



La flore alpine comme source de composés bioactifs

Anthonin Gori

► To cite this version:

Anthonin Gori. La flore alpine comme source de composés bioactifs. Chimie organique. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2020. Français. NNT : 2020GRALV050 . tel-03738127

HAL Id: tel-03738127

<https://theses.hal.science/tel-03738127>

Submitted on 25 Jul 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : **CHIMIE ORGANIQUE, PHYTOCHIMIE**

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Anthonin GORI

Thèse dirigée par **Marine PEUCHMAUR**,

Co-encadrée par **Benjamin BOUCHERLE**

et supervisée par **Aurélien REY**

Préparée au sein du **Département de Pharmacochimie Moléculaire**
et de **CHANEL Parfums Beauté** dans l'**École Doctorale Chimie & Sciences du Vivant**

LA FLORE ALPINE COMME SOURCE DE COMPOSÉS BIOACTIFS

ALPINE FLORA AS A SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS

Thèse soutenue publiquement le **10 juillet 2020**, devant le jury
composé de :

Pr Marie-Généviève DIJOUX

Professeur, Université Lyon-I, *Rapporteur*

Pr Evelyne OLLIVIER

Professeur, Université Aix-Marseille, *Rapporteur*

Pr Christiane GALLET

Professeur, Université de Savoie-Mont-Blanc, *Examineur*

Pr Jean-Luc WOLFENDER

Professeur, Université de Genève, *Examineur*, **Président du jury**

Dr Marine PEUCHMAUR

Maître de conférences, Université Grenoble Alpes, *Directrice de thèse*

Dr Benjamin BOUCHERLE

Maître de conférences, Université Grenoble Alpes, *Co-Encadrant de thèse*

Dr Nicola FUZZATI

Docteur, CHANEL Parfums Beauté, *Invité*

Dr Aurélien REY

Docteur, CHANEL Parfums Beauté, *Invité*



TITRE DE LA THESE EN FRANÇAIS :

LA FLORE ALPINE COMME SOURCE DE COMPOSES BIOACTIFS

RESUME DU PROJET DE LA THESE EN FRANÇAIS :

Depuis toujours, l'Homme exploite la nature et particulièrement le monde végétal dont les métabolites secondaires constituent une source complexe et originale de principes actifs. En particulier, ce projet de recherche consiste en l'étude phytochimique et biologique, pour des aspects thérapeutiques ou cosmétiques, des plantes endémiques des Alpes peu étudiées et soumises à des conditions de stress particulières (température, UV, altitude, etc.). Les critères de sélection des plantes ont été établis de manière collaborative entre le DPM et l'entreprise CHANEL Parfums Beauté, parmi lesquels on peut citer : la faible description dans la littérature, la disponibilité du matériel végétal, l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle ou encore l'intérêt des profils biologiques et/ou phytochimiques. Ces différents aspects de l'étude ont fait intervenir plusieurs collaborations : des botanistes de la SAJF pour la localisation et l'identification des espèces à récolter, une anthropologue ou encore des biologistes, déjà impliqués dans des projets de recherche avec le DPM. Après une étude générale des métabolites secondaires sur 22 plantes, une nouvelle sélection a abouti à un travail plus approfondi notamment sur une espèce : *Ajuga pyramidalis* L., pour laquelle une caractérisation précise de sa composition a été faite jusqu'à l'isolement de 5 composés qui ont fait l'objet d'une description précise (HRMS, RMN, cristallographie).

MOTS CLES EN FRANÇAIS :

Plantes Alpines, Métabolites secondaires, Dermo-cosmétique

TITRE DE LA THESE EN ANGLAIS :

ALPINE FLORA AS A SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS

RESUME DU PROJET DE LA THESE EN ANGLAIS :

Humans have always benefited from nature and more particularly, from the vegetal world, that can provide secondary metabolites, which constitute a complex and original source of active substances. This research project consists on phytochemical and biological analyses of Alpine plants, for their therapeutic or cosmetic applications. These plants have been poorly studied so far while they are potentially of major interest due to their stressful living conditions (temperature, UV, altitude, etc.). Selection criteria of plants were jointly established by DPM and CHANEL, based on the little description in the literature, the availability of vegetal material, the use of these plants in traditional medicine and the interest of biological or/and phytochemical profiles. The study

involved several collaborations: some botanists from the SAJF for the localization and the identification of the species to be harvested, an anthropologist and some biologists, already involved in other research projects with the DPM. After the general study of secondary metabolites of 22 plants, a new selection was made on a specie: *Ajuga pyramidalis* L. Then a precise characterization of its composition was then undertaken until the isolation of 5 compounds which have been precisely described (HRMS, NMR, crystallography).

MOTS CLES EN ANGLAIS :

Alpine plants, Secondary metabolites, Dermocosmetics

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier sincèrement toutes les personnes qui m'ont permis de mener à bien mon projet et avec qui j'ai pu échanger et m'enrichir pendant ces trois années.

Tout d'abord, je souhaite remercier M. Nicola FUZZATI ainsi que M. Ahcène BOUMENDJEL,

De m'avoir accueilli au sein de leurs laboratoires, et de m'avoir fait confiance pour la réalisation de ce projet.

À ma directrice et mon co-encadrant de thèse, Mme Marine PEUCHMAUR et M. Benjamin BOUCHERLE,

Pour leur soutien au cours de ces trois années de travaux, le partage de leurs connaissances et pour toutes leurs qualités d'encadrants. Merci, pour tout le temps que vous m'avez consacré lors de mes déplacements à Grenoble, et pour les anecdotes le long de la route pour aller au col du Lautaret (le tunnel des commères, le rocher de la tête de Louis XVI, etc.).

À mon responsable de recherches, M. Aurélien REY,

Pour le partage de ses connaissances, ses conseils au quotidien et la relecture de ce manuscrit. Tout simplement merci, pour le temps passé ensemble aussi bien au travail qu'en dehors.

Je souhaite remercier Mme Marie-Généviève DIJOUX, Mme Christiane GALLET, Mme Evelyne OLLIVIER et M. Jean-Luc WOLFENDER,

Pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant de faire partie du jury.

Un grand merci à M. Pierre CHALARD et Mme Christiane GALLET,

De m'avoir suivi pendant ces trois années lors des Comités de Suivi Individuels de thèse.

Un merci à M. Maxime ROME et M. Rolland DOUZET,

Pour la transmission de leurs connaissances botaniques et leur disponibilité lors des cueillettes de plantes au col du Lautaret.

À toute l'équipe des Actifs,

D'avoir facilité mon intégration au sein du laboratoire et d'avoir supporté ma maniaquerie durant ces trois années. Merci, pour les soirées au Brunelo, Eau Canal, et les autres, pour les fous rires, les bons moments passés ensemble, et ceux encore à venir.

Enfin, à ma famille, mes proches et mes amis,

Merci à tous d'être présents et de me supporter depuis toutes ces années. Un merci particulier à mes parents, qui m'ont toujours soutenu dans mes choix et ont toujours tout donné, sans épargner santé et efforts pour notre éducation à mon frère et moi.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	1
SOMMAIRE	3
INTRODUCTION GENERALE	7
HISTOIRE	11
1.1 DES PLANTES ET DES HOMMES	11
1.2 LES PLANTES ET L'INDUSTRIE	14
1.2.1 L'industrie pharmaceutique	14
1.2.2 L'industrie cosmétique	15
1.3 LA BIODIVERSITE	17
1.3.1 Hotspot	17
1.3.2 Le bassin méditerranéen	18
1.3.3 Les Alpes	19
1.3.4 Le Jardin botanique alpin du Lautaret (Station Alpine Joseph Fourier)	19
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	21
2.1 L'ETUDE DES PRODUITS NATURELS	21
2.2 LA PHYTOCHIMIE	22
2.3 LES MOLECULES ISSUES DU METABOLISME PRIMAIRE	22
2.3.1 Introduction	22
2.3.2 Les glucides	22
2.3.3 Les lipides	23
2.3.4 Les acides aminés	24
2.4 LES MOLECULES ISSUES DES METABOLISMES SECONDAIRES	24
2.4.1 Introduction	24
2.4.2 Les composés phénoliques	25
2.4.3 Les composés terpéniques	28
2.4.4 Les composés azotés	30
LA SELECTION DES PLANTES	35
3.1 BIBLIOGRAPHIE	35
3.2 METHODOLOGIE D'EXTRACTION	38
3.2.1 Extraction par méthode Precellys®	39
3.2.2 Extraction par macération	40
3.3 METHODOLOGIE DE SCREENING PHYTOCHIMIQUE	41
3.4 METHODOLOGIE DE CRIBLAGE BIOLOGIQUE	42
3.4.1 Cibles biologiques	42
3.4.2 Résultats	43
3.5 RESULTATS DU SCREENING DES PLANTES	44
3.5.1 Interprétation	44
3.5.2 <i>Achillea nana</i> L.	46
3.5.3 <i>Aconitum lycoctonum</i> subsp. <i>Vulparia</i> (Rchb.) Nyman	50
3.5.4 <i>Ajuga pyramidalis</i> L.	54
3.5.5 <i>Alchemilla alpina</i> L.	58

3.5.6	<i>Antennaria carpatica</i> (Wahlenb.) Bluff. & Fingerh.	62
3.5.7	<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	66
3.5.8	<i>Artemisia genipi</i> Weber	70
3.5.9	<i>Asphodelus albus</i> L. subsp. <i>delphinensis</i> (Gr. & Godr.) Diaz Lifente	74
3.5.10	<i>Astragalus monspessulanus</i> L.	78
3.5.11	<i>Astragalus onobrychis</i> L.	82
3.5.12	<i>Cirsium spinosissimum</i> (L.) Scop.	86
3.5.13	<i>Cota tinctoria</i> (L.) J. Gay	90
3.5.14	<i>Epilobium angustifolium</i> L.	94
3.5.15	<i>Epilobium fleischeri</i> Hochst.	98
3.5.16	<i>Knautia dipsacifolia</i> subsp. <i>dipsacifolia</i>	102
3.5.17	<i>Narcissus poeticus</i> L.	106
3.5.18	<i>Nepeta nepetella</i> L.	110
3.5.19	<i>Rosa pendulina</i> L.	114
3.5.20	<i>Salvia aethiopis</i> L.	118
3.5.21	<i>Scutellaria alpina</i> L.	122
3.5.22	<i>Trifolium alpinum</i> L.	126
3.5.23	<i>Trollius europaeus</i> L.	130
3.6	CONCLUSION	134
ÉTUDES AVANCEES SUR LES PLANTES		135
4.1	<i>AJUGA PYRAMIDALIS</i> L.	135
4.1.1	Bibliographie	135
4.1.2	Étude inter-espèces	136
4.1.3	Étude intra-espèce	136
4.1.4	Études qualitative et quantitative des extraits	139
4.1.5	Étude de purification	148
4.1.6	Identification des composés purifiés	152
4.1.7	Étude de cristallographie	162
4.1.8	Étude biologique	167
4.2	<i>SCUTELLARIA ALPINA</i> L.	170
4.2.1	Bibliographie	170
4.2.2	Études de quantification	170
4.2.3	Conclusion	173
CONCLUSION GENERALE		175
MATIERES PREMIERES UTILISEES		179
METHODES		185
5.1	METHODE 1	185
5.2	METHODE 2	185
5.3	METHODE 3	186
5.4	METHODE 4	186
5.5	METHODE 5	187
PROCEDURE		189
6.1	PROCEDURE 1 : QUANTIFICATION DE LA PARTIE LIPIDIQUE	189
6.1.1	Principe	189

6.1.2	Matériels	189
6.1.3	Réactifs	189
6.1.4	Protocole	189
6.2	PROCEDURE 2 : DOSAGE DES ACIDES AMINES	190
6.2.1	Principe	190
6.2.2	Matériels	190
6.2.3	Réactifs	190
6.2.4	Protocole	190
6.3	PROCEDURE 3 : DOSAGE DES SUCRES	192
6.3.1	Principe	192
6.3.2	Matériels	192
6.3.3	Réactifs	192
6.3.4	Protocole	192
CARACTERISATION		195
7.1	HARPAGOSIDE COMMERCIAL	195
7.2	8-O-ACETHYHARPAGIDE COMMERCIAL	199
7.3	COMPOSE 3.1 (HARPAGIDE)	202
7.4	COMPOSE 3.2 (8-O-ACETHYHARPAGIDE)	206
7.5	COMPOSE 3.4 (ECHINACOSIDE)	209
7.6	COMPOSE 3.5 (VERBASCOSIDE)	213
7.7	COMPOSE 3.7 (TEUPOLIOSIDE)	217
BIBLIOGRAPHIE		221
GLOSSAIRE (A DEPLIER)		229
ANNEXES		231
8.1	ANNEXE 1 : TABLEAU DE RECOLTES	231
8.2	ANNEXE 2 : LISTE DES SYNONYMES	233
8.3	ANNEXE 3 : LISTE DU NOMBRE DE PUBLICATIONS	238
8.4	ANNEXE 4 : RESULTATS D'ANALYSES BIOLOGIQUES	239
8.4.1	Résultats biologiques du donneur K341	239
8.4.2	Résultats biologiques du donneur K1087	241
8.4.3	Résultats biologiques du donneur K1089	243
8.5	ANNEXE 5 : COMMUNICATIONS ET PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES	245

INTRODUCTION GENERALE

De tout temps, les produits naturels ont été utilisés par l'Homme. Depuis le paléolithique jusqu'au XXI^{ème} siècle l'intérêt pour les plantes a évolué. Au départ, utilisées seulement pour l'alimentation, les ressources naturelles ont permis à l'Homme de se développer, il l'utilise maintenant comme source multiple d'étude et de valorisation.

La nature représente en effet une ressource inépuisable d'inspiration, elle est comparable à des petites usines biochimiques avec des millions d'années d'évolution équivalente à autant d'année de R&D. Toutefois, cette richesse n'est pas équitablement répartie sur le globe, elle est concentrée dans ce qu'on appelle des hotspots de biodiversité. Ces zones de protections sont récentes et ont évolué au cours du temps en fonction des changements géo-climatiques. Aujourd'hui, ceux-ci représentent seulement 2,4 % de la surface des continents mais ils regroupent 43 % des espèces vertébrées terrestres et 53 % des espèces végétales de la planète.^[1]

La région Provence-Alpes-Côte-d'Azur (PACA) fait partie d'un des 36 hotspots actuels de biodiversité dans le monde. Elle présente une très grande diversité de milieux associant des caractères méditerranéen et alpin. La Station Alpine Joseph Fourier (SAJF) se situe à la croisée des régions Auvergne-Rhône-Alpes et PACA, des Alpes du Nord et des Alpes du Sud, ainsi que des Alpes externes humides et des Alpes internes sèches. La combinaison de ces facteurs climatiques explique la diversité floristique unique de la région du Lautaret.^[2] Mes travaux de thèse s'inscrivent de ce fait dans un projet visant à valoriser la biodiversité végétale régionale, dans des domaines tels que la pharmaceutique ou la cosmétique.

Dans le domaine pharmaceutique, les besoins en nouveaux actifs sont de plus en plus importants. En effet, la population vieillissante, la résistance aux antibiotiques et la recrudescence de nouvelles maladies représentent de véritables problèmes de santé publique.^[3,4] Dans cette recherche toujours plus poussée de molécules originales aux propriétés biologiques particulières, les produits naturels sont utilisés comme source de structures chimiques inédites et comme inspiration pour la découverte et la conception de futurs médicaments. C'est particulièrement le cas dans les domaines des anticancéreux et des anti-infectieux pour lesquels 75 % des nouveaux principes actifs sont des molécules naturelles ou directement dérivées de celles-ci.^[5]

L'évolution de la cosmétologie a été considérable ces dernières années, notamment par le nombre de nouvelles substances naturelles mises sur le marché et par la pression de plus en plus forte sur leur réglementation.^[6] L'importance des connaissances est d'autant plus nécessaire que les produits cosmétiques, qu'ils soient innovants ou traditionnels, simples ou sophistiqués, ont aujourd'hui presque tous une efficacité prouvée.^[7-9] Le progrès indéniable attribué aux produits cosmétiques est en grande partie dû aux ingrédients actifs. En effet, leur utilisation en formulation ne peut être validée que s'ils sont accompagnés à la fois d'une analyse approfondie de leur

composition chimique, d'un dossier toxicologique suffisant qui démontre leur innocuité ainsi que d'une étude d'efficacité.

Ce mémoire de thèse s'articule autour de trois parties. La première, introduisant le contexte d'étude, ainsi que l'histoire de l'emploi des plantes par l'Homme, du paléolithique jusqu'à aujourd'hui. La deuxième partie, sera le cœur de ce manuscrit recensant la totalité des travaux effectués sur une portion de la biodiversité du Lautaret. Enfin, la dernière partie permettra de détailler les méthodes, appareillages et résultats obtenus.

CONTEXTE D'ETUDE

HISTOIRE

1.1 DES PLANTES ET DES HOMMES

Depuis les premières traces d'humanité au paléolithique, l'utilisation des plantes est constante.^[10,11] Du fait de leur disponibilité, les plantes et les ressources naturelles sont utilisées dans un premier temps pour la survie de l'espèce. Les plantes fournissent de nombreux éléments pour l'alimentation, avec des fruits, des noix, des graines ou encore des jeunes pousses.^[12,13] A la fonction alimentaire, s'associe très tôt l'utilisation matérielle des plantes. En effet, l'emploi des matières végétales tient une place majeure dans l'évolution de l'Homme, grâce au bois, aux feuilles, aux cordages naturels ou encore aux résines. Toutes ces ressources permettent la fabrication de nombreux objets, outils ou bien encore d'abris.^[14] Les premiers êtres humains découvrent aussi les propriétés médicinales des plantes en observant les animaux qui les entourent.^[15,16] Ils les utilisent alors autant en application topique qu'entérale. Des baumes sont créés à partir de broyats de plantes pour soulager les brûlures comme pour aider à la cicatrisation. En usage interne, des infusions sont utilisées à partir de mélanges de plantes pour soigner aussi bien la toux que pour réduire les douleurs. Un des anciens remèdes les plus connus est l'utilisation du pavot.^[17] Encore aujourd'hui, le pavot, et notamment la morphine qu'il contient, est utilisé en médecine pour soulager les douleurs.^[18] Cependant toutes ces applications du monde végétal ne sont que matérielles, et les plantes proposent bien d'autres choses encore : ce sont des amorces innombrables pour l'imaginaire. Le monde végétal, c'est autant de formes, de couleurs et d'odeurs qui font partie de traditions et cérémonies spirituelles pour de nombreux peuples.^[19,20]

Toutefois, l'emploi des plantes a longtemps eu lieu sans que les humains n'en connaissent les spécificités biologiques. Ils les utilisent sans savoir comment et pourquoi elles agissent. Il faut attendre les égyptiens, qui sont les premiers à développer l'art de l'horticulture, pour commencer à rassembler des connaissances sur les plantes, leurs méthodes de propagation et de mise en culture.^[21] C'est ainsi, qu'autour ou même au cœur des cités, les plus riches possèdent des jardins où sont cultivées des plantes médicinales mais aussi ornementales. Les premières traces écrites d'utilisation de plantes dans des remèdes ont été découvertes par des archéologues en 1960 sur une tablette sumérienne datant de 3000 ans avant J.-C. ainsi que sur un papyrus datant de 1500 avant J.-C.^[16] Ces documents décrivent différentes recettes de préparations médicinales contenant des plantes encore employées aujourd'hui comme le safran ou bien la myrrhe. Les égyptiens utilisent également les plantes comme produits cosmétiques, notamment des gommages parfumées qu'ils obtiennent en broyant les racines de végétaux ou encore des fards conçus à partir du coquelicot ou de la mûre.^[16] Mais les plantes ne sont encore étudiées que grossièrement à cette époque,

car le végétal est considéré comme inférieur : il n'est pas doté de fonction motrice propre. Il ne mérite alors pas d'observation fidèle.^[22]

La véritable histoire des plantes commence donc un peu plus tard, en même temps que le grand mouvement intellectuel né chez les Grecs au V^{ème} siècle avant J.-C.^[22] Leur mode de pensée, ouvert et méthodique, leur permet d'établir les bases de la médecine humaine. Très tôt, des ouvrages rassemblent les connaissances acquises sur les plantes. Ce ne sont pas des traités de botanique comme nous pouvons l'entendre aujourd'hui, mais ils permettent d'identifier les plantes et d'en connaître leurs vertus. Les dernières connaissances grecques en pharmacologie sont préservées par Dioscoride¹ dans son ouvrage « *De Materia Medica* » qui décrit plus de 800 plantes, avec leurs noms, leur habitat, leur distribution géographique et leurs utilisations. Cet ouvrage devient alors la référence en matière de pharmacologie jusqu'à la Renaissance.

Le Moyen âge est une période sombre pour la botanique et les travaux sur les plantes n'avancent que très lentement. Les moines établissent cependant des jardins de monastère aussi appelés « jardins des simples » où ils cultivent des plantes aux vertus médicinales mais aussi condimentaires comme le thym, la sauge ou la mélisse. Ils participent également à la retranscription des avancées acquises durant les derniers siècles. Pendant ce temps, la médecine Arabe évolue elle aussi avec notamment le travail d'Ibn al-Baitar et son ouvrage « *Kitāb al-Ğāmi' li-mufradāt al-adwiya wa-l-ağāya* – le traité des simples », qui regroupe la majorité des informations connues de l'empire Arabe, de l'Est (Iran et Iraq), du Nord de l'Afrique et de l'Espagne du VIII^{ème} et IX^{ème} siècle.^[23]

Le réveil d'un engouement pour les plantes s'amorce à la Renaissance en Europe lorsque la botanique devient une matière universitaire enseignée aux médecins. À cette époque le regard de l'Homme sur la nature, et particulièrement sur les végétaux, change. Les anciens traités sont redécouverts et commentés. L'invention de l'imprimerie au cours du XV^{ème} siècle révolutionne la diffusion des connaissances et de nombreux herbiers imprimés remplacent les manuscrits. À ce moment-là, la science botanique commence à être considérée comme une étude des plantes en elles-mêmes et plus seulement pour leurs propriétés médicinales. De nombreux auteurs consacrent des travaux importants à la description des végétaux, et les premières tentatives de classification voient le jour, comme celle du botaniste Andrea Cesalpino dans son livre « *De plantis libri* » paru en 1583. La méthode botanique s'organise, les diverses parties du végétal sont analysées, on établit des homologues entre les différentes espèces. Pour la première fois apparaissent des inventaires de la flore de plusieurs contrées. Ils constituent les premières ébauches de ce qui sera appelé plus tard les « flores ».

¹ Pedanius Dioscoride, médecin, pharmacologue et botaniste grec (25 apr. J.-C. – 90 apr. J.-C.)

La botanique théorique progresse considérablement grâce à l'amélioration des techniques, notamment l'apparition du microscope à la fin du XVI^{ème} siècle.^[24] À partir du XVII^{ème} siècle, au moment des premiers grands naturalistes voyageurs, des végétaux jusqu'alors inconnus des Européens sont rapportés du monde entier et les premiers jardins botaniques se créent en Europe. Le premier à être fondé dans le monde est le jardin de Pise « *Orto botanico* » en 1543, rapidement suivi par d'autres villes italiennes comme Padoue ou Florence. Quant au premier jardin botanique français, c'est en 1593 qu'il est construit, à Montpellier, dans la faculté de médecine, plus tard, c'est celui du Lautaret qui sera implanté en altitude.

Les jardins botaniques diffèrent des jardins des simples et des jardins communs par une disposition particulière des plantes, classées par massif. Cette disposition permet une meilleure conservation des espèces avec la collecte et l'étude des plantes locales et exotiques et facilite les travaux des chercheurs, dans la taxinomie, la botanique et tous les autres types d'expériences.

Plus tard, les botanistes se heurtent à un problème de plus en plus fondamental : la classification des végétaux. Les premières classifications apparaissent mais ne sont pas complètes. Le botaniste Carl von Linné met en forme les principes de la botanique en 1735 dans son œuvre « *Systema Naturæ* ». Il établit entre autres le système binomial de désignation des espèces que l'on connaît actuellement grâce à une combinaison de deux noms latins, le genre et l'espèce. Cette classification permet de caractériser non seulement les plantes, mais aussi toutes les espèces vivantes sur Terre. De nos jours, tout le monde connaît le *Tyrannosaurus rex* ou bien encore nous-mêmes, *Homo sapiens*.

La seconde moitié du XVIII^{ème} siècle est marquée en France par le siècle des Lumières. À cette époque de nombreux progrès sont réalisés en botanique comme en pharmacologie. C'est l'Age d'Or des produits naturels. Les chercheurs commencent à isoler les premiers composés actifs des plantes, et la morphine est la première substance à être purifiée par le pharmacien allemand Sertüner en 1804.^[25] Un peu plus tard, les pharmaciens français Pelletier et Caventou isolent à leur tour une nouvelle substance, la quinine.^[26] Les scientifiques développent alors sans cesse de nouvelles techniques pour purifier, analyser et identifier les nombreuses molécules composant les plantes.

Les produits naturels commencent à devenir la référence en terme de pharmacopée et représentent la majorité des utilisations médicinales jusqu'à l'apparition de la chimie organique moderne, au début du XX^{ème} siècle.^[5,27] A partir de ce moment, on assiste à un recul considérable de l'usage des produits naturels dans les pharmacopées, néanmoins, l'estimation actuelle de leur utilisation varie entre 25 et 50 %.^[28] Ces chiffres, variant du simple au double, s'expliquent par différentes définitions qui peuvent être faites des produits naturels. La définition peut être stricte et comprendre seulement les composés organiques synthétisés par un organisme

vivant.^[29] Certaines définitions englobent aussi les produits naturels préparés par synthèse chimique (hémisynthèse ou synthèse totale).

1.2 LES PLANTES ET L'INDUSTRIE

1.2.1 L'industrie pharmaceutique

Le marché mondial de l'industrie pharmaceutique représente actuellement un des secteurs de vente les plus importants. L'industrie pharmaceutique, de la recherche jusqu'à la production et la commercialisation de médicaments, a en effet dépassé le millier de milliards de dollars en 2014 (Figure 1) et a continué de croître depuis. En comparaison, la capitalisation des entreprises Google, Amazon, Facebook, Apple et Microsoft représente environ 5000 milliards de dollars en 2019.^[30]

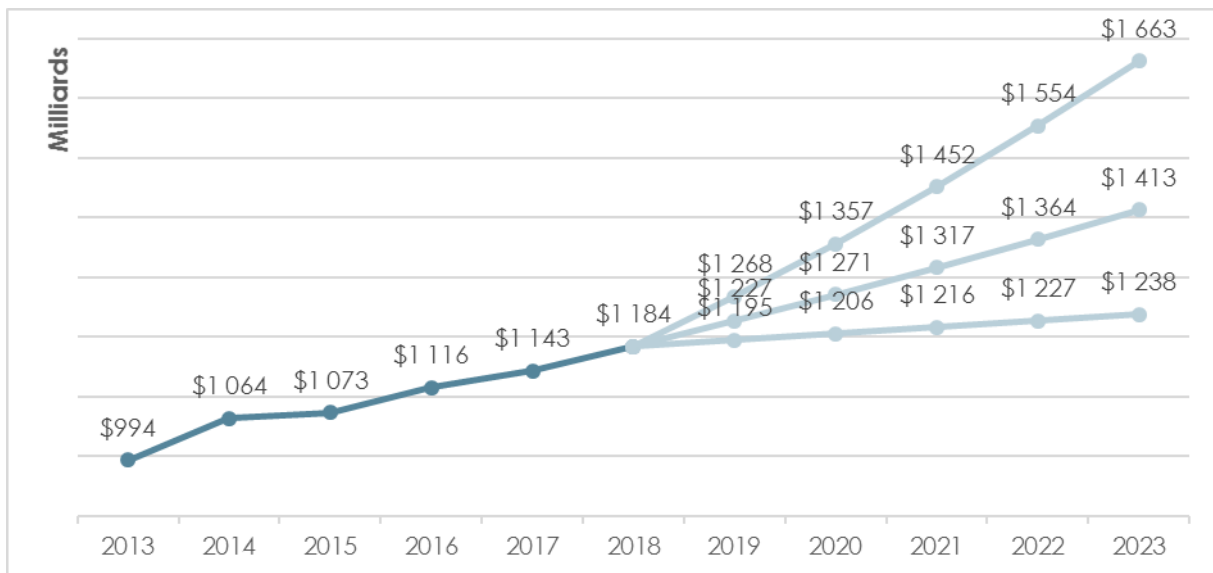


Figure 1. Valeur du marché pharmaceutique mondial de 2013 à 2018 et les prévisions de 2019 à 2023 (hypothèses haute, médiane et basse)^[31]

Lors des cinq dernières années, ce marché n'a cessé d'augmenter et par projection, il dépassera les 1 600 milliards de dollars en 2023 dans les estimations les plus optimistes.

L'engouement pour les nouvelles technologies et les biotechnologies va engendrer de nouvelles modifications dans l'utilisation des ressources naturelles. De 2014 à 2018, de plus en plus de produits naturels ou naturels modifiés sont approuvés comme médicaments.^[32] C'est le cas par exemple de la fidaxomicine, un médicament antibactérien issu de fermentations biotechnologiques, et de plus d'une cinquantaine de produits naturels qui ont pu démontrer leurs activités biologiques dans la deuxième décennie du XXI^{ème} siècle.^[32]

La naturalité gagne tous les secteurs de la pharmacie, y compris l'officine. Les consommateurs se tournent actuellement vers l'herboristerie, les compléments alimentaires à base de plantes, l'aromathérapie et l'offre est en progression constante. Ces marchés, que l'on retrouve dans d'autres circuits de distribution, s'installent en pharmacie avec des promesses thérapeutiques plus affirmées, en quasi-substitution à l'automédication, et le métier de pharmacien tend doucement vers un retour aux sources étroitement liées aux plantes.

1.2.2 L'industrie cosmétique

1.2.2.1 Étude de marché

Le marché mondial de la cosmétique fait partie des secteurs les plus stables et en plus forte croissance malgré une diminution des ventes en 2015 (Figure 2). Il est aujourd'hui estimé à près de 490 milliards de dollars.^[33] Dans moins de cinq ans, il sera coté entre 520 et 630 milliards de dollars.

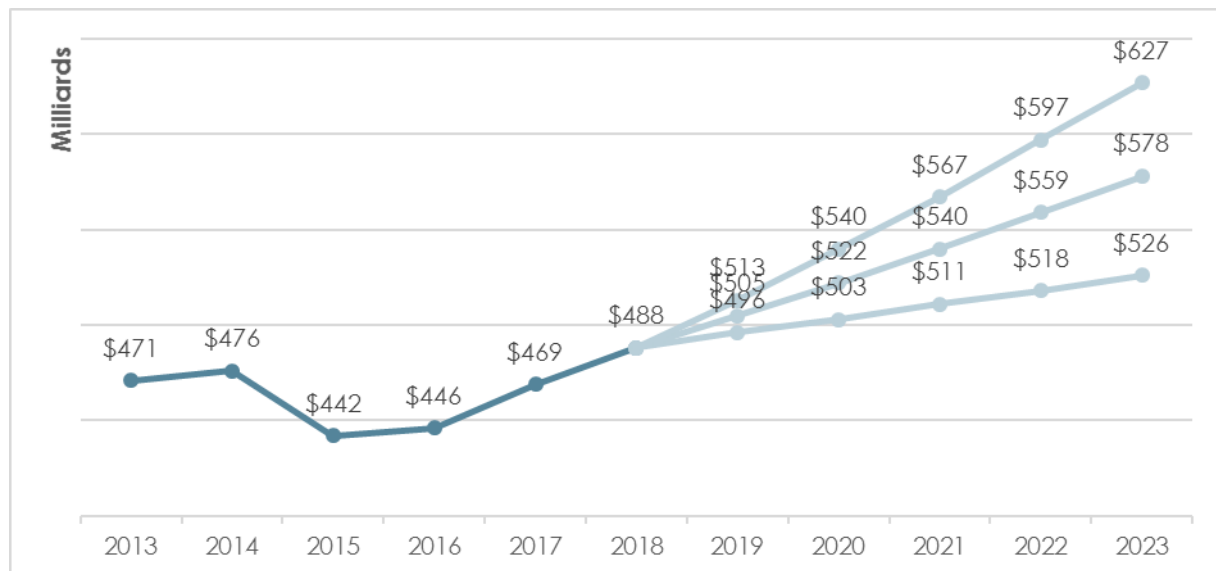


Figure 2. Valeur du marché cosmétique mondial de 2013 à 2018 et les prévisions de 2019 à 2023 (hypothèses haute, médiane et basse). Source : Adapté d'Euromonitor.^[33]

D'un point de vue géographique, le marché européen était le leader des ventes jusqu'en 2014. Mais l'essor du marché asiatique, avec sa grande croissance démographique et l'augmentation en nombre de ses classes moyennes et supérieures, a fait exploser sa part de marché depuis. Par conséquent, il représente aujourd'hui à lui seul plus de 33 % des ventes. Selon les estimations, d'ici 2023, 40 % des ventes mondiales proviendront d'Asie, et la Chine, à elle seule, représentera 75 % de ces ventes (Figure 3).^[33-35]

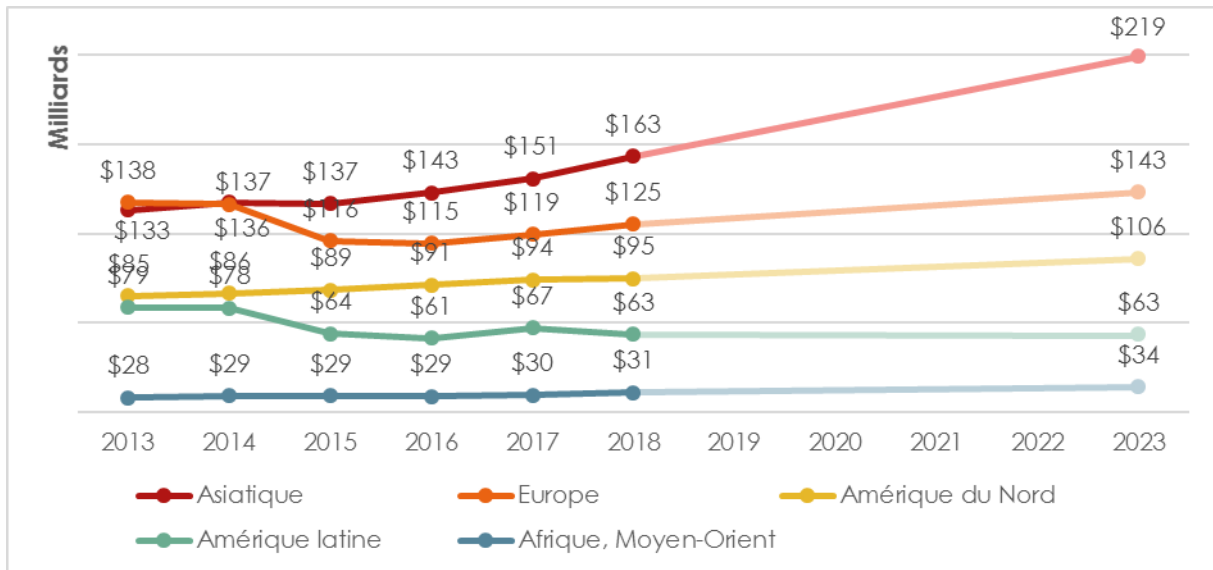


Figure 3. Valeur du marché cosmétique par zone de 2013 à 2018 et les prévisions de 2019 à 2023.
Source : Adapté d'Euromonitor.^[33]

Plusieurs facteurs font du marché cosmétique un succès. Premièrement, l'urbanisation et l'accès à internet sont des causes majeures. En cinq ans, au niveau mondial, le nombre d'internautes est passé de 2,8 milliards en 2013 à 4,4 milliards en 2019, soit plus de 57 % de la population mondiale.^[36,37] De ce fait, les consommateurs ont maintenant un accès plus facile et direct pour l'achat de nouveaux produits. Les ventes en lignes des produits cosmétiques ont augmenté de plus de 20 % chaque année depuis 2015 jusqu'à 2018.^[33] Deuxièmement, la nouvelle génération de consommateurs a elle aussi fait bouger le marché cosmétique. Elle consomme plus responsable et plus éthique. Elle demande, de la part des entreprises, une transparence totale dans l'éco-conception et la création de leurs produits. Cette nouvelle génération veut consommer moins, mais est prête à payer beaucoup plus cher pour des produits qui correspondent à ses valeurs.^[38] De ce fait, la cosmétique de luxe et du prestige a engendré la plus grande hausse de chiffre d'affaire avec près de 10 % de croissance chaque année entre 2016 et 2018.^[33] Les consommateurs ont compris que leurs comportements d'achats avaient un impact direct sur le monde.

L'utilisation de produits naturels dans les cosmétiques est devenue incontournable pour toutes les marques. Plus que l'emploi de ces matières premières, c'est toute la mise en place de filières, et de la traçabilité qui l'accompagne, qui joue un rôle majeur pour les valeurs des marques. Il n'est aujourd'hui plus question de passer outre les enjeux environnementaux. La protection de l'environnement pour les entreprises fait à la fois référence à des enjeux ethnobotaniques et de protection de la biodiversité.

1.3 LA BIODIVERSITE

1.3.1 Hotspot

La Nature a toujours été une source de savoirs et de recherche pour les scientifiques, mais la répartition de la biodiversité sur Terre est inégale. En effet, elle est concentrée dans des « hotspots de biodiversité ». Ce concept a été défini pour la première fois en 1988 par le scientifique britannique Norman Myers. Il identifie, avec son équipe, 25 habitats caractérisés par un taux exceptionnel d'endémisme ainsi qu'une perte de surface d'au moins 70 % de leur végétation primaire.^[1] La perte de surface peut être due à l'urbanisation, la déforestation, l'agriculture intensive ou bien encore à des raisons géo-climatiques. Un an après l'introduction du terme de hotspots, en 1989, l'ONG Conservation International adopte l'idée de protéger ces endroits en priorité comme fondement de son action. Elle définit deux critères stricts pour la nomination de nouveaux hotspots : la zone géographique doit comprendre 1500 espèces de plantes endémiques et doit avoir conservé au maximum 30 % de son habitat d'origine.^[39]

Au cours des dernières années, les hotspots ont sans cesse été réévalués pour arriver à un total actuel de 36 hotspots, les deux derniers identifiés étant les forêts de la côte Est de l'Australie en 2011 et les plaines côtières Nord-Américaine en 2016 (Figure 4).^[40] Ces hotspots regroupent 43 % des espèces de vertébrés terrestres et 53 % des espèces de plantes de la planète et pourtant ils représentent seulement 2,4 % de la surface des continents. ^[1,39]



Figure 4. Carte du monde des 36 hotspot de biodiversité. Source : Adapté de la CEPF.^[40]

Mais leur biodiversité, et de ce fait la biodiversité mondiale, est très menacée comme le révèlent les listes rouges publiées par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature. Selon les dernières estimations, 28 % de la faune et 70 % de la flore sont

aujourd'hui fortement menacées et 27 % de ces espèces sont considérées comme en danger d'extinction.^[41] Ces hotspots regorgent de plantes endémiques aussi fascinantes les unes que les autres et leur perte serait un désastre à la fois pour la planète et pour les chercheurs.

1.3.2 Le bassin méditerranéen

Le bassin méditerranéen est identifié comme le deuxième plus grand hotspot au monde.^[42] Il s'étend sur plus de deux millions de kilomètres carrés (2 085 292 km²) d'Ouest en Est du Portugal à la Jordanie et du Nord au Sud de l'Italie jusqu'au Maroc (Figure 5).^[43] Ce hotspot inclut une partie de douze pays entourant la mer Méditerranée, dont la France. C'est le troisième hotspot le plus riche en termes de biodiversité végétale avec plus de 30 000 espèces de plantes.^[44]

Par ailleurs, il possède une des plus grandes concentrations d'espèces endémiques aussi bien pour sa faune que pour sa flore. Cette caractéristique peut être attribuée à sa position géographique, à l'intersection de deux continents : L'Eurasie et l'Afrique, à son climat méditerranéen, dominé par des étés chauds et très secs, de très fortes précipitations en automne et des hivers frais. Au sein même de ce hotspot, dix principales zones de haute priorité de conservation ont été définies.^[45] Une autre zone est à prendre en compte d'après les nouveaux bilans de recensement floristique, le Cap-Vert. Ces écorégions abritent environ 5500 végétaux endémiques, ce qui représente 56 % de la flore méditerranéenne sur 22 % des terres.^[45,46]



Figure 5. Zoom sur le hotspot du bassin méditerranéen. Source : Adapté de la CEPPF.^[40]

Le bassin méditerranéen comporte de nombreuses écorégions en bord de mer et marines, mais le hotspot est également très montagneux avec divers sommets dont certains pouvant dépasser les 4000 m, les Alpes.

1.3.3 Les Alpes

Les alpes maritimes sont caractérisées par des différences géographiques, à la fois côtières et montagneuses. Les différences météorologiques et géographiques ont induit une biodiversité riche de 1500 à 2500 espèces et sous-espèces de végétaux.^[2,47] Ce hotspot est cependant lui aussi très menacé notamment par une surpopulation des régions Auvergne-Rhône-Alpes et Provence-Alpes-Côte-d'Azur qui enregistrent une augmentation de population respective de 0,7 % et de 0,5 % par an depuis trois ans, toutes les deux supérieures aux moyennes nationales.^[48] De plus, le tourisme est en forte croissance, et ces deux régions s'imposent comme les deuxième et troisième plus touristiques de France derrière l'Ile-de-France.^[48-50] Étant très attractives, elles se sont peu à peu tournées vers le tourisme balnéaire et de montagne. L'agriculture et les surfaces agricoles ont en partie laissé place à des projets d'urbanisation.^[51] Malgré cela de nombreuses dispositions sont prises par ces deux régions afin de protéger cette biodiversité fragile. Par ailleurs, 6 des 11 parcs nationaux français (Parcs nationaux de Port-Cros, de la Vanoise, des Calanques, des Cévennes, des Écrins et du Mercantour) sont situés sur ces 2 régions.^[52,53] A leur niveau, ils multiplient les actions pour la préservation de la biodiversité :

- Développer le savoir et le suivi scientifique, avec la mise en place d'observatoires, d'inventaires, ou encore de partage de connaissances entre différents acteurs scientifiques.^[53]
- Conserver et gérer le patrimoine naturel et culturel, avec des actions de veille et de surveillance contre le pillage et une réglementation spécifique de ces parcs, mais aussi la lutte contre les espèces exotiques envahissantes.^[53]
- Sensibiliser et éduquer le public aux enjeux sur la préservation de la biodiversité, avec des programmes de formation et de découverte.
- Participer aux discussions politiques régionales, nationales et européennes sur la protection des patrimoines et à la mise en œuvre des engagements.^[53]

De plus, de nombreuses actions de communication et de sensibilisation de la population sont mises en place, avec la création de sentiers botaniques, l'édition de divers livres et des événements organisés par différents sites touristiques, comme les jardins botaniques.^[2,54-56]

1.3.4 Le Jardin botanique alpin du Lautaret (Station Alpine Joseph Fourier)

Le jardin alpin du Lautaret a été créé en 1899 par le botaniste et professeur Jean-Paul Lachmann. Le choix du site est dû majoritairement à la position géographique privilégiée située à la croisée des différents climats mais également à la facilité d'accès de ce site. En effet, c'est une des rares zones de haute montagne (2000 m) accessible par route à cette époque.^[2]

À ses débuts, le jardin alpin abritait une collection de 500 espèces des Alpes qui s'est rapidement enrichie pour contenir plus de 1500 espèces. Le jardin prospérait jusqu'en

1913 sur son site initial, mais à cette date, l'administration des Ponts et Chaussées souhaitant améliorer l'accès au col du Galibier, décide d'y faire passer une route. Soutenu par Léon Auscher¹ et la compagnie Paris-Lyon-Méditerranée, le jardin réussit à se déplacer pour rejoindre sa position actuelle à 2100 m d'altitude.^[57,58]

L'université de Grenoble a acquis la gestion du jardin en 1984 et nomme à ce moment-là un directeur et un responsable horticole. De nombreuses améliorations sont alors mises en place, avec par exemple la construction d'un bâtiment d'accueil pour le public et la création d'un laboratoire de recherches en 1989. L'impact culturel, scientifique et touristique du jardin lui font gagner trois titres : les labels « Jardin Botanique » et « Conservatoire des Collections Végétales Spécialisées » en 1998 et celui de « Jardin remarquable » en 2005.^[59]

Aujourd'hui, le Jardin fait partie d'une Unité Mixte de Services de l'Université Grenoble Alpes et du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), appelée la Station Alpine Joseph Fourier (SAJF). Cette unité travaille à la fois sur le campus de Grenoble (arboretum Robert Ruffier-Lanche et serres) et au col du Lautaret (Jardin botanique alpin, Chalet-laboratoire, Galerie de l'Alpe). Les différentes missions de cette unité concernent la recherche et l'entretien de collections botaniques alpines du monde entier et elle participe aussi à la formation d'étudiants et à la vulgarisation scientifique auprès du grand public.

Le Jardin Botanique du Lautaret est un véritable lieu de découvertes et de recherches ouvert au grand public avec sa collection de plus de 2300 espèces vivantes et ses nombreux événements culturels. La biodiversité des environs et la facilité d'accès en fait un lieu privilégié pour l'étude des plantes alpines et leur phytochimie.

¹ Léon Auscher, ingénieur et ancien Vice-président du Touring-Club de France, (1866-1943)

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1 L'ETUDE DES PRODUITS NATURELS

La recherche de nouveaux actifs issus de produits naturels est complexe et chronophage. Pour la mise en place sur le marché d'un actif cosmétique par exemple, on estime qu'entre une et cinq années de recherche et développement sont nécessaires, et ce chiffre peut considérablement augmenter pour des actifs pharmaceutiques.

Afin d'obtenir un actif viable, il est nécessaire d'étudier des centaines de composés avant d'identifier une « touche » potentielle. En effet, en plus de son intérêt applicatif, l'actif doit être disponible en quantité suffisante pour la production, être adapté à la formulation choisie et satisfaire à toutes les normes réglementaires et toxicologiques. Malgré ces restrictions, l'utilisation de végétaux est devenue incontournable pour les consommateurs qui souhaitent un retour à des produits naturels et sûrs, mais aussi car la nature est un immense réservoir de molécules potentiellement bioactifs, notamment chez les végétaux, dont les extraits peuvent venir de différentes parties de la plante (Figure 6).

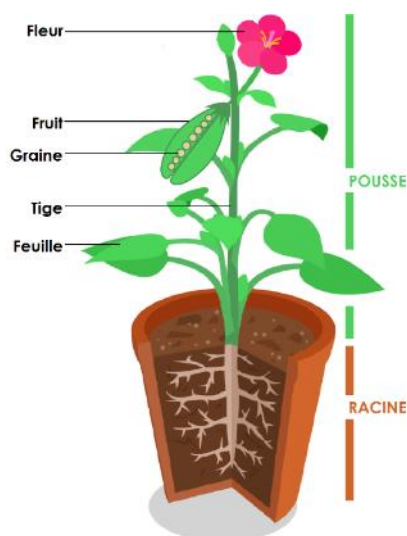


Figure 6. Structure d'une plante. Source : Adapté de Kelvinsong, Wikimedia.^[60]

Les laboratoires étudient des centaines de plantes chaque année ainsi que la phytochimie spécifique à chaque partie de la plante afin de découvrir des molécules originales et de nouvelles activités biologiques.

