

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA 1
Faculté des Sciences
Département de Chimie



Mémoire présenté par
BENAIACHE Imane

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière
Filière : Chimie
Option : Chimie des Substances Naturelles

Titre

Criblage chimique des extraits d'*Euphorbia granulata* Forsk par Bioguidage

Soutenu publiquement en octobre 2013 devant le jury composé de :

Y. Daghbouche	Pr	Président	Université de Blida
A. Badis	Pr	Examinateur	Université de Blida
Z. Chemat	MCB	Examinatrice	Université de Blida
M. El Hattab	Pr	Promoteur	Université de Blida
K. Boutemak	MCB	Membre CP	Université de Blida
H. Boutoumi	MCA	Membre CP	Université de Blida
S. Kasmi	MCA	Membre CP	Université de Blida
N. Bouzidi	MCB	Membre CP	Université de Blida
O. Touafak	MCB	Membre CP	Université de Blida
N. Ayachi	MAA	Membre CP	Université de Blida

Promotion 2012-2013

Remerciements

« la connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».

Avant toute chose, je remercie dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements a monsieur le professeur Mohamed EL HATTAB. Merci pour votre aide, votre conseils, votre encouragement.

Je remercie vivement madame Fouzia BENAIACHE chef de service du laboratoire de microbiologie d'Antibiotical – Soidal de Médea et toute son équipe pour m'avoir ouvert les portes du laboratoire, ainsi que pour ses aides et ses conseils.

J'adresse mes profonds remerciements a Mr. Mabrouk Hamadache maitre conférence de l'université Yahia Fares de Médea pour leur gentillesse et ses aides.

C'est un grand merci que j'adresse a Mr Badis Abdelmalek maitres de conférences à l'université de Blida sans oublier Mr. Teffahi Djamel responsable de laboratoire d'Hygiène.

A Toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A mes parents,

Pour vos mains qui ont tant travaillées,

Pour votre cœur qui m'a tant donné

Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,

Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,

Pour vous qui m'avez tant aimé.

A mon marie Sid-Ahmad,

Pour sa compréhension, sa tendresse et ses encouragements, a soutenu sans cesse mes efforts durant la réalisation de ce travail.

A mes beaux parents : Fatma et Mesteh.

A ma sœur : Rania.

A mes frères: Othman, Amine, Samir, Youssef,

A mes belles sœur : Khadidja et Karima.

A mes beaux frères : Abd el slam et abd el malek,

A mes neveux : Anis et Mahdi.

A ma tante : fouzia.

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus a l'université: Zahira, Nedjma, Nawel, Hadjer, Asmaa.

A mes amies de la promotion de master de produits naturelles

A tous qui me connaisse de près ou de loin.

Abstract

This work focuses on chemical screening of *Euphorbia granulata* extracts based on the biological activities (bioguidage). A crude extract was prepared by solvent extraction and fractionated on open silica chromatography column. The collected fractions were analyzed by thin layer chromatography, similar fractions were combined. The main fractions of the crude extract were subjected to antimicrobial activities; on the other hand, the crude extract was tested in the anti-inflammatory and antioxidant activity. We noted moderate antibacterial activity of some fractions. The crude extract showed a weak antioxidant and anti-inflammatory activity. The fractions exhibiting some activity were analyzed by HPLC, and their chromatographic profiles are compared with that of the crude extract.

Keywords:

Euphorbia granulata, Crude extract, Chemical screening, antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory.

Résumé

Ce travail est consacré à l'étude chimique de l'extrait d'*Euphorbia granulata* par bioguidage. Un extrait brut a été préparé par extraction par solvant et fractionné sur colonne ouverte de silice. Les fractions collectées sont analysées par chromatographie sur couche mince, les fractions semblables sont alors regroupées. Les principales fractions de l'extrait brut sont soumises à des tests d'activités antimicrobiennes, l'extrait brut a été testé dans l'activité anti-inflammatoire et antioxydante. Nous avons noté des activités antibactériennes modérées de certaines fractions. L'extrait brut a montré une faible activité antioxydante et anti-inflammatoire. Les fractions présentant une certaine activité ont été analysées par CLHP, leurs profils chromatographiques sont ainsi comparés à celui de l'extrait brut.

Mots clés :

Euphorbia granulata, extrait brut, criblage chimique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire.

ملخص

هذا العمل يركز على الفحص الكيميائي لمستخلص نبتة *Euphorbia granulata* على أساس الأنشطة البيولوجية (bioguidage). تم إعداد مستخلص باستخدام تقنية الاستخلاص بالمحاليل و الفصل الكروماتوغرافي بواسطة العمود الكسور التي جمعت وحللت بواسطة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (CCM). اظهرت الأجزاء الرئيسية من المستخلص الخام فعالية معتدلة ضد البكتيريا، من ناحية أخرى، تم اختبار المستخلص الخام في النشاط المضاد للالتهابات ومضادة للأكسدة هذا الاخير الذي بين نتائج ضعيفة. وأظهر المستخلص الخام فعالية ضعيفة بخصوص النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للالتهابات. وقد تم تحليل الاجزاء التي اثبتت نتائج ضد البكتيريا بواسطة HPLC و تم مقارنة التركيب الكيميائي للكسور مع المستخلص الخام.

الكلمات المفتاحية:

Euphorbia granulata ، المستخلص الخام ،الفعالية المضادة للجراثيم ،الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للالتهاب.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tableau des métabolites secondaires isolés de quelque espèce du genre <i>Euphorbia</i>	Annexe 01
Tableau 2 : Données du fractionnement sur colonne ouverte de silice	Annexe 02
Tableau 3: Souches utilisées dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne	20
Tableau 4 : Solubilité des fractions d'extraits dans le myristate d'isopropyle (IPM)	27
Tableau 5 : Résultats des tests d'activité antimicrobienne des différentes fractions solubilisées dans l'IPM.....	27
Tableau 6 : Résultats des tests d'activité antimicrobienne des différentes fractions solubilisées dans le DMSO.....	28
Tableau 7 : Résultats des tests d'activité antimicrobienne des fractions 7 et 13 solubilisées dans le méthanol	28
Tableau 8 : Epaisseurs des pattes postérieures droites (mm) des souris après injection de l'eau physiologique (lot témoin).....	30
Tableau 9 : Epaisseur des pattes postérieures droites (mm) des souris après injection de Diclofenac (lot de référence).	30
Tableau10 : Epaisseurs des pattes postérieures droites (mm) des souris après injection de l'extrait d' <i>E. granulata</i> à concentration 2mg/ml (lot essai 01).....	31
Tableau 11 : Epaisseurs des pattes postérieures droites (mm) des souris après injection de l'extrait d' <i>E. granulata</i> à concentration 4mg/ml (lot essai 02).....	31
Tableau 12 : Principaux produits relevés sur le chromatogramme des fractions actives et de l'extrait brut d' <i>Euphorbia granulata</i>	35

Liste des Figures

Figure 1 : Inflorescence (cyathe) d'euphorbe, entière et en coupe longitudinale.	5
Figure 2 : Inflorescences d' <i>Euphorbia hyberna</i> (euphorbe d'Irlande) et d' <i>E. Segueriana</i> (euphorbe de Seguer) ; capsules lisses d' <i>E. villosa</i> (euphorbe velue)	5
Figure 3 : Inflorescences d' <i>Euphorbia hirsuta</i> et d' <i>Euphorbia millii</i>	6
Figure 4: <i>Euphorbia granulata</i> Forsk.....	14
Figure 5 : Evaporation du mélange de solvant(MeOH/CH ₂ Cl ₂).	15
Figure 6 : Fractionnement de l'extrait <i>E. granulata</i> sur colonne ouverte de silice.	18
Figure 7 : Protocole de mesure du pouvoir réducteur	22
Figure 8 : Teneur des différentes fractions dans l'extrait brut	25
Figure 9 : Analyse par CCM des fractions 1 à 19	25
Figure 10 : Analyse par CCM des fractions 20 à 35.....	26
Figure 11 : Activité antibactérienne de fraction 8 et 14 vis-à- vis <i>Escherichia coli</i>	29
Figure 12 : Activité antibactérienne de fraction 13, 7, 8, 10 contre la souche <i>E. coli</i>	30
Figure 13 : antibactérienne de fraction 16,14 et l'extrait d' <i>E. granulata</i> contre <i>Escherichia coli</i>	30
Figure 14: Activité antibactérienne de fraction 16,14, l'extrait d' <i>E. granulata</i> , le DMSO,13,10, 35 et la fraction 7 contre <i>Bacillus subtilis</i>	30
Figure 15: Activité antibactérienne de fraction 13,14,6, 7,8, 10 et fraction 16 contre <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figure 16 : Pouvoir réducteur de l'extrait brut d' <i>Euphorbia granulata</i> et de l'acide ascorbique	31
Figure 17 : Activité antibactérienne de fraction 7,extrait d' <i>E. granulata</i> et le DMSO contre <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figure 18 : Activité antibactérienne de solvant de solubilisation (DMSO) contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	32
Figure 19 : Activité antibactérienne de fraction 35, 7, 8 et DMSO contre <i>Streptococcus</i>	32
Figure 20: Activité antibactérienne de fraction 10, 14, 15 et fraction 16 contre <i>Streptococcus</i> sp.....	32
Figure 21 : Activité antibactérienne de fraction 10, 13, 14, 16, 8, 15, 35 et le DMSO contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33

Figure 22 : Activité antibactérienne de fraction 13, 14, 16 et le DMSO contre <i>Klebsiella pneumoniae</i>	33
Figure 23 : Activité antibactérienne de fraction 7, 13 et le méthanol contre <i>Escherichia coli</i>	33
Figure 24 : Activité antibactérienne de fraction 7, 13 et le méthanol contre <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Figure 25 : Activité antifongique de l'extrait <i>E. granulata</i> par la méthode de cylindre contre <i>Candida sp</i> , <i>Saccharomycette</i> , <i>aspergillus sp</i> , <i>Penicillium sp</i> , <i>Fusarium oxyporium</i>	35
Figure 26 : Evolution de l'épaisseur moyenne en fonction du temps de la patte droite des souris du lot témoin	38
Figure 27 : Evolution de l'épaisseur moyenne en fonction temps de la patte droite des souris du lot de référence, du lot d'essai 1 (extrait 2mg/ml) et du lot d'essai 2 (extrait 4mg/ml)	38
Figure 28: Couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}).....	39
Figure 29 : Figure 29: Réduction du fer ferrique en fer ferreux.	39
Figure 30: Le pouvoir réducteur de l'extrait brut d' <i>Euphorbia granulata</i>	40

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I : synthèse bibliographique	
I.1.1 Introduction	3
I.1.2 Classification et taxonomie du genre <i>Euphorbia</i>	3
I.1.3 Caractères morphologique généraux du genre <i>Euphorbia</i>	4
I.1.4 Utilisation en médecine traditionnelle.....	6
I.1.5 Toxicité des espèces du genre <i>Euphorbia</i>	8
I.2 Généralités sur les métabolites secondaires	9
I.2.1 Métabolites isolés du genre <i>Euphorbia</i>	9
I.3 Activités biologiques des extraits et des métabolites purs d'espèces du genre <i>Euphorbia</i> <i>Euphorbia</i>	10
I.3.1 Activité antimicrobienne	10
I.3.2 Activités antipyrétique et analgésique I.1.5 toxicité des espèces du genre <i>Euphorbia</i>	10
I.3.3 Inhibition des réactions allergiques	11
I.3.5 Activité Cytotoxique	11
I.3.6 Résistance multi-drogue (MDR)	11
Chapitre II : partie expérimentale	
II.1 Introduction	13
II.2 Matériels et méthodes	13
II.2.1 Matériel végétal	13
II.2.1.2 Description d' <i>Euphorbia granulata</i>	13
II.3 Classification botanique de l'espèce <i>Euphorbia granulata</i>	14
II.4 Récolte et conservation	14
II.5 Préparation de l'extrait d' <i>Euphorbia granulata</i> par macération	14
II.5.1 Extraction liquide/liquide de l'extrait	15
II.5.1.1 Rendement de l'extraction	15
II.6 Détermination des indices physico-chimiques de l'extrait	15
II.6.1 Indice de réfraction	15
II.6.2 Densité.....	16
II.6.3 Indice d'acide	16

II.6.3.1 Principe	16
II.6.4 Indice de saponification	16
II.6.4.1 Principe	16
II.6.4.2 Mode opératoire	16
II.6.4.3 Indice d'ester	17
II.7 Fractionnement de l'extrait brut sur colonne ouverte de silice	17
II.7.1 Mode opératoire	17
II.8 Analyse par chromatographie sur couche mince	18
II.9 Tests d'activité antimicrobienne	18
II.9.1 Etude de l'activité antibactérienne	18
II.9.1.1 Protocole expérimental.....	19
II.10. Tests d'activité anti-inflammatoire	20
II.11. Détermination de l'activité anti-oxydante de l'extrait d'Euphorbia granulata	21
II.11.1. Intérêt des antioxydants	21
II.11. 2 Principe de mesure	21
II. 12 Analyse par chromatographie liquide à haute performance CLHP	23
II.13 Résultats et discussion.....	23
II.13.1 Rendement de l'extraction	23
II.13.2 Caractéristiques physico-chimiques de l'extrait d'Euphorbia granulata	24
II.13.3 Fractionnement sur colonne ouverte de silice	24
II.13.4 Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique.....	26
II.13.4.1 Evaluation de l'activité antibactérienne	26
II.13.4.2 Evaluation de l'activité antifongique	29
II. 13.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'Euphorbia granulata	30
II.13.5 Étude de l'activité anti-oxydante de l'Euphorbia granulata	33
II.13. 6 Analyse par CLHP	34
Conclusion	37
Annexe 01	
Annexe 02	
Annexe 03	
Références bibliographiques	

A green, lined notepad with a yellow border and rounded corners. The word "Introduction" is written in a dark green, serif font in the center. The notepad has a small circular hole in the top-left corner and a larger circular hole in the bottom-left corner, suggesting it's part of a binder or folder. The background is white with a faint red vertical line on the left side.

Introduction

Introduction générale

INTRODUCTION

L'étude de la chimie des produits naturels est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels de divers domaines tels que la biotechnologie et la chimie computationnelle. Cela tient principalement au fait que le règne végétal est une source présumée inépuisable d'une immense variété de potentiels médicaments, accessible au plus grand nombre de personnes, y compris dans les pays en voie de développement. De plus, cette science évolue et s'affine sans cesse avec l'amélioration des instruments d'investigation (méthodes préparatives et analytiques, tests de dépistage d'activité) et de l'accès à l'information scientifique. La pharmacognosie et la phytochimie sont donc en totale adéquation avec les objectifs d'une recherche moderne pour la découverte de nouveaux principes actifs à visée thérapeutique, elles occupent désormais une position primordiale dans le domaine de la recherche de nouveaux médicaments. Actuellement, plus de 50% de ces derniers sont d'origine naturelle.

Donc pour isoler des substances nouvelles des plantes pouvant trouver une application thérapeutique et de rendre la stratégie d'isolement moins laborieuse, il convient de sélectionner avec soin les plantes et les extraits à investiguer. Certains critères sont à prendre en considération par le phytochimiste pour mener à bien son étude. [1]

- Critères de sélection des plantes

Du choix du matériel végétal dépend en grande partie la réussite du travail entrepris par le phytochimiste et plusieurs critères peuvent guider ce choix.

- utilisations en médecine traditionnelle
- observations du matériel végétal sur le terrain
- aspects botaniques et chimiotaxonomiques
- littérature

- Critères de sélection des extraits

Plusieurs méthodes sont mises à la disposition du phytochimiste pour évaluer les extraits bruts. Il s'agit du criblage chimique et biologique.

- Criblage chimique

L'analyse des extraits bruts par chromatographie sur couche mince (CCM) et les observations sous les lampes UV à 254 nm et 366 nm et après révélation avec des réactifs chimiques spécifiques, nous permet dans un premier temps d'avoir une idée sur les classes de composés des extraits testés.

Introduction générale

L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée avec des méthodes de détection par spectrophotométrie UV et par spectrométrie de masse (MS) des extraits bruts permet de déduire des informations importantes sur la composition de ces extraits. En effet, certains composés présentent un spectre UV caractéristique et sont facilement détectables dans l'extrait brut (flavonoïdes par exemple). Le spectre SM peut donner des informations sur la masse moléculaire de ces composés. D'autre part, certains fragments spécifiques apportent des informations supplémentaires pour déduire la structure de base de ces substances.

- Criblage biologique

Pour guider l'isolement de nouvelles molécules actives, chaque extrait est soumis à une multitude de tests biologiques. Ces tests doivent être simples, rapides et spécifiques pour permettre une sélection efficace des extraits. Notons toutefois qu'un résultat négatif, obtenu pour un extrait testé sur une cible biologique donnée, n'exclut pas toujours la présence de substances actives dans cet extrait (cas de synergie). Dans certains cas également, la concentration de ces substances est peut être très faible pour que l'on puisse détecter leur activité sur plaque CCM. Par conséquent, d'autres tests sont à envisager avant d'écarter tel ou tel extrait. Dans le cas où des extraits donnent des réponses positives, on peut passer à des étapes ultérieures de fractionnement de ces extraits pour rechercher les fractions actives par priorité, jusqu'à obtention des molécules pures responsables de l'activité biologique imputés à l'extrait ou à la plante (fractionnement guidés par l'activité biologique).

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicament. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au Taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites.

Dans le cadre de la recherche de molécules ou activités biologiques nouvelles d'origine végétale, il est donc préférable de ne pas baser le choix des plantes à étudier sur le seul hasard, mais de le circonscrire selon divers critères. Le plus utilisé est celui de leur emploi en médecine traditionnelle ou populaire qui valorise l'expérience accumulée par les autochtones dans le monde entier, y compris dans les pays occidentaux. Une autre possibilité est de considérer l'écosystème dans lequel se développent les espèces végétales. La recherche de molécules aux propriétés antiradicalaires dans des plantes de montagne obéit par exemple à cette logique. En effet, celles-ci sont plus exposées aux rayons UV en altitude et ont donc dû

Introduction générale

développer des mécanismes de protection, peut-être basés sur des métabolites secondaires spécifiques.

L'Algérie, pays connu pour sa grande biodiversité, dispose d'une flore particulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques [1]. Ce potentiel floristique constitué de plantes médicinales, toxiques et condimentaires, est peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique. A cet effet, il constitue à notre avis, une source non négligeable de molécules bioactives.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés au genre *Euphorbia* de la famille *Euphorbiaceae*, l'une des familles les plus riches en métabolites et les plus abondantes dans certaines régions.

En Algérie, Quzel et Santa ont pu identifier un seul genre, c'est celui de l'*Euphorbia* dans le quel on distingue au moins une quarantaine d'espèces distribuées dans certaines régions d'Algérie [1]. Le genre *Euphorbia* est l'un des genres les plus riches de la famille des *Euphorbiaceae*, on dénombre plus de 2000 espèces [2] appartenant à ce genre.

Les études chimiques faites sur les espèces du genre *Euphorbia* ont porté sur les racines, les graines (pépins), le latex, l'écorce de la tige, les feuilles et quelques fois la plante entière [3]. Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés à partir de ce genre, ils appartiennent à diverses classes chimiques, notamment, les terpènes, les flavonoïdes, les alcaloïdes [4], les acides gras, les sucres et les stéroïdes [3,5,6]. Les principaux métabolites secondaires sont des diterpènes dont les principaux squelettes sont les : casbanes, jatrophanes, lathyranes, Myrsinanes (cyclomyrsinanes et premyrcinanes), Jatrophanes, Daphnanes, Tiglianes, Ingenanes, Segetanes, Paralianes, pepluanes et Euphoractines [3].

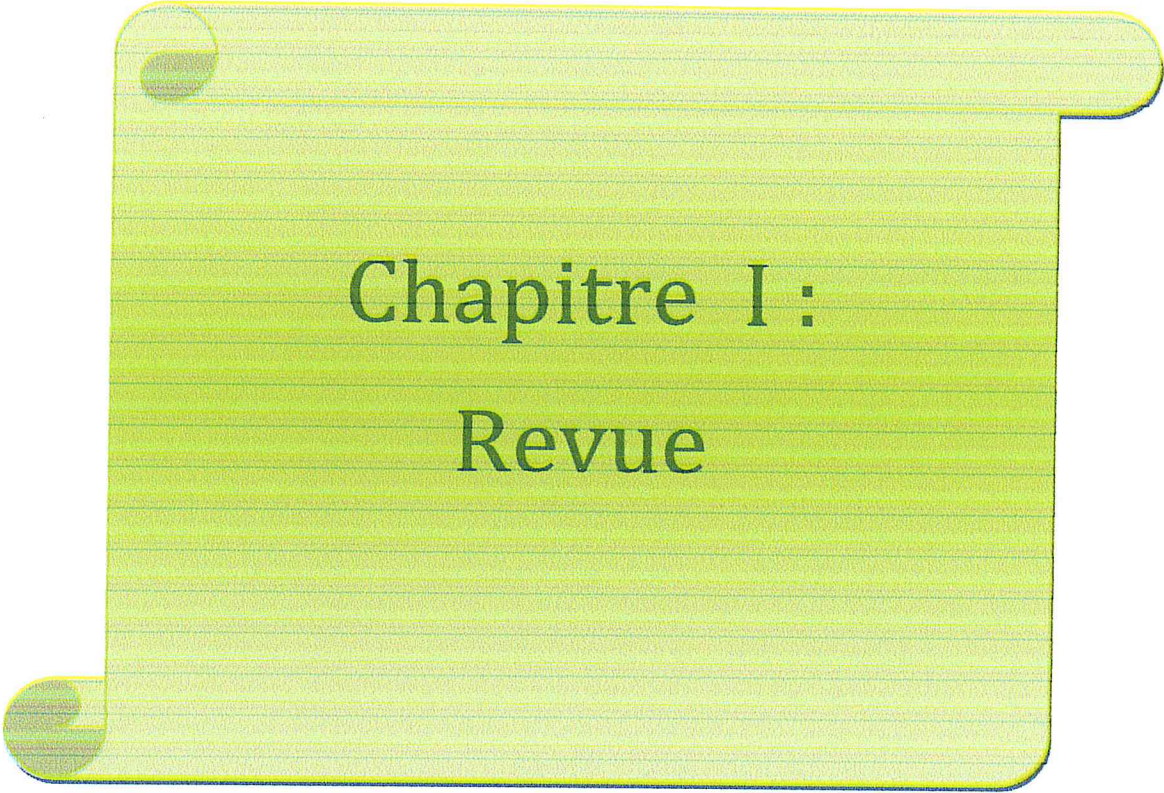
Le genre *Euphorbia* est bien connu dans l'ethnopharmacologie, les espèces sont utilisées notamment pour traiter les infections et autres types de maladies, telles que les maladies de la peau, la migraine, les parasites intestinale et pour lutter contre la verrue [7-9].

Les métabolites isolés à partir du genre *Euphorbia* et leurs extraits sont souvent dotés d'une activité biologique, nous avons noté notamment, l'activité anti prolifération, antimicrobienne, anti-inflammatoire, activité cytotoxique [2], [3], antimutagène [10] et anticancéreuse [11].

Notre travail porte sur l'étude chimique des extraits d'*Euphorbia granulata* par bioguidage, il comprend 2 parties :

Introduction générale

- 1- Une synthèse bibliographique, consacrée à la systématique et aux travaux portant sur l'étude chimique des espèces du genre *Euphorbia*.
- 2- Une partie expérimentale réservée à la méthodologie suivie et aux résultats et discussion.



Chapitre I :
Revue

I.1.1 Introduction

Notre synthèse bibliographique est consacrée à l'étude de la systématique, chimique et biologique des extraits des espèces du genre *Euphorbia*. Ce genre appartient la famille des Euphorbiacées, l'une des familles les plus riches en métabolites secondaires appartenant à diverses classes chimiques.

En Algérie, Nous avons noté la présence de plusieurs espèces du genre *Euphorbia*, il s'agit de : *E. hieroglyphica*, *E. segetalis*, *E. sulcata de Lens*, *E. falcata L*, *E. medicaginea Boiss*, *E. exigua L*, *E. terracina*, *E. dracunculoides Lam. ssp. flamandi (Batt)*, *E. dracunculoides Lam. ssp. inconspicua (Ball.)*, *E. dracunculoides Lam. ssp. glebulosa (Cosson et DR.)*, *E. Paralius L*, *E. nicroensis Ali*, *E. biumbellata Poir*, *E. Guyoniana Boiss et Reut*, *E. granulata Forsk* etc ... Les espèces du genre *Euphorbia* sus-citées se répartissent sur différentes régions du territoire national [1].

I.1.2 Classification et taxonomie du genre *Euphorbia*

La famille Euphorbiaceae comprend environ 10000 espèces partagées sur 300 genres [12]. Les Euphorbiacées (Euphorbiaceae) ne sont pas assez connues sur le plan systématique, des tendances à la division se manifestent souvent. A titre d'exemple, plus de cinquante genres ont été introduits puis considérés comme synonymes. Ce constat peut s'expliquer par la distribution des espèces qui sont localisées principalement dans les régions tropicales, et de l'existence éphémère des fleurs chez certains de ses représentants, rendant par voie de conséquence leur identification difficile et entravant ainsi toute étude botanique [14].

La classification des Euphorbiacées a une histoire complexe [13]. La dernière version du système complet dans la famille a été conçue par Webster [14], [15], et légèrement modifiée par la suite, par Radcliffe-Smith, la famille est alors composée de cinq sous-familles. Trois des sous-familles ont été caractérisées par un ovule par loge (uniovulées: *Acalyphoideae*, *Crotonoideae* et *Euphorbioideae*) et deux d'entre elles par deux ovules par loge (biovulées : *Phyllanthoideae* et *Oldfieldioideae*). Il y a eu plusieurs propositions visant à redéfinir les limites de la famille et de reconnaître un nombre variable de ségrégation au sein des familles [16], [13], notamment, la séparation des sous-familles de biovulées, uniovulées [17], [18]. Récemment, des études moléculaires phylogénétiques ont accumulé des preuves montrant la non-monophylie des *Euphorbiaceae* [19-25].

La taxonomie faite par Webster propose la classification ci-dessous et reconnaît cinq sous-familles d'*Euphorbiaceae* : *phyllanthoïdeae*, *oldfieldioideae*, *Acalyphoideae*, *crotonoideae* et *Euphorbiadeae* [26].

Taxon	Rhizophytes
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Série	Thalamiflores
Sous-série	Méristémones
Ordre	Tricoques
Famille	<i>Euphorbiaceae</i>
Sous-famille	<i>Euphorbiadeae</i>
Genre	<i>Euphorbia</i>

I.1.3 Caractères morphologiques généraux du genre d'*Euphorbia*

Les espèces de la famille des *Euphorbiacées* sont caractérisées par un suc laiteux [1], ce dernier appelé latex blanc est une émulsion aqueuse dans la vacuole des cellules sécrétrices spécialisées appelées **laticifères** et trouvées dans 12500 espèces de plantes, dont beaucoup sont membres de la famille *Apocynaceae*. [27]. Les *Euphorbiacées* sont des plantes annuelles, vivaces ou arbustives, à feuilles alternes ou opposées, leur inflorescence est très variée: grappes, épis, panicules cymeuses. Dans le genre *Euphorbia*, on constate un type d'inflorescence très spécial, le cyathium. Les espèces d'euphorbes, sont des plantes monoïques, les fleurs mâles (réduites à une étamine) et femelles (un ovaire à 3 carpelles) sont disposées en groupes dans une structure en cloche (involucre) ; l'involucre est formé de 4-5 lobes, alternant avec 4-5 glandes pétaloïdes (de forme ovale ou en croissant) ; cette inflorescence, appelée cyathe, simule une fleur unique hermaphrodite. Chez les mercuriales, qui sont dioïques, les fleurs sont composées d'un périanthe à 3 lobes verdâtres, d'où ressortent un bouquet d'étamines (fleurs mâles) ou un ovaire à 2 carpelles (fleurs femelles) et on constate :

- les fleurs toujours unisexuées, à périanthe (calice et corolle) réduit ou nul ;
- l'androcée (ensemble des étamines) de forme très variable, chaque fleur portant 1 à 15 étamines ;

- Le pistil formé de 2-3 carpelles soudés, surmontés de 2-3 styles ; ovaire parfois longuement pédonculé ;
- Le fruit avec une capsule à 2-3 valves (coques), chacune renfermant une graine ;
- Les cyathes des euphorbes généralement disposées en une ou plusieurs ombelles ; 2 bractées sont présentes à la base de chaque cyathe (formant un involucre) et l'ensemble est munie à la base d'un verticille de feuilles [1].

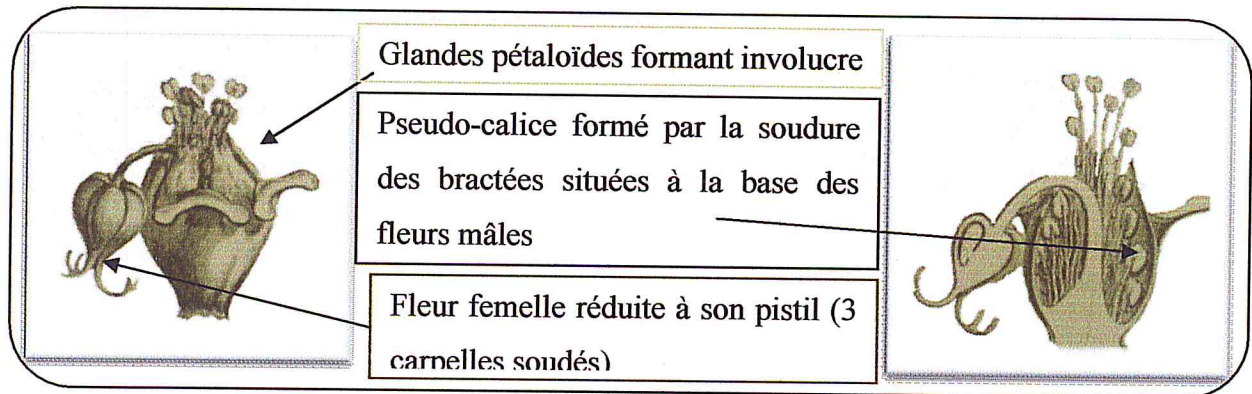


Figure 1 : Inflorescence (cyathe) d'euphorbe, entière et en coupe longitudinale

La détermination de certaines espèces algériennes d'Euphorbes est très délicate et nécessite l'examen de la capsule et des graines à un assez fort grossissement. Les caractères distinctifs entre quelques espèces sont d'ailleurs souvent faibles et peu fidèles [1].



