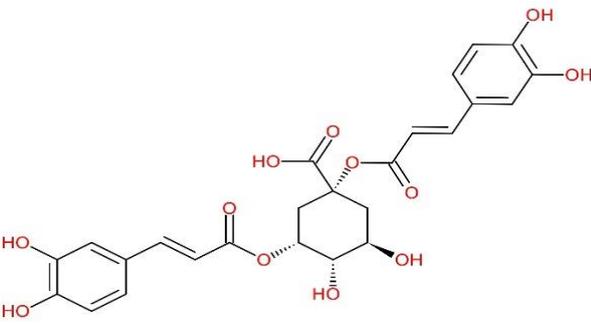
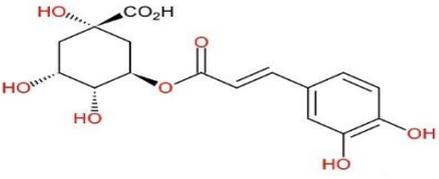
96. Dendougui H, Seghir S, Jay M, Benayache F, Benayache S. Flavonoids from *Cotula cinerea* Del. *Int J Med Aromat Plants*. 2012;2(4):589–595.
97. Bohlmann F, Zdero C. 3beta-isovaleryloxycostunolid, ein neues Germacranolid aus *Cotula hirsuta*. *Phytochemistry*. 1979;
98. Jakupovic J, Aal MA, Eid F, Bohlmann F, El-Dahmy S, Sarg T. Further glaucolides and other sesquiterpene lactones from *Brocchia cinerea*. *Phytochemistry*. 1988;27(7):2219–2224.
99. Metwally MA, El-Dahmy S, Jakupovic J, Bohlmann F, Dawidar AM, Metwally SA. Glaucolide-like sesquiterpene lactones from *Cotula cinerea*. *Phytochemistry*. 1985;25(1):255–257.
100. Sorensen JS, Ve B, Anthonsen T, Sorensen NA. Studies related to naturally occurring acetylene compounds. XXXIV. Some Australian members of the genus *Cotula* L. *Aust J Chem*. 1968;21(8):2037–2051.
101. Yadava RN, Barsainya D. A novel flavone glycoside from the seeds of *Cotula anthemoides*. *Fitoter Milano*. 1998;69(5):437–438.
102. Tadrent W, Alabdul Magid A, Kabouche A, Harakat D, Voutquenne-Nazabadioko L, Kabouche Z. A new sulfonylated flavonoid and other bioactive compounds isolated from the aerial parts of *Cotula anthemoides* L. *Nat Prod Res*. 2017;31(12):1437–1445.
103. Showkat RS, Shah SWA, Bhat BA. Chemoprofiling of medicinal plants and value addition of their principle constituents through synthetic modifications [PhD Thesis]. 2013.
104. Calculateur de poids moléculaire | Omics intégratifs [Internet]. [cité 11 oct 2020]. Disponible sur: <https://omics.pnl.gov/software/molecular-weight-calculator>

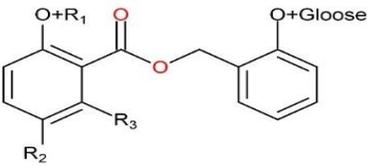
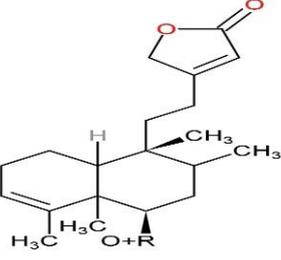
Annexes

Annexe 1 : Phytochimie des Astéracées.

1. Acides-phénols

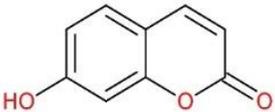
Tableau 17 : Les principaux acides-phénols présents chez les Astéracées .

| Composé | Structure | Espèce |
|------------------------|---|------------------------|
| Acide chlorogénique |  | <i>Cynara scolymus</i> |
| Cynarine |  | |
| Acides caféylquiniques |  | |

| | | |
|---------------|---|---------------------------|
| Virgauréoside |  | <i>Solidago virgaurea</i> |
| Léiocarposide |  | |

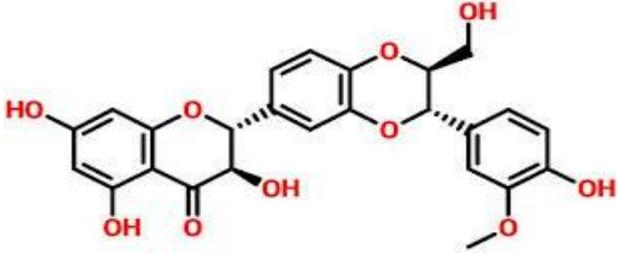
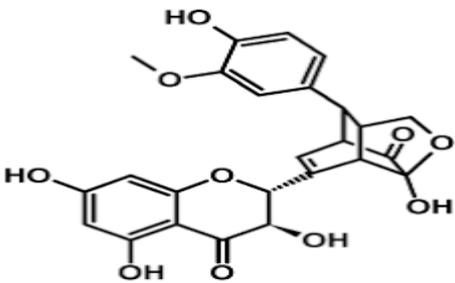
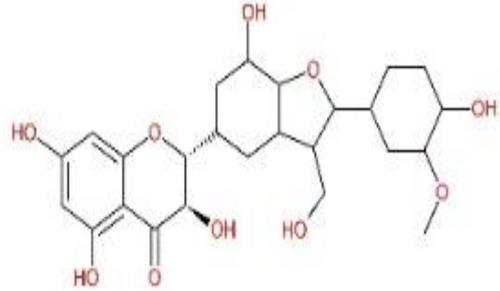
2. Coumarines

Tableau 18 : Les principaux coumarines présents chez les Astéracées .

| Composé | Structure | Espèce |
|---------------|---|----------------------------|
| Ombelliférone |  | <i>Hieracium pilosella</i> |

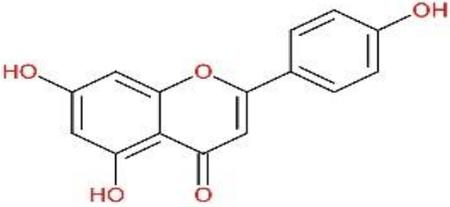
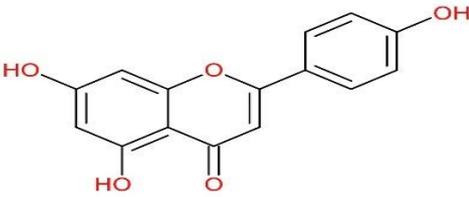
3. Lignanes

Tableau 19 : Les principaux lignanes présents chez les Astéracées .

| Composé | Structure | Espèce |
|---------------|---|-------------------------|
| Silybine |  | <i>Silybum marianum</i> |
| Silydianine |  | |
| silychristine |  | |

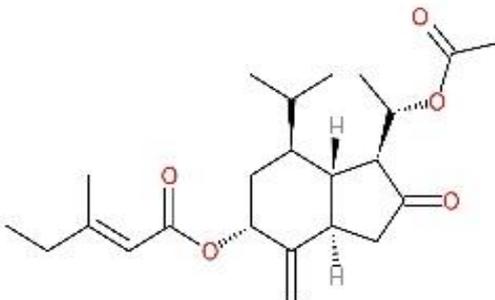
4. Flavonoïdes

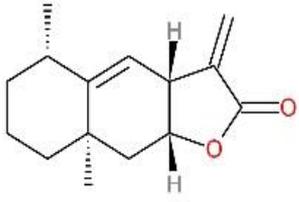
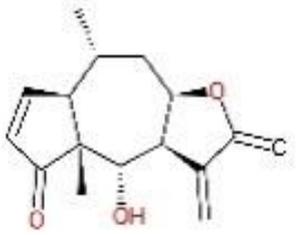
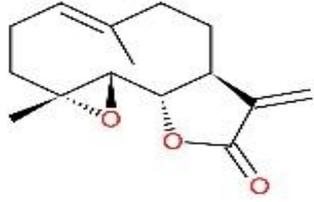
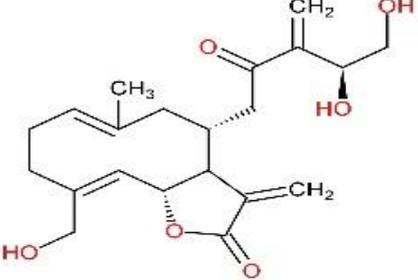
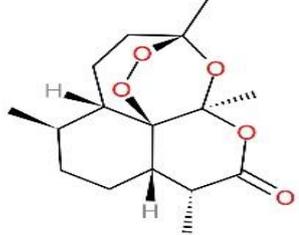
Tableau 20 : Les principaux flavonoïdes présents chez les Astéracées .

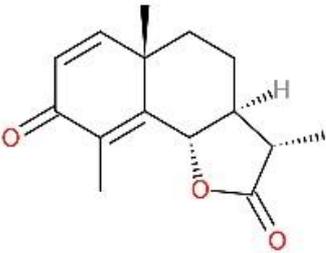
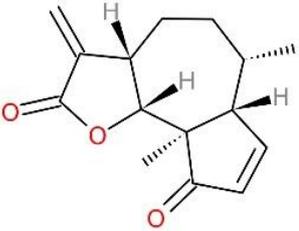
| Composé | Structure | Espèce |
|----------|---|---------------------------|
| Apigénol |  | <i>Chamaemelum nobile</i> |
| Lutéolol |  | |

5. Lactones sesquiterpiniques

Tableau 21 : Les principaux lactones sesquiterpiniques présents chez Astéracées.

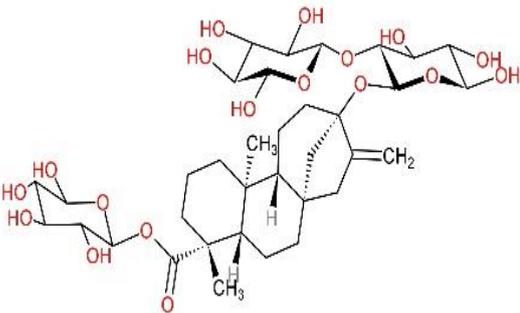
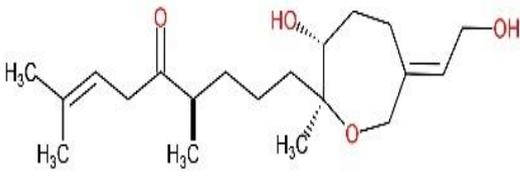
| Composé | Structure | Espèce |
|-------------|---|--------------------------|
| Tussilagone |  | <i>Tussilago farfara</i> |

| | | |
|---------------|---|-----------------------------|
| Alantolactone |  | <i>Inula helenium</i> |
| Hélénaline |  | <i>Arnica montana</i> |
| Parthénolide |  | <i>Tanacetum parthenium</i> |
| Cnicine |  | <i>Cnicus benedictus</i> |
| Artémisinine |  | <i>Artemisia annua</i> |

| | | |
|-----------|---|--------------------------|
| Santonine |  | <i>Artemisia cina</i> |
| Ambrosine |  | <i>Ambrosia maritima</i> |

6. Diterpènes

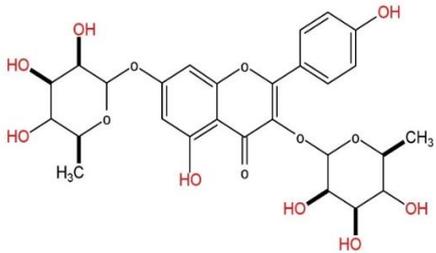
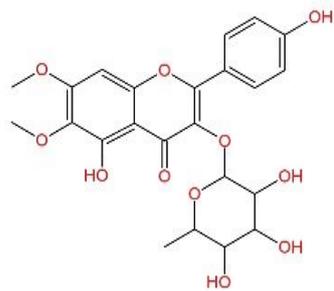
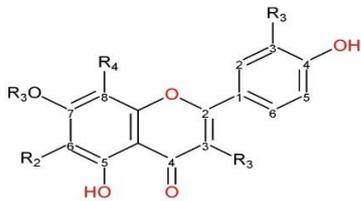
Tableau 22 : Les principaux diterpènes présents chez les Astéracées .

| Composé | Structure | Espèce |
|------------|---|---------------------------|
| Stévioside |  | <i>Stevia rebaudiana</i> |
| Zoapatanol |  | <i>Montanoa tomentosa</i> |

Annexe 2 : Phytochimie du genre *Cotula*.