2.2 LA PHYTOCHIMIE

La phytochimie, du grec *phytón* désignant le végétal et *khêmeia* désignant le mélange,^[61,62] est une alliance de plusieurs disciplines scientifiques dont le but est d'isoler, purifier, analyser et caractériser les substances chimiques produites par les végétaux.^[63] Toutes ces molécules organiques, qui peuvent être très complexes, sont synthétisées à partir d'une première étape qui est la photosynthèse.^[64] Elles peuvent être classées en deux grandes catégories, les molécules issues du métabolisme primaire et celles issues du métabolisme secondaire.

Les parties suivantes de cette thèse s'intéresse aux différentes molécules, à leurs aspects chimiques et phytochimiques, ainsi qu'à leurs utilisations en pharmaceutique et en cosmétique. En revanche, elle est non exhaustive et présente seulement un aperçu de la diversité moléculaire.

2.3 LES MOLECULES ISSUES DU METABOLISME PRIMAIRE

2.3.1 Introduction

Les métabolites primaires sont directement liés au développement et à la reproduction de la plante. Ce sont des molécules universelles, c'est-à-dire qu'on les retrouve dans quasiment tous les êtres vivants. Ce sont les glucides, les acides aminés, les lipides et les acides nucléiques.^[65,66]

2.3.2 Les glucides

Les glucides sont à la base des mécanismes énergétiques et de biosynthèse des végétaux. Ils sont également à l'origine de plusieurs familles de métabolites secondaires.^[63] Dans les végétaux, les glucides libres les plus fréquents sont le glucose, le fructose et le sucrose.^[67]

De formule chimique $C_n(H_2O)_m$, les glucides sont composés d'une chaîne carbonée linéaire non ramifiée, ne comportant que des liaisons simples et d'une fonction réductrice (Figure 7). En solution, un équilibre se forme entre la forme linéaire et les formes cycliques à cinq ou six carbones appelées respectivement furanose ou pyranose (Figure 7).^[63]

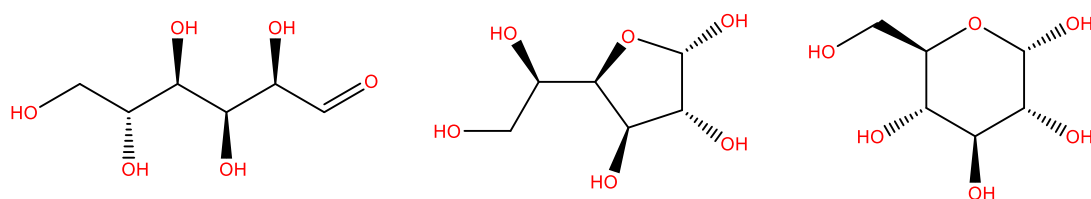


Figure 7. Structures de saccharides linéaire (D-glucose) et cycliques (α-D-glucofuranose, et α-D-glucopyranose)

Les glucides peuvent être classés dans trois groupes en fonction de leur degré de polymérisation : les monosaccharides (une unité), les oligosaccharides (moins de dix unités) et les polysaccharides (plus de dix unités) (Figure 8).

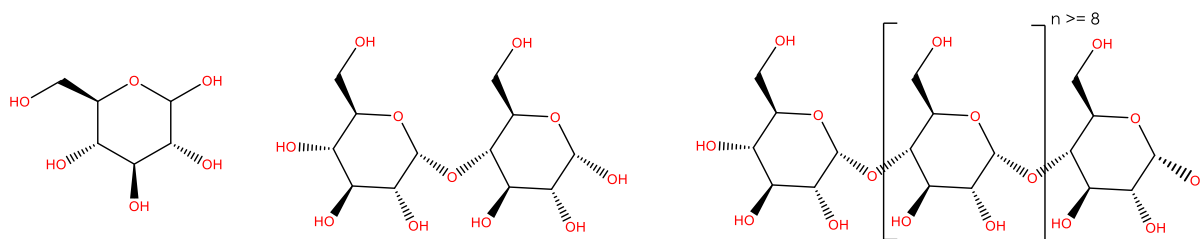


Figure 8. Structures de monosaccharide, oligosaccharide et polysaccharide du glucose

Les polysaccharides sont une famille de molécules complexes assurant un grand nombre de fonctions vitales chez les êtres vivants, dont certaines sont, au demeurant, fort mal connues. Néanmoins, en cosmétique, les polysaccharides d'origine naturelle sont très utilisés pour leurs propriétés à l'origine de la formation de gels comme la gomme de xanthane.^[68] De plus, certains polysaccharides ont une forte capacité de rétention de l'eau, ce qui en fait de bons hydratants comme l'acide hyaluronique.^[69] Dans la pharmacutique, les polysaccharides peuvent être utilisés comme barrière gastrique, c'est le cas par exemple des alginates.^[63]

2.3.3 Les lipides

Les lipides sont des substances naturelles avec des fonctions très variées, comme la réserve énergétique, la formation de structures cellulaires ou encore la signalisation cellulaire.^[63] Ils peuvent être classés en différentes catégories : les lipides simples et les lipides complexes.

- Les lipides simples

Ce sont des acides gras ou des esters d'acides gras, appelés glycérides. Chimiquement, les acides gras sont des acides organiques linéaires, pouvant posséder des liaisons insaturées, de formule brute $C_nH_{2n-2x}O_2$ où x est le nombre d'insaturations. Les acides gras les plus courants dans la nature sont ceux à 16 et 18 carbones et leurs homologues insaturés (Figure 9).^[63] Les glycérides résultent de l'estérification entre un ou plusieurs acides gras et le glycérol, appelés mono-, di- ou triglycéride (Figure 9). Ils représentent la famille la plus abondante des lipides.

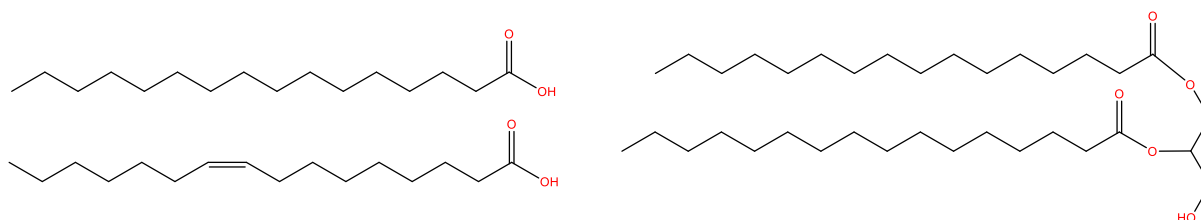


Figure 9. Structures d'acides gras saturé (acide palmitique), insaturé (acide palmitoléique) et d'un diglycéride (diglycéride d'acide palmitique)

- Les lipides complexes

Il existe de nombreux lipides complexes comme les glycolipides ou les phospholipides. Ils jouent un rôle fondamental dans les organismes vivants, mais à l'exception des lécithines, ils n'ont pas, à ce jour, d'applications pharmaceutiques. En cosmétique, les phospholipides ou les céramides sont de plus en plus utilisés dans les crèmes de soin pour un effet adoucissant, réparateur de la barrière ou encore hydratant.^[69] Les corps gras sont également utilisés dans la formulation d'émulsions car ils stabilisent celles-ci grâce à leur propriété amphiphile.^[68]

2.3.4 Les acides aminés

Les acides aminés sont des métabolites indispensables comme constituant des protéines structurales et enzymatiques. Ils sont également à l'origine d'un large éventail de métabolites secondaires, notamment les phénylpropanoïdes.

Chimiquement, les acides aminés sont tous constitués d'une fonction carboxyle et d'une fonction amine (Figure 10). Ils possèdent également une chaîne latérale identifiant l'acide aminé, notée R (Figure 10). Il existe des acides α -aminés, β -aminés, γ -aminés et δ -aminés, distinguant ainsi la position du groupement amine par rapport au groupement carboxyle.

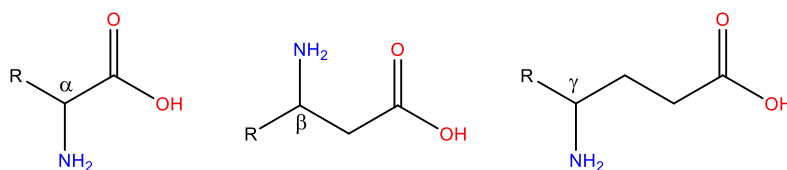


Figure 10. Structures des acides aminés (α , β , γ)

En cosmétique, les acides aminés sont employés en tant qu'élément hydratant et nutritif dans les lotions notamment.^[68] De plus, les acides aminés tout comme les peptides sont très actifs au niveau anti-âge.^[70,71] Par exemple, l'arginine permet de stimuler les cellules de la peau dans le but d'améliorer la production de collagène.^[69]

2.4 LES MOLECULES ISSUES DES METABOLISMES SECONDAIRES

2.4.1 Introduction

Les métabolites secondaires ne sont pas directement liés au développement de la plante, mais jouent un rôle dans la survie et donnent des avantages évolutifs à l'espèce. Ces substances naturelles sont spécifiques aux végétaux et marquent l'identité d'une espèce, d'un genre ou d'une famille. Il s'agit principalement des composés phénoliques, des terpénoïdes et des alcaloïdes.^[65,66]

2.4.2 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques des végétaux correspondent à un vaste ensemble de molécules qui ont toutes en commun un noyau benzénique portant un ou plusieurs hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction.^[63] Une définition purement chimique des phénols est toutefois insuffisante pour caractériser les composés phénoliques des végétaux. En effet, celle-ci engloberait des métabolites secondaires comportant des phénols mais appartenant à d'autres familles phytochimiques. C'est le cas de la morphine que l'on classe dans les alcaloïdes.^[65]

Les composés phénoliques interviennent dans différents aspects de la vie des plantes comme la coloration des fleurs, les mécanismes de défense ou les mécanismes physiologiques.^[63]

Il existe deux grandes voies de synthèse pour la formation de ces composés :

- Via le shikimate (acide shikimique) : il s'agit de la voie la plus courante qui permet la formation d'acides-phénols, de flavonoïdes, de lignanes, etc.
- Via l'acétate (cyclisation des poly- β -cétoesters) : cette seconde voie conduit à des polyacétates comme les xanthones, les isocoumarines ou encore les quinones.

2.4.2.1 Les acides phénols

Le terme d'acides-phénols peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, mais la pratique courante en phytochimie conduit à réserver l'emploi de cette dénomination aux dérivés d'acide benzoïque (C6-C1) et d'acide cinnamique (C6-C3) (Figure 11).^[63]

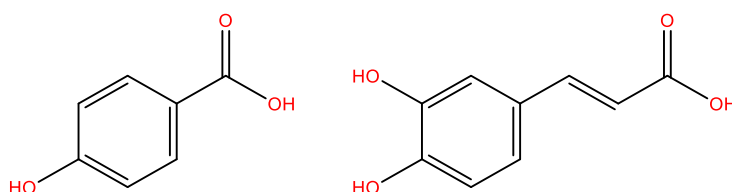


Figure 11. Structures de dérivé d'acide benzoïque (acide para-hydroxybenzoïque) et de dérivé d'acide cinnamique (acide caféique)

Il est fréquent que ces acides estérifient les hydroxyles de nombreux métabolites secondaires, comme l'acide quinique formant alors des acides caféoylquiniques (Figure 12).

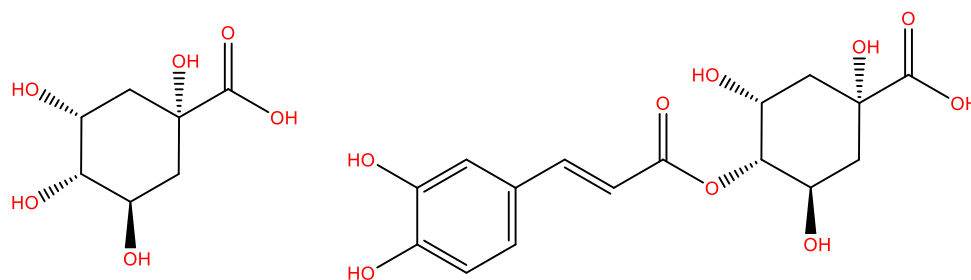


Figure 12. Structures de l'acide quinique et de l'acide 4-caféoylquinique

En cosmétique, les acides-phénols sont utilisés dans les crèmes de soin, particulièrement pour leurs pouvoirs anti-inflammatoire ou antihistaminique.^[71] Il est également à noter que plusieurs composés sont antibactériens ou antifongiques.^[63]

2.4.2.2 Les coumarines

Il existe plus d'un millier de coumarines décrites, elles sont largement distribuées dans le règne végétal.^[63] Elles jouent un rôle majeur dans les mécanismes de défense des végétaux ainsi que dans les relations plantes-insectes du fait de leurs propriétés allélochimiques.^[63]

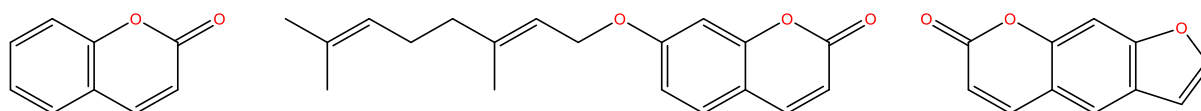


Figure 13. Structures du 2H-1-benzopyran-2-one, de l'auraptène, et du psoralène

Chimiquement, toutes les coumarines possèdent le même élément structural de base, le 2H-1-benzopyran-2-one (Figure 13). La prénylation est également un élément structural commun à beaucoup de coumarines (ex. auraptène), ce qui explique l'existence d'un nombre important de structures dérivées avec notamment des coumarines polycycliques comme le psoralène (Figure 13).^[63]

En pharmacologie les propriétés photodynamisantes des coumarines en font de bons composés pour le traitement de nombreuses dermatoses, notamment le psoriasis.^[63] Néanmoins, en cosmétique, du fait de leur phototoxicité, les coumarines ne sont pas des molécules privilégiées. Autrefois utilisées dans les crèmes solaires assurant une meilleure protection contre les radiations UV, elles ont depuis été démontrées responsables dans la genèse de cancers cutanés. De ce fait, elles sont maintenant soumises à des restrictions cosmétiques.^[63,72]

2.4.2.3 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.^[4] Les flavonoïdes sont également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV.

Chimiquement, tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base, le 2-phénylchromane (Figure 13).^[63] Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, lequel peut être ouvert et recyclisé en un motif furanique (Figure 14).^[65]

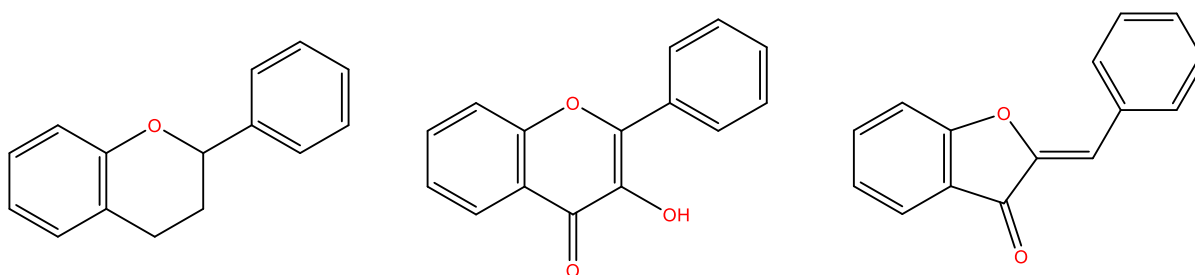


Figure 14. Structures du 2-phénylchromane, et des aglycones de flavonols et d'aurones

En cosmétique, leurs forts potentiels antioxydants en font des molécules d'intérêt pour les produits de soin.^[69] Ils sont également reconnus pour être « veino-actifs », et donc anti-inflammatoires.^[63]

2.4.2.4 Les lignanes

Dans les végétaux, il est supposé que les lignanes jouent un rôle important dans leurs défenses, notamment du fait de leurs propriétés toxiques, antifongiques ou antibactériennes.^[63] De plus, leurs propriétés antioxydantes pourraient jouer un rôle dans la protection des réserves lipidiques.^[65,66]

Chimiquement, ce sont des composés dérivés de deux unités 1-phénylpropane (Figure 15), reliées par le carbone β de leurs chaînes latérales. Les lignanes se distinguent en six groupes structuraux fondamentaux. Les plus simples sont des dibenzylbutanes (liaison 8-8') qui, par cyclisation, peuvent engendrer des lignanes monofuraniques (cyclisation 9-O-9') (Figure 15). De par leur groupement structural (cycle et groupement hydroxyle en particulier), ils peuvent être qualifiés de puissants antioxydants.^[63]

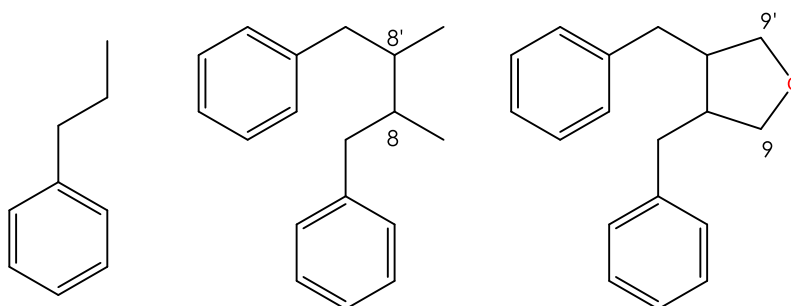


Figure 15. Structures du α -phénylpropane et d'aglycones de lignanes

En cosmétique, tout comme pour les végétaux, les lignanes ont des propriétés antioxydantes avérées. Par ailleurs, de nombreuses plantes contenant des lignanes sont utilisées en médecine traditionnelle chinoise.^[63,66]

2.4.3 Les composés terpéniques

Tous les terpènes peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'unités pentacarbonées, l'isoprène (Figure 16). Ils peuvent être rassemblés en plusieurs groupes selon leur nombre de carbones : les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20), les triterpènes (C30) et les tétraterpènes (C40).^[65]

- Les monoterpènes

Ce sont les constituants les plus petits de la série des terpènes. Ils sont largement distribués chez les végétaux surtout dans certaines familles. Ce sont majoritairement des composés volatils qui contribuent au parfum des plantes et qui sont les plus répandus dans la composition des huiles essentielles.

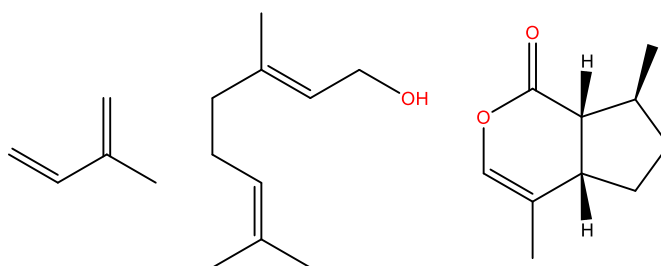


Figure 16. Structures de l'isoprène, du géraniol et du népétalactone

Chimiquement, il existe une quarantaine de squelettes monoterpéniques, mais la majorité des structures se rattache à un petit nombre d'enchaînements de base issus du couplage tête-à-queue de deux unités d'isoprène.^[67] Néanmoins, il existe des monoterpènes cyclisés par hydroxylation du géraniol formant des iridoïdes (Figure 16).^[63] Seules les propriétés de ces dernières seront citées dans ce manuscrit.

En pharmacutique, diverses propriétés ont été démontrées concernant les iridoïdes en raison de leurs nombreuses variations structurales : antibactériennes, anti-cancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires, etc.^[73] En cosmétique, ils sont utilisés pour leurs propriétés anti-âge et hydratantes dans des soins pour le corps et le visage.^[69,74]

- Les sesquiterpènes

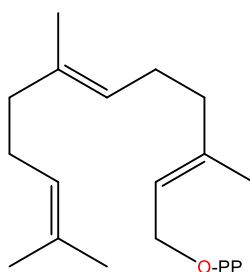


Figure 17. Structure du 2E,6E-Farnésyl-pyrophosphate

Dans les plantes, les sesquiterpènes agissent comme régulateurs de croissance, avec par exemple les phytoalexines, ou dans les interactions plantes-insectes (odorant, anti-appétant).^[63] Cette famille est composée de plus de 100 squelettes différents et sont tous issus du même précurseur, le 2E,6E-farnésyl-pyrophosphate (Figure 17). Comme les monoterpènes, un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants des huiles essentielles et interviennent dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles.^[63]

- Les diterpènes

Le rôle de la plupart des diterpènes dans les plantes n'est pas exactement connu. Comme beaucoup d'autres métabolites secondaires, il est supposé qu'ils jouent un rôle dans les interactions plantes-insectes.^[63] Les diterpènes forment un vaste ensemble de composé en C₂₀. Néanmoins, mis à part les diterpènes tricycliques azotés antitumoraux, aucun autre diterpène pur n'est aujourd'hui utilisé à des fins thérapeutiques. De ce fait, ce sous-groupe n'est pas plus détaillé dans ce manuscrit.^[63]

- Les triterpènes et stéroïdes

Il s'agit de plus de 20 000 composés répartis sur plus de 100 squelettes différents, mais seulement quelques structures se retrouvent majoritairement chez les végétaux, notamment des triterpènes tétracycliques comme le lanostérol ou des triterpènes pentacycliques comme l'acide oléanolique (Figure 15).^[63,64]

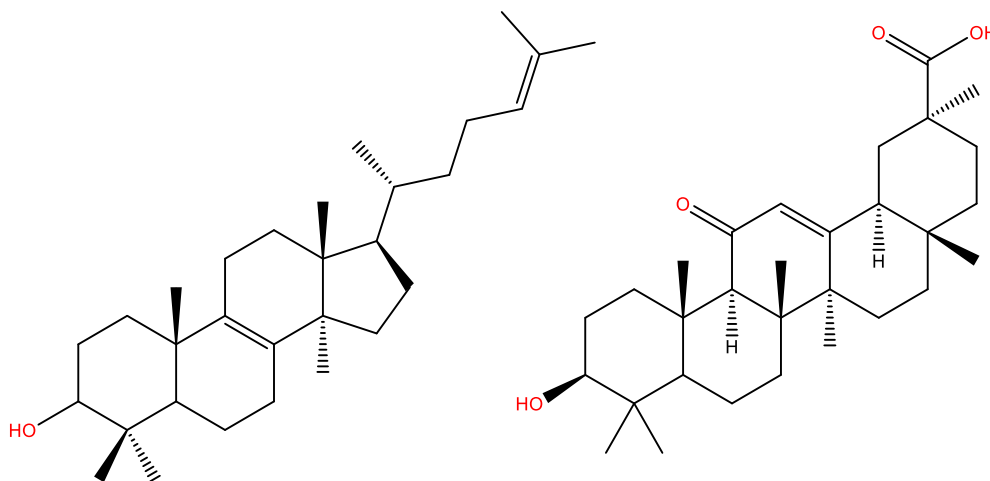


Figure 18. Structures d'un triterpène tétracyclique (lanostérol) et d'un triterpène pentacyclique (acide oléanolique)

Un grand nombre d'activités thérapeutiques peut être attribué aux triterpènes : cardiotoniques, anti-inflammatoires, contraceptifs, anabolisants, etc.^[63] En cosmétique, l'intérêt principal se porte sur les phytostérols du fait de leurs activités anti-inflammatoires et nourrissantes.^[69] Les saponosides sont également intéressants en formulation pour leurs propriétés émulsionnantes.

- Tétraterpènes

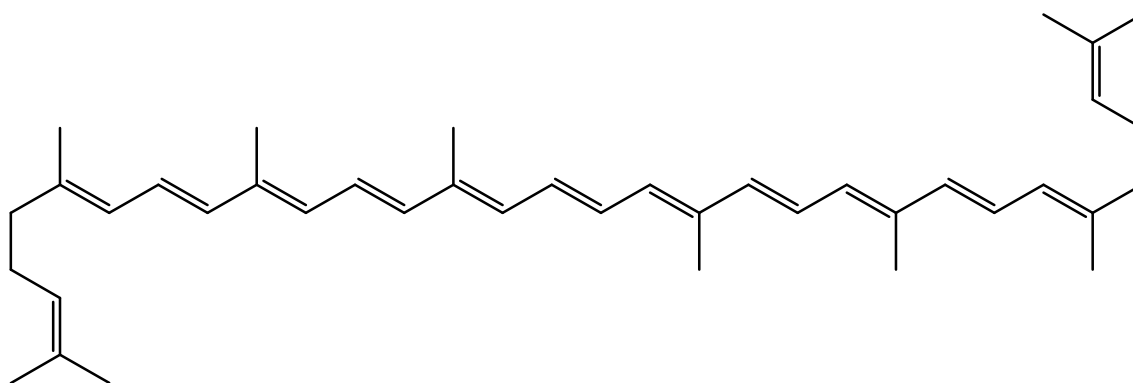


Figure 19. Structure du lycopène

Les tétraterpènes sont représentés par un seul type de molécules, les caroténoïdes. Le groupe comprend plus de 800 molécules formées par l'enchaînement de huit unités isopréniques comme le lycopène (Figure 19).^[63] Leurs chromophores, caractéristiques du fait de leurs nombres importants d'insaturations, explique leur utilisation comme pigments ou leur très grande sensibilité à l'oxydation. L'intérêt majeur des caroténoïdes dans les différentes industries est d'être des colorants naturels non toxiques. En pharmaceutique, ils peuvent être utilisés comme anti-inflammatoire, antioxydant, neuroprotecteur, etc.^[75] En cosmétique, ils sont généralement utilisés comme anti-âge.^[69,75]

2.4.4 Les composés azotés

Le nombre de produits décrit, leur diversité et leurs activités pharmacologiques, font des alcaloïdes l'un des groupes les plus importants de substances d'origine naturelle d'intérêt thérapeutique.^[63] Le terme d'alcaloïde a été introduit par le pharmacien Wilhelm Meissner au début du XIX^{ème} siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases alcalines.^[64,66]

Chimiquement, les alcaloïdes peuvent être classés en trois familles :

- Les alcaloïdes vrais, bio-synthétiquement formés à partir d'un acide aminé et comprenant un azote intra cyclique. Il existe 11 structures de base de ces molécules (Figure 16).
- Les proto-alcaloïdes, également dérivés d'acides aminés mais dont l'atome d'azote se situe en dehors de l'hétérocycle (Figure 16).
- Les pseudo-alcaloïdes, non dérivés d'un acide aminé, mais présentant les caractéristiques des alcaloïdes vrais (Figure 16).

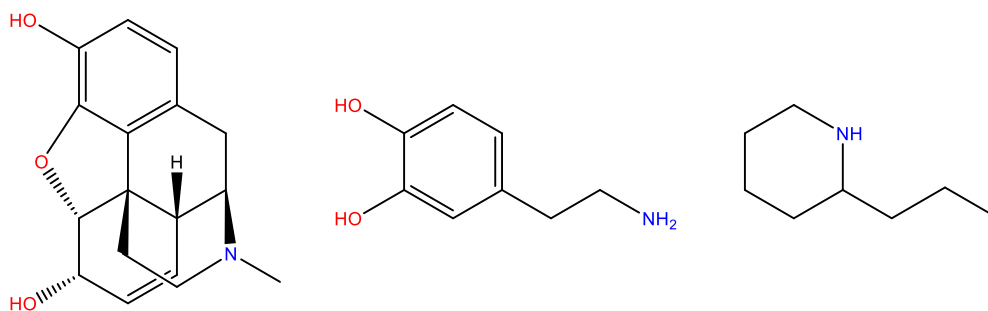


Figure 20. Structures d'un alcaloïde vrai (morphine), d'un proto-alcaloïde (dopamine) et d'un pseudo-alcaloïde (coniine)

Certaines molécules restent cependant difficiles à classer dans ces trois groupes et il est plus simple de parler d'alcaloïde en général comme le définit Jean Bruneton. « En pratique, il est admis par tous que ne sont pas des alcaloïdes : les amines simples, les bétalaïnes, les peptides, les acides aminés, les amino-sucres, les porphyrines, les alkylamines et les arylkylamines. Pour tous les autres composés on parle couramment d'alcaloïde : il ne viendrait à l'esprit de personne de dénier cette qualité à la colchicine, à la coniine ou à l'aconitine »^[63]

Comme beaucoup d'autres métabolites secondaires, le rôle des alcaloïdes dans les végétaux n'est pas clairement décrit. Certains pourraient intervenir dans les relations plantes-prédateurs en protégeant les premières contre l'agression des seconds.^[63,66] En cosmétique, les alcaloïdes sont évités car ils sont souvent très actifs et ne sont pas acceptés d'un point de vue réglementaire et toxicologique.^[72]

ÉTUDE EXPERIMENTALE

LA SÉLECTION DES PLANTES

3.1 BIBLIOGRAPHIE

Dans un premier temps, les botanistes de la Station Alpine Joseph Fourier (SAJF) ainsi qu'une anthropologue de la région du Lautaret (Dr. Aline Mercan) ont établi une liste initiale de travail. Cette liste a ainsi permis de recenser 129 plantes disponibles dans la région, connues pour leurs propriétés médicinales. Elle comprend le nom latin, le nom vernaculaire, la famille botanique, les mois de floraison dans la région, ainsi que la ou les parties de la plante utilisée(s) avec leurs applications médicinales. Un extrait est présenté dans le Tableau 1 et la table des plantes récoltées peut être consultée dans l'annexe 8.1. La liste totale des plantes étant confidentielle et appartenant à la SAJF, elle n'a pas été détaillée dans ce manuscrit. Le travail a été réalisé sur des plantes disponibles dans les alentours du jardin botanique, mais aucune récolte n'a été effectué dans celui-ci.

Tableau 1. Extrait de la liste initiale de plantes

Nom latin	Nom vernaculaire	Famille	Floraison	Partie de la plante	Médecine Traditionnel	Autre
<i>Antennaria carpatica</i> Bluff. & Fingherh.	Antennaire des Carpates	Asteraceae	Juin-Août	Capitules femelles séchés	Antiseptique, béchique, cholagogue, expectorant, vulnéraire	Culture lente
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	Antennaire dioïque, Pied de chat	Asteraceae	Mai- Juillet	Capitules femelles séchés	Antiseptique, béchique, cholagogue, expectorant, vulnéraire	
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Avril-Août	Plante fleurie	Astringente, tonique, fébrifuge, utilisé historiquement contre la goutte et l'asthme	

Le premier travail de cette thèse a consisté à restreindre la liste initiale selon des critères choisis puis de récolter les plantes pendant leur floraison lors de la première année de thèse (2017). La floraison étant très courte dans ce type de région en raison de la fonte de neige tardive en fin de printemps et des températures fraîches à l'automne, il a rapidement été nécessaire d'établir une première sélection.

L'objectif qui a été fixé entre les différentes parties (Université et Entreprise) a été de valoriser scientifiquement la flore locale et de ne pas prendre en compte les

différentes restrictions réglementaires et commerciales liées aux marchés cosmétiques (réglementation Chine, pharmacopée japonaise, etc.).

De ce fait, le premier critère de sélection a été de travailler sur des plantes encore très peu étudiées au niveau phytochimique, le but étant de potentiellement découvrir de nouvelles molécules ou activités biologiques dans les extraits.

Il est important dans un premier temps de faire la recherche de tous les synonymes latins qualifiant la plante. La liste des synonymes permet de conserver une trace dans le temps des différentes recherches associées à l'espèce, et ce, malgré le changement apporté au nom d'origine jusqu'au dernier nom valide (annexe 8.2). Par exemple, pour l'espèce suivante : *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. 25 synonymes ont été catalogués (Tableau 2) sur différentes collections botaniques en ligne telles que Tela-botanica, Catalogue Of Life ou Flore Alpes.^[76-78]

Tableau 2. Liste des synonymes d'*Antennaria dioica* (L.) Gaertn.

Antennaria dioica var. *hyperborea* Lang, ***Antennaria foenina* H. S. Pak**, *Antennaria hibernica* Br.-Bl., ***Antennaria hyperborea* D. Don**, *Antennaria insularis* Greene, ***Antennaria insulensis* H. S. Pak**, *Antennaria montana* Gray, ***Antennaria nigritella* H. S. Pak**, *Antennaria parviflora* Nutt., ***Antennaria zosonia* H. S. Pak**, *Chamaezelum dioicum* (L.) Link, ***Cyttarium dioicum* (L.) Peterm**, *Gnaphalium alpinum* Asso ex DC., ***Gnaphalium boreale* Turcz. ex DC.**, *Gnaphalium dioicum* L., ***Gnaphalium hyperboreum* Winch ex DC.**, *Gnaphalium pes-catii* Garsault, ***Margaritaria simplex* Opiz**, *Antennaria dioica* var. *borealis* E.G.Camus, ***Antennaria dioica* var. discolor** Rouy, *Antennaria dioica* var. *gallica* E.G.Camus, ***Antennaria villifera* Boriss.**, *Gnaphalium leucocephalum* Gand., ***Gnaphalium platyphyllum* Gand.**

Les publications scientifiques reliées aux synonymes de chaque plante ont ensuite été recensées. Pour cela, différentes recherches ont été réalisées sur les bases de données bibliographiques telles que PubMed et SCI Finder.^[79,80] Une moyenne des publications trouvées sur ces sources a ensuite été réalisée afin de réduire le biais méthodologique. Dans cette étude, le choix a été fait de ne pas conserver les plantes avec un nombre moyen de publications supérieur à 30. Ce chiffre a été choisi arbitrairement afin de mener l'étude sur les plantes les moins décrites scientifiquement.

Le nombre moyen de publications depuis 2011 a également été dénombré sur les plantes afin d'éliminer celles qui ont fait l'objet d'études très récentes et donc avec des technologies actuelles. Un extrait de cette revue bibliographique est présent dans le Tableau 3 ci-dessous. La totalité des données bibliographiques des plantes récoltées sont disponible dans l'annexe 8.3.

Tableau 3. Extrait du tableau de sélection

Nom latin	Nom vernaculaire	Citation Depuis 2011	SCI Finder	PubMed	Moyenne
<i>Antennaria carpatica</i> (Wahlenb.) Bluff. & Fingherh.	Antennaire des Carpates	-	0	0	0
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	Antennaire dioïque ; Pied de chat	21	41	10	25,5
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Bugle pyramidale	-	9	1	5

Quatre campagnes de collecte ont été réalisées entre juin et août 2017 grâce à l'aide des botanistes de la SAJF qui ont pu identifier à l'avance les lieux de cueillette afin de regrouper les déplacements. Le but de ces campagnes était de récolter le maximum d'espèces des 37 dernières plantes encore sur la liste avec pour chacune une quantité représentative, idéalement supérieure à 500 g de plantes fraîches.

À la fin de ces quatre campagnes, 22 plantes (parmi la liste des 37 plantes retenues) ont été récoltées. Toutes les données de collectes ont été enregistrées dans le Tableau 4 ci-dessous, afin de regrouper les informations (coordonnées GPS, parties récoltées, date et masse de matière fraîche). Pour des raisons de traçabilité au laboratoire, il a également été attribué deux informations supplémentaires : un numéro de référence par espèce de plante ainsi qu'un numéro de lot par échantillon de collecte. Par exemple, *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. porte la référence n° 1731 et le numéro de lot R17/402 pour la récolte de 2017. La liste des récoltes effectuées au cours de ces travaux est disponible dans le chapitre Matières premières utilisées p°179.

Tableau 4. Tableau de récolte de l'année 2017.

Nom latin	Parties récoltées	Coordonnées	Date	Référence	Lot
<i>Achillea nana</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°3'53" N 6°24'23" E	13/07/2017	1738	R17/397
<i>Aconitum lycoctonum</i> subsp. <i>vulparia</i> (Rchb.) Nyman	Parties aériennes fleuries	45°2'37" N 6°18'20" E	26/06/2017	1737	R17/398
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	26/06/2017	1725	R17/399
<i>Alchemilla alpina</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	26/06/2017	1722	R17/400
<i>Antennaria carpatica</i> (Wahlenb.) Bluff. & Fingherh.	Parties aériennes fleuries	45°3'11" N 6°24'9" E	11/07/2017	1730	R17/401
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	Parties aériennes fleuries	45°3'11" N 6°24'9" E	11/07/2017	1731	R17/402
<i>Artemisia genipi</i> Weber	Parties aériennes fleuries	45°3'53" N 6°24'23" E	13/07/2017	1732	R17/403
<i>Asphodelus albus</i> L. subsp. <i>delphinensis</i> (Gr. & Godr.) Diaz Lifente	Parties aériennes	45°1'57" N 6°23'30" E	26/06/2017	1721	R17/404

<i>Astragalus monspessulanus</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°1'47" N 6°21'51" E	26/06/201 7	1723	R17/405
<i>Astragalus onobrychis</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°2'36" N 6°17'32" E	26/06/201 7	1727	R17/406
<i>Cirsium spinosissimum</i>	Parties aériennes	45°3'43" N 6°24'20" E	30/08/201 7	1740	R17/407
<i>Cota tinctoria</i> (L.) J. Gay	Parties aériennes fleuries	44°53'59" N 6°37'48" E	13/07/201 7	1728	R17/408
<i>Epilobium angustifolium</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°3'7" N 6°23'27" E	30/08/201 7	1202	R17/409
<i>Epilobium fleischeri</i> Hochst.	Parties aériennes fleuries	45°2'39" N 6°24'4" E	30/08/201 7	1741	R17/410
<i>Knautia dipsacifolia</i> subsp. <i>dipsacifolia</i>	Parties aériennes fleuries	45°2'26" N 6°24'5" E	11/07/201 7	1729	R17/412
<i>Narcissus poeticus</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	26/06/201 7	1724	R17/413
<i>Nepeta nepetella</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°1'50" N 6°23'3" E	30/08/201 7	1743	R17/414
<i>Rosa pendulina</i> L.	Fleurs	45°2'30" N 6°21'21" E	11/07/201 7	1733	R17/415
<i>Salvia aethiopis</i> L.	Parties aériennes	44°54'20" N 6°39'27" E	13/07/201 7	1734	R17/416
<i>Scutellaria alpina</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°2'7" N 6°24'6" E	11/07/201 7	1735	R17/417
<i>Trifolium alpinum</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	26/06/201 7	1638	R17/420
<i>Trollius europaeus</i> L.	Parties aériennes fleuries	45°1'57" N 6°23'30" E	26/06/201 7	1726	R17/421

À la suite de ces récoltes, deux screening ont été réalisés sur les extraits des différentes plantes : un screening phytochimique, permettant d'identifier et de caractériser les familles de molécules qui composent l'extrait de plante, et un screening biologique permettant de les évaluer sur cinq cibles biologiques. Ces travaux et résultats seront décrits dans les paragraphes suivants.

3.2 METHODOLOGIE D'EXTRACTION

Deux types d'extractions ont été réalisés sur les matières végétales. La première est une méthode d'extraction utilisant un appareil Precellys® (société Ozyme) : elle permet de réaliser un extrait en quelques secondes. Cette méthode est généralement utilisée dans l'entreprise afin de comparer des profils de plantes. La seconde extraction est une méthode par macération mise au point au cours de ces travaux. Elle a été développée afin d'optimiser les rendements et les temps d'extraction en lien avec le nombre important de plantes à étudier.

3.2.1 Extraction par méthode Precellys®



Figure 21. a) Photo d'un appareil Precellys®, b) photo des cartouches

Le Precellys® est un broyeur à billes qui permet de réaliser une extraction solide-liquide représentative d'un extrait de plante (ex. Soxhlet, macération). Pour cela, l'échantillon est au préalable broyé à l'aide d'un broyeur à couteaux afin d'homogénéiser la matière première ; 300 mg sont ensuite prélevés et déposés dans une cartouche avec le solvant choisi (Figure 21.b). Le mouvement de précession rapide de l'appareil permet d'affiner le broyage de la matière végétale et de chauffer le solvant par friction des billes de céramique présentes dans la cartouche afin de réaliser un extrait.

Dans cette étude, une extraction à l'éthanol et une extraction à l'eau ont été réalisées. L'éthanol est un bon solvant d'étude car il permet l'extraction de molécules d'une large gamme de polarité. En revanche, il n'a pas été possible de tester des solvants apolaires (ex. heptane, hexane, cyclohexane, etc.) car les matériaux des cartouches (polypropylène) ne sont pas compatibles avec ces derniers.

Cette technique représente un gain de temps considérable pour le screening de nouveaux profils végétaux et pour le contrôle de saisonnalité, tout en ne consommant qu'une très faible quantité de matière et de solvant. En revanche, les quantités d'extraits produits sont également très faibles, il est ainsi impossible de poursuivre les recherches ou de réaliser des purifications. De plus, même si le profil phytochimique est très proche d'une extraction réalisée à plus gros volume par une autre méthode, il est cependant possible d'observer des différences dans les résultats d'extractions (Figure 22).

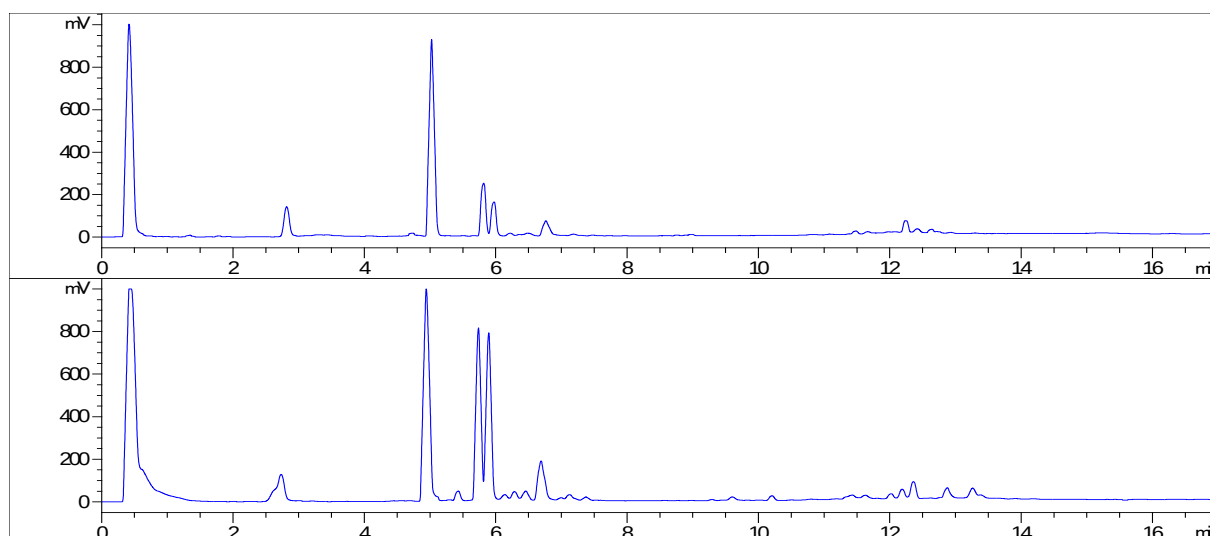


Figure 22. Chromatogrammes ELSD d'un extrait par macération (haut) et d'un extrait Precellys® (bas) avec la même matière végétale et le même solvant.

3.2.2 Extraction par macération

Pour effectuer le screening biologique et les études de quantifications approfondies sur les plantes, il a été nécessaire de réaliser de nouveaux extraits, le Precellys® ne permettant pas d'obtenir des quantités suffisantes.

Aujourd'hui, la macération est couramment décrite dans la littérature. Les méthodes reposent généralement sur des extractions successives à l'aide de solvants de différentes polarités, en partant, le plus souvent, des solvants les plus apolaires pour finir par les plus polaires.^[81–84] Malgré ses avantages pratiques et sa large utilisation, cette méthode conventionnelle souffre de plusieurs inconvénients, notamment un processus long, une répartition des constituants non équitable entre les solvants et un rendement d'extraction optimisable.

D'un point de vue théorique, la technique d'extraction optimale devrait combiner facilité d'utilisation, rendement élevé, rapidité, faible coût et applicabilité à grande échelle tout en réduisant les solvants nocifs. Par conséquent, de nombreux efforts ont été consacrés à la mise au point d'une nouvelle méthode d'extraction découlant de macérations successives. Cette méthode a été développée pour avoir un rendement élevé, éliminer les solvants chlorés et réduire le temps d'extraction et de manipulation.

Dans ce contexte, un mélange de cinq solvants à savoir le *n*-heptane, l'acétonitrile, l'acétate d'éthyle, le butan-1-ol et l'eau, a été développé et optimisé pour effectuer les expériences successives. Le mélange de solvants est préparé avec différents ratios pour produire un système triphasique où chaque phase est ensuite utilisée comme solvant pour l'extraction. Cette méthode a été comparée à une extraction conventionnelle et à une extraction méthanolique par Soxhlet tout en utilisant la même matière végétale.

Tableau 5. Tableau des rendements des différentes méthodes d'extractions.

Extraction mélange Rendement (%)		Extraction conventionnelle Rendement (%)		Extraction conventionnelle Rendement (%)	
Phase apolaire	3	Cyclohexane	1	Méthanol	15
		Dichlorométhane	1		
Phase intermédiaire	14	Acétate d'éthyle	1		
		Méthanol	8		
Phase polaire	16	Eau	18		
Total	33	Total	29	Total	15

Sur le Tableau 5 ci-dessus, le rendement total d'extraction de la méthode par mélange est légèrement supérieur au rendement d'extraction par la méthode conventionnelle. De plus, le nombre d'extractions réalisées a diminué en passant de cinq extractions à trois, ce qui représente un gain de temps considérable pour un nombre de plantes important à étudier. La méthode par mélange permet également d'obtenir de meilleurs rendements versus une extraction par Soxhlet, néanmoins, les temps et le nombre de manipulations sont plus conséquents.

Cette nouvelle méthode d'extraction, répondant à nos attentes et besoins en termes de gain de temps et de rendements, a ensuite été utilisée pour réaliser l'extraction des 22 plantes. Ainsi, 66 extraits ont été obtenus correspondant à trois extractions par plante, une fraction apolaire, une intermédiaire et une polaire. Elles seront nommées respectivement sup, int et aq dans la suite de ce manuscrit. La description de cette méthode fait l'objet d'un article actuellement en cours de soumission.

3.3 METHODOLOGIE DE SCREENING PHYTOCHIMIQUE

Une extraction éthanolique et aqueuse par la méthode Precellys® a été effectuée sur les 22 plantes récoltées. Ces extraits ont ensuite été analysés par chromatographie liquide haute performance (HPLC.¹) couplée à un détecteur à barrette de diode (DAD.²) ainsi qu'à un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (ELSD³).

Ces deux détecteurs sont complémentaires, le DAD permet l'obtention de données structurales des molécules grâce à des chromophores spécifiques. En comparant les spectres de chacun des composés à une base de données interne de plus de 700 références, il est généralement possible de les attribuer à une famille de métabolites.

L'ELSD permet quant à lui d'indiquer la présence de molécules, avec ou sans chromophore. De plus, c'est aussi un détecteur quantitatif, et sa quasi-universalité permet de donner une information approximative sur la quantité de chaque molécule présente dans l'extrait.

¹ HPLC, High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie Liquide à Haute Performance)

² DAD, Diode Array Detector (Détecteur à barrette de Diode)

³ELSD, Evaporative Light-Scattering Detection (Détecteur Évaporatif à Diffusion de la Lumière)

Les composés sont ensuite analysés par HPLC couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (HRMS¹) en utilisant différents modes d'acquisition (Scan, tandem, positif, négatif). Cette technique permet d'apporter de nouvelles informations : la masse exacte de chaque molécule corrélée à la formule brute de celle-ci ainsi que les ions de fragmentations. Ces résultats sont comparés à des bases de données internes ou externes pour l'identification des composés.

Avec ces différentes informations, le temps de rétention, le spectre UV, la formule brute ainsi que les ions fragments, il est possible d'identifier formellement une molécule si celle-ci est référencée dans une base de données. Dans le cas contraire, une hypothèse de formule brute et de structure est généralement possible.

Différentes colonnes chromatographiques ont été utilisées pour cette étape, principalement une colonne apolaire (C18) ainsi qu'une colonne polaire (amide) utilisée en chromatographie d'interaction hydrophile (HILIC²).