Figure 2 : Inflorescences d'*Euphorbia hyberna* (euphorbe d'Irlande) et d'*E. Seguieriana* (euphorbe de Seguier) ; capsules lisses d'*E. villosa* (euphorbe velue).



Figure 3 : Inflorescences d'*Euphorbia hirsuta* et d'*Euphorbia millii*

I.1.4 Utilisation en médecine traditionnelle

Grace à ses application médicales potentielles, le genre *Euphorbia* a fait l'objet de plusieurs recherches phytochimique et pharmacologique. En effet, les extrait de nombreuses espèces ont démontré de nombreuses activités biologiques intéressantes, on note, les activités antibactérienne [28], antiherpétique [29] et antimutagène [30].

Les plantes de la famille des Euphorbiacées sont largement et universellement utilisées en médecine populaire pour guérir un bon nombre de maladies [31]. Des études récentes ont mis en évidence l'utilisation très répandue de plusieurs de ces plantes pour traiter les affections cancéreuses dans la médecine traditionnelle de nombreuses régions du monde [32]. Les espèces les plus utilisées dans la médecine traditionnelle sont :

- La racine séchée de *E. fischeriana* Steud : connue sous le nom «Lang-du» dans la médecine traditionnelle chinoise, elle a été utilisé pour le traitement du cancer, œdème et ascite [33].
- Les extraits d'*E. fischeriana* arrête de manière significative la croissance du carcinome pulmonaire de Lewis, l'hépatome ascétique et le mélanome in vitro et in vivo [34].
- *Euphorbia humifusa* Willd , principalement distribuée dans le sud de la Chine, est largement utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise pour le traitement de la dysenterie bacillaire, l'entérite et l'hépatite [35].
- *Euphorbia characias* L, de la famille Euphorbiaceae est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues de la tradition occidentale. Elle est décrite, dans les traités de la médecine latine et grecque, comme remède contre plusieurs maladies [36].
- *Euphorbia obtusifolia* Poiret : Le latex de cette espèce est préconisé au Sahara occidental, en applications externes, en tant que remède contre les morsures de serpents et la gale animale. Le latex est très riche en lipides, en résines, en sucres, ainsi que de nombreux protéines et enzymes (peroxydases, proteases, esterases et phosphatases) [37-39]

- *Euphorbia kansui* L. : Les racines séchées de cette plante, connues sous le nom de « Kan Sui » dans la médecine traditionnelle chinoise, sont préconisées comme remède contre le cancer [40], [41], l'ascite et l'œdème [42] [43].
- *Euphorbia cyparissias* L : Les graines de cette espèce renfermant notamment des saponosides, qui sont utilisées pour leurs propriétés purgatives et anti-inflammatoires [26].
- *Euphorbia antiquorum* L : Cette plante originaire de l'Inde et du Sri Lanka, est utilisée entièrement pour traiter les infections cutanées. Le latex est employé contre la grippe et pour soigner les problèmes des voies respiratoires, principalement la bronchite [26].
- *Euphorbia resinifera* Berg: La résine de cette espèce endémique au Maroc, appelée communément Euphorbe résinifère, est utilisée en application locale pour leurs propriétés révulsives. Elle est utilisée contre les rhumatismes et les paralysies. Elle est également employée pour soigner les piqûres, les morsures venimeuses et les algies dentaires. Le latex frais de cette plante est recommandé par les berbères de Beni-Mellal, contre les verrues [44].
- *Euphorbia granulata* Forsk : Les Touaregs, nomades du Sahara, utilisent le latex dilué en usage interne comme vermifuge (éradiquer les vers intestinaux). Ils utilisent la partie aérienne et le latex en application externe pour guérir les morsures de serpents et piqûres de scorpions [45]. En Arabie saoudite, le latex se prend comme purgatif, vermifuge et diurétique, et également pour ses propriétés dépuratives du sang [46]. Afin d'explorer davantage le potentiel médicinal, il a été soumis à diverses études biologiques et a été reconnue comme ayant des activités antifongiques et spasmolytiques [47]. Egalement, cette espèce a montré des effets inhibiteurs de protéase du virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1) [48].
- *Ricinus communis* L. dont les graines produisent une huile connue depuis très longtemps pour ses propriétés purgatives. Cette huile est utilisée comme lubrifiant pour les moteurs au début du XXe siècle et pour la fabrication de peintures et de vernis. La polymérisation de certains de ses dérivés, donne un polyamide appelé Rilsan servant à la fabrication de pièces moulées et tissus [49].

I.1.5 Toxicité des espèces du genre *Euphorbia*

L'Homme a, très tôt, exploité la toxicité des Euphorbiaceae, et les a incorporé dans des poisons de flèche en Afrique, c'est le cas d'*Euphorbia unispina* et d'autres espèces [50].

Un grand nombre d'espèces de cette famille sont dangereuses. Certaines sont urticantes (*Caperonia*, *Dalechampia*, *Platygyana*, *Tragia*, etc), d'autres très toxiques : ce sont majoritairement, des Crotonoideae (Aleurites, Croton) et surtout, des Euphorbioideae (*Euphorbia*, *Excoecaria*, *Hippomane*, *Hura*, *Jatropha*, *Sapuim*, etc.)[50]. Chez toutes ces

plantes, la toxicité est le fait d'esters diterpéniques de structures complexe de type tigliane [51-52], ingénane [53,54] ou daphnane [55]. Ces molécules rencontrées particulièrement dans la famille *Euphorbiaceae* et *Thymelaeaceae*, sont très irritantes au niveau de la peau et des muqueuses, ce sont, pour la plupart, des inducteurs de tumeurs [56].

Les teneurs en composés toxiques sont habituellement très faible (0,05-0,1 %). Ils sont tous irritants pour la peau et les muqueuses, leur toxicité par voie orale est importante, chez les animaux et chez l'Homme [31]. A titre d'exemple, *Euphorbia millii* bien qu'elle présente un pouvoir irritant faible ou nul sur l'oreille de souris, le contact cutané avec toutes les parties de la plante provoque des dermatites bulleuses sévères et parfois purpuriques [57].

I.2 Généralités sur les métabolites secondaires

Les végétaux font un usage constant de la lumière pour croître et se développer. Certaines espèces ont poussé l'exploitation de l'énergie photonique à l'extrême par l'élaboration au cours de leur métabolisme de toute une gamme de composés capables d'anéantir ou de limiter les dégâts causés par les phytophages. Ces métabolites dits secondaires sont des substances qui se retrouvent de façon sporadique chez les plantes dans l'appareil souterrain et aérien [58]. Il existe deux catégories de métabolites secondaires chez les plantes:

- Des composés à valeurs quantitatives agissant selon leurs concentrations, comme les tanins (substances phénoliques ayant la propriété de réduire la digestibilité des parties comestibles des plantes);
- Des composés ayant une activité spécifique à des concentrations relativement faibles. Ces substances ont un effet anti-appétant, lorsqu'elles inhibent la prise de nourriture ou un effet toxique, lorsqu'elles empêchent l'approche des ravageurs.

I.2.1 Métabolites isolés du genre *Euphorbia*

Nous avons relevé un nombre impressionnant d'investigations phytochimique et pharmacologiques sur les espèces du genre *Euphorbia*. Cet engouement est lié à la richesse de ce genre d'espèces en métabolites secondaires et à leurs grandes activités biologiques.

L'étude chimique des espèces du genre *Euphorbia*, qui a porté sur le latex, les parties aériennes et les racines, a permis l'isolement et la caractérisation d'un nombre important de métabolites secondaires appartenant, notamment, aux classes des terpènes, des phénols et leurs dérivés. Les métabolites secondaires de nature terpénique sont principalement des diterpènes appartenant aux squelettes des casbanes, tiglianes, jatrophanes, ingénanes, segétanes, lathyranes et myrsinanes.

Nous avons effectué une synthèse bibliographique exhaustive sur les métabolites secondaires isolés d'espèces du genre *Euphorbia*. Nous allons présenter cette synthèse sous forme d'un tableau regroupant le nom systématique, la structure chimique des métabolites isolés ainsi que l'espèce source. La structure chimique des métabolites sous-cités sont donnés sur la planche 1. (Annexes 1)

I.3 Activités biologiques des extraits et des métabolites purs d'espèces du genre *Euphorbia*

I.3.1 Activité antimicrobienne

L'extrait obtenu au dichlorométhane à partir d'*E. granulata* montre une inhibition fongique puissante contre *Microsporium canis* (90%) et *Aspergillus flavus* (50%), par contre il est inactif contre *Candida albicans*, *Fasarium solani* et *Candida glabrata* [47].

Les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *E. fusiformis* ont été étudiés contre les souches pathogènes Gram positif (*Bacillus subtilis* et *S. aureus*) et des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* A et *S. typhi* B), l'extrait méthanolique a montré une grande efficacité antibactérienne. Il a été montré aussi que l'extrait obtenu à partir des racines avait une activité antibactérienne nettement meilleur que celui obtenu à partir des feuilles. Les résultats de cette étude confirment l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle pour traiter la fièvre, les infections des plaies et les troubles intestinaux [133].

L'extrait éthanolique des parties aériennes d'*E. hirta* a présenté un large spectre d'activité antibactérienne contre *Escherichia coli* (entérobactérie pathogène), *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* [134].

Les sept triterpènes, euphol, antiquol B et C (composé N°184), euphorbol, isohelianol, camelliol C et lemmaphylla-7,21-diène-3-ol isolés à partir de l'espèce *E. Antiquorum* ont été examinés pour leurs effets inhibiteurs sur l'antigène (EBV -EA) du virus d'Epstein-Barr quant à l'activation induite par TPA (12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate) [125].

I.3.2 Activités antipyrétique et analgésique

Le Myrsinane (5) illustrée dans le tableau des métabolites secondaire (Annexe1) isolé à partir de *E. decipiens* a montré une activité antalgique significative lorsqu'il est administré à des souris à une dose de 5-20 mg / kg d'aspirine ou de l'ibuprofène. Cette activité est comparable à celle de 100 mg / kg de produit de référence [135].

Le composé Resiniferatoxin ((116) Tableau 01- Annexe 01), présent dans le latex d'*E. poissonii*, est ultra puissant, en comparaison à la capsaïcine, contre les douleurs et l'inflammation des neurones, il interagit sur les sites de reconnaissance spécifique de la membrane des neurones. La résinifératoxine est une approche prometteuse pour atténuer les

douleurs neuropathiques et d'autres pathologies dans lesquelles les neuropeptides sensoriels libérés par les neurones sont sensibles à la capsaïcine [110].

I.3.3 Inhibition des réactions allergiques

L'administration orale de l'extrait de l'éther de pétrole des parties aériennes d'*E. splendens* a provoqué une inhibition significative de l'œdème et a produit une inhibition de la migration des leucocytes dans des tissus affectés [136].

L'extrait éthanolique des parties aériennes d'*E. hirta* a montré des propriétés antihistaminiques, anti-inflammatoires et immunosuppresseurs in vivo [137].

I.3.5 Activité Cytotoxique

Les diterpènes de type lathyrane (**92**, **93** et **94**) isolés à partir de l'extrait éthanolique de la plante entière d'*E. nivulia* sont dotés d'une activité cytotoxique vis-à-vis des cellules HeLa (carcinome du col utérin) de prise 0,41 μ M. et 0,34 μ M contre les cellules MDA-MB-231 et MDA-MB-231 (cellules tumorales mammaires) [97].

I.3.6 Résistance multi-drogue (MDR)

Le composé salicinolide (**75**) isolé à partir d'*E. salicifolia* a été trouvé plus actifs que le vérapamil en multirésistance dans les cellules de lymphome de souris [91]. Aussi, le diterpénoïde de type jatrophane (**52**) isolé d'*E. mongolica*, a un effet dans l'inhibition de l'activité de pompe d'efflux de cellules tumorales [78].



Chapitre II :
Partie expérimentale

Partie expérimentale

II.1 Introduction

Le présent travail porte sur un criblage chimique des extraits d'*Euphorbia granulata* par bioguidage. Le choix de cette espèce est lié à :

- Ses vertus thérapeutiques dans la médecine traditionnelle,
- Son endémicité : c'est une espèce endémique du Sahara septentrional dont une partie couvre l'Algérie,
- La richesse des espèces du genre *Euphorbia* en métabolites secondaires,
- La quasi absence de travaux d'étude chimique sur l'espèce *Euphorbia granulata*.

Le travail expérimental comprend les parties suivantes :

- ⚡ Préparation et fractionnement sur colonne ouverte de l'extrait d'*E. granulata* ;
- ⚡ Etude de l'activité microbiologique et anti-inflammatoire de l'extrait d'*E. granulata* ;
- ⚡ Analyse par CLHP de l'extrait brut et des fractions dotées d'activités biologiques.

Notons que la partie étude de l'activité microbiologique a été réalisée au sein de laboratoire de microbiologie du complexe Antibiotical du groupe Saïdal de Médéa et laboratoire d'hygiène de Blida.

II.2 Matériels et méthodes

II.2.1 Matériel végétal

II.2.1.2 Description d'*Euphorbia granulata*

L'espèce *Euphorbia granulata* (Figure 4) est une plante annuelle ou vivace prostrée très ramifiée, glabre avec des tiges à 20 cm de long [138]. Elle présente des feuilles oblongues ou elliptiques, fortement dissymétriques à la base [1]. Elle possède des glandes transversalement ovales, de couleur jaune ou ocre, parfois rougeâtre [138], en général, bordées d'une aile membraneuse plus en moins déchiquetée et assez large. La graine est 2 à 3 fois plus longue (0,4-0,7 mm) que large. L'espèce est distribuée dans les rocailles et pâturages désertiques. Les noms vernaculaires couramment utilisées sont : laits d'oueds, « Tellak », Lebbein, Lebbeide, Um-lebbain, Labnah (incl. *E. Kralikii* Coss.) [1].



Figure 4: *Euphorbia granulata* Forsk.

II.3 Classification botanique de l'espèce *Euphorbia granulata*

La classification botanique de l'espèce *Euphorbia granulata* est donnée comme suit [1,12] :

Règne	Plantae
Classe	Dicotylédones
Famille	Euphorbiaceae
Genre	<i>Euphorbia</i>
Espèces	<i>granulata</i>

II.4 Récolte et conservation

L'espèce *Euphorbia granulata* a été récoltée dans la région de la wilaya de Djelfa au mois de mai 2012 et identifiée par une équipe du Haut Commissariat au Développement de la Steppe de la Wilaya de Djelfa (HCDS). La récolte a touché la partie aérienne de l'espèce.

II.5 Préparation de l'extrait d'*Euphorbia granulata* par macération

Cette extraction consiste à épuiser la matière végétale par un solvant et à chasser le solvant de l'extrait obtenu par évaporation [139].

En pratique, une masse de 400 g de parties aériennes d'*E. granulata* coupée en petits morceaux, a été mise en contact avec un mélange de solvant « MeOH/CH₂Cl₂ 1/1 : v/v », de manière à immerger complètement la matière végétale. Le mélange matière végétale - solvant est soumis à une agitation manuelle de manière périodique. Le miscella (solvant + extrait) est filtré et évaporé sous pression réduite à une température ne dépassant pas 40°C (Figure 5).

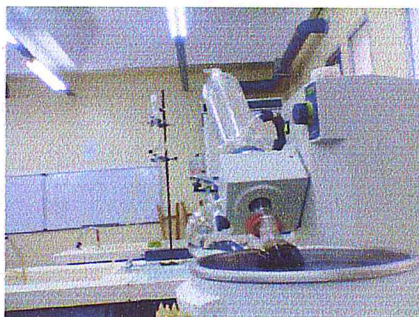


Figure 5 : Evaporation du mélange de solvant(MeOH/CH₂Cl₂).

II.5.1 Extraction liquide/liquide de l'extrait

L'extrait obtenu est soumis à une extraction liquide /liquide (éther/ eau distillée). L'objectif étant d'éliminer tous les composés aqueux (solubles dans l'eau y compris les sucres). L'extraction est réalisée trois fois, les phases étherées sont, après filtration (séchage) sur du sulfate de sodium, regroupées en une seule phase. On procède ensuite à l'évaporation de l'éther à température ambiante.

II.5.1.1 Rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait obtenue et la masse de la matière végétale utilisée (p/p) [140]. Il est donné par l'équation :

$$\eta = \frac{m_{\text{ext}}}{m_{\text{Mv}}} \square 100$$

Où :

- η : rendement en extrait %.
- m_{ext} : masse de l'extrait en grammes.
- m_{Mv} : masse de la matière végétale utilisée en grammes.

II.6 Détermination des indices physico-chimiques de l'extrait

II.6.1 Indice de réfraction [140]

L'indice de réfraction est mesuré en utilisant un réfractomètre d'Abbe à la température ambiante, l'appareil est ajusté (étalonnage) de manière à indiquer, à la température de 19°C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée.

L'extrait est dissous dans l'éthanol à une concentration de 5mg/ml, cette solution d'extrait est utilisée également pour les indices physiques et les indices chimiques.

Partie expérimentale

II.6.2 Densité

Elle est estimée par la mesure du rapport de la masse sur le volume en utilisant une fiole jaugée de 5ml. La mesure est faite sur une solution de l'extrait dissout dans l'éthanol à une concentration de 5mg /ml (§ II.8.1).

II.6.3 Indice d'acide [140]

II.6.3.1 Principe

L'indice d'acide I_A est le nombre qui exprime en milligrammes la masse d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1 g d'extrait.

En pratique, nous avons titré 2 ml d'une solution d'extrait dans l'éthanol (5mg/ml) avec une solution de KOH à 0,1M. Le titrage est terminé lorsque la couleur rose persiste pendant 15 secondes au moins.

L'indice d'acide est donné par :

$$I_A = (56,1 * C * V) / m$$

Où :

I_A : indice d'acide

V : volume d'hydroxyde de potassium

C : concentration de l'hydroxyde de potassium

m : masse de l'extrait en grammes

II.6.4 Indice de saponification [140]

II.6.4.1 Principe

L'indice de saponification I_s est le nombre qui exprime en milligrammes la masse d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et à la saponification des esters présents dans 1 g d'extrait.

II.6.4.2 Mode opératoire

Dans un ballon à fond plat de 100 ml, nous avons introduit 5 ml d'une solution de l'extrait d'*E. granulata* dans l'éthanol (5mg/ml) auquel nous avons ajouté 20 ml d'hydroxyde de potassium alcoolique à 0,1 M. Le mélange est chauffé pendant 1 heure. Après refroidissement, nous avons ajouté 3-4 gouttes de la solution de phénolphaléine et avons neutralisé la quantité de KOH restante par une solution d'acide chlorhydrique 0,1 M. L'opération a été refaite trois fois. Nous avons effectué un essai à blanc dans les mêmes conditions.

L'indice de saponification est estimé par la relation :

Partie expérimentale

$$I_S = [M \cdot C_{\text{HCl}} \cdot (v_2 - v_1)] /$$

Où :

I_S : indice de saponification

v_1 : volume d'acide chlorhydrique 0,1 M utilisé en titrage

v_2 : volume d'acide chlorhydrique 0,1 M utilisé en titrage de l'essai à blanc

M : masse molaire de KOH

m : masse de l'extrait

II.6.4.3 Indice d'ester

L'indice d'ester est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters dans 1g d'extrait. Il est donné par la relation : $I_E = I_S - I_A$.

II.7 Fractionnement de l'extrait brut sur colonne ouverte de silice

Le principe de cette technique est basé sur les phénomènes d'adsorption sur la silice. Les substances polaires sont fortement retenues sur la phase stationnaire, les composés sont alors entraînés vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant [141].

II.7.1 Mode opératoire

Une masse de 6,2283 grammes de l'extrait brut est solubilisée dans un minimum de solvant (hexane) pour obtenir une solution très concentrée en extrait. Cette dernière est déposée en haut d'une colonne en verre ($L = 0,60$ m, diamètre = 3cm) remplie de silice Si60 (70-230 mesh, 0,063-0,240mm) de type Merck. Le remplissage de la colonne se fait par voie humide, c'est-à-dire, la silice est immergée dans l'hexane de manière à former une bouillie qui est ensuite directement coulée dans la colonne (en prenant soins de chasser les bulles d'air formées au sein de la colonne). La masse de silice utilisée est calculée de manière à respecter approximativement la proportion massique $m_{\text{ext}} / m_{\text{SiO}_2} = 1/40$. L'élution se fait par le mélange éluant hexane /acétate d'éthyle à polarité croissante en passant de 100% (hexane) à 100% (AcOEt). L'élution est ensuite poursuivie en utilisant un gradient d'élution à polarité croissante acétate d'éthyle / méthanol.

Partie expérimentale

Le fractionnement se fait en se basant sur la couleur des fractions séparées, mais aussi sur le volume des fractions (≤ 100 ml).

Nous avons récolté 97 fractions (Tableau 2 - Annexe1).

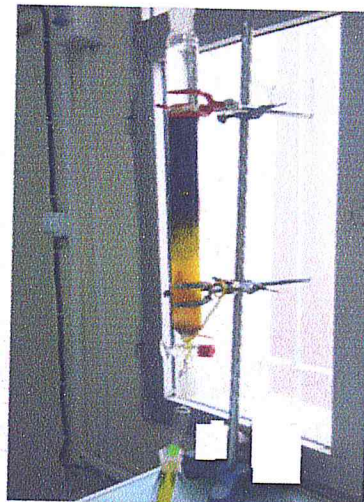


Figure 6 : Séparation de l'extrait *E. granulata* sur colonne ouverte de silice.

II.8 Analyse par chromatographie sur couche mince

Afin d'avoir une idée préliminaire sur la nature chimique des fractions d'une part, et regrouper les fractions semblables d'autre part, les fractions collectées ont été analysées par chromatographie sur couche mince. L'analyse par CCM a été effectuée en utilisant une plaque CCM Si-60 F 254 et un mélange éluant isooctane / acétate d'éthyle 50/50.

II.9 Tests d'activité antimicrobienne

Préparation de la pré-culture

Les tests antibactériens sont réalisés à partir des cultures jeunes de 18 à 24 heures en phase de croissance exponentielle.

Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur gélose nutritive (GN) pour les bactéries, sabouraud pour les levures et le milieu de culture ISP2 de PH= 7,2 semi solide pour les champignons, on prélève des colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile, suivi d'une agitation au vortex pendant quelques secondes.

II.9.1 Etude de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits et des fractions, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose appelée aromagramme [142]. Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé

Partie expérimentale

antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

II.9.1.1 Protocole expérimental

Après l'autoclavage des milieux de culture à 120°C pendant 20 minutes, on fait couler à 50°C aseptiquement le milieu de culture gélosé agar nutritif en surfusion dans des boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte. On laisse ensuite refroidir.

- Dépôt de disques

A l'aide d'une pince stérile, on prélève un disque de cellulose stérile (disque de référence : Schleicher & Schuell -NO.321 261, D-3354 Dassel W.-Germany de diamètre 9mm) qu'on imbibe avec l'extrait à tester en le mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'extrait jusqu'à l'imprégnation totale du disque (50µl), puis on le dépose sur la gélose. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à 4°C pendant 4 heures, ensuite mises à l'étuve à la température de 35°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pour les levures dans le milieu de culture le sabouraud. L'expérience est répétée trois fois pour chaque fraction et pour chaque espèce bactérienne.

- Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle (en mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des fractions et de l'extrait [142].

- Non sensible(-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

Souches utilisées

Cette étude a porté sur une gamme de microorganismes comprenant des bactéries Gram positif et Gram négatif, ainsi que des levures. Les souches microbiennes référencées (Tableau

Partie expérimentale

3) ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Unité Antibiotical-SAIDAL et laboratoire d'hygiène

Tableau 3: Souches utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Souches microbiennes	Gram	Références
<i>Escherichia coli</i>	Gram -	ATCC 10536
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram -	ATCC 1803
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	ATCC 6538
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Gram +	ATCC 6558
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram +	ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	ATCC 17933
<i>Sarcina lutea</i>	Gram +	ATCC 9341
<i>Streptococcus sp</i>	Gram +	ATCC 8
<i>Candida albicans</i>		ATCC 10231
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		ATCC 9763

II.10. Tests d'activité anti-inflammatoire

L'étude expérimentale de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode décrite par Winter [143] d'après laquelle l'inflammation est induite par injection de la carragénine au niveau de la voûte plantaire de la patte gauche de la souris. L'œdème causé par cet agent phlogogène est traduit en volume et mesuré par le pied à coulisse, ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire.

Pour chaque essai de l'activité anti-inflammatoire, trois lots de six souris ont été utilisés. Ces souris sont de sexe mâle et femelle et ont été mis à jeûne, 16 heures avant l'essai.

- Lot témoin : recevra 0,5 ml de l'eau physiologique.
- Lot de référence : Les souris de ce lot ont été traités par voie intra-péritonéale (ip) avec un anti-inflammatoire utilisé en médecine, 30 min avant l'injection de la carragénine (a une concentration de 0,1% et un volume d'injection de 0,02 ml).

On utilise l'acide 2-[2-(2,6-dichlorophenyl)aminophényl]éthanoïque (connu sous le nom de Diclofenac), comprimé de 100mg, dissout dans 100ml d'eau distillée. L'administration de l'anti-inflammatoire se fait à raison de 2,5 ml/kg pour le Diclofenac. Le poids des souris varie entre 18-20 g, et chacune d'elles reçoit 0,5ml de médicament.

- Lot essai 1 : Les souris de ce lot reçoivent 0,5 ml de la solution (10 mg d'extrait solubilisé dans 5ml de mélange de solvant (eau physiologique + Tween 40)) à la dose de 2mg/ml

Partie expérimentale

d'extrait par voie (ip), et ce 30 min avant l'injection de la carragénine dans la voûte plantaire de la patte gauche de la souris.

- Lot essai 2 : L'extrait à tester est administré aux souris par voie (ip) à raison de 4 mg/ml et ce 30 min avant l'injection de la carragénine. Le suivi de l'évolution de l'œdème se fait par mesure du gonflement de la patte, à 30min, 60min, 90min, 120min, 150 min et 180 min après injection de la carragénine. La moyenne des valeurs obtenues pour chaque lot à un temps donné sera déterminée selon la formule suivante:

$$M = [\sum(D)/n].$$

M : Moyenne des valeurs obtenues.

D : Epaisseurs (mm) des pattes postérieures droites de chaque souris.

n : nombre de souris pour chaque lot.

Elle permet d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait étudié et de le comparer à celui du produit de référence.

II.11. Détermination de l'activité anti-oxydante de l'extrait d'*Euphorbia granulata*

II.11.1. Intérêt des antioxydants

Les antioxydants, sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement.

II.11. 2 Principe de mesure

Le pouvoir réducteur, mesure la capacité qu'à un antioxydant à donner un électron [144]. La détermination du pouvoir réducteur a été réalisée selon la méthode d'OKTAY *et al* [145] (Figure 7). La réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}), est mesurée par l'intensité de la solution bleu vert qui en résulte, celle-ci absorbe à une longueur d'onde de 700 nm. Une augmentation de l'absorbance est indicatrice d'un pouvoir réducteur élevé [144]. Selon le protocole expérimental, 250 μ l de l'échantillon est mélangé avec 250 μ l d'une solution tampon phosphate à 0.1 M (pH= 6.6) et 250 μ l d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. Un volume de 250 μ l d'acide trichloracétique à 10% est ajouté pour stopper la réaction, les tubes sont ensuite centrifugés à 3000 tour pendant 10 min. Dans notre cas, l'extrait d'*E.granulata* présente une couche huileuse au niveau du surnageant, on nous

Partie expérimentale

avons été contraint de passer la solution d'extrait sur un micro filtre. A 1 ml du surnageant sont ajoutés 1 ml d'eau distillée et 200 μl d'une solution de chlorure de fer ($\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) à 0.1%. La lecture des absorbances se fait par rapport un essai à blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. L'organigramme présenté par la figure 10 résume le mode opératoire.

Notons que :

- Le blanc, est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.
- Le témoin, est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par du méthanol.
- La référence, est préparée de la même manière en remplaçant l'extrait par de l'acide ascorbique.

En pratique, nous avons préparé solution méthanolique d'extrait et de l'acide ascorbique à concentration 0,5 mg/ml.

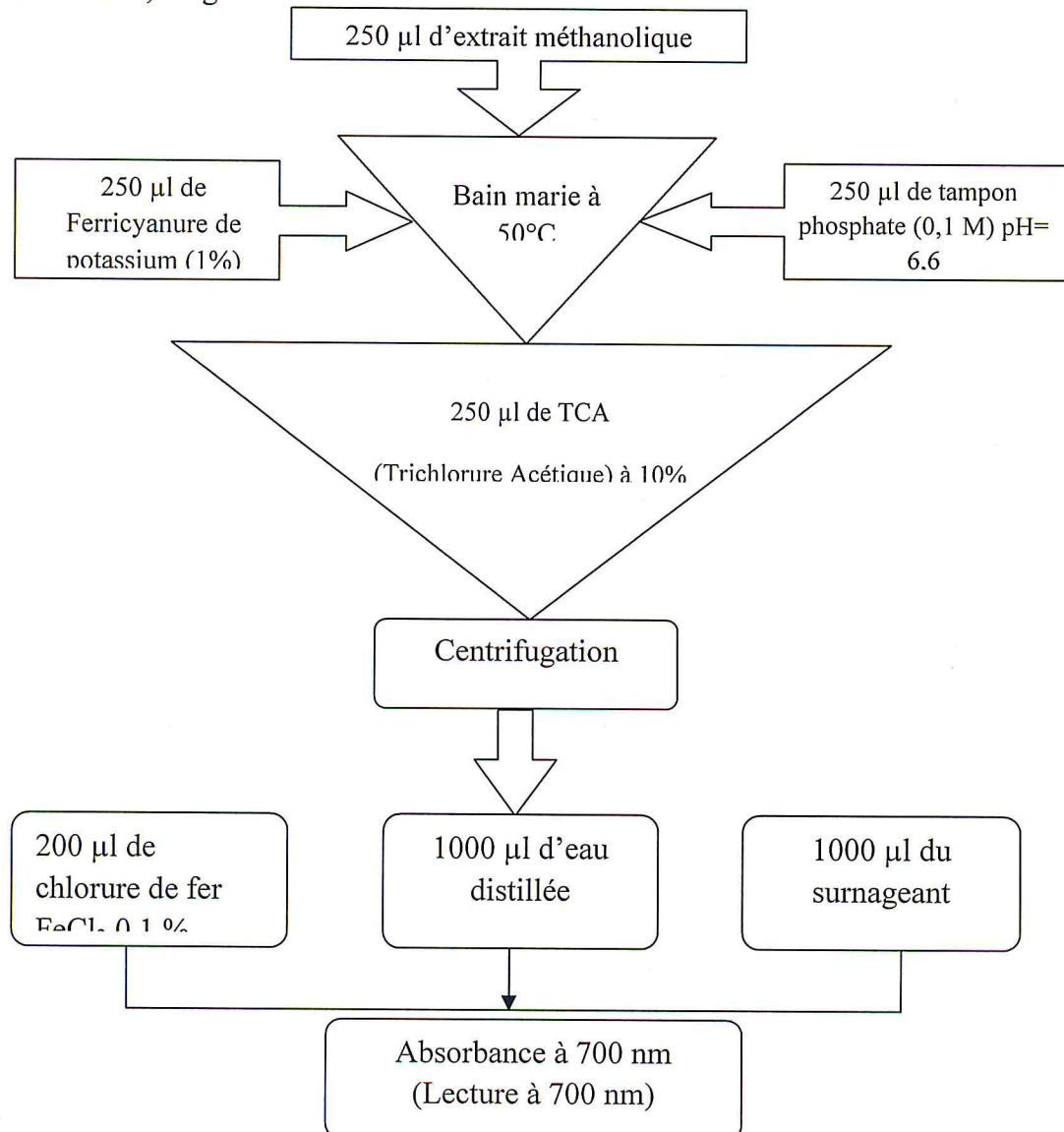


Figure 7 : Protocole de mesure du pouvoir réducteur [145].