1.Flavonoïdes

Tableau 23 : Flavonoïdes présents chez le genre *Cotula* .

| Composé | Structure | Espèce | Référence |
|------------------|--|-----------------------|-----------|
| Kaempferitine |  | <i>Cotula cinerea</i> | (94) |
| Kaempferol |  | | |
| Quercétrine |  | | |
| L'isoschaftoside |  R1 H R2 Ara R3 H R4 Glc R5 H | | |

| | | | | | | | |
|--|--------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------------|----------------------|
| Lutéoline et ses dérivés | R1 H | R2 H | R3 H | R4 H | R5 OH | <i>Cotula cinerea</i> | (95) (94) (96) |
| Quercétine et ses dérivés | R1 O-Glc | R2 H | R3 H | R4 H | R5 OH | <i>Cotula cinerea</i> | |
| Isoflavonoïde 3β- isovaleryloxyco stunolide | | | | | | <i>Cotula hispida</i> | (97) |
| Chryso-spenol-D | | | | | | <i>Cotula cinerea</i> | (96) |
| Chryso-splenetin e | | | | | | | |
| Oxyyanine-B | | | | | | | |
| Axillarine et ses dérivés | | | | | | | |
| Pedaletine | | | | | | | |
| Apigénine et ses dérivés | | | | | | | |
| 3- glucosylisorham netine | | | | | | | |
| 7-O- β-D- glucosylaxillarin e | | | | | | | |
| Isokaempferid | | | | | | | |
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | | |
| | CH ₃ | OCH ₃ | OCH ₃ | OH | OH | | |
| | CH ₃ | OCH ₃ | OCH ₃ | OCH ₃ | OH | | |
| | CH ₃ | OH | OCH ₃ | OH | OCH ₃ | | |
| | H | OCH ₃ | OCH ₃ | OH | OH | | |
| | CH ₃ | OH | H | OH | OH | | |
| | H | H | OCH ₃ | H | OH | | |
| | H | H | H | H | OH | | |
| | H | H | OGlc | OCH ₃ | OH | | |
| | Glc | OCH ₃ | OCH ₃ | OH | OH | | |

2. Sesquiterpènes

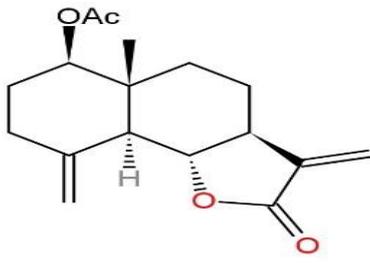
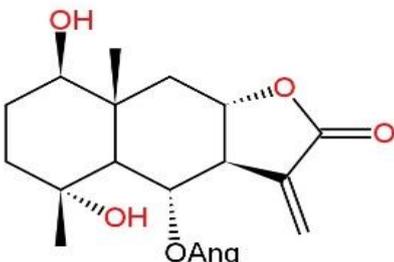
Germacranolides :

Tableau 24 : Germacranolides présents chez le genre *Cotula* .

| Composé | Structure | Espèce | Référence |
|---|-----------|-----------------------|-----------|
| 1 α ,6 α -dihydroxygermarca-4E, 9Z, 11 (13)-trien-12,8 α -olide chrysospenol-D | | <i>Cotula cinerea</i> | (96) |
| Deacetyl tulipinolide-1 β ,10 α -epoxide | | | |
| 13-acetoxy-8- α -hydroxy-7,11-dihydro-11-13-dihydroanhydroverlotorin R=H R=Ae | | | |
| 8 α , 13-diacetoxy-1 α -hydroxygermarco-4E, 7(11), 9Z-treien-6 α , 12-olide | | | |

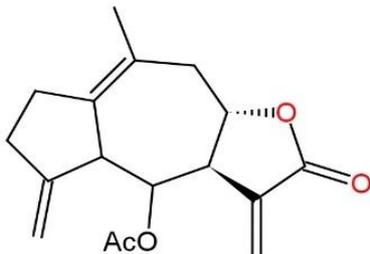
Eudesmanolides :

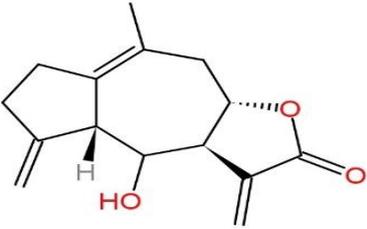
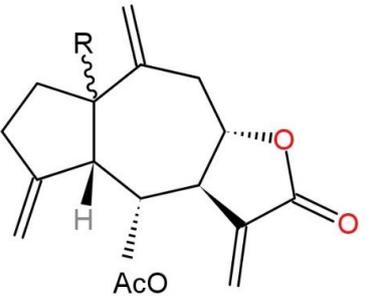
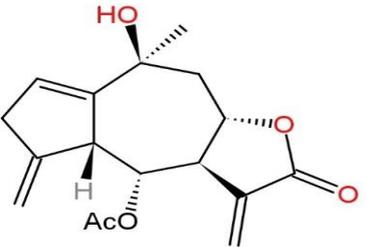
Tableau 25 : Eudesmanolides présents chez le genre *Cotula* .

| Composé | Structure | Espèce | Référence |
|--|---|-----------------------|-----------|
| Reynosin acetate |  | <i>Cotula cinerea</i> | (98) |
| 6 α -angeloyloxy-1 β , 4 α -dihydroxyeudesm-11 (13)-en-8 α , 12-olide |  | | |

Guaianolides :

Tableau 26 : Guaianolides présents chez le genre *Cotula* .

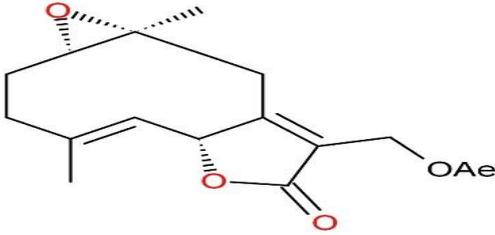
| Composé | Structure | Espèce | Référence |
|---|---|-----------------------|-----------|
| 6-epi-1,10-dehydro-10,14-dihydrochrysostamolide acétate |  | <i>Cotula cinerea</i> | (99) |

| | | | |
|---|---|--|--|
| <p>6α-hydroxyguaia- 1(10),4(15),11(13)- trien- 8α,12-olide</p> |  | | |
| <p>6α-acetoxy-1β- hydroxyguaia - 4(15),10(14),11(13)-trien- 8α,12-olide</p> |  | | |
| <p>6α-acetoxy-1β- hydroxyperoxyguaia- 4(15),10(14),11(13)-trien- 8α,12-olide</p> | | | |
| <p>6α- acetoxy-1α- hydroxygaia- 4(15),10(14),11(13)-trien- 8α,12-olide</p> | | | |
| <p>6α-acetoxy-10β- hydroxyguaia-1, 4(15),11 (13)- trien-8α,12-olide</p> |  | | |

Glaucolides :

Squelette eudesmane :

Tableau 27 : Glaucolides (squelette eudesmane) présents chez le genre *Cotula*

| Composé | Structure | Espèce | Référence |
|--|---|----------------------------------|-------------|
| <p>13-acetoxy-9β- hydroxy-1β,10α- epoxygermacra- 4,7(11)-dien- 6α,12-olide</p> |  | <p><i>Cotula cinerea</i></p> | <p>(99)</p> |

| | | | |
|--|--|--|--|
| 8 α ,13-diacetoxy-1 α -hydroxygermacra-4,7(11),10(14)-trien-6 α ,12-olide | | | |
| 8 α ,13-diacetoxy-1 β -hydroxygermarca-4,7(11),10(14)-trien-6 α ,12-olide | | | |

Squelette germacrane :

Tableau 28 : Glaucolides (squelette germacrane) présents chez le genre *Cotula*

| Composé | Structure | Espèce | Référence | | | | | | | | | | | | |
|--|---|----------------------|----------------------|----------|----|----|---|----|----|---|----------------|---------------|---|-----------------------|------|
| 8 α ,13-dihydroxy-1-oxo-germacra-4,7(11),10(14)-trien-6 α ,12-olide | <table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>R₁</td> <td>R₂</td> <td>X</td> </tr> <tr> <td>Ac</td> <td>Ac</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Ac</td> <td>Ac</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>αOH, H</td> <td>βOH, H</td> <td>O</td> </tr> </table> | R₁ | R₂ | X | Ac | Ac | H | Ac | Ac | H | α OH, H | β OH, H | O | <i>Cotula cinerea</i> | (99) |
| R₁ | R₂ | X | | | | | | | | | | | | | |
| Ac | Ac | H | | | | | | | | | | | | | |
| Ac | Ac | H | | | | | | | | | | | | | |
| α OH, H | β OH, H | O | | | | | | | | | | | | | |
| 13-acetoxy-1 β ,8 α -dihydroxyeudesma-4(15),7(13)-dien-6 α ,12-olide | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 α ,13-diacetoxy-1 β ,hydroxyeudesma-4(15),7(13)-dien-6 α ,12-olide | <p>R=H R=Ac</p> | | | | | | | | | | | | | | |
| 13-acetoxy-1 β ,8 α -dihydroxyeudesma-3,7(13)-dine-6 α ,12-olide | | | | | | | | | | | | | | | |
| Seco-thujene | | | | | | | | | | | | | | | |

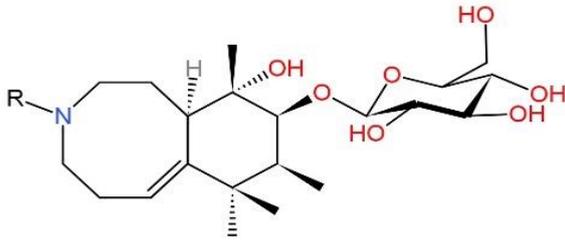
4. Dérivés phénoliques :

Tableau 29 : Dérivés phénoliques présents chez le genre *Cotula* .

| Composé | Structure | Espèce | Référence |
|--|-----------|-----------------------------|------------------------|
| 2-cis-heptadeca-2, 8,10-triene-4,6-diyn-1-ol | | <i>C.plumosa</i> | (100) |
| Méthyl-4-isopentenoxy-cinnamate | | <i>C.filicula</i> | |
| 3,5-dimethoxy-1- α -propenylphenyl-4-isovalerate | | | |
| Pentadeca-2,8,10,14-tetraene-4,6-diyne | | <i>C.bipinnata</i> | |
| Corimen : (2-(2'-hydroxy-5'-methoxyphenyl)propane-1,3-diol)) | | <i>Cotula coronopifolia</i> | Mahjoub et al., 2014). |

5. Alcaloïdes :

Tableau 30 : Alcaloïdes présents chez le genre *Cotula*

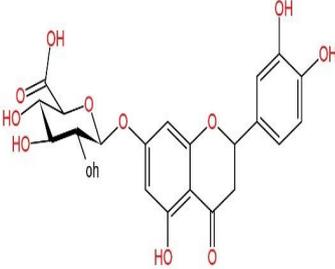
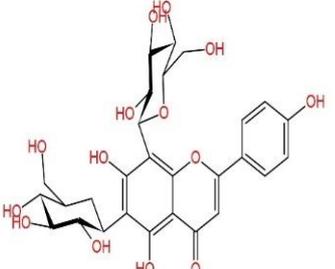
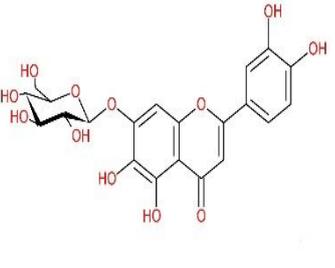
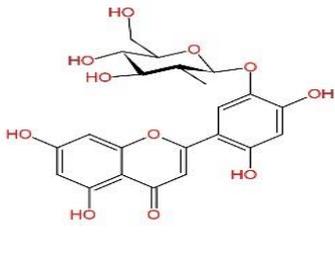
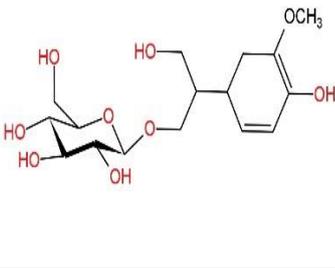
| Composé | Structure | Espèce | Référence |
|--------------------|---|-----------------------------|----------------------|
| Cotuzine A et B |  | <i>Cotula coronopifolia</i> | Mahjoub et al., 2014 |

Annexe 3 : Principaux métabolites secondaires connus chez l'espèce *Cotula anthemoides*