3.4 METHODOLOGIE DE CRIBLAGE BIOLOGIQUE

3.4.1 Cibles biologiques

Le screening biologique a été réalisé par l'équipe de Criblage de Molécules BioActives (CMBA) du Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA) de Grenoble. Cinq tests biologiques ont été réalisés sur les 66 extraits réalisés par la méthode de macération :

- Test de Cytotoxicité : réalisé sur 3 lignées cellulaires (non cancéreuse, cancéreuse et cancéreuse résistante) à 3 doses. Ce test permet de déterminer le pourcentage de cytotoxicité sur les lignées. Il permet également de découvrir une potentielle activité anti-cancéreuse des extraits, en ciblant plus spécifiquement les cellules cancéreuse et/ou cancéreuse résistante.
- Test d'activité de la Tyrosinase *in vitro* : Test d'activité enzymatique à 3 doses. Ce test permet de déterminer le pourcentage d'inhibition de la tyrosinase qui peut jouer un rôle pour la dépigmentation en cosmétique mais aussi inhiber un facteur de croissance des cellules pour une application pharmaceutique.

¹ HRMS, High Resolution Mass Spectrometry (Spéctrométrie de Masse Haute Résolution)

² HILIC, Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (Chromatographie Liquide d'Interaction Hydrophile)

- Mesure du relargage d'IL-8 en réponse à un stress cellulaire: Mesure de quantité produite d'InterLeukine-8 entièrement automatisée sur une lignée cellulaire à 3 doses. Ce test permet de déterminer le pourcentage d'induction d'IL-8, représentant le pourcentage d'inflammation, pour des produits anti-inflammatoires en pharmaceutique. En cosmétique, ce test permet d'objectiver un extrait apaisant (ex. pour peaux sèches).
- Translocation nucléaire NFκB: Quantification de la translocation nucléaire des facteurs de transcription NFκB par imagerie automatisée sur une lignée cellulaire à 3 doses. Ce test permet de déterminer le pourcentage d'anti-apoptotique des cellules.
- Mesure des autophagosomes: Quantification des autophagosomes par imagerie automatisée sur une lignée cellulaire à 3 doses. Ce test permet de mettre en évidence la capacité des cellules à se régénérer. Il peut être utilisé aussi bien en pharmaceutique, dans des médicaments anti-cancéreux, qu'en cosmétique, dans des produits anti-âges ou régénérant.

3.4.2 Résultats

Les tests biologiques (cinq tests à trois concentrations pour 22 extraits) ont permis de générer une quantité de données importante autorisant la réalisation d'une analyse en composante principale. Cette analyse a pour but d'observer la répartition des extraits en fonction de leurs activités biologiques, selon leurs résultats normalisés et centrés (cercle de corrélation, Figure 23). Il ressort de cette étude que les extraits réagissent de la même façon sur les cibles biologiques, selon leur polarité.

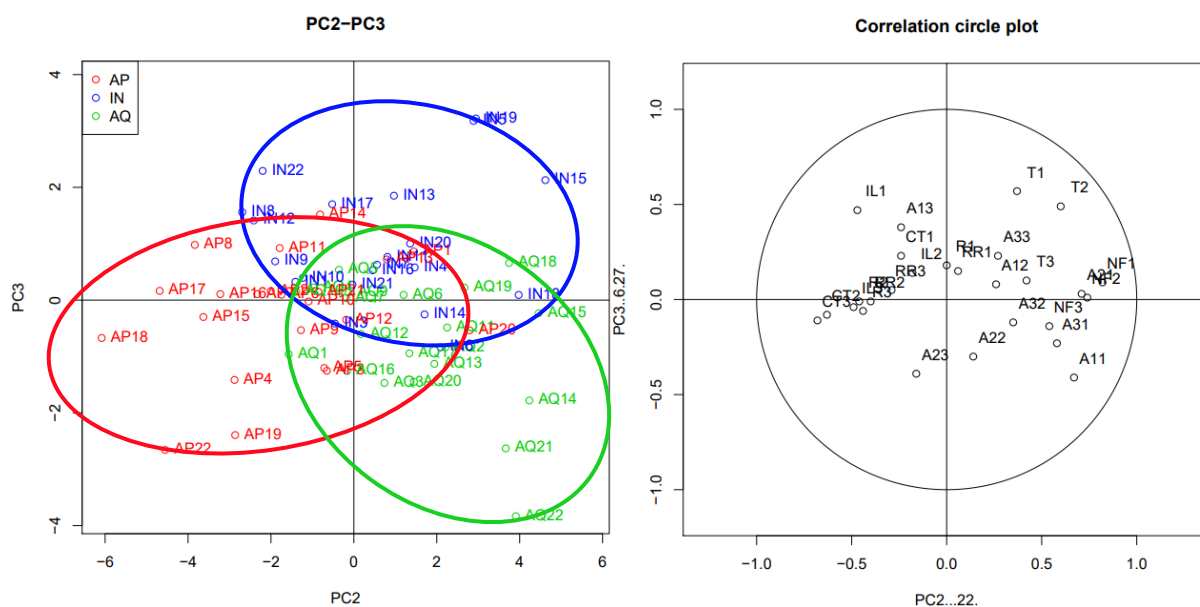


Figure 23. Analyse en composante principale des différents extraits et des résultats biologiques réalisé avec ChemFlow. Les différentes abréviations sont définies dans le glossaire. (PC2-PC3)

Cette étude est particulièrement intéressante, même si seule une tendance est observable : il est envisageable de relier l'activité de certaines familles chimiques à des résultats biologiques. En effet, il est plausible de supposer que les différents extraits de mêmes polarités renferment les mêmes types de familles de molécules. De ce fait, avec un grand nombre de données, il serait éventuellement possible de classer dans un groupe d'activités un extrait par rapport à sa composition chimique.

3.5 RESULTATS DU SCREENING DES PLANTES

3.5.1 Interprétation

Pour chacune des plantes étudiées, toutes les informations et résultats ont été regroupés sous forme d'un rapport, qui commence par une description botanique et bibliographique.

Chaque plante a ensuite fait l'objet du screening phytochimique précédemment décrit, celui-ci n'est pas exhaustif mais permet d'identifier et de sélectionner les plantes d'intérêt pour un travail qui pourra ensuite être approfondi. La méthode principale de screening a été développée au laboratoire pour cibler certaines familles de métabolites secondaires, les acides phénols et flavonoïdes principalement (Méthode 1). Toutes les méthodes et procédures utilisées dans ce manuscrit sont décrites dans la partie expérimentale (chapitre : 5). La Méthode 1 nous permet de rapidement voir le potentiel d'une plante, sans négliger la partie polaire, qui n'est pas retenue, et la partie apolaire, qui est éluée à partir de 10 min sur le chromatogramme de la Figure 24 ci-dessous. Tous les chromatogrammes DAD sont présentés à 280 nm dans ce manuscrit, néanmoins la totalité du spectre UV (200-600 nm) a été étudiée.

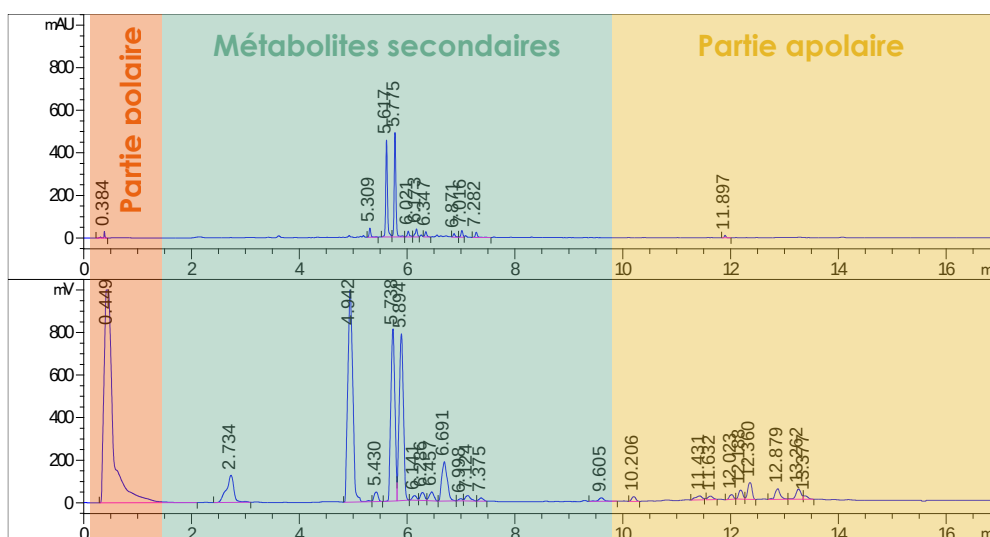


Figure 24. Chromatogrammes DAD à 280 nm (haut) et ELSD (bas) de présentation de la Méthode 1

Les différents chromatogrammes ont été obtenus à partir d'extraits réalisés par la méthode Precellys®. Les spectres UV des molécules ont ensuite été rajoutés, quand ils étaient disponibles, ainsi que le nom en gras si le composé a formellement été identifié sinon sa formule brute (Figure 25). Une méthode de screening en chromatographie hydrophile a également été réalisée sur les extraits afin d'étudier plus précisément la partie polaire (Méthode 2). Enfin, la liste de tous les composés identifiés par spectrométrie de masse dans la plante a été énumérée dans un tableau.

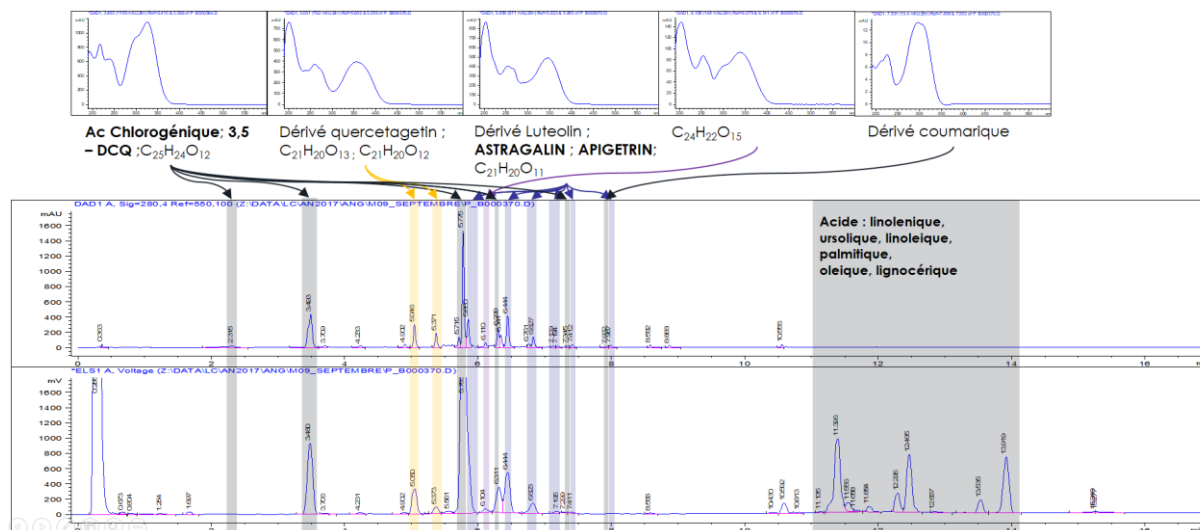


Figure 25. Exemple de chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

Les résultats biologiques obtenus sur les extraits réalisés par la méthode de macération ont été recensés dans un tableau. Pour les résultats des tests de cytotoxicité, les extraits avec une mortalité cellulaire supérieure à 50 % ont été surlignés en rouge, et ceux supérieurs à 20 % en orange. Pour le reste des résultats, les extraits avec une réponse similaire ou supérieure au témoin positif ont été surlignés en vert et en violet pour les extraits inhibiteurs.

Enfin, chaque plante a fait l'objet d'une conclusion selon les différents résultats des screening phytochimiques et biologiques. Cependant, ces derniers étant arrivés très tard par rapport au délai initialement prévu, la sélection des plantes a dû se faire principalement sur les résultats phytochimiques, ceci afin de pouvoir poursuivre l'étude dans le temps imparti. Les plantes ont alors été classées en trois catégories :

- Les plantes du groupe 3 : avec un intérêt faible, contenant des familles de composés déjà très étudiées.
- Les plantes du groupe 2 : avec un profil intéressant mais sans réelle touche biologique ou partie phytochimique nouvelle.
- Les plantes du groupe 1 : avec un profil phytochimique très intéressant, des familles de molécules peu décrites ou non identifiées ou des activités biologiques fortes.

3.5.2 *Achillea nana* L.

3.5.2.1 Informations botaniques



Figure 26. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de l'Achillée naine.

L'achillée naine (*Achillea nana* L.) est une plante de la famille des astéracées. Les synonymes de toutes les plantes sont disponibles dans l'annexe 8.2. C'est une plante vivace, relativement petite de 6 à 15 cm qui se développe dans les rocaillies ou les éboulis fins d'altitude.^[76,78] Elle est répartie dans toutes les Alpes.^[76] Ses feuilles sont très velues, sa tige est rougeâtre et surplombée d'un capitule d'inflorescences qui partent de 6 à 8 points différents permettant à chacun d'obtenir une petite fleur blanche.^[76]

3.5.2.2 Bibliographie

Tableau 6. Tableau des publications de l'achillée naine

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
8	0	4	0

3.5.2.3 Récoltes

Tableau 7. Tableau de récoltes de l'achillée naine

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/397	1738	64	Parties aériennes fleuries	45°3'53" N 6°24'23" E	2650	13/07/2017
R18/365	1738	182	Parties aériennes fleuries	45°3'53" N 6°24'22" E	2670	17/07/2018

3.5.2.4 Phytochimie

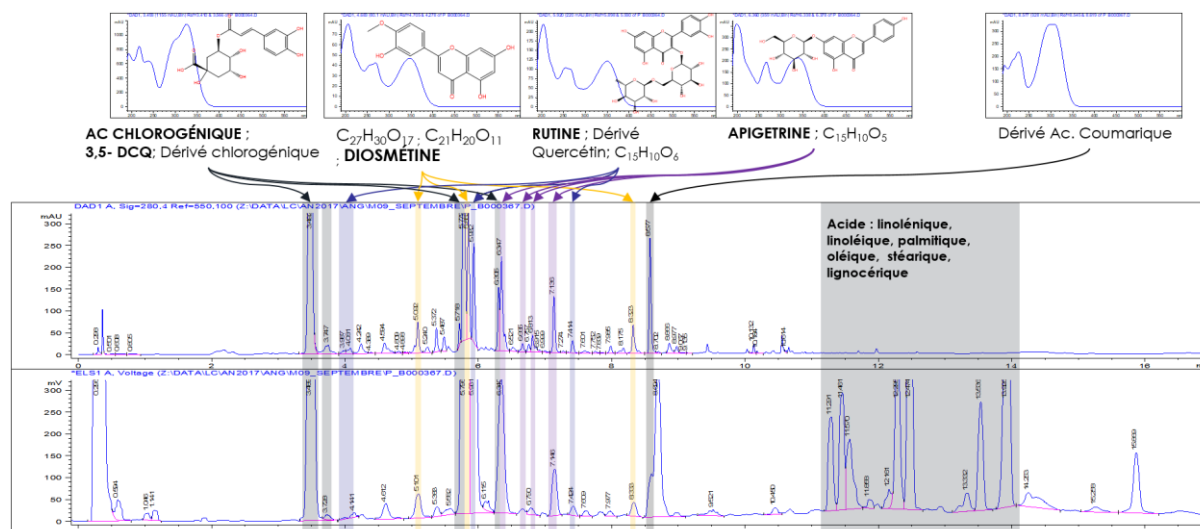


Figure 27. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 27 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 28 ci-dessous représente les chromatogrammes ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

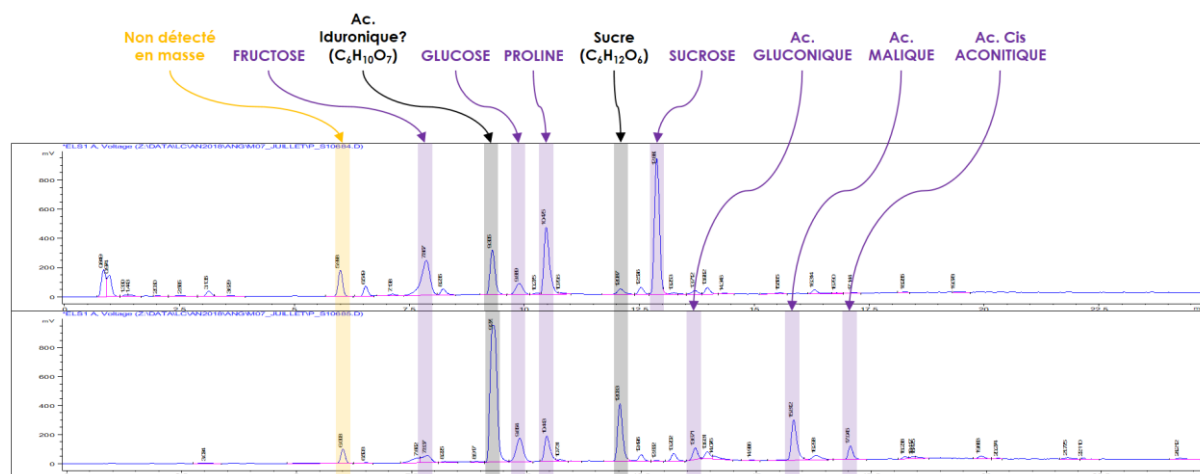


Figure 28. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Grâce aux différents profils chromatographiques réalisés par HPLC en phase inverse et HILIC, 28 molécules ont été identifiées. Elles sont répertoriées dans le Tableau 8 ci-dessous. Il regroupe les informations suivantes : le nom du composé ou la famille dont il dérive, sa formule brute, la méthode avec laquelle il a été identifié et son temps de rétention relatif à cette méthode.

Tableau 8. Tableau des composés analysés dans l'achillée naine

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
1.1	Ac. Chlorogénique	C₁₆H₁₈O₉	1	3,49
1.2	Dérivé Quercétine	-	1	3,99
1.3	Dérivé Lutéoline-diglycosylé	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	1	5,09
1.4	3,5-Dicaféoylquinique	C₂₅H₂₄O₁₂	1	5,78
1.5	Dérivé Lutéoline-glycosylé	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	5,85
1.6	Rutine	C₂₇H₃₀O₁₆	1	5,93
1.7	Iso quercétine	C₂₁H₂₀O₁₂	1	6,05
1.8	Apigétrine	C₂₁H₂₀O₁₀	1	6,35
1.9	Dérivé Apigénine	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	1	6,67
1.10	Dérivé Apigénine	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	1	6,76
1.11	Dérivé Apigénine	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	1	7,14
1.12	Dérivé Quercétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	1	7,41
1.13	Apigénine	C₁₅H₁₀O₅	1	8,18
1.14	Diosméfine	C₁₆H₁₂O₆	1	8,32
1.15	Dérivé Ac. Coumarique	-	1	8,58
1.16	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,26
1.17	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
1.18	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,57
1.19	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
1.20	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
1.21	Ac. Lignocérique	C₂₄H₄₈O₂	1	12,16
1.22	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	7,87
1.23	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	9,89
1.24	Proline	C₅H₉NO₂	2	10,48
1.25	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	12,89
1.26	Ac. Gluconique	C₆H₁₂O₇	2	13,67
1.27	Ac. Malique	C₄H₆O₅	2	15,81
1.28	Ac. Cis-aconitique	C₆H₆O₆	2	17,05

Grâce aux composés répertoriés dans les bases de données internes, 20 molécules ont pu être formellement identifiées. Elles sont listées en gras et en bleu dans le Tableau 8 ci-dessus. Les 8 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

3.5.2.5 Extractions et rendements

Tableau 9. Tableau des rendements d'extraction de l'achillée naine

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	1,90	5,39	8,24
Rendement (%)	3,9	11,1	17,0
Masse de départ (g) :	48,48	Rendement total (%) :	32

3.5.2.6 Activités biologiques

Tableau 10. Tableau des activités biologiques de l'achillée naine

% de cytotoxicité par différentes dilutions										
Lignée cellulaire		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	3,7	102,7	77,2	2,2	97,7	91,0	1,1	97,7	83,0	16,4
Extrait Int	3,2	58,1	9,5	-16,7	78,0	31,1	13,9	63,3	30,8	9,5
Extrait Aq	3,7	14,0	-3,0	-11,9	55,4	6,7	-2,7	48,0	19,1	6,1

% d'induction IL8 par dilution				% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα			
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	3,7			-27,1	-6,7	-6,6	-7,2		134,2	99,1
Extrait Int	3,2		-2,7	-22,1	20,2	7,4	3,9	120,7	127,7	99,1
Extrait Aq	3,7	-24,7	-11,8	-11,6	4,8	6,3	7,3	114,2	114,3	103,9

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	3,7	47	41	12	72	23	5	82	15	3
Extrait Int	3,2	46	45	9	50	38	12	64	30	6
Extrait Aq	3,7	39	45	15	67	29	4	59	36	5

3.5.2.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires est très intéressant, il est composé de nombreuses familles de flavonoïdes (quercétine, lutéoline, apigénine ou kaempférol) mais également de plusieurs acides phénoliques et de composés majoritaires non identifiés. Les profils polaire et apolaire sont quant à eux assez communs. L'extrait apolaire n'est pas cytotoxique à la dilution minimale pour la lignée cellulaire normale (HEK293T) mais l'est pour les lignées cellulaires cancéreuses (MES-SA) et cancéreuses résistantes (MES-SA DX5). Les différents extraits ont également une tendance à un effet anti-inflammatoire et l'extrait intermédiaire a une tendance à l'inhibition de la tyrosinase. Cette plante a été classée dans le groupe 1.

3.5.3 *Aconitum lycoctonum* subsp. *Vulparia* (Rchb.) Nyman

3.5.3.1 Informations botaniques



Figure 29. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs de l'Aconit tue-loup. Source : F. Le Driant ©.[78]

L'aconit tue-loup (*Aconitum lycoctonum* subsp. *Vulparia* (Rchb.) Nyman) est une plante de la famille des renonculacées. C'est une plante vivace, relativement grande de 40 à 120 cm qui se développe dans les prairies et les sols rocheux.^[76] Ses feuilles sont palmées et très découpées, sa tige est grande et elle possède des fleurs jaune-verdâtre en grappes de juin à août. C'est une plante très toxique aussi bien pour l'homme que pour la faune.^[76,78]

3.5.3.2 Bibliographie

Tableau 11. Tableau des publications de l'aconit tue-loup

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
15	4	9,5	0

3.5.3.3 Récolte

Tableau 12. Tableau de récolte de l'aconit tue-loup

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/398	1737	691	Parties aériennes fleuries	45°2'37" N 6°18'20" E	1360	26/06/2017

Dans cette plante, 16 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 13 ci-dessous. Les 6 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 13. Tableau des composés analysés dans l'aconit tue-loup

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
2.1	Ac. Aconitique	C ₆ H ₆ O ₆	1	0,33
2.2	Ac. Chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	3,49
2.3	Dérivé Kaempférol-Rha-Hex ¹	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	1	4,13
2.4	Lycaconitine/Glaudelsine* ² [85,86]	C ₃₆ H ₄₈ N ₂ O ₁₀	1	5,05
2.5	Dérivé Kaempférol-Rha-Hex	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	1	5,29
2.6	Datiscine	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	1	5,40
2.7	Dérivé Kaempférol-Rha-Rha ^[87]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	1	5,77
2.8	Lycaconitine/Glaudelsine* ^[85,86]	C ₃₆ H ₄₈ N ₂ O ₁₀	1	5,90
2.9	Dérivé Kaempférol	C ₃₀ H ₃₀ O ₁₆	1	6,48
2.10	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
2.11	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
2.12	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
2.13	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
2.14	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
2.15	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,04
2.16	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	11,22
2.17	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	11,71
2.18	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	13,93
2.19	Ac. Gluconique	C ₆ H ₁₂ O ₇	2	14,81
2.20	Ac. Glucuronique	C ₆ H ₁₀ O ₇	2	16,05
2.21	Ac. Malique	C ₄ H ₆ O ₅	2	17,42
2.22	Ac. Cis-aconitique	C ₆ H ₆ O ₆	2	18,47

3.5.3.5 Extractions et rendements

Tableau 14. Tableau des rendements d'extraction de l'aconit tue-loup

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,64	1,13	10,00
Rendement (%)	1,2	2,1	18,3
Masse de départ (g) :	54,65	Rendement total (%) :	21,5

¹ Certains flavonoïdes glycosylés ont été détaillés, les abréviations sont définies dans le glossaire.

² Les molécules avec une astérisque n'ont pas été formellement identifiées, toutefois les différentes informations (formule brute, spectre) ont été comparées à la littérature.

3.5.3.6 Activités biologiques

Tableau 15. Tableau des activités biologiques de l'aconit tue-loup

% de cytotoxicité par différentes dilutions										
Lignée cellulaire		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	1,4	93,2	11,1	1,2	83,5	0,2	8,8	88,0	35,0	17,4
Extrait Int	2,5	80,9	11,5	7,7	92,5	2,5	3,4	94,7	28,8	13,7
Extrait Aq	2,7	20,0	3,2	-10,8	32,7	6,8	11,5	50,1	28,6	8,7

% d'induction IL8 par dilution				% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα			
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	1,4		-12,8	-3,3	15,5	-1,2	-6,9	103,8	98,8	101,4
Extrait Int	2,5		-12,3	-17,9	19,2	5,0	-8,1	91,2	98,8	89,1
Extrait Aq	2,7	-17,8	-10,0	-17,6	4,6	-1,3	-8,6	91,2	92,8	95,2

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	1,4	51	40	9	51	40	9	59	35	6
Extrait Int	2,5	46	44	10	65	28	7	68	24	8
Extrait Aq	2,7	58	32	9	70	26	5	71	23	5

3.5.3.7 Conclusion

Cette plante a été classée dans le groupe 2. Au niveau phytochimique, ces composés majoritaires, des flavonoïdes et des alcaloïdes ont déjà décrits été dans la littérature et ses profils polaire et apolaire sont communs. Enfin, seulement une tendance à l'inhibition de la tyrosinase est observable sur les résultats biologiques de l'extrait intermédiaire à la plus forte concentration.

3.5.4 *Ajuga pyramidalis* L.

3.5.4.1 Informations botaniques



Figure 32. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs du bugle pyramidale.

La bugle pyramidale (*Ajuga pyramidalis* L.) est une plante de la famille des lamiacées. C'est une petite plante mesurant de 5 à 20 cm qui se développe dans les prairies de montagnes. On la trouve majoritairement dans l'Europe centrale ou boréale.^[76] La bugle pyramidale tient son nom de sa forme : sa tige et ses feuilles velues forment une section carrée jusqu'au sommet. Ses feuilles sont vertes à la base et deviennent rouge bordeaux en hauteur. Elle possède des fleurs bleues ou rosées observable d'avril à août, disposées par trois à la jointure des feuilles et de la tige.^[76,78]

3.5.4.2 Bibliographie

Tableau 16. Tableau des publications du bugle pyramidale

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
9	1	5	1

3.5.4.3 Récoltes

Tableau 17. Tableau de récoltes du bugle pyramidale

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/399	1725	14,5	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	2280	26/06/2017
R18/236	1725	13	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	2280	28/06/2018
R18/237	1725	300	Parties aériennes fleuries	45°2'3" N 6°24'6"E	2060	28/06/2018

R19/249	1725	30	Parties aériennes	45°2'42" N 6°23'58" E	2280	19/06/2019
R19/250	1725	15	Fleurs	45°2'3" N 6°24'6"E	2060	19/06/2019
R19/251	1725	0,8	Racines	45°2'3" N 6°24'6"E	2060	19/06/2019
R19/252	1725	25	Parties aériennes non fleuries	45°2'3" N 6°24'6"E	2060	19/06/2019

3.5.4.4 Phytochimie

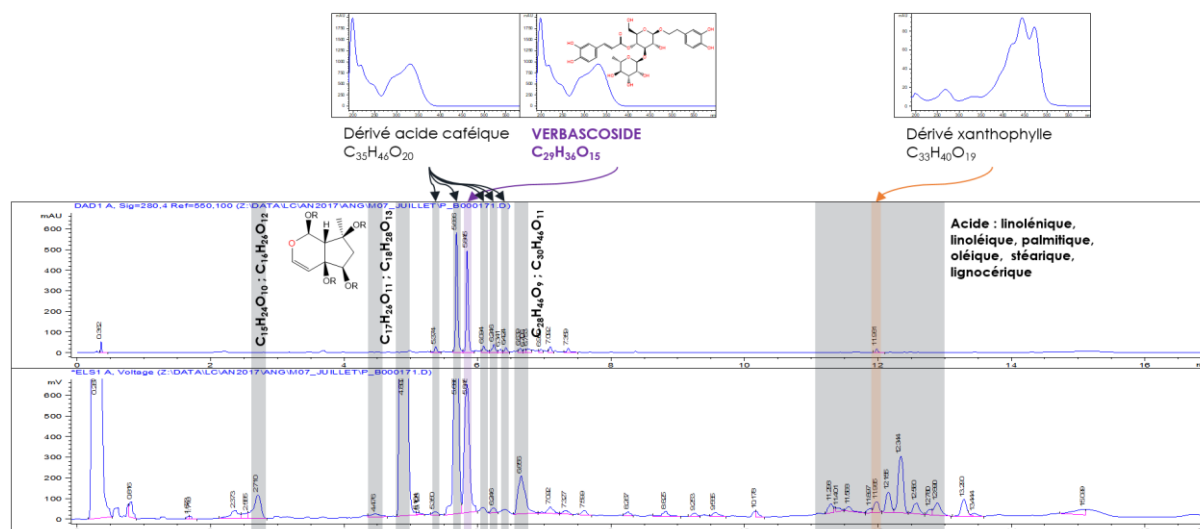


Figure 33. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 33 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 34 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC. Le décalage du temps de rétention est dû à l'instabilité des éluants composés d'ammoniaque.

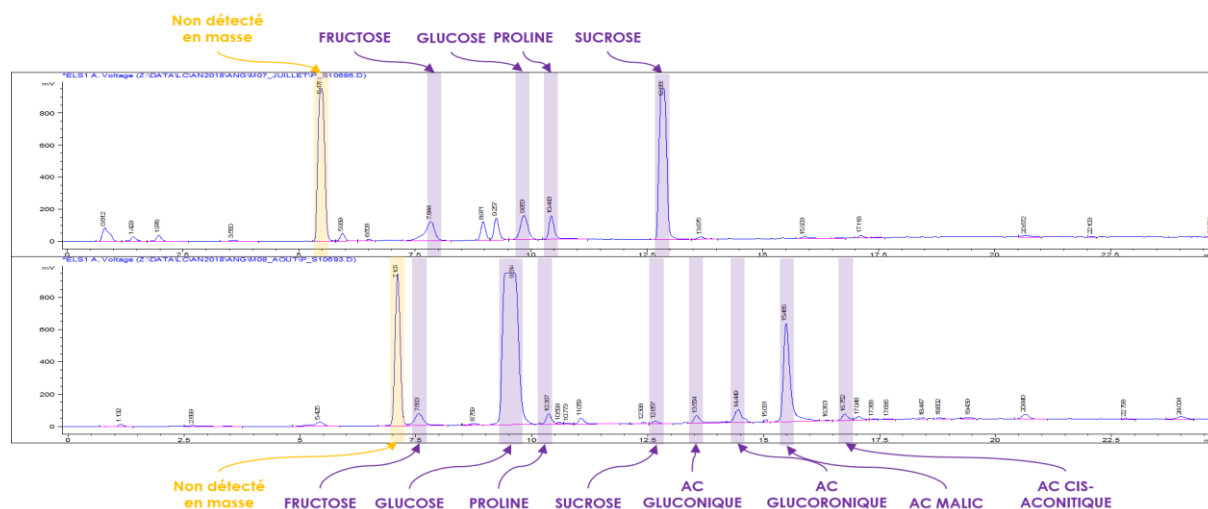


Figure 34. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 15 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 18 ci-dessous. Les 10 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 18. Tableau des composés analysés dans la bugle pyramidale

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
3.1	Harpagide* ^[88]	C ₁₅ H ₂₄ O ₁₀	1	2,28
3.2	8-O-acétylharpagide* ^[88]	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁	1	4,89
3.3	Dérivé Ac. Caféique	C ₄₁ H ₅₆ O ₂₅	1	5,35
3.4	Dérivé Ac. Caféique	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	1	5,69
3.5	Verbascoside	C₂₉H₃₆O₁₅	1	5,85
3.6	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	1	6,10
3.7	Dérivé Ac. Caféique	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	1	6,25
3.8	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	1	6,42
3.9	Dérivé terpénique	C ₂₈ H ₄₂ O ₈	1	6,66
3.10	Dérivé terpénique	C ₂₉ H ₄₄ O ₉	1	6,66
3.11	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
3.12	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
3.13	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
3.14	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
3.15	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
3.16	Dérivé Xanthophylle	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	1	11,98
3.17	Ac. Lignocérique	C₂₄H₄₈O₂	1	12,16
3.18	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	7,87
3.19	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	9,89
3.20	Proline	C₅H₉NO₂	2	10,48
3.21	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	12,89
3.22	Ac. Gluconique	C₆H₁₂O₇	2	13,67
3.23	Ac. Glucuronique	C₆H₁₀O₇	2	15,46
3.24	Ac. Malique	C₄H₆O₅	2	15,81
3.25	Ac. Cis-aconitique	C₆H₆O₆	2	17,05

3.5.4.5 Extractions et rendements

Tableau 19. Tableau des rendements d'extraction du bugle pyramidale

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	13,78	0,53	3,52
Rendement (%)	3,8	25,5	24,1
Masse de départ (g) :	13,78	Rendement total (%) :	53,5

3.5.4.6 Activités biologiques

Tableau 20. Tableau des activités biologiques du bugle pyramidale

% de cytotoxicité par différentes dilutions										
Lignée cellulaire		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2,8	94,8	39,1	-6,7	73,5	0,3	-8,7	77,5	36,0	6,7
Extrait Int	3,5	33,9	1,8	-15,3	54,2	14,8	-6,7	53,9	7,8	1,4
Extrait Aq	3,3	21,8	-20,6	-16,3	65,1	23,8	-9,6	45,3	16,0	9,5

% d'induction IL8 par dilution				% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα			
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2,8			7,3	-9,2	-6,2	-9,6		147,2	108,6
Extrait Int	3,5		-7,6	-9,1	-3,4	-10,6	-7,2	114,2	127,7	103,9
Extrait Aq	3,3	-18,7	-12,3	-19,5	-11,8	-7,1	-0,7	107,6	127,7	99,1

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2,8	55	37	8	50	40	10	59	34	7
Extrait Int	3,5	59	34	7	63	32	6	58	31	11
Extrait Aq	3,3	64	31	5	69	25	6	64	29	7

3.5.4.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est très intéressant, elle est composée de quelques molécules majoritaires issues de trois familles de composés : des iridoïdes, des acides phénoliques et des terpènes. C'est d'ailleurs la seule plante de l'étude à posséder des iridoïdes. Ses profils polaire et apolaire sont cependant assez communs. Au niveau biologique, seuls les extraits polaires présentent une tendance anti-inflammatoire. Cette plante a été classée dans le groupe 1.

3.5.5 *Alchemilla alpina* L.

3.5.5.1 Informations botaniques



Figure 35. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs de l'alchémille des alpes. Source : F. Le Driant ©.[78]

L'alchémille des Alpes (*Alchemilla alpina* L.) est une plante de la famille des rosacées. C'est une petite plante vivace mesurant de 10 à 20 cm qui se développe dans les pelouses ou les rochers de haute montagne.^[76] Elle est observable dans toute l'Europe. Ses feuilles sont vert vif sur le dessus, velues et argentées en dessous. Les feuilles sont divisées à la base en 5 à 9 folioles et dentées au sommet. Les fleurs, quant à elles, se développent de juillet à août, elles sont jaunes et disposées en grappes au bout des tiges.^[76]

3.5.5.2 Bibliographie

Tableau 21. Tableau des publications de l'alchémille des alpes

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
18	0	9	1

3.5.5.3 Récolte

Tableau 22. Tableau de récolte de l'alchémille des alpes

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/400	1722	33	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	2280	26/06/2017

3.5.5.4 Phytochimie

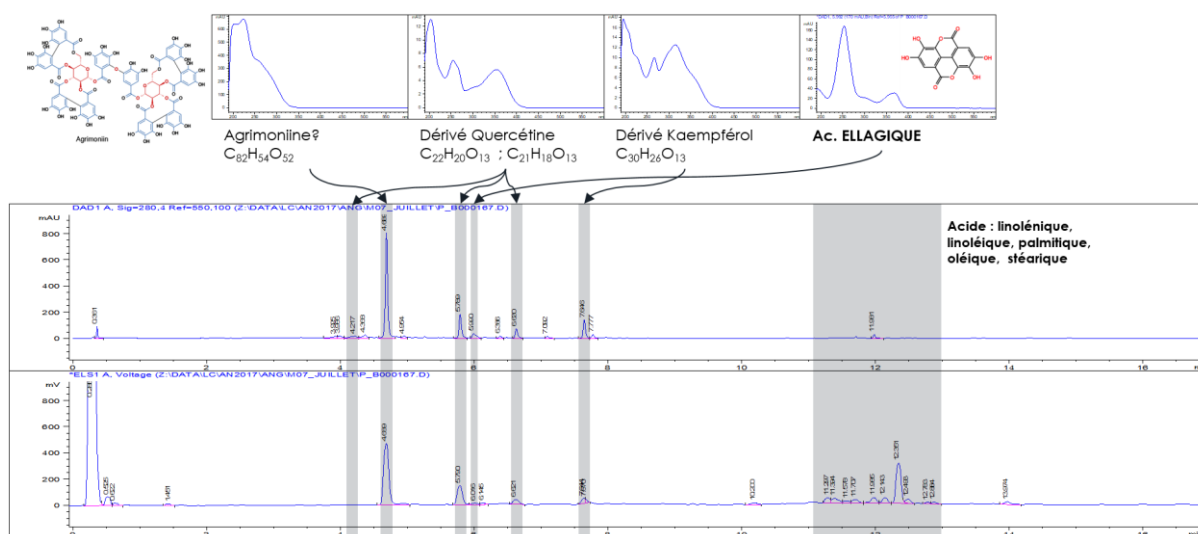


Figure 36. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 36 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 37 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

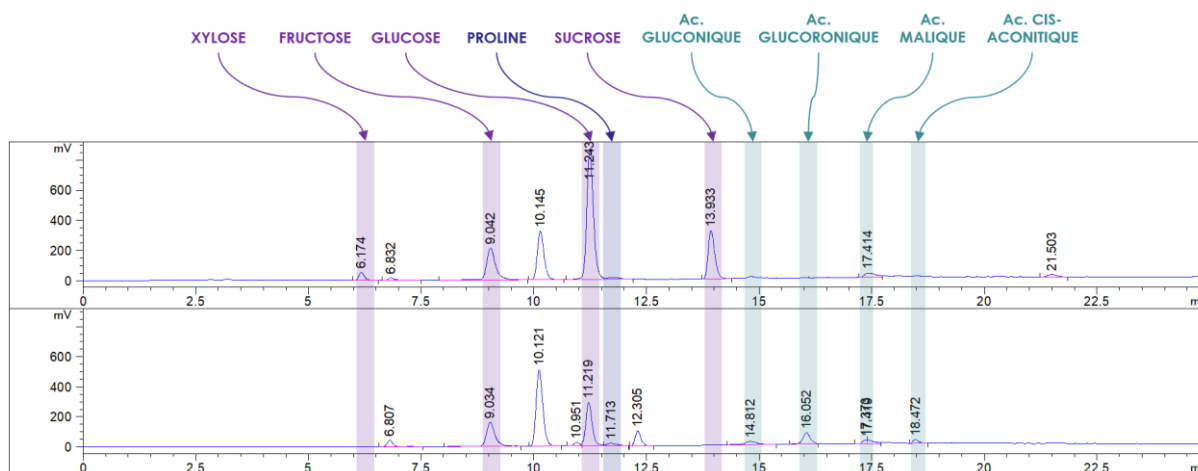


Figure 37. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 15 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 23 ci-dessous. Les 6 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 23. Tableau des composés analysés dans l'alchémille des alpes

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
4.1	Dérivé Quercétine	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₃	1	4,22
4.2	Agrimoniine* ^[89]	C ₈₂ H ₅₄ O ₅₂	1	4,70
4.3	Dérivé Quercétine-glycosylé	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	1	5,79
4.4	Ac. Ellagique	C ₁₄ H ₆ O ₈	1	5,99
4.5	Dérivé Kaempférol	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	1	6,39
4.6	Dérivé Quercétine	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₃	1	6,630
4.7	Dérivé Kaempférol	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	1	7,646
4.8	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
4.9	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
4.10	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
4.11	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
4.12	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
4.13	Xylose	C ₅ H ₁₀ O ₅	2	6,17
4.14	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,03
4.15	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	11,22
4.16	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	11,71
4.17	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	13,93
4.18	Ac. Gluconique	C ₆ H ₁₂ O ₇	2	14,81
4.19	Ac. Glucuronique	C ₆ H ₁₀ O ₇	2	16,05
4.20	Ac. Malique	C ₄ H ₆ O ₅	2	17,41
4.21	Ac. Cis-aconitique	C ₆ H ₆ O ₆	2	18,47

3.5.5.5 Extractions et rendements

Tableau 24. Tableau des rendements d'extraction de l'alchémille des alpes

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	1,16	7,16	4,01
Rendement (%)	3,5	21,5	12,1
Masse de départ (g) :	33,24	Rendement total (%) :	37,1

3.5.5.6 Activités biologiques

Tableau 25. Tableau des activités biologiques de l'alchémille des alpes

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2,6	88,3	46,5	3,3	52,0	6,0	-0,3	98,1	53,0	40,5
Extrait Int	4,0	103,4	47,8	-6,7	98,6	66,0	33,1	98,7	61,7	25,8
Extrait Aq	2,8	44,4	-6,9	0,4	84,3	22,8	26,5	98,1	21,4	16,4

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2,6			-26,4	-2,2	-6,7	-8,0		110,8	101,4
Extrait Int	4,0			-14,6	44,7	11,6	-6,3		104,8	95,2
Extrait Aq	2,8		-5,5	3,5	-1,3	-2,5	-2,1	97,5	110,8	101,4

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2,6	49	42	8	72	27	2	64	30	5
Extrait Int	4,0	42	39	18	63	32	5	68	29	2
Extrait Aq	2,8	61	30	9	61	30	9	68	25	7

3.5.5.7 Conclusion

Les profils phytochimiques de cette plante sont très pauvres, aussi bien dans la partie polaires, apolaires qu'au niveau des métabolites secondaires. Cependant, il est possible d'observer des tendances anti-inflammatoires sur son extrait apolaire à la plus petite concentration. L'extrait intermédiaire à la plus haute concentration présente une tendance activatrice de la tyrosinase ainsi qu'une augmentation de l'autophagie. Cette plante a été classée dans le groupe 2.

3.5.6 *Antennaria carpatica* (Wahlenb.) Bluff. & Fingherh.

3.5.6.1 Informations botaniques



Figure 38. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de l'antennaire des Carpates. Source : Herbarium de Genève et F. Le Driant ©.[78,90]

L'antennaire des Carpates (*Antennaria carpatica* (Wahlenb.) Bluff. & Fingherh.) est une plante de la famille des astéracées. C'est une petite plante vivace mesurant de 5 à 20 cm qu'il est possible de trouver dans les pâturages et rochers de haute montagne.^[76] Elle est répartie dans toutes les Alpes de l'Europe, en Norvège et en Laponie. *A. carpatica* est différenciable d'*A. dioica* par sa longue tige et ses capitules bruns ou noirâtres.^[78] Ses feuilles sont cotonneuses sur les deux faces et se dressent sur toute la plante. Les fleurs sont observables de juillet à août, de couleurs blanches à brunes formées par capitules de 2 à 4 au bout de la tige.^[76]

3.5.6.2 Bibliographie

Tableau 26. Tableau des publications de l'antennaire des Carpates

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
0	0	0	0

3.5.6.3 Récolte

Tableau 27. Tableau de récolte de l'antennaire des Carpates

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/401	1730	27	Parties aériennes fleuries	45°3'11" N 6°24'9" E	2410	11/07/2017

3.5.6.4 Phytochimie

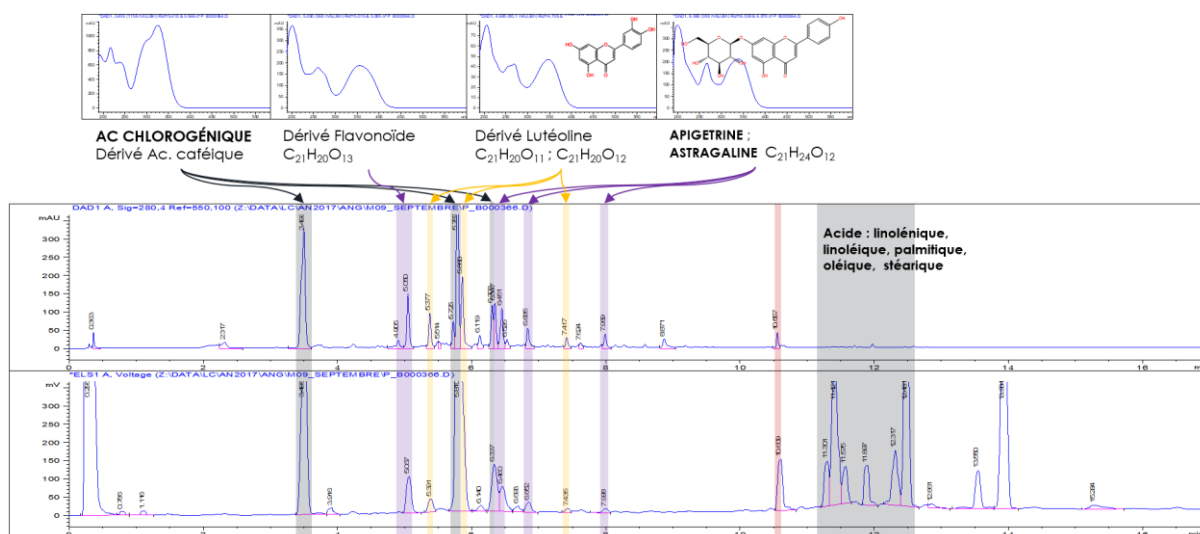


Tableau 28. Tableau des composés analysés dans l'antennaire des Carpates

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
5.1	Dérivé Ac. Caféique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	2,32
5.2	Ac. Chlorogénique	C₁₆H₁₈O₉	1	3,50
5.3	Dérivé Myricétine-Hex	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	1	5,05
5.4	Dérivé Lutéoline	C ₁₇ H ₃₀ O ₁₀	1	5,38
5.5	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₇ H ₃₆ O ₁₃	1	5,73
5.6	3,5-DCQ	C₂₅H₂₄O₁₂	1	5,79
5.7	Dérivé Lutéoline-Hex	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	5,86
5.8	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1	6,31
5.9	Apigétrine	C₂₁H₂₀O₁₀	1	6,45
5.10	Astragaline	C₂₁H₂₀O₁₁	1	6,84
5.11	Dérivé Lutéoline	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	1	7,42
5.12	3',4',7-Trihydroxyflavone	C₁₅H₁₀O₅	1	7,99
5.13	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
5.14	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
5.15	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
5.16	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
5.17	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
5.18	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	9,03
5.19	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	11,22
5.20	Proline	C₅H₉NO₂	2	11,71
5.21	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	13,93
5.22	Ac. Glucuronique	C₆H₁₀O₇	2	16,05
5.23	Ac. Malique	C₄H₆O₅	2	17,41

3.5.6.5 Extractions et rendements

Tableau 29. Tableau des rendements d'extraction de l'antennaire des Carpates

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,62	2,50	6,34
Rendement (%)	1,7	6,7	17,1
Masse de départ (g) :	37,07	Rendement total (%) :	25,5

3.5.6.6 Activités biologiques

Tableau 30. Tableau des activités biologiques de l'antennaire des Carpates

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	1,4	102,5	78,9	33,4	97,6	95,7	15,0	96,9	68,4	37,4
Extrait Int	2,5	79,5	20,9	6,1	97,3	36,9	13,5	99,7	37,0	28,3
Extrait Aq	2,7	6,5	4,2	-5,8	44,9	14,4	11,3	25,7	24,5	12,4

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	1,4				8,3	-3,5	-11,2			95,2
Extrait Int	2,5		14,5	3,1	25,0	8,2	-9,4	97,5	92,8	89,1
Extrait Aq	2,7	-7,9	-11,4	-21,0	5,8	2,6	1,4	84,7	80,5	107,5

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	1,4	44	45	11	64	30	6	59	32	8
Extrait Int	2,5	64	31	5	48	42	10	54	39	8
Extrait Aq	2,7	74	23	3	45	40	15	57	36	7

3.5.6.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est majoritairement composé de flavonoïdes (lutéoline, kaempférol) et d'acides phénoliques assez communs dans la littérature. La partie polaire est assez classique, mis à part une molécule non identifiée, et le profil apolaire est riche en acides gras. Il est possible d'observer une tendance anti-inflammatoire sur l'extrait polaire ainsi qu'une activation de l'autophagie. Cette plante a été classée dans le groupe 2.