Partie expérimentale

II. 12 Analyse par chromatographie liquide à haute performance CLHP

L'analyse par CLHP-DAD a été effectuée avec une chaîne Agilent 1260 équipée d'un logiciel d'exploitation « ChemStation Agilent » et comprenant :

- Une pompe quaternaire (G13UC) équipée d'un système de programmation de débit,
- Un passeur d'échantillon automatique (G1329B) avec un module de chauffage des échantillons,
- Un four pour colonne (G1316) équipé d'un module de chauffage par effet Peltier,
- Un détecteur à barrette de diodes (G1315CD),
- Une colonne analytique (25cm *4,6 mm, 5µm) de type Agilent RP 18,
- Débit de la phase mobile : 1 ml / min,
- Volume injecté : 20 µl,
- Longueur d'onde de détection : 210 nm,

L'analyse est effectuée en mode gradient selon le programme suivant :

Temps (minutes)	Me CN%	Eau %
0	10	90
5	10	90
50	100	0
60	100	0

II.13 Résultats et discussion

II.13.1 Rendement de l'extraction

Deux extractions successives par macération, effectuées sur une masse de 400 g de plante sèche coupée en petits morceaux pendant une semaine, a permis d'obtenir une masse d'extrait de **6,454 g**, soit un rendement de **1,613%**. Ce rendement est relativement élevé comparé à ceux obtenus à partir d'autres espèces terrestres [146]. Toutefois, ce rendement, comparé à ceux obtenus d'espèces du genre *Euphorbia*, est relativement plus faible [147, 148]. Ceci est probablement dû au temps d'extraction et/ou au type de solvant.

Partie expérimentale

II.13.2 Caractéristiques physico-chimiques de l'extrait d'*Euphorbia granulata*

La mesure des indices physico-chimiques à savoir la densité, l'indice d'acide, l'indice de saponification et l'indice d'ester effectués selon la méthodologie indiquée dans les paragraphes ci-dessus (§ II.8.1 à 4) a permis d'enregistrer les valeurs suivantes :

Densité	0,79106
Indice de réfraction	1,3655.
Indice d'acide	0,01
Indice de saponification	0,095
Indice d'ester	0,085

Les indices physico-chimiques mesurés sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus pour la majorité des extraits et concrètes de plantes terrestres [146]. Notre recherche bibliographique ne nous a pas permis, malheureusement, d'obtenir des valeurs des indices physico-chimiques pour les extraits d'espèces du genre *Euphorbia*.

II.13.3 Fractionnement sur colonne ouverte de silice

Le fractionnement sur colonne ouverte de silice nous a permis de récolter 97 fractions. En se basant uniquement sur l'aspect physique (couleur notamment) de la fraction, nous avons regroupé (pour minimiser le travail d'analyse) les fractions que nous avons estimé semblables. Nous sommes passés de 97 à 35 fractions (Tableau 2 - Annexes 1).

C'est ainsi que, les 35 fractions ont été analysées par CCM dans les conditions ci-dessus indiquées. L'analyse du profil chromatographique (Figures 9 et 10) pour les 35 fractions nous a permis notamment de choisir les fractions représentatives à soumettre aux tests d'activité biologiques. Ainsi, nous avons sélectionné 15 fractions. La méthodologie suivie, dont l'objectif est de minimiser le nombre de fractions à tester, est hasardeuse et peu fiable car nous ne pouvons pas différencier correctement entre les fractions sur la base de la CCM, notamment en ce qui concerne l'activité biologique. L'analyse par CCM nous a permis aussi de faire une évaluation préliminaire de la nature chimique de l'extrait brut. L'examen des plaques CCM (Figures 9,10) et du tableau 2 (annexe1) regroupant les masses des différentes fractions, nous a révélé que l'extrait d'*E. granulata* est constitué majoritairement de composés apolaires, ainsi, la masse totale des fractions éluées avec le mélange éluant hexane / AcOEt

Partie expérimentale

variant de 100/0 à 70/30 constitue la fraction la plus importante de l'extrait d'*Euphorbia granulata*.

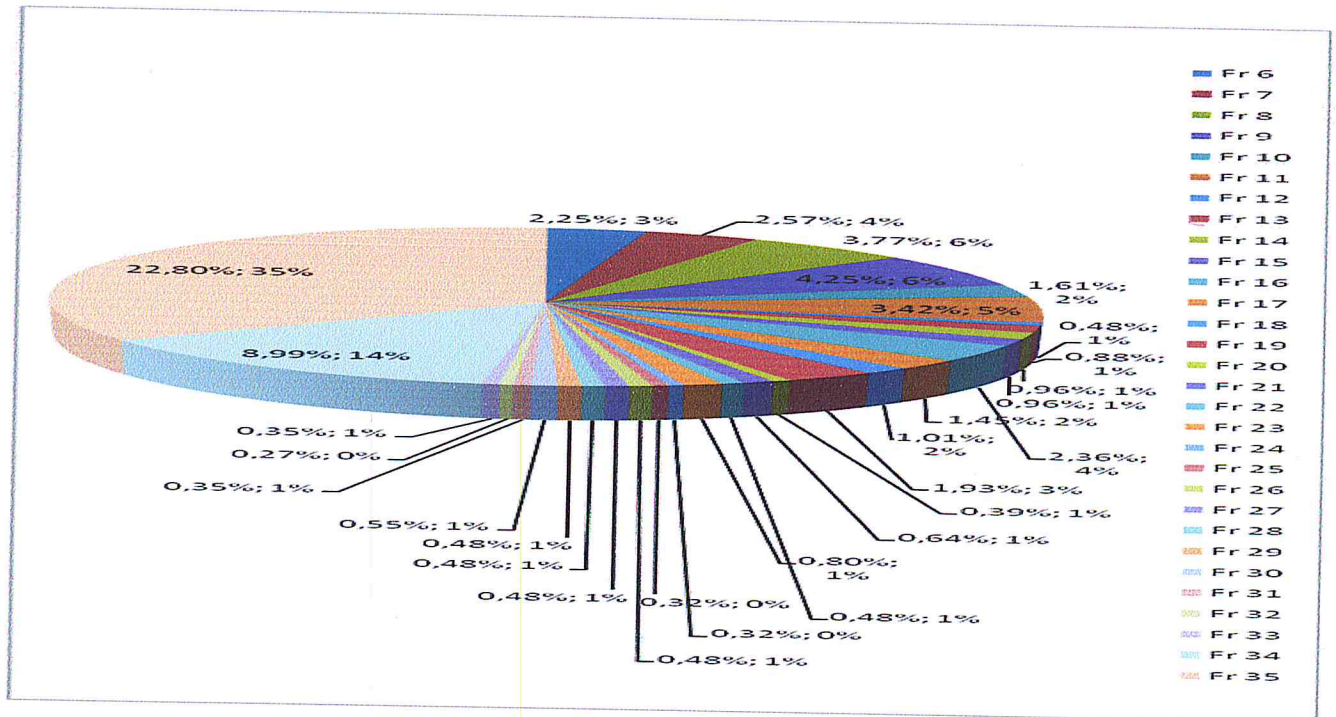


Figure 8 : la quantité des fractions en pourcentage.

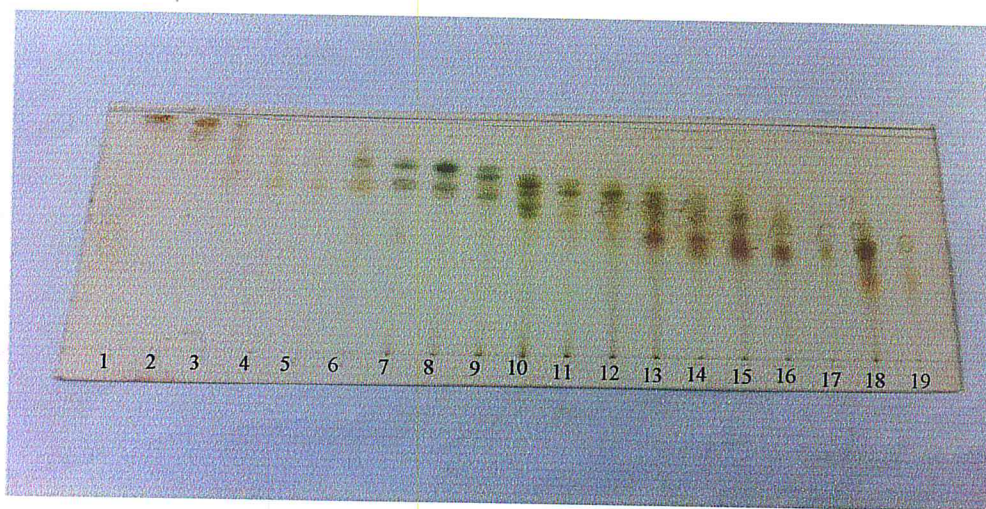


Figure 9 : Analyse par CCM des fractions 1 à 19

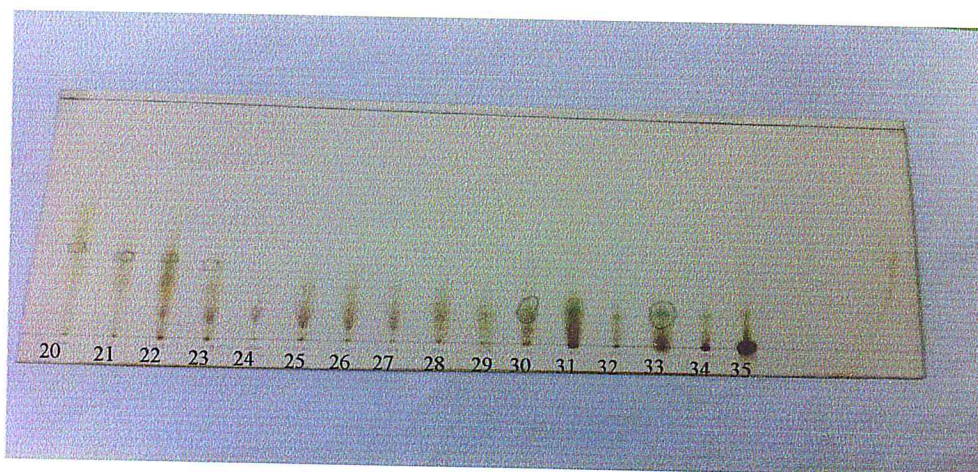


Figure 10 : Analyse par CCM des fractions 20 à 35.

II.13.4 Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique

II.13.4.1 Evaluation de l'activité antibactérienne

Nous avons réalisé nos tests d'activités antibactériennes en solubilisant l'extrait et les fractions dans le myristate d'isopropyle (IPM), toutefois, la solubilité dans l'IPM n'était pas parfaite pour toutes les fractions (Tableau 4). Nous avons vérifié au préalable que l'IPM n'avait aucun effet sur les souches utilisées. Les résultats des tests obtenus sont donnés dans le tableau 5.

L'examen du tableau 5 montre que la plus part des fractions sont inactives, idem pour l'extrait brut qui apparaît aussi comme étant inactif. Les fractions 6 et 8 montrent des zones d'inhibition assez faibles, elles présentent toutefois une certaine activité relative. Nous avons tenté apporter une interprétation aux résultats obtenus en se basant sur la solubilité des fractions dans le solvant. Le myristate d'isopropyle est un solvant assez lourd (319.9°C at 760 mm Hg) et relativement assez visqueux (viscosité dynamique 5,58 mPas à 20 °C), par conséquent, sa diffusion dans le milieu de culture est faible et nécessite un temps de diffusion plus important. Nous avons décidé de substituer l'IPM par un autre solvant plus fluide. Dans ce cadre, nous avons testé le méthanol et le diméthylsulfoxyde (DMSO) qui se sont montrés inoffensifs vis-à-vis des souches utilisées.

Partie expérimentale

Tableau 4 : Solubilité des fractions d'extraits dans le myristate d'isopropyle (IPM)

Fract.	2	3	6	8	10	11	13	17	19	23	25	29	31	35	Ext. brut
Solub.	+	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	++	++

++ : soluble, + : assez soluble, - : non soluble.

Tableau 5 : Résultats des tests d'activité antimicrobienne des différentes fractions solubilisées dans l'IPM

Souches Fraction	Fr 2	Fr 3	Fr 6	Fr 8	Fr 10	Fr 13	Fr 17	Fr 18	Fr 19	Fr 22	Fr 23	Fr 31	Fr 35	Fr 25
<i>S.aureus</i>	-	-	8,5mm	8mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sarcina lutea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomycette cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nous avons refait les tests d'activité des différentes fractions dans le DMSO, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 6. L'examen de ce dernier révèle des résultats complètement différents de ceux obtenus précédemment (Tableau 5), beaucoup de fractions se sont avérées relativement actives le tableau 6 et les figures montre les résultats obtenue.

Partie expérimentale

Tableau 6: Résultats des tests d'activité antimicrobienne des différentes fractions solubilisées dans DMSO

Souche Fr	extr	DMSO	6	7	8	9	10	12	13	14	15	16	34
<i>S.aureus</i>	-	-	10,5mm	12mm		-	10mm	-	14mm	14mm		16mm	
<i>E.coli</i>	-	-			10mm		-		15mm	11mm		-	
<i>S.epidermidis</i>	-	-		9mm					-				
<i>B.subtilis</i>	-	-		11mm			10,5mm		15mm	15mm	-	13mm	-
<i>K. pneumoneae</i>	-	-							-			-	
<i>P.aeruginosa</i>	-	-			-				-		-		-
<i>streptococcus</i>	-	-		-	-		-		-		-	-	-
<i>Sarcina lutea</i>	-	-											
<i>saccharomyce cerevisiae</i>	-												

Résultats du test d'activité antimicrobienne

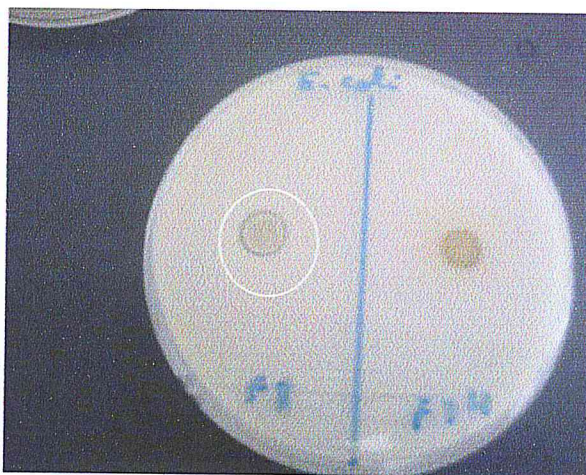


Figure 11: Activité antibactérienne de fraction 8 et 14 vis-à-vis *Escherichia coli*.

Partie expérimentale

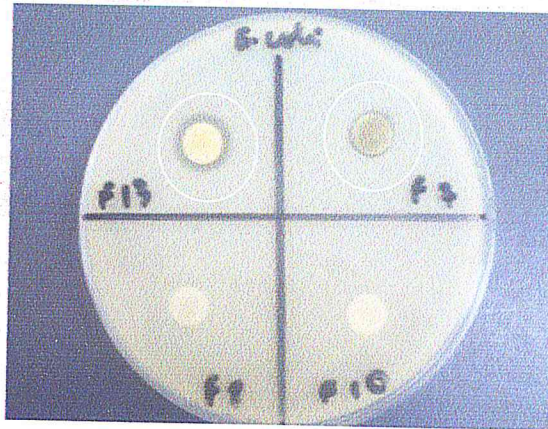


Figure 12: Activité antibactérienne de fraction 13, 7, 8, 10 contre la souche E.coli.

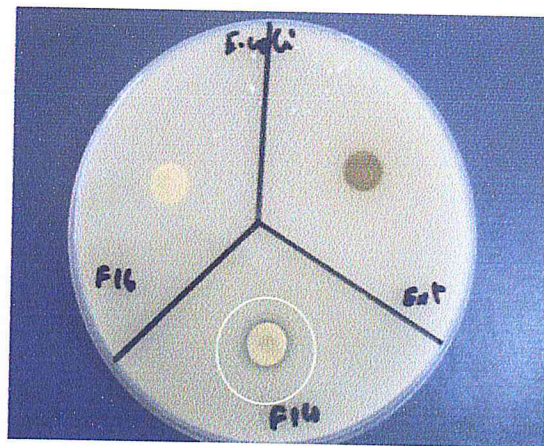


Figure 13: Activité antibactérienne de fraction 16,14 et l'extrait d'E. granulata contre *Escherichia coli*

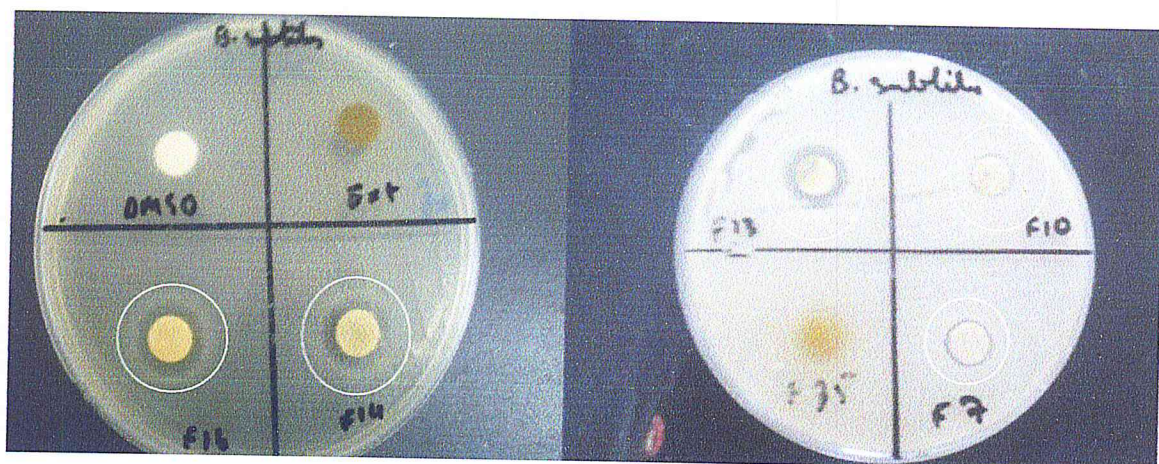


Figure 14 : Activité antibactérienne de fraction 16,14, l'extrait d'E. granulata, le DMSO,13,10, 35 et la fraction 7 contre *Bacillus subtilis*.

Partie expérimentale

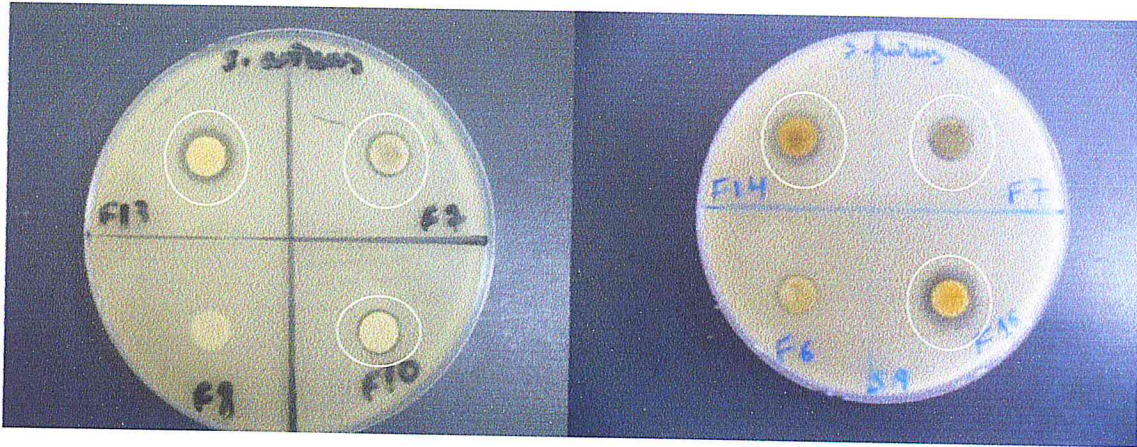


Figure 15: Activité antibactérienne de fraction 13,14,6, 7,8, 10 et fraction 16 contre *Staphylococcus aureus*.

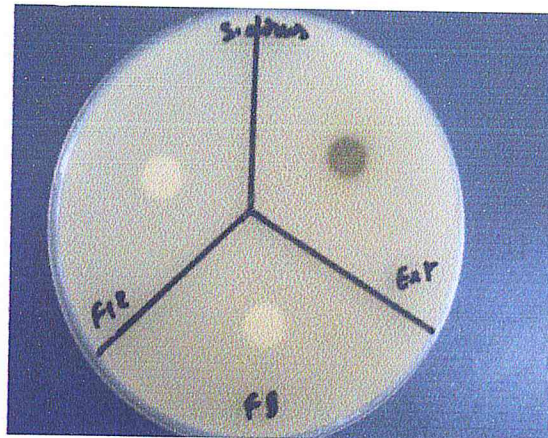


Figure 16 : Activité antibactérienne de fraction 12,9 et l'extract E. granulata contre *Staphylococcus aureus*.

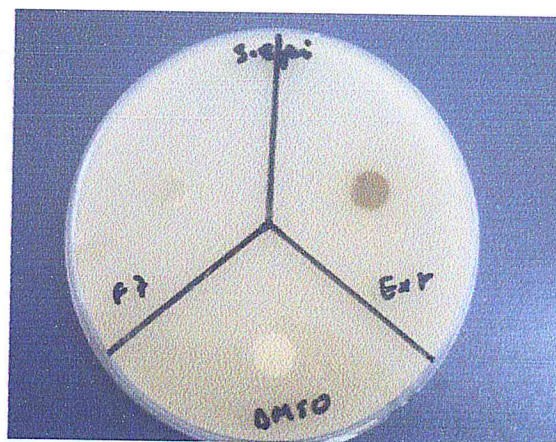


Figure 17 : Activité antibactérienne de fraction 7, extract d'E. granulata et le DMSO contre *Staphylococcus aureus*.

Partie expérimentale

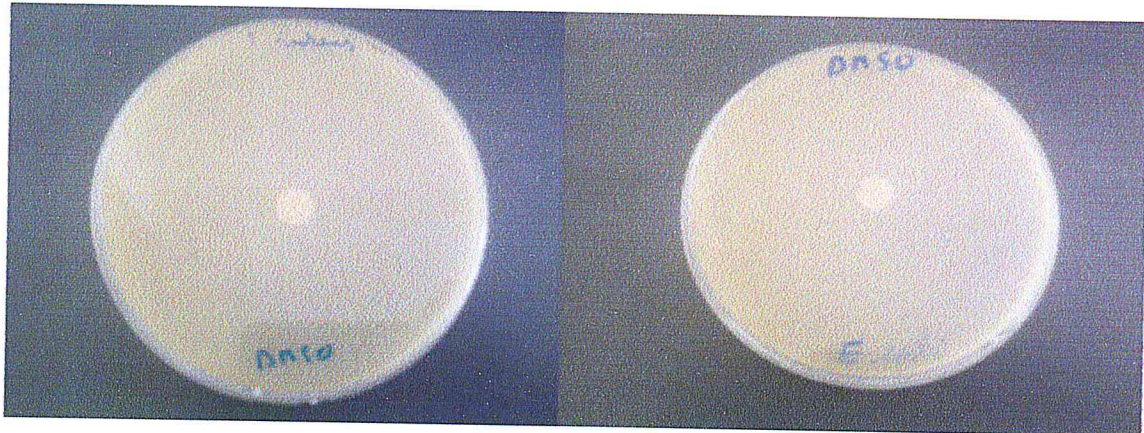


Figure 18 : Activité antibactérienne de solvant de solubilisation (DMSO) contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.



Figure 19 : Activité antibactérienne de fraction 35, 7, 8 et DMSO contre *Streptococcus*.

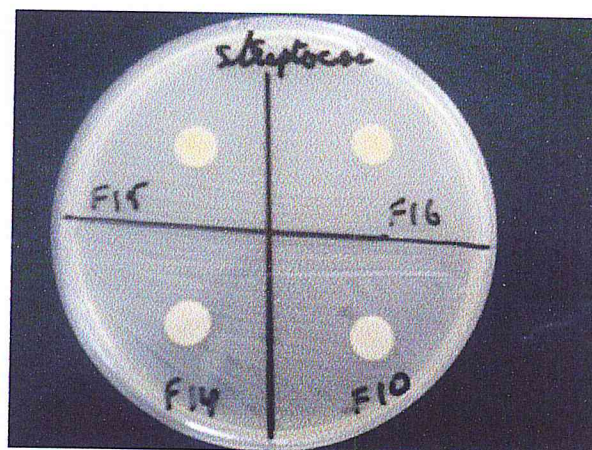


Figure 20: Activité antibactérienne de fraction 10, 14, 15 et fraction 16 contre *Streptococcus* sp.

Partie expérimentale

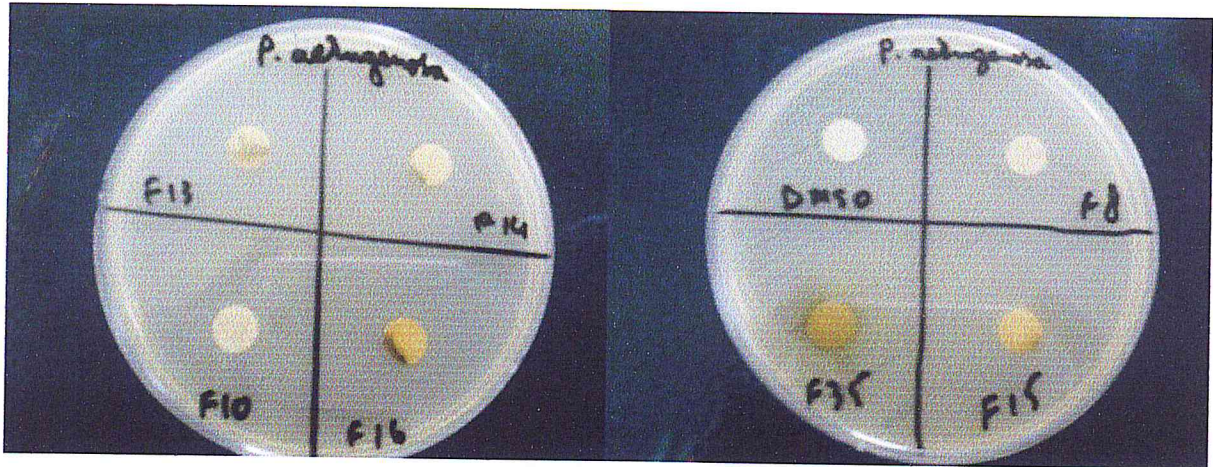


Figure 21 : Activité antibactérienne de fraction 10, 13, 14, 16, 8, 15, 35 et le DMSO contre *Pseudomonas aeruginosa*.

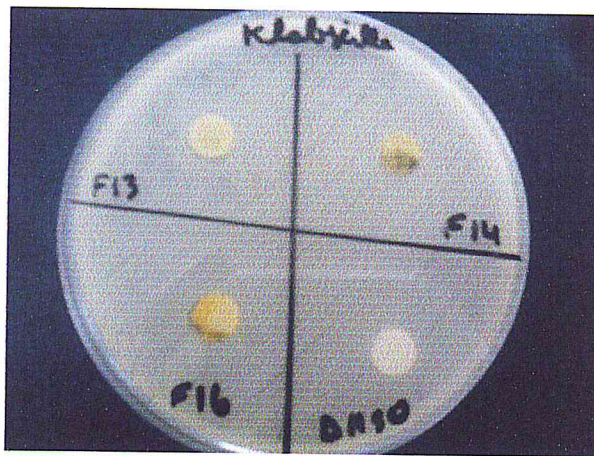


Figure 22 : Activité antibactérienne de fraction 13, 14, 16 et le DMSO contre *Klebsiella pneumoniae*.

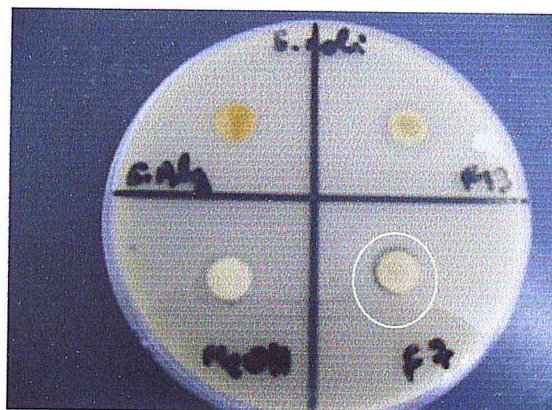


Figure 23 : Activité antibactérienne de fraction 7, 13 et le méthanol contre *Escherichia coli*.