1. Flavonoïdes

Tableau 31 : Flavonoïdes présents chez l'espèce *Cotula anthemoides* .

| Composé | | Structure | Partie | Référence |
|----------------------------|---|-----------|-------------------|-----------|
| Isoflavone glycoside | 5,7-dihydroxy-6,3',4'-trimethoxyisoflavone 7-O-β-D-glucopyranosyl(1-6)-α-L-rhamnopyranoside | | Les graines | (101) |
| Un flavone | 5,7-dihydroxy-6,8-diméthyl-3-méthoxyflavone 7-O-β-Dgalactopyranosyl-(1—2)-α-L-rhamnopyranoside | | | |
| Flavonol glucosylé nouveau | 5,7,4',5'-tetrahydroxyflavonol -2'- [propanoic acid-(2'''-acetoxy-3'''-sulfonyl)]-5'-O-β-Dglucopiranoside | | Parties aériennes | (102) |

| | | | | |
|--------------------------------------|-------------|--|--|--|
| glycosyloxyflavone | Cynaroside: |  | | |
| vicenin-2 | |  | | |
| 6-hydroxyluteolin 7-glucoside : | |  | | |
| Isoetin-5'-O-β-D-glucopyranoside | |  | | |
| Junipediol A-8-O-β-D-glucopyranoside | |  | | |

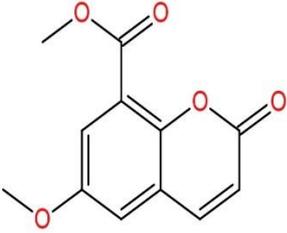
2. Dérivés phénoliques

Tableau 32 : Dérivés phénoliques présents chez l'espèce *Cotula anthemoides*

| Composé | Structure | Partie | Référence |
|--|-----------|-------------------|-----------|
| Vanillic acid -4-O-β-D-glucopyranoside | | Parties aériennes | (79) |
| Protocatechuic acide | | | |
| Acide rosmarinique | | | |
| Tachioside | | | |

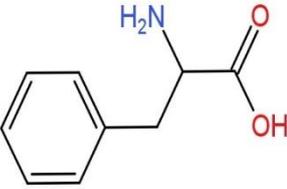
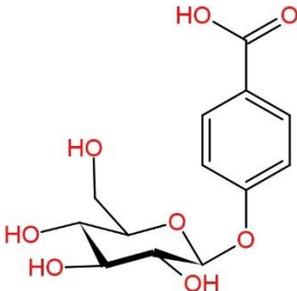
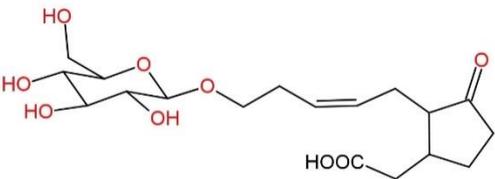
3. Coumarine

Tableau 33 : Coumarine présent chez l'espèce *Cotula anthemoides* .

| Composé | Structure | Partie | Référence |
|--|---|-------------------|-----------|
| Methoxy-2-oxo-2H-chromene-8-carboxylic acid methyl ester |  | Parties aériennes | (103) |

4. Acides

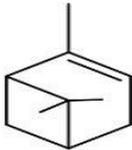
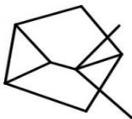
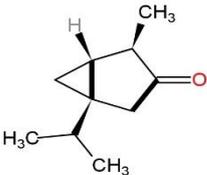
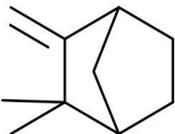
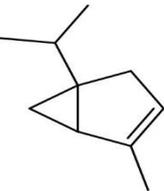
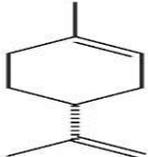
Tableau 34 : Acides présents chez l'espèce *Cotula anthemoides* .

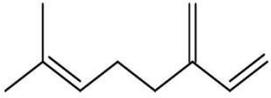
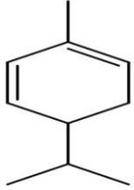
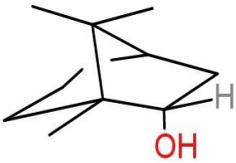
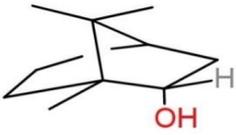
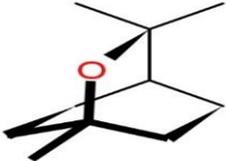
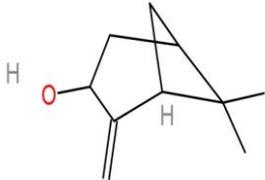
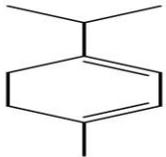
| Composé | Structure | Partie | Référence |
|--------------------------------------|---|-------------------|-----------|
| Phénylalanine |  | Parties aériennes | (79) |
| Benzoic acid-4-O-β-D-glucopyranoside |  | | |
| Glucoside d'acide tubéronique |  | | |

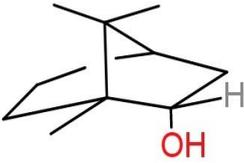
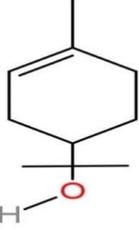
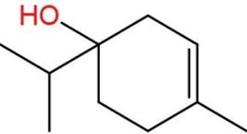
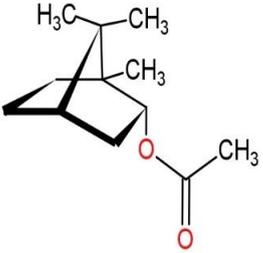
5. Terpénoïdes

Monoterpènes

Tableau 35 : Monoterpènes présents chez l'espèce *Cotula anthemoides* .

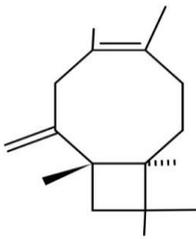
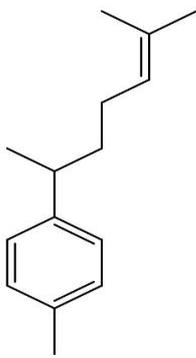
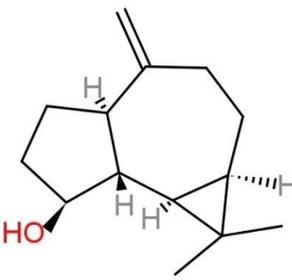
| Composé | Structure | Partie | Référence |
|------------|---|-----------------|-----------|
| Pinene |  | Partie aérienne | (103) |
| Tricyclene |  | | |
| Thujone |  | | (79) |
| Camphene |  | | |
| Thujene |  | | |
| Limonène |  | | |

| | | | |
|-----------------|---|--|--|
| Myrcène |  | | |
| -phellandrène |  | | |
| Bornéol |  | | |
| Eucalyptol |  | | |
| Pinocarveol |  | | |
| Alpha-terpinene |  | | |
| Borneol |  | | |

| | | | |
|--------------------|---|--|--|
| Pinocarveol |  | | |
| L'Alpha-terpinéol |  | | |
| p-Menth-1-en-4-ol |  | | |
| Acétate de bornyle |  | | |

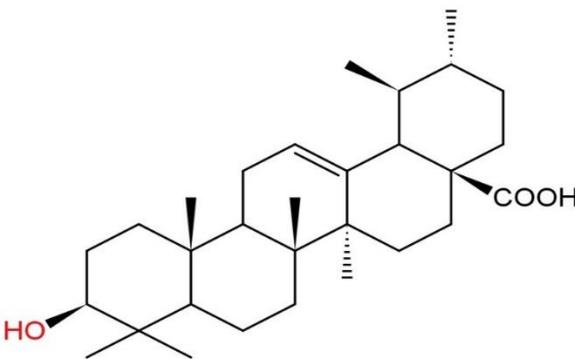
Sesquiterpènes

Tableau 36 : Sesquiterpènes présents chez l'espèce *Cotula anthemoides* .

| Composé | Structure | Référence |
|------------------|---|-----------|
| Isocaryophyllene |  | (79) |
| Alphacurcumene |  | |
| spathuléol |  | |

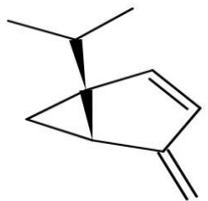
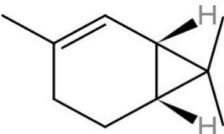
Triterpène pentacyclique

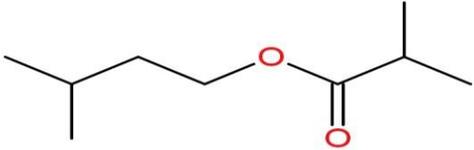
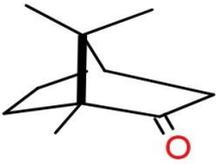
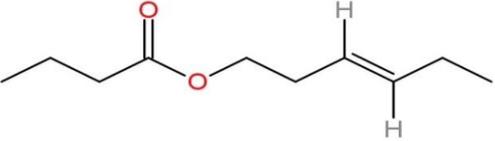
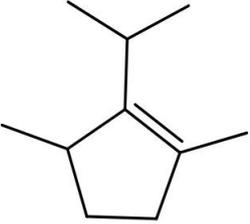
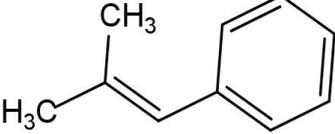
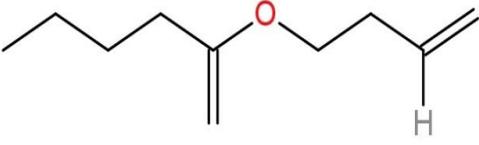
Tableau 37 : Triterpène pentacyclique présent chez l'espèce *Cotula anthemoides*

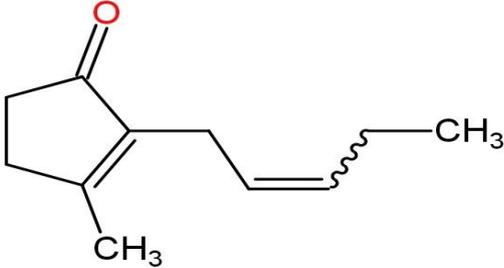
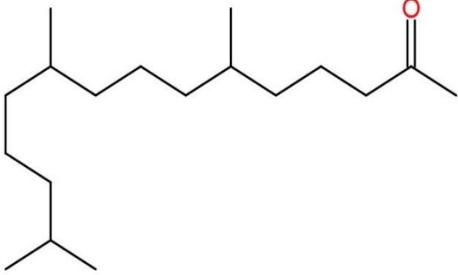
| Composé | structure | partie | Référence |
|-------------------|--|-------------------|-----------|
| L'acide ursolique |  | Parties aériennes | (79) |

6. Autres composés

Tableau 38 : Autres composés présents chez l'espèce *Cotula anthemoides* .

| Composé | Structure | Référence |
|----------------------|---|-----------|
| Thuya-2,4(10) –diène |  | (102) |
| 2-carene |  | |
| | | |

| | | |
|---|--|-------------|
| <p>Isobutyrate d'isopentyle</p> |  | <p>(79)</p> |
| <p>Camphre</p> |  | |
| <p>Acide butanoïque, 3- hexényl ester</p> |  | |
| <p>Cyclopentène, 1,3- diméthyl-2-(1- méthyléthyl)</p> |  | |
| <p>Benzene, (2-méthyl-1- propényl)-</p> |  | |
| <p>Valérate de cis-3- hexényle</p> |  | |
| | | |

| | | |
|--------------------------------------|--|--|
| <p>Jasmone</p> |  | |
| <p>Hexahydrofarnesyl acétone</p> |  | |