3.5.7 *Antennaria dioica* (L.) Gaertn.

3.5.7.1 Informations botaniques



Figure 41. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de l'antennaire dioïque.

L'antennaire dioïque (*Antennaria dioica* (L.) Gaertn.) est une plante de la famille des astéracées. C'est une très petite plante vivace mesurant de 5 à 15 cm que l'on trouve dans les prés et pâturages de haute montagne.^[76] Cette espèce se développe dans toute l'Europe et l'Amérique septentrionale.^[76] Comme il est possible de le voir sur les photos de la Figure 41 ci-dessus et comme son nom l'indique, la plante est unisexuée. Il est possible d'observer des fleurs blanches pour les mâles et roses pour les femelles de mai à juin.^[76] Les feuilles sont réparties à la base et le long de la tige. Elles sont vertes ou vert blanchâtre au-dessus.^[76]

3.5.7.2 Bibliographie

Tableau 31. Tableau des publications de l'antennaire dioïque

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
6	1	3	4

3.5.7.3 Récoltes

Tableau 32. Tableau de récoltes de l'antennaire dioïque

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/402	1731	41	Parties aériennes fleuries	45°3'11" N 6°24'9" E	2410	11/07/2017

R18/362	1731	110	Parties aériennes fleuries	45°3'46" N 6°24'16" E	2580	17/07/2018
R18/363	1731	67	Parties aériennes fleuries	45°3'11" N 6°24'9" E	2410	17/07/2018

3.5.7.4 Phytochimie

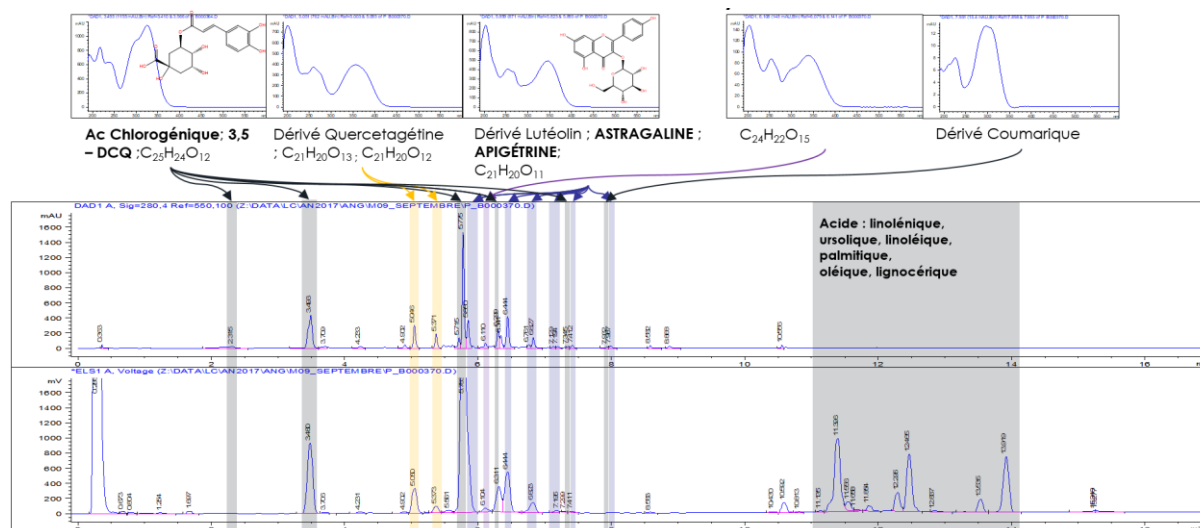


Figure 42. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 42 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 43 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

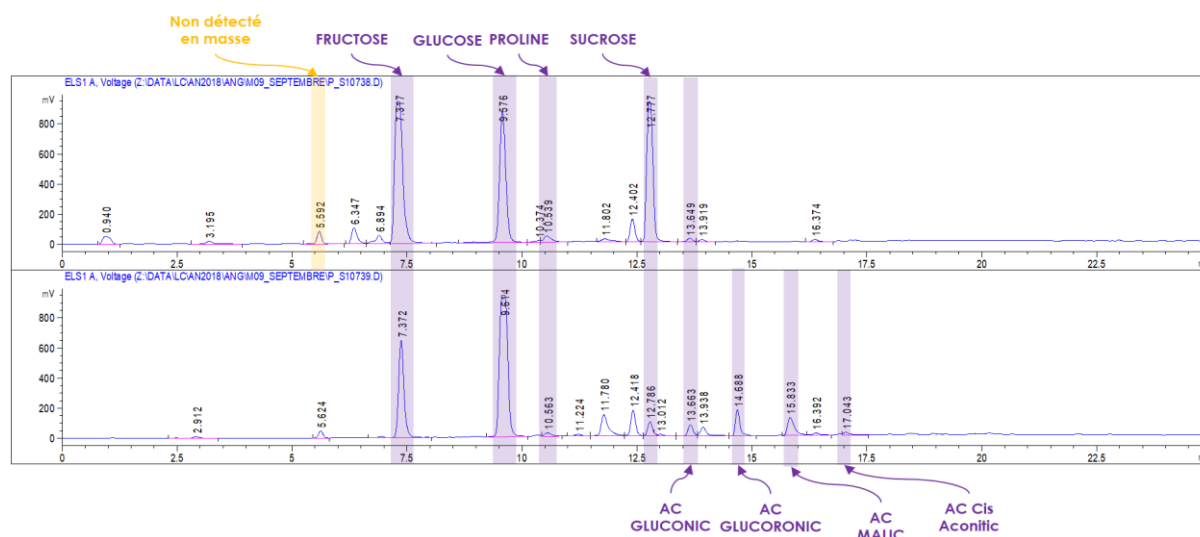


Figure 43. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 19 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 33 ci-dessous. Les 10 autres molécules ont été catégorisées

dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi que leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 33. Tableau des composés analysés dans l'antennaire dioïque

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
6.1	Dérivé Ac. Caféique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	2,35
6.2	Ac. Chlorogénique	C₁₆H₁₈O₉	1	3,50
6.3	Dérivé Quercétagine-glycosylé	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	1	5,05
6.4	Dérivé Quercétagine-glycosylé	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,37
6.5	3,5-DCQ	C₂₅H₂₄O₁₂	1	5,78
6.6	Dérivé Lutéoline-Hex	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	5,88
6.7	Dérivé Kaempférol	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₅	1	6,11
6.8	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1	6,30
6.9	Apigétrine	C₂₁H₂₀O₁₀	1	6,34
6.10	Astragaline	C₂₁H₂₀O₁₁	1	6,44
6.11	Dérivé Lutéoline-glycosylé	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	6,83
6.12	Dérivé Lutéoline-Rha	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	1	7,13
6.13	Dérivé Ac. Caféique	C ₃₁ H ₄₄ O ₁₂	1	7,35
6.14	Dérivé Ac. Coumarique	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	1	7,93
6.15	3',4',7-Trihydroxyflavone	C₁₅H₁₀O₅	1	7,99
6.16	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
6.17	Ac. Ursolique	C₃₀H₄₈O₃	1	11,40
6.18	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
6.19	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
6.20	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
6.21	Ac. Lignocérique	C₂₄H₄₈O₂	1	12,16
6.22	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	7,32
6.23	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	9,58
6.24	Proline	C₅H₉NO₂	2	10,56
6.25	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	12,78
6.26	Ac. Gluconique	C₆H₁₂O₇	2	13,66
6.27	Ac. Glucuronique	C₆H₁₀O₇	2	14,69
6.28	Ac. Malique	C₄H₆O₅	2	15,83
6.29	Ac. Cis-aconitique	C₆H₆O₆	2	17,04

3.5.7.5 Extractions et rendements

Tableau 34. Tableau des rendements d'extraction de l'antennaire dioïque

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,34	1,75	2,63
Rendement (%)	1,7	8,6	12,9
Masse de départ (g) :	20,33	Rendement total (%) :	23,2

3.5.7.6 Activités biologiques

Tableau 35. Tableau des activités biologiques de l'antennaire dioïque

% de cytotoxicité par différentes dilutions										
Lignée cellulaire		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2,9	102,5	99,6	63,6	97,8	97,2	46,3	97,8	87,5	55,7
Extrait Int	2,9	72,8	25,4	8,1	92,1	52,6	11,5	87,7	47,9	20,2
Extrait Aq	2,8	23,7	-9,7	4,3	73,6	13,4	20,0	67,5	27,9	24,3

% d'induction IL8 par dilution				% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα			
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2,9				15,1	-3,4	-9,8			107,5
Extrait Int	2,9		26,8	12,3	26,7	5,8	-7,3	91,2	104,8	113,5
Extrait Aq	2,8	-15,9	4,2	-19,5	3,0	2,5	-0,5	91,2	98,8	101,4

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2,9	39	38	23	48	40	12	66	27	8
Extrait Int	2,9	45	42	12	71	27	3	62	30	8
Extrait Aq	2,8	63	32	5	75	21	4	76	21	3

3.5.7.7 Conclusion

Le profil phytochimique d'*A. dioica* est quasi similaire au profil phytochimique d'*A. carpatica*. Elle contient cependant des familles de flavonoïdes plus diversifiées, et une famille supplémentaire de composés. Au niveau biologique, elle présente le même type d'activité, à l'exception de son extrait intermédiaire qui est à la fois inhibiteur de la tyrosinase et activateur de l'inflammation selon sa concentration. Cette plante a été classée dans le groupe 1.

3.5.8 *Artemisia genipi* Weber

3.5.8.1 Informations botaniques



Figure 44. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs du génépi noir. Source : Herbarium de Genève et Le Driant ©.[78,90]

Le génépi noir (*Artemisia genipi* Weber) est une plante de la famille des astéracées. C'est une très petite plante vivace, mesurant de 8 à 10 cm, qui prospère dans les rocaillies de haute montagne.^[78] On la retrouve dans toutes les Alpes, de la France jusqu'aux Carpates. Les fleurs se développent en capitules de 12 à 15 fleurs jaunes en grappe simple le long de la tige de juillet à août.^[76] Ses feuilles sont ovales à la base de la plante et dentées arrondies le long de la tige.^[76] Il est également possible de sentir un parfum caractéristique d'absinthe.^[76]

3.5.8.2 Bibliographie

Tableau 36. Tableau des publications du génépi noir

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
3	3	3	0

3.5.8.3 Récolte

Tableau 37. Tableau de récolte du génépi noir

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/403	1732	6,52	Parties aériennes fleuries	45°3'53" N 6°24'23" E	2650	13/07/2017

3.5.8.4 Phytochimie

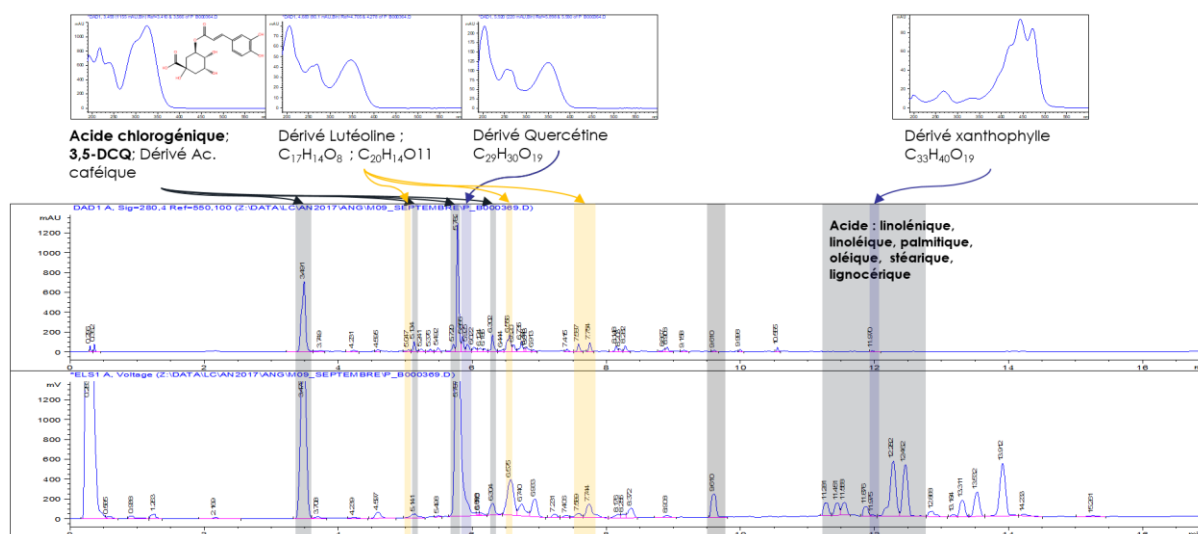


Figure 45. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 45 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 46 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

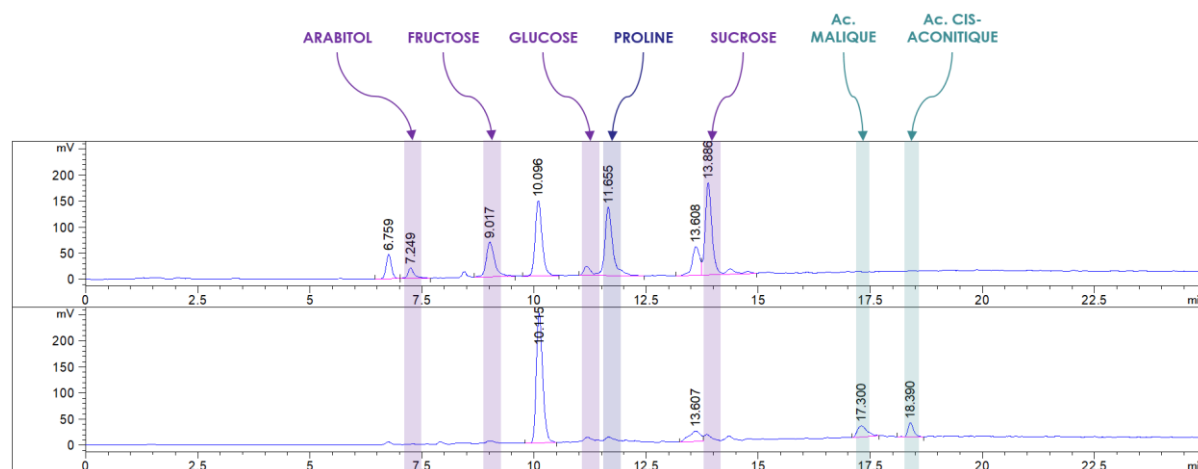


Figure 46. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 17 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 38 ci-dessous. Les 7 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 38. Tableau des composés analysés dans le génépi noir

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
7.1	Ac. Chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	3,50
7.2	Dérivé Ac. Caféique	-	1	5,05
7.3	3,5-DCQ	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1	5,78
7.4	Dérivé Quercétine-Rha	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	5,86
7.5	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1	6,30
7.6	Dérivé Lutéoline	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	1	6,56
7.7	Dérivé Lutéoline	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₁	1	6,83
7.8	Dérivé Lutéoline	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	1	7,13
7.9	Diosméfine	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	1	8,15
7.10	Baicaléine	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	1	8,28
7.11	Dérivé Saponine	-	1	7,36
7.12	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
7.13	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
7.14	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
7.15	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
7.16	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
7.17	Ac. Lignocérique	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	1	12,15
7.18	Arabitol	C ₅ H ₁₂ O ₅	2	7,25
7.19	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,02
7.20	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	11,22
7.21	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	11,66
7.22	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	13,89
7.23	Ac. Malique	C ₄ H ₆ O ₅	2	17,30
7.24	Ac. Cis-aconitique	C ₆ H ₆ O ₆	2	18,39

3.5.8.5 Extractions et rendements

Tableau 39. Tableau des rendements d'extraction du génépi noir

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,30	0,82	1,07
Rendement (%)	5,0	13,7	17,9
Masse de départ (g) :	5,98	Rendement total (%) :	36,6

3.5.8.6 Activités biologiques

Tableau 40. Tableau des activités biologiques du génépi noir

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2,7	103,8	105,2	75,8	98,2	99,8	95,9	97,7	101,2	80,3
Extrait Int	1,8	32,9	13,1	5,6	55,9	10,6	2,5	65,5	12,5	16,9
Extrait Aq	2,0	37,6	-2,1	-0,6	62,4	27,9	4,4	45,5	14,8	16,2

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2,7				1,8	-5,6	-12,0			107,5
Extrait Int	1,8		6,8	-11,7	19,3	11,1	1,8	97,5	104,8	95,2
Extrait Aq	2,0		-4,1	-17,7	16,7	13,0	2,4	97,5	92,8	95,2

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2,7	28	53	19	43	46	10	64	31	6
Extrait Int	1,8	72	26	2	70	27	3	74	24	2
Extrait Aq	2,0	64	32	4	64	33	4	57	35	9

3.5.8.7 Conclusion

L'A. *genipi* présente un profil phytochimique et des résultats biologiques similaires aux deux précédentes plantes. En revanche, sa récolte est très difficile, et il n'a pas été possible de récolter plus de 10 g de plante. La plante a donc été classée dans le groupe 3.

3.5.9 *Asphodelus albus* L. subsp. *delphinensis* (Gr. & Godr.) Diaz Lifente

3.5.9.1 Informations botaniques



Figure 47. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs de l'asphodèle du Dauphiné. Source : F. Le Driant ©.[78]

L'asphodèle du Dauphiné (*Asphodelus albus* L. subsp. *delphinensis* (Gr. & Godr.) Diaz Lifente) est une plante de la famille des asphodélacées. C'est une grande plante vivace d'environ un mètre. Elle se développe dans les pâturages de moyenne et haute montagne.^[76] Les fleurs blanches poussent en grappes denses de mai à août au bout de la longue et unique tige et ses feuilles se développent à la base de la tige en gouttière.^[76] Cette sous-espèce est présente dans toute l'Europe méridionale, jusqu'en Bulgarie.^[76]

3.5.9.2 Bibliographie

Tableau 41. Tableau des publications de l'asphodèle du Dauphiné

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
1	4	2,5	0

3.5.9.3 Récolte

Tableau 42. Tableau de récolte de l'asphodèle du Dauphiné

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/404	1721	169	Parties aériennes fleuries	45°1'57" N 6°23'30" E	2020	26/06/2017

3.5.9.4 Phytochimie

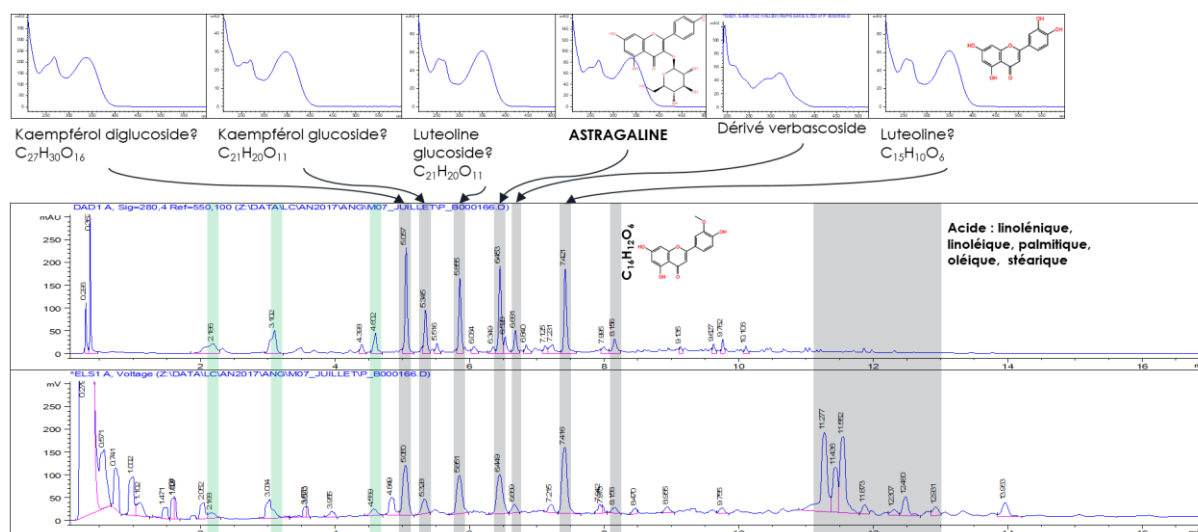


Figure 48. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 48 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 49 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

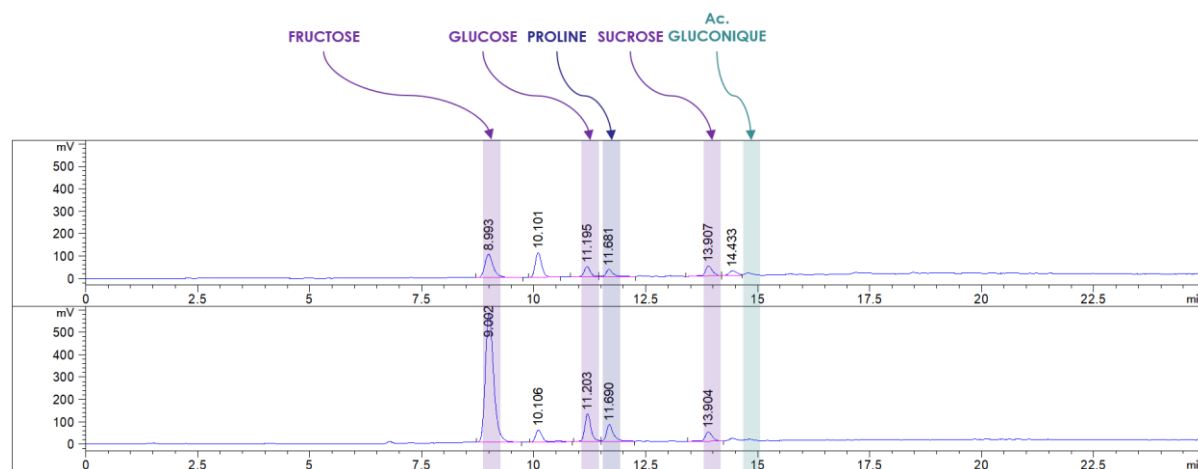


Figure 49. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 11 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 43 ci-dessous. Huit autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes. Une molécule n'a cependant pas pu être reliée à une famille chimique.

Tableau 43. Tableau des composés analysés dans l'asphodèle du Dauphiné

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
8.1	-	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	1	2,14
8.2	Dérivé Coumarique	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	1	3,10
8.3	Dérivé Lutéoline-Hex-Hex	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	1	3,60
8.4	Dérivé Kaempférol-Hex-Hex	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	1	5,06
8.5	Dérivé Kaempférol-Hex	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	5,35
8.6	Dérivé Lutéoline-Hex	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	5,86
8.7	Astragaline	C₂₁H₂₀O₁₁	1	6,45
8.8	Dérivé Ac. Caféique	C ₁₅ H ₂₁ O ₇	1	6,68
8.9	Dérivé Lutéoline	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	1	7,42
8.10	Dérivé Lutéoline	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	1	8,16
8.11	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
8.12	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
8.13	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
8.14	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
8.15	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
8.16	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	8,99
8.17	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	11,20
8.18	Proline	C₅H₉NO₂	2	11,68
8.19	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	13,91
8.20	Ac. Gluconique	C₆H₁₂O₇	2	14,75

3.5.9.5 Extractions et rendements

Tableau 44. Tableau des rendements d'extraction de l'asphodèle du Dauphiné

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,82	4,40	13,78
Rendement (%)	2,3	12,3	38,4
Masse de départ (g) :	35,90	Rendement total (%) :	52,9

3.5.9.6 Activités biologiques

Tableau 45. Tableau des activités biologiques de l'asphodèle du Dauphiné

Lignée cellulaire		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	4,0	75,8	13,1	3,0	85,7	-0,5	-0,8	97,8	-11,1	14,2
Extrait Int	2,8	74,1	11,9	-4,4	98,4	35,7	18,5	101,0	30,5	18,8
Extrait Aq	2,2	35,3	8,3	-7,9	98,1	13,5	6,6	100,1	12,1	21,4

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	4,0		0,0	-20,3	1,2	-7,0	-4,9	128,4	116,6	119,4
Extrait Int	2,8		-5,5	-11,1	19,9	3,2	-9,8	103,8	104,8	113,5
Extrait Aq	2,2		9,8	-18,1	-1,2	-0,7	-2,7	97,5	92,8	119,4

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	4,0	39	30	31	86	11	3	83	16	1
Extrait Int	2,8	66	25	9	84	14	2	69	28	3
Extrait Aq	2,2	59	34	7	57	36	7	58	33	8

3.5.9.7 Conclusion

La plante est composée de diverses familles de flavonoïdes (kaempférol, lutéoline) et d'acides phénoliques. Ses profils polaire et apolaire sont assez communs (saccharides et acides gras). Les extraits apolaire et polaire présentent des tendances anti-inflammatoires à leur concentration la plus faible, tandis que l'extrait intermédiaire présente une tendance d'inhibition de la tyrosinase. Cette plante a été classée dans le groupe 2.

3.5.10 *Astragalus monspessulanus* L.

3.5.10.1 Informations botaniques



Figure 50. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de l'astragale de Montpellier.

L'astragale de Montpellier (*Astragalus monspessulanus* L.) est une plante de la famille des fabacées. C'est une petite plante vivace mesurant de 10 à 20 cm présente proche des côtes calcaires.^[76] On la retrouve dans toute l'Europe et dans le nord de l'Afrique. Il est possible d'observer des fleurs violacées d'avril à juin et ses feuilles se développent en au moins 10 paires de folioles le long de tiges différentes de celles des fleurs.^[76]

3.5.10.2 Bibliographie

Tableau 46. Tableau des publications de l'astragale de Montpellier

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
10	4	7	2

3.5.10.3 Récoltes

Tableau 47. Tableau de récoltes de l'astragale de Montpellier

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/405	1723	97	Parties aériennes fleuries	45°1'47" N 6°21'51" E	1680	26/06/2017
R18/238	1723	570	Parties aériennes fleuries	45°1'44"N 6°21'54" E	1660	28/06/2018

3.5.10.4 Phytochimie

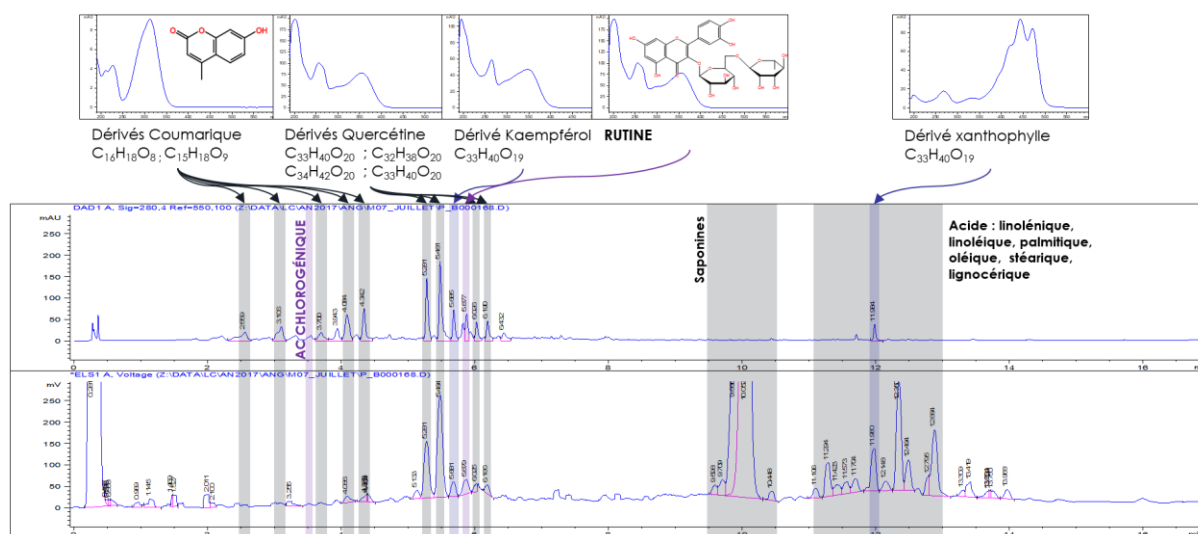


Figure 51. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 51 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 52 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

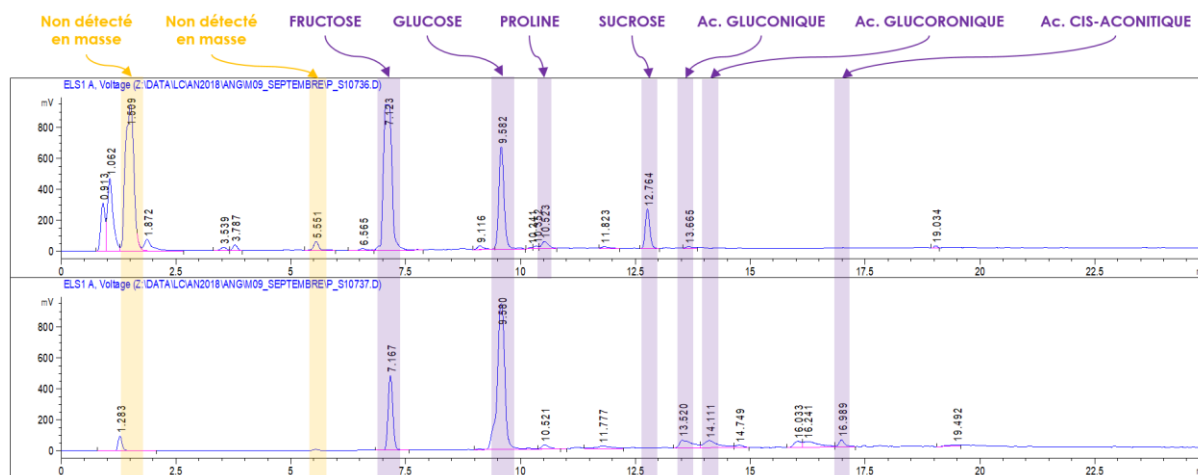


Figure 52. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 15 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 48 ci-dessous. Les 11 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 48. Tableau des composés analysés dans l'astragale de Montpellier

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
9.1	Dérivé Coumarine	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	1	3,11
9.2	Ac. Chlorogénique	C₁₆H₁₈O₉	1	3,50
9.3	Dérivé Coumarine	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	1	3,70
9.4	Scopoline* ^[91]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	4,08
9.5	Dérivé Coumarine	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	1	4,34
9.6	Alcesefoliside* ^[84]	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	1	5,28
9.7	Dérivé Quercétine-Pent-Rut	C ₃₂ H ₃₈ O ₂₀	1	5,48
9.8	Mauritianine* ^[84]	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	1	5,67
9.9	Rutine	C₂₇H₃₀O₁₆	1	5,88
9.10	Dérivé Quercétine	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₀	1	6,03
9.11	Dérivé Quercétine-Rha-Rut	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	1	6,19
9.12	Dérivé Saponine	C ₃₅ H ₅₈ O ₁₁	1	9,90
9.13	Dérivé Saponine	C ₃₇ H ₆₀ O ₁₂	1	10,05
9.14	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
9.15	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
9.16	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
9.17	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
9.18	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
9.19	Ac. Lignocérique	C₂₄H₄₈O₂	1	12,15
9.20	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	7,12
9.21	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	9,58
9.22	Proline	C₅H₉NO₂	2	10,52
9.23	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	12,76
9.24	Ac. Gluconique	C₆H₁₂O₇	2	13,52
9.25	Ac. Glucuronique	C₆H₁₀O₇	2	14,11
9.26	Ac. Cis-aconitique	C₆H₆O₆	2	16,99

3.5.10.5 Extractions et rendements

Tableau 49. Tableau des rendements d'extraction de l'astragale de Montpellier

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	1,75	9,76	8,47
Rendement (%)	3,5	19,4	16,9
Masse de départ (g) :	50,20	Rendement total (%) :	39,8

Les principaux métabolites secondaires sont des saponines non identifiées. Le profil phytochimique est également composés de divers flavonoïdes (kaempférol, quercétine) et de coumarines. Les profils apolaire et polaire sont quant à eux assez communs. L'extrait apolaire présente des tendances anti-inflammatoires et d'inhibition de la tyrosinase. L'extrait polaire présente lui une tendance à l'activation de la tyrosinase. Cette plante a été classée dans le groupe 1.

3.5.11 *Astragalus onobrychis* L.

3.5.11.1 Informations botaniques



Figure 53. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de l'astragale faux-sainfoin. Source : Herbarium de Genève et Le Driant ©.^[78,90]

L'astragale faux-sainfoin (*Astragalus onobrychis* L.) est une plante de la famille des fabacées. C'est une plante vivace mesurant de 20 à 50 cm, que l'on retrouve dans les montagnes du Sud-Est de la France.^[76] Elle ressemble fortement à l'astragale de Montpellier, mais ses feuilles sont beaucoup plus longues le long de la tige. Elle possède des fleurs bleuâtres visibles de juin à août.^[76]

3.5.11.2 Bibliographie

Tableau 51. Tableau des publications de l'astragale faux-sainfoin

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
16	2	9	1

3.5.11.3 Récolte

Tableau 52. Tableau de récolte de l'astragale faux-sainfoin

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/406	1727	121	Parties aériennes fleuries	45°2'36" N 6°17'32" E	1400	26/06/2017

3.5.11.4 Phytochimie

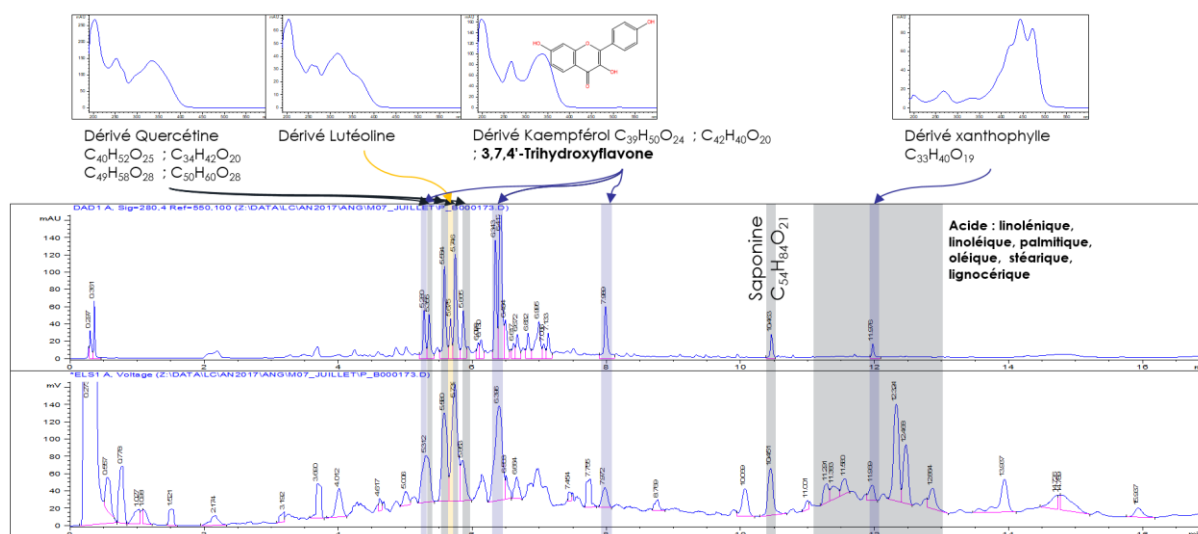


Figure 54. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 54 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 55 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

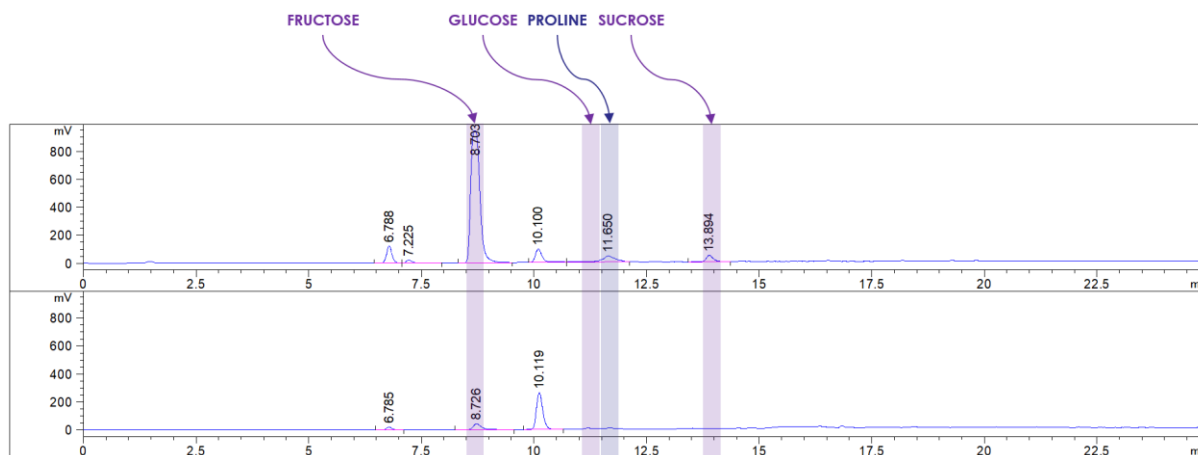


Figure 55. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 11 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 53 ci-dessous. Les 9 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 53. Tableau des composés analysés dans l'astragale faux-sainfoin

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
10.1	Dérivé Kaempférol-Rut-Rut	C ₃₉ H ₅₀ O ₂₄	1	5,28
10.2	Dérivé Iso Rhamnétine-Rut-Rut	C ₄₀ H ₅₂ O ₂₅	1	5,36
10.3	Dérivé Quercétine	C ₄₉ H ₅₈ O ₂₈	1	5,58
10.4	Dérivé Lutéoline	C ₃₉ H ₅₀ O ₂₅	1	5,68
10.5	Mauritianine*[84]	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	1	5,75
10.6	Dérivé iso Rhamnétine-Rha-Rut	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₀	1	5,87
10.7	Dérivé Kaempférol-Rha	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	1	6,34
10.8	Dérivé Kaempférol	C ₂₄ H ₂₀ O ₁₂	1	6,42
10.9	3',4',7-Trihydroxyflavone	C₁₅H₁₀O₅	1	7,99
10.10	Dérivé Saponine	C ₅₄ H ₈₄ O ₂₁	1	10,46
10.11	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
10.12	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
10.13	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
10.14	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
10.15	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
10.16	Ac. Lignocérique	C₂₄H₄₈O₂	1	12,16
10.17	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	8,70
10.18	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	11,12
10.19	Proline	C₅H₉NO₂	2	11,65
10.20	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	13,89

3.5.11.5 Extractions et rendements

Tableau 54. Tableau des rendements d'extraction de l'astragale faux-sainfoin

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,57	2,86	4,18
Rendement (%)	2,1	10,7	15,6
Masse de départ (g) :	26,83	Rendement total (%) :	28,4

3.5.11.6 Activités biologiques

Tableau 55. Tableau des activités biologiques de l'astragale faux-sainfoin

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2,7	102,7	31,8	0,3	98,0	11,7	-3,6	97,8	42,3	21,5
Extrait Int	2,3	56,8	6,8	-5,4	71,4	11,9	-0,3	92,4	2,1	7,7
Extrait Aq	1,9	21,6	-20,1	-21,7	23,2	1,9	0,4	37,2	15,4	3,2

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2,7			11,4	19,6	2,2	-7,2		104,8	101,4
Extrait Int	2,3		-6,1	-0,7	12,1	1,0	-12,6	91,2	98,8	107,5
Extrait Aq	1,9	-13,7	3,7	-12,5	3,5	0,1	-0,9	91,2	92,8	107,5

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2,7	30	51	19	60	35	4	63	30	7
Extrait Int	2,3	60	32	7	67	26	7	64	29	6
Extrait Aq	1,9	57	38	6	69	28	3	61	35	4

3.5.11.7 Conclusion

L'*A. onobrychis* contrairement à l'*A. monspessulanus* ne présente que peu d'intérêt, elle est composée de diverses familles de flavonoïdes (quercétine, kaempférol, lutéoline) mais en très petites quantités. Son profil polaire est très pauvre et le profil apolaire est commun. L'extrait apolaire présente cependant une tendance à l'inhibition de la tyrosinase ainsi qu'une tendance à l'activation de l'autophagie. Cette plante a été classée dans le groupe 3.

3.5.12 *Cirsium spinosissimum* (L.) Scop.

3.5.12.1 Informations botaniques



Figure 56. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs du cirse très épineux. Source : F. Le Driant ©.^[78]

Le cirse très épineux (*Cirsium spinosissimum* (L.) Scop.) est une plante de la famille des astéracées. Elle est observable dans les Alpes françaises, suisses et italiennes.^[76] C'est une plante vivace mesurant de 20 à 50 cm, qui se développe dans les lieux humides et les bords de ruisseaux de haute montagne.^[76] Comme son nom l'indique, ses feuilles sont totalement recouvertes d'épines. Au bout de sa tige, de juillet à septembre, il est possible d'apercevoir une inflorescence de couleur blanche ou jaune pâle.^[76]

3.5.12.2 Bibliographie

Tableau 56. Tableau des publications du cirse très épineux

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
7	1	4	0

3.5.12.3 Récolte

Tableau 57. Tableau de récolte du cirse très épineux

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/407	1740	282	Parties aériennes fleuries	45°3'43" N 6°24'20" E	2580	30/08/2017

Dans cette plante, 15 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 58 ci-dessous. Quatre autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes. Une molécule n'a toutefois pas pu être reliée à une famille chimique.

Tableau 58. Tableau des composés analysés dans le cirse très épineux

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
11.1	Ac. Chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	3,40
11.2	Dérivé Lutéoline	-	1	5,30
11.3	Dérivé Quercétine	-	1	5,69
11.4	Myricitrine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,80
11.5	-	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₄	1	6,16
11.6	Linarine*[92]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	1	7,50
11.7	Dérivé Kaempférol	C ₂₉ H ₃₃ O ₁₅	1	7,65
11.8	3',4',7-Trihydroxyflavone	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	1	7,99
11.9	Diosmétine	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	1	8,10
11.10	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
11.11	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
11.12	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
11.13	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
11.14	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
11.15	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,05
11.16	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	11,24
11.17	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	11,71
11.18	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	13,93
11.19	Ac. Glucuronique	C ₆ H ₁₀ O ₇	2	16,13
11.20	Ac. Malique	C ₄ H ₆ O ₅	2	17,33

3.5.12.5 Extractions et rendements

Tableau 59. Tableau des rendements d'extraction du cirse très épineux

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,83	4,22	7,99
Rendement (%)	1,6	8,1	15,3
Masse de départ (g) :	52,36	Rendement total (%) :	24,9

3.5.12.6 Activités biologiques

Tableau 60. Tableau des activités biologiques du cirse très épineux

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	1,6	103,4	61,6	16,6	98,0	86,1	10,0	97,6	42,8	21,7
Extrait Int	2,0	81,0	34,2	8,5	80,3	34,2	11,1	76,9	37,1	28,9
Extrait Aq	2,1	12,5	6,5	-8,0	22,3	-7,4	5,2	32,3	-8,6	-9,5

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	1,6			0,5	-0,3	-7,1	-12,6		116,6	101,4
Extrait Int	2,0			-11,8	14,5	1,8	-12,1		80,5	82,8
Extrait Aq	2,1	-16,6	-12,4	-13,3	3,8	1,5	1,4	91,2	92,8	107,5

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	1,6	35	52	13	81	17	2	68	26	6
Extrait Int	2,0	46	45	9	57	34	8	58	32	10
Extrait Aq	2,1	58	36	7	59	34	7	69	28	3

3.5.12.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est composé de divers flavonoïdes (quercétine, kaempférol) et d'acides phénoliques. Cependant, la plupart des composés majoritaires a déjà été formellement identifiée dans le screening préliminaire et les résultats biologiques ne présentent aucune activité dans les extraits aux concentrations testées. Cette plante a été classée dans le groupe 3.