Partie expérimentale

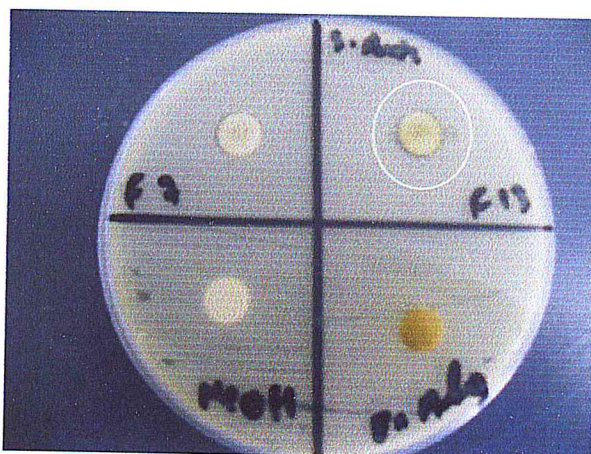


Figure 24 : Activité antibactérienne de fraction 7, 13 et le méthanol contre *Staphylococcus aureus*.

Les fractions 7 et 13 ont été solubilisées dans le méthanol et testées vis-à-vis de *E. coli* et *S. aureus*, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Résultats des tests d'activité antimicrobienne des fractions 7 et 13 solubilisées dans le méthanol

Fractions souches	F7	F13	MeOH
<i>E. coli</i>	9,5mm	—	—
<i>S. aureus</i>	—	9mm	—

La substitution de l'IPM par le DMSO, un solvant moins lourd ($T_{eb} = 190^{\circ}\text{C}$) et moins visqueux (2,14 mPa.s à 20 °C) a permis d'obtenir des résultats différents, ce qui prouve que notre hypothèse sur la difficulté de l'IMP de diffuser dans le milieu de culture s'est avérée fondée. De plus, nous avons constaté que le DMSO n'était pas le solvant parfait pour les fractions testées, certaines ont montré une solubilité limitée dans le DMSO, ce qui pourrait expliquer les résultats obtenus en termes de diamètre de la zone d'inhibition.

Nous estimons que les conditions optimales de réalisation des tests d'activités microbiologique ne sont pas maîtrisées et par conséquent, il est difficile de faire des conclusions fiables.

Partie expérimentale

II.13.4.2 Evaluation de l'activité antifongique

Nous avons évalué l'activité antifongique de l'extrait brut d'*Euphorbia granulata* vis-à-vis des champignons *Penicillium*; *Fusarium oxyporium*; *Aspergillus* sp; *Candida* sp; *Saccharomycette* sp. En utilisant la méthode du cylindre sur un milieu semi-solide ISP2. Nous avons relevé l'absence d'activité antifongique de l'extrait analysé (aucun halo clair autour du cylindre).

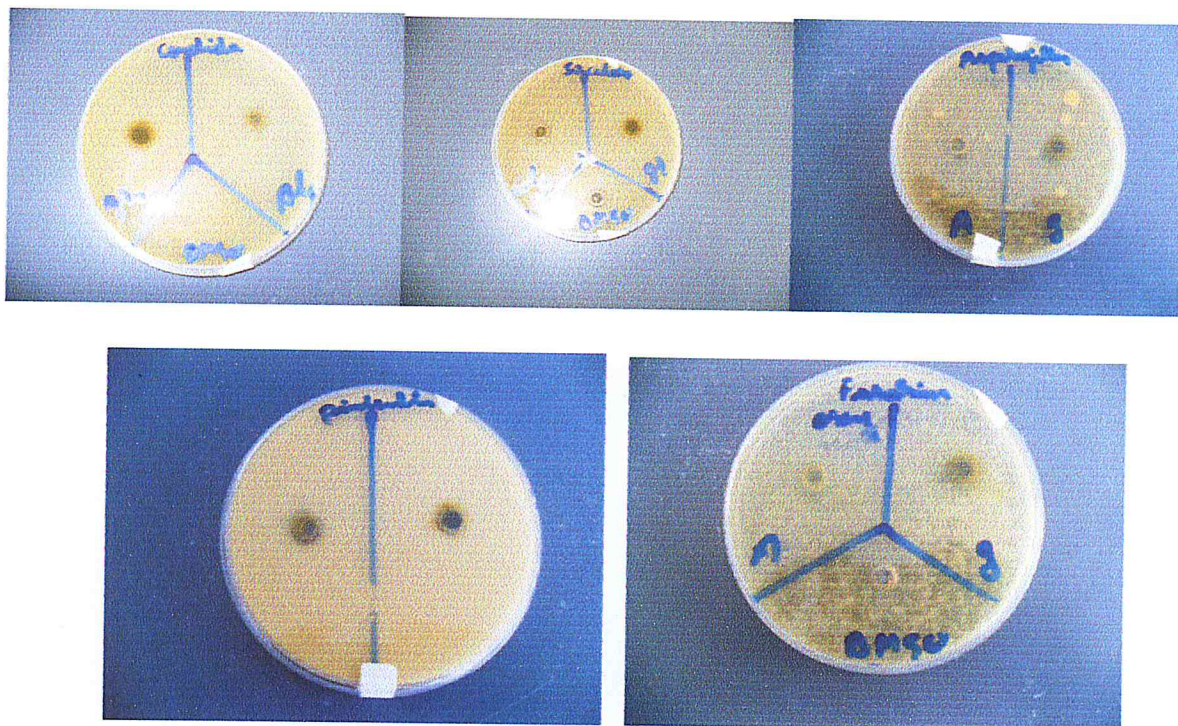


Figure 25 : Activité antifongique de l'extrait *E. granulata* par la méthode de cylindre contre *Candida* sp, *Saccharomycette*, *aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Fusarium oxyporium*

En conclusion, nous avons noté que l'extrait d'*E. granulata* ne présente pas d'activités antibactérienne et antifongique vis-à-vis des microorganismes testés (Tableau 6). Ce résultat ne représente nullement pas une contradiction par rapport à l'activité montrée par certaines fractions, il peut être interprété par la faiblesse de la concentration des produits actifs au sein de l'extrait, par contre, leur concentration est nettement plus élevée au sein des fractions. Nous confirmons à travers ces résultats que la maîtrise des conditions expérimentales est primordiale pour obtenir des résultats fiables.

Partie expérimentale

II.13.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait d'*Euphorbia granulata*

Nous avons effectué des tests d'activité anti-inflammatoire dans les conditions décrites précédemment (§ II.11). L'épaisseur moyenne (mm) des pattes postérieures droites des souris soumises aux tests dans les différents cas est donnée par les tableaux 8-11.

Tableau 8: Epaisseurs des pattes postérieures droites (mm) des souris après injection de l'eau physiologique (lot témoin).

N° de souris Temps (min)	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	Epaisseur Moyenne (mm)
Avant inj carragénine	3,00	2,90	3,00	2,90	2,50	2,80	2,85
Après inj carra.	3,20	3,30	3,20	3,20	2,70	3,00	3,10
Après 30 min	3,30	3,30	3,40	3,50	2,90	3,20	3,26
Après 60 min	3,30	3,40	3,50	3,60	3,10	3,30	3,36
Après 90 min	3,50	3,60	3,70	3,70	3,30	3,40	3,53
Après 120 min	3,60	3,70	3,80	3,80	3,40	3,50	3,66
Après 150 min	3,70	3,80	3,90	3,90	3,60	3,60	3,75
Après 180 min	3,90	3,90	4,00	4,00	3,60	3,70	3,85

Tableau 9: Epaisseur des pattes postérieures droites (mm) des souris après injection de Diclofenac (lot de référence).

N° Souris Temps (min)	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	Epaisseur moyenne
Avant injection carragénine	2,8	2,9	2,9	3	2,9	2,9	2,9
Après inj carragénine	3,10	3,20	3,10	3,30	3,10	3,20	3,2
Après 30 in	2,8	2,9	2,9	3	2,9	2,9	2,9
Après 60 min	2,8	2,9	2,9	3	2,9	2,9	2,9
Après 90 min	2,8	2,9	2,9	3	2,9	2,9	2,9
Après 120 min	2,8	2,9	2,9	3	2,9	2,9	2,9
Après 150 min	2,8	2,9	2,9	3	2,9	2,9	2,9

Partie expérimentale

Après 180 min	2,8	2,9	2,9	3	2,9	2,9	2,9
---------------	-----	-----	-----	---	-----	-----	-----

Tableau 10: Epaisseurs des pattes postérieures droites (mm) des souris après injection de l'extrait d'*E. granulata* à concentration 2mg/ml (lot essai 01).

N° Souris Temps (min)	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	Epaisseur Moyenne
Avant injection carragénine	2,60	2,80	2,90	2,70	2,80	2,80	2,76
Après injection carragénine	2,90	3,00	3,10	3,00	3,00	3,10	3,02
Après 30	2,80	2,90	3,10	2,90	2,90	2,90	2,92
Après 60	2,60	2,80	3,00	2,80	2,80	2,90	2,82
Après 90	2,60	2,80	2,90	2,80	2,80	2,80	2,82
Après 120	2,60	2,80	2,90	2,70	2,80	2,80	2,77
Après 150	2,60	2,80	2,90	2,70	2,80	2,80	2,77
Après 180	2,60	2,80	2,90	2,70	2,80	2,80	2,77

Tableau 11: Epaisseurs des pattes postérieures droites (mm) des souris après injection de l'extrait d'*E. granulata* à concentration 4mg/ml (lot essai 02).

N° Souris Temps (min)	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5	Souris 6	Epaisseur Moyenne
Avant inj carragénine	2,80	2,90	2,50	2,60	2,90	2,60	2,72
Après inj cara	3,00	3,00	2,80	2,90	3,00	2,80	2,92
Après 30	2,80	3,00	2,60	2,60	2,90	2,80	2,79
Après 60	2,80	2,90	2,60	2,60	2,90	2,60	2,73
Après 90	2,80	2,90	2,60	2,60	2,90	2,60	2,73
Après 120	2,80	2,90	2,60	2,60	2,90	2,60	2,73
Après 150	2,8	2,90	2,60	2,60	2,90	2,60	2,73
Après 180	2,80	2,90	2,60	2,60	2,90	2,60	2,73

Partie expérimentale

L'évolution de l'épaisseur moyenne en fonction du temps pour les souris du lot témoin est représentée par la figure 30.

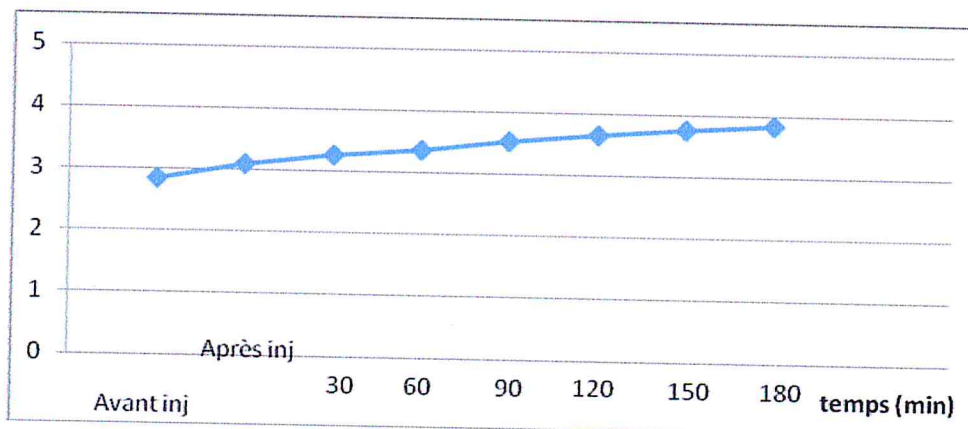


Figure 26 : Evolution de l'épaisseur moyenne en fonction du temps de la patte droite des souris du lot témoin

Pour le témoin : Après 30 min de l'administration de la carragénine au niveau des pattes postérieures des souris, nous avons observé une augmentation des épaisseurs de l'œdème de pattes droites des souris atteignant 3,26 mm. Cette augmentation se poursuit jusqu'aux 180 min pour atteindre la longueur 3,85mm.

Nous avons représenté sur la figure 32 la comparaison des résultats obtenus de l'évolution de l'épaisseur moyenne de la patte droite de la souris pour le lot de référence, le lot essai 1 et 2.

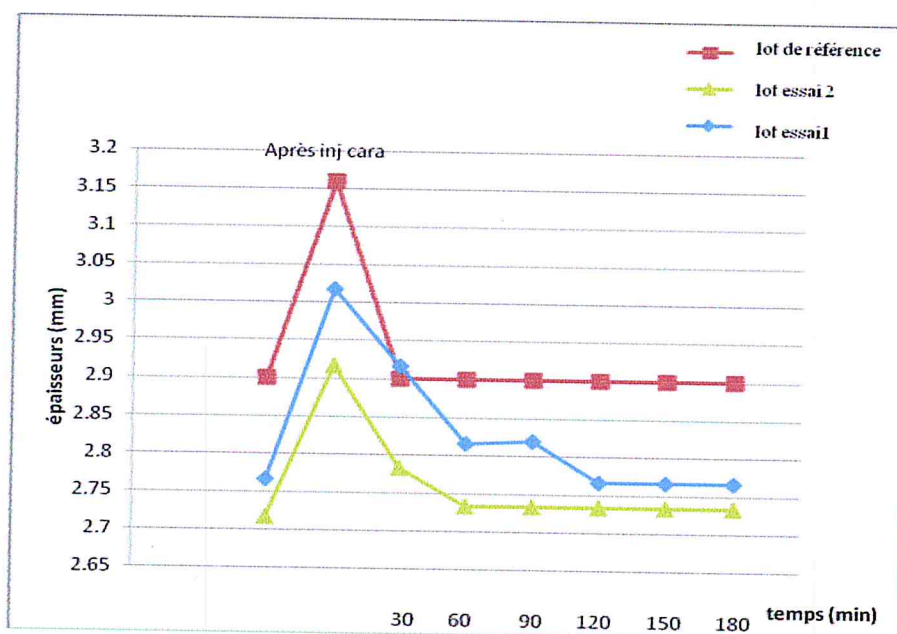


Figure 27 : Evolution de l'épaisseur moyenne en fonction temps de la patte droite des souris du lot de référence, du lot d'essai 1 (extrait 2mg/ml) et du lot d'essai 2 (extrait 4mg/ml).

Partie expérimentale

- ✓ Pour le lot de référence : nous observons une augmentation de l'œdème suivie par une diminution et une disparition totale de l'inflammation à partir de 30 min. Cette disparition est due à l'activité de médicament anti-inflammatoire (Diclofenac).
- ✓ Pour les souris du lot essai 01 traité par l'extrait d'*E.granulata* à une dose de 2 mg/ml, nous avons remarqué une légère baisse du gonflement des l'œdème. La stabilité est atteinte au bout de 120 min (Figure 27).
- ✓ Pour les souris du lot essai 02 dont la dose de l'extrait administrée est de 4mg/ml, une baisse très importante des gonflements des l'œdème est observée. La stabilisation est atteinte plus rapidement, soit à 60min (Figure 27).

Les résultats obtenus montrent que le temps correspondant à la disparition de l'inflammation est proportionnel à la concentration de l'extrait d'*E.granulata* (2mg/ml et 4mg/ml). Nous pouvons conclure que l'extrait d'*Euphorbia granulata* est pourvu d'une activité anti-inflammatoire relative. Les fractions d'extraits disposent probablement d'une activité plus importante vu que la concentration en produits plus actifs est plus importante.

II.13.5 Étude de l'activité anti-oxydante de l'*Euphorbia granulata*

La méthode de mesure est basée sur la réaction de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} , la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) (Figure 32) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}) (Figure 33), l'intensité de cette coloration est mesuré par spectrophotométrie à 700 nm.



Figure 28: Couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+})

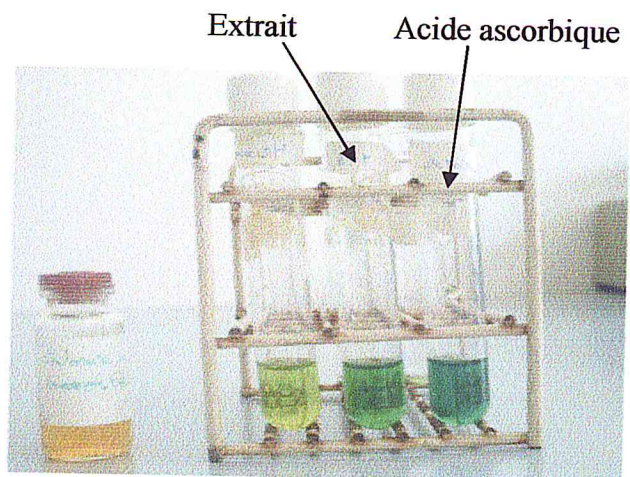


Figure 29: Réduction du fer ferrique en fer ferreux.

Partie expérimentale

Les résultats obtenus sont présentés de forme d'un histogramme (Figure 30).

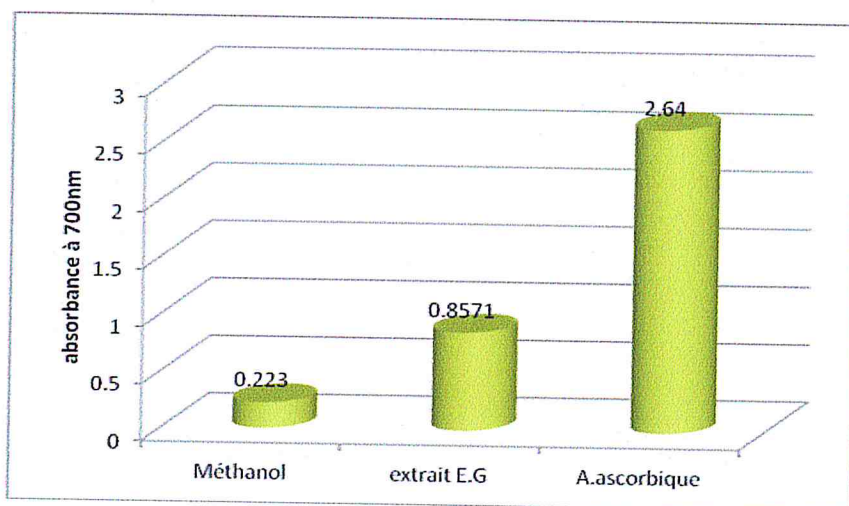


Figure 30: Le pouvoir réducteur de l'extrait brut d'*Euphorbia granulata*.

En comparaison à un antioxydant de référence, à savoir l'acide ascorbique, l'activité antioxydante de l'extrait brut d'*Euphorbia granulata* est faible. Il faut probablement tester les fractions d'extraits qui contiennent des composés actifs en concentration plus importante.

II.13. 6 Analyse par CLHP

L'analyse par chromatographie liquide avait pour objectif l'obtention d'un profil chromatographique de l'extrait brut et des fractions ayant montré une activité antimicrobienne (principe du bioguidage). Le travail consiste à situer les fractions analysées au sein du chromatogramme de l'extrait brut. La présence de standard aurait été d'une grande utilité pour la détermination de la nature chimique des métabolites actifs.

Nous avons analysé dans les conditions citées précédemment (§ II.12) l'extrait brut et les fractions 6, 7, 8, 10, 13, 14 et 16, ces fractions ont montré une activité antimicrobienne relative (Tableau 6).

Le profil chromatographique de l'extrait brut est donné par la figure 32. Les profils chromatographiques des fractions analysées sont donnés par la figure 39-45 avec les agrandissements nécessaires (Annexe 03).

Le profil chromatographique de l'extrait brut est obtenu en mode gradient (variation de la composition de l'éluant), le chromatogramme enregistré dure environ 100 mn. Nous constatons que le chromatogramme est assez équilibré en terme de composition chimique bien qu'autour 20 mn, nous constatons une condensation de métabolites ayant un caractère assez polaire.

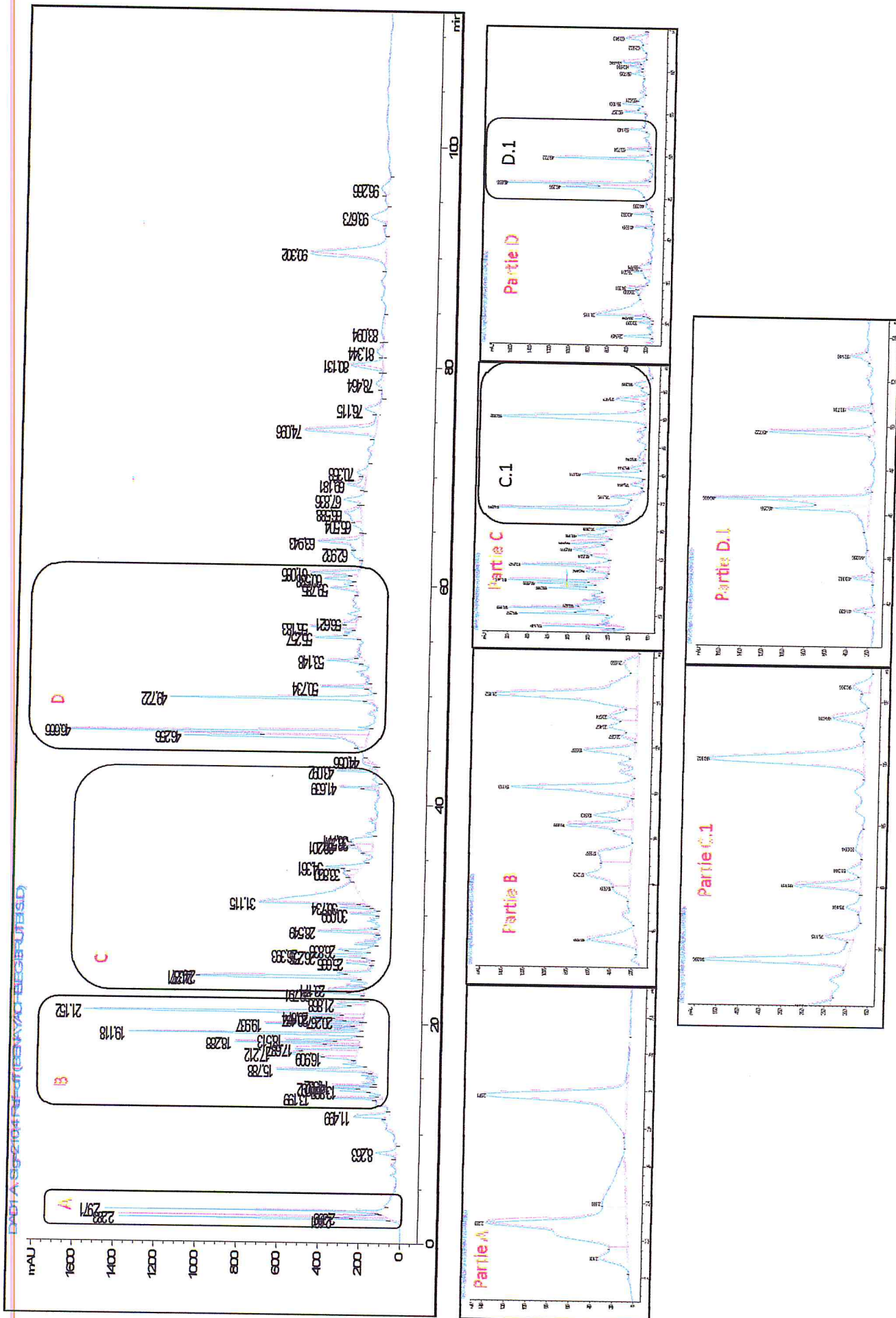


Figure 32 : profil chromatographique de l'extrait brut d'*Euphorbia granulata*

Partie expérimentale

Afin de comparer les chromatogrammes de l'extrait brut et des fractions analysées, nous avons regroupé dans le tableau 12 les principaux produits (pics) apparaissant sur les différents chromatogrammes.

Tableau 12 : Principaux produits relevés sur le chromatogramme des fractions actives et de l'extrait brut d'*Euphorbia granulata*

Fractions Tr (min)	Fr 6	Fr 7	Fr 8	Fr 10	Fr 13	Fr 14	Fr 16	Extrait
2,28								+
2,99		+		+	+	+	+	+
13,2								+
15,79								+
17,69				+	+		+	+
18,82	+	+						+
26,46	+	+	+				+	+
29,40						+		+
30,16					+			+
31,11			+				+	+
31,41		+		+				+
34,78						+		+
35,21					+	+		+
37,58						+		+
37,52					+			+
40,74				+				+
41,62			+		+	+	+	+
46,25	+	+						+
49,72	+	+	+					+
53,11		+	+				+	+
55,52			+					+
56,18								+
59,18								+
60,33								+
61,08	+		+					+

Partie expérimentale

63,91								+
74,10								+
80,01								+
90,30			+					+

L'examen du tableau 12 montre que les principaux métabolites des fractions actives sont élués entre 25 à 55 min ce qui explique bien leur faible polarité. En effet, ce sont des fractions éluées sur colonne chromatographique ouverte avec un éluant apolaire, la teneur Hexane/AcOEt varie de 100/0 à 50/50.

L'apparition sur le chromatogramme des différentes fractions de produits élués avant 25 min et après 55 min n'est pas surprenante étant donné que la détection se fait avec une barrette diode (détecteur UV) et ce sont des produits qui absorbent fortement bien que leur teneur soit faible.

La fraction 16 ayant l'activité microbiologique la plus importante montre les principaux produits en termes d'absorbance (ne veut pas dire forcément grande concentration) à 17, 31 et 54 min. Ces métabolites et vu leur temps de rétention sont relativement moyennement polaire. Les fractions 7, 10 et 14 sont également caractérisées par 3 à 4 métabolites à forte absorbance. Les fractions 6 et 13 sont caractérisées par deux métabolites importants élués respectivement à 46 et 37 min. Les deux métabolites peuvent être responsables sur l'activité microbiologique des deux fractions. La suite du travail consiste alors à les séparer par CLHP suivi de leur caractérisation structurale par les techniques spectroscopiques, ils sont ensuite testés dans les activités biologiques, c'est le concept du criblage phytochimique par bioguidage (ou bioguidé).

Conclusion

Conclusion

La partie expérimentale a été consacrée tout d'abord à la préparation d'un extrait par solvant à partir de l'espèce *Euphorbia granulata* avec un rendement de l'ordre de 1,6 %. L'extrait préparé a été soumis à un fractionnement sur colonne ouverte de silice suivi d'une analyse par CCM, ceci nous a permis de regrouper les fractions semblables et de choisir les fractions représentatives de l'extrait global à soumettre aux tests d'activités biologiques. Les tests d'activités antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et antioxydantes effectués sur les fractions sélectionnées suite à l'analyse par CCM nous ont permis de mettre en évidence les fractions actives (activité moyenne), notamment, les fractions 13, 14 et 16. Il faut souligner dans ce cadre la difficulté de mettre au point les conditions d'analyses optimales, notamment, en ce qui concerne le solvant permettant de solubiliser l'extrait et les fractions à analyser.

L'objectif du bioguidage est d'orienter l'analyse par chromatographie liquide haute performance (CLHP), cette dernière a été effectuée en mode gradient sur une colonne analytique. Sur la base des résultats obtenus dans les tests d'activités biologiques, nous avons soumis à l'analyse par CLHP, l'extrait brut et les principales fractions actives. Cette analyse nous a permis d'établir le profil chromatographique de l'extrait brut et des fractions analysées et de situer les fractions par rapport à l'extrait brut, l'analyse nous a également permis d'avoir un aperçu de la nature chimique des différentes fractions. Une étude du criblage chimique par bioguidage, bien réussie, devrait mener à l'identification des métabolites responsables de l'activité biologiques au sein de l'extrait brut.

Références bibliographique

- [1] Quezel, P. Santa, S., 1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In : CNRS (Ed.), Vol. 1-2. Paris.
- [2] Jassbi, A. R., 2006. Chemistry and biological activity of secondary metabolites in *Euphorbia* from Iran .Phytochemistry, 67, 1977–1984 Review.
- [3] Shi, Q. W., Su, X. H., Kiyota, H., 2008. Chemical and Pharmacological Research of the Plants in Genus *Euphorbia*. *Chemical Reviews.*, 108, 4295–4327.
- [4] Boudiar, T., Hichema, L., Khalfallaha, A., Kabouchea, A., Kabouche , Z., Brouard, I., Bermejo, J and Bruneau, C., 2010. A new alkaloid and flavonoids from the Aerial Parts of *Euphorbia guyoniana*. *Natural Product Communications.*, 5, 35 – 37.
- [5] Gledhill, D., 2008. the name of plants ,436P; 4ème edition .
- [6] Singla, A.K., Pathak, K., 1990. Phytoconstituents of *Euphorbia* species. *Fitoterapia.*, 61, 483–516.
- [7] Vlietink, K.J., 1987. In: Hostettmann, K., Lea, P.J. (Eds.), *Biologically Active Substances from Traditional Drug Biologically Active Natural Product*. Oxford Science Publications, Oxford.
- [8] Jain, S.K., 1996. *Medicinal Plants*, sixth ed. National Book Trust, New Delhi, India.
- [9] Bhatnagar, V.P., Anil, K., Srivastava, J.N., 2000. Wild medicinal herbs of Agra. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences.*, 22, 464–467.
- [10] Rezende, J.R., Rodrigues, S.B., Jabor, I.A.S., Pamphile, J.A., Rocha, C.L.M.S.C., 2004. Efeito antimutagênico do látex de *Euphorbia tirucalli* no sistema metionina em *Aspergillus nidulans*. *Acta Scientiarum Biological Sciences.*, 26, 481–484.
- [11] Hecker, E., 1968. Co-carcinogenic principles from seed oil of *Croton tiglium* and other Euphorbiaceae. *Cancer Research.*, 28, 2338–2349.
- [12] Ozenda, P., 1991. Flore et végétation du Sahara. In : CNRS (Ed.), Paris.
- [13] Webster, G.L. 1975. Conspectus of a new classification of the Euphorbiaceae. *Taxon.*, 24, 593-601.
- [14] Webster, G.L., 1987. The saga of the spurges : a review of classification and relationships in the Euphorbiales. *Botanical Journal of Linnean Society.*, 94, 3-44.
- [15] Webster, G.L., 1994. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 81, 33-144.