Annexe 4 : Chromatogrammes UPLC-MS

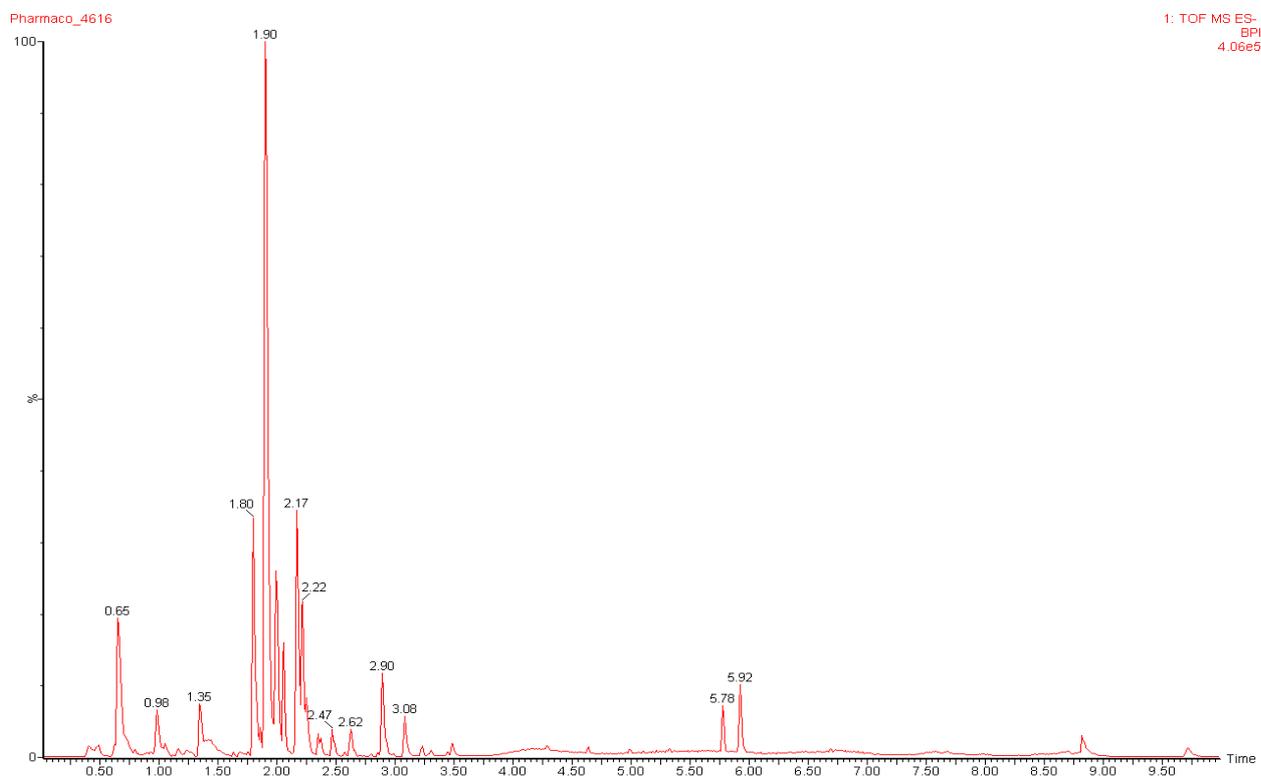
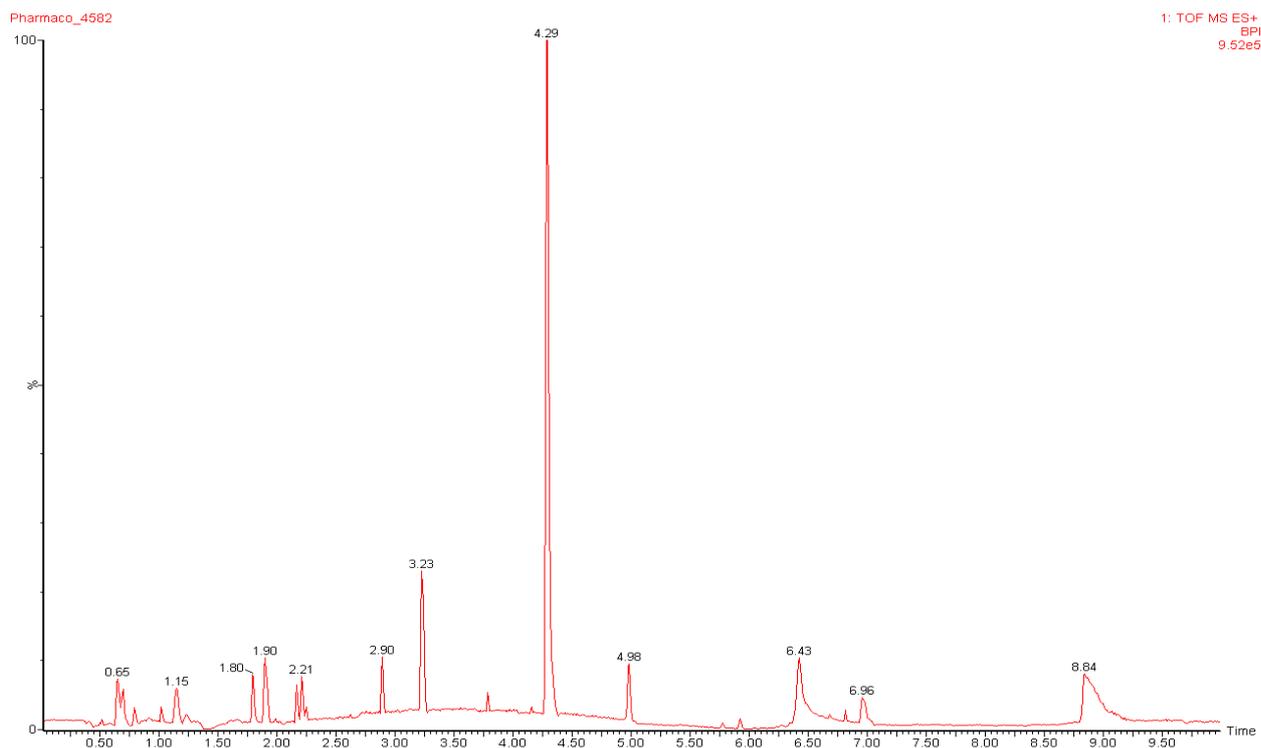


Figure 22 : Chromatogrammes UPLC-MS en mode positif et en mode négatif de l'extrait méthanolique de *Cotula anthemoides*.

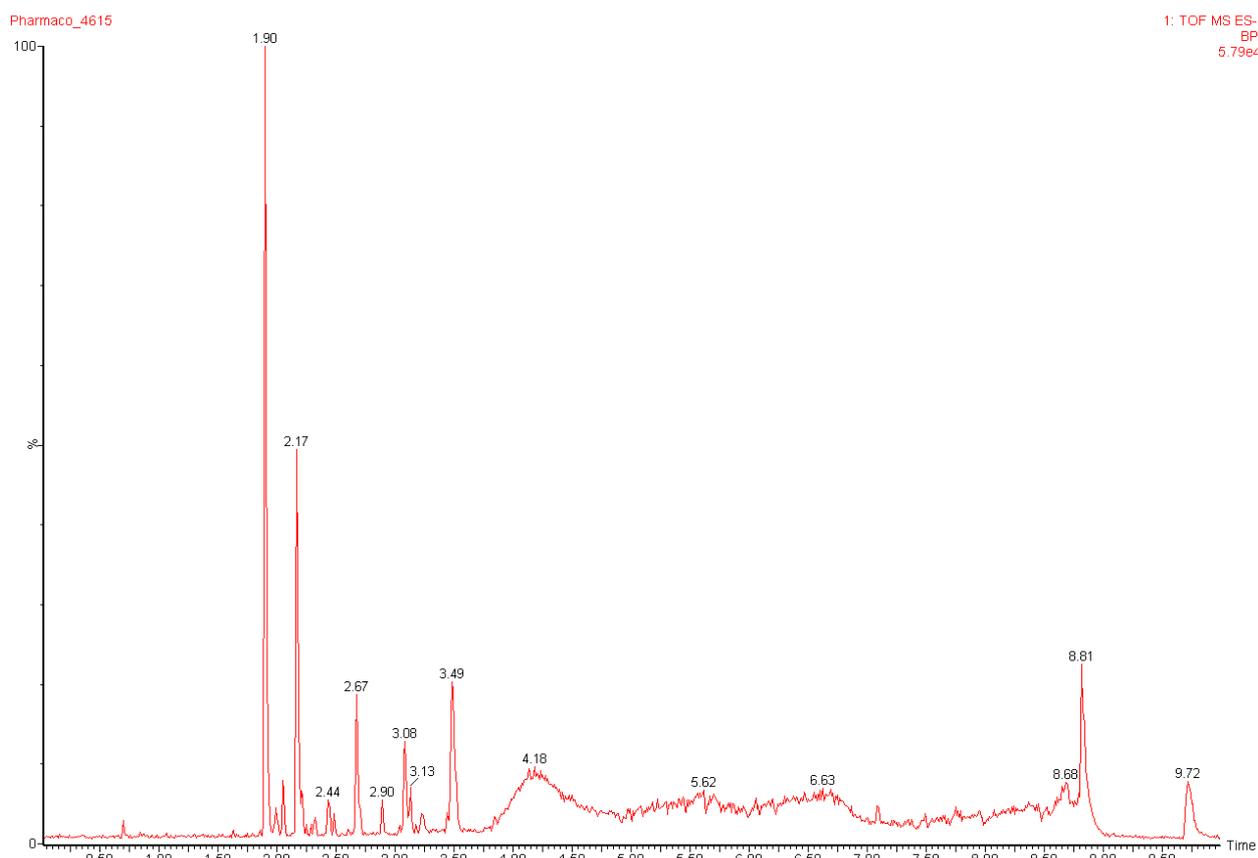
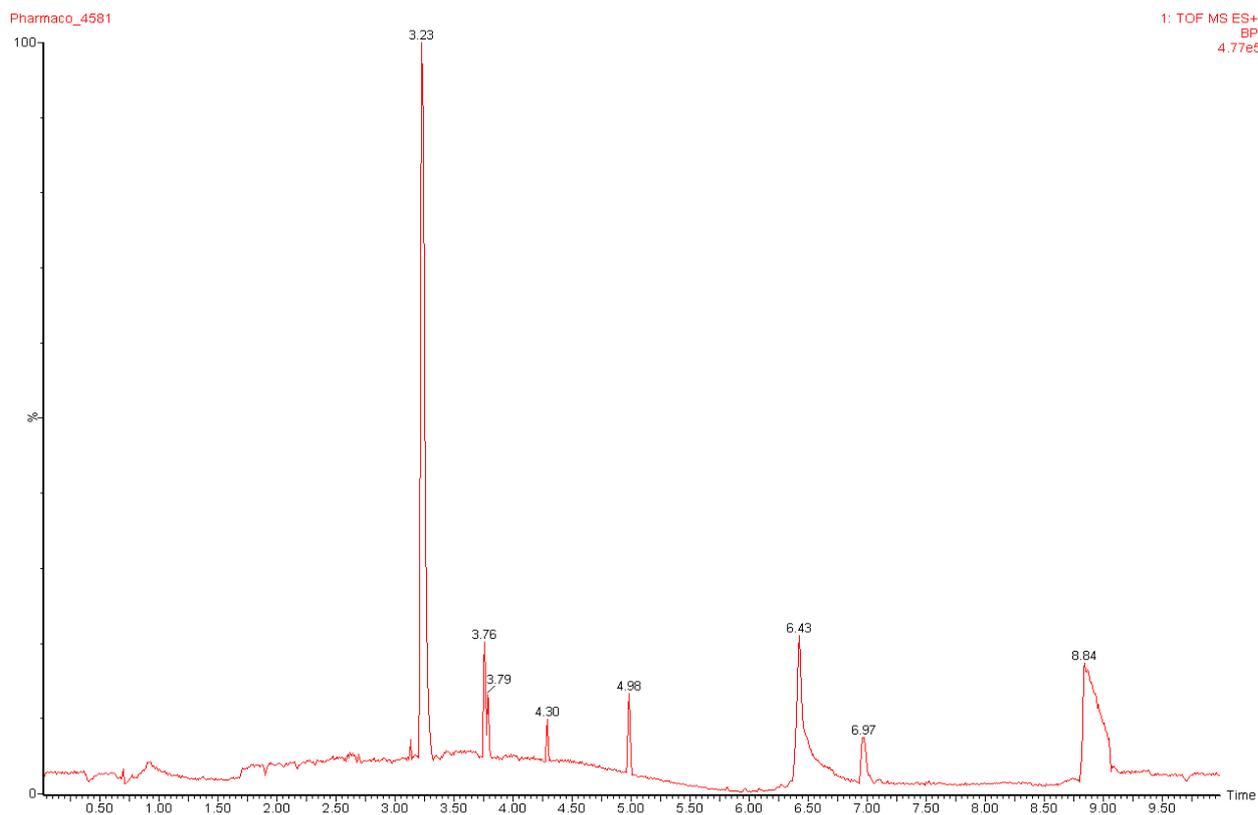


Figure 23 : Chromatogrammes UPLC-MS en mode positif et en mode négatif de l'extrait AcOEt de *Cotula anthemoides*.