3.5.13 *Cota tinctoria* (L.) J. Gay

3.5.13.1 Informations botaniques



Figure 59. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs de l'anthémis des teinturiers. Source : F. Le Driant ©.[78]

L'anthémis des teinturiers (*Cota tinctoria* (L.) J. Gay) est une plante de la famille des astéracées. C'est une plante bisannuelle et vivace mesurant de 30 à 50 cm.^[78] Elle est répartie dans toute l'Europe et en Asie de l'Ouest. C'est la seule espèce d'anthémis possédant des fleurs jaunes observables dans les Alpes de juin à septembre. Ses feuilles alternes et découpées sont recouvertes d'une pilosité blanchâtre.^[78]

3.5.13.2 Bibliographie

Tableau 61. Tableau des publications de l'anthémis des teinturiers

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
4	0	2	2

3.5.13.3 Récolte

Tableau 62. Tableau de récolte de l'anthémis des teinturiers

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/408	1728	179	Parties aériennes fleuries	44°53'59" N 6°37'48" E	1240	13/07/2017

3.5.13.4 Phytochimie

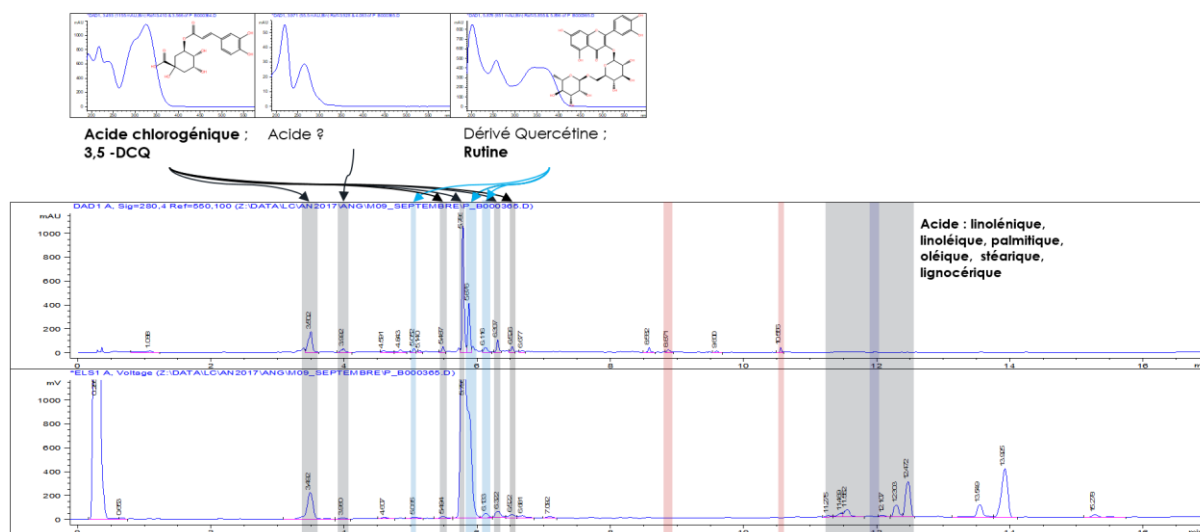


Figure 60. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 60 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 61 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

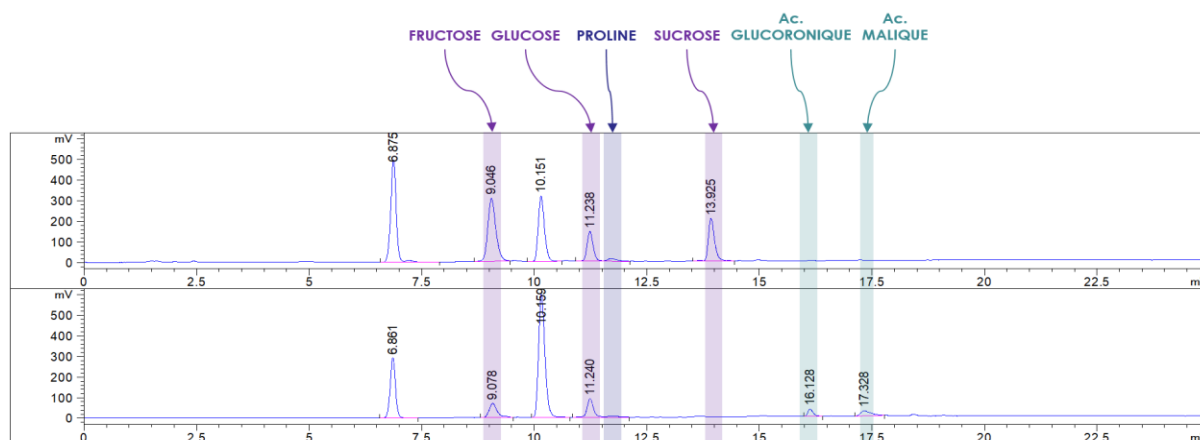


Figure 61. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 14 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 63 ci-dessous. Les 5 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 63. Tableau des composés analysés dans l'anthémis des teinturiers

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
12.1	Ac. Chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	3,50
12.2	Dérivé Quercétine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	1	5,05
12.3	Dérivé Ac. Caféique	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₇	1	5,49
12.4	3,5-DCQ	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1	5,79
12.5	Rutine	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	1	5,88
12.6	Dérivé Quercétine	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₅	1	6,12
12.7	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1	6,31
12.8	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₉ H ₂₈ O ₁₅	1	6,53
12.9	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
12.10	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
12.11	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
12.12	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
12.13	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
12.14	Ac. Lignocérique	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	1	12,17
12.15	Arabitol	C ₅ H ₁₂ O ₅	2	7,32
12.16	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,03
12.17	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	11,20
12.18	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	11,65
12.19	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	13,90

3.5.13.5 Extractions et rendements

Tableau 64. Tableau des rendements d'extraction de l'anthémis des teinturiers

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	2,08	4,25	5,35
Rendement (%)	4,0	8,1	10,2
Masse de départ (g) :	52,26	Rendement total (%) :	22,3

3.5.13.6 Activités biologiques

Tableau 65. Tableau des activités biologiques de l'anthémis des teinturiers

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2,9	102,8	104,8	52,6	96,9	99,8	62,1	95,2	67,8	32,5
Extrait Int	2,1	30,0	-1,6	-18,2	50,5	12,1	-1,4	60,7	24,2	17,5
Extrait Aq	2,2	10,8	4,1	-5,5	47,1	16,5	-3,7	40,6	13,2	-6,1

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2,9			-17,8	8,1	-7,7	-13,4		116,6	107,5
Extrait Int	2,1		0,9	-13,8	34,7	23,9	4,1	103,8	98,8	107,5
Extrait Aq	2,2	-25,8	5,4	-17,4	27,8	12,6	1,9	91,2	98,8	107,5

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2,9	26	57	17	51	41	8	68	29	2
Extrait Int	2,1	58	37	5	67	29	4	71	24	5
Extrait Aq	2,2	56	34	9	78	18	4	76	21	3

3.5.13.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est très pauvre : elle est composée de divers acides phénoliques et de dérivés de quercétine. De plus, la molécule majoritaire a déjà été identifiée, l'acide 3,5-dicaféoylquinique. Les parties apolaire et polaire sont elles aussi très pauvres en composés. L'extrait apolaire, à sa concentration maximale présente une tendance à l'activation de l'autophagie. L'extrait intermédiaire présente quant à lui une tendance à l'inhibition de la tyrosinase. Enfin, l'extrait polaire, à sa plus haute concentration, présente des tendances anti-inflammatoire et d'inhibition de la tyrosinase. Cette plante a été classée dans le groupe 3.

3.5.14 *Epilobium angustifolium* L.

3.5.14.1 Informations botaniques



Figure 62. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs de l'épilobe à feuilles étroites. Source : F. Le Driant ©.^[78]

L'épilobe à feuilles étroites (*Epilobium angustifolium* L.) est une plante de la famille des onagracées. C'est une plante vivace mesurant de 50 cm à 2 m qui est observable au bord des chemins ensoleillés préalpins. Ses fleurs, visibles de juin à septembre, sont roses et disposées en grappes sur la tige.^[78] Ses feuilles sont alternes et de forme simple.

3.5.14.2 Bibliographie

Tableau 66. Tableau des publications de l'épilobe à feuilles étroites

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
268	58	163	5

3.5.14.3 Récolte

Tableau 67. Tableau de récolte de l'épilobe à feuilles étroites

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/409	1202	1000+	Parties aériennes fleuries	45°3'7" N 6°23'27" E	2370	30/08/2017

Dans cette plante, 14 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 68 ci-dessous. Plusieurs molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes. Une molécule n'a cependant pas pu être reliée à une famille chimique.

Tableau 68. Tableau des composés analysés dans l'épilobe à feuilles étroites

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
13.1	Dérivé Ac. Quinique* ^[93]	C ₆₈ H ₄₈ O ₄₄	1	2,10
13.2	Tanins* ^[93,94]	-	1	2,50-5,16
13.3	Dérivé Quercétine	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	1	5,66
13.4	Myricitrine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,72
13.5	Iso quercétine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,81
13.6	Dérivé Kaempférol	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	1	6,25
13.7	Astragaline	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	6,32
13.8	Dérivé Quercétine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	1	6,90
13.9	Dérivé terpénique	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	1	10,10
13.10	-	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	1	10,52
13.11	Ac. Pomolique* ^[95]	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	1	10,93
13.12	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
13.13	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
13.14	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
13.15	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
13.16	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
13.17	Ac. Lignocérique	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	1	12,16
13.18	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,03
13.19	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	11,21
13.20	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	11,71
13.21	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	13,90
13.22	Ac. Malique	C ₄ H ₆ O ₅	2	17,36

3.5.14.5 Extractions et rendements

Tableau 69. Tableau des rendements d'extraction de l'épilobe à feuilles étroites

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	1,46	7,47	6,43
Rendement (%)	3,0	15,2	13,1
Masse de départ (g) :	49,20	Rendement total (%) :	31,2

3.5.14.6 Activités biologiques

Tableau 70. Tableau des activités biologiques de l'épilobe à feuilles étroites

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	3,3	76,9	38,1	14,0	33,8	-9,0	-5,5	60,4	20,6	-1,2
Extrait Int	3,4	103,9	13,3	-0,5	99,6	63,7	21,4	93,8	28,1	13,8
Extrait Aq	2,6	104,5	6,5	-11,7	96,0	67,9	24,0	87,4	19,2	13,2

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	3,3			-14,2	-9,6	-10,8	-5,0		140,7	99,1
Extrait Int	3,4		13,8	-7,4	5,9	-5,9	-2,6	87,4	134,2	89,3
Extrait Aq	2,6		-6,9	-17,8	3,9	-6,7	-3,3	107,6	140,7	94,2

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	3,3	39	47	14	58	35	7	54	38	8
Extrait Int	3,4	26	45	29	39	41	20	57	34	9
Extrait Aq	2,6	28	45	27	43	39	19	73	23	5

3.5.14.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de l'*E. angustifolium* est très intéressant. Il est composé de divers flavonoïdes (quercétine, kaempférol), de terpènes ainsi qu'une enveloppe de tanins. Les parties apolaire et polaire sont, quant à elles, assez communes. Les extraits intermédiaire et polaire présentent des tendances à l'activation de l'autophagie. Cependant, la plante a largement été décrite dans la littérature et elle avait été gardée pour être comparée à *E. fleischeri*. Celles-ci étant très proche, *E. angustifolium* a été classée dans le groupe 2.

3.5.15 *Epilobium fleischeri* Hochst.

3.5.15.1 Informations botaniques



Figure 65. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de l'épilobe des moraines.

L'épilobe des moraines (*Epilobium fleischeri* Hochst.) est une plante de la famille des onagracées. C'est une plante vivace mesurant de 10 à 40 cm qui est observable dans les éboulis et les sols rocheux de montagne. C'est une plante endémique des Alpes de l'ouest. Sa fleur, visible entre juillet et septembre, est rose et découpée en quatre pétales arrondis et quatre sépales pointus. Ses feuilles sont vertes et dentées, réparties le long de la tige en opposition.^[78]

3.5.15.2 Bibliographie

Tableau 71. Tableau des publications de l'épilobe des moraines

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
2	2	2	2

3.5.15.3 Récoltes

Tableau 72. Tableau de récoltes de l'épilobe des moraines

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/410	1741	131	Parties aériennes fleuries	45°2'39" N 6°24'4" E	2270	30/08/2017
R18/360	1741	602	Parties aériennes fleuries	45°1'42" N 6°21'47" E	1670	17/07/2018

3.5.15.4 Phytochimie

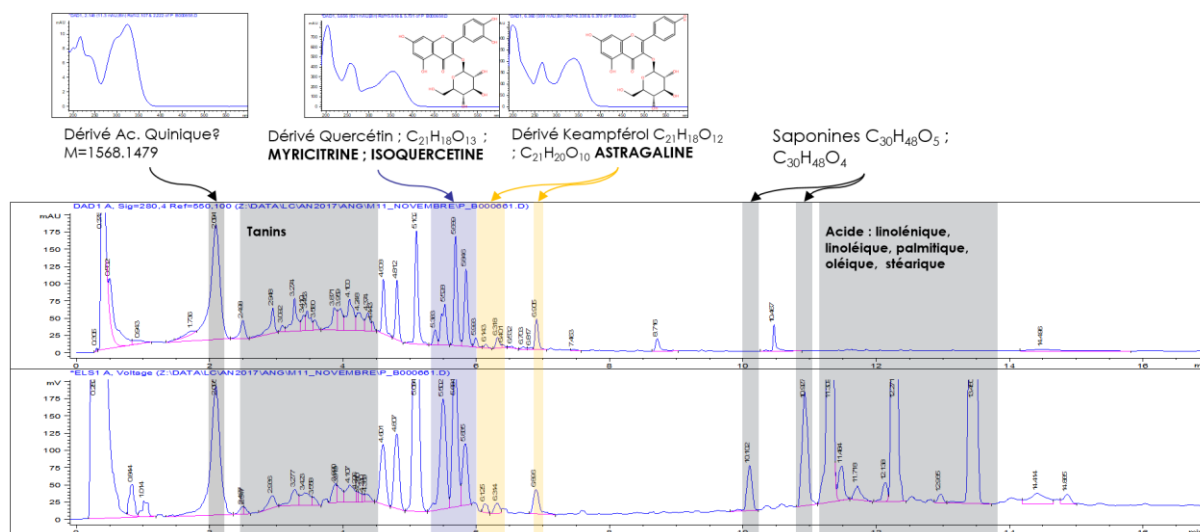


Figure 66. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 66 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 67 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC, le décalage du temps de rétention est dû à l'instabilité des éluants composés d'ammoniaque.

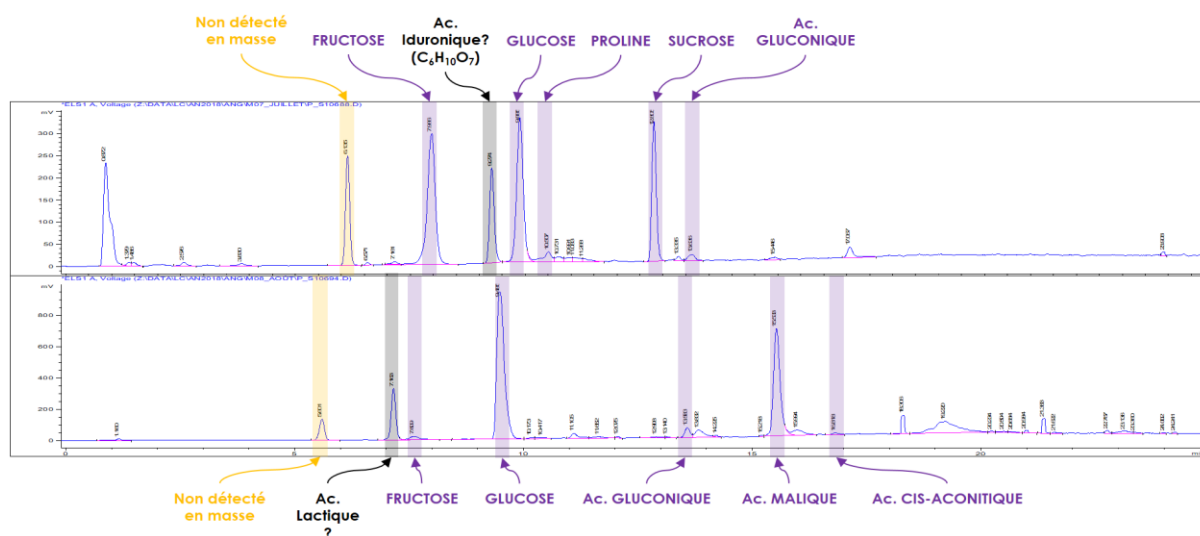


Figure 67. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 13 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 73 ci-dessous. Plusieurs molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes. Une molécule n'a cependant pas pu être reliée à une famille chimique.

Tableau 73. Tableau des composés analysés dans l'épilobe des moraines

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
14.1	Dérivé Ac. Quinique* ^[93]	C ₆₈ H ₄₈ O ₄₄	1	2,10
14.2	Tanins* ^[93,94]	-	1	2,50-5,18
14.3	Dérivé Quercétine	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	1	5,66
14.4	Myricitrine	C₂₁H₂₀O₁₂	1	5,72
14.5	Iso quercétine	C₂₁H₂₀O₁₂	1	5,81
14.6	Dérivé Kaempférol	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	1	6,25
14.7	Astragaline	C₂₁H₂₀O₁₁	1	6,32
14.8	Dérivé Quercétine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	1	6,90
14.9	Dérivé Terpéniques	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	1	10,11
14.10	-	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	1	10,52
14.11	Ac. Pomolique* ^[95]	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	1	10,93
14.12	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
14.13	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
14.14	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
14.15	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
14.16	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
14.17	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	9,03
14.18	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	11,21
14.19	Proline	C₅H₉NO₂	2	11,71
14.20	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	13,90
14.21	Ac. Malique	C₄H₆O₅	2	17,36

3.5.15.5 Extractions et rendements

Tableau 74. Tableau des rendements d'extraction de l'épilobe des moraines

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	1,15	4,39	8,42
Rendement (%)	2,2	8,3	16,0
Masse de départ (g) :	52,60	Rendement total (%) :	26,5

3.5.15.6 Activités biologiques

Tableau 75. Tableau des activités biologiques de l'épilobe des moraines

Lignée cellulaire	Nom (mg)	% de cytotoxicité par différentes dilutions								
		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	4,4	100,5	73,4	50,9	97,5	18,2	-14,5	90,4	62,6	23,4
Extrait Int	3,5	102,1	54,5	-12,7	98,6	84,4	24,6	97,6	59,7	19,4
Extrait Aq	3,8	104,5	7,5	-4,7	98,8	67,7	20,0	94,7	28,6	-1,4

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	4,4				-2,3	-7,9	-7,5			108,6
Extrait Int	3,5			-10,2	17,7	-2,4	-1,8		93,9	89,3
Extrait Aq	3,8		23,3	19,1	3,5	-1,7	-0,3	94,2	147,2	94,2

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	4,4	13	40	47	46	46	8	58	32	11
Extrait Int	3,5	18	44	38	29	47	24	25	52	23
Extrait Aq	3,8	11	47	42	44	44	12	54	36	10

3.5.15.7 Conclusion

Comme expliqué précédemment, le profil des métabolites secondaires d'*E. fleischeri* est quasiment similaire à *E. angustifolium*. Elle est composée de tanins, de flavonoïdes et de terpènes. Les résultats des évaluations biologiques ont également les mêmes tendances en termes d'autophagie. Cependant, l'extrait polaire présente une tendance pro-inflammatoire non présente dans l'extrait polaire d'*E. angustifolium*. Cette plante a été classée dans le groupe 1.

3.5.16 *Knautia dipsacifolia* subsp. *dipsacifolia*

3.5.16.1 Informations botaniques



Figure 68. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de la knautie des bois. Source : Herbarium de Genève et F. Le Driant ©.[78,90]

La knautie des bois (*Knautia dipsacifolia* subsp. *dipsacifolia*) est une plante de la famille des caprifoliacées. C'est une plante vivace atteignant un mètre de hauteur et se développant dans les lieux frais et ombragés. Elle est observable dans toute l'Europe centrale et méridionale. De juin à septembre, il est possible d'apercevoir des fleurs roses au sommet d'une tige parsemée de feuilles vertes velues.^[76]

3.5.16.2 Bibliographie

Tableau 76. Tableau des publications de la knautie des bois

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
1	1	1	0

3.5.16.3 Récolte

Tableau 77. Tableau de récolte de la knautie des bois

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/412	1729	+1000	Parties aériennes fleuries	45°2'26" N 6°24'5" E	2102	11/07/2017

3.5.16.4 Phytochimie

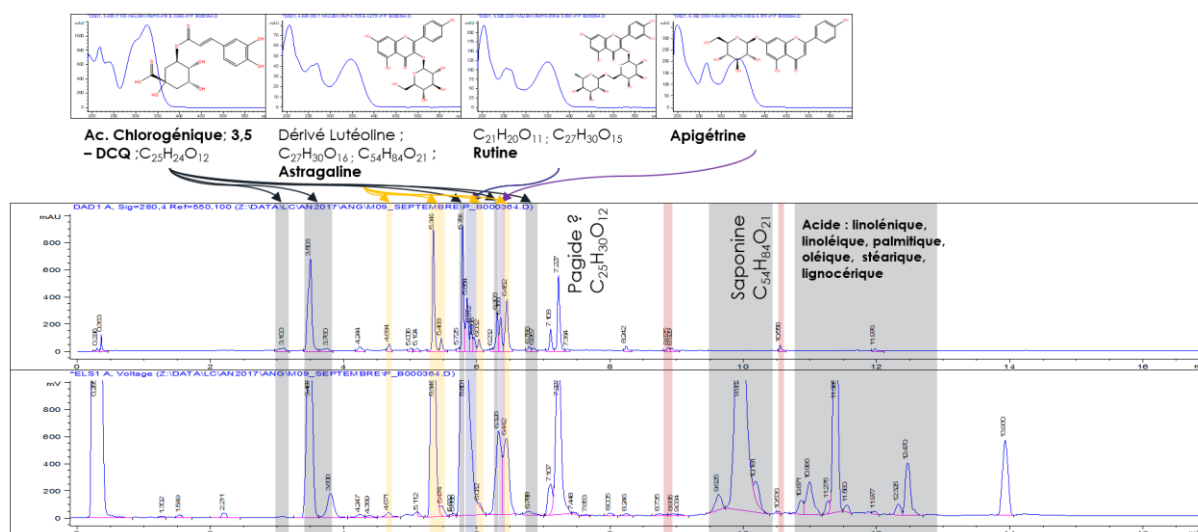


Figure 69. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 69 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 70 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

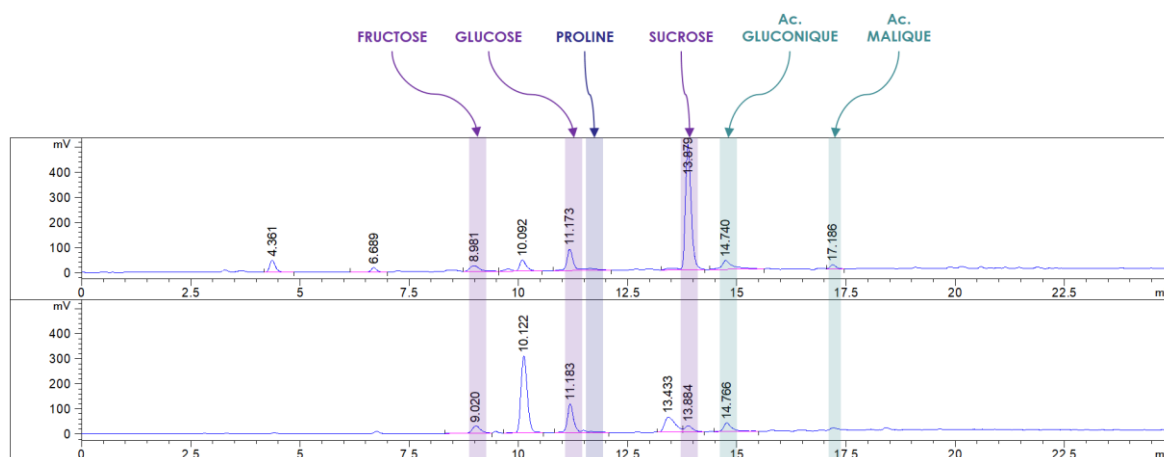


Figure 70. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 17 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 78 ci-dessous. Les 10 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 78. Tableau des composés analysés dans la knautie des bois

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
15.1	Dérivé Ac. Caféique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	3,10
15.2	Ac. Chlorogénique	C₁₆H₁₈O₉	1	3,50
15.3	Dérivé Lutéoline-Hex-Hex	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	1	4,68
15.4	Dérivé Lutéoline-Hex	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	5,35
15.5	Dérivé Lutéoline	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	1	5,47
15.6	3,5-DCQ	C₂₅H₂₄O₁₂	1	5,79
15.7	Dérivé Quercétine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	1	5,85
15.8	Dérivé Lutéoline-Hex	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	5,92
15.9	Dérivé Quercétine-Rha-Rha	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	1	5,98
15.10	Rutine	C₂₇H₃₀O₁₆	1	6,03
15.11	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1	6,31
15.12	Apigétrine	C₂₁H₂₀O₁₀	1	6,36
15.13	Astragaline	C₂₁H₂₀O₁₁	1	6,45
15.14	Dérivé phénolique	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₂	1	7,23
15.15	Dérivé Saponine	C ₅₄ H ₈₄ O ₂₁	1	9,93
15.16	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
15.17	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
15.18	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
15.19	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
15.20	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
15.21	Ac. Lignocérique	C₂₄H₄₈O₂	1	12,16
15.22	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	7,97
15.23	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	9,89
15.24	Proline	C₅H₉NO₂	2	10,51
15.25	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	12,81
15.26	Ac. Gluconique	C₆H₁₂O₇	2	13,64
15.27	Ac. Malique	C₄H₆O₅	2	15,53

3.5.16.5 Extractions et rendements

Tableau 79. Tableau des rendements d'extraction de la knautie des bois

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	1,23	5,85	8,62
Rendement (%)	2,5	11,8	17,3
Masse de départ (g) :	49,70	Rendement total (%) :	31,6

3.5.16.6 Activités biologiques

Tableau 80. Tableau des activités biologiques de la knautie des bois

% de cytotoxicité par différentes dilutions										
Lignée cellulaire		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	3,1	103,3	63,9	45,3	97,5	15,6	0,9	86,8	54,2	35,1
Extrait Int	2,8	80,4	18,1	-7,8	79,6	27,4	-8,9	75,6	21,7	11,4
Extrait Aq	3,8	28,6	-7,8	-15,1	68,0	26,7	-1,4	53,7	24,9	12,7

% d'induction IL8 par dilution				% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα			
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	3,1				-4,3	-11,5	-8,9			103,9
Extrait Int	2,8		-11,6	-15,2	12,5	-0,9	-4,3	127,2	127,7	99,1
Extrait Aq	3,8	-6,4	-10,7	-9,3	6,8	-1,3	1,7	100,9	127,7	94,2

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	3,1	72	25	3	62	32	6	69	28	3
Extrait Int	2,8	58	34	8	73	25	2	66	25	9
Extrait Aq	3,8	52	36	11	67	29	4	62	31	6

3.5.16.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est intéressant. Elle est composée de diverses familles de flavonoïdes (quercétine, kaempférol, lutéoline), d'acides phénoliques et d'une ou plusieurs saponines. Ses profils apolaire et polaire sont cependant assez communs. De plus, elle ne présente aucune activité biologique. Cette plante a été classée dans le groupe 2.

3.5.17 *Narcissus poeticus* L.

3.5.17.1 Informations botaniques



Figure 71. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs du narcisse des poètes. Source : F. Le Driant ©.[78]

Le narcisse des poètes (*Narcissus poeticus* L.) est une plante de la famille des amaryllidacées. C'est une plante vivace de 30 à 60 cm qui se développe dans les prés humides d'altitude.[76] Sa fleur blanche découpée en six pétales est visible d'avril à juin.[76] Ses feuilles sont simples et entières disposées en touffe au pied de la tige.[78]

3.5.17.2 Bibliographie

Tableau 81. Tableau des publications du narcisse des poètes

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
20	3	11,5	6

3.5.17.3 Récolte

Tableau 82. Tableau de récolte du narcisse des poètes

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/413	1724	42	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	2270	26/06/2017

3.5.17.4 Phytochimie

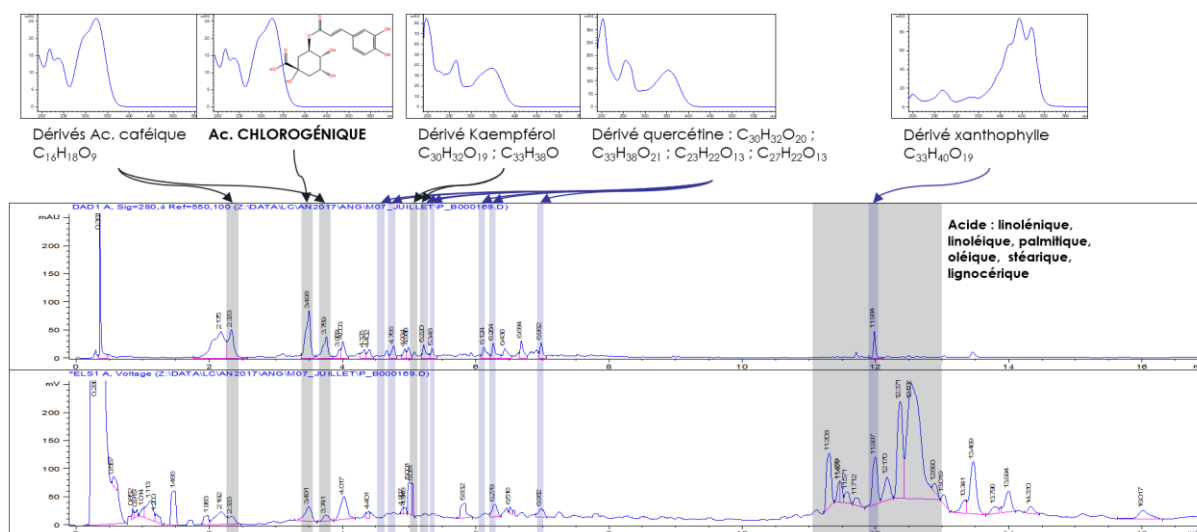


Figure 72. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 72 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 73 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

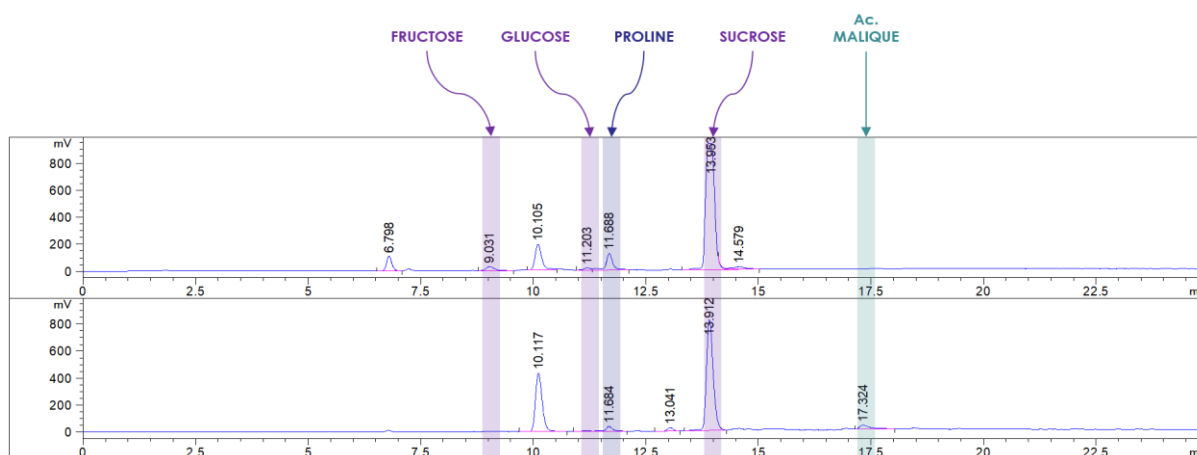


Figure 73. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 12 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 83 ci-dessous. Les 10 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 83. Tableau des composés analysés dans le narcisse des poètes

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
16.1	Dérivé Ac. Caféique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	2,33
16.2	Ac. Chlorogénique	C₁₆H₁₈O₉	1	3,50
16.3	Dérivé Ac. Caféique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	3,76
16.4	Dérivé Quercétine-Rut	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	1	4,52
16.5	Dérivé Quercétine	C ₃₃ H ₃₈ O ₂₀	1	4,77
16.6	Dérivé Kaempférol	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	1	5,12
16.7	Dérivé Kaempférol	C ₃₃ H ₃₈ O ₁₂	1	5,22
16.8	Dérivé Quercétine	C ₃₀ H ₃₂ O ₂₀	1	5,35
16.9	Dérivé Quercétine	C ₃₃ H ₃₈ O ₂₁	1	6,12
16.10	Dérivé Quercétine	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	1	6,26
16.11	Dérivé Quercétine	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₃	1	6,92
16.12	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
16.13	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
16.14	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
16.15	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
16.16	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
16.17	Ac. Lignocérique	C₂₄H₄₈O₂	1	12,16
16.18	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	9,03
16.19	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	11,20
16.20	Proline	C₅H₉NO₂	2	11,69
16.21	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	13,95
16.22	Ac. Malique	C₄H₆O₅	2	17,32

3.5.17.5 Extractions et rendements

Tableau 84. Tableau des rendements d'extraction du narcisse des poètes

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	1,58	7,37	10,73
Rendement (%)	3,8	17,5	25,5
Masse de départ (g) :	42,00	Rendement total (%) :	46,9

3.5.17.6 Activités biologiques

Tableau 85. Tableau des activités biologiques du narcisse des poètes

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	4,3	56,2	-1,4	-15,1	24,0	-0,8	-12,5	34,0	3,8	-3,2
Extrait Int	4	99,4	95,2	92,6	98,3	93,8	88,2	95,8	91,3	80,3
Extrait Aq	2,3	65,8	12,9	-5,7	62,9	-11,8	4,9	54,8	7,5	11,0

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFa		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	4,3		-21,9	-31,0	-7,6	-6,1	-8,8	146,3	121,0	99,1
Extrait Int	4,0				-2,7	-8,8	-7,0			99,1
Extrait Aq	2,3		-5,7	-20,2	-14,8	-2,4	-0,7	107,6	134,2	94,2

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	4,3	58	35	7	75	21	4	74	22	4
Extrait Int	4,0	72	24	4	63	29	8	68	29	3
Extrait Aq	2,3	49	40	11	61	33	6	54	39	7

3.5.17.7 Conclusion

Les profils phytochimiques de cette plante sont très pauvres. Elle est composée de différents flavonoïdes (quercétine, kaempférol) et d'acides phénoliques en faible quantités. L'extrait intermédiaire est très cytotoxique à toutes les concentrations testées et les extraits apolaire et polaire présentent une tendance anti-inflammatoire. Cette plante a été classée dans le groupe 3.

3.5.18 *Nepeta nepetella* L.

3.5.18.1 Informations botaniques



Figure 74. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de la petite népéta. Source : F. Le Driant ©.[78]

La petite népéta (*Nepeta nepetella* L.) est une plante de la famille des lamiacées. C'est une plante vivace mesurant de 30 à 80 cm qui se développe dans les lieux secs et pierreux de montagne.^[76] Elle est répartie dans toute l'Europe du Sud. Ses fleurs sont visibles de juillet à août, blanches et disposées en grappes unilatérales, plus fournies au sommet de la tige.^[76]

3.5.18.2 Bibliographie

Tableau 86. Tableau des publications de la petite népéta

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
3	3	3	0

3.5.18.3 Récoltes

Tableau 87. Tableau de récoltes de la petite népéta

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/414	1743	173	Parties aériennes fleuries	45°1'50" N 6°23'3" E	1959	30/08/2017
R18/364	1743	50	Parties aériennes fleuries	45°1'50" N 6°23'3" E	1959	16/07/2018

3.5.18.4 Phytochimie

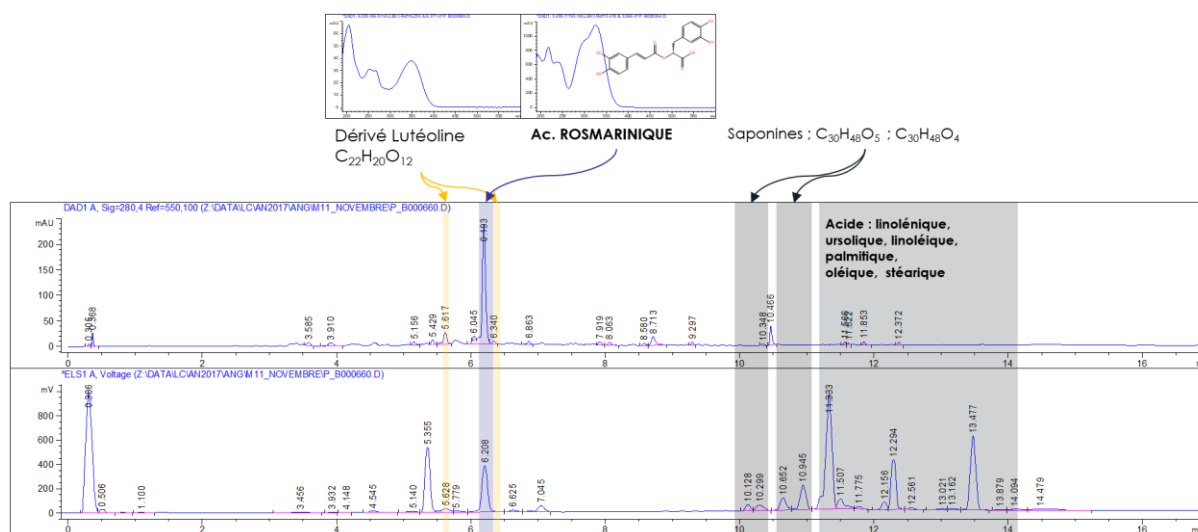


Figure 75. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 75 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 76 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

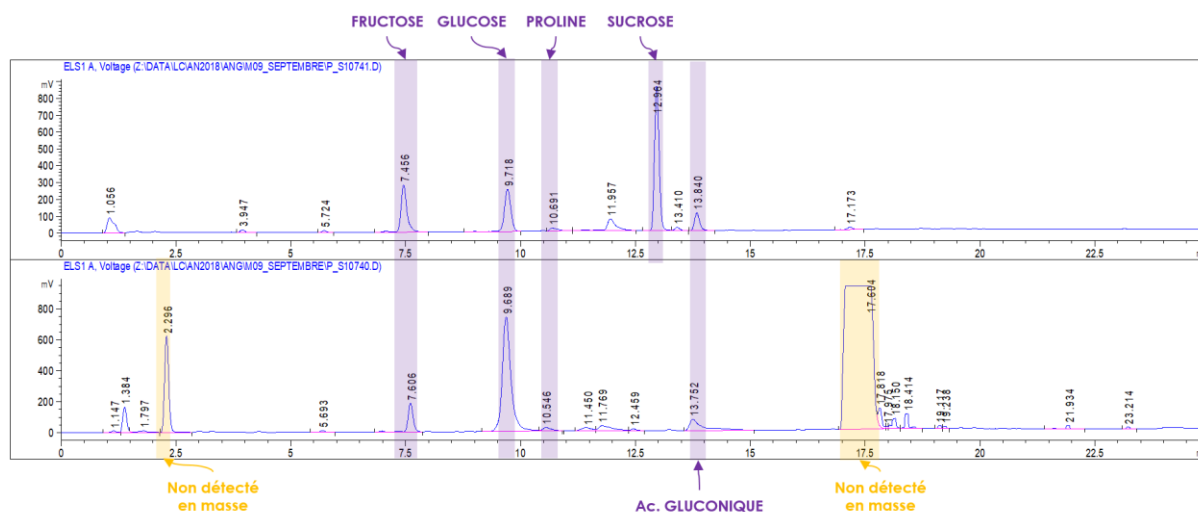


Figure 76. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 12 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 88 ci-dessous. Cinq autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes. Deux molécules n'ont cependant pas pu être reliées à une famille chimique.

Tableau 88. Tableau des composés analysés dans la petite népéta

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
17.1	-	C ₁₆ H ₂₄ O ₉	1	5,46
17.2	Dérivé Lutéoline	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	1	5,62
17.3	Ac. Rosmarinique	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	1	6,19
17.4	Dérivé triterpène ou Nephehinol*[96]	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	1	10,13
17.5	Dérivé triterpène ou Nephehinol*[96]	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	1	10,30
17.6	Dérivé triterpène ou Nephehinol*[96]	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	1	10,65
17.7	Nephehinol*[97]	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	1	10,95
17.8	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
17.9	Ac. Ursolique	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	1	11,27
17.10	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
17.11	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
17.12	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
17.13	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
17.14	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	7,46
17.15	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,72
17.16	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	10,55
17.17	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	12,96
17.18	Ac. Gluconique	C ₆ H ₁₂ O ₇	2	13,75
17.19	-	-	2	17,60

3.5.18.5 Extractions et rendements

Tableau 89. Tableau des rendements d'extraction de la petite népéta

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	2,19	2,22	9,13
Rendement (%)	4,0	4,1	16,8
Masse de départ (g) :	54,25	Rendement total (%) :	25,0

3.5.18.6 Activités biologiques

Tableau 90. Tableau des activités biologiques de la petite népéta

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	1,8	103,5	101,1	48,2	98,8	100,0	16,2	98,0	102,3	38,5
Extrait Int	3,2	104,5	68,9	17,4	99,3	41,4	4,2	98,3	57,2	36,7
Extrait Aq	1,9	3,3	-15,4	-6,5	39,9	11,1	-3,2	36,1	14,1	12,1

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	1,8				7,6	-5,0	-13,5			95,2
Extrait Int	3,2			-19,1	25,0	5,9	-9,7		80,5	95,2
Extrait Aq	1,9	-23,1	-6,2	-7,1	2,8	2,1	-1,1	78,3	104,8	89,1

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	1,8	50	43	6	36	46	18	60	36	4
Extrait Int	3,2	15	49	35	57	39	4	64	31	6
Extrait Aq	1,9	72	26	2	51	39	10	73	22	5

3.5.18.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est assez pauvre. Il est composé d'une molécule majoritaire non identifiée, plusieurs dérivés terpéniques ainsi que de l'acide rosmarinique. Sa partie apolaire est relativement commune. Cependant, dans son profil polaire un autre composé majoritaire en grande quantité n'a pas été identifié. L'extrait polaire présente un fort intérêt d'un point de vue cytotoxique, il est, à sa concentration maximale, 12 fois plus cytotoxique sur les lignées cancéreuses (MES-SA) et cancéreuses résistantes (MES-SA DX5) que sur les lignées normales (HEK293T). L'extrait intermédiaire présente une tendance anti-inflammatoire, d'inhibition de la tyrosinase et d'activation de l'autophagie. Cette plante a été classée dans le groupe 1.

3.5.19 *Rosa pendulina* L.

3.5.19.1 Informations botaniques



Figure 77. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs du rosier des Alpes. Source : F. Le Driant ©.[78]

Le rosier des Alpes (*Rosa pendulina* L.) est une plante de la famille des rosacées. C'est un arbrisseau qui se développe dans les régions élevées de montagne.^[76] Elle est répartie dans l'Europe centrale et méridionale.^[76] C'est une espèce de rosier qui possède très peu d'aiguillons, cependant elle est très polymorphe et peut adopter différentes formes. Ses fleurs rouges sont visibles entre juin et juillet.^[76] Ses fruits pendants sont très caractéristiques de cette espèce.^[78]

3.5.19.2 Bibliographie

Tableau 91. Tableau des publications du rosier des Alpes

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
3	0	1,5	0

3.5.19.3 Récolte

Tableau 92. Tableau de récolte du rosier des Alpes

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/415	1733	80	Fleurs	45°2'30" N 6°21'21" E	1768	11/07/2017

3.5.19.4 Phytochimie

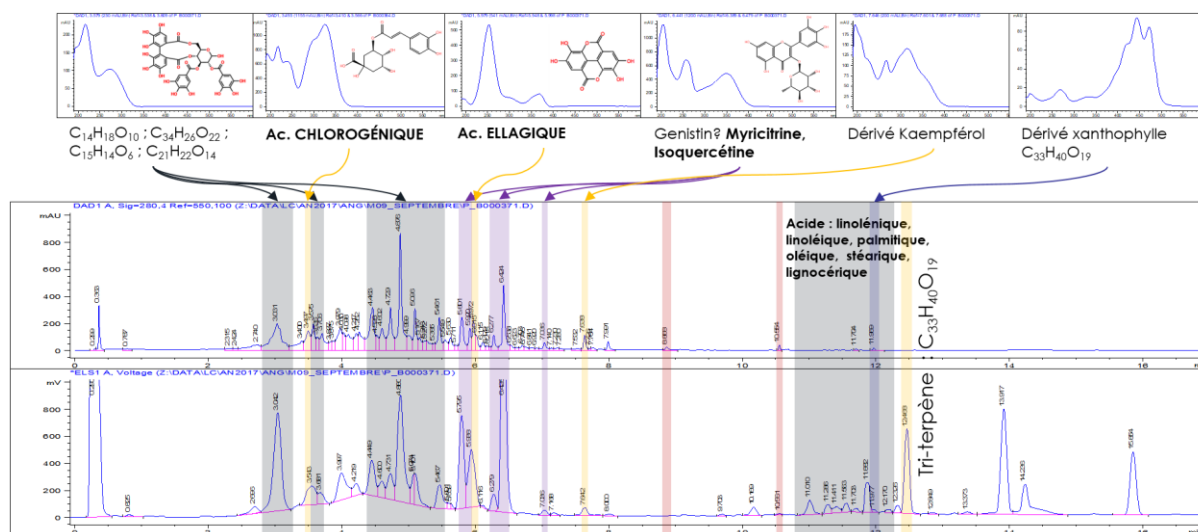


Figure 78. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 78 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 79 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

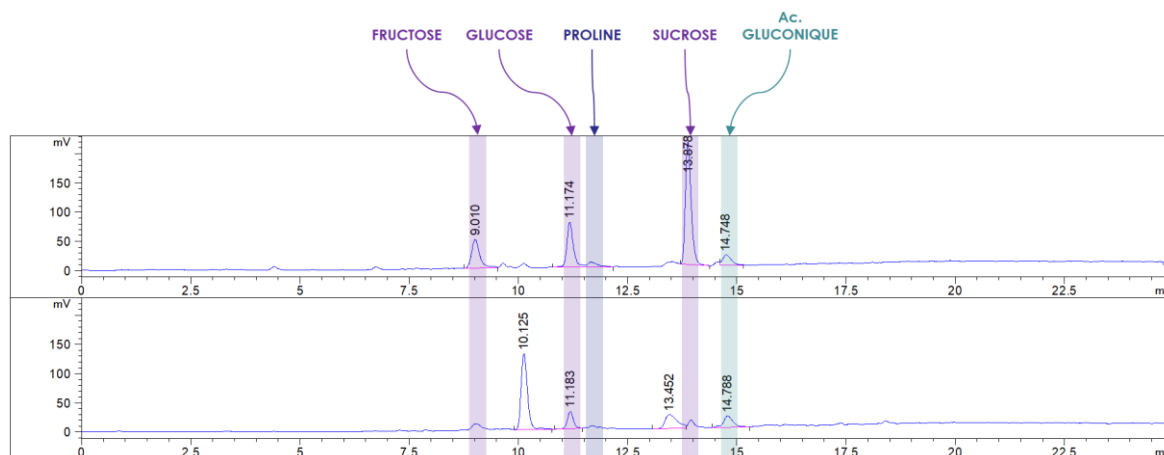


Figure 79. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 15 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 93 ci-dessous. Les 7 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 93. Tableau des composés analysés dans le rosier des Alpes

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
18.1	Dérivé Ac. Ellagique	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	1	3,08
18.2	Ac. Chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	3,50
18.3	Dérivé Ac. Ellagique	-	1	3,58-5,01
18.4	Myricitrine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,80
18.5	Iso quercétine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,92
18.6	Ac. Ellagique	C ₁₄ H ₆ O ₈	1	6,02
18.7	Dérivé Quercétine-Pent	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	1	6,27
18.8	Dérivé Quercétine-Rha	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1	6,42
18.9	Dérivé Quercétine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	1	7,03
18.10	Dérivé Kaempférol	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	1	7,64
18.11	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
18.12	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
18.13	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
18.14	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
18.15	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
18.16	Ac. Lignocérique	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	1	12,16
18.17	Dérivé Triterpène	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	1	12,49
18.18	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	7,97
18.19	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,89
18.20	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	10,51
18.21	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	12,81
18.22	Ac. Gluconique	C ₆ H ₁₂ O ₇	2	13,64

3.5.19.5 Extractions et rendements

Tableau 94. Tableau des rendements d'extraction du rosier des Alpes

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,86	4,34	6,18
Rendement (%)	2,3	11,6	16,5
Masse de départ (g) :	37,42	Rendement total (%) :	30,4

3.5.19.6 Activités biologiques

Tableau 95. Tableau des activités biologiques du rosier des Alpes

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2,9	77,3	34,6	-3,6	27,5	-5,6	-5,8	62,5	14,7	7,3
Extrait Int	2,5	89,5	-3,5	-3,4	83,9	31,8	6,7	74,5	20,8	12,7
Extrait Aq	3,3	89,5	13,3	-6,8	100,1	36,1	24,5	99,7	28,9	15,7

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2,9			-14,5	-4,4	-8,8	-7,0		134,2	84,4
Extrait Int	2,5		-3,3	-20,1	44,3	16,1	2,1	120,7	114,3	108,6
Extrait Aq	3,3		-1,3	-20,7	15,9	8,7	-1,0	114,2	121,0	89,3

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2,9	44	43	13	47	42	11	74	22	3
Extrait Int	2,5	39	48	13	66	32	2	62	31	7
Extrait Aq	3,3	51	38	12	47	36	17	58	38	4

3.5.19.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est très intéressant, il est composé de diverses familles de composés en petite quantité. Sa partie apolaire est riche en acides gras mais aussi en d'autres composés non identifiés. Son profil polaire est quant à lui assez commun. Les extraits intermédiaire et polaire, à leur plus petite concentration, présentent une tendance à l'activation de l'IL8. L'extrait intermédiaire, à sa plus grande concentration, présente une tendance à l'inhibition de la tyrosinase. Cette plante ayant un profil unique parmi celles sélectionnées initialement a été classée dans le groupe 1.