- [16] Radcliffe-Smith, A., 1987. Segregate families from the Euphorbiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society.*, 94, 47–66.
- [17] Corner, E. J. H., 1976. *The seeds of the dicotyledons*. 2 vols. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- [18] Meeuse, A. D. J., 1990. *The Euphorbiaceae auct. plur., un natural taxon*. Eburon, Delft, Netherlands;
- [19] Chase, M. W. D. E., Soltis, R. G., Olmstead, D., Morgan, D. H. B. D., Mishler, M. R., Duvall, R. A., Price, H. G., Hills, Y-L., Qiu, K. A., Kron, J. H., Rettig, E., Conti, J. D., Palmer, J. R., Manhart, K. J., Sytsma, H. J., Michaels, W. J., Kress, K. G., Karol, W. D., Clark, M., Hedrén, B. S., Gaut, R. K., Jansen, K.-J., Kim, C. F., Wimpee, J. F., Smith, G. R., Furnier, S. H., Strauss, Q. Y., Xiang, G. M., Plunkett, P. S., Soltis, S. M., Swensen, S. E., Williams, P. A., Gadek, C. J., Quinn, L. E., Eguiarte, E., Golenberg, G. H., Learn, J. S. W., Graham, S. C. H., Barret, S., Dayanandan, V. A., Albert, 1993. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Annals of the Missouri Botanical Garden.*, 80, 528-580
- [20] savolainen, chase, ., hoot, . b., morton, ., soltis, d. e., bayer, C., 2000. Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* gene sequences. *Syst. Biol.*, 306–362
- [21] Soltis, D. E., P. S., Soltis, M. W., Chase, M. E., Mort, D. C., Albach, M. Zanis, V., Savolainen., 2000. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society.*, 133, 381 – 461
- [22] Chase, M. W. S., Zmarzty, M. D., Lledó, K. J., Wurdack, S. M., Swensen, M. F., Fay., 2002. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid *rbcL* DNA sequences. *Kew Bulletin.*, 57, 141-181
- [23] Wurdack, K. J., 2002. *Molecular systematics and evolution of Euphorbiaceae sensu lato*. Ph.D., dissertation, University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina, USA
- [24] Soltis, D. E., A. E., Sinters, M. J., Zanis, S. Kim, J. D., Thompson, P. S., Soltis, L. P., Ronse De Craene., 2003. Gunnerales are sister to other core eudicots: Implications for the evolution of pentamery. *American Journal of Botany* ., 90 461 – 470

[25] Davis, C. C. M., W. Chase., 2004. Elatinaceae are sister to Malpighiaceae; Peridiscaceae belong to Saxifragales. *American Journal of Botany.*, 91, 262-273.

[26] Haba, H., 2008. Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes *Euphorbia guyoniana* Boiss et Reut. et *Euphorbia retusa* Forsk. Thèse de doctorat.

[27] Skrukud, C. L., 1987. Terpen biosynthesis in *Euphorbia*, Thèse de doctorat, Université de Californie.

[28] Lirio, L.G., Hermano, M.L., Fontanilla, M.Q., 1998. Antibacterial activity of medicinal plants from the Philippines. *Pharmaceutical Biology* .,36, 357–359.

[29] Betancur-Galvis, L.A., Morales, G.E., Forero, J.E., Roldan, J., 2002. Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of the *Euphorbia* genus. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.*, 97, 541–546.

[30] Rezende, J.R., Rodrigues, S.B., Jabor, I.A.S., Pamphile, J.A., Rocha, C.L.M.S.C., 2004. Efeito antimutagênico do látex de *Euphorbia tirucalli* no sistema metionina em *Aspergillus nidulans*. *Acta Scientiarum Biological Sciences.*, 26, 481–484.

[31] Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Ed. (3). Techniques et documentation, Paris.

[32] Hecker, H., 1971. In: Wagner, H., Hornhammer, L. (Eds.), *Pharmacognosy and Phytochemistry*. Springer Verlag, Berlin., pp. 147–165.

[33] Jiangsu New Medical College.,1986. *Dictionary of Chinese Herb Medicines* [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technologic Press, 1898-1900.

[34] Uemura. B., Katayama. C., Luno. E., Sasaki. K., Hirata. Y; Analgesic and anticancer activities of macrocyclic diterpenoids from *Euphorbia* sp; *Tetrahedron Lett.* 1975, 1703-1706

[35] Han, G., Gu L, Wang L, Yin J., 2001. The general study on the Chinese traditional medicine *Euphorbia humifusa* Willd. *pharm Pract.*, 19(4), 308–11.

[36] Baumann H .,1993*The Greek plant world*. Portland, Oregon: Timber Press P122.

[37] Moussaoui, A.E., Nijs, M., Paul, C., Wintjens, R., Vincentelli, J., Azarkan, M., Looze, Y., 2001. Revisiting the enzymes stored in the laticifers of *Carica papaya* in the context of their possible participation in the plant defence mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences.*, 58, 556–570.

[38] Hasma, H., Subramanian, A., 1986. Composition of lipids in the latex of *Hevea brasiliensis* clone RRIM 501. *Journal of Natural Rubber Research.*, 1, 30–40.

[39] Lynn, K.R., Clevatte-Radford, N.A., 1987. Biochemical properties of latices from the Euphorbiaceae. *Phytochemistry* 26, 939–944.

- [40] Kondo, K. and Sugi, M., 1977 .Cancer Therapy in Modern China, Shi Zen Sha, Tokyo, Japan, p.254.
- [41] Wang, Q.; Yu, B. Y.; Pan, M. G., 1997. Coloured Illustrations of Antitumour Chinese Traditional and Herbal Drugs; Fujian Science and Technology Press: Fujian, p 218.
- [42] Chung, K. Y.D., 1985. Chinese Pharmacopoeia, People's Health Press, Beijing, p. 68.
- [43] Chung, Y.D.T.D ., 1977. Dictionary of Chinese Drugs. Shanghai Science and Technology Press, Shanghai, 1, p. 573.
- [44] Bellakhdar, J., 1997. Traditionelle Me'decine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires. Editions Le Fennec et Ibis Press, Casablanca, Paris, France
- [45] Hammiche, V., Maiza, k ., 2006. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. Journal of Ethnopharmacology., 105, 358–367.
- [46] Al-Shanwani, M., 1996. Plants used in Saudi folk medicine. Riyadh: King Abdul Aziz City for Science and Technology,.
- [47] Ahmad, I., Khan A. , Chaudhary, B. A., Janbaz, K . H., Uzair, M ., Akhtar, M ., and Gilani, A., 2012. Antifungal and antispasmodic activities of the extracts of *Euphorbia granulata*., Journal of Medicinal Plants Research . 6(1), pp. 19-23, ,
- [48] Hussein, G., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattoori, M., Otake ,T., Kakiuchi, N., Shimotohno, K., (1999). Inhibitory effects of Sudanese plant extracts on HIV-1 replication and HIV-1 protease. Phytother. Res., 13: 31-36.
- [49] Reynaud, J., 2002. La flore du pharmacien. Technique et documentation, Paris.
- [50] Bruneton , J., 2005, plantes toxiques végétaux dangereux pour l'Homme et les Animaux ,3^{ème} édition , p292.
- [51] Urones, J. G., Barcala, P. B., Cuadrado, M. J. S., Marcos, I. S., 1988, *Phytochemistry*, 27, 207-212
- [52] Mbwambo, Z. H.; Lee, S. K.; Mshiu, E. N.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D. *J. Nat. Prod.* 1996, 59, 1051-1055.
- [53] Oksu z, S.; Ulubelen, A.; Barla, A.; Kohlbau, H. J.; Voelter, W. *Planta Med.* 1999, 65, 475-477.
- [54] Vogg, G.; Mattes, E.; Rothenburger, J.; Hertkorn, N.; Achatz, S.; Sandermann, H. J. *Phytochemistry* 1999, 51, 289-295.

- [55] Adolf, W., Sorg, B., Hergenbahn, M., Hecker, E. *J. Nat. Prod.* 1982, 45, 347-354.
- [56] Brooks, G., et Evans, F.J., 1990. Toxic Hazards of plants from Families Euphorbiaceae and Thymelaeaceae, in « Poisonous Plant Contamination of Edible Plants », (Abdel-Fattah M. Rizk, éd.), p. 27-63, CR Press, Boca Raton.
- [57] Botteral, F., Brun, S., et Bourée, P., 2000. Dermite du mancenillier, press Méd, 29, 81
- [58] Philogène BJR, Arnason JT., 1990. Effets des substances secondaires des plantes sur les parasitoïdes. (Sous presse)
- [59] Zahid, M., Husani, S.R., Abbas, M., Pan, Y., Jassbi, A.R., Asim, M., Parvez, M., Voelter, W., Ahmad, V.U., 2001. Eight new diterpenoids from *Euphorbia decipiens*. *Helv. Chim. Acta* 84, 1980–1988.
- [60] Ahmad, V.U., Hussain, H., Jassbi, A.R., Zahid, M., Hussain, J., Bukhari, I.A., Yasin, A., Choudhary, M.I., 2002(a). Three new diterpenoids from *Euphorbia decipiens*. *Pol. J. Chem.* 76, 1699–1706.
- [61] Ahmad, V.U., Jassbi, A.R., Parvez, M., 1998. Three new diterpene esters from *Euphorbia decipiens*. *Tetrahedron* 54, 1573–1584.
- [62] Ahmad, V.U., Hussain, H., Hussain, J., Jassbi, A.R., Bukhari, I.A., Yasin, A., Choudhary, M.I., Dar, A., 2002(b). New bioactive diterpenoids from *Euphorbia decipiens*. *Z. Naturforsch.* 57, 1066–1071.
- [63] Ahmad, V.U., Hussain, Hussain, J., Jassbi, A.R., Ullah, F., Lodhi, M.A., Yasin, Choudhary, M.I., 2003a. First natural urease inhibitor from *Euphorbia decipiens*. *Chem. Pharm. Bull.* 51, 719–723.
- [64] Viquar-Udin, A., Jassbi, A.R., 1998. Three tricyclic diterpenoids from *Euphorbia decipiens*. *Planta Med.* 64, 732–735.
- [65] Oksu z, S., Gu" rek, F., Gil, R.R., Pengsuparp, T., Pezzuto, J.M., Cordell, G.A., 1995. Four diterpene esters from *Euphorbia myrsinites*. *Phytochemistry* 38, 1457–1462
- [66] Viquar-Udin, A., Hussain, H., Jassbi, A.R., Hussain, J., Bukhari, I.A., Yasin, Aziz, N., Choudhary, M.I., 2003b. New bioactive diterpènes polyesters from *Euphorbia decipiens*. *Nat. Prod.* 66, 1221–1224.
- [67] Abbas, M., Jassbi, A.R., Zahid, M., Ali, Z., Alam, N., Akhtar, F., Choudhary, M.I., Ahamad, V.U., 2000. Three new diterpenoids from *Euphorbia cheiradenia*. *Helv. Chim. Acta* 83, 2751–2755.

- [68] Xu, J., Da-qing, J., Guo, Y., Xie, C., Yonggang, M., Tohru, Y., Yasushi, O., 2012. New myrsinol diterpenes from *Euphorbia prolifera* and their inhibitory activities on LPS-induced NO production. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 22, 3612–3618.
- [69] Viqar-Udin, A., Jassbi, A.R., 1999. New diterpenoids from *Euphorbia teheranica*. *J. Nat. Prod.* 62, 1016–1018.
- [70] Viqar-Udin, A., Jassbi, A.R., 1998b. Two pentacyclic diterpene esters from *Euphorbia decipiens*. *Phytochemistry* 48, 1217–1220.
- [71] Shokoohinia, Y., Sajjadi, S., Zolfaghari, B., Chianese, G., Giovanni, A., Taglialatela-Scafati, O. 2010. Diterpenoid (poly) esters and a ring A-seco-phorboid from the aerial parts of *Euphorbia macroclada* Boiss. *Fitoterapia*; 81, 884–890.
- [72] Hohmann, J., Vasas, A., Günther, G., Máthé, I., Evanics, F., Dombi, G., and Jerkovich, G., 1997. Macrocyclic Diterpene Polyesters of the Jatrophone Type from *Euphorbia esula*. *J. Nat. Prod.* 60, 331-335.
- [73] Gunther, G., Hohmann, J., Vasas, A., Máthé, I., Gyrgy Dombi and Gyula Jerkovich., 1998. jatrophone diterpenoids from *Euphorbia esula*. *Phytochemistry* 47, 1309-1313.
- [74] Jakupovic, J., Morgenstern, M. Bittner., Silva, M., 1998. diterpenes from *Euphorbia peplus*. *Phytochemistry.*, 47, 1601-1609.
- [75] Hohmann, J., Vasas, A., Günther, G., Dombi, G., Blazsó, G., Falkay, G., Máthé, I., Jerkovich, G., 1999. Jatrophone diterpenoids from *Euphorbia peplus*. *Phytochemistry.*, 51, 673-677.
- [76] Li Gen, L., Ren Xiang, T., 2001. New Jatrophone Diterpenoid Esters from *Euphorbia turczaninowii*. *J. Nat. Prod.*, 64, 1064-1068.
- [77] Alberto Marco, J., Sanz-Cervera, J.f., Yuste, A., Jakupovic, J., Jeske, F., 1998. jatrophone derivatives and a rearranged jatrophone from *Euphorbia terracina*; *Phytochemistry.*, 47, 1621-1630.
- [78] Hohmann, J., Re' dei, D., Forgo, P., Molnár, J., Dombi, G., Zorig, T., 2003. Jatrophone diterpenoids from *Euphorbia mongolica* as modulators of the multidrug resistance of L5128 mouse lymphoma cells. *J. Nat. Prod.* 66, 976–979.

- [79] Margarida, A., Ferreira, V.D., Carvalho, Luis, H.M., João, M., Carvalhoa, M., Sequeira, M, Silvac, A.M.S., 2002. Jatrophone and lathyrane diterpenoids from *Euphorbia hyberna* L. *Phytochemistry.*, 61, 373–377.
- [80] Gen Liu, L., Xiang Tan, R., 2001. New Jatrophone Diterpenoid Esters from *Euphorbia turczaninowii*. *J. Nat. Prod.*, 64, 1064-1068 .
- [81] Gunther, G, Hohmann, J., Vasas, A, Mathé, I., Dombi, G., Jerkovic, G., 1998. jatrophone diterpenoids from *Euphorbia esula*. *Phytochemistry* 47,1309 -1313 .
- [82] Hohmann, J., Vasas ,A., Gunther, G., Ma'the',I., Evanics, F., Dombi, G., Jerkovic, G ., 1997. Macrocyclic Diterpene Polyesters of the Jatrophone Type from *E uphorbia esula* .*J. Nat. Prod* 60, 331-335.
- [83] Hohmann, J., Evanics, F., Dombi, G., Molna'Arc, J., Szabo'Á, P., 2001. Euphosalicin A new diterpene polyester with multidrug resistance reversing activity from *Euphorbia salicifolia*. *Tetrahedron.*, 57, 211-215.
- [84] Qin, P., Fanny, C. F., Nancy, Y., Hua-Xu Zhu., Zhi-Da Min., 2004. Activity of Macrocyclic Jatrophone Diterpenes from *Euphorbia kansui* in a TrkA Fibroblast Survival Assay . *J. Nat. Prod.*, 67, 1548-1551.
- [85] Wang, L-Y., Wang, N-L., Yao, X-S., Miyata, S., Kitanaka, S., 2002. Diterpenes from the Roots of *Euphorbia kansui* and Their in Vitro Effects on the Cell Division of *Xenopus*. *J. Nat. Prod.*, 65, 1246-1251.
- [86] Hohmann, J., Molna'r, J., Re'dei, D., Evanics, F., Forgo, P., Ka'lma'n, A., Argay, G., Szabo, P., 2002. Discovery and biological evaluation of a new family of potent modulators of multidrug resistance: reversal of MDR of mouse lymphoma cells by new natural jatrophone diterpenoids isolated from *Euphorbia* species. *J. Med. Chem.* 45, 2425–2431.
- [87] Marco, J. A, Sanz-Cervera, J. F., Yuste, A, Jakupovic, J., Lex, J ., 1996. Terracinolides A and B, Two Bishomoditerpene Lactones with a Novel Carbon Framework from *Euphorbia terracina*. *J. Org. Chem* 61, 1707-1709.
- [88] Jakupovic, J., Morgenstern, J.T., Tslchritzis, F., Marco, J. A., Berendsohn, w., 1998. diterpenes from *Euphorbia segetalis*. *Phytochemistry.*, 47, 1583 -1600.

- [89] Corea, G., Fattorusso, E., Lanzotti, V., Tagliatalata - Scafati, O., Appendino, G., Ballero, M., Simon, P-N., Dumontetf, C., Di Pietrog., A., 2003. Modified Jatrophone Diterpenes as Modulators of Multidrug Resistance from *Euphorbia Dendroides*. *L. Bioorganic & Medicinal Chemistry.*, 11, 5221–5222.
- [90] Marco, J. A., Sanz-Cervera, J.F., Yuste, A., Jakupovic, J., 1999. Isoterracinolides A and B, Novel Bishomoditerpene Lactones from *Euphorbia Terracina*. *J. Nat. Prod* 62, 110-113.
- [91] Hohmann, J., Evanics, F., Dombi, G., Szabo, P., 2001. Salicifoline and salicinolide, new diterpene polyesters from *Euphorbia salicifolia*. *Tetrahedron Letters* 42, 6581–6584.
- [92] Marco, J. A., sanz-cervera, J. F, Yuste, A, jakupovic. J., Jeske, F., 1998. jatrophone derivatives and a rearranged jatrophone from *Euphorbia terracina*; *Phytochemistry* 47, 1621-1630.
- [93] Redei, D., Forgo, P., Molnar, J., Szabo, P., Zorig, T., Hohmann, J., 2012. Jatrophone diterpenoids with multidrug resistance-modulating activity from *Euphorbia mongolica* Prokh. *Tetrahedron* 68, 8403-8407.
- [94] Valente, I., Reis, M., Duarte, N., Serly, J., Molnár, J., Ferreira, M-J., 2012. Jatrophone Diterpenes from *Euphorbia mellifera* and Their Activity as P-Glycoprotein Modulators on Multidrug-Resistant Mouse Lymphoma and Human Colon Adenocarcinoma Cells; *J. Nat. Prod* ; in Press .
- [95] Marco, J.A., Sanz-Cervera, J., Roperó, J., Checa, J., Fraga, M., 1998. ingenane and lathyrane diterpenes from the latex of *Euphorbia acruensis* ; *Phytochemistry.*, 49, 1095-1099.
- [96] Qasim, k., Abdwlm, A., 1990; a new macrocyclic diterpene ester from the latex of *Euphorbia tirucalli* ., *J.Nat.Prod*, 53, 728-731,
- [97] Ravikantha, V., Niranjan Reddy, V.L., Prabhakar Rao, T., Diwanb, P.V., Ramakrishna, S., Venkateswarlu, Y., 2002. Macrocyclic diterpenes from *Euphorbia nivulia*. *Phytochemistry*, 59, 331–335.
- [98] Fatope, M. O., Lu, Z., Joseph. E., Ohayagha, J.L., 1996. McLaughlin; New 19-Acetoxyingol Diterpenes from the Latex of *Euphorbia poisonii* (Euphorbiaceae); *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 4, 1679-1683.
- [99] Daoubi, M., Nieves, M, Mazoir, N., Benharref, A., Hernández-Galán, R., Muñoz, E., Isidro, Collado, G., 2007., Isolation of new phenylacetyl ingol derivatives that reactivate

HIV-1 latency and a novel spirotriterpenoid from *Euphorbia officinarum* latex ; Bioorganic et Medicinal Chemistry 15 . 4577–4584.

[100] Xiao-Li, L., Yang, L., Si-Feng, W., Yan-Li, Z., Ke-Chun, L., Xi-Min, W., and Yong-Ping, Y., 2009. Ingot and Ingentol Diterpenes from the Aerial Parts of *Euphorbia royleana* and Their Antiangiogenic Activities ; *J. Nat. Prod.*, 72, 1001–1005

[101] Morgenstern, T., bittner, M., Silva, M., Jakupovic, J., 1996. diterpenes and phloracetophenones from *Euphorbia portulacoides* ; phytochemistry, 41,1149-1153,

[102] Margarida, A., Ferreira, V.D., Carvalho, Luí's, H.M., João, M., Carvalhoa, M., Sequeira, M, Silvac, A.M.S., 2002. Jatrophone and lathyrane diterpenoids from *Euphorbia hyberna* L. Phytochemistry., 61 . 373–377

[103] Vasas, A., Hohmann J., Forgob, P., and Pa'l Szabo', 2004. New tri- and tetracyclic diterpenes from *Euphorbia villosa*. Tetrahedron., 60, 5025–5030

[104] Hohmann, J., Evanics ,F., Vasas. A., Dombi, G, Jerkovich. G., Ma'thé, I., 1999, Novel Lathyrane Diterpenoid from the Roots of *Euphorbia lathyris*. Nat. Prod., 62, 176-178

[105] Appendino, G., Belloro, E., Gian, C., Tron, G.C., Jakupovic, J., Mauro, B., 1999., Diterpenoids from *Euphorbia pithyusa* subsp. Cupanii ; *J. Nat. Prod.*, 62, 1399-1404

[106] Liao, S-G., Zhan, Z.J., Yang, S.P., Yue, J.M., 2005 . Lathyranoic Acid A: First Secolathyrane Diterpenoid in Nature from *Euphorbia Lathyris* ; *Organic Letters*, 7, 1379-1382

[107] Gao, S., Liu, H.Y., Wang, Y.H., He, H.P., Wang, J.S., Di, Y.T., Li, C.S., Fang, X., and Hao., X.J. 2007. Lathyrane A: A Diterpenoid Possessing an Unprecedented Skeleton from *Euphorbia lathyris*. *Organic letters*, 9, 3453-3455.

[108] Xu, J., Da-qing, J., Song, H., Guo,Y., He., Y., 2012. Lathyrane diterpenes from *Euphorbia prolifera* and their inhibitory activities on LPS-induced NO production., *Fitoterapia*, 83, 1205–1209

[109] Schmidt, R. J., Evans, J. F., 1976. Two New Toxins from the Latex of *Euphorbia poisonii*. *Phytochemistry*, 15, 333-335.

[110] Appendino, G., Jakupovic, S., Tron, G. C., Jakupovic, J., Milon, V., Mauro, B., 1998. Macrocyclic Diterpenoids from *Euphorbia semiperfoliata*., *J. Nat. Prod.*, 61, 749-756



[111] Marco, J. A., sanz-cervera, J., Checa, J, Palomaresa, E., Fragab, M., 1999. jatrophone and tiglane diterpenes from the latex of *Euphorbia obtusifolia.*, phytochemistry, 52, 479-485

[112] Haba, H ., Lavaud, C., Marcourt. L., Long, C., Harkat, H., Benkhaled, M., 2007. Entabietane diterpenoids from *Euphorbia guyoniana*; phytochemistry. 68, 1255–1260.

[113] Yu-Bo. W., Rong ,H ., Hong-Bing, W ., Hui-Zi, J. , Li-Guang, L. 2006, and guo-wei qin ; diterpenoids from the roots of *euphorbia fischeriana* ; j. nat. prod., 69, 967-970

[114] Schmidt, R. J.; Evans, J. F., 1977. The Succulent Euphorbias of Nigeria. II. Aliphatic Diterpene Esters of the Latices of *E. poisonii* Pax. and *E. unispina* N. E. Br. Lloydia, 40, 225-229.

[115] Fatope MO, Zeng L, Ohayaga JE, Shi G, McLaughlin JL., 1996 .Selectively cytotoxic diterpenes from *Euphorbia poisonii.*, J.Med. Chem,39,1005–1008.

[116] Baloch, B., Kaleem, M., Qazi, N.S., 2008. anti-tumor 12-deoxyphorbol esters from *Euphorbia cornigera* ; european journal of medicinal chemistry .,43, 274-281

[117] Marco, J.A., SanzCervera, J.F., Yuste, A., 1997. Ingenane and lathyrane diterpenes from the latex of *Euphorbia canariensis.* Phytochemistry 45, 563–570.

[118] Lin, L. J., Kinghorn, D., 1983. Three New Ingenane Derivatives from the Latex of *Euphorbia canariensis* L. J. Agric. Food Chem, 31, 396-400.

[119] Wang, L.Y., Wang, N.L., Yao, X.S., Miyata, S., Kitanaka, S., 2003. Diterpenes from the roots of *Euphorbia kansui* and their in vitro effects on the cell division of *Xenopus* (2). Chem. Pharm. Bull. 51, 935–941.

[120] Abdelgaleil, S., Kassema. S ., Doeb .M., Babac .M ., Nakatanid M., 2001. diterpenoids from *euphorbia paralias.*, phytochemistry 58 , 1135–1139.

[121] Madureira, A.M., Gyémánt, N., Ascenso, J.R., Abreu, P. M., Molnár, J., Ferreira, M.J.U., 2006. Euphoportlandols a and tetracyclic diterpene polyesters from *euphorbia portlandica* and their anti-mdr effects in cancer cells., Nat. Prod., 69, 950-953.

[122] Hohmann. J ., Nther. G. , Vasas .A ., Ka`Lma. A . 1999, and gyula argay isolation and structure revision of pepluane diterpenoids from *Euphorbia peplus.*, Nat. Prod., 62, 107-109.

[123] Shi. J ., Jia. Z.,1995. Diterpenoids from *Euphorbia micractina.*; Phytochemistry. 38, 1445- 1447.

[124] Li-Yan .W., Nai-Li .W., Xin Sheng .Y., Syohei .M., Susumu, K., 2003. Euphane and tirucallane triterpenes from the roots of *Euphorbia kansui* and their in vitro effects on the cell division of xenopus., Nat. Prod., 66, 630- 633.

[125] Akihisa, T., Wijeratne, E.M.K., Tokuda, H., Enjo, F., Toriumi, M., Kimura, Y., Koike, K., Nikaido, T., Tezuka, Y., Nishino, H., 2002. Eupha-7, 9(11), 24-trien-3b-ol (Antiquol C) and other triterpenes from *Euphorbia antiquorum* latex and their inhibitory effects on Epstein–Barr virus activation. J Nat Prod, 65:158–62.

[126] Shi, Y.P., Jia, Z.J., Jamilj, L., Sadiq, S., 1995. Pentacyclic Diterpene Esters From *Euphorbia Aleppica*. Phytochemistry, 40, 1219-1221.

[127] Reiko, T., Kazuaki. K. , Shunji. K. , Harukuni. T., Hoyoku Nishino, And Shunyo .M., 2000. bioactive steroids from the whole herb of *Euphorbia chamaesyce.*, J. Nat. Prod., 63, 99-103.

[128] Ferreira, M.J.U., Ascenso, J.R., 1999. Steroids and a tetracyclic diterpene from *Euphorbia boetica*. Phytochemistry. 51, 439-444

[129] Zakaria, H. M., Lee, S. K., Elimweka, N. M., Pezzuto, M. J., A. Douglas Kinghorn.,1996. Constituents from the Stem Wood of *Euphorbia quinquecostata* with Phorbol Dibutyrate Receptor-Binding Inhibitory Activity. J. Nat. Prod., 59, 1051-1055

[130] Wang, W.X., Ding, X.B., 1999. Acetophenone derivatives from *Euphorbia ebracteolata* hayata .Acta Pharm Sin, 34, 514-517.

[131] Xin, L., Wencai, Y., Biao, Y., Shouxun, Z., Houming, W., Chuntao, C., 2004. Two new flavonol glycosides from *gymnema sylvestre* and *Euphorbia ebracteolata*; carbohydrate research., 339, 891–895.

[132] Nishimura, H., Wang, L.Y., Kusano, K., Kitanaka, S., 2005. Flavonoids That Mimic Human Ligands from the Whole Plants of *Euphorbia lunulata*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 53, 305-308.

[133] Natarajan, D., Britto, S.J., Srinivasan, K., Nagamurugan, N., Mohanasundari, C., Perumal, G., 2005. Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis* - a rare medicinal herb. J. Ethnopharmacol., 102: 123-126.

- [134] Sudhakar, M., Rao, C.V., Rao, P.M., Raju, D.B., Venkateswarlu, Y., (2006): Antimicrobial activity of *Caesalpinia pulcherrima*, *Euphorbia hirta* and *Asystasia gangeticum*. *Fitoterapia*, 77: 378–380.
- [135] Viqar Uddin, A., Hidayat, H., Ishfaq, A. B., Javid, H., Jassbi, A. R., Ahsana, D., 2005. Antinociceptive diterpene from *Euphorbia decipiens*. *Fitoterapia* 76, 230–232
- [136] Bani, S., Kaul, A., Jaggi, B.S., Suri, O.P., Sharma, O.P., 2000. Anti-inflammatory activity of the hydrosoluble fraction of *Euphorbia royleana* latex. *Fitoterapia*, 71: 655-662.
- [137] Sudhakar, M., Rao, C.V., Rao, P.M., Raju, D.B., Venkateswarlu, Y., 2006. Antimicrobial activity of *Caesalpinia pulcherrima*, *Euphorbia hirta* and *Asystasia gangeticum*. *Fitoterapia*, 77, 378–380.
- [138] Nasir, E. Ali, S. I., 1986. *Flora of Pakistan*. Shamim Printing Press Karachi, Pakistan, 88, 99, 101.
- [139] LABO: Guide pratique du laboratoire de chimie”, 4/ Méthode d’analyse, Edition Delta & Spes S.A., CH-1026 Denges, (1984), 548 p
- [140] “The United States Pharmacopoeia XXIII”, Rockville, MD, US Pharmacopoeial Convention, (2002), 2311 p.
- [141] Marcel, C. et al, chimie organique expérimentale, 295-304
- [142] Iennette, E.H., 1985. Manual of Clinical Microbiology, fourth ed. American Association for Microbiology, Washington, DC, pp. 978–987.
- [143] Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W. 1962. Carragenin-induced oedema in hind paw of therat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc.Soc. exp. Biol. Med.*, 111, 544-547.
- [144] Jadot, G., 1994. Antioxydants et Vieillesse ; Ed: John Libbey Eurotext Paris ; p: 33-36.
- [145] Oktay, M., Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö. İ. 2003. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Lebensm.-Wiss. U.Technol*, 36, 263-271
- [146] Y. R. Naves. 1990. Technologie et chimie des parfums naturels - Essences concrètes, résinoides, huiles et pommades aux fleurs, Ed. Masson, , Paris, France.
- [147] Z.-Q. Lu et al., 2008. Ingenane diterpenoids from *Euphorbia esula*,..*Phytochemistry*, 69, 812–819

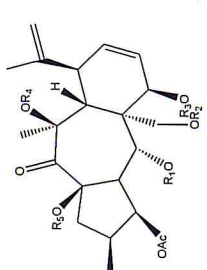
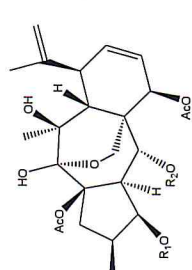
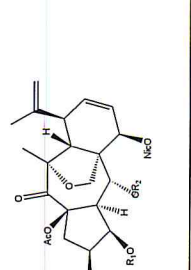
[148] V. Ravikantha et *al.*, 2002. Macrocyclic diterpenes from *Euphorbia nivulia*.
Phytochemistry, 59, 331–335,



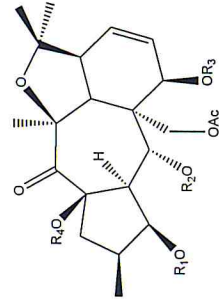
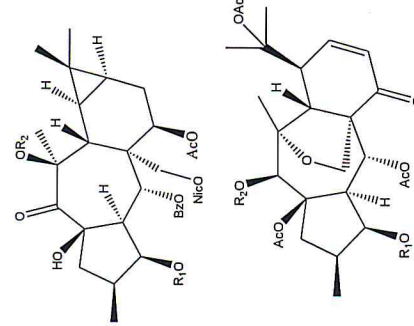
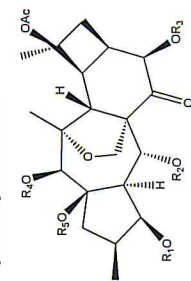
Annexes

Annexe 01

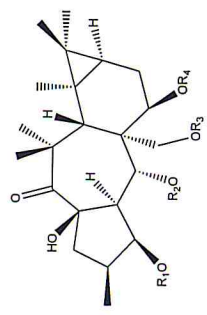
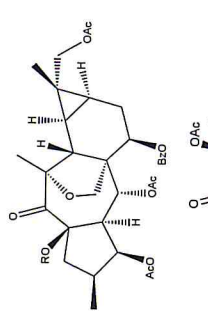
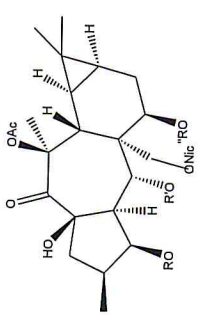
Tableau 1 : Tableau des métabolites secondaires isolés de quelque espèce du genre *Euphorbia*.