Annexe 5 : Exemple de table Excel utilisée pour le calcul de masse moléculaire à partir d'adduits observés dans les spectres de masses ESI.

| Monoisotopic exact masses of molecular ion adducts often observed in ESI mass spectra | | | | | | |
|--|------------------|--------|------|-----------|---------------------------|---------------------------|
| | | | | | Your M here: 350,00000 | Your M+X or M-X 876,32 |
| Ion name | Ion mass | Charge | Mult | Mass | Result: | Reverse: |
| 1. Positive ion mode | | | | | | |
| M+3H | M/3 + 1.007276 | 3+ | 0,33 | 1,007276 | 117,673943 | 291,099391 |
| M+2H+Na | M/3 + 8.334590 | 3+ | 0,33 | 8,334590 | 125,001257 | 283,772077 |
| M+H+2Na | M/3 + 15.7661904 | 3+ | 0,33 | 15,766190 | 132,432857 | 276,340476 |
| M+3Na | M/3 + 22.989218 | 3+ | 0,33 | 22,989218 | 139,655885 | 269,117449 |
| M+2H | M/2 + 1.007276 | 2+ | 0,5 | 1,007276 | 176,007276 | 437,152724 |
| M+H+Na | M/2 + 11.998247 | 2+ | 0,5 | 11,998247 | 186,998247 | 426,161753 |
| M+ACN+2H | M/2 + 21.520550 | 2+ | 0,5 | 21,520550 | 196,520550 | 416,639450 |
| M+2Na | M/2 + 22.989218 | 2+ | 0,5 | 22,989218 | 197,989218 | 415,170782 |
| M+2ACN+2H | M/2 + 42.033823 | 2+ | 0,5 | 42,033823 | 217,033823 | 396,126177 |
| M+H | M + 1.007276 | 1+ | 1 | 1,007276 | 351,007276 | 875,312724 |
| M+Na | M + 22.989218 | 1+ | 1 | 22,989218 | 372,989218 | 853,330782 |
| M+CH3OH+H | M + 33.033489 | 1+ | 1 | 33,033489 | 383,033489 | 843,286511 |
| M+ACN+H | M + 42.033823 | 1+ | 1 | 42,033823 | 392,033823 | 834,286177 |
| M+2Na-H | M + 44.971160 | 1+ | 1 | 44,971160 | 394,971160 | 831,348840 |
| M+ACN+Na | M + 64.015765 | 1+ | 1 | 64,015765 | 414,015765 | 812,304235 |
| 2M+H | 2M + 1.007276 | 1+ | 2 | 1,007276 | 701,007276 | 1751,632724 |
| 2M+Na | 2M + 22.989218 | 1+ | 2 | 22,989218 | 722,989218 | 1729,650782 |
| 2M+ACN+H | 2M + 42.033823 | 1+ | 2 | 42,033823 | 742,033823 | 1710,606177 |
| 2. Negative ion mode | | | | | | |
| M-3H | M/3 - 1.007276 | 3- | 0,33 | -1,007276 | 115,659391 | 293,113943 |
| M-2H | M/2 - 1.007276 | 2- | 0,5 | -1,007276 | 173,992724 | 439,167276 |
| M-H | M - 1.007276 | 1- | 1 | -1,007276 | 348,992724 | 877,327276 |
| M+Na-2H | M + 20.974666 | 1- | 1 | 20,974666 | 370,974666 | 855,345334 |
| M+Cl | M + 34.969402 | 1- | 1 | 34,969402 | 384,969402 | 841,350598 |
| 2M-H | 2M - 1.007276 | 1- | 2 | -1,007276 | 698,992724 | 1753,647276 |
| 3M-H | 3M - 1.007276 | 1- | 3 | 1,007276 | 1051,007276 | 2627,952724 |

Figure 24 : Exemple de table pour le calcul de la masse moléculaire à partir d'adduits observés dans les spectres de masse ESI positif et ESI négatif

Annexe 6 : Spectres de masse correspondants aux principaux pics observés sur les chromatogrammes UPLC-MS.

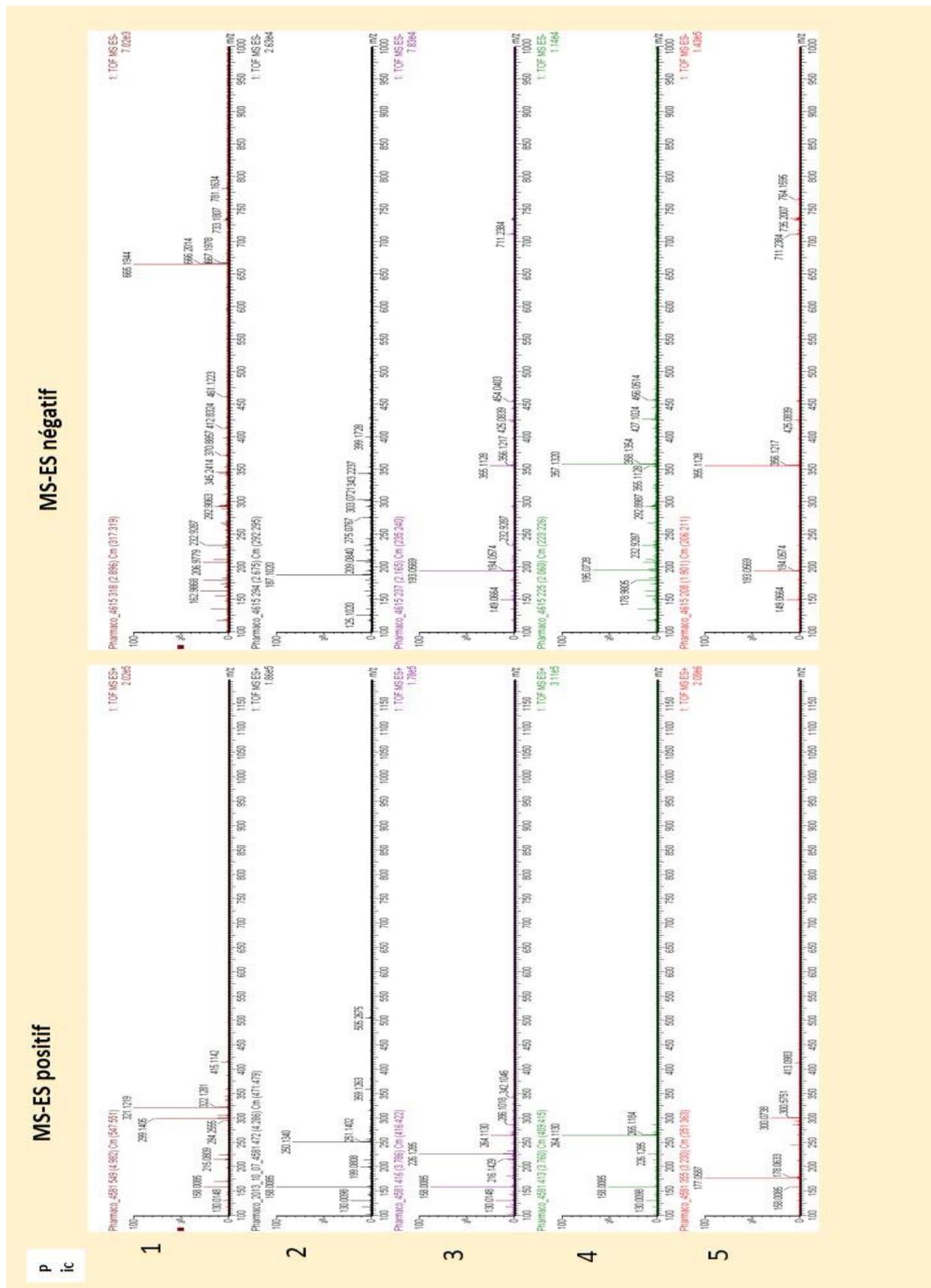
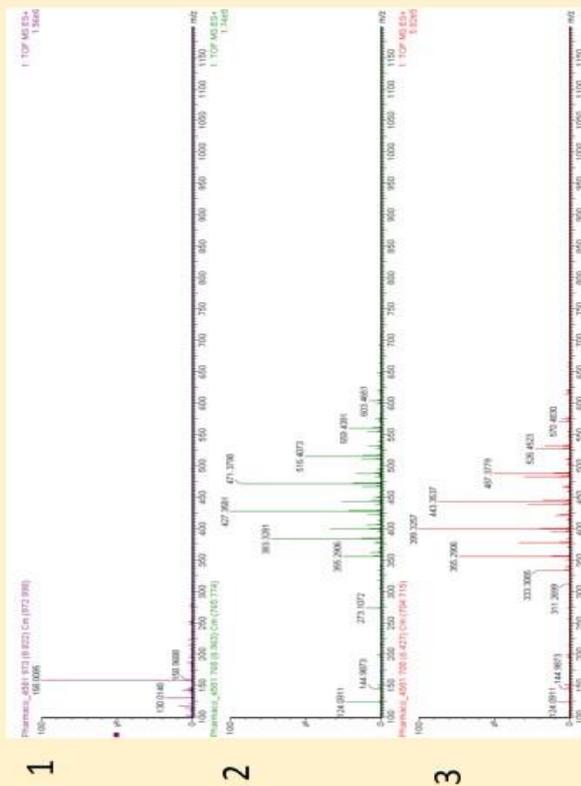


Figure 25 : Spectres de masses correspondants aux principaux pics de l’UPLC-MS de l’extrait AcEOt de *Cotula anthemoides*.

P ic

MS-ES positif



MS-ES négatif

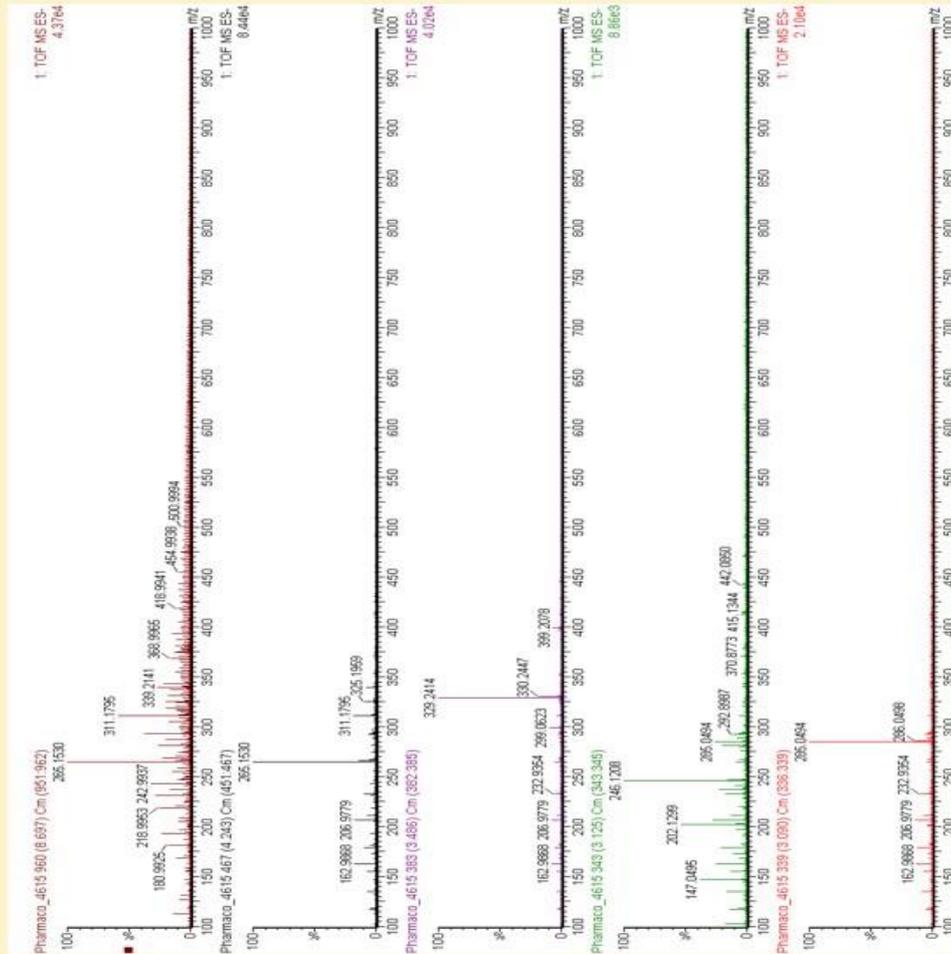


Figure 26 : Spectres de masses correspondants aux principaux pics de l'UPLC-MS de l'extrait AcEOt de *Cotula anthemoides*.