3.5.20 *Salvia aethiopis* L.

3.5.20.1 Informations botaniques



Figure 80. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs de la sauge d'Éthiopie. Source : F. Le Driant ©.^[78]

La sauge d'Éthiopie (*Salvia aethiopis* L.) est une plante de la famille des lamiacées. C'est une plante vivace mesurant de 40 à 100 cm et se développant dans les lieux secs et arides de montagne.^[76] Elle est répartie dans les montagnes d'Europe et d'Asie occidentale.^[76] La plante est entièrement recouverte d'un duvet blanc cotonneux et s'orne de fleurs blanches de juin à juillet.^[76]

3.5.20.2 Bibliographie

Tableau 96. Tableau des publications de la sauge d'Éthiopie

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
33	5	19	10

3.5.20.3 Récolte

Tableau 97. Tableau de récolte de la sauge d'Éthiopie

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/416	1734	110	Parties aériennes fleuries	44°54'20" N 6°39'27" E	1350	13/07/2017

3.5.20.4 Phytochimie

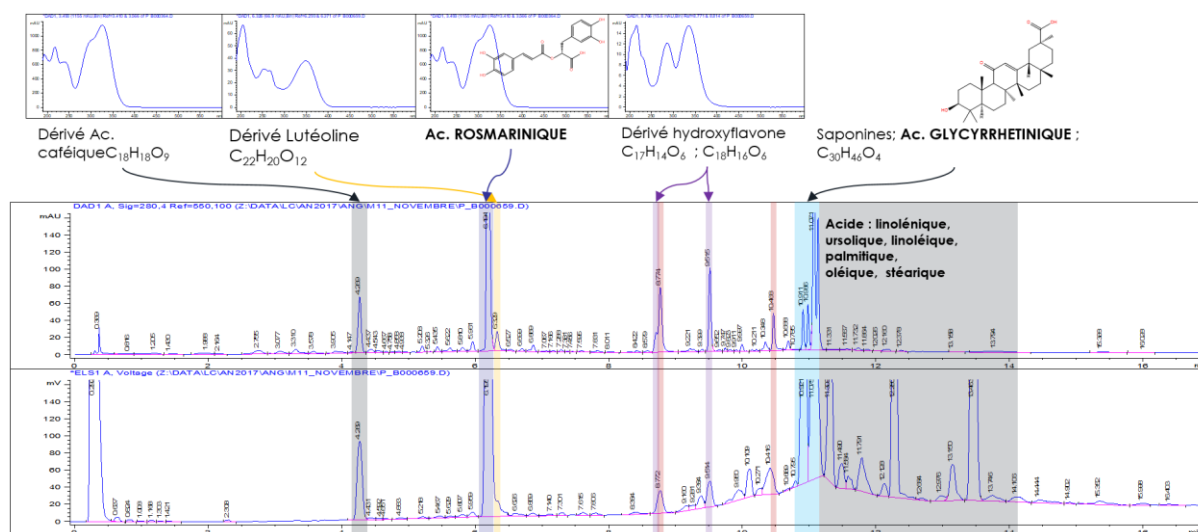


Figure 81. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 81 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 82 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

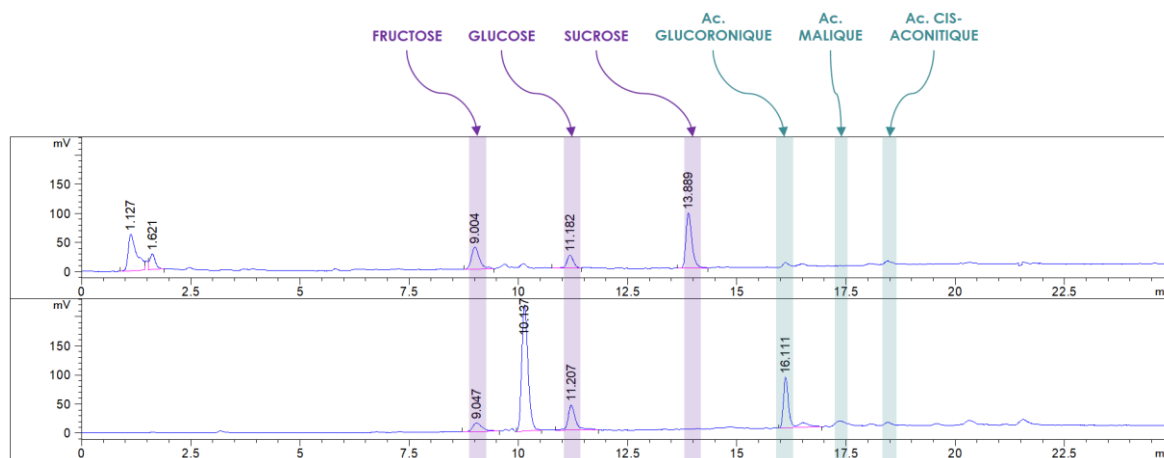


Figure 82. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 14 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 98 ci-dessous. Les 5 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 98. Tableau des composés analysés dans la sauge d'Éthiopie

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
19.1	Dérivé Ac. Caféique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	4,30
19.2	Dérivé Lutéoline	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	1	6,19
19.3	Ac. Rosmarinique	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	1	6,33
19.4	Dérivé Hydroxyflavone	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	1	8,77
19.5	Dérivé Hydroxyflavone	-	1	9,52
19.6	Dérivé triterpène	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	1	10,91
19.7	Ac. Glycyrrhénique	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	1	11,02
19.8	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
19.9	Ac. Ursolique	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	1	11,45
19.10	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
19.11	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
19.12	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
19.13	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
19.14	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	7,97
19.15	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,89
19.16	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	12,81
19.17	Ac. Glucuronique	C ₆ H ₁₀ O ₇	2	15,46
19.18	Ac. Malique	C ₄ H ₆ O ₅	2	15,81
19.19	Ac. Cis-aconitique	C ₆ H ₆ O ₆	2	17,05

3.5.20.5 Extractions et rendements

Tableau 99. Tableau des rendements d'extraction de la sauge d'Éthiopie

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	2,44	2,64	4,76
Rendement (%)	4,7	5,0	9,1
Masse de départ (g) :	52,37	Rendement total (%) :	18,8

3.5.20.6 Activités biologiques

Tableau 100. Tableau des activités biologiques de la sauge d'Éthiopie

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2	104,3	101,1	23,4	98,5	97,6	30,7	99,3	80,3	41,4
Extrait Int	1,6	103,8	28,2	4,3	98,2	25,8	2,3	100,3	64,7	32,3
Extrait Aq	2,5	21,3	-3,3	-11,3	51,0	12,0	4,1	60,8	18,6	29,4

		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2			-13,2	0,2	-4,9	-13,3		92,8	107,5
Extrait Int	1,6		-4,4	-15,1	19,5	7,9	-7,5	116,2	98,8	95,2
Extrait Aq	2,5	-19,0	-2,3	-15,1	12,1	10,8	2,5	91,2	86,7	107,5

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2	54	38	9	29	53	18	48	44	8
Extrait Int	1,6	37	51	12	70	28	2	46	39	15
Extrait Aq	2,5	41	47	12	74	21	4	66	29	6

3.5.20.7 Conclusion

Le profil phytochimique de cette plante est relativement pauvre. Elle est composée majoritairement d'acide rosmarinique et de quelques flavonoïdes. L'extrait intermédiaire présente une tendance à l'inhibition de la tyrosinase à sa plus forte concentration. Il possède également une tendance à l'activation de l'autophagie. L'extrait polaire présente quant à lui une tendance anti-inflammatoire à sa plus forte concentration. La plante a été classée dans le groupe 3.

3.5.21 *Scutellaria alpina* L.

3.5.21.1 Informations botaniques



Figure 83. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs de la scutellaire des Alpes.

La scutellaire des Alpes (*Scutellaria alpina* L.) est une plante de la famille des lamiacées. C'est une plante vivace mesurant de 10 à 30 cm qui se développe dans les rochers et rocaillies de haute montagne.^[76] Elle pousse généralement en groupe sur les pentes dans l'Europe centrale et méridionale.^[76] La scutellaire des Alpes possède des fleurs bleues et blanches visibles entre juin et août.^[78]

3.5.21.2 Bibliographie

Tableau 101. Tableau des publications de la scutellaire des Alpes

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
25	4	14,5	3

3.5.21.3 Récoltes

Tableau 102. Tableau de récoltes de la scutellaire des Alpes

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/417	1735	39,5	Parties aériennes fleuries	45°2'7" N 6°24'6" E	2100	11/07/2017
R18/359	1735	287	Parties aériennes fleuries	45°03'07.8"N 6°23'24.4"E	2347	16/07/2018

Dans cette plante, 16 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 103 ci-dessous. Huit autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes. Six molécules n'ont cependant pas pu être reliées à une famille chimique.

Tableau 103. Tableau des composés analysés dans la scutellaire des Alpes

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
20.1	-	C ₁₈ H ₂₆ O ₁₁	1	3,98
20.2	-	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,06
20.3	Dérivé Vitexine	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	1	5,30
20.4	Dérivé Vitexine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,37
20.5	Dérivé Ac. Caféique	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	1	5,51
20.6	Dérivé Chalcone	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	1	5,63
20.7	Verbascoside	C₂₉H₃₆O₁₅	1	5,84
20.8	Dérivé Apigénine	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₃	1	5,97
20.9	Dérivé Apigénine	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	1	6,12
20.10	Dérivé Apigénine	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	1	6,25
20.11	Dérivé Ac. Caféique	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₅	1	6,41
20.12	3',4',7-Trihydroxyflavone	C₁₅H₁₀O₅	1	7,99
20.13	-	-	1	9,32
20.14	-	-	1	9,60
20.15	-	-	1	9,75
20.16	-	-	1	9,96
20.17	Ac. Linolénique	C₁₈H₃₀O₂	1	11,25
20.18	Ac. Linoléique	C₁₈H₃₂O₂	1	11,46
20.19	Ac. Palmitique	C₁₆H₃₂O₂	1	11,58
20.20	Ac. Oléique	C₁₈H₃₄O₂	1	11,73
20.21	Ac. Stéarique	C₁₈H₃₆O₂	1	11,95
20.22	Ac. Lignocérique	C₂₄H₁₈O₂	1	12,16
20.23	Fructose	C₆H₁₂O₆	2	7,31
20.24	Glucose	C₆H₁₂O₆	2	9,62
20.25	Proline	C₅H₉NO₂	2	10,61
20.26	Sucrose	C₁₂H₂₂O₁₁	2	12,91
20.27	Ac. Gluconique	C₆H₁₂O₇	2	13,77
20.28	Ac. Glucuronique	C₆H₁₀O₇	2	14,70
20.29	Ac. Malique	C₄H₆O₅	2	15,84
20.30	Ac. Cis-aconitique	C₆H₆O₆	2	17,07

3.5.21.5 Extractions et rendements

Tableau 104. Tableau des rendements d'extraction de la scutellaire des Alpes

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Aqueux
Masse extraite (g)	1,30	3,78	8,73
Rendement (%)	3,3	9,6	22,1
Masse de départ (g) :	39,50	Rendement total (%) :	35,0

3.5.21.6 Activités biologiques

Tableau 105. Tableau des activités biologiques de la scutellaire des Alpes

% de cytotoxicité par différentes dilutions										
Lignée cellulaire		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	3,7	101,8	45,6	-0,7	90,5	5,1	-3,6	83,8	6,1	-3,1
Extrait Int	2,4	48,9	-2,2	-12,3	54,9	9,4	-6,3	64,1	13,1	3,2
Extrait Aq	3,0	42,3	-12,8	-0,5	90,3	18,9	4,2	77,7	20,6	6,2

% d'induction IL8 par dilution				% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα			
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	3,7			-7,7	-2,9	-5,0	-7,0		134,2	94,2
Extrait Int	2,4		-3,4	0,0	-2,2	-6,2	-5,5	133,7	127,7	94,2
Extrait Aq	3,0		-16,8	-3,7	3,4	-1,0	1,7	133,7	147,2	94,2

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	3,7	53	36	11	64	29	7	59	35	6
Extrait Int	2,4	69	22	9	75	19	6	64	27	8
Extrait Aq	3,0	65	28	7	78	20	2	70	23	7

3.5.21.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est très intéressant. Elle est composée de plusieurs familles de molécules en quantités importantes. Des acides phénoliques, des flavonoïdes, des chalcones et des composés non identifiés. Son profil apolaire est relativement riche, avec plusieurs acides gras ainsi que d'autres molécules apolaires non identifiées. La partie polaire est quant à elle assez commune. Seules des tendances sont observables sur l'activité biologique, mais aucune réelle touche. La plante a été classée dans le groupe 1 pour l'intérêt de sa diversité phytochimique.

3.5.22 *Trifolium alpinum* L.

3.5.22.1 Informations botaniques



Figure 86. Photos d'herbier, des parties aériennes et des fleurs du trèfle alpin.

Le trèfle alpin (*Trifolium alpinum* L.) est une plante de la famille des fabacées. C'est une plante vivace mesurant de 5 à 20 cm qu'il est possible de trouver dans les pelouses rocailleuses de haute montagne de France.^[76] Les feuilles sont vertes et presque toutes basales, découpées en trois feuilles étroites caractéristiques des trèfles.^[78] A l'extrémité de la tige se dresse trois à douze fleurs roses de juin à août.^[76]

3.5.22.2 Bibliographie

Tableau 106. Tableau des publications du trèfle alpin

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
9	4	6,5	1

3.5.22.3 Récoltes

Tableau 107. Tableau de récoltes du trèfle alpin

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/420	1638	97	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	2280	26/06/2017
R18/361	1638	288	Parties aériennes fleuries	45°2'42" N 6°23'58" E	2280	16/07/2018

3.5.22.4 Phytochimie

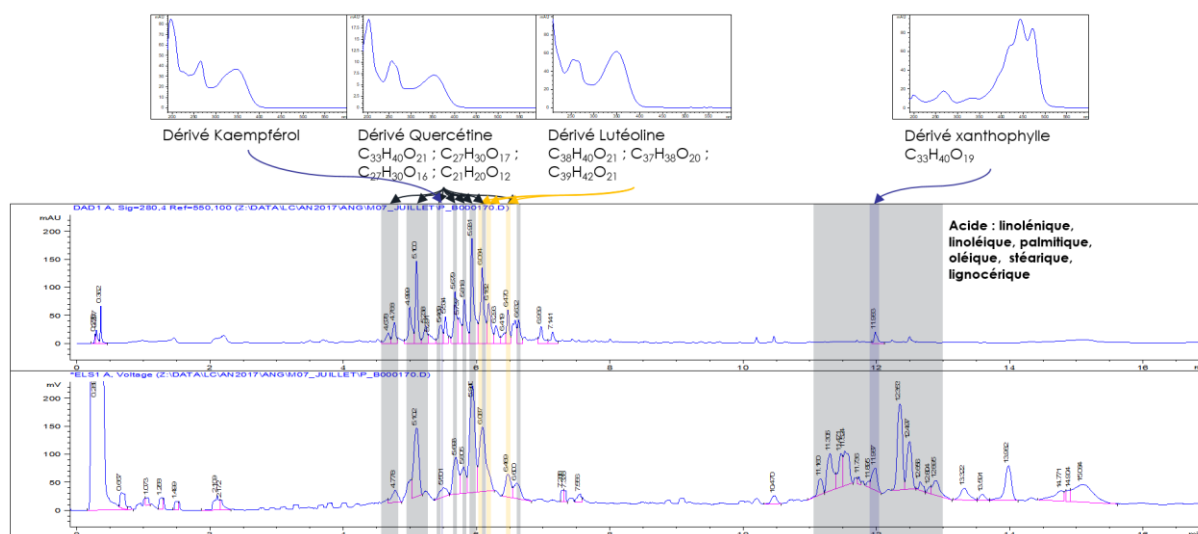


Figure 87. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 87 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 88 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

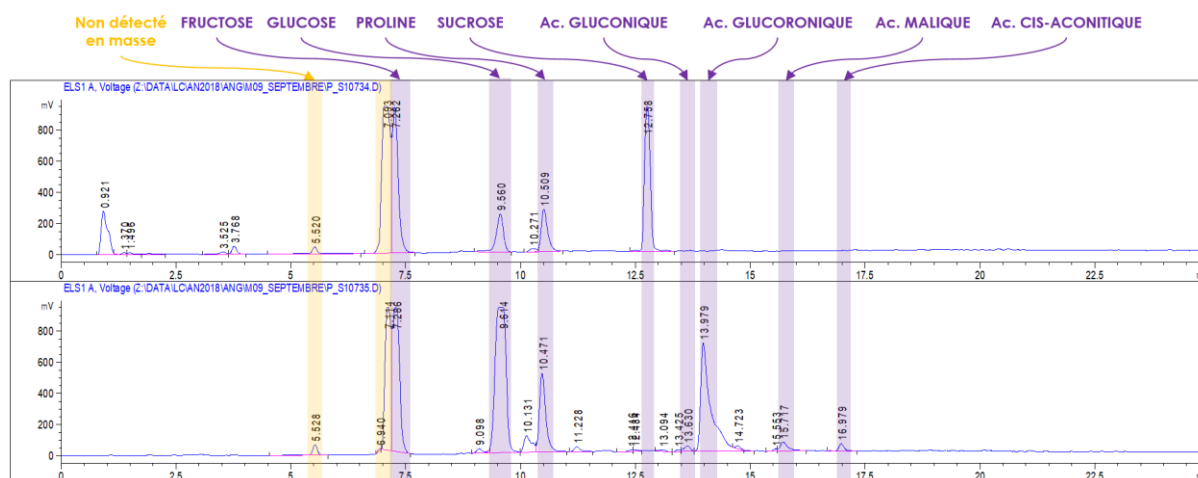


Figure 88. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 14 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 108 ci-dessous. Les 14 autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes.

Tableau 108. Tableau des composés analysés dans le trèfle alpin

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
21.1	Dérivé Quercétine	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	4,68
21.2	Dérivé Quercétine	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	4,77
21.3	Dérivé Quercétine-Hex-Rut	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	1	5,00
21.4	Dérivé Quercétine-Hex-Hex	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	1	5,10
21.5	Dérivé Quercétine	-	1	5,47
21.6	Dérivé Kaempférol	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₁	1	5,55
21.7	Dérivé Quercétine-Rut	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	1	5,68
21.8	Dérivé Quercétine	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1	5,82
21.9	Dérivé Quercétine-Hex	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1	5,93
21.10	Dérivé Lutéoline	C ₃₈ H ₄₀ O ₂₁	1	6,08
21.11	Dérivé Quercétine	-	1	6,18
21.12	Dérivé Lutéoline	C ₃₇ H ₃₈ O ₂₀	1	6,29
21.13	Dérivé Lutéoline	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	1	6,47
21.14	Dérivé Quercétine	-	1	6,63
21.15	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
21.16	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
21.17	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
21.18	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
21.19	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
21.20	Ac. Lignocérique	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	1	12,16
21.21	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	7,26
21.22	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,61
21.23	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	10,47
21.24	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	12,76
21.25	Ac. Gluconique	C ₆ H ₁₂ O ₇	2	13,63
21.26	Ac. Glucuronique	C ₆ H ₁₀ O ₇	2	13,98
21.27	Ac. Malique	C ₄ H ₆ O ₅	2	15,72
21.28	Ac. Cis-aconitique	C ₆ H ₆ O ₆	2	16,98

3.5.22.5 Extractions et rendements

Tableau 109. Tableau des rendements d'extraction du trèfle alpin

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	1,21	5,52	8,59
Rendement (%)	2,4	10,8	16,8
Masse de départ (g) :	51,2	Rendement total (%) :	29,9

3.5.22.6 Activités biologiques

Tableau 110. Tableau des activités biologiques du trèfle alpin

% de cytotoxicité par différentes dilutions										
Lignée cellulaire		HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	3,9	94,2	7,0	-7,7	97,0	-11,3	-11,0	95,5	-11,0	12,1
Extrait Int	3,7	31,1	-11,2	-9,4	43,2	-7,4	-11,0	24,5	5,2	-3,2
Extrait Aq	4,0	15,3	-12,7	-17,4	43,2	8,7	-9,1	25,2	4,9	-18,3

% d'induction IL8 par dilution				% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα			
Lignée cellulaire		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	3,9		-24,0	-17,0	-3,8	-9,7	-3,3	120,7	127,7	118,0
Extrait Int	3,7		108,3	0,6	-1,4	-8,3	-7,9	133,7	127,7	99,1
Extrait Aq	4,0	7,7	-6,1	-7,2	-4,5	-4,6	2,5	114,2	121,0	89,3

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
		667			2000			6667		
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	3,9	60	36	4	71	27	2	73	24	3
Extrait Int	3,7	57	37	6	68	31	2	62	31	7
Extrait Aq	4,0	54	41	5	70	27	3	69	27	4

3.5.22.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est relativement pauvre. Il est composé majoritairement de flavonoïdes (quercétine, kaempférol et lutéoline) en petite quantité. Ses parties polaire et apolaire sont relativement communes. Cependant, l'extrait apolaire présente une tendance anti-inflammatoire et l'extrait intermédiaire présente quant à lui une activité pro-inflammatoire. Cette plante a été classée dans le groupe 2.

3.5.23 *Trollius europaeus* L.

3.5.23.1 Informations botaniques



Figure 89. Croquis et photos des parties aériennes et des fleurs du trolle d'Europe. Source : F. Le Driant

Le trolle d'Europe (*Trollius europaeus* L.) est une plante de la famille des renonculacées. C'est une plante vivace mesurant de 20 à 40 cm qu'il est généralement possible de trouver dans les prairies et pâturages de montagne.^[76] Elle est répartie dans toutes les montagnes de l'Europe.^[76] Sa fleur jaune visible de mai à août prend la forme d'un bouton d'or fermé.^[78] Ses feuilles palmées sont majoritairement basales et d'un vert sombre.^[76]

3.5.23.2 Bibliographie

Tableau 111. Tableau des publications du trolle d'Europe

SCI Finder	PubMed	Moyenne	Depuis 2017
18	0	9	5

3.5.23.3 Récolte

Tableau 112. Tableau de récolte du trolle d'Europe

Référence	Lot	Quantité sec (g)	Nature de la MP	Coordonnées de récolte	Altitude de récolte (m)	Date
R17/421	1726	132	Parties aériennes fleuries	45°1'57" N 6°23'30" E	2020	26/06/2017

3.5.23.4 Phytochimie

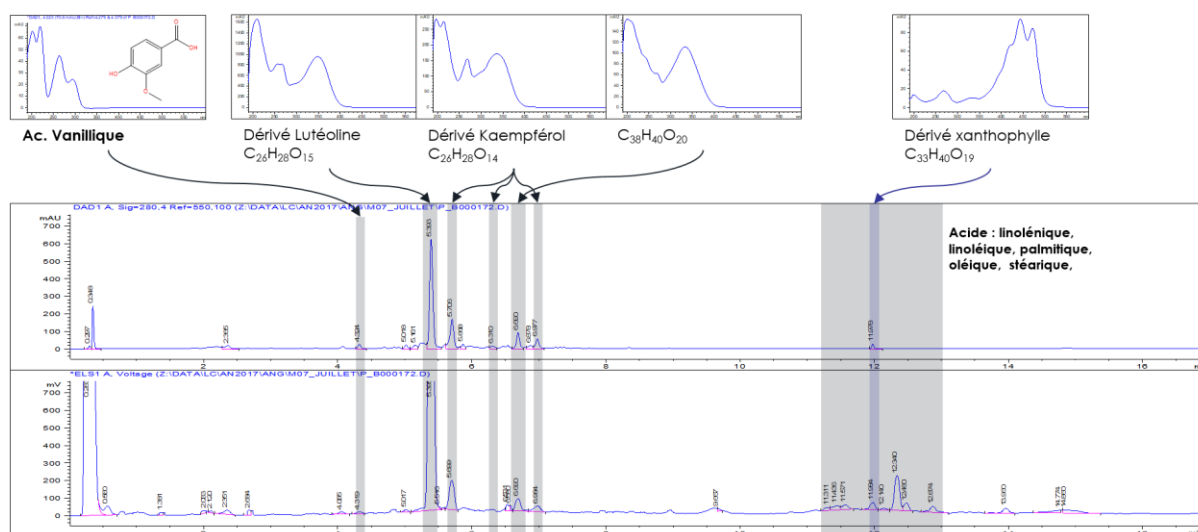


Figure 90. Chromatogrammes de l'extrait éthanolique par Precellys® (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

La Figure 90 ci-dessus représente les chromatogrammes obtenus par DAD et ELSD de l'extrait éthanolique en phase inverse. La Figure 91 ci-dessous représente les chromatogrammes obtenus par ELSD des extraits éthanoliques et aqueux en phase HILIC.

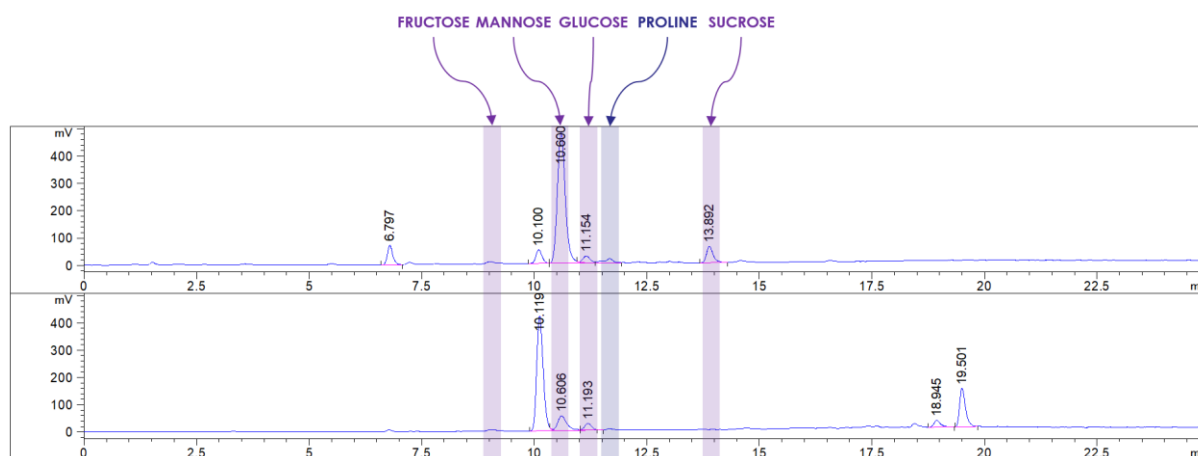


Figure 91. Chromatogrammes ELSD de l'extrait éthanolique (haut) et aqueux (bas) par Precellys® (Méthode 2)

Dans cette plante, 13 molécules ont pu être formellement identifiées, listées en gras et en bleu dans le Tableau 113 ci-dessous. Quatre autres molécules ont été catégorisées dans des familles de composés grâce à leur spectre UV ainsi qu'à leur formule brute comparés à des bases de données internes et externes. Une molécule n'a cependant pas pu être reliée à une famille chimique.

Tableau 113. Tableau des composés analysés dans le trolle d'Europe

ID	Nom	Formule brute	Méthode de chromatographie	Tr (min)
22.1	Ac. Caféique	C ₉ H ₈ O ₄	1	3,45
22.2	Ac. Vanillique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1	4,32
22.3	Ac. Benzoïque	C ₇ H ₆ O ₂	1	5,27
22.4	Dérivé Lutéoline-Pent-Hex	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	1	5,39
22.5	Dérivé Kaempférol-Pent-Rha	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	1	5,71
22.6	Dérivé Kaempférol	C ₂₉ H ₃₀ O ₁₇	1	6,31
22.7	-	C ₃₈ H ₄₀ O ₂₀	1	6,69
22.8	Dérivé Kaempférol	C ₃₈ H ₄₀ O ₁₉	1	6,98
22.9	Ac. Linolénique	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1	11,25
22.10	Ac. Linoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1	11,46
22.11	Ac. Palmitique	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1	11,58
22.12	Ac. Oléique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1	11,73
22.13	Ac. Stéarique	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1	11,95
22.14	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	9,12
22.15	Mannose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	10,60
22.16	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	2	11,15
22.17	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	2	11,60
22.18	Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	2	13,89

3.5.23.5 Extractions et rendements

Tableau 114. Tableau des rendements d'extraction du trolle d'Europe

	Extrait Apolaire	Extrait Intermédiaire	Extrait Polaire
Masse extraite (g)	0,85	4,58	8,85
Rendement (%)	1,6	8,8	17,0
Masse de départ (g) :	51,91	Rendement total (%) :	27,5

3.5.23.6 Activités biologiques

Tableau 115. Tableau des activités biologiques du trolle d'Europe

		% de cytotoxicité par différentes dilutions								
Lignée cellulaire	Nom (mg)	HEK293T			MES-SA			MES-SA DX5		
		200	667	2000	200	667	2000	200	667	2000
Extrait Sup	2,2	103,4	40,2	0,8	97,8	43,9	7,6	97,6	40,4	34,5
Extrait Int	2,5	95,8	22,4	-2,1	98,7	20,3	15,2	98,7	31,7	29,6
Extrait Aq	2,5	18,9	3,8	-13,0	56,8	13,9	3,7	63,7	18,0	18,9

Lignée cellulaire		% d'induction IL8 par dilution			% d'inhibition de la tyrosinase par dilution			% Translocation nucléaire de NFκB après stimulation TNFα		
		HEK293T			Tyrosinase			HEK293T		
Nom	(mg)	200	667	2000	200	667	2000	667	2000	6667
Extrait Sup	2,2			-12,5	45,3	0,1	-7,0		116,6	119,4
Extrait Int	2,5		-1,2	-14,7	18,5	4,5	-9,7	110,0	110,8	107,5
Extrait Aq	2,5	-16,5	-9,4	-17,0	4,2	-3,0	-1,2	91,2	92,8	101,4

Tri en fonction du nombre d'autophagosomes (ATG) par cellule en %										
667			2000			6667				
Nom	(mg)	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8	<3ATG	3<ATG<8	ATG>8
Extrait Sup	2,2	56	39	5	59	33	9	69	28	3
Extrait Int	2,5	35	49	16	71	24	5	63	30	7
Extrait Aq	2,5	44	44	12	63	29	7	51	42	7

3.5.23.7 Conclusion

Le profil des métabolites secondaires de cette plante est très pauvre. Elle est composée majoritairement de flavonoïdes en faibles quantités. Les parties apolaire et polaire sont assez communes. L'extrait apolaire est inhibiteur de la tyrosinase à sa plus forte concentration. L'extrait intermédiaire est quant à lui activateur de la tyrosinase et activateur de l'autophagie à sa plus haute concentration. La plante a été classée dans le groupe 3.

3.6 CONCLUSION

Comme expliqué précédemment, les 22 plantes récoltées ont été classées dans trois groupes selon leurs intérêts et leurs potentiels (Tableau 116).

Tableau 116. Classement des plantes selon leurs intérêts phytochimique et biologique

1	2	3
<i>Achillea nana</i> L.	<i>Aconitum lycoctonum</i> subsp. <i>vulparia</i> (Rchb.) Nyman	<i>Artemisia genipi</i> Weber
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	<i>Alchemilla alpina</i> L.	<i>Astragalus onobrychis</i> L.
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	<i>Antennaria carpatica</i> (Wahlenb.) Bluff. & Fingherh.	<i>Cirsium spinosissimum</i> (L.) Scop.
<i>Astragalus monspessulanus</i> L.	<i>Asphodelus albus</i> L. subsp. <i>delphinensis</i> (Gr. & Godr.) Diaz Lifente	<i>Cota tinctoria</i> (L.) J. Gay
<i>Epilobium fleischeri</i> Hochst.	<i>Epilobium angustifolium</i> L.	<i>Narcissus poeticus</i> L.
<i>Nepeta nepetella</i> L.	<i>Trifolium alpinum</i> L.	<i>Salvia aethiopis</i> L.
<i>Rosa pendulina</i> L.	<i>Knautia dipsacifolia</i> subsp. <i>dipsacifolia</i>	<i>Trollius europaeus</i> L.
<i>Scutellaria alpina</i> L.		

Toutes les plantes du groupe 1 ont fait l'objet de nouvelles récoltes pendant la floraison de 2018 à l'exception de *R. pendulina* qui était trop précoce cette année-là. Les plantes ont été récoltées dans des quantités plus importantes qu'en 2017 afin de pouvoir réaliser des purifications sur les extraits si nécessaire.

Parmi ces sept plantes, trois d'entre elles ont plus particulièrement retenu notre attention pour les travaux de recherches approfondis :

- *A. pyramidalis*, afin d'isoler ses composés, notamment ses iridoïdes, et d'étudier son activité dermo-cosmétique.
- *S. alpina*, afin de caractériser ses nombreuses familles phytochimiques et d'isoler ses composés.
- *N. nepetella*, afin d'étudier sa fraction polaire avec une très forte activité cytotoxique pour les cellules cancéreuses et cancéreuses résistantes.

Les travaux de l'étude ont débuté sur *A. pyramidalis* pour 1) isoler, caractériser et quantifier ses composés, et 2) réaliser une étude inter et intra-espèce. Par manque de temps, seulement une partie de la quantification de *S. alpina* a été réalisée en parallèle de l'étude d'*A. pyramidalis*. Quant à *N. nepetella*, son étude n'a malheureusement pas été approfondie au cours de ces travaux de thèse.

ÉTUDES AVANCEES SUR LES PLANTES

4.1 AJUGA PYRAMIDALIS L.

Plusieurs travaux de recherche ont été réalisés sur la plante. Une étude inter-espèces et intra-espèce a été menée afin de découvrir ou non une différenciation phytochimique entre quatre espèces d'*Ajuga*, ainsi que dans les différents organes d'*A. pyramidalis*. Les extraits (apolaire, intermédiaire et polaire) obtenus par macération ont été caractérisés afin d'avoir une estimation qualitative et quantitative des composés majoritaires de chacun d'eux. Pour cela, plusieurs techniques de caractérisations et purifications ont été utilisées pour l'identification de ces composés. De plus, une étude de cristallisation a été menée sur des iridoïdes obtenus. Enfin, une étude biologique a été sous-traitée à un prestataire externe permettant d'objectiver les différents extraits et produits purifiés.

4.1.1 Bibliographie

A. pyramidalis est une plante du genre *Ajuga* qui regroupe une cinquantaine d'espèces. C'est une famille assez peu décrite dans la littérature. Un seul article a été publié sur la phytochimie d'*A. pyramidalis*. Celui-ci décrit la présence d'un nouveau diterpène de clérodane, l'ajugapyrin A, ainsi que deux iridoïdes également présents dans d'autres espèces d'*Ajuga*, l'harpagide et le 8-O-acéthylharpagide (Figure 92).^[88]

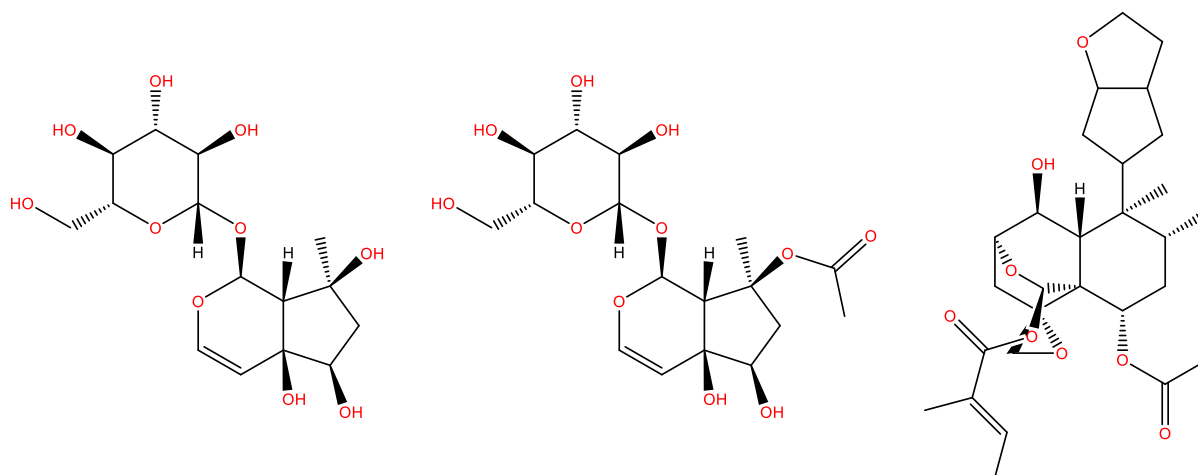


Figure 92. Structures de l'harpagide, du 8-O-acéthylharpagide et de l'ajugapyrin A

Afin de compléter les informations sur la phytochimie de la plante, la littérature d'autres espèces d'*Ajuga* a été étudiée. Trois familles phytochimiques ont été identifiées : des iridoïdes, des diterpènes de clérodane ainsi que des acides phénoliques.^[88,98–101] *A. pyramidalis* étant une des espèces les moins étudiées du genre, et la seule de notre étude à posséder des iridoïdes, il a été décidé de travailler sur sa quantification et son activité biologique.

4.1.2 Étude inter-espèces

Afin de réaliser une étude complète sur la plante, un comparatif des profils phytochimiques a été effectué sur quatre espèces du même genre, *Ajuga genevensis* L., *Ajuga chamaepitys* (L.) Schreb., *Ajuga reptans* L. et *Ajuga pyramidalis* L. Les extraits ont été réalisés d'après la méthode Precellys® avec les mêmes quantités de matière et de solvants pour chacune des espèces.

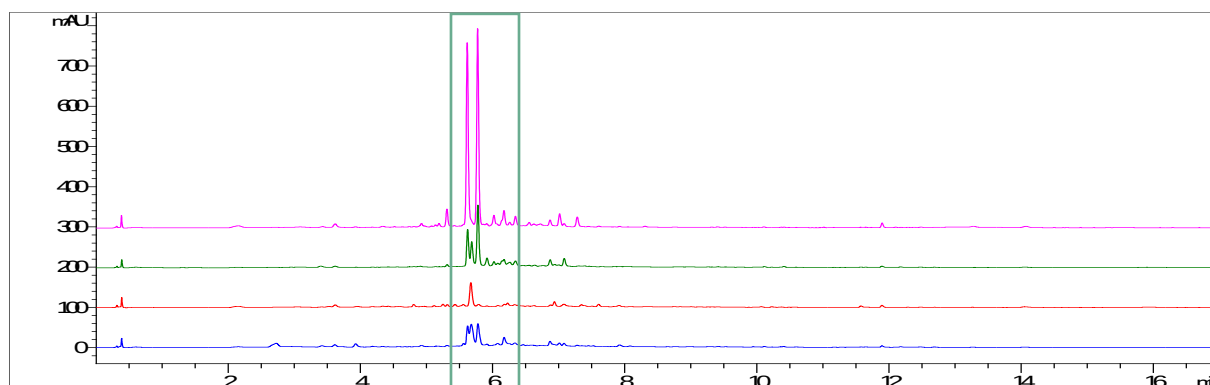


Figure 93. Chromatogrammes DAD (280 nm) des extraits réalisés par Precellys® d'*A. genevensis* (Bleu), *A. chamaepitys* (Rouge), *A. reptans* (Vert) et *A. pyramidalis* (Rose) (Méthode 1)

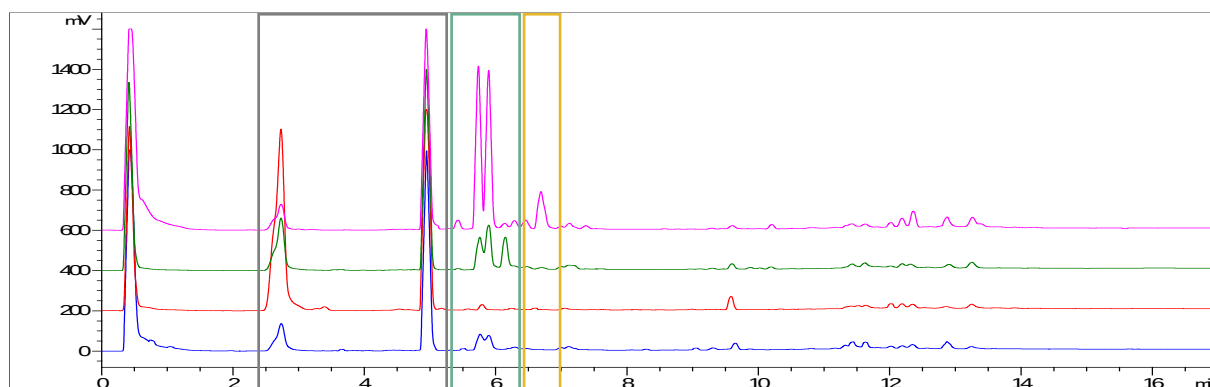


Figure 94. Chromatogrammes ELSD des extraits réalisés par Precellys® d'*A. genevensis* (Bleu), *A. chamaepitys* (Rouge), *A. reptans* (Vert) et *A. pyramidalis* (Rose) (Méthode 1)

D'après les profils chromatographiques des Figure 93 et Figure 94, peu de différences qualitatives sont observables. La plupart des composés se trouvent dans chacune des espèces. On remarque tout de même une différence notable sur la zone verte qui regroupe les acides phénoliques : ceux-ci sont beaucoup plus présents dans l'extrait d'*A. pyramidalis* et pratiquement inexistant dans l'extrait d'*A. chamaepitys*. Cette dernière compense avec une quantité plus importante d'iridoïdes visibles dans la zone grise. L'extrait d'*A. pyramidalis* comprend des dérivés terpéniques visibles dans la zone jaune que nous ne retrouvons dans aucune autre des espèces analysées.

4.1.3 Étude intra-espèce

Deux études intra-espèce ont été menées. La première est une étude de variabilité inter-année. La plante (*A. pyramidalis*) a été récoltée sur le même lieu durant les trois années de thèse afin d'étudier la variation phytochimique liée à l'année de récolte.

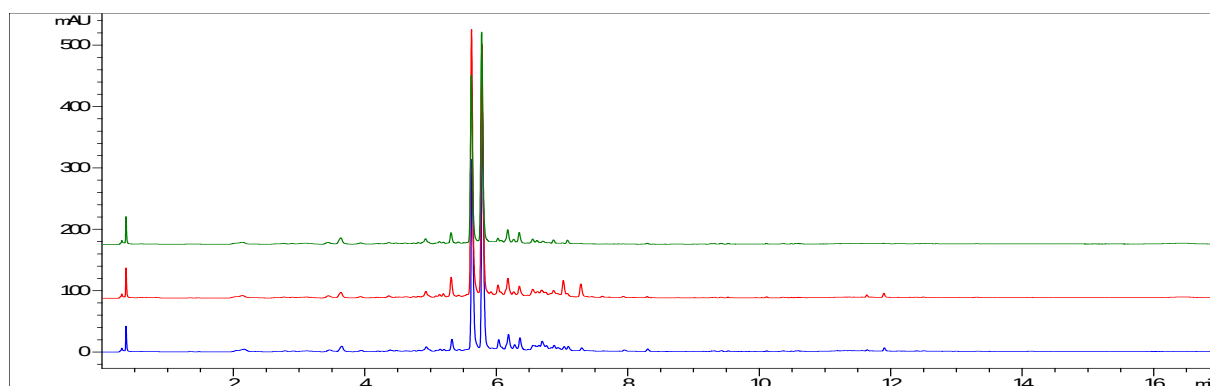


Figure 95. Chromatogrammes DAD (280 nm) des extraits réalisés par Precellys® d'*A. pyramidalis* de l'année 2017 (Bleu), 2018 (Rouge) et 2019 (Vert) (Méthode 1)

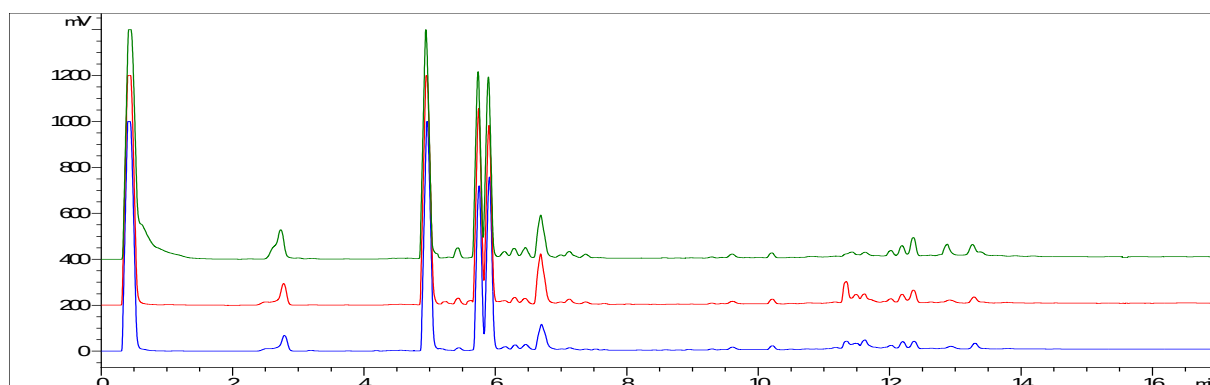


Figure 96. Chromatogrammes ELSD des extraits réalisés par Precellys® d'*A. pyramidalis* de l'année 2017 (Bleu), 2018 (Rouge) et 2019 (Vert) (Méthode 1)

D'après les profils chromatographiques des Figure 95 et Figure 96, une forte similarité est observable entre les trois années de récoltes, seule une légère différence est visible sur le chromatogramme rouge à 11,5 min sur la Figure 96. D'après ces profils phytochimiques, il est possible de voir une similarité dans le temps des métabolites secondaires développés par la plante.

La seconde étude intra-espèce est la comparaison des compositions chimiques des organes de la plante. Pour cela, les fleurs, les racines et les parties aériennes non fleuries ont été analysées.