Espèces	Structure chimique	Numéro et nom chimique	Radical R1 R2 R3 R4	réf
<i>E. decipiens</i>	<p>Diterpènes de type myrsinanes</p> 	(1) 13-deacetylisodecypidone	Bu H Ac H Ac	[59]
		(2) 13-deacetylisodecypinone	Bz H Ac H Ac	[59]
		(3) Isodecypidone	Bu H Ac Ac Ac	[59]
		(4) 17-acetoxy-13 deacetyldecipinone	Bz Ac Ac H Ac	[60]
		(5) 13-deacetyldecipinone	Bz Ac Ac H H	[60]
		(6) 13-deacetyldecipidone	Bu Ac Ac H H	[60]
		(7) Decipinone	Bz Ac Ac Ac H	[61,62]
		(8) Decipidone	Bu Ac Ac Ac H	[61]
		(9) Isodecypinone	Bz H Ac Ac Ac	[61]
		(10) 17-acetoxy-13 deacetylisodecypidone	Bu Ac Ac H Ac	[62]
<i>E. decipiens</i>	<p>Myrsinane 2</p> 	(11) 3β,7β,15β-tri- <i>O</i> -acetyl-5α- <i>O</i> -nicotinoyl-13β,14β-dihydroxy-14-desoxo-14α,6α-epoxymethanomyrsinol	R1 R2 Ac Nic	[63]
		(12) decipinol ester A	Bu Nic	[59]
		(13) decipinone B	Ac Bz	[64]
		(14) decipinone C	Ac Bu	[64]
		(15) 3β,7β,15β-tri- <i>O</i> -acetyl-5α- <i>O</i> -benzoyl-13β,14β-dihydroxy-14-desoxo-14α,6α-epoxymethanomyrsinol	Bu Bz	[64]
<i>E. myrsinites</i>	<p>Myrsinane 3</p> 	(16) 15β- <i>O</i> -acetyl-3β- <i>O</i> -butanoyl-7β- <i>O</i> -nicotinoyl-5α- <i>O</i> -propanoylmyrsinol	R1 R2	[65]
		(17) 15β- <i>O</i> -acetyl-3β, 5α-di- <i>O</i> -butanoyl-7β- <i>O</i> -nicotinoylmyrsinol	Bu Pr	[65]
		(18) 15β- <i>O</i> -acetyl-7β- <i>O</i> -nicotinoyl-3β,5α-di- <i>O</i> -propanoylmyrsinol	Bu Bu	[65]
		(19) 15β- <i>O</i> -acetyl-5α- <i>O</i> -butanoyl-7β- <i>O</i> -nicotinoyl-3β- <i>O</i> -propanoylmyrsinol	Pr Bu	[65]

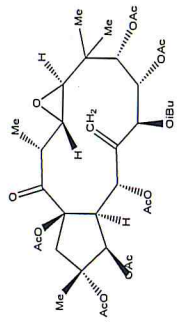
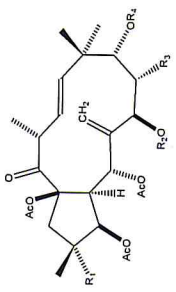
Annexes

<p><i>E. decipiens</i></p> <p><i>E. cheiradenia</i></p>	<p>Myrsinane 4</p> 	<p>(20) 3β-O-benzoyl-5α, 7β, 17-tri-O-acetyl-15β-hydroxycheiradone</p> <p>(21) 3β, 5α, 17-tri-O-acetyl-7β-O-benzoyl-15β-hydroxycheiradone</p> <p>(22) 3β, 5α, 15β, 17-tetra-O-acetyl-7β-O-benzoylcheiradone</p> <p>(23) 3β, 5α, 15β, 17-tetra-O-acetyl-7β-O-nicotinoylcheiradone</p> <p>(24) 15β-O-acetylcheiradone</p> <p>(25) cheiradone</p> <p>(26) Cheiradone A</p> <p>(27) cheiradone B</p>	<p>R1 R2 R3 R4</p> <p>Bz Ac Ac H [63]</p> <p>Ac Ac Bz H [66]</p> <p>Ac Ac Bz Ac [66]</p> <p>Ac Ac Nic Ac [66]</p> <p>Ac Bz Ac Ac [59]</p> <p>Ac Bz Ac H [67]</p> <p>Ac Bz H H [67]</p> <p>H Bz Ac H [67]</p>
<p><i>E. prolifera</i></p>	<p>Myrsinol</p> 	<p>(28) Euphorbialoids A</p> <p>(29) Euphorbialoids B</p> <p>(30) Euphorbialoids C</p> <p>(31) Euphorbialoids D</p> <p>(32) Euphorbialoids E</p> <p>(33) Euphorbialoids F</p>	<p>R1 R2</p> <p>Prop H [68]</p> <p>Ac H</p> <p>Prop Ac</p> <p>Bu Ac</p> <p>Nic Ac</p> <p>Prop Nic</p>
<p><i>E. teheranica</i></p>	<p>Cyclomyrsinanes</p> 	<p>(34) 3β, 5α, 10β, 14β, 15β-penta-O-acetyl-8β-O-(2-methylbutanoyl)cyclomyrsinol</p> <p>(35) 5α, 10β, 14β, 15β-tetra-O-acetyl-8β-O-(2-methylbutanoyl)-3β-O-nicotinoylcyclomyrsinol</p>	<p>R1 R2 R3 R4 R5</p> <p>Ac Ac MeB Ac Ac [69]</p> <p>Nic Ac MeB Ac Ac</p> <p style="text-align: center;">u</p> <p style="text-align: center;">u</p>

Annexes

<p><i>E. decipiens</i></p>	<p>Premyrsinanes-1</p> 	<p>(36) kandovanol ester A (37) karajinone ester B</p>	<p>R1 R2 R3 R4 R5 R6 Ac Bz Ac Ac Ac Me Ac Bu Ac Ac Ac Me OH</p>
<p><i>E. decipiens</i></p>	<p>Premyrsinanes -2</p> 	<p>(38) karajinone A (39) karajinone B</p>	<p>R Ac H</p>
<p><i>E. macroclada</i> Boiss</p>		<p>(40-43) pre-myrsinanes polyester</p>	<p>R1 R2 R3 CH3CH2CH2C H H O C3H5O H CH3CH2CO Ac CH3CH2CH2C Ac O</p>

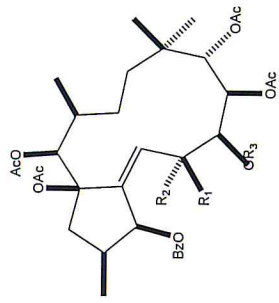
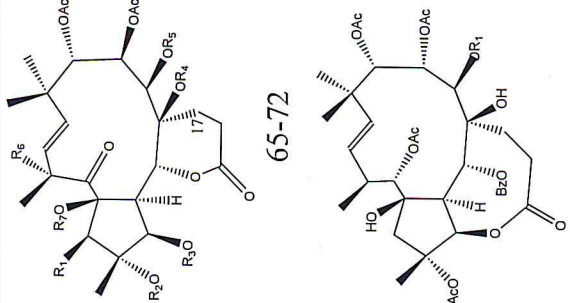
Annexes

<p><i>E. esula</i></p>	<p>Jatrophone 1</p> 	<p>(44) Esulatin A</p> <p>(45) Esulatin B</p> <p>(46) Esulatin C</p>	<p>[72]</p>
<p><i>E. esula</i></p> <p><i>E. pepilus</i></p> <p><i>E. pepilus</i></p>	<p>Jatrophone 3</p> 	<p>(47) Esulatin D</p> <p>(48) (2<i>R</i>*,3<i>R</i>*,4<i>S</i>*,5<i>R</i>*,7<i>R</i>*,9<i>R</i>*,13<i>R</i>*,15<i>R</i>*,2,3,5,7,15-pentaacetoxy-9-nicotinoyloxyjatropha-6(17),11<i>E</i>-dien-14-one</p> <p>(49) 3<i>β</i>,5<i>α</i>,7<i>β</i>,15<i>β</i>-tetraacetoxy-9-nicotinoyloxyjatropha-6(17),11<i>E</i>-dien-14-one</p>	<p>R1 R2 R3 R4</p> <p>OAc Ac H Ac</p> <p>OAc Ac H Nic</p> <p>H Ac H Nic</p> <p>[73]</p> <p>[74]</p> <p>[75]</p>

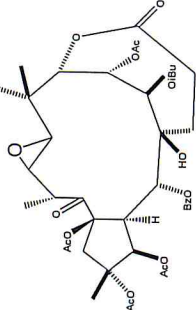
Annexes

	Jatrophane 4		R1	R2	R3	R4	R5	
<i>E. turczani- Novii</i>		(50) 3 β ,5 α ,7 β ,8 α ,15 β -pentaacetoxyljatropha-6(17),11 <i>E</i> -diene-9,14-Dione	Me	H	Ac	OAc	Ac	[76]
<i>E. terracina</i>		(51) (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,11 <i>E</i> ,13 <i>S</i> ,15 <i>R</i>)-3,5,8,15-tetraacetoxy-7-isobutyryloxyjatropha-6(17),11-diene-9,14-dione	Me	H	Ac	O <i>i</i> Bu	Ac	[77]
<i>E. mongolica</i>		(52) (2 <i>S</i> *,3 <i>S</i> *,4 <i>R</i> *,5 <i>R</i> *,7 <i>S</i> *,8 <i>R</i> *,13 <i>S</i> *,15 <i>R</i> *,5,7,8-triacetoxy-3-benzoyloxy-15-hydroxyjatropha-6(17),11 <i>E</i> -diene-9,14-dione	Me	H	Bz	OAc	H	[78]
<i>E. hyberna</i>		(53) (2 <i>S</i> *,3 <i>S</i> *,4 <i>R</i> *,5 <i>R</i> *,8 <i>R</i> *,13 <i>S</i> *,15 <i>R</i> *,5,8,15-triacetoxy-3-benzoyloxyjatropha-6(17),11 <i>E</i> -diene-9,14-dione	H	M	Bz	H	Ac	[79]
<i>E. turczaninowii</i>		(54) 3 β ,5 α ,8 α ,15 β -tetraacetoxy-7 β -benzoyloxyjatropha-6(17),11 <i>E</i> diene-9,14-dione	Me	H	Ac	OBz	Ac	[80]
<i>E. esula</i>		(55) Esulatin E						[81]
<i>E. esula</i> et <i>E. salicifolia</i>		(56) Esulatin A	OAc	<i>i</i> Bu	OAc	Ac		[82][83]
<i>E. salicifolia</i>		(57) 2 α ,3 β ,5 α ,9-tetraacetoxy-11,12-epoxy-7 β ,8 α -diisobutyryloxyjatropha-6(17)-en-14-one	OAc	<i>i</i> Bu	O <i>i</i> Bu	Ac		
<i>E. salicifolia</i>		(58) 2 α ,3 β ,5 α ,6 β ,9 α -pentaacetoxy-11,12-epoxy-8 α -isobutyryloxyjatropha-6(17)-en-14-one	OAc	Ac	O <i>i</i> Bu	Ac		[83]
<i>E. kansui</i>		(59) kansuinin F	H	Ac	OBz	Bz		
		(60) kansuinin G	H	Ac	H	Nic		[84]
		(61) kansuinin C	Ac	H	-	-		[85]
<i>E. kansui</i>		(62) kansuinin B	H	Ac	-	-		[85]

Annexes

<p><i>E. serrulata</i></p>	<p>Jatrophane 6</p> 	<p>(63) (2<i>S</i>,3<i>S</i>,6<i>S</i>,7<i>R</i>,8<i>R</i>,9<i>S</i>,13<i>S</i>,14<i>S</i>,15<i>R</i>)-7,8,9,14,15-pentaacetoxy-3-benzoyloxyjatropha-4<i>E</i>,11<i>E</i>-dien-6-ol</p> <p>(64) (2<i>S</i>*,3<i>S</i>*,6<i>S</i>*,7<i>R</i>*,8<i>R</i>*,9<i>S</i>*,13<i>S</i>*,14<i>S</i>*,15<i>R</i>*)-8,9,14,15-tetraacetoxy-3,7-dibenzoyloxyjatropha-4<i>E</i>,11<i>E</i>-dien-6-ol</p>	<p>R1 R2 R3</p> <p>OH Me Ac</p> <p>OH Me Bz</p> <p>[86]</p>
<p><i>E. terracina</i> et <i>E. segetalis</i></p> <p><i>E. terracina</i>, <i>E. dendroides</i> et <i>E. segetalis</i></p> <p><i>E. dendroides</i> et <i>E. segetalis</i></p> <p><i>E. dendroides</i></p> <p><i>E. dendroides</i></p> <p><i>E. dendroides</i></p> <p><i>E. segetalis</i>, <i>E. dendroides</i> et <i>E. terracina</i></p> <p><i>E. terracina</i></p> <p><i>E. terracina</i></p>	<p>17 Bishmojojatrophanes-1</p>  <p>65-72</p> <p>73-74</p>	<p>(65) terracinolide A</p> <p>(66) terracinolide B</p> <p>(67) terracinolide C</p> <p>(68) terracinolide F</p> <p>(69) terracinolide J</p> <p>(70) terracinolide K</p> <p>(71) terracinolide L</p> <p>(72) 13α-hydroxyterracinolide B</p> <p>(73) isoterracinolide A</p> <p>(74) isoterracinolide B</p>	<p>R1 R2 R3 R4 R5 R6 R7</p> <p>H Ac Ac Bz iBu H Ac [87][88]</p> <p>H Ac Ac Ac iBu H Ac [87][89][88]</p> <p>H Ac H Ac iBu H Ac [89][88]</p> <p>H Ac Ac iBu iBu H Ac [89]</p> <p>H Ac Ac iBu iBu H H [89]</p> <p>H H Ac Ac iBu H Ac [89]</p> <p>H H Ac iBu iBu H Ac [89]</p> <p>H Ac Ac Ac iBu OH Ac [88][89][90]</p> <p>iBu - - - - - [90]</p> <p>Pr - - - - - [90]</p>

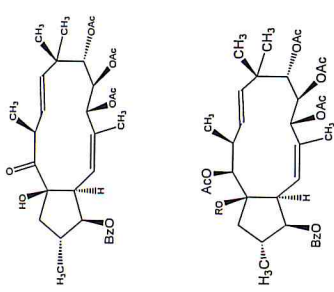
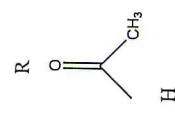
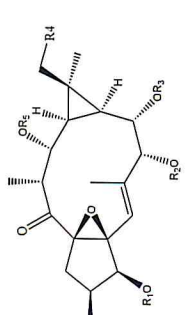
Annexes

<p><i>E. salicifolia</i></p>	 <p>The image shows the chemical structure of salicinolide, a 14-membered lactone ring. It features several substituents: an acetyl group (AcO) at C-2, a benzoyl group (BzO) at C-3, a hydroxyl group (HO) at C-4, an isobutyl group (OiBU) at C-5, and an acetyl group (OAc) at C-6. There is also a methyl group at C-10 and a hydroxyl group at C-11. The structure is drawn in a perspective view with wedges and dashes to indicate stereochemistry.</p>	<p>(75) salicinolide</p>		[91]
------------------------------	---	--------------------------	--	------

Annexes

<p><i>E. terracina</i></p>	<p>Jatrophane [(15 → 14) A]beojatrophane</p>	<p>(76) (2<i>S</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>,5<i>R</i>,7<i>S</i>,8<i>S</i>,9<i>S</i>,11<i>E</i>,13<i>S</i>,14<i>S</i>)-3,5,7,8,9,14-hexahydroxy-7-isobutyryloxy-5,8-bis(2-methylbutanoyloxy) 1(15<i>H</i>14<i>abeojatrophane</i>-6(17), 11-dien-15-one</p> <p>(77) abeodendroidin F</p> <p>(78) <i>epi</i>-abeodendroidin F</p>
<p><i>E. dendroides</i></p> <p><i>E. dendroides</i></p>	<p>[9(10 → 18) A]beojatrophane</p>	<p>(79) euphosalicin</p> <p>(80) 3β-Benzoyloxy-5α,7β-diacetoxy-15β-hydroxyjatrophane-6(17), 11E-diene-9,14-dione</p> <p>(81) 3β-Benzoyloxy-5α,8α-diacetoxy-15β-hydroxy-7β-propanoyloxyjatrophane-6(17), 11E-diene-9,14-dione</p> <p>(82) 3β-Benzoyloxy-7β-n-butanoyloxy-5α,8α-diacetoxy-15β-hydroxyjatrophane-6(17), 11E-diene-9,14-dione</p> <p>(83) 3β-Benzoyloxy-5α,8α-diacetoxy-15β-hydroxy-7β-isobutanoyloxyjatrophane-6(17), 11E-diene-9,14-dione</p>
<p><i>E. salicifolia</i></p>	<p><i>E. mongolica</i></p>	<p>[92]</p> <p>[89]</p> <p>[89]</p> <p>[83]</p> <p>[93]</p>

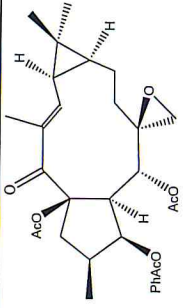
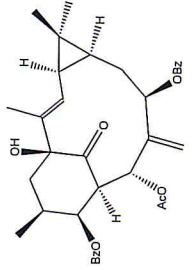
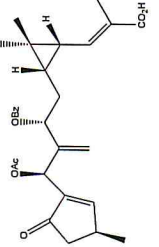
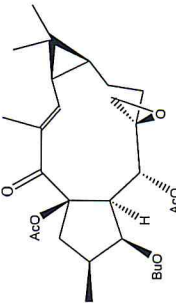
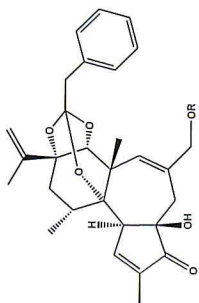

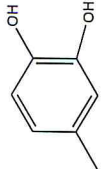
Annexes

<p><i>E. mellifera</i></p>	<p><i>Jatropha</i> 8</p> 	<p>(84) euphomelliferine 1</p> <p>(85) euphomelliferine 2</p>	<p>2</p> <p>3</p> <p>R</p>  <p>H</p>	<p>[94]</p>
<p><i>E. acururensis</i></p> <p><i>E. tirucalli</i></p> <p><i>E. nivalis</i></p> <p><i>E. poisonii</i></p> <p><i>E. officinarum</i></p> <p><i>E. royleana</i></p>	<p><i>Lathyranes-1</i></p> 	<p>(86) 3β,12α-diacetoxy-19-hydroxy-7 α,8 α -ditigloyloxyingol</p> <p>(87) 3 β,12 α,19-triacetoxy-7 α -hydroxy-8 α -ditigloyloxyingol</p> <p>(88) 12 α,19-diacetoxy-3 β,7 α -hydroxy-8 α -ditigloyloxyingol</p> <p>(89) 3 β,8 α,12 α -triacetoxy-7 α -isovaleryloxyingol</p> <p>(90) 3β,12α-triacetoxy-7 α -hydroxy-8 α -tigloyloxyingol</p> <p>(91) 3 β,7α,12 α -triacetoxy-8 α -isovaleryloxyingol</p> <p>(92) 3 β,7 α,12 α -triacetoxy-8 α -benzoyloxyingol</p> <p>(93) 3 β,12 α -diacetoxy-7 α -angeloyloxy-8 α -methoxyingol</p> <p>(94) 3 β,12 α -diacetoxy-8 α -benzoyloxy-7 α -hydroxyingol</p> <p>(95) 3 β,12 α,19-triacetoxy-8 α -nicotinoyloxy-7 α -phenylacetoxingol</p> <p>(96) 7 α,8 α,12 α -triacetoxy-3 β -phenylacetoxingol</p> <p>(97) 12-<i>O</i>-acetyl-3,8-ditiglate</p> <p>(98) 8,12-<i>O</i>-diacetyl-3,7-ditiglate</p> <p>(99) 12-<i>O</i>-acetyl-7-<i>O</i>-benzoyl-3,8-ditiglate</p> <p>(100) 12-<i>O</i>-acetyl-8-<i>O</i>-benzoyl-3-tiglate</p>	<p>R1 R2 R3 R4 R5</p> <p>Ac Tig Tig OH Ac</p> <p>Ac H Tig OAc Ac</p> <p>H H Tig OAc Ac</p> <p>Ac iVal Ac H Ac</p> <p>Ac H Tig H Ac</p> <p>Ac Ac iVal H Ac</p> <p>Ac Ac Bz H Ac</p> <p>Ac Aug Me H Ac</p> <p>Ac H Bz H Ac</p> <p>Tig Tig Ac H Ac</p> <p>Bz Bz Ac H Ac</p> <p>Tig H Bz H Ac</p> <p>Ac H Bz H Ac</p> <p>Ac PhAc Nic OAc Ac</p> <p>PhAc Ac Ac H Ac</p>	<p>[95]</p> <p>[95]</p> <p>[95]</p> <p>[95]</p> <p>[95]</p> <p>[95]</p> <p>[96]</p> <p>[97]</p> <p>[97]</p> <p>[97]</p> <p>[98]</p> <p>[99]</p> <p>[100]</p> <p>[100]</p> <p>[100]</p> <p>[100]</p>

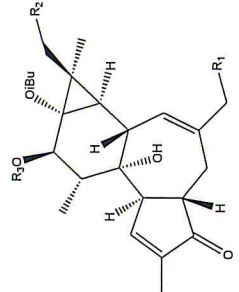
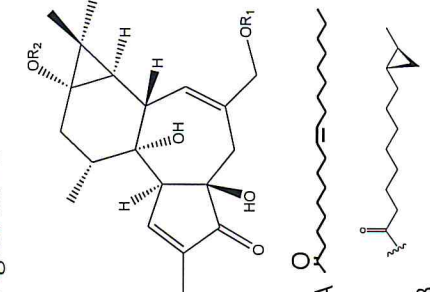
Annexes

		[101]			
<p><i>E. portulacoides</i></p> <p style="text-align: center;"><i>Lathyranes - 2</i></p>		<p>(101) 3β,7α,8α,12α-tetraacetoxy-2-<i>epi</i>-ingol</p> <p>(102) 3β,8α,12α-triacetoxy-7α-isobutanoyloxy-2-<i>epi</i>-ingol</p> <p>(103) 3β,8α,12α-triacetoxy-7α-methylbutanoyloxy-2-<i>epi</i>-ingol</p> <p>(104) 3β,8α,12α-triacetoxy-7α-benzoyloxy-2-<i>epi</i>-ingol</p>			
		<p><i>E. hyberna</i></p> <p><i>E. hyberna</i> et <i>E. villosa</i></p> <p><i>E. lathyris</i></p> <p><i>E. pithyusa</i> subsp. <i>cupanii</i></p> <p style="text-align: center;"><i>Lathyranes - 3</i></p>	<p>(105) (2<i>R</i>*,3<i>S</i>*,4<i>R</i>*,5<i>R</i>*,9<i>S</i>*,11<i>S</i>*,15<i>R</i>*)-5α,15β-diacetoxy-3β-benzoyloxy/lathyrane-6(17),12<i>E</i>-dien-14-one</p> <p>(106) (2<i>R</i>*,3<i>S</i>*,4<i>R</i>*,5<i>R</i>*,9<i>S</i>*,11<i>S</i>*,15<i>R</i>*)-3,5,15-triacetoxy/lathyrane-6(17),12<i>E</i>-dien-14-one</p> <p>(107) (2<i>S</i>*,3<i>S</i>*,4<i>R</i>*,5<i>R</i>*,9<i>S</i>*,11<i>S</i>*,15<i>R</i>*)-5-acetoxy-3-benzoyloxy-15-hydroxy/lathyrane-6(17),12<i>E</i>-dien-14-one</p> <p>(108) (2<i>S</i>*,3<i>S</i>*,4<i>R</i>*,5<i>R</i>*,9<i>S</i>*,11<i>S</i>*,15<i>R</i>*)-5,15-diacetoxy-3-phenylacetoxy/lathyrane-6(17),12<i>E</i>-dien-14-one</p>		
				<p style="text-align: center;"><i>Lathyranes - 4</i></p>	<p>(110) Facteur d'Euphorbia L11</p> <p>(111) (2<i>R</i>*,3<i>S</i>*,4<i>R</i>*,5<i>R</i>*,6<i>R</i>*,11<i>S</i>*,15<i>R</i>*)-3-acetoxy-15-benzoyloxy-5,6-epoxy/lathyrane-12<i>E</i>-en-14-one</p>
<p style="text-align: center;">[106]</p>					
<p style="text-align: center;">[105]</p>					
<p style="text-align: center;">[104]</p>					
<p style="text-align: center;">[102]</p>					
<p style="text-align: center;">[103]</p>					
<p style="text-align: center;">[102][103]</p>					

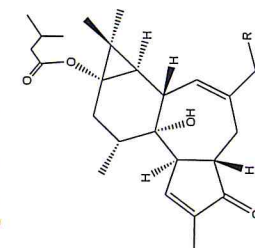
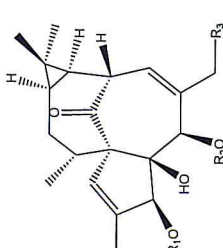
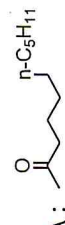

Annexes

<p><i>E. pithyusa</i> subsp. <i>cupanii</i></p>		<p>(112) Facteur d'Euphorbia L1</p>	<p>[105]</p>
<p><i>E. lathyris</i></p>	<p><i>Lathyranes - 5</i></p>   <p><i>Lathyranes - 6</i></p>	<p>(113) Lathyrane A</p> <p>(114) Acide lathyraoïque A</p>	<p>[107]</p> <p>[106]</p>
<p><i>E. prolifera</i></p>	 <p>Daphnane</p>	<p>(115) (12E,2S,3S,4R,5R,6S,9S,11S,15R)-3-butyloxy-5,15-diactoxy-6,17-epoxylathyra-12-en-14-one</p>	<p>[108]</p>
<p><i>E. posonii</i></p>		<p>(116) 20-(4-hydroxy-3-methoxyphenylacetox)-9,13,14-(orthophenylacetox)-resiniferol (resiniferatoxin)</p>	<p>[109]</p> <p>A: </p> <p>R: </p>

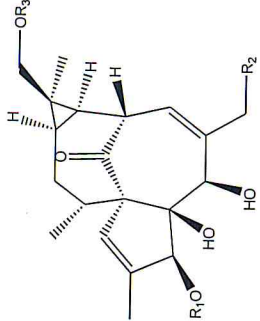
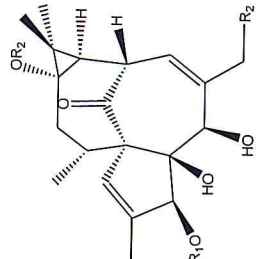
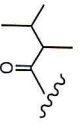
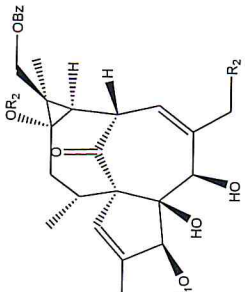
Annexes