MS-ES positif

MS-ES négatif

P ic

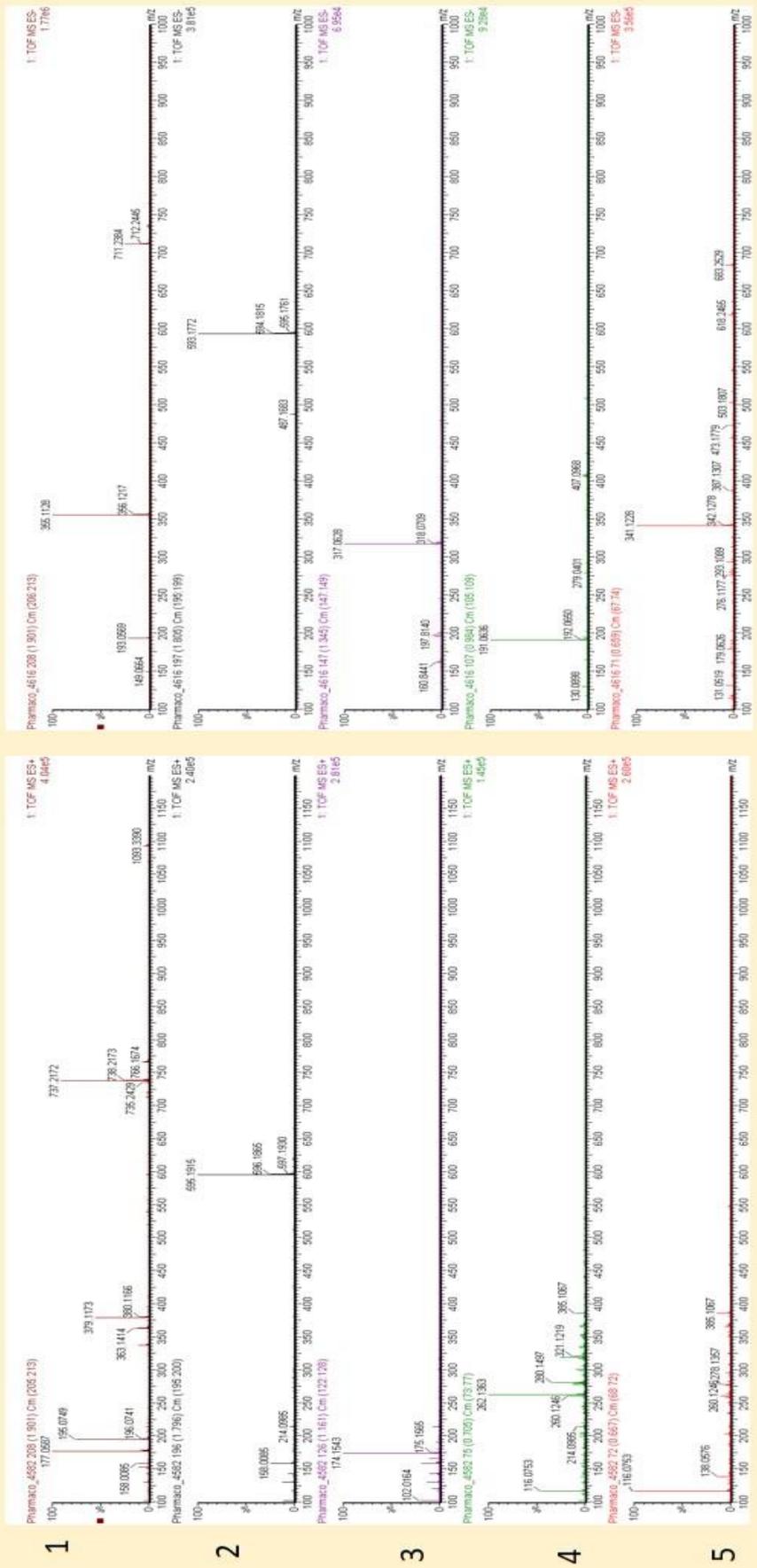
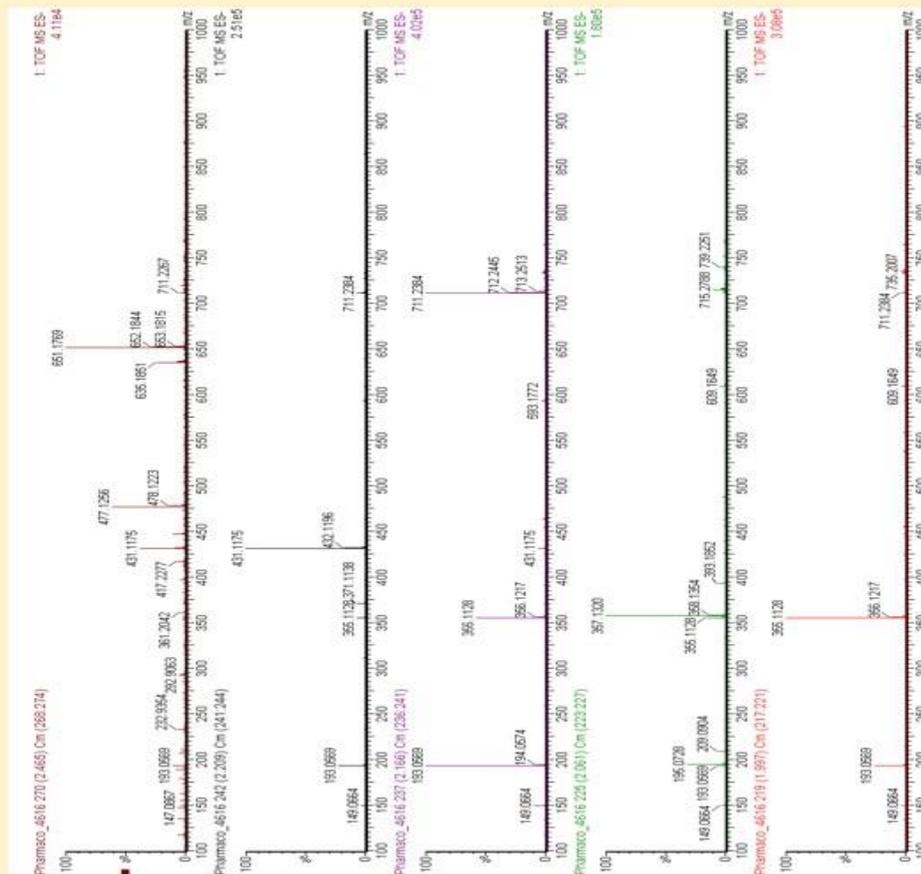


Figure 27 : spectres de masses correspondants aux principaux pics d'UPLC-MS de l'extrait Méthanol de *Cotula anthemoides*.

MS-ES négatif



MS-ES positif

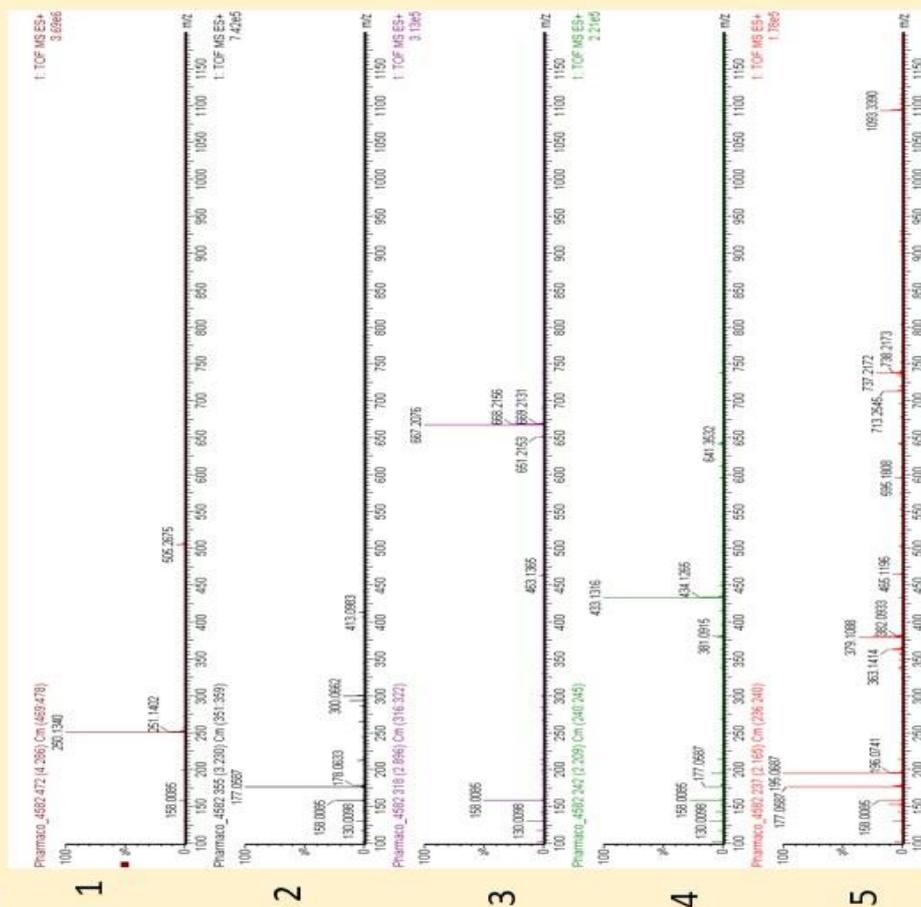
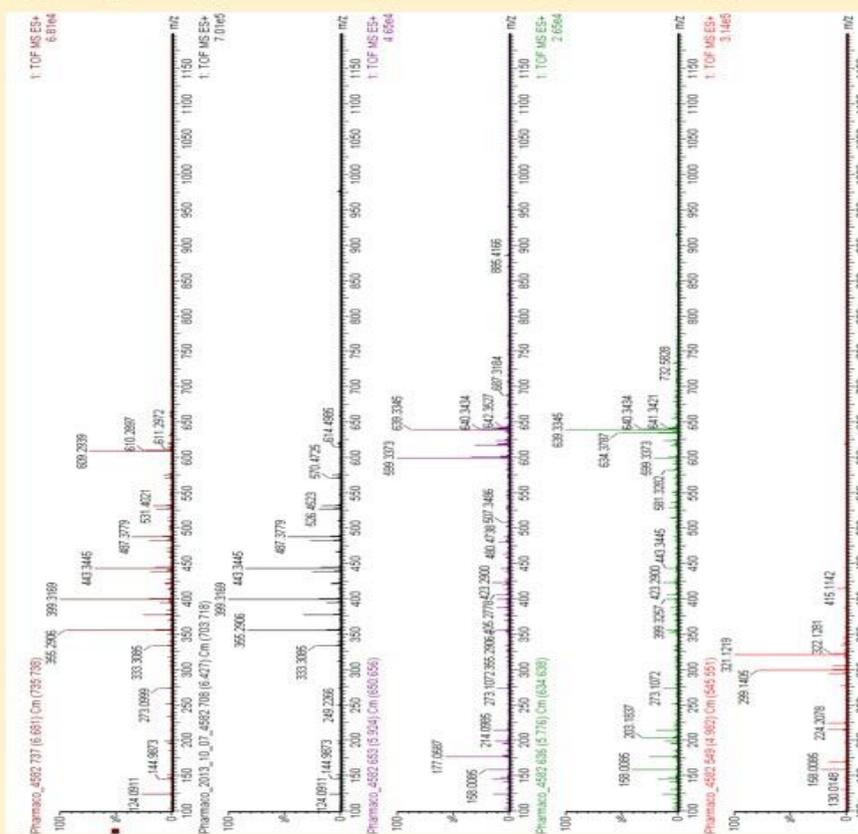


Figure 28 : spectres de masses correspondant aux principaux pics de l'UPLC-MS de l'extrait Méthanol de *Cotula anthemoides*.