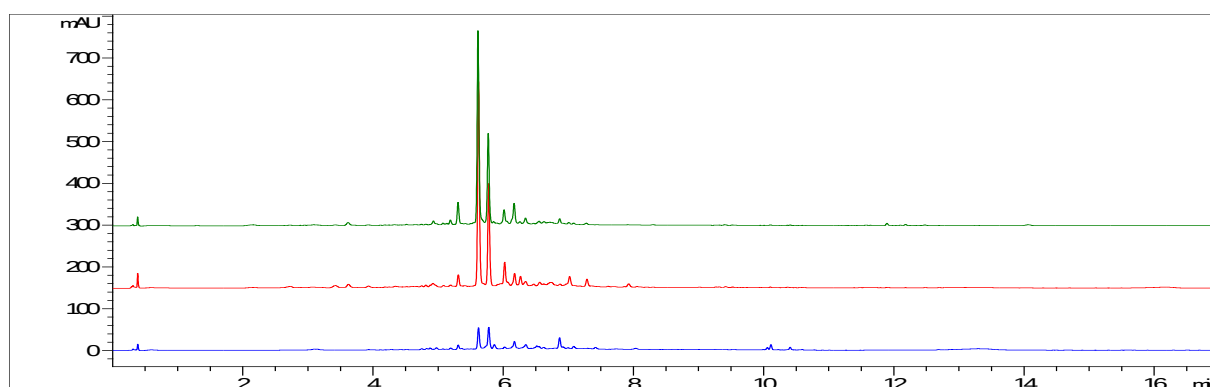


Figure 97. Chromatogrammes DAD (280 nm) des extraits réalisés par Precellys® d'*A. pyramidalis* des racines (Bleu), des fleurs (Rouge) et des parties aériennes non fleuries (Vert) (Méthode 1)

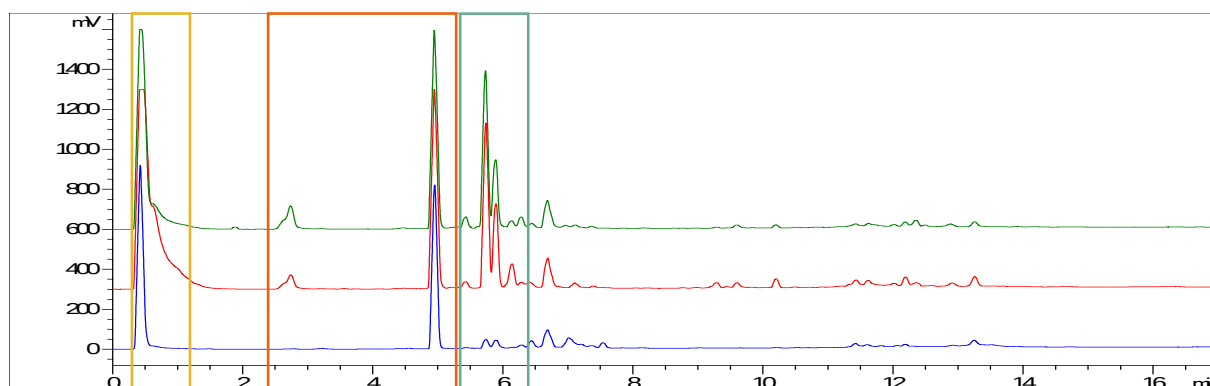


Figure 98. Chromatogrammes ELSD des extraits réalisés par Precellys® d'*A. pyramidalis* des racines (Bleu), des fleurs (Rouge) et des parties aériennes non fleuries (Vert) (Méthode 1)

D'après les profils chromatographiques des figures ci-dessus (Figure 97 et Figure 98), on observe une similarité entre les parties aériennes non fleuries et les fleurs sur les composés des zones verte et orange. Cependant les différences sont notables sur les composés les plus polaires en début de chromatogrammes avec une quantité plus importante dans les fleurs qui peut être expliquée par une composition plus riche en sucres. Il est également possible de remarquer une nette différence entre les racines et les autres parties de la plante au niveau des métabolites secondaires de la zone verte.

Ces deux études sont intéressantes pour plusieurs raisons. Premièrement lors du développement d'un produit avec une visée commerciale, il est nécessaire de sécuriser son approvisionnement et la qualité du produit. De ce point de vue, l'étude de variabilité inter-année montre une constance dans la composition phytochimique de la plante. Deuxièmement, on observe ici une différence entre les parties de la plante, de ce fait il serait possible de travailler avec une partie spécifique selon les besoins de recherche.

4.1.4 Études qualitative et quantitative des extraits

Dans cette partie, les travaux se sont concentrés sur les extraits réalisés par macération. Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits de polarité différente (apolaire, intermédiaire et polaire). Une étude quantitative a été réalisée sur ces extraits, elle sera détaillée dans la suite de ce chapitre.

4.1.4.1 Matière sèche des extraits

Afin d'évaluer la quantité d'eau et de solvant résiduelle contenue dans chaque extrait, ceux-ci ont été placés à l'étuve pendant 3 h à 110 °C. Les résidus secs ont ensuite été pesés afin de déterminer le pourcentage de matière sèche des extraits. Ces résultats permettront ensuite de corriger les différents dosages effectués pour ne prendre en compte que la matière extractible.

Matière sèche Extrait_{apolaire} = 79,8 % (CV¹ = 0,2 %, n² = 3)

Matière sèche Extrait_{intermédiaire} = 85,8 % (CV = 0,8 %, n = 3)

Matière sèche Extrait_{polaire} = 75,5 % (CV = 0,2 %, n = 3)

4.1.4.2 Étude de la fraction lipidique

Les quantités de matières lipidiques constituant les extraits sont évaluées par extraction heptanique (500 mg d'extrait dans 5,0 g d'heptane). Les phases organiques sont ensuite évaporées et pesées. Les résultats sont exprimés en pourcentage massique dans l'extrait sec.

Fraction lipidique Extrait_{apolaire} = 93,4 % (CV = 0,9 %, n = 3)

Fraction lipidique Extrait_{intermédiaire} = 0,4 % (CV = 15 %, n = 3)

Fraction lipidique Extrait_{polaire} = 0,03 % (CV = 73 %, n = 3)

Les résultats ci-dessus permettent de mettre en évidence plusieurs caractéristiques. L'extrait apolaire n'est pas composé à 100 % de molécules apolaires et d'autre part, le coefficient de variation pour l'extrait polaire n'a pas une valeur acceptable. Cependant, elle s'explique par les très faibles masses mesurées, de l'ordre du mg. Il est aussi possible de remarquer que la première extraction permet d'extraire la quasi-totalité des composés apolaires de la plante.

Une analyse GC/El-MS/FID de la fraction lipidique est ensuite réalisée sur l'extrait apolaire après dérivation des composés de celui-ci selon la Procédure 1 (chapitre : 6.1). Le résultat permet d'identifier les molécules de cette fraction par comparaison avec différentes bases de données internes et commerciales.

¹ CV, Coefficient de Variation

² n, Nombre d'individus

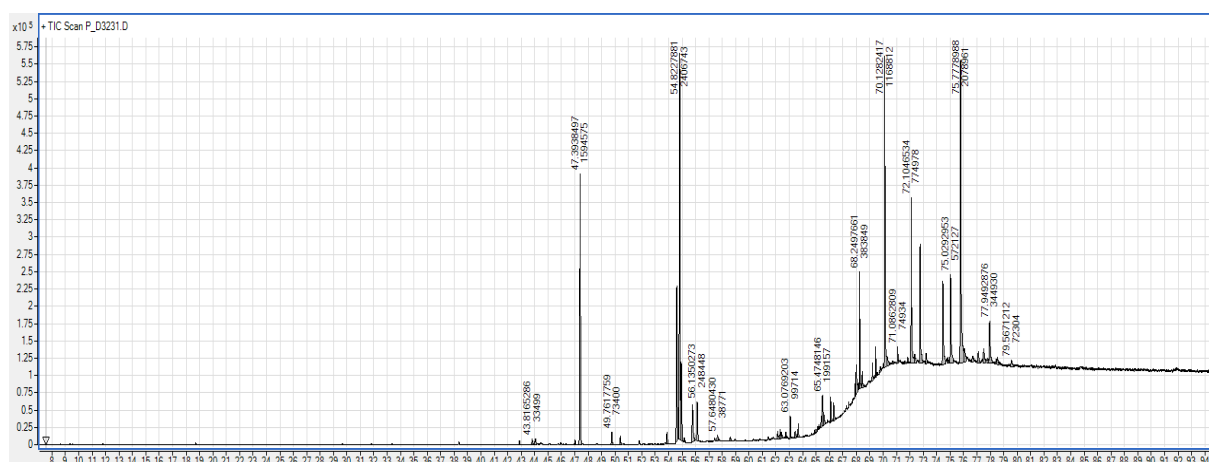


Figure 99. Chromatogramme FID.¹ de l'extrait apolaire d'A. pyramidalis (Méthode 5)

Dix-neuf composés ont été identifiés dans l'extrait apolaire grâce à cette méthode et sont listés dans le Tableau 117 ci-dessous qui regroupe leur temps de rétention (Tr), leur indice de rétention ainsi que leur quantité relative, exprimée en pourcentage des aires du signal FID.

Tableau 117. Liste des composés identifiés dans la fraction lipidique de l'extrait apolaire d'A. pyramidalis (Méthode 5)

ID	Nom	Tr (min)	Indice de rétention	% FID	Méthode
3.13	Acide Palmitique	47,40	1916	10,7	3
3.12	Acide Linoléique	54,61	2085	8,0	3
3.11	Acide Linolénique	54,83	2090	17,0	3
3.14	Acide Oléique	54,95	2093	3,1	3
3.30	Phytol	55,77	2112	4,5	3
3.15	Acide Stéarique	56,14	2120	1,7	3
3.31	Acide arachidique	63,08	2340	0,7	3
3.32	Alcane (C25)	66,10	2509	0,6	3
3.33	Acide béhénique	66,32	2535	0,7	3
3.34	Alcane (C27)	68,26	2709	2,5	3
3.35	Squalène	69,45	2833	0,8	3
3.36	Nonacosane	70,13	2906	7,4	3
3.37	Alcane (C31)	72,11	3104	5,7	3
3.38	Tocophérol	72,76	3165	3,1	3
3.39	Alcane (C33)	74,46	3301	4,3	3
3.40	Iso calystérol	75,03	3309	3,4	3
3.41	Stigmastérol	75,78	3351	10,9	3
3.42	Alcane (C34)	77,51	3401	1,5	3
3.43	Alpha-amyrine	77,95	3476	1,7	3

¹ FID, Flame Ionization Detector (Détecteur à Ionisation de Flamme)

4.1.4.3 Détermination des cendres

La quantité de minéraux dans l'extrait est évaluée par détermination des cendres totales. Pour cela, 500 mg d'extrait sont placés dans un creuset en silice chauffé à 800 °C jusqu'à ce que les cendres soient parfaitement blanches, puis le résidu sec qui correspond aux minéraux est pesé. Les résultats sont exprimés en pourcentage massique dans l'extrait sec.

$$\text{Minéraux Extrait}_{\text{apolaire}} = 1,5 \% (\text{CV} = 6 \%, n = 3)$$

$$\text{Minéraux Extrait}_{\text{intermédiaire}} = 2,1 \% (\text{CV} = 6 \%, n = 3)$$

$$\text{Minéraux Extrait}_{\text{polaire}} = 9,4 \% (\text{CV} = 4 \%, n = 3)$$

4.1.4.4 Dosage des acides aminés libres

La quantité d'acides aminés (AA) libres présents dans les extraits a été déterminée par HPLC/DAD/Fluo selon la Procédure 2 (chapitre : 6.2). L'ensemble des 20 acides aminés essentiels a été dosé plus l'hydroxyproline. Tous les acides aminés essentiels ont été identifiés dans la plante à l'exception de la lysine. Les résultats sont exprimés ci-dessous en pourcentage massique totale d'acides aminés dans l'extrait sec.

$$\text{Acides aminés libres Extrait}_{\text{apolaire}} = 0,04 \% (\text{CV} = 12 \%, n = 3)$$

$$\text{Acides aminés libres Extrait}_{\text{intermédiaire}} = 0,8 \% (\text{CV} = 8 \%, n = 3)$$

$$\text{Acides aminés libres Extrait}_{\text{polaire}} = 2,1 \% (\text{CV} = 6 \%, n = 3)$$

4.1.4.5 Quantification des composés azotés

La quantité d'azote dans l'extrait a été évaluée par la méthode de Kjeldahl.^[102] Ne disposant pas de l'appareil de minéralisation au laboratoire, cette partie a été soustraite.

$$\text{Azote totale Extrait}_{\text{intermédiaire}} = 0,48 \% (n = 1)$$

$$\text{Azote totale Extrait}_{\text{polaire}} = 0,71 \% (n = 1)$$

Le pourcentage de protéines est exprimé en pourcentage massique dans l'extrait sec avec un facteur de conversion de 6,25, qui correspond au facteur moyen d'azote dans les protéines. Le pourcentage d'acides aminés libres a également été soustrait à ces résultats.

$$\text{Protéines (Azote*0,65-AA libres) Extrait}_{\text{intermédiaire}} = 2,4 \% (n = 1)$$

$$\text{Protéines (Azote*0,65-AA libres) Extrait}_{\text{polaire}} = 2,3 \% (n = 1)$$

L'azote totale de l'extrait apolaire n'a pas été quantifié car les quantités nécessaires pour l'expérience était trop importante (10 g), de plus, d'après les différents dosages réalisés sur cet extrait, celui-ci ne contiendrait que très peu de composés azotés.

4.1.4.6 Dosage des glucides

Le dosage des glucides a été effectué par étalonnage externe avec leurs témoins respectifs suivant la Procédure 3 (chapitre : 6.3). Un mélange de cinq sucres a été utilisé (rhamnose, arabinose, fructose, glucose et sucrose). Les résultats de dosage des sucres sont exprimés en pourcentage massique de l'extrait sec et listés dans le Tableau 118 ci-dessous.

Tableau 118. Liste des glucides dosés dans les différents extraits d'*A. pyramidalis* (Méthode 3)

ID	Nom	Extrait apolaire	Extrait intermédiaire	CV (%), n = 3	Extrait polaire	CV (%), n = 3
3.28	Rhamnose	2,2	24,1	5	7,8	3
3.29	Arabinose	0,0	0,8	11	0,0	0
3.18	Fructose	0,0	10,6	0,5	15,3	1
3.19	Glucose	0,6	7,7	2	22,0	2
3.20	Sucrose	1,2	14,3	2	12,4	3

Glucides Extrait_{apolaire} = 4,0 %

Glucides Extrait_{intermédiaire} = 57,6 ± 0,2 %

Glucides Extrait_{polaire} = 57,4 ± 0,1 %

4.1.4.7 Dosage des acides organiques

Le dosage des acides organiques a été effectué par étalonnage externe avec leurs témoins respectifs suivant le même principe que la Procédure 3 avec la Méthode 2. Un mélange de six acides organiques a été utilisé pour le dosage (les acides gluconique, tartrique, glucuronique, oxalique, malique et cis-acétonique). Les résultats des dosages sont exprimés en pourcentage massique dans l'extrait sec et listés dans le Tableau 119 ci-dessous.

Tableau 119. Liste des acides organiques dosés dans les différents extraits d'*A. pyramidalis* (Méthode 2)

ID	Nom	Extrait _{intermédiaire}	Extrait _{polaire}	CV (%), n = 3
3.22	Ac. Gluconique	0	2,3	1
3.23	Ac. Glucuronique	0	1,7	2
3.24	Ac. Malique	0	3,7	2
3.25	Ac. Cis-acétonique	0	1,3	6

Acides organiques Extrait_{polaire} = 8,9 ± 0,1 %

4.1.4.8 Dosage des iridoïdes

Avant de pouvoir doser les iridoïdes des différents extraits, il a été nécessaire de les identifier. Les extraits apolaire et polaire ne contenant pas d'iridoïdes ou à l'état de traces, les recherches dans ces extraits n'ont finalement pas été poursuivies. Grâce à l'analyse HPLC/DAD/HRMS quatre iridoïdes ont été identifiés dans l'extrait intermédiaire. Combinée à la fragmentation MS/MS, il a été possible de déterminer leur formule brute et leur structure d'aglycone. De plus, deux de ces iridoïdes ont été

isolés (chapitre 4.1.5.1 et 4.1.5.4) et identifiés par RMN (chapitre : 4.1.6.1 et 4.1.6.2). Le chromatogramme HRMS de la Figure 100 ci-dessous est une extraction des ions spécifiques des iridoïdes identifiés dans l'extrait.

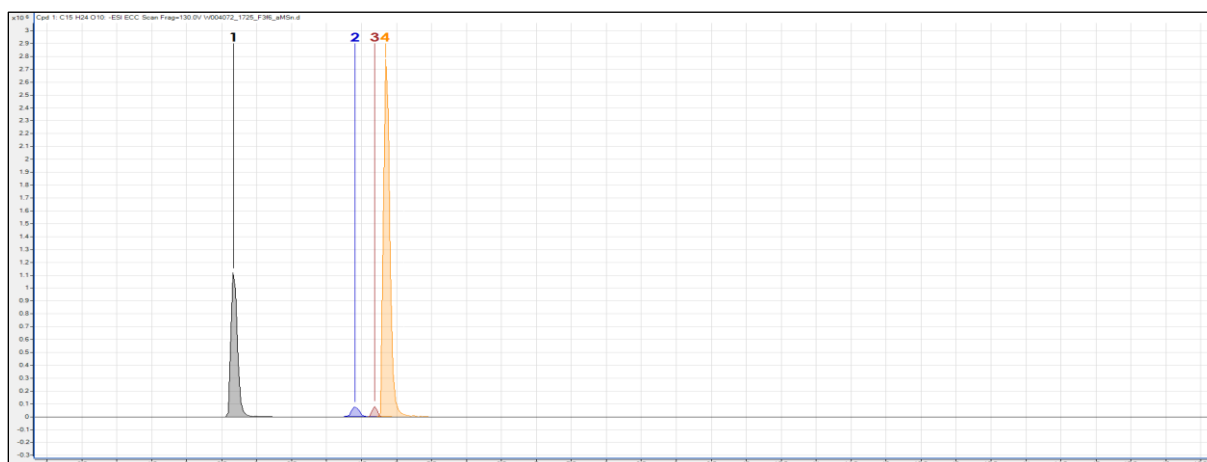


Figure 100. Extraction HRMS des ions spécifiques d'iridoïdes de l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis* (Méthode 1)

Les iridoïdes identifiés dans l'extrait intermédiaire ont été listés dans le Tableau 120. Il regroupe le numéro d'identification des composés, le nom du composé et/ou sa formule brute, sa masse molaire, ses ions de fragmentation et son temps de rétention relatif à la méthode.

Tableau 120. Liste des iridoïdes identifiés dans l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis* (méthode 1)

ID	Nom	Tr (min)	Méthode	Masse molaire (g/mol)	Ions fragment MS/MS (m/z) – (10,20 et 40 eV)
3.1	Harpagide $C_{15}H_{24}O_{10}$ (RMN)	2,68 (1)	1	364,1374	363,1300 : $[M-H]^-$ 201,0759 : $[M-C_6H_{10}O_5]^-$ 165,0549 : $[M-C_6H_{10}O_5-2H_2O]^-$ 447,1516 : $[M-H]^-$
3.26	6,8-O-Di-acétylharpagide $C_{19}H_{28}O_{12}$	4,41 (2)	1	448,1585	387,1291 : $[M-HOCOCH_3]^-$ 327,1066 : $[M-2HOCOCH_3]^-$ 165,0428 : $[M-2HOCOCH_3-C_6H_{10}O_5]^-$
3.27	Aucubine $C_{15}H_{22}O_9$	4,74 (3)	1	346,1279	345,1207 : $[M-H]^-$ 165,0551 : $[M-C_6H_{12}O_6]^-$
3.2	8-O-Acétylharpagide $C_{17}H_{26}O_{11}$ (RMN)	4,81 (4)	1	406,1482	405,1412 : $[M-H]^-$ 345,1187 : $[M-HOCOCH_3]^-$ 165,0549 : $[M-HOCOCH_3-C_6H_{12}O_6]^-$

Les composés 3.1 et 3.2 ont été isolés et des spectres RMN ont été réalisés afin de connaître l'enchainement et l'agencement des atomes de ces composés. Ils seront détaillés dans le chapitre Caractérisation p°195. Le composé 3.26 n'a pas été isolé, mais son temps de rétention et ses ions fragments ont pu être corrélés avec le standard

analytique du 6,8-O-diacétylharpagide. Le composé 3.27 n'a pas pu être isolé du fait de sa trop faible quantité dans l'extrait et aucune correspondance en base de données n'a pu être trouvée. Néanmoins, l'analyse de ses ions MS/MS a permis de le classer dans la famille des iridoïdes en les comparant à ceux de la littérature.

Le dosage des iridoïdes a ensuite été effectué par HPLC/ELSD grâce à un étalonnage externe, avec leurs témoins respectifs pour les molécules 3.1 et 3.2. Les quantités infimes des molécules 3.2 et 3.3 n'ont pas été dosées. Les résultats sont exprimés dans le Tableau 121 en pourcentage massique dans la matière sèche de l'extrait.

Tableau 121. Liste des iridoïdes dosés dans l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis* (Méthode 1)

ID	Nom	Moyenne [Eq] Extrait (%)	CV (%)	n
3.1	Harpagide	2,7	6	3
3.2	8-O-Acétylharpagide	13,6	3	3

$$\text{Total Iridoïdes Extrait}_{\text{intermédiaire}} = 16,3 \pm 0,1 \%$$

4.1.4.9 Dosage des acides phénoliques

Le même travail a été effectué sur les acides phénoliques. Les extraits apolaire et polaire n'en contenant pas ou en quantité très faible, les recherches dans ces extraits n'ont pas été poursuivies. L'analyse HPLC/DAD/HRMS a par la suite permis d'identifier cinq composés. En plus de leurs fragmentations MS/MS, les spectres UV de chaque composé ont été comparés aux bases de données internes. Par ailleurs, trois de ces composés ont été isolés (chapitre : 4.1.5.5) et caractérisés en RMN (chapitre : 4.1.6.3, 4.1.6.4 et 4.1.6.5). Le chromatogramme HRMS de la Figure 101 ci-dessous est une extraction des ions spécifiques des acides phénoliques dans l'extrait.

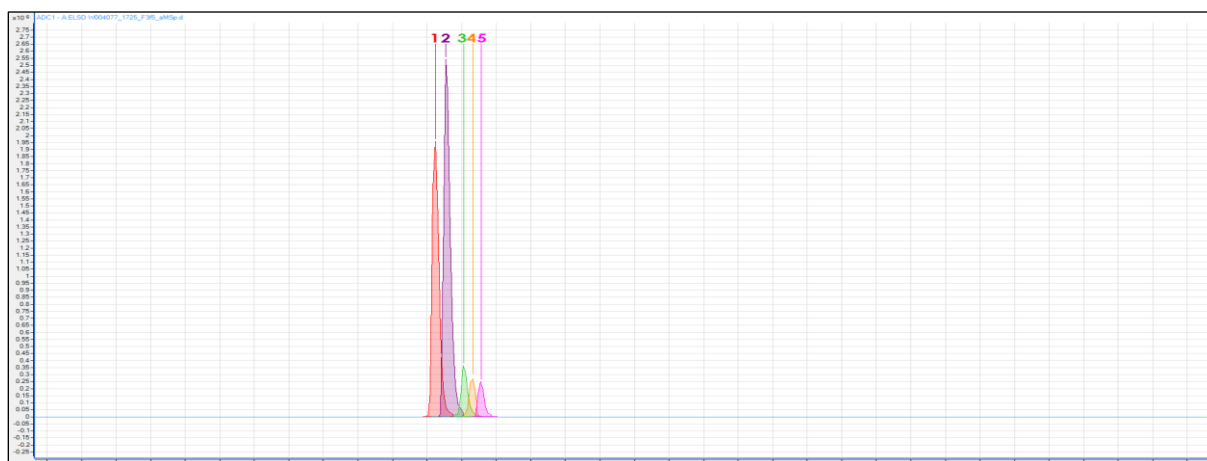


Figure 101. Extraction HRMS des ions spécifiques des acides phénoliques de l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis* (Méthode 1)

Les acides phénoliques identifiés dans l'extrait intermédiaire ont été listés dans le Tableau 122 ci-dessous.

Tableau 122. Liste des acides phénoliques identifiés dans l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis* (Méthode 1)

ID	Nom	Tr (min)	Méthode	Masse molaire (g/mol)	Ions fragment MS/MS (m/z) – (10, 20 et 40 eV)
3.4	Échinacoside $C_{35}H_{46}O_{20}$ (RMN)	5,62 (1)	1	786,2606	785,2565 : [M-H] ⁻ 623,2334 : [M-C ₉ H ₇ O ₃] ⁻ 461,1754 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 315,1143 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ 153,0557 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻
3.5	Verbascoside $C_{29}H_{36}O_{15}$ (RMN)	5,78 (2)	1	624,2051	623,1975 : [M-H] ⁻ 461,1719 : [M-C ₉ H ₇ O ₃] ⁻ 315,1121 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ 153,0559 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻
3.6	$C_{29}H_{36}O_{15}$	6,156 (4)	1	624,2062	623,1989 : [M-H] ⁻ 461,1674 : [M-C ₉ H ₇ O ₃] ⁻ 315,1071 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ 153,0554 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻
3.7	Teupolioside $C_{35}H_{46}O_{20}$ (RMN)	6,035 (3)	1	786,2597	785,2525 : [M-H] ⁻ 623,2162 : [M-C ₉ H ₇ O ₃] ⁻ 461,1612 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 315,1131 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ 153,0566 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₂ O ₆] ⁻
3.8	$C_{29}H_{36}O_{15}$	6,281 (5)	1	624,2035	623,1961 : [M-H] ⁻ 461,1516 : [M-C ₉ H ₇ O ₃] ⁻ 315,1045 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ 153,0535 : [M-C ₉ H ₇ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻

Le dosage des acides phénoliques a ensuite été effectué par HPLC/DAD grâce à un étalonnage externe par équivalence avec le verbascoside, un des composés le plus proche structuralement. Les résultats sont exprimés en pourcentage massique dans la matière sèche de l'extrait.

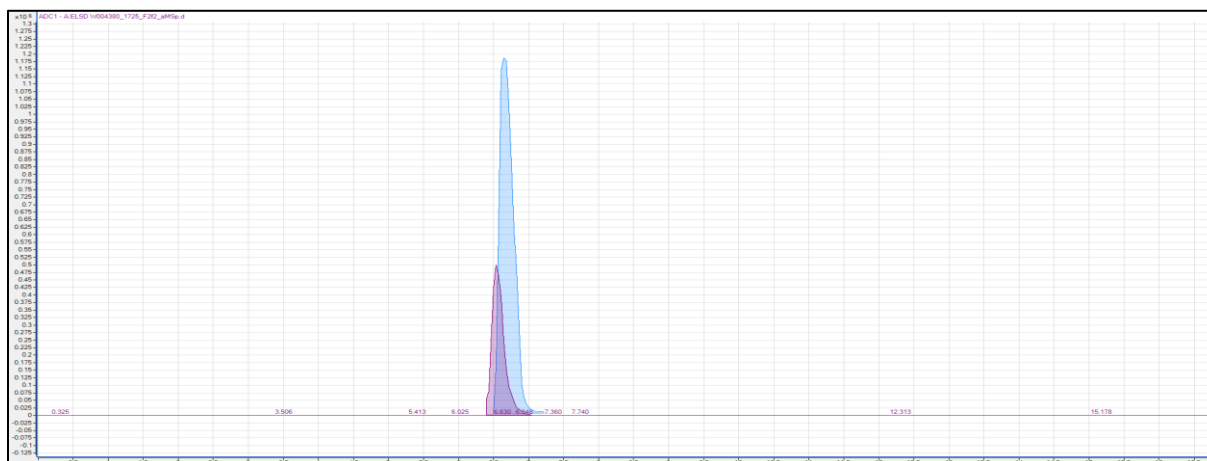
Tableau 123. Liste des acides phénoliques dosés dans l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis* (Méthode 1)

ID	Nom	Moyenne [Eq] Extrait (%)	CV (%)	n
3.4	Échinacoside	4,2	2	3
3.5	Verbascoside	6,3	2	3
3.7	Teupolioside	0,7	3	3
3.6 + 3.8	Dérivés Ac. caféique	1,0	4	3

Total d'acides phénoliques Extrait intermédiaire = $12,3 \pm 0,11$ %

4.1.4.10 Caractérisation des dérivés terpéniques

Plusieurs terpènes ont été identifiées dans l'extrait intermédiaire à la suite des différents fractionnements réalisés. L'analyse HPLC/DAD/HRMS des fractions a permis d'identifier deux composés. Grâce à leur fragmentation MS/MS, il a été possible de déterminer leur formule brute. Le chromatogramme HRMS de la Figure 102 ci-dessous est une extraction des ions spécifiques des dérivés terpéniques identifiés dans l'extrait.

Figure 102. Extraction HRMS des ions spécifiques des dérivés terpéniques de l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis* (Méthode 1)

Les dérivés terpéniques identifiés dans l'extrait intermédiaire ont été listés dans le Tableau 124 ci-dessous.

Tableau 124. Liste des dérivés terpéniques identifiés dans l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis* (Méthode 1)

ID	Nom	Tr (min)	Méthode	Masse molaire (g/mol)	Ions fragment MS/MS (m/z) – (10, 20 et 40 eV)
3.9	C ₂₈ H ₄₂ O ₈	6,64 (1)	1	506,2870	507,2940 : [M+H] ⁺ ; 488,2783 ; 303,1927 ; 175,1109 ; 91,0549
3.10	C ₂₉ H ₄₄ O ₉	6,66 (2)	1	536,2986	537,3045 : [M+H] ⁺ ; 401,2310 ; 301,1700 ; 281,1515 ; 175,1171 ; 109,0663

L'analyse structurale des composés 3.9 et 3.10 a permis de faire une hypothèse sur la famille chimique des composés. Les ions fragment du composé 3.9 correspondent à un diterpène de clérodane, l'ajugapyrine A, déjà identifiée dans un extrait d'*A. pyramidalis*.^[88] La formule brute du composé 3.10 et ses ions fragments ont également été comparés à la littérature permettant de supposer un autre diterpène de clérodane. Ceux-ci n'ont malheureusement pas été dosés dans l'extrait.

4.1.4.11 Conclusion

Afin de pouvoir rassembler toutes ces quantifications et ces dosages en masse, il est nécessaire de les rapporter à la quantité totale extraite lors des différentes extractions. Pour cela, le pourcentage de chaque extrait a été calculé, il est exprimé en pourcentage de la matière sèche.

Extrait _{apolaire} = 7,8 %

Extrait _{intermédiaire} = 28,1 %

Extrait _{polaire} = 64,2 %

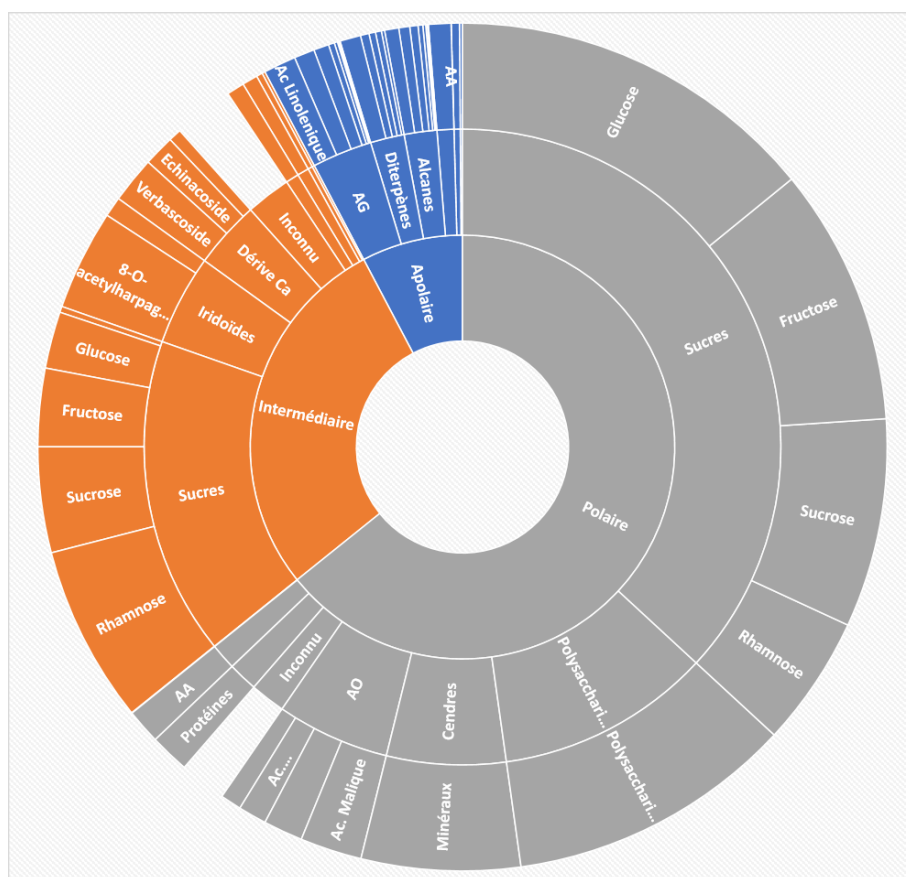


Figure 103. Graphique de composition des composés extraits dans *A. pyramidalis*.

Les dosages et quantifications réalisés sont rassemblés dans la Figure 103 de ci-dessus. L'extrait apolaire a été caractérisé à 98 % dont 93 % en FID, il est composé majoritairement d'acides gras, d'alcanes, de dérivés stigmasterol de minéraux et de saccharides. L'extrait intermédiaire a été caractérisé à 92 %, il est composé

majoritairement de mono et disaccharides, d'iridoïdes et d'acides phénoliques. Enfin, l'extrait polaire a été caractérisé à 80 %, il est composé majoritairement de mono et disaccharides, de minéraux et d'acides organiques. En comptant les acides aminés essentiels identifiés dans les extraits, un total de 64 molécules a été identifié dans la plante dont 5 qui ont été isolées.

La grande partie des molécules inconnues extraites se trouve dans l'extrait polaire. La présence de macromolécules de type polysaccharide a été mise en évidence et une quantification préliminaire a été réalisée. Ces molécules pourraient représenter 85 % des inconnus restant dans l'extrait polaire (17% en valeur absolue). Elles ont été rajoutées dans le graphique, cependant la méthode reste à être validée pour confirmer le pourcentage exact.

Un pourcentage demeure également non identifié dans la partie intermédiaire, et peut s'expliquer de plusieurs façons. Premièrement parce que plusieurs dérivés terpéniques n'ont pas pu être quantifiés. Deuxièmement, comme pour les iridoïdes présents mais non dosés à l'état de traces, d'autres molécules n'ont été ni identifiées, ni quantifiées, et la somme de celles-ci peut être relativement importante. Enfin, certaines molécules ne sont également pas détectées car encore moins concentrées et donc en dessous du seuil de détection des appareils actuels. Toutefois, en comptant l'hypothèse des polysaccharides, plus de 95 % de la masse extraite de la plante a été quantifiée.

4.1.5 Étude de purification

L'étude de purification a porté essentiellement sur l'extrait intermédiaire d'*A. pyramidalis*. Celui-ci a été obtenu par la méthode de macération précédemment décrite. Un premier profil chromatographique par HPLC/DAD/ELSD de l'extrait est réalisé afin de faire un suivi des différents fractionnements et purifications (Figure 104).

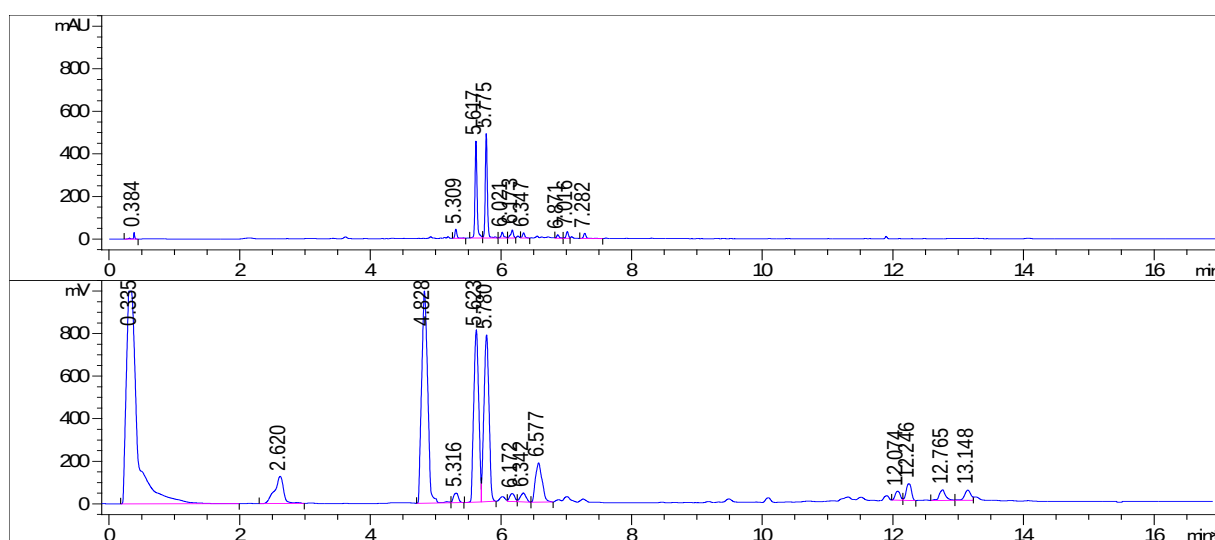


Figure 104. Chromatogrammes de l'extrait intermédiaire par macération d'*A. pyramidalis* (HPLC/DAD/ELSD, Méthode 1)

4.1.5.1 Fractionnement F1

L'extrait brut a dans un premier temps été fractionné par chromatographie colonne (FC.¹) sur de silice (Si60, 30 g, 15-40 µm, 43 mL). L'essai de purification a été réalisé après transposition d'un essai établi en chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC.²). Un total de quatre solvants de polarité croissante a été utilisé. Un code de fractionnement a été appliqué à chaque purification, FX pour le numéro de l'expérience et fX pour le numéro de la fraction, ici, l'expérience F1 permet l'obtention de sept fractions numérotées, F1f1, F1f2, etc. Dans un premier temps, un lavage à l'heptane suivi d'un lavage à l'acétate d'éthyle ont permis de dégraisser entièrement l'extrait. Un gradient est ensuite réalisé avec de l'acétate d'éthyle et du méthanol. En fin de purification, de l'eau est rajoutée pour désorber entièrement la colonne. Les quantités précisées sur la Figure 105 correspondent aux masses obtenues après évaporation du solvant.

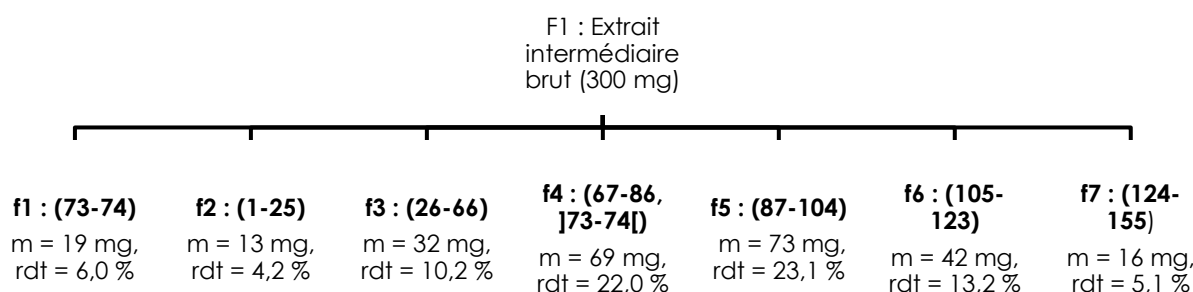


Figure 105. Graphique de fractionnement de l'extrait 1725_EX2int_F1

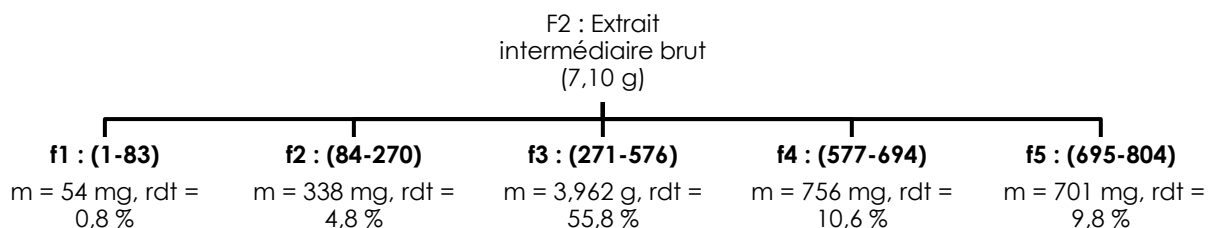
Les sept fractions ont été analysées avec la même méthode chromatographique que l'extrait brut. Ce premier fractionnement a abouti à l'isolement d'un iridoïde (3.2) dans la fraction F1f1. Les autres fractions ont permis de rassembler les composés par famille chimique ou par polarité. Finalement, ce premier fractionnement a permis de tester et valider la méthode pour l'appliquer sur une nouvelle expérience avec des quantités plus importantes (fractionnement F2).

4.1.5.2 Fractionnement F2

Comme expliqué précédemment, l'expérience 1 a été renouvelée sur une colonne plus grande (Si60, 300 g, 15-40 µm, 435 mL) permettant de fractionner une quantité plus importante de l'extrait intermédiaire brut. Le second fractionnement a été utilisé pour récupérer de la matière et effectuer de nouvelles purifications sur les fractions. Les quantités précisées sur la Figure 106 correspondent aux masses obtenues après évaporation du solvant.

¹ FC, Flash Chromatography (Chromatographie sur colonne)

² HPTLC, High-Performance Thin-Layer Chromatography (Chromatographie en couche mince à haute performance)



Ce fractionnement a permis de concentrer les métabolites secondaires dans la fraction f3 comme il est possible de le voir sur la Figure 107.

La suite des purifications a été réalisée sur la fraction F2f3 et seules les purifications intéressantes seront détaillées dans ce chapitre.

La fraction 2 de cette expérience rassemble toutes les molécules polaires, et ne nous intéresse pas dans ce cas-là. La fraction 5 regroupe les différents iridoïdes de l'extrait, cette fraction a permis la caractérisation de cette famille détaillée dans le chapitre : 4.1.4.8. La fraction 6 contient quant à elle les acides phénoliques de l'extrait, elle a permis l'identification de ceux-ci, détaillée dans le chapitre : 4.1.4.9. Ces deux dernières fractions ont également été utilisées pour l'étude biologique sur les fractionnements dans la suite de ce chapitre. Enfin, deux molécules ont été isolées dans les fractions 1 et 7. Cependant, seul le composé dans la fraction F4f1 a pu être analysé en RMN. Il s'agit de l'iridoïde identifié dans ce manuscrit sous le numéro 3.1.

4.1.5.4 Fractionnement F5

La fraction F2f3 a de nouveau été fractionnée, l'objectif était de purifier le composé 3.2 en quantité plus importante pour la réalisation de l'étude biologique du chapitre : 4.1.8, mais également pour réaliser les essais de cristallisation du chapitre : 4.1.7. Pour ce fractionnement, une colonne Puriflash® (C18, 40 g, 30 µm, 48 mL) a été utilisée avec un gradient (eau/méthanol) et des plateaux isocratiques pour l'élution des composés (0 à 10 min, 100 % eau ; 10,01 à 30 min, 95 % eau ; 30,01 à 50 min, 90 % eau ; 50,01 à 110 min, 80 % eau ; 110,01 à 130 min, 70 % eau). Les quantités précisées sur la Figure 109 correspondent aux masses obtenues après évaporation du solvant dans les fractions.

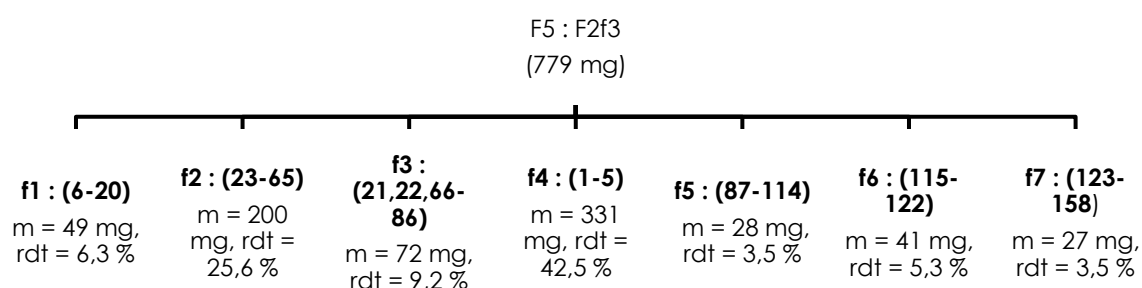


Figure 109. Graphique de fractionnement de l'extrait 1725_EX2int_F2f3_F5

Ce fractionnement a permis de récupérer environ 200 mg du composé 3.2 nécessaire pour les différentes études suivantes dans la fraction F5f2. La fraction F5f6 contenant majoritairement des acides phénoliques, visibles sur la Figure 110 ci-dessous, a été utilisée en chromatographie préparative afin d'en isoler le maximum.

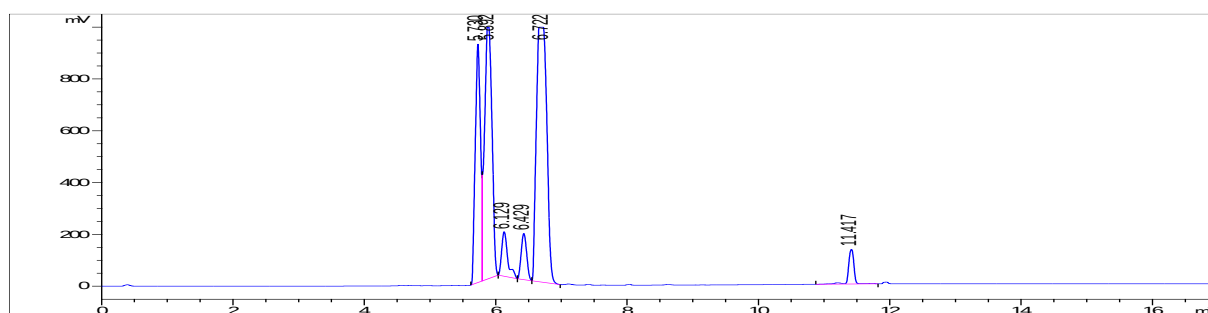


Figure 110. Chromatogrammes de la fraction 1725_EX2int_F2f3_F5f6 (HPLC/ELSD, Méthode 1)

4.1.5.5 Fractionnement P1

La fraction précédemment obtenue F5f6 a donc été utilisée pour réaliser une chromatographie préparative dans le but d'isoler les composés. Pour cela, une colonne X Bridge prep (C18, 19 * 250 mm * 5 µm) a été utilisée. Un gradient a été réalisé au préalable sur HPLC afin de pouvoir transposer rapidement la méthode. L'expérience a permis de purifier trois composés dans les fractions P1f1, P1f2 et P1f3 respectivement numéroté 3.4, 3.5 et 3.7 dans ce manuscrit. Les quantités précisées sur la Figure 111 correspondent aux masses obtenues après évaporation du solvant dans les fractions.

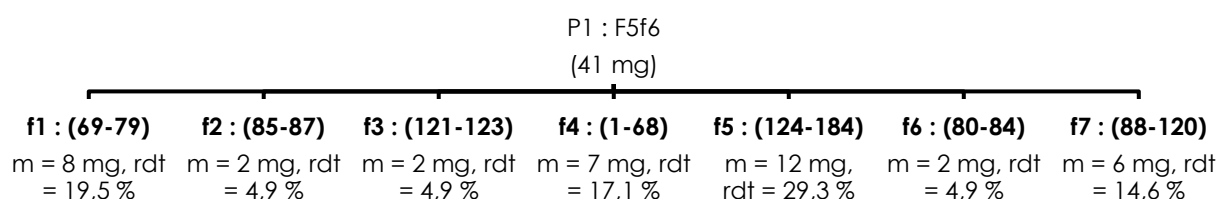


Figure 111. Graphique de fractionnement de l'extrait 1725_EX2int_F2f3_F5f6_P1

4.1.5.6 Conclusion

Diverses techniques de purifications et de séparations ont été utilisées dans cette partie de l'étude. Celles-ci ont permis non seulement de faciliter l'identification des composés pour la quantification, mais aussi de purifier cinq molécules issues de l'extrait intermédiaire de la plante. Par ailleurs, différentes fractions isolées ont été utilisées pour d'autres études (cristallographie et activités biologiques). Les différentes molécules isolées ont ensuite été analysées en HRMS et RMN pour permettre leur identification.