	<i>Tiglanes -1</i>		<i>Tiglanes -2</i>					
<i>E. semiperfoliata</i>		(117) 13 α -isobutyryloxy-4-deoxy-12 β tigloyloxyphorbol	R1	R2	R3	[110]		
<i>E. obtusifolia</i>		(118) 12 β , 13 α -diisobutyryloxy-4,20-dideoxyphorbol	H	H	<i>iBu</i>	[111]		
		(119) 12 β , 13 α -diisobutyryloxy-4-deoxyphorbol	<i>OH</i>	H	<i>iBu</i>	[111]		
		(120) 17-acetoxy-12,13R-diisobutyryloxy-4-deoxyphorbol	<i>OH</i>	<i>OAc</i>	<i>iBu</i>	[111]		
<i>E. semiperfoliata</i>		(121) 17-acetoxy-12 β , 13 α -diisobutyryloxy-4,20-dideoxyphorbol	H	<i>OAc</i>	<i>iBu</i>	[111]		
	(122) 20-acetoxy-12 β , 13 α -diisobutyryloxy-4-deoxyphorbol	<i>OAc</i>	H	<i>iBu</i>	[111]			
<i>E. obtusifolia</i>	(123) 12 β -benzoyloxy-13 α -isobutyryloxy-4-deoxyphorbol	<i>OH</i>	H	<i>Bz</i>	[110]			
<i>E. guyoniana</i>	(124) 12 β , 13 α -diisobutyryloxy-4-deoxy-4- <i>epi</i> -phorbol (4- <i>epi</i> -331)	-	-	-	[111]			
	(125) 13 α -hexadecanoyl-4,12-dideoxy-4- <i>epi</i> -phorbol	-	-	-	[112]			
<i>E. fischeriana</i>	(126) 20-acetoxy-13-(9Z-octadecanoyloxy)-12-deoxyphorbol	R1	R2					
<i>E. poissonii</i>	(127) 20-acetoxy-13-angeloyloxy-12-deoxyphorbol	<i>Ac</i>	<i>A</i>		[113]			
<i>E. poissonii</i>	(128) 20-hydroxy-13-(E-9,10 methanoundecanoyloxy) -12-deoxyphorbol	<i>Ac</i>	<i>Ang</i>		[114]			
	(129) 13-angeloyloxy-20-hydroxy-12-deoxyphorbol	H	<i>B</i>		[115]			
	(130) 13-acetoxy-20- <i>p</i> -methoxybenzoyloxy-12-deoxyphorbol	H	<i>Ang</i>		[114]			
	(131) 20-angeloyloxy-13-decanoyloxy-12-deoxyphorbol	<i>Ac</i>	<i>Bz</i>		[116]			
	(132) 13-decanoyloxy-20-tigloyloxy-12-deoxyphorbol	<i>Ac</i>	<i>p-MeOC6H4CO</i>		[116]			
	(133) 13-acetoxy-20-decanoyloxy-12-deoxyphorbol	<i>CO(CH2)8CH3</i>	<i>Ang</i>		[116]			
	(134) 13-butanoyloxy-20-decanoyloxy-12-deoxyphorbol	<i>CO(CH2)8CH3</i>	<i>Tig</i>		[116]			
	(135) 20-decanoyloxy-13-hexanoyloxy-12-deoxyphorbol	<i>Ac</i>	<i>CO(CH2)8CH3</i>		[116]			
	(136) 20-decanoyloxy-13-octanoyloxy-12-deoxyphorbol	<i>Bu</i>	<i>CO(CH2)8CH3</i>		[116]			
	(137) 20-decanoyloxy-13-dodecanoyloxy-12-deoxyphorbol	<i>CO(CH2)4CH3</i>	<i>CO(CH2)8CH3</i>		[116]			
		<i>CO(CH2)6CH3</i>	<i>CO(CH2)8CH3</i>		[116]			
		<i>CO(CH2)10CH3</i>	<i>CO(CH2)8CH3</i>		[116]			
<i>E. cornigera</i>								

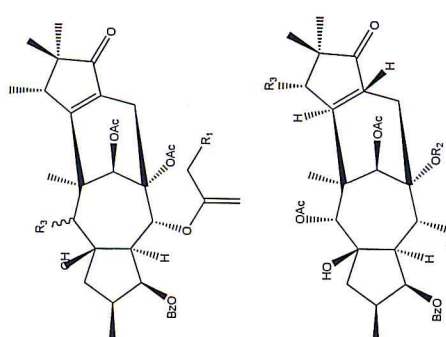
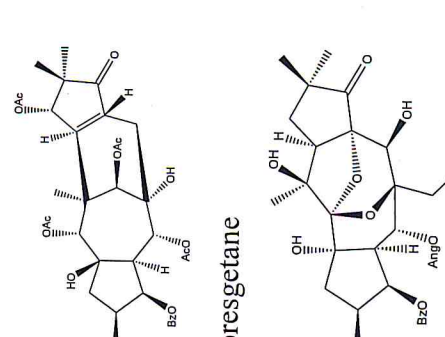
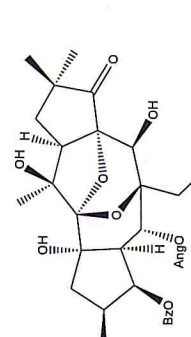
Annexes

	<p style="text-align: center;"><i>Tiglanes-3</i></p> 		<p style="text-align: center;">R</p> <p>H [105] OH [105] OAc [105] Ac [113] CO(CH₂)₄CH₃ [113]</p>
<p><i>E. pithyusa</i> subsp. <i>Cupanii</i></p>		<p>(138) 13-(2,3-dimethylbutanoyloxy)-4,12,20-trideoxyphorbol (139) 13-(2,3-dimethylbutanoyloxy)-4,12-dideoxyphorbol (140) 20-acetoxy-13-(2,3-dimethylbutanoyloxy)-4,12-dideoxyphorbol (141) 13-acetoxy-12-deoxyphorbolaldehyde (142) 13-hexadecacetoxy-12-deoxyphorbolaldehyde</p>	
<p><i>E. fischeriana</i></p>		<p>(143) 20-O-(2', E,4' E-decadienyl)ingenol (144) 20-O-(2', E,4' Z-decadienyl)ingenol (145) 3 β-O-(2', E,4' Z-decadienyl)ingenol (146) 3 β-O-(2', E,4' E-decadienyl)ingenol (147) 5 β-O-acetyl-3 β-O-(2', E,4' Z-decadienyl)ingenol (148) 20-O-decanoyl ingenol (149) 5 β-O-(22 E,42 E-decadienyl)ingenol (150) 3 β-O-angeloyl ingenol (151) 20-O-acetyl-3 β-O-angeloyl ingenol (152) 5 β, 20-di-O-acetyl-3 β-O-angeloyl ingenol (153) 20-O-acetyl ingenol</p>	<p>R1 R2 R3</p> <p>H H OB [85] H H OA [85] A H OH [85] B H OH [85] A Ac OH [85] H H)CO(CH₂)₈ [85] H H)H₃ [85] H B OH [85] Ang H OH [74] Ang H OAc [74] Ang Ac OAc [95][117] H H OAc [88]</p>
<p><i>E. kansui</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>Ingenanes-1</i></p>  <p>A: </p> <p>B: </p>		
<p><i>E. pephus</i> <i>E. acrurensis</i> et <i>E. canariensis</i> <i>E. segetalis</i></p>			

Annexes

<p><i>E. segetalis</i> <i>E. acturensis</i> <i>E. segetalis</i> <i>E. canariensis</i></p>	<p style="text-align: center;">Ingenanes -2</p> 	<p>(154)20-acetoxy-3 β -O-angeloyl-17-angeloyloxyingenol (155)17-acetoxy-3 β -O-angeloyl-20-deoxyingenol (156)3 β -O-angeloyl-17-angeloyloxy-20-deoxyingenol (157)20-acetoxy-3 β -O-angeloyl-17-benzoyloxy ingenol</p>	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">R1 Ang</td> <td style="text-align: center;">R2 OAc</td> <td style="text-align: center;">R3 Ang</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Ang</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">Ac</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Ang</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">Ang</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Ang</td> <td style="text-align: center;">OAc</td> <td style="text-align: center;">Bz</td> </tr> </table>	R1 Ang	R2 OAc	R3 Ang	Ang	H	Ac	Ang	H	Ang	Ang	OAc	Bz	<p style="text-align: right;">[88] [95] [88] [118]</p>
R1 Ang	R2 OAc	R3 Ang														
Ang	H	Ac														
Ang	H	Ang														
Ang	OAc	Bz														
<p><i>E. kansui</i></p>	<p style="text-align: center;">Ingenanes -3</p> 	<p>(158)20-O-(2,3-dimethylbutanoyl)-13α-O-dodecanoylingenol</p>	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">R1 H</td> <td style="text-align: center;">R2 CO(CH2)10CH3</td> <td style="text-align: center;">R3 OA</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">A : </p>	R1 H	R2 CO(CH2)10CH3	R3 OA	<p style="text-align: right;">[119]</p>									
R1 H	R2 CO(CH2)10CH3	R3 OA														
<p><i>E. segetalis</i></p>	<p style="text-align: center;">Ingenanes -4</p> 	<p>(159)13α-acetoxy-3β-O-benzoyl-17-benzoyloxyingenol (160)13α-acetoxy-3β-O-angeloyl-17-benzoyloxyingenol</p>	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">R1 Bz</td> <td style="text-align: center;">R2 Ac</td> <td style="text-align: center;">R3 H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Ang</td> <td style="text-align: center;">Ac</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> </table>	R1 Bz	R2 Ac	R3 H	Ang	Ac	H	<p style="text-align: right;">[88]</p>						
R1 Bz	R2 Ac	R3 H														
Ang	Ac	H														

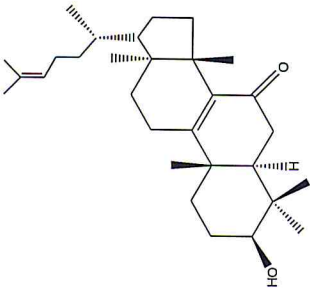
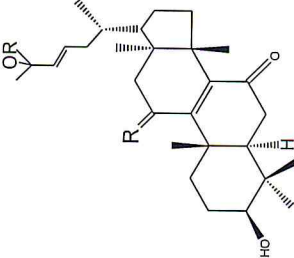
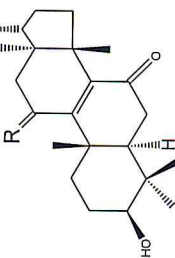
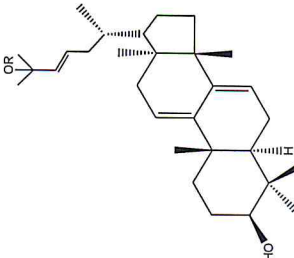
Annexes

<i>E. parvitas</i>	<i>Segetanes -1</i>	(161)segetene B (162)segetene A	<table border="1"> <tr> <td><i>R1</i></td> <td><i>R2</i></td> <td><i>R3</i></td> </tr> <tr> <td>OAc</td> <td>H</td> <td>α-OAc [120]</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>OAc</td> <td>β-OAc [120]</td> </tr> </table>	<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>	OAc	H	α -OAc [120]	H	OAc	β -OAc [120]
<i>R1</i>	<i>R2</i>	<i>R3</i>										
OAc	H	α -OAc [120]										
H	OAc	β -OAc [120]										
<i>E. segetalis</i>		<p>(163) (2<i>S</i>*,3<i>S</i>*,4<i>R</i>*,5<i>R</i>*,6<i>R</i>*,8<i>R</i>*,12<i>S</i>*,13<i>R</i>*,14<i>R</i>*,15<i>R</i>*)-6,14,17-triacetoxy-5-(2-acetoxyacetoxy)-3-benzoyloxy-15-hydroxysegetan-9-one (164) (2<i>S</i>*,3<i>S</i>*,4<i>R</i>*,5<i>R</i>*,6<i>R</i>*,8<i>R</i>*,12<i>S</i>*,13<i>R</i>*,14<i>R</i>*,15<i>R</i>*)-6,11,14,17-tetraacetoxy-5-(2-acetoxyacetoxy)-3-benzoyloxy-15-hydroxysegetan-9-one (165) (2<i>S</i>*,3<i>S</i>*,4<i>R</i>*,5<i>R</i>*,6<i>R</i>*,8<i>R</i>*,12<i>S</i>*,13<i>R</i>*,14<i>R</i>*,15<i>R</i>*)-6,14,17-triacetoxy-3-benzoyloxy-15-hydroxy-5-(2-hydroxyacetoxy)segetan-9-one</p>	<table border="1"> <tr> <td>COCH₂OAc</td> <td>Ac</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>COCH₂OAc</td> <td>Ac</td> <td>OAc</td> </tr> <tr> <td>COCH₂OH</td> <td>Ac</td> <td>H</td> </tr> </table>	COCH ₂ OAc	Ac	H	COCH ₂ OAc	Ac	OAc	COCH ₂ OH	Ac	H
COCH ₂ OAc	Ac	H										
COCH ₂ OAc	Ac	OAc										
COCH ₂ OH	Ac	H										
<i>E. portlandica</i>		(166) euphoporilandol A: 5 α ,11 α ,14 α ,17-tetraacetoxy-3 β -benzoyloxy-6 β ,15 β -dihydroxyseget-8(12)-en-9-one	[121]									
<i>E. segetalis</i>		(167) (2 <i>S</i> *,3 <i>S</i> *,4 <i>R</i> *,5 <i>R</i> *,6 <i>R</i> *,7 <i>S</i> *,8 <i>R</i> *,12 <i>R</i> *,13 <i>S</i> *,14 <i>R</i> *,15 <i>R</i> *)-5-angeloyloxy-3-benzoyloxy-6,14:8,14-diepoxo-7,13,15,17-tetrahydroxy-15- <i>epi</i> -presegetan-9-one	[88]									

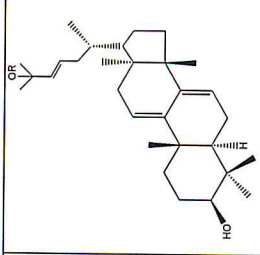
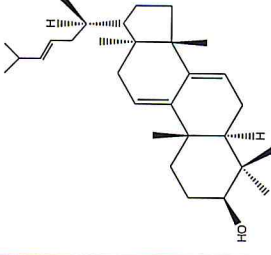
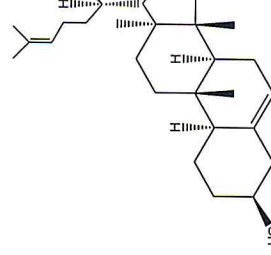
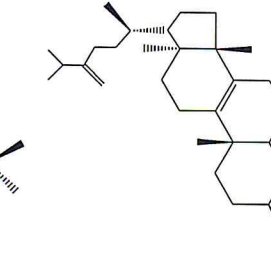
Annexes

	<i>Paralians</i>									
<i>E. segetalis</i>		(168) (1 <i>R</i> [*] , 2 <i>R</i> [*] , 3 <i>S</i> [*] , 4 <i>R</i> [*] , 5 <i>R</i> [*] , 6 <i>R</i> [*] , 8 <i>S</i> [*] , 12 <i>S</i> [*] , 13 <i>S</i> [*] , 14 <i>R</i> [*] , 15 <i>R</i> [*])-1,5,8,14-tetraacetoxy-3-benzoyloxy-15-hydroxyparalian-9-one	<i>R</i> ₁ OAc	<i>R</i> ₂ H	<i>R</i> ₃ H	<i>R</i> ₄ OAc	[88]			
<i>E. segetalis</i> et <i>E. paralias</i>		(169) (1 <i>R</i> [*] , 2 <i>R</i> [*] , 3 <i>S</i> [*] , 4 <i>R</i> [*] , 5 <i>R</i> [*] , 6 <i>R</i> [*] , 8 <i>R</i> [*] , 12 <i>R</i> [*] , 13 <i>S</i> [*] , 14 <i>R</i> [*] , 15 <i>R</i> [*])-1,5,14-triacetoxy-3-benzoyloxy-15-hydroxyparalian-9-one	OAc	H	H	H	[88] [120]			
<i>E. segetalis</i>		(170) (2 <i>R</i> [*] , 3 <i>R</i> [*] , 4 <i>S</i> [*] , 5 <i>R</i> [*] , 6 <i>R</i> [*] , 8 <i>R</i> [*] , 12 <i>R</i> [*] , 13 <i>S</i> [*] , 14 <i>R</i> [*] , 15 <i>R</i> [*])-2,5,14-triacetoxy-3-benzoyloxy-15-hydroxyparalian-9-one	H	OAc	H	H	[88]			
<i>E. segetalis</i>		(171) (1 <i>R</i> [*] , 2 <i>R</i> [*] , 3 <i>S</i> [*] , 4 <i>R</i> [*] , 5 <i>R</i> [*] , 6 <i>R</i> [*] , 8 <i>R</i> [*] , 12 <i>R</i> [*] , 13 <i>S</i> [*] , 14 <i>R</i> [*] , 15 <i>R</i> [*])-1,5,14,17-tetraacetoxy-3-benzoyloxy-15-hydroxyparalian-9-one	OAc	H	OAc	H	[88]			
<i>E. pepilus</i>		(172) (2 <i>S</i> [*] , 3 <i>S</i> [*] , 4 <i>R</i> [*] , 5 <i>R</i> [*] , 6 <i>R</i> [*] , 8 <i>R</i> [*] , 9 <i>R</i> [*] , 10 <i>R</i> [*] , 12 <i>S</i> [*] , 13 <i>S</i> [*] , 14 <i>R</i> [*] , 15 <i>R</i> [*])-5,8,9,11,14-pentaacetoxy-3-benzoyloxypepluan-15-ol	R Ac				[74]			
<i>E. pepilus</i>		(173) (2 <i>S</i> [*] , 3 <i>S</i> [*] , 4 <i>R</i> [*] , 5 <i>R</i> [*] , 6 <i>R</i> [*] , 8 <i>R</i> [*] , 9 <i>R</i> [*] , 10 <i>R</i> [*] , 12 <i>S</i> [*] , 13 <i>S</i> [*] , 14 <i>R</i> [*] , 15 <i>R</i> [*])-5,8,9,11,14-tetraacetoxy-3-benzoyloxypepluan-11,15-diol	H				[122]			
<i>E. segetalis</i>		(174) (1 <i>S</i> [*] , 2 <i>R</i> [*] , 3 <i>S</i> [*] , 4 <i>R</i> [*] , 5 <i>R</i> [*] , 6 <i>R</i> [*] , 13 <i>S</i> [*] , 14 <i>R</i> [*] , 15 <i>R</i> [*])-1,5,14,17-tetraacetoxy-3-benzoyloxy-8,10,(18)11-hexahydropepluan-11,15-diol					[88]			
<i>E. villosa</i>		(175) 3β-acetoxy-11 β -methoxyeuphoractine D	<i>R</i> ₁ α-Me	<i>R</i> ₂ Bz	<i>R</i> ₃ CH ₃	<i>R</i> ₄ Ac	[103]			
<i>E. villosa</i>		(176) 3 β -acetoxy euphoractine D	α-Me	Bz	H	Ac	[103]			
<i>E. micractina</i>	(177) euphoractine C		β-Me	Bz	H	H	[123]			
<i>E. micractina</i>	(178) euphoractine D		α-Me	Bz	H	H	[123]			

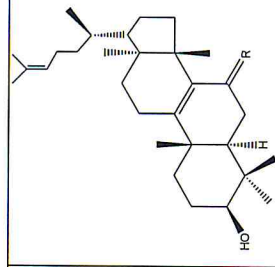
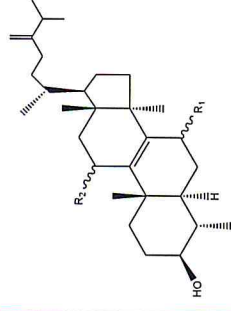
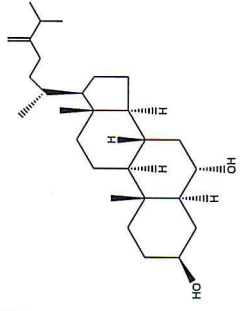
Annexes

<p><i>E. Kansui</i></p>	<p>Triterpènes 6/6/6/5</p> 	<p>(179) Kansone</p>	<p>[124]</p>
<p><i>E. Kansui</i> <i>E. Kansui</i></p>	 <p>(180) Kansanol</p>  <p>(181) 11-oxo-kansanol</p>	<p>(180) Kansanol (181) 11-oxo-kansanol</p>	<p>[124]</p> <p>R H2 O</p>
<p><i>E. Kansui</i></p>	 <p>(182) Kansanol</p>	<p>(182) Kansanol</p>	<p>[124]</p>

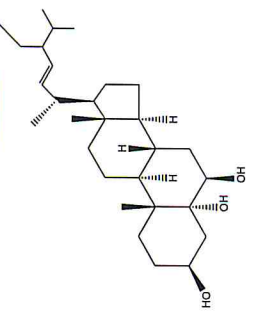
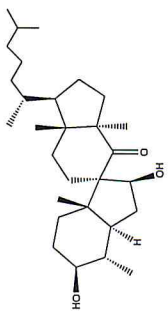
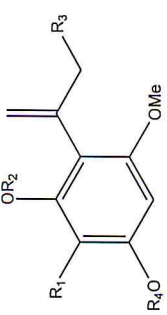
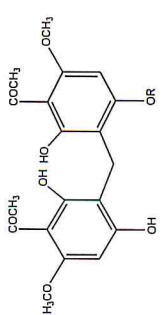
Annexes

<p><i>E. antiquorum</i> <i>E. aleppica</i> <i>E. Kansui</i></p>		<p>(183) Euphol</p>	<p>[125] [126] [124]</p>
<p><i>E. antiquorum</i></p>		<p>(184) antiqol C: eupa-7,9(11),24-trien-3_ -ol</p>	<p>[125]</p>
<p><i>E. antiquorum</i></p>		<p>(185) antiqol B: 19(10 → 9)abeo-8α (H),9β(H), 10α (H)-eupa-5,24-dien-3β-ol</p>	<p>[125]</p>
<p><i>E. antiquorum</i></p>		<p>(186) euphorbol: 24-methylenetrucall-8-en-3β-ol</p>	<p>[125]</p>

Annexes

<p><i>E. Kansui</i></p>		<p>(187) <i>epi-kansone</i></p>	<p>[124]</p>
<p><i>E. chamaesyce</i></p>	<p>Les steroids I</p> 	<p>(188) (3β-hydroxy-4α,14 α -dimethyl-5 α -ergosta-8,24(28)-dien-11-one</p> <p>(189) 3 β,11 α -dihydroxy-4 α,14 α -dimethyl-5 α -ergosta-8,24(28)-dien-7-one</p> <p>(190) 3 β,7 α -dihydroxy-4 α,14 α -dimethyl-5 α -ergosta-8,24(28)-dien-11-one</p>	<p>[127]</p> <p>R1 H2 =O α-OH</p> <p>R2 =O α-OH =O</p>
<p><i>E. boeetica</i></p>	<p>Steroids -2</p> 	<p>(191) 5 α -stigmastane-3β,6 α -diol</p>	<p>[128]</p>

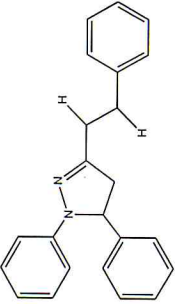
Annexes

<p><i>E. boeetica</i></p>		<p>(192) 5α-stigmastane-3β,5,6β-triol</p>	<p>[128]</p>
<p><i>E. officinarum</i></p>		<p>(193) (3<i>S</i>,4<i>S</i>,5<i>R</i>,7<i>S</i>,9<i>R</i>,14<i>R</i>)-3,7-dihydroxy-4,14-dimethyl-7(8<i>F</i>) abeocholestan-8-one</p>	<p>[99]</p>
<p><i>E. portulacoides</i> <i>E. quinquecostata</i></p> <p><i>E. portulacoides</i></p> <p><i>E. quinquecostata</i></p>	<p><i>Les phenols</i></p> 	<p>(194) 2-hydroxy-4,6-dimethoxyacetophenone</p> <p>(195) 2,4,6-trimethoxyacetophenone</p> <p>(196) 2-hydroxy-4,6-dimethoxy-3-methylacetophenone</p> <p>(197) 2,4,6-trimethoxy-3-methylacetophenon, 2'-dihydroxy-4,6-dimethoxy-3-methylacetophenone</p> <p>(198) 2,2,2-dihydroxy-4,6-dimethoxy-3-methylacetophenone</p> <p>(199) 2,4-dihydroxy-6-methoxy-3-methylacetophenone</p> <p>(200) 2-hydroxy-6-methoxy-3-methylacetophenone 4-β-D-glucopyranoside</p> <p>(201) bractelatinoside C</p>	<p>[101],[129]</p> <p>[101]</p> <p>[101]</p> <p>[101]</p> <p>[129]</p> <p>[130]</p> <p>[130]</p> <p>[130]</p>
<p><i>E. ebracteolata</i></p>	<p><i>Phenols -2</i></p> 	<p>(202) 1,1-bis(2,6-dihydroxy-3-acetyl-4-methoxyphenyl)methane ebractelatinoside B</p>	<p>[131]</p>

Annexes

	Flavonoides		
<i>E. ebraceololata</i>		(203) quercetin 3-O-62-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)-β-D-glucopyranoside	[131]
<i>E. lunulata</i>		(204) quercetin 3-O-(2,3,3,3-tetragalloyl)-β-D-galactopyranoside	[132]
<i>E. lunulata</i>		(205) quercetin 3-O-(2,3-galloyl)-β-D-galactopyranoside	[132]

Annexes

<p><i>E.</i> <i>guyoniana</i></p>	<p><i>Alcaloïdes</i></p> 	<p>(206) diphenyl-3-styryl-2-pyrazoline</p>	<p>[4]</p>
---------------------------------------	--	---	------------

Annexes

Annexe 02

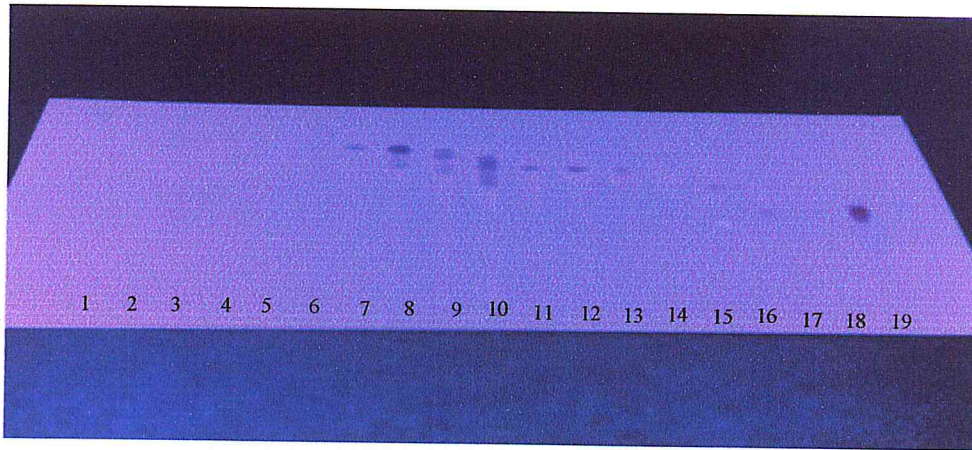


Figure 33 : Révélation par UV 250 nm de plaque CCM des fractions 1 à 19.

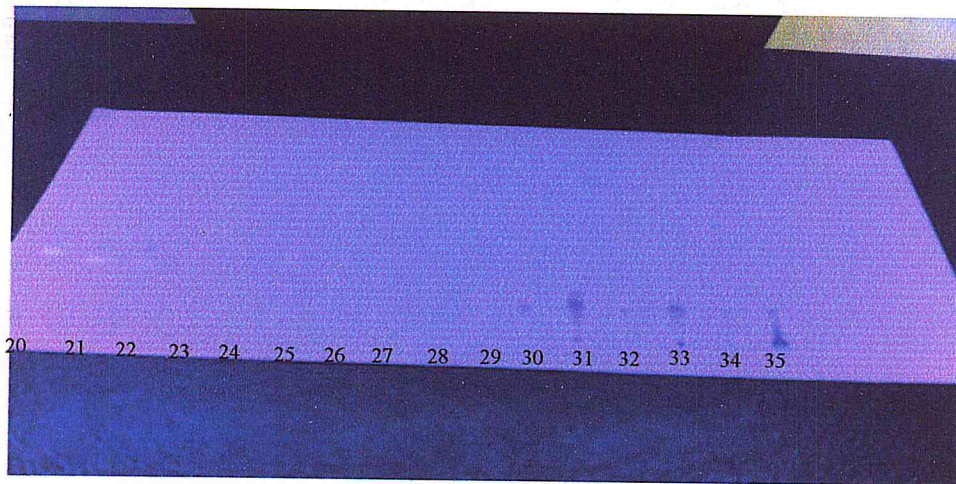


Figure 34 : Révélation par UV 250 nm de plaque CCM des fractions 20 à 35.