P ic

MS-ES positif



MS-ES négatif

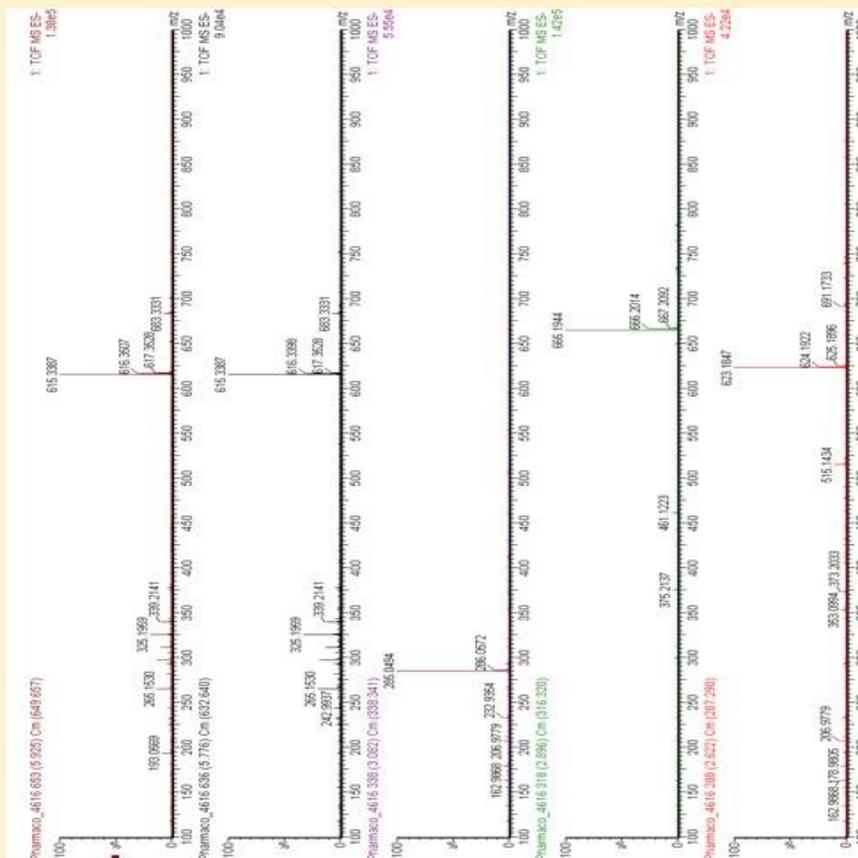


Figure 29 : spectres de masses correspondant au principaux pics de l'UPLC-MS de l'extrait Méthanol de *Cotula anthemoides*.

MS-ES positif

Pic

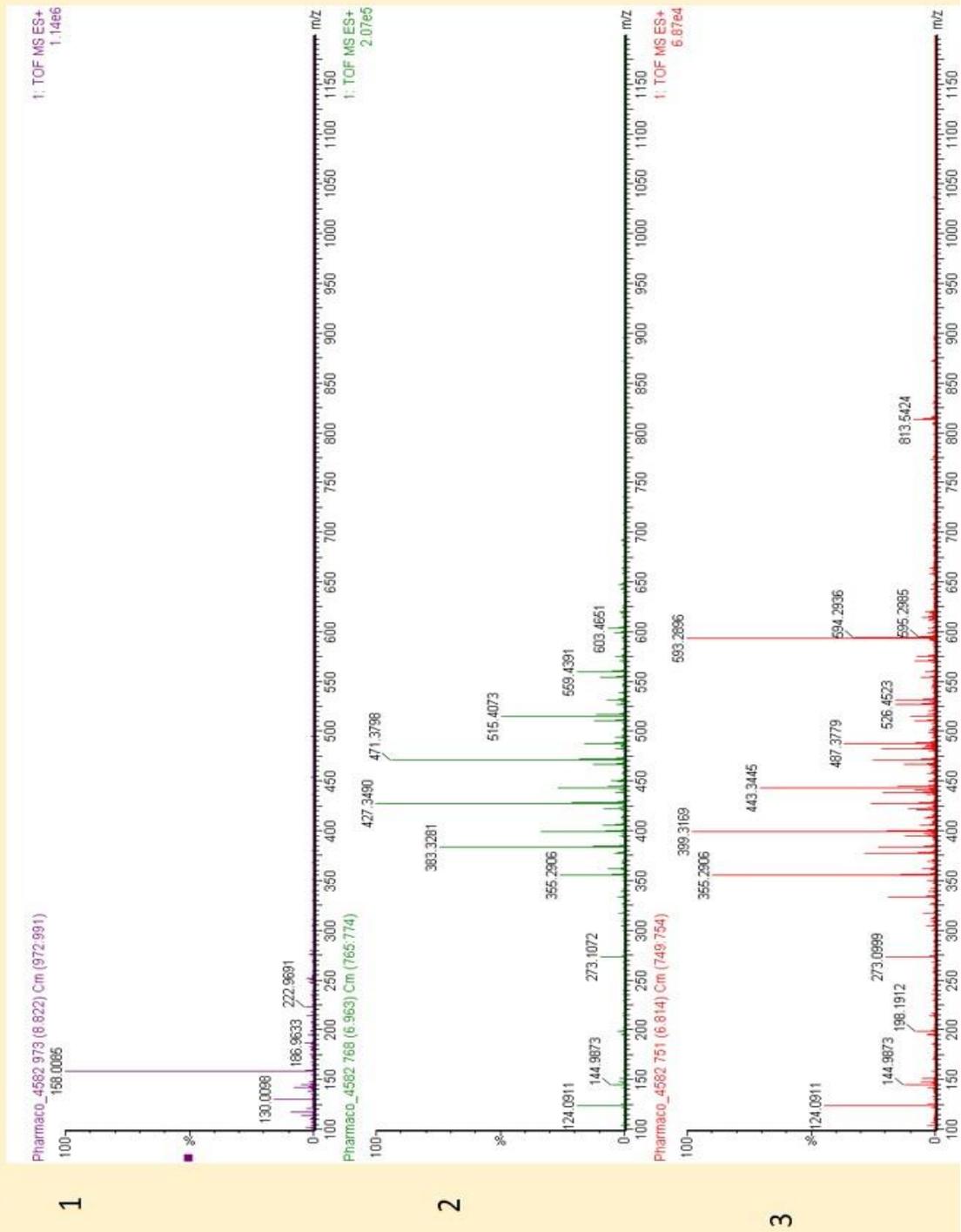
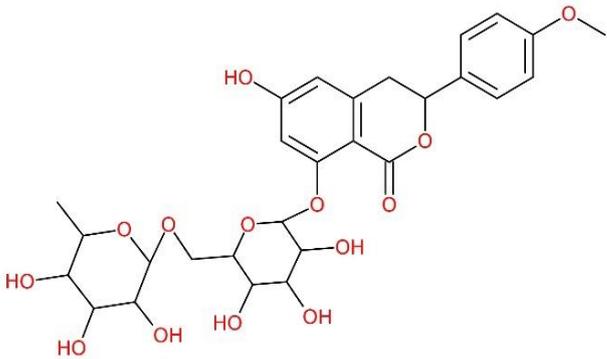
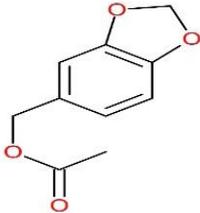
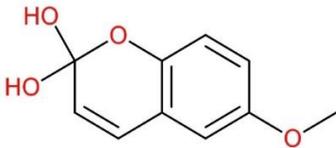
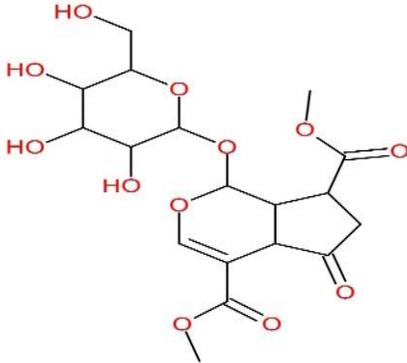
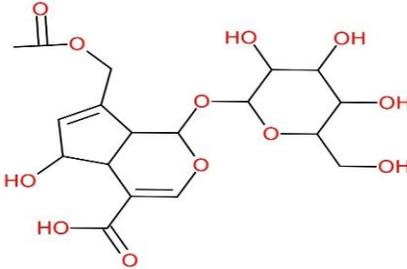


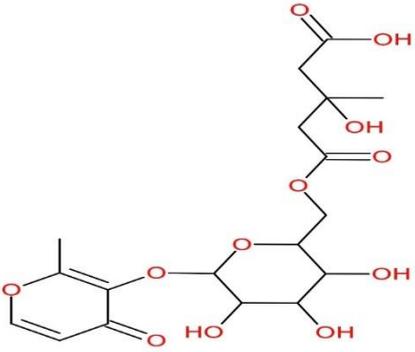
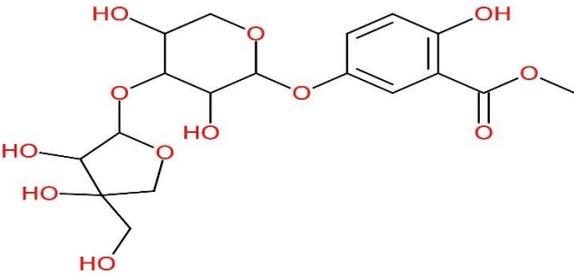
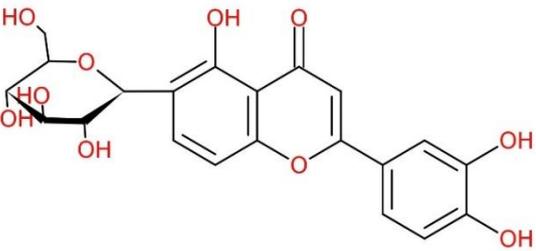
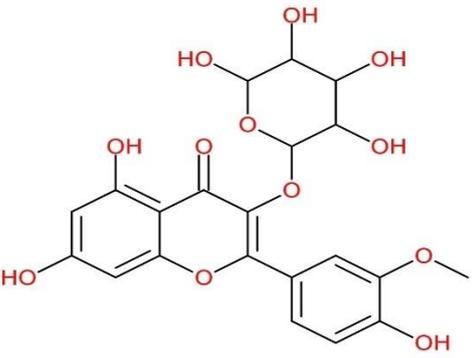
Figure 30 : Spectres de masses correspondants aux principaux pics d'UPLC-MS de l'extrait Méthanol de *Cotula abthemoides*.

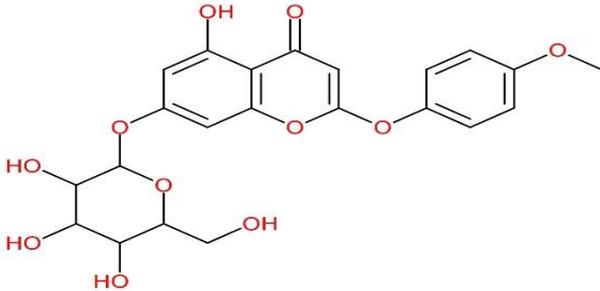
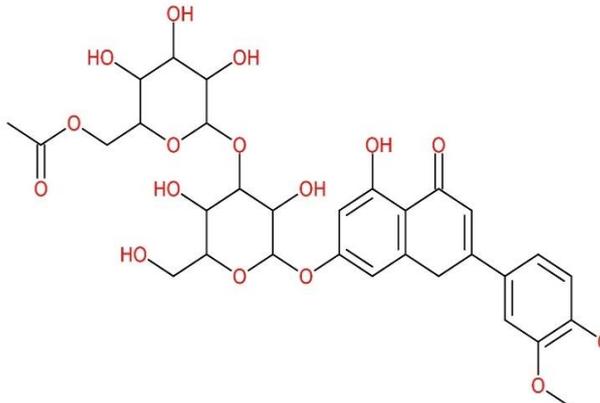
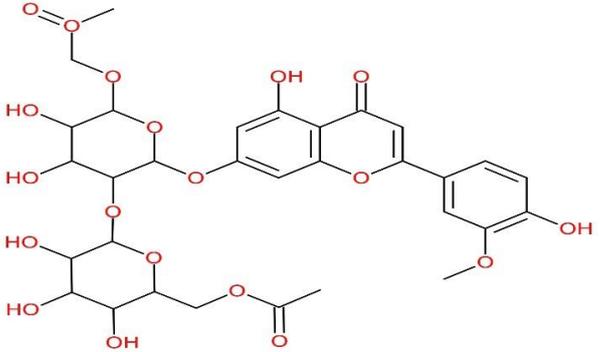
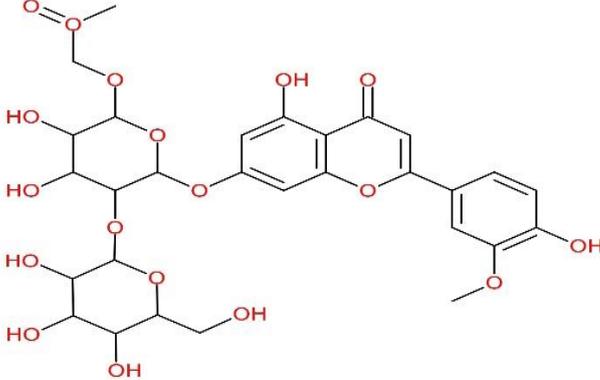
Annexe 7 : Les métabolites secondaires suspectés d'être présents dans l'extrait méthanolique de *Cotula anthemoides*.