Annexes

Tableau 2 : Données du fractionnement sur colonne ouverte de silice

N° fraction	Eluant : AcOEt/Hexane	N ° fraction	Masse de fraction (g)
1	90/10	F1	0,1
2	90/10		
3	90/10	F2	0,741
4	90/10		
5	90/10		
6	90/10	F3	0,278
7	90/10		
8	90/10		
9	90/10		
10	90/10	F4	0,13
11	90/10		
12	90/10		
13	80/20	F5	0,25
14	70/30	F6	0,14
15	70/30		
16	70/30	F7	0,16
17	70/30		
18	70/30		
19	70/30	F8	0,235
20	70/30		
21	70/30	F9	0,265
22	70/30		
23	70/30		
24	70/30	F10	0,1
25	70/30		
26	70/30		
27	70/30		
28	70/30	F11	0,213
29	70/30		

Annexes

30	70/30	F12	0,03
31	70/30		
32	70/30	F13	0,055
33	70/30		
34	70/30		
35	60/40		
36	60/40	F14	0,06
37	60/40		
38	60/40		
39	60/40		
40	50/50	F15	0,06
41	50/50		
42	50/50		
43	50/50	F16	0,147
44	50/50		
45	50/50		
46	50/50	F17	0,09
47	50/50	F18	0,063
48	50/50		
49	50/50		
50	50/50	F19	0,12
51	50/50		
52	50/50		
53	50/50		
54	50/50	F20	0,024
55	50/50		
56	50/50		
57	40/60	F21	0,04
58	40/60		

Annexes

59	40/60	F22	0,03
60	40/60		
61	40/60		
62	40/60	F23	0,05
63	40/60		
64	40/60		
65	40/60		
66	40/60 : 30/70	F24	0,02
67	30/70		
68	30/70		
69	30/70	F25	0,02
70	30/70		
71	30/70		
72	30/70		
73	30/70	F26	0,03
74	30/70		
75	30/70		
76	30/70	F27	0,03
77	30/70		
78	30/70		
79	30/70	F28	0,03
80	30/70		
81	30/70		
82	20/80		
83	20/80	F29	0,03
84	20/80		
85	100		
86	100	F30	0,034
87	100		

Annexes

88	100	F31	0,022
89	100		
90	100		
91	100	F32	0,017
92	100		
93	100		
94	100	F33	0,022
95	100		
AcOEt / MeOH			
96	50/50	F34	0,56
97	100	F35	1,42

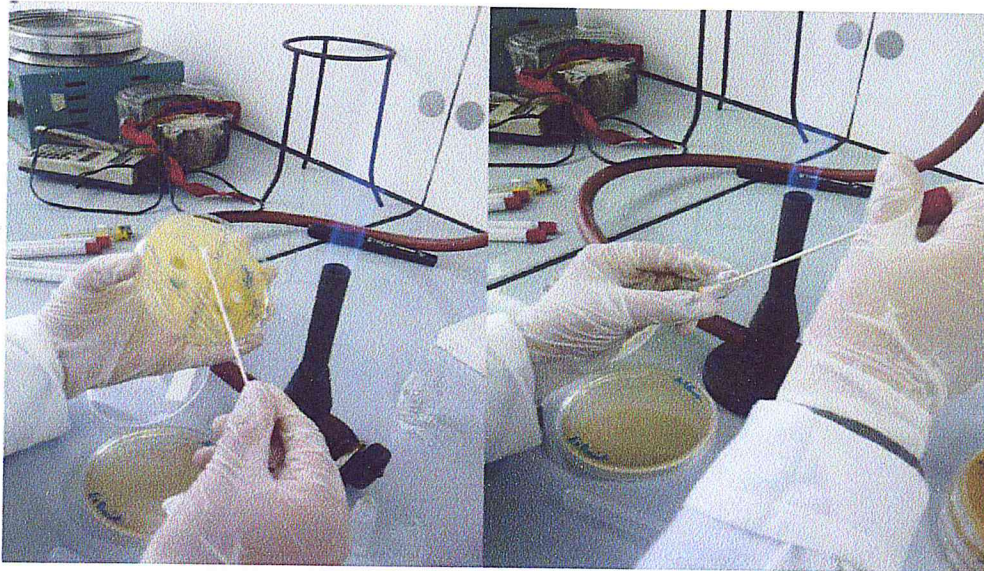


Figure 35 : prélèvement des colonies dans 5ml d'eau physiologique

Annexes

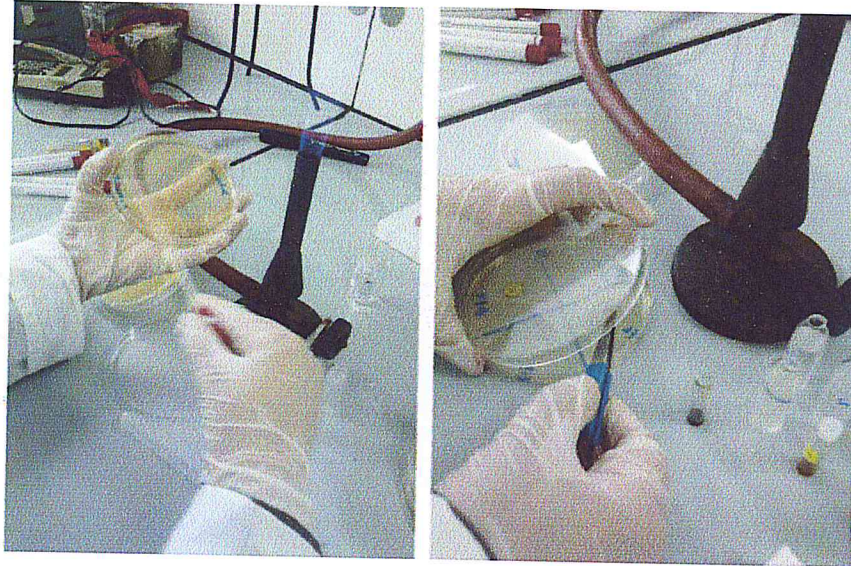


Figure 36 : ensemencement par écouvillon et le dépôt de disque sur un milieu gélosé solide.



Figure 37 : Injection de l'extrait d'*E. granulata*



Figure 38 : mesure l'épaisseur de l'œdème au moyen de pied à coulisse.

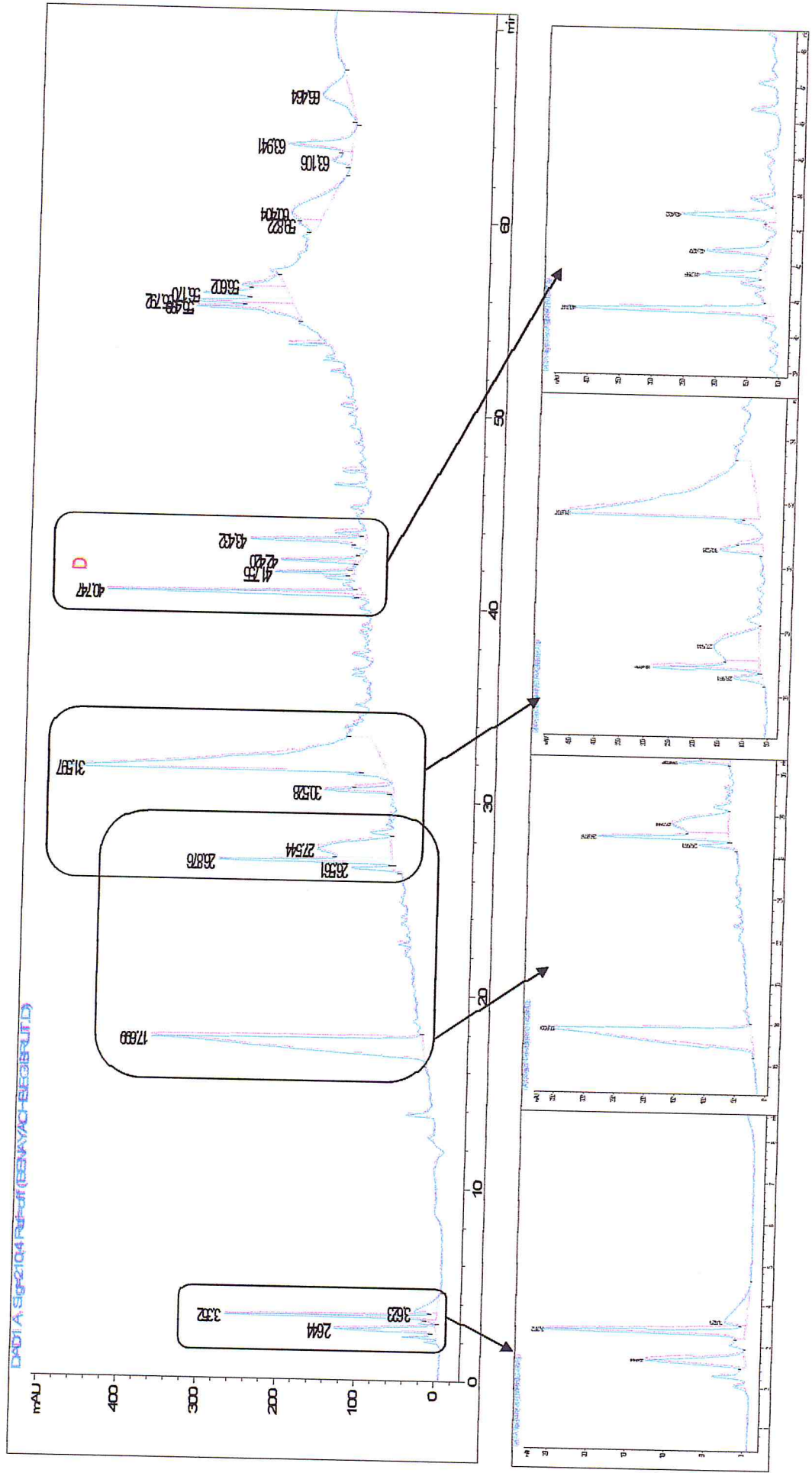


Figure 39 : Profile chromatographique de fraction 10 en mode gradient.

Annexes

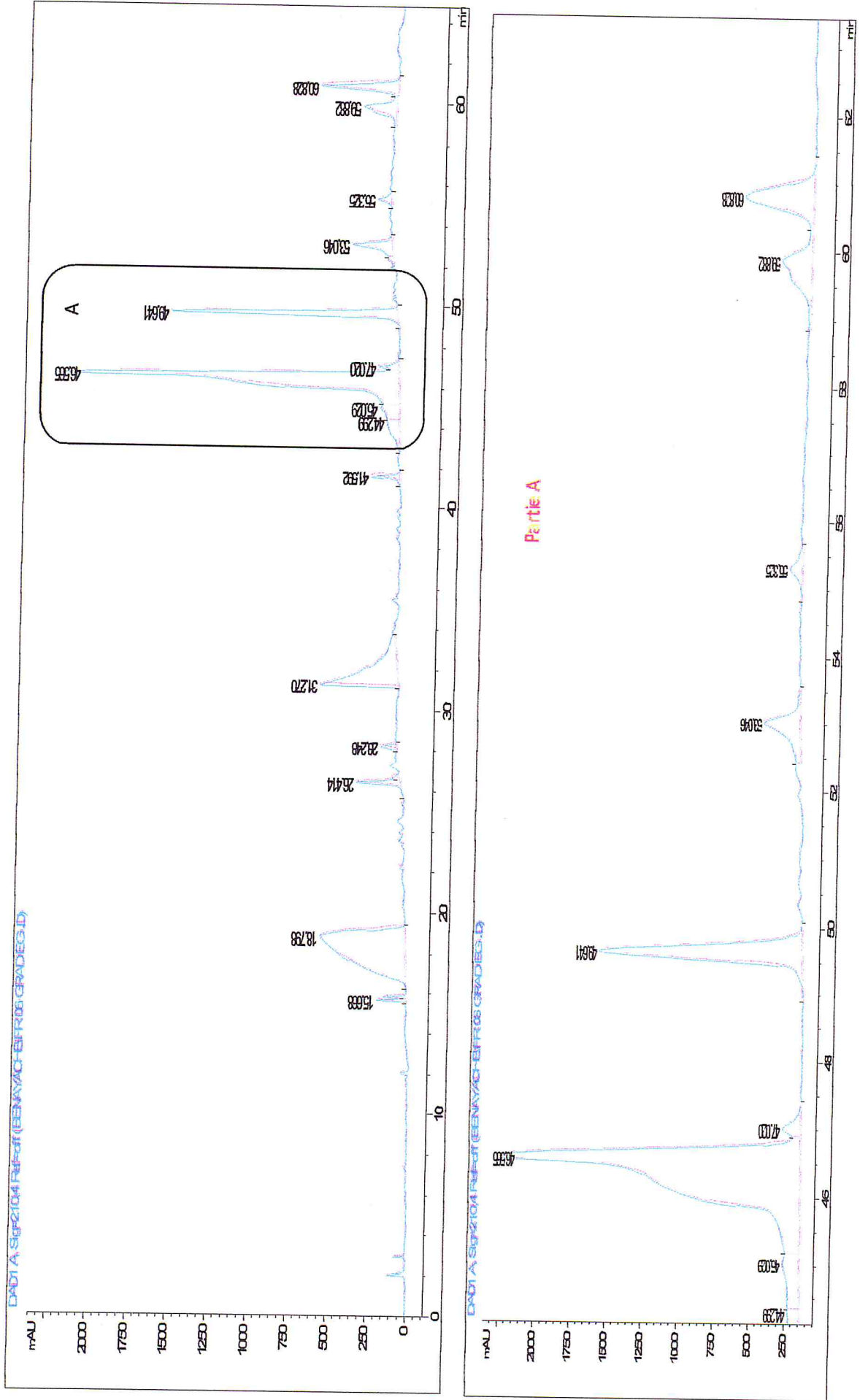
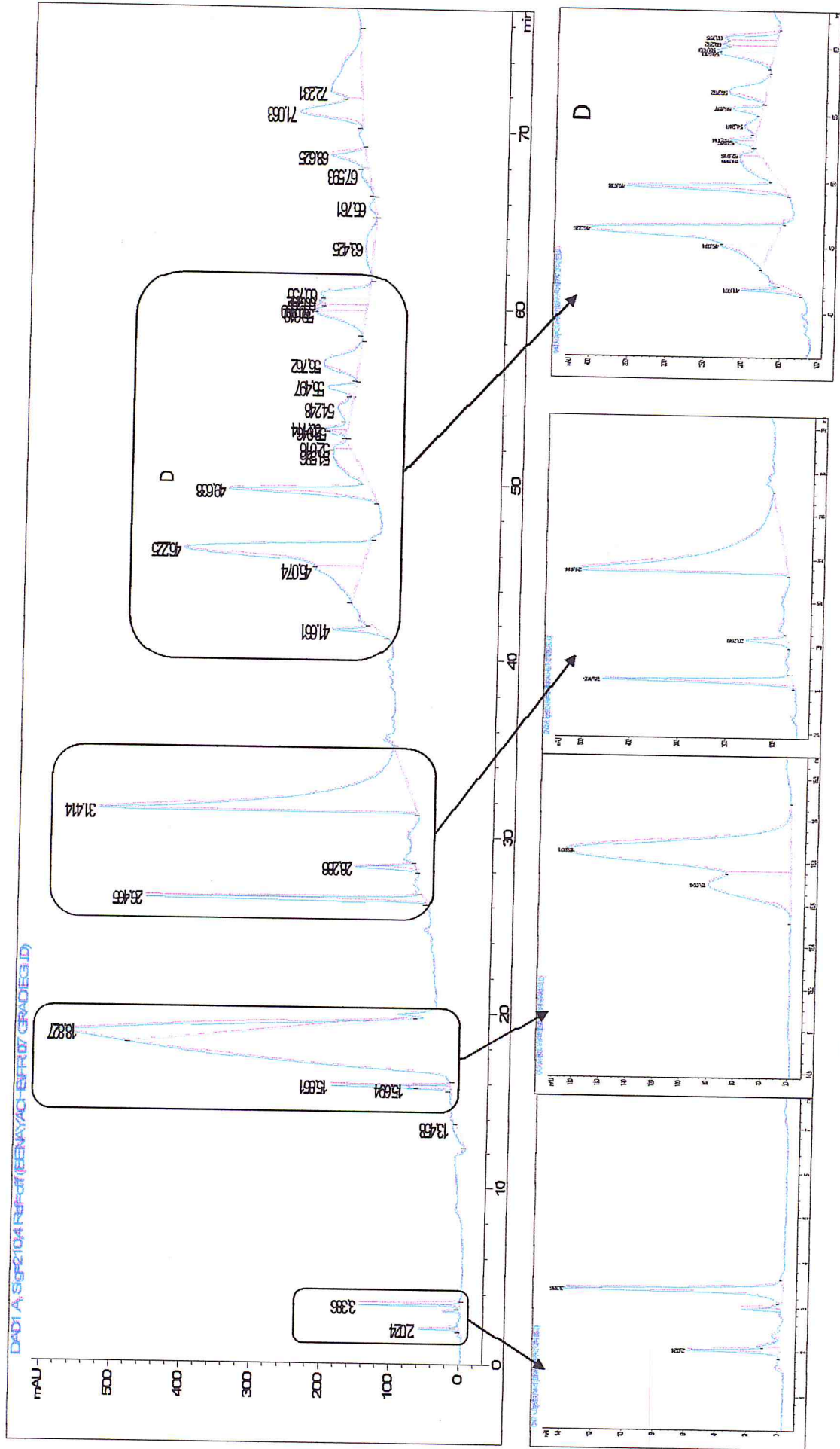


Figure 40: Profile chromatographique de fraction 06 en mode gradient

Annexes



Annexes

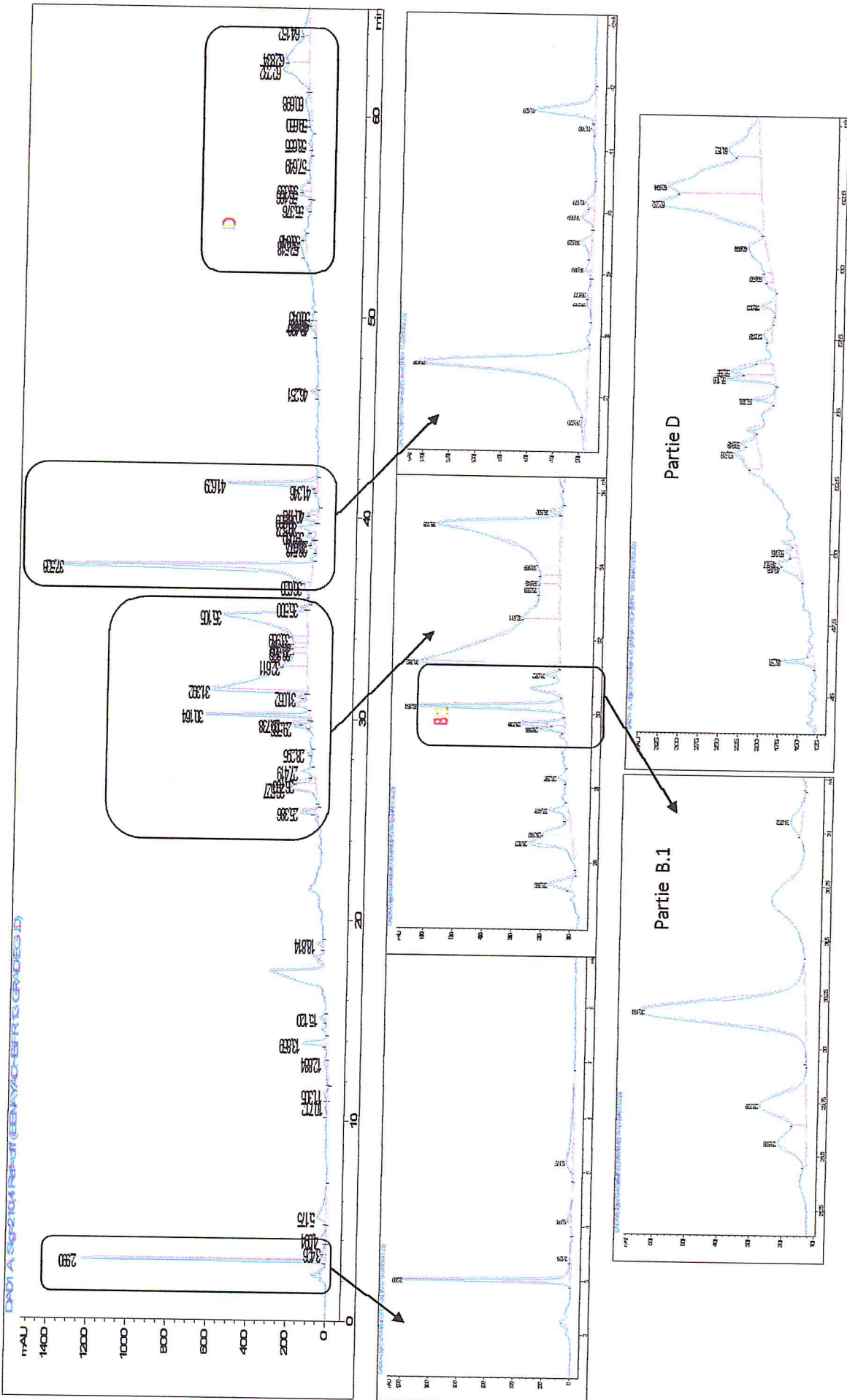


Figure 42 : Profil chromatographique de fraction 13 en mode gradient.

Annexes

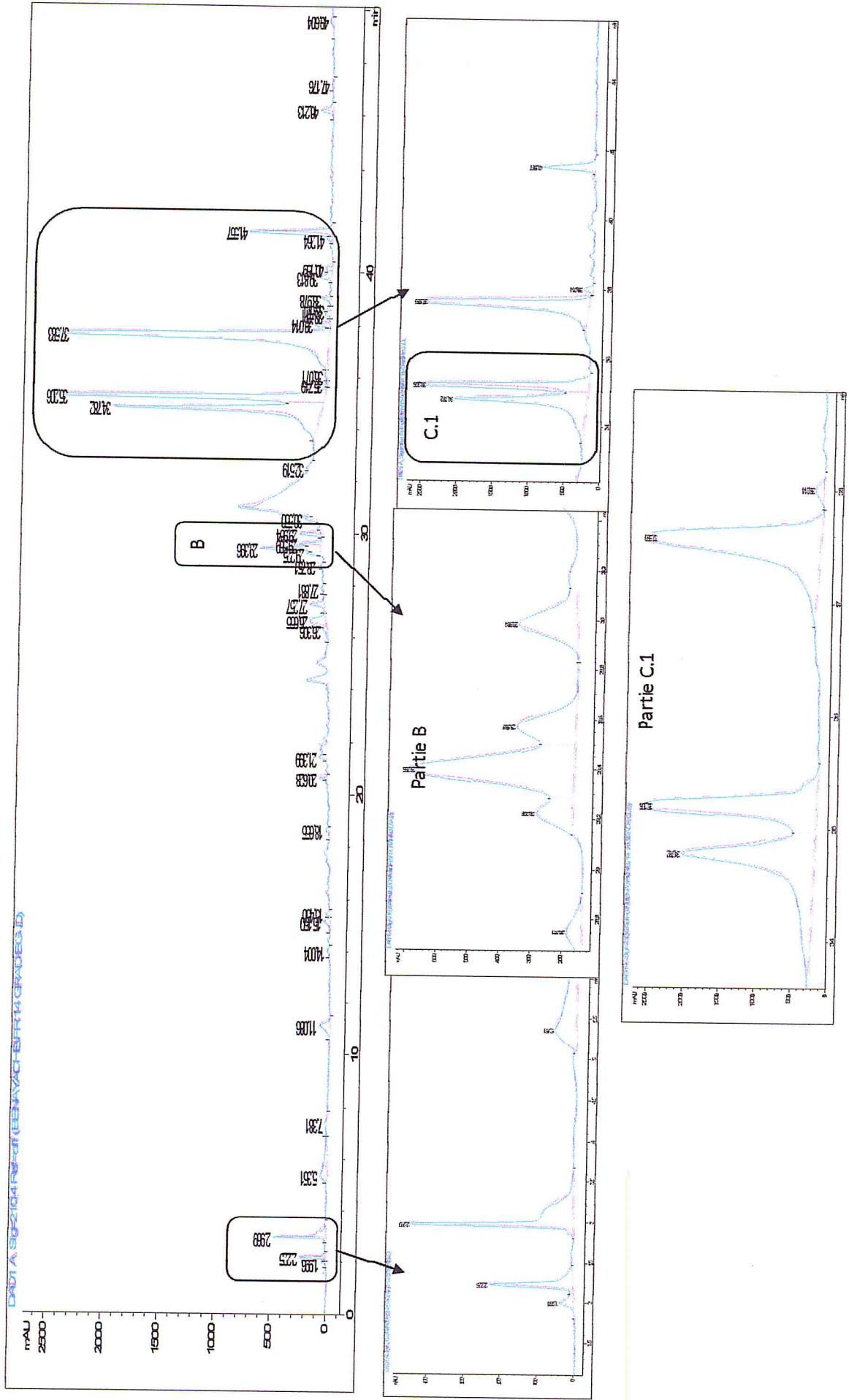


Figure 43 : Profile chromatographique de fraction 14 mode gradient

Annexes

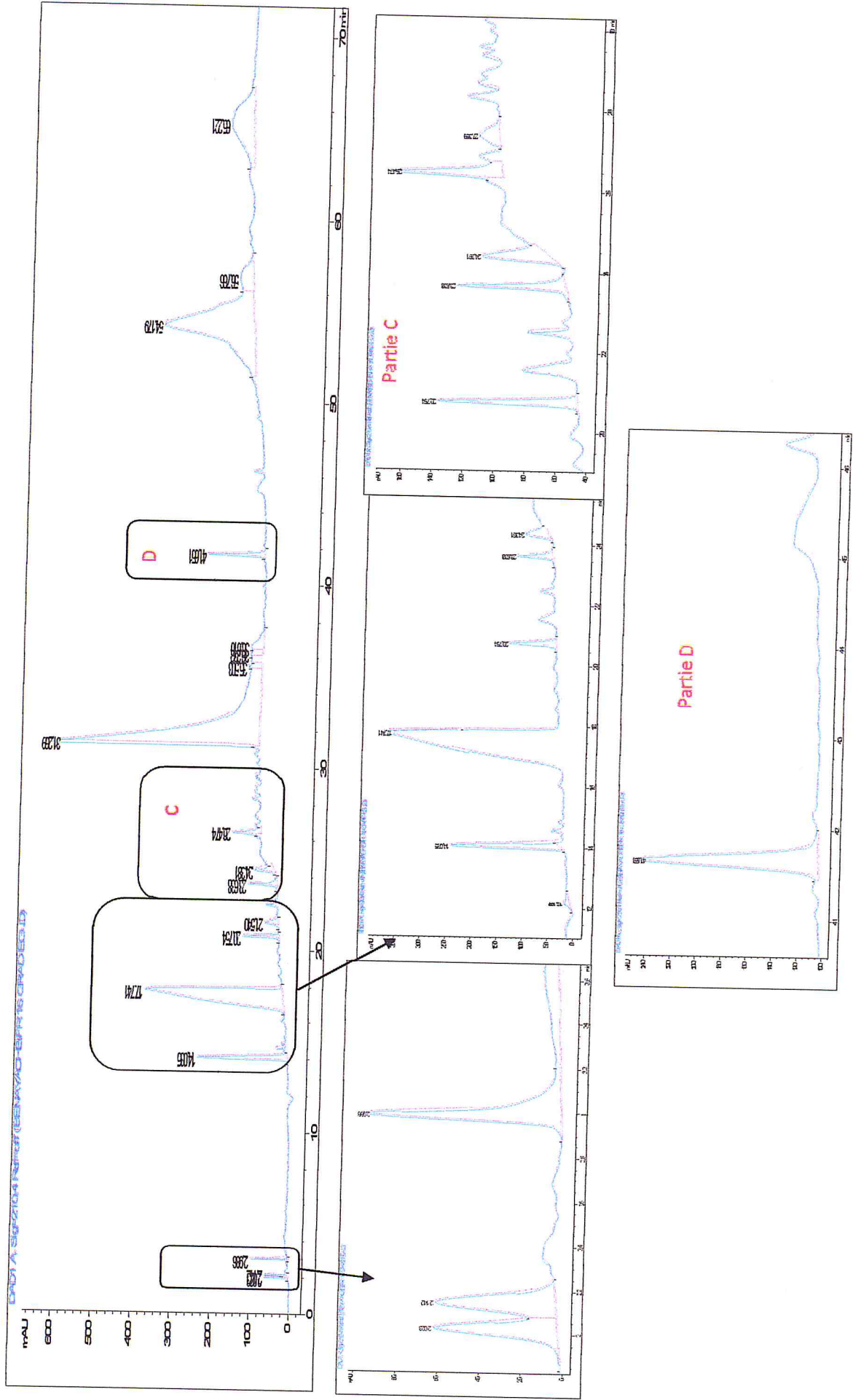


Figure 44 : Profil chromatographique de fraction 16 en mode gradient.

Annexes

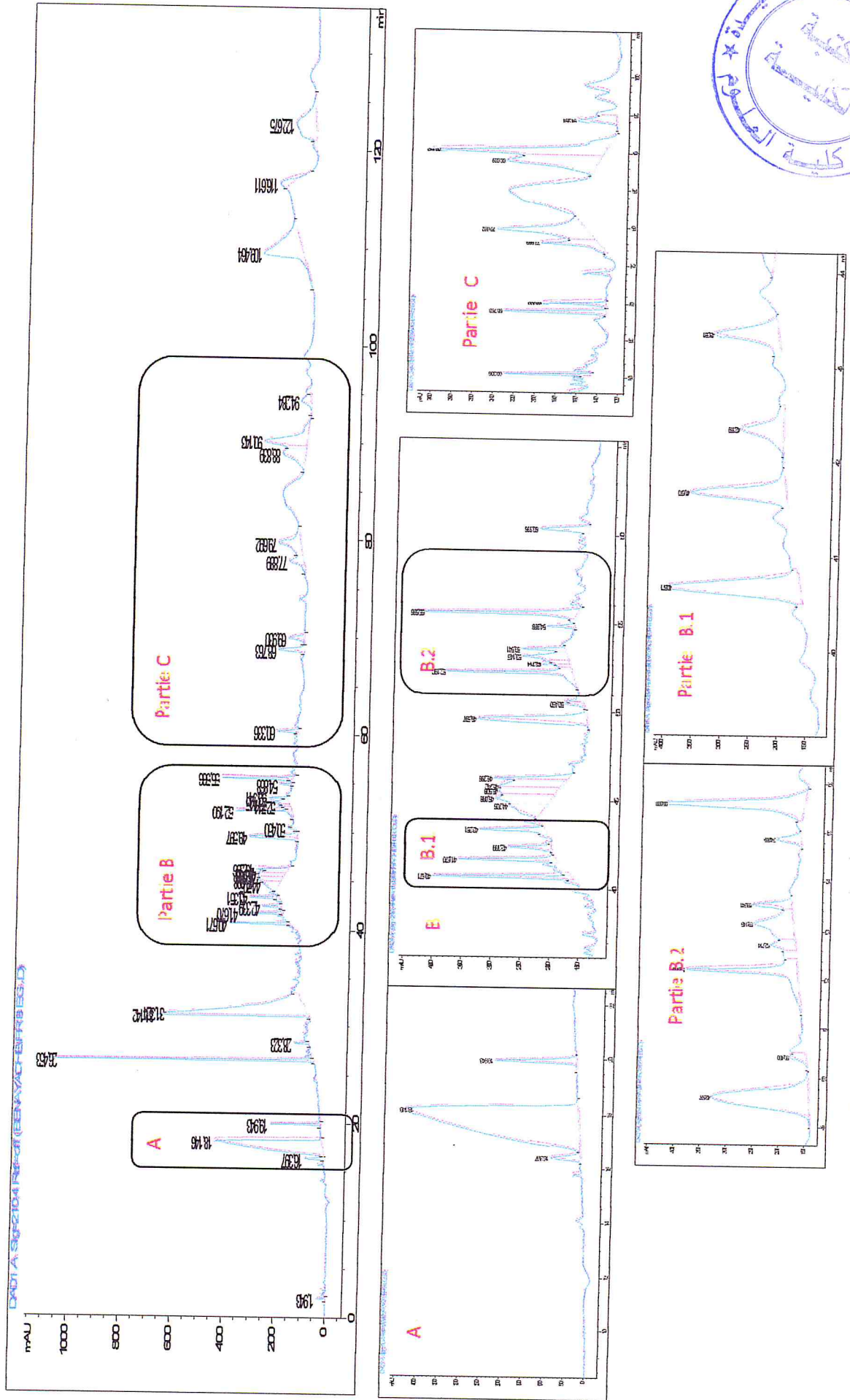


Figure 45 : Profil chromatographique de fraction 8 d'extract *E. granulata* en mode gradient.