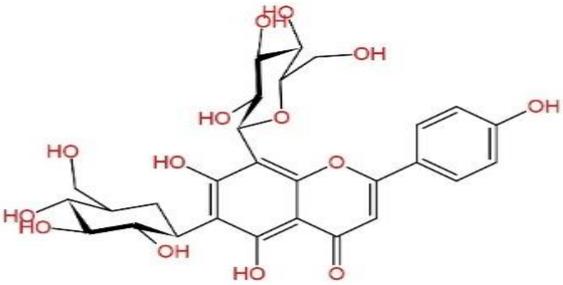
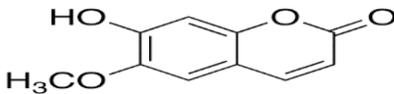
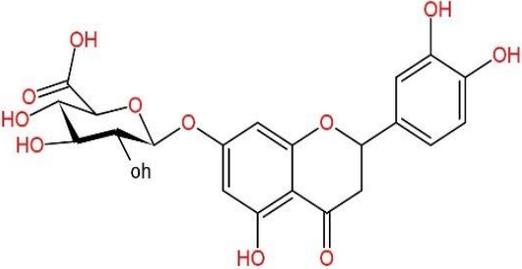
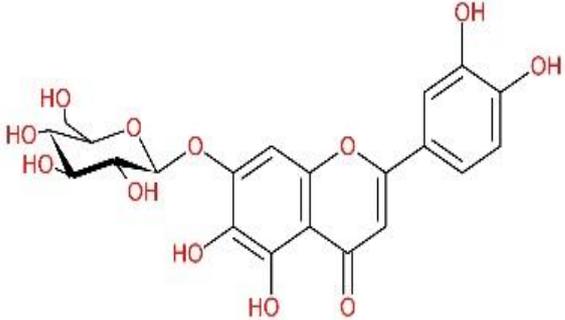
Tableau 39 : Structures et masses exactes des métabolites secondaires suspectés chez *Cotula anthemoides*

| n | Molécule | Structure | Masse exacte (g/mol) |
|---|--|-----------|----------------------|
| 1 | N-(2-phenylethyl)-2,4-undecadienne-8,10-diynamide | | 277.146 |
| 2 | | | 277.146 |
| 3 | | | 277.146 |
| 4 | N-(2,4-tetradecadienoyl)pyrrolidine 2,4-Tetradecdienoic acid pyrrolidide | | 277.240 |
| 5 | 8-Methoxy-1-oxo-7(11)-eremophilene-12,8-lactam | | 277.167 |

| | | | |
|----|------------------------------------|--|---------|
| 6 | Scorzocreticoside II |  <p>The structure shows a central coumarin core. At the 3-position, there is a 4-methoxyphenyl group. At the 4-position, there is a 2,4,6-trihydroxyphenyl group. At the 7-position, there is a disaccharide moiety consisting of a glucose unit linked to a galactose unit via a 1-6 glycosidic bond.</p> | 594.194 |
| 7 | Piperonyl acetate |  <p>The structure consists of a piperone ring system (a benzene ring fused to a six-membered ring containing one oxygen and one carbonyl group). A 2-acetoxyethyl group is attached to the 4-position of the benzene ring.</p> | 194.057 |
| 8 | 6-Methoxy-2H-1-benzopyran-2,2-diol |  <p>The structure is a benzopyran derivative. It features a benzene ring fused to a pyran ring. The pyran ring has two hydroxyl groups at the 2-position and a methoxy group at the 6-position.</p> | 194.057 |
| 9 | Griselinoside |  <p>The structure is a complex glycoside. It features a central coumarin core with a 4-methoxyphenyl group at the 3-position and a 2,4,6-trihydroxyphenyl group at the 4-position. The 7-position is substituted with a glucose unit, which is further linked to a galactose unit via a 1-6 glycosidic bond.</p> | 432.126 |
| 10 | Asperulosidic acid |  <p>The structure is a coumarin derivative. It features a coumarin core with a 4-methoxyphenyl group at the 3-position and a 2,4,6-trihydroxyphenyl group at the 4-position. The 7-position is substituted with a glucose unit, which is further linked to a galactose unit via a 1-6 glycosidic bond.</p> | 432.126 |

| | | | |
|----|---------------------------|---|---------|
| 11 | Licoagroside B |  <p>The structure of Licoagroside B consists of a licoagrolin aglycone core. The aglycone is a chromone with a 6-methyl-7-hydroxy-8-oxo-2,3-dihydrochromone skeleton. It is substituted at the 3-position with a 2,3,4-trihydroxypropyl group and at the 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group. The 2,3,4-trihydroxybutyl group is further substituted at its 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group, forming a branched polyhydroxyalkyl side chain.</p> | 432.126 |
| 12 | Linderofruticoside B |  <p>The structure of Linderofruticoside B features a linderofrutin aglycone core. The aglycone is a chromone with a 6-methyl-7-hydroxy-8-oxo-2,3-dihydrochromone skeleton. It is substituted at the 3-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group and at the 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group. The 2,3,4-trihydroxybutyl group is further substituted at its 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group, forming a branched polyhydroxyalkyl side chain. The 2,3,4-trihydroxybutyl group is further substituted at its 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group, forming a branched polyhydroxyalkyl side chain.</p> | 432.126 |
| 13 | Leucanthoside |  <p>The structure of Leucanthoside consists of a leucanthosol aglycone core. The aglycone is a chromone with a 6-methyl-7-hydroxy-8-oxo-2,3-dihydrochromone skeleton. It is substituted at the 3-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group and at the 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group. The 2,3,4-trihydroxybutyl group is further substituted at its 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group, forming a branched polyhydroxyalkyl side chain.</p> | 462.116 |
| 14 | Isorhamnetin 3-rhamnoside |  <p>The structure of Isorhamnetin 3-rhamnoside consists of an isorhamnetin aglycone core. The aglycone is a chromone with a 6-methyl-7-hydroxy-8-oxo-2,3-dihydrochromone skeleton. It is substituted at the 3-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group and at the 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group. The 2,3,4-trihydroxybutyl group is further substituted at its 4-position with a 2,3,4-trihydroxybutyl group, forming a branched polyhydroxyalkyl side chain.</p> | 462.116 |

| | | | |
|----|---|--|---------|
| 15 | Dérivé de 2-O-(4-Methoxyphenyl)-7-O- β -D glucopyranoside |  | 462.116 |
| 16 | Dérivé de 7-O-(6-O-acétyl- β -D glucopyranosyl(1-3) β -D glucopyranoside) |  | 666.179 |
| 17 | Ozturkoside C |  | 666.179 |
| 18 | Isostachyspinoside |  | 666.179 |

| | | | |
|----|---|--|--------|
| 19 | vicénin-2 |  | 594.01 |
| 20 | scopoletine |  | 192.16 |
| 21 | cynaroside |  | 448.37 |
| 22 | Lutéoline-7-O- β -D-glucopyranoside |  | 447.91 |

Résumé :

Introduction. - En pharmacie, beaucoup de médicaments majeurs ont été découvert à partir des produits naturels provenant des plantes terrestres. La flore du Sahara Algérien est riche en plantes aromatiques utilisées en médecine traditionnelle dont certaines ont rarement fait l'objet d'études phytochimiques poussées et encore moins d'études pharmacologiques, c'est le cas de *Cotula anthemoides*, espèce aromatique de la famille des Astéracées.

Objectif. - Contribuer à l'étude phytochimique de cette espèce endémique de Sahara Algérienne, et de confirmer l'usage thérapeutique de cette plante.

Matériels et méthodes. - Le choix de cette espèce basé sur un critère chimiotaxonomique et l'échantillonnage n'a concerné que les parties aérienne de la plante. Il s'agit d'abord d'établir un profil phytochimique en partant de divers extraits analysés par des méthodes physicochimique: Les réactions colorées, de fluorescence, et de précipitation utilisée en screening phytochimique; CCM; UPLC-MS.

Résultats. Vu la situation sanitaire COVID 19, on a pas pu avoir les résultats de screening phytochimique et CCM, L'interprétation des spectres UPLC-MS de l'extrait de *C. anthemoides* a aboutis à l'identification des composés intéressants: les flavonoïdes, coumarines, amides et alcaloïdes.

Conclusion. - À l'issue de cette étude, nous avons pu mettre en évidence des composés bioactifs mentionnés dans la littérature scientifique, connus par leurs activités pharmacologiques, et qui peuvent confirmer le statut plante médicinale traditionnelle.

Mots clés: *Cotula anthemoides*, plante médicinale traditionnelle, UPLC-MS, flavonoïdes, DNP.

Summary :

Introduction. - In pharmacy, many major drugs have been discovered from natural products of terrestrial plants. The flora of the Algerian Sahara is rich in aromatic plants used in traditional medicine, some of these have rarely been the subject of an advanced phytochemical studies and even less a pharmacological studies, such as *Cotula anthemoides*, an aromatic species of the Asteraceae family.

Objectives. - Our work aims to valorize an original species of the Algerian Sahara *Cotula anthemoides* by highlighting the therapeutic quality of its metabolites and confirming its status as a traditional medicinal plant.

Materials and methods. The choice of this species was based on a chemotaxonomic criterion and the sampling concerned only the aerial parts of the plant. At first, we establish a phytochemical profile starting from various extracts analyzed by physicochemical methods: Color, fluorescence and precipitation reactions used in phytochemical screening; CCM, UPLC-MS.

Results. Given the COVID 19 health situation, we could not have the results of phytochemical screening and CMM. The interpretation of the UPLC-MS spectra of *C. anthemoides* extract led to the identification of the interesting compound: flavonoids, coumarins, amids and alkaloids.

Conclusion. - At the end of this study, we were able to highlight bioactive compounds mentioned in the scientific literature, known by their pharmacological activities, and which can confirm the status of traditional medicinal plant.

Key words: *Cotula anthemoides*, traditional medicinal plant, UPLC-MS, flavonoids, DNP.

ملخص

مقدمة: في علم الصيدلة تم اكتشاف العديد من الأدوية الرئيسية من المنتجات الطبيعية للنباتات الأرضية. تعتبر الصحراء الجزائرية غنية بالنباتات العطرية المستخدمة في الطب التقليدي، والتي نادرا ما كان بعضها موضعاً لدراسات كيميائية نباتية متعمقة أو حتى فارمولجية، مثل

Cotula anthemoides و هي نوع من النباتات العطرية، تنتمي إلى فصيلة Asteraceae **الهدف:** يهدف عملنا إلى تثمين نوع نباتي أصلي متوطن في الصحراء الجزائرية، من خلال تسليط الضوء على القدرة العلاجية لمكوناتها الأيضية و تأكيد مكانتها كنبات طبي للاستخدام التقليدي.

المواد والأساليب: إتمدنا في إختيارنا للنباتة على معيار تصنيفي كيميائي و العينات المستخدمة إقتصرت فقط على الأجزاء الهوائية أولاً، عملنا على تحديد صورة كيميائية نباتية إنطلاقاً من مستخلصات مختلفة تم تحليلها بطرق فيزيائية كيميائية مثل تجارب التفاعل اللوني، الشعاعي و الترسيب المستخدمة في التحليل الكيميائي النباتي، UPLC-MS CCM;

النتائج: نظراً للحالة الصحية بسبب جائحة فيروس كورونا 19 لم نتمكن من الحصول على نتائج الفحص الكيميائي النباتي و كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة. أدى تفسير أطيف UPLC-MS لمستخلص *Cotula anthemoides* إلى التعرف إلى بعض المركبات المثيرة للإهتمام: مركب الفلافونويد، كومارين، أميد و الكلويد.

الخاتمة: في نهاية هذه الدراسة تمكنا من إبراز المركبات النشطة بيولوجياً المذكورة في الأدبيات العلمية، و المعروفة بنشاطاتها العلاجية، و التي أكدت أهمية إستخدامها في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية: نبات طبي تقليدي، UPLC-MS، DNP، الفلافونويد.