4.1.6 Identification des composés purifiés

4.1.6.1 Identification composé 3.2

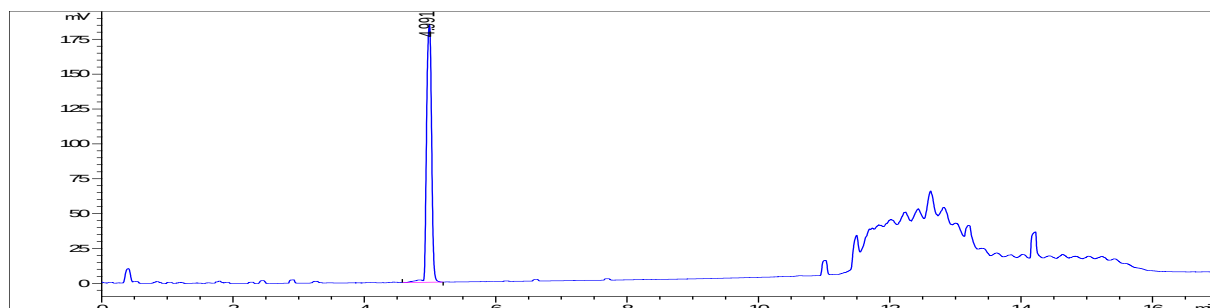


Figure 112. Chromatogrammes de la fraction 1725_EX2int_F1f1 (HPLC/ELSD, Méthode 1)

L'iridoïde isolé dans la fraction F1f1 a été identifié par RMN. Les spectres ont été réalisés dans le DMSO- d_6 , à 300 K, à l'aide d'un spectromètre 400 MHz. Dans le paragraphe suivant, une caractérisation complète du composé isolé est présentée.

Le composé 3.2 se présente sous la forme d'une poudre amorphe blanc cassé pour lequel l'HRMS (mode négatif) a donné un ion moléculaire $[M-H]^-$ avec un m/z de 405,1412, ce qui correspond à la formule brute $C_{17}H_{26}O_{11}$. La molécule comporte ainsi cinq insaturations. Les ions fragments $[M-HOCOCH_3]^-$ avec un m/z de 345,1187 indiquent quant à eux la présence d'un groupement acétyle et les ions $[M-HOCOCH_3-C_6H_{12}O_6]^-$ avec un m/z de 165,0549 mettent en évidence la présence d'un monosaccharide. Les spectres RMN de ce composé sont disponibles dans le chapitre : 7.4.

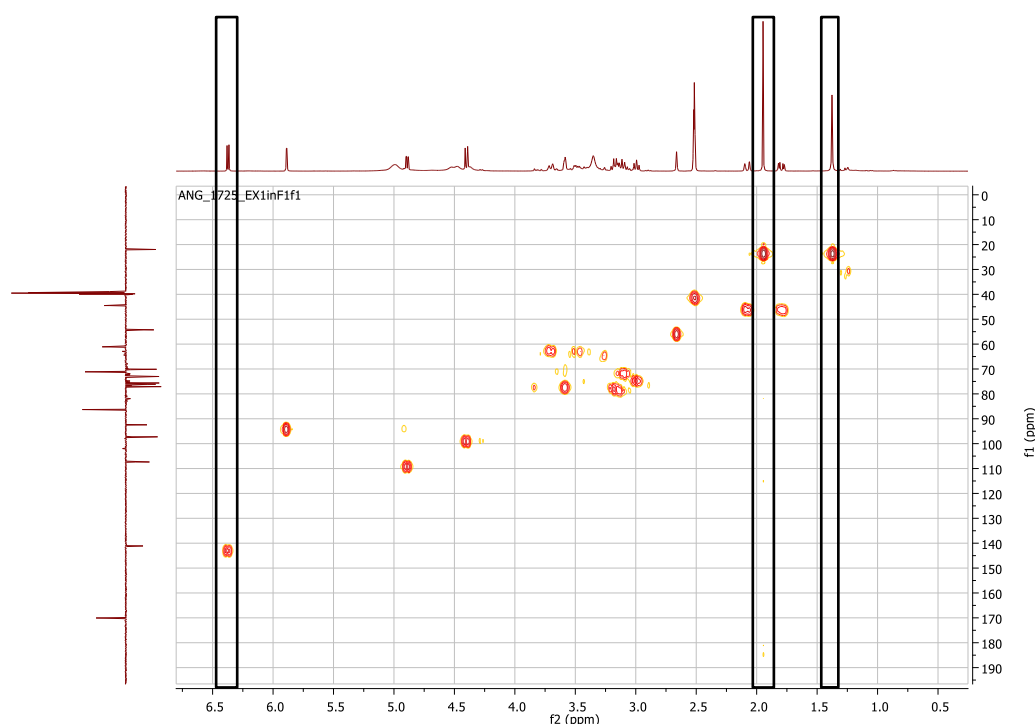


Figure 113. Spectre RMN HSQC du composé 3.2 (DMSO- d_6)

Les spectres RMN 1H et ^{13}C du composé 3.2, accompagnés des spectres à deux dimensions, montrent tout d'abord la présence de deux singulets à δ_H 1,36 et 1,93 ppm respectivement attribués aux δ_C 22,0 ppm (C-10) et 22,0 ppm (C-12) (Figure 113). Par ailleurs, il est possible d'observer un doublet ($^3J_{3-4} = 6,3$ Hz) très déblindé à δ_H 6,37 associé au δ_C 141,1 ppm (C-3) indiquant la présence d'un cycle insaturé.^[103] Celui-ci est lié sur la COSY au groupement observable en δ_H 4,89 ppm, associé au δ_C 107,4 ppm (C-4) (Figure 115). Ce dernier H présente un doublet dédoublé ($^3J_{4-3} = 6,3$ Hz, et $^3J_{4-5} = 1,54$ Hz) lié sur la COSY au groupement observable à δ_H 2,67 ppm et associé au δ_C 54,3 ppm (C-5) (Figure 115). Ils forment alors le début de l'hétérocycle caractéristique des iridoïdes (Figure 114).

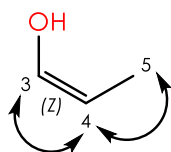


Figure 114. Structure partielle du composé 3.2 (couplage scalaire J en noir)

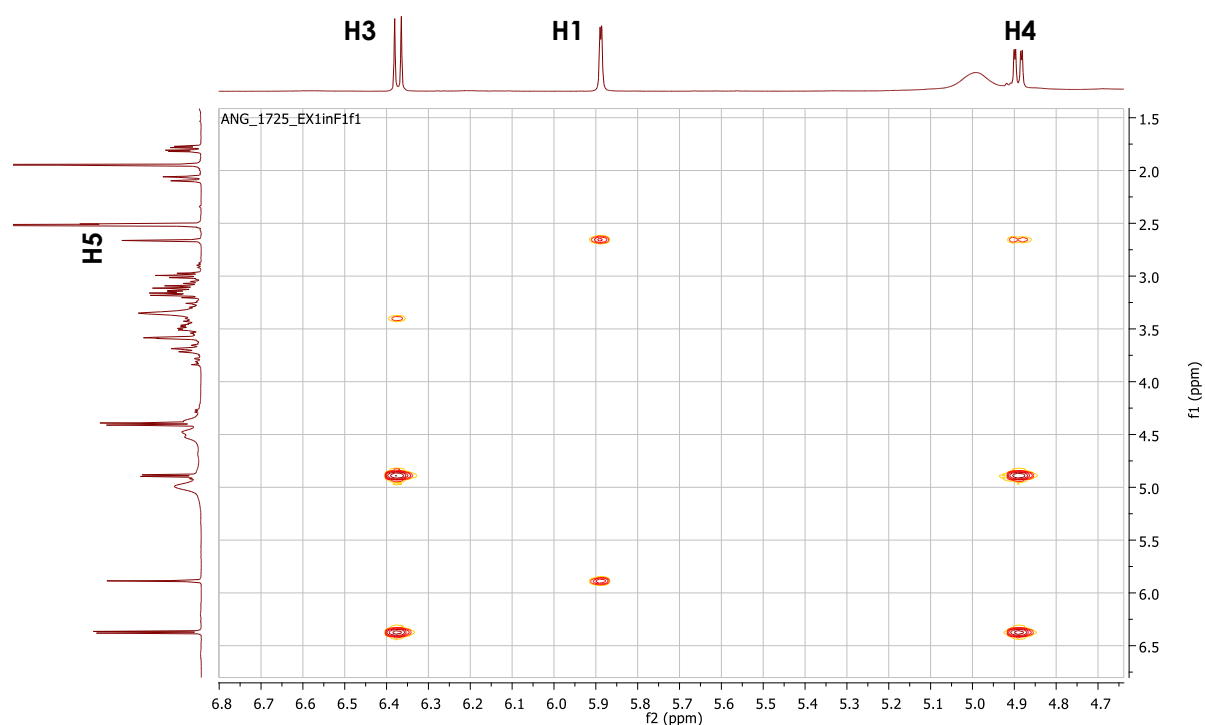


Figure 115. Zoom sur le spectre RMN COSY du composé 3.2 (DMSO- d_6 , f_2 : 4,7-6,8 ppm)

La présence de deux carbones en alpha d'un oxygène, δ_c 97,3 et 92,4 ppm, permet ensuite de positionner les liaisons C-O-C. Le carbone δ_c 97,3 (C-1') ppm porte un H apparaissant sous forme de doublet ($^3J = 7,92$ Hz) à δ_H 4,40 ppm, ce qui laisse supposer qu'il s'agit du carbone en alpha du sucre d'après la littérature.^[104,105] Le second carbone δ_c 92,4 ppm (C-1) porte lui aussi un H sortant sous forme de doublet ($^3J = 1,54$ Hz) à δ_H 5,89 ppm, lié sur la COSY au groupement observable à δ_H 2,67 ppm, associé au carbone C-5 (Figure 115).

Il se pose alors une question, le carbone C-5 est-il directement lié au carbone C-4 ou au carbone C-1 ?

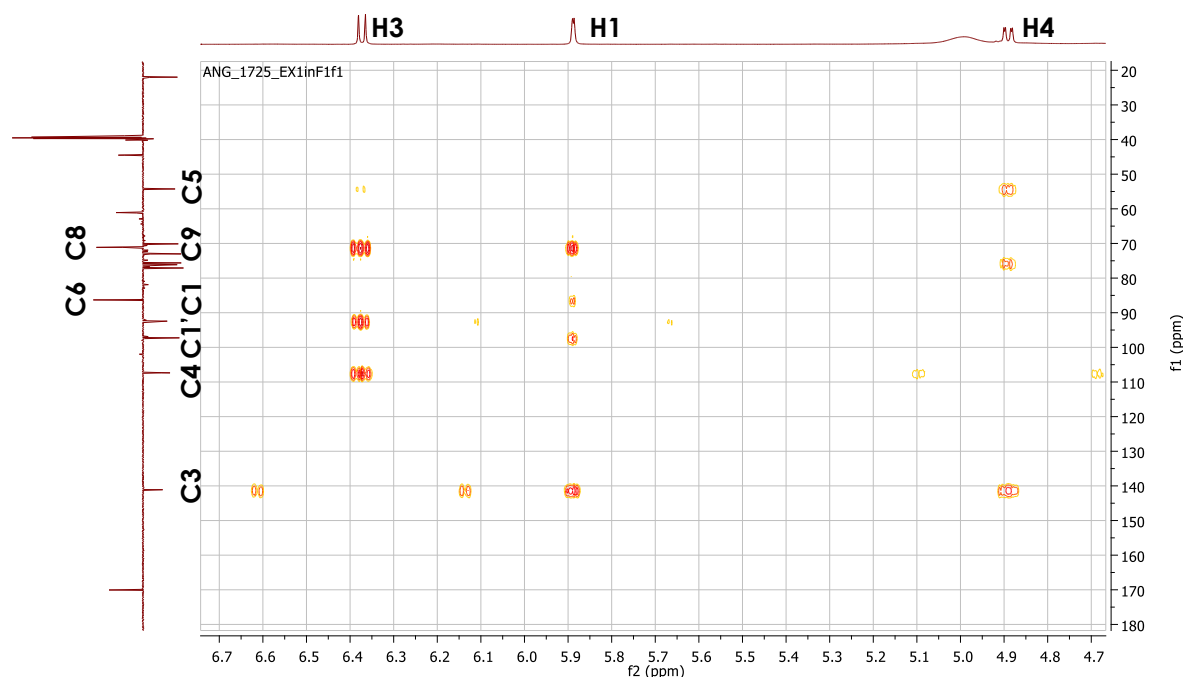


Figure 116. Zoom sur le spectre RMN HMBC du composé 3.2 (DMSO- d_6 , f_2 : 4,7-6,7 ppm)

D'après l'analyse HMBC, des corrélations existent entre H-3 et C-1, C-9 et C-4 (Figure 116). Cette observation permet seulement de confirmer la position des carbones C-1, C-3 et C-4 (Figure 116). L'HMBC permet également d'observer d'autres corrélations entre H-1 et C-9, C-3, C-1' et C-6. La liaison C-O-C avec le sucre est donc confirmée sur le carbone C-1 en plus de sa liaison directe avec le carbone quaternaire C-9 (Figure 116). L'HMBC montre également une corrélation entre H-4 et C-3, C-5 et C-8 (Figure 116). Cette observation confirme le placement du carbone C-5 et permet de fermer l'hétérocycle (Figure 117).

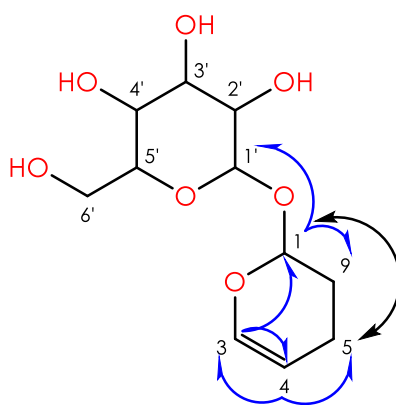


Figure 117. Structure partielle du composé 3.2 (couplage scalaire J en noir et HMBC en bleu)

Cette structure est également confirmée par les constantes de couplages de H-5. En effet, H-5 est un doublet dédoublé ($^3J_{5-4} = 1,54$ Hz, $^4J_{5-1} = 1,54$ Hz). Selon la littérature, un proton en alpha d'une double liaison présente une constante de couplage d'environ 1,5 Hz, et la constante 4J entre deux protons d'un cycle à 6 doit être comprises entre 1 et 2.^[103] Cela correspond donc bien aux constantes de couplages présentées ici. Si

le carbone C-5 avait été placé à côté du C-1, sa constante de couplage $^3J_{5-1}$ aurait probablement dû être comprise entre 2 et 13.^[103]

La littérature décrivant les structures de sucres a été utilisée afin d'élucider rapidement les multiplets du spectre RMN qui ont été rassemblés dans le tableau ci-dessous.^[104,105]

Tableau 125. Tableau des déplacements chimiques du sucre du composé 3.2

δ_c	δ_H (J en Hz)	N°C	N°H
97,26	4,4 ; d (7,92)	1'	1'
77,09	3,15 ; m (8,72 ; 5,82 ; 2,07)	5'	5'
76,14	3,18 ; t (9,07 ; 8,97)	3'	3'
73,02	2,99 ; t (9,07 ; 7,92)	2'	2'
70,12	3,11 ; t (8,97 ; 8,72)	4'	4'
61,09	3,7 ; dd (11,63 ; 2,07)	6'	6'b
61,09	3,4 ; dd (11,63 ; 5,82)	6'	6'a

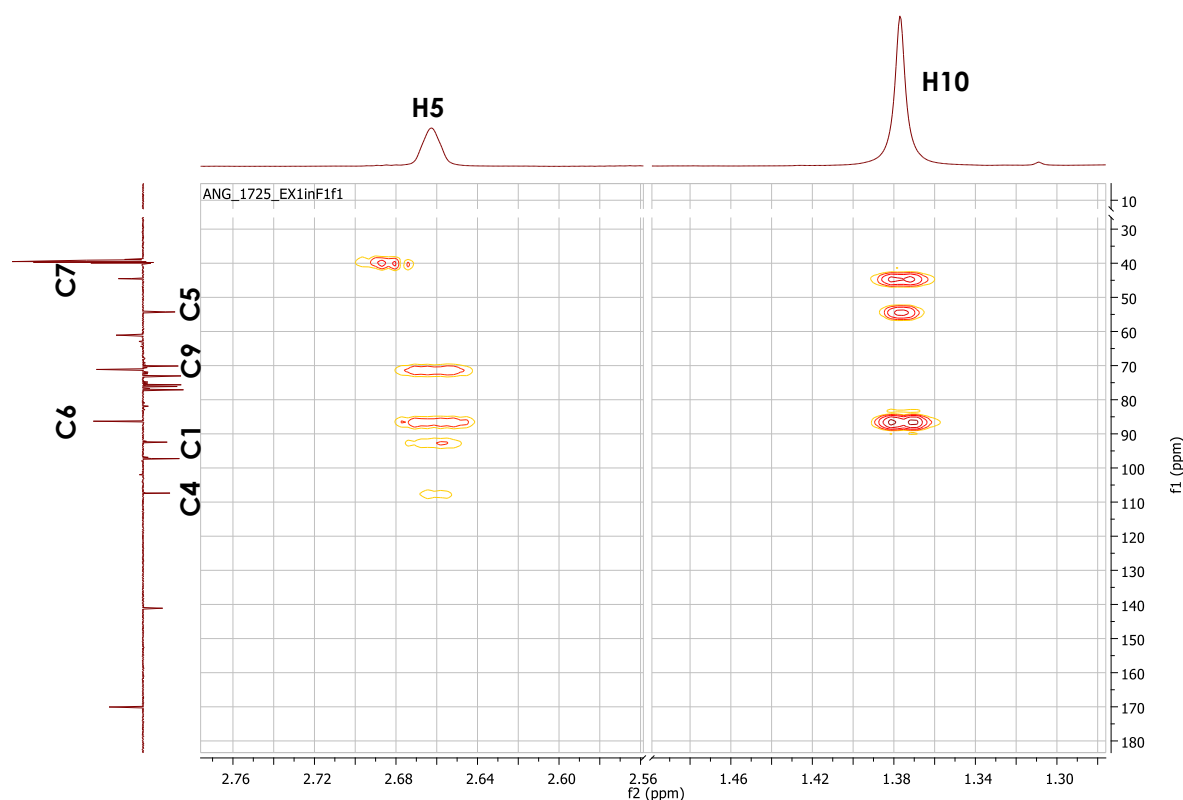


Figure 118. Zoom sur deux zones du spectre RMN HMBC du composé 3.2 (DMSO- d_6 , f_2 : 1,30-1,46 ppm et f_1 : 2,56-2,76 ppm)

Aucun autre couplage impliquant le C-5 n'est visible sur la COSY, il est donc probablement relié à un autre carbone quaternaire. Cette supposition est confirmée par l'HMBC, où il est possible d'observer des corrélations entre H-5 et C-9, C-6, C-4 et C-1 (Figure 118). Le C-5 est donc directement lié au carbone C-6, δ_c 86,3 ppm. Le déplacement chimique de celui-ci est déblindé ce qui laisse supposer la présence de la liaison C-O-Acétyle, il peut être également relié au singulet, δ_c 22,0 (C-10) et δ_H 1,38 ppm. Cette supposition est confirmée par le spectre HMBC sur lequel il est possible d'observer des corrélations entre H-10 et C-6, C-5 et C-7 (δ_c 44,5, δ_{Ha} 1,8 et δ_{Hb} 2,08

ppm) (Figure 106). Cela valide les placements de C-6, C-10 et C-7, un carbone secondaire. L'HMBC 4J de H-12 permet d'observer des corrélations avec les C-11 et C-6 : ceci confirme ainsi la position de l'acétyle et donc de la structure finale (Figure 119).

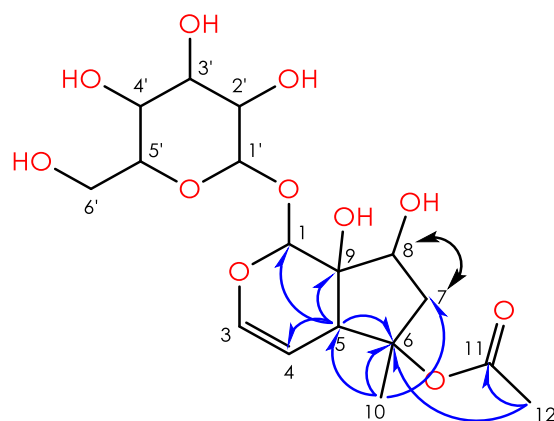


Figure 119. Structure du composé 3.2 (couplage scalaire J en noir et HMBC en bleu)

Dans la littérature, plusieurs iridoïdes ont été identifiés dans la famille de plantes *Ajuga*,^[88,106–111] néanmoins aucun d'eux n'est dérivé ou ne ressemble à la molécule 3.2. On pourrait alors se demander s'il s'agit d'un nouveau composé jamais décrit jusqu'à présent. Cependant, une molécule relativement proche du composé 3.2 est le 8-O-acétylharpagide. L'étalon analytique a donc été acheté pour comparer les deux composés. Des analyses HPLC-HRMS/MS et RMN ont été réalisées sur l'étalon et après analyse des données, il s'avère que les deux composés sont identiques. L'ensemble des données RMN des composés commercial et isolé sont disponibles dans les chapitres : 7.2 et 7.4.

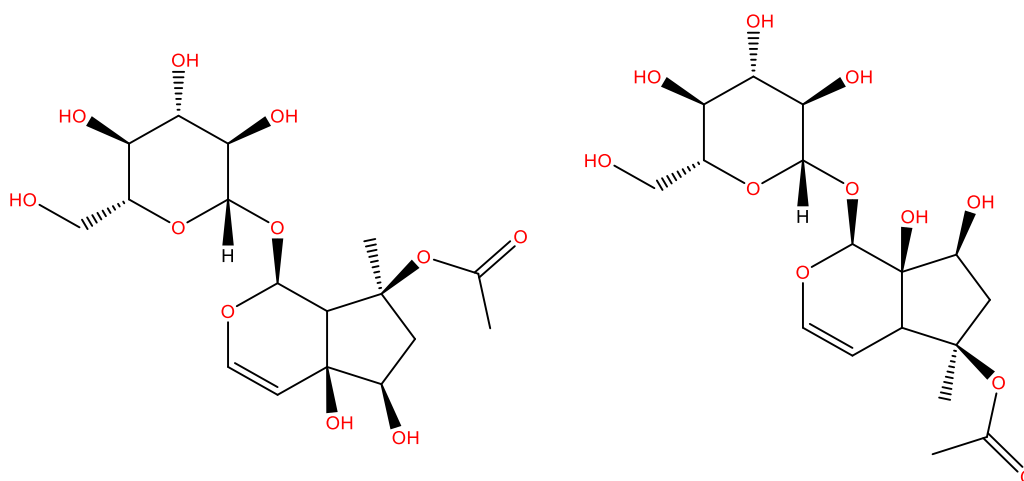


Figure 120. Structures du 8-O-acétylharpagide de la littérature (gauche) et l'hypothèse d'après la RMN (droite)

Une nouvelle question se pose alors : laquelle des deux structures est la bonne ? Pour cela, des recherches bibliographiques ont été effectuées sur la famille d'iridoïdes et de nombreuses publications ont été trouvées. Les publications les plus récentes s'appuient sur les identifications déjà réalisées dans la littérature précédente, et à ce jour aucune ne réfute les résultats déjà décrits. Elles font toutes référence à trois publications des années 60 décrivant pour la première fois des iridoïdes.^[112-114]

Ces publications datent de 1964 et 1965 et sont documentées de seulement quelques déplacements chimiques du proton. Néanmoins, plusieurs hypothèses par voie de biosynthèses cohérentes avec la structure de gauche de la Figure 120 ont été émises.^[63,114]

À ce jour, aucune étude cristallographique sur les iridoïdes n'a été réalisée pour confirmer la structure chimique de ces composés. Dans cet objectif, mes travaux de recherche se sont portés sur la cristallisation de la substance isolée. Ces travaux seront détaillés dans le chapitre : 4.1.7 de ce manuscrit.

4.1.6.2 Identification composé 3.1

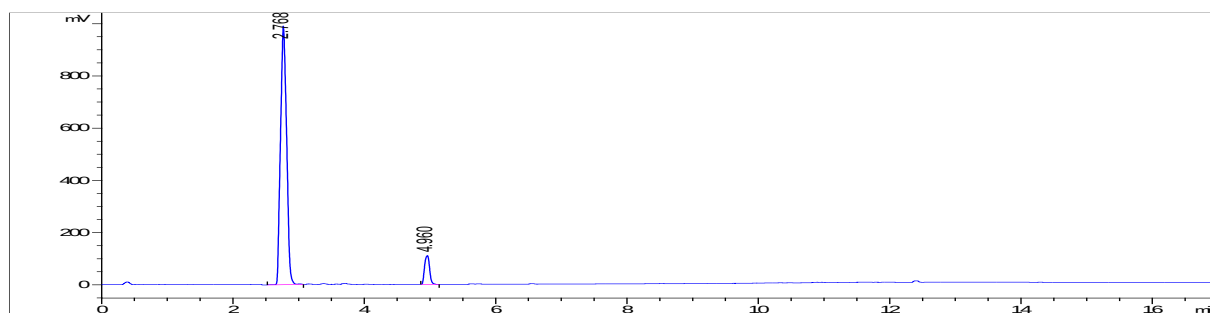


Figure 121. Chromatogrammes de la fraction 1725_EX2int_F2f3_F4f1 (HPLC/ELSD, Méthode 1)

L'iridoïde isolé dans la fraction F4f1 a été identifié par RMN. Les spectres ont été réalisés dans le CD₃OD, à 300 K, à l'aide d'un spectromètre 400 MHz.

Le composé 3.1 se présente sous la forme d'une poudre amorphe blanc cassé pour lequel l'HRMS (mode négatif) a donné un ion moléculaire $[M-H]^-$ avec un m/z de 363,1300, ce qui correspond à la formule brute C₁₅H₂₄O₁₀. La molécule comporte ainsi quatre insaturations. Les ions fragments $[M-C_6H_{10}O_5]^-$ avec un m/z de 201,0759 indiquent la présence d'un monosaccharide, et les ions $[M-C_6H_{12}O_5-2H_2O]^-$ avec un m/z de 165,0549 mettent en évidence la présence de deux groupements hydroxy.

Les spectres RMN de ce composé sont disponibles dans le chapitre : 7.3. L'analyse RMN n'a pas été détaillée dans ce manuscrit, mais l'étude minutieuse des spectres a permis de définir la même structure d'aglycone que le composé 3.2, toutes les deux a priori différentes de la littérature.

4.1.6.3 Identification composé 3.4

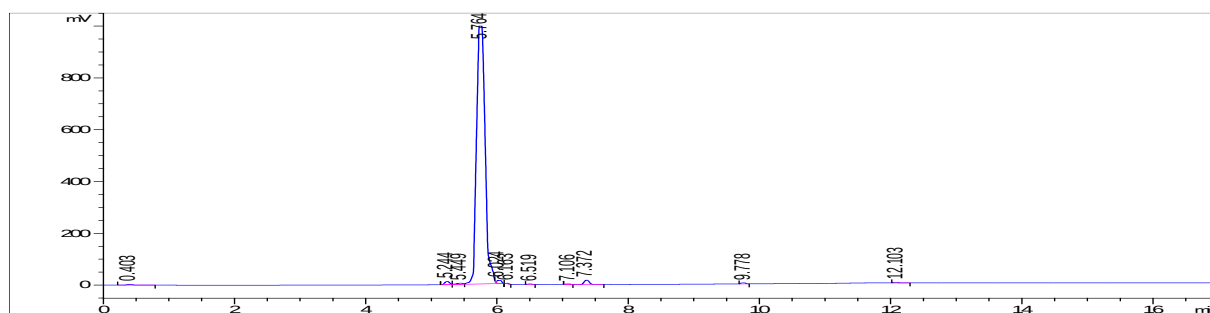


Figure 122. Chromatogrammes de la fraction 1725_EX2int_F2f3_P1f15 (HPLC/ELSD, Méthode 1)

L'acide phénolique isolé dans la fraction P1f1 a été identifié par RMN. Les spectres ont été réalisés dans le CD_3OD , à 300 K, à l'aide d'un spectromètre 500 MHz.

Le composé 3.4 se présente sous la forme d'une poudre amorphe blanc cassé pour lequel l'HRMS (mode négatif) a donné un ion moléculaire $[\text{M}-\text{H}]^-$ avec un m/z de 785,2565 ce qui correspond à la formule brute $\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{20}$. La molécule comporte ainsi 13 insaturations. Les ions fragments $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3]^-$ avec un m/z de 623,2334 indiquent la présence d'un groupement acide caféique et les ions $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ avec un m/z de 461,1754 mettent en évidence la présence d'un monosaccharide. Enfin, les ions $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$ avec un m/z de 315,1143 et les ions $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ avec un m/z de 153,0557 mettent en évidence la présence de deux autres monosaccharides.

L'analyse RMN n'a pas été détaillée dans ce manuscrit, mais les spectres RMN de ce composé sont disponibles dans le chapitre : 7.5 et permettent d'identifier le composé 3.4 comme étant l'échinacoside (Figure 123).

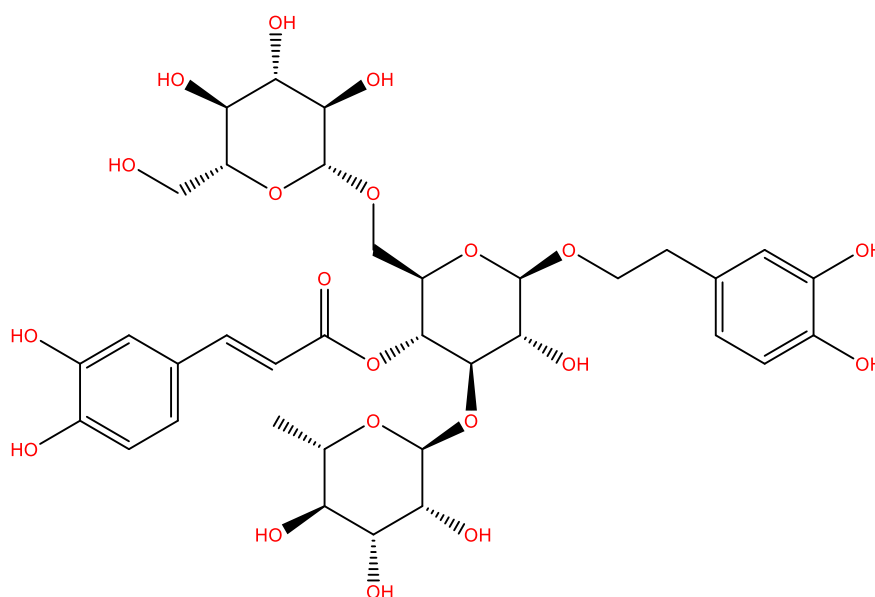


Figure 123. Structure de l'échinacoside

4.1.6.4 Identification composé 3.5

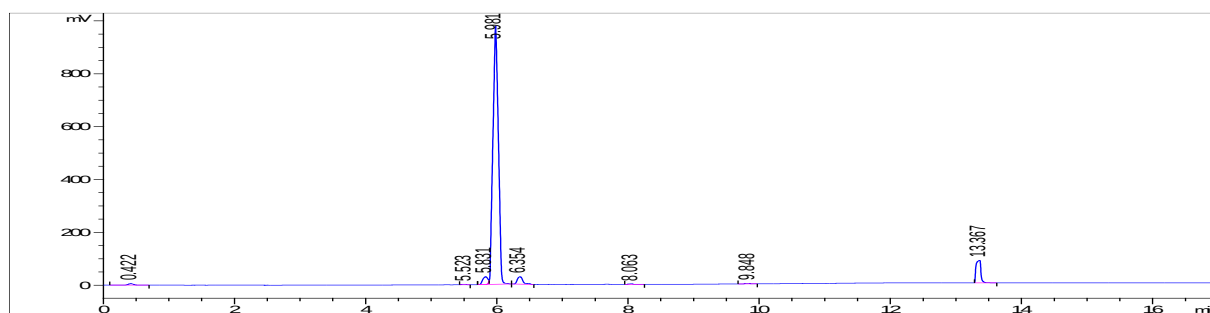


Figure 124. Chromatogrammes de la fraction 1725_EX2int_F2f3_P1f85-87 (HPLC/ELSD, Méthode 1)

L'acide phénolique isolé dans la fraction P1f2 a été identifié par RMN. Les spectres ont été réalisés dans le CD_3OD , à 300 K, à l'aide d'un spectromètre 500 MHz.

Le composé 3.5 se présente sous la forme d'une poudre amorphe blanc cassé pour lequel l'HRMS (mode négatif) a donné un ion moléculaire $[\text{M}-\text{H}]^-$ avec un m/z de 623,1975 ce qui correspond à la formule brute $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$. La molécule comporte ainsi 12 insaturations. Les ions fragments $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3]^-$ avec un m/z de 461,1719 indiquent la présence d'un groupement acide caféique. Les ions $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$ avec un m/z de 315,1121 et $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ avec un m/z de 153,0559 mettent en évidence la présence de deux monosaccharides.

L'analyse RMN n'a pas été détaillée dans ce manuscrit, mais les spectres RMN de ce composé sont disponibles dans le chapitre : 7.6 et permettent d'identifier le composé 3.5 comme étant le verbascoside (Figure 125).

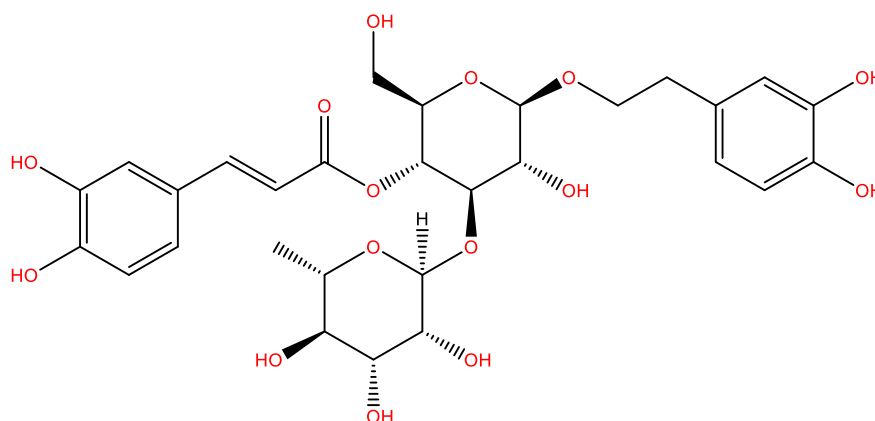


Figure 125. Structure du verbascoside

4.1.6.5 Identification composé 3.7

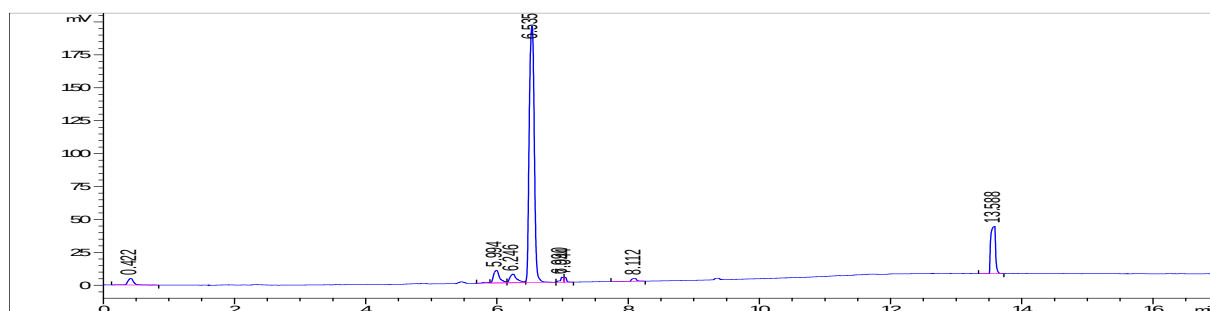


Figure 126. Chromatogrammes de la fraction 1725_EX2int_F2f3_P1f121-123 (HPLC/ELSD, Méthode 1)

L'acide phénolique isolé dans la fraction P1f3 a été identifié par RMN. Les spectres ont été réalisés dans CD₃OD, à 300 K, à l'aide d'un spectromètre 500 MHz.

Le composé 3.7 se présente sous la forme d'une poudre amorphe blanc cassé pour lequel l'HRMS (mode négatif) a donné un ion moléculaire $[M-H]^-$ avec un m/z de 785,2525 ce qui correspond à la formule brute C₃₅H₄₆O₂₀. La molécule comporte ainsi 13 insaturations. Les ions fragments $[M-C_9H_7O_3]^-$ avec un m/z de 623,2162 indiquent la présence d'un groupement acide caféique et les ions $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5]^-$ avec un m/z de 461,1612 mettent en évidence la présence d'un monosaccharide. Enfin, les ions $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4]^-$ avec un m/z de 315,1131 et $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4-C_6H_{10}O_5]^-$ avec un m/z de 153,0566 mettent en évidence la présence de deux autres monosaccharides.

L'analyse RMN n'a pas été détaillée dans ce manuscrit, mais les spectres RMN de ce composé sont disponibles dans le chapitre : 7.7 et permettent d'identifier le composé 3.7 comme étant le teupolioside (Figure 127).

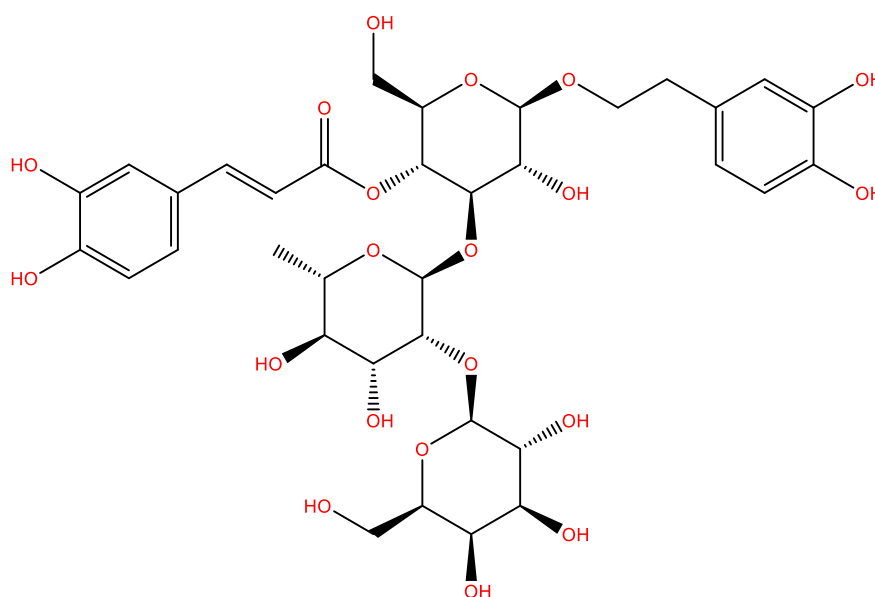


Figure 127. Structure du teupolioside

4.1.6.6 Conclusion

Cinq molécules ont été analysées en RMN et HRMS. Trois acides phénoliques ont été identifiés, l'échinacoside (3.4), le verbascoside (3.5) et le teupolioside (3.7). L'identification des iridoïdes a permis d'identifier le 8-O-acétylharpagide (3.2) ainsi que l'harpagide (3.1).

4.1.7 Étude de cristallographie

4.1.7.1 Expérimentation

Les études de cristallisation ont été menées sur le composé 3.2 (8-O-acétylharpagide). Le composé étant très soluble dans le méthanol, la première expérience de cristallisation a permis de réaliser des cristaux, visibles sur la Figure 128 ci-dessous, en trempant un fil dans la solution méthanolique du composé.

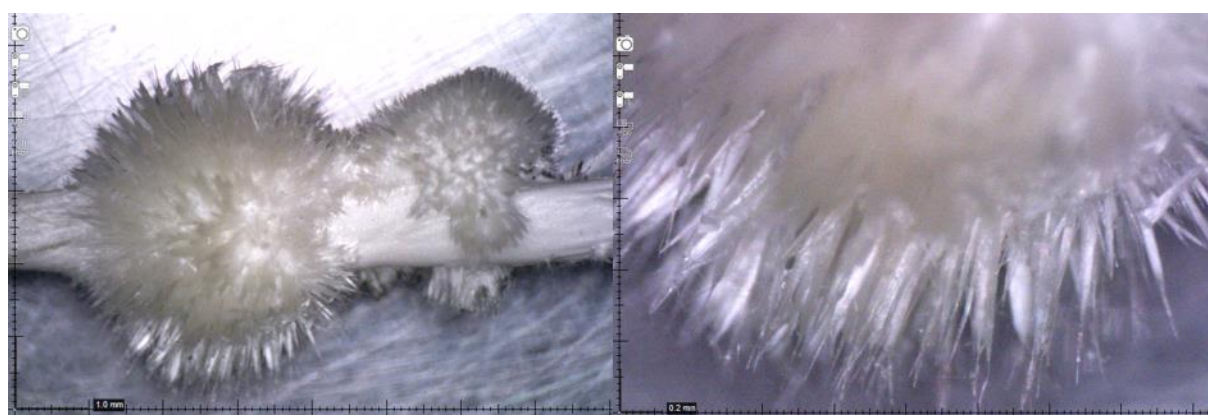


Figure 128. Photos des cristaux et zoom sur les aiguilles réalisées sur fil

Malheureusement ces cristaux, et surtout les aiguilles, étaient trop fines pour être analysables au plateau de Rayons X de l'Institut de Chimie Moléculaire de Grenoble (ICMG¹). En conséquence, le fil portant les cristaux a été plongé plusieurs fois dans de nouvelles solutions méthanoliques du composé afin de faire croître les aiguilles. Comme il est possible de le voir sur la Figure 129 ci-dessous, l'épaisseur des aiguilles a considérablement été augmentée.

¹ Bruker AXS- Enraf- Nonius kappa CCD et Bruker AXS-Incoatec-Enraf-Nonius kappa APEX II

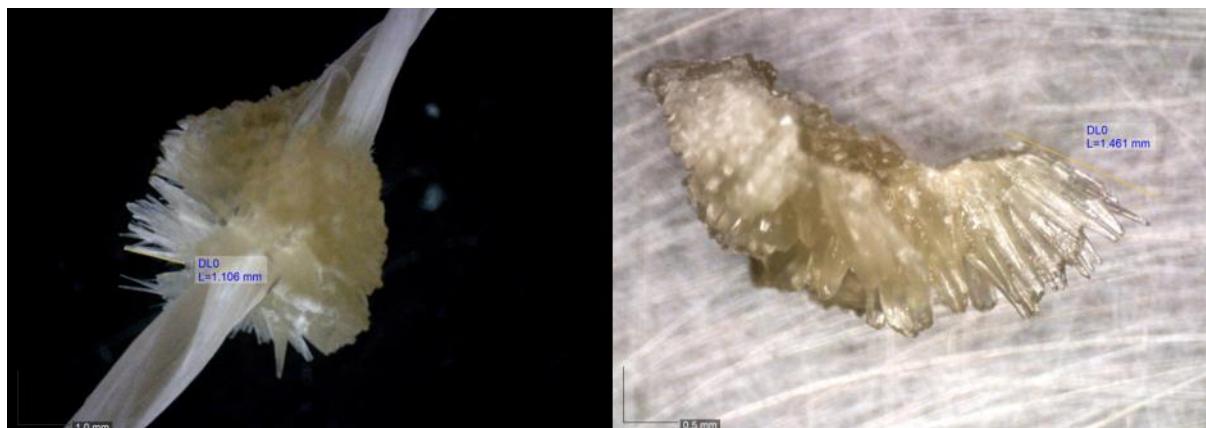


Figure 129. Photos des cristaux et zoom sur les aiguilles réalisées sur fil – 2ème tentative

Ces nouveaux cristaux ont été étudiés au microscope à rayons X à Grenoble, cependant, leur maille cristalline n'était pas pure, mais maclée. De ce fait, les résultats n'étaient pas exploitables. Deux solutions ont alors été envisagées : changer de méthode de cristallisation, ou utiliser un appareil à rayons X plus puissant.

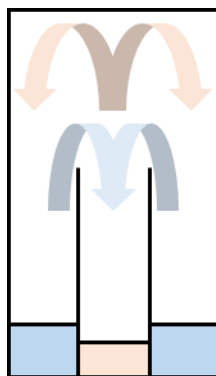


Figure 130. Illustration de cristallisation par échange de solvants

La première proposition consiste à tenter de cristalliser l'échantillon par une méthode d'échange de solvants. Le composé est dissout dans un solvant fort et volatil dans un pilulier qui est lui-même placé dans un second récipient contenant un solvant faible et moins volatil que le premier (Figure 130). Cette disposition va permettre l'échange et la diffusion des deux solvants, le solvant interne va petit à petit être remplacé par le solvant externe dans lequel le composé sera moins soluble et cristallisera lentement. De nombreux mélanges de solvants ont été testés pour améliorer les liaisons hydrogènes afin de favoriser la cristallisation (Tableau 126).

Tableau 126. Liste des mélanges étudiés

Solvant interne	Solvant externe
Toluène	EtOH
CH ₂ Cl ₂	EtOH
MeOH	EtOH
MeOH	H ₂ O
MeOH	AcOEt
MeOH	Heptane
ACN	EtOH
ACN	Heptane
EtOH	AcOEt
EtOH	MtBe
EtOH	Heptane
EtOH	H ₂ O

L'éthanol est à la fois utilisé comme solvant fort et solvant faible, car le produit est très faiblement soluble dedans. De nouveaux cristaux ont été réalisés grâce à cette méthode (Figure 131), avec les mélanges encadrés en vert dans le Tableau 126.

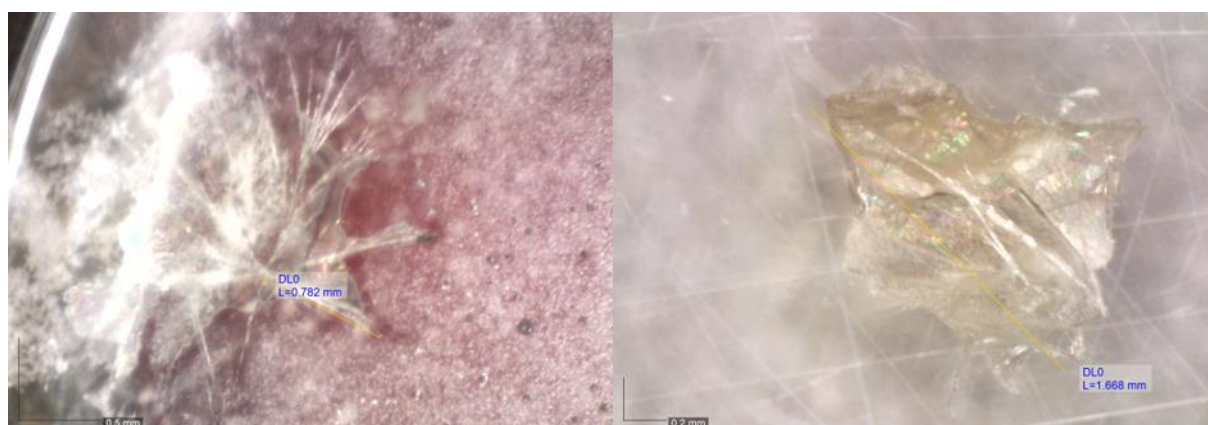


Figure 131. Photos des cristaux réalisés par échange de solvants

La deuxième option était d'analyser les cristaux par rayonnement synchrotron. Les différents cristaux réalisés jusqu'alors ont été testés au « Elettra Sincrotrone » de Trieste. Même si les premiers cristaux étaient maclés, il était théoriquement possible de séparer une fraction de cristal non maclée, la puissance des rayons permettant de travailler sur de plus petits échantillons. Cependant, aucune des expériences réalisées n'a permis de déterminer une structure pour ce composé.

La totalité des tests de cristallisation n'ayant pas donné de résultat concluant, il a été décidé de réaliser une dérivation d'un iridoïde afin de faciliter la formation de mailles cristallines pures. Ne possédant que très peu du composé 3.2, la synthèse a été réalisée sur de l'harpagoside commercial (Figure 132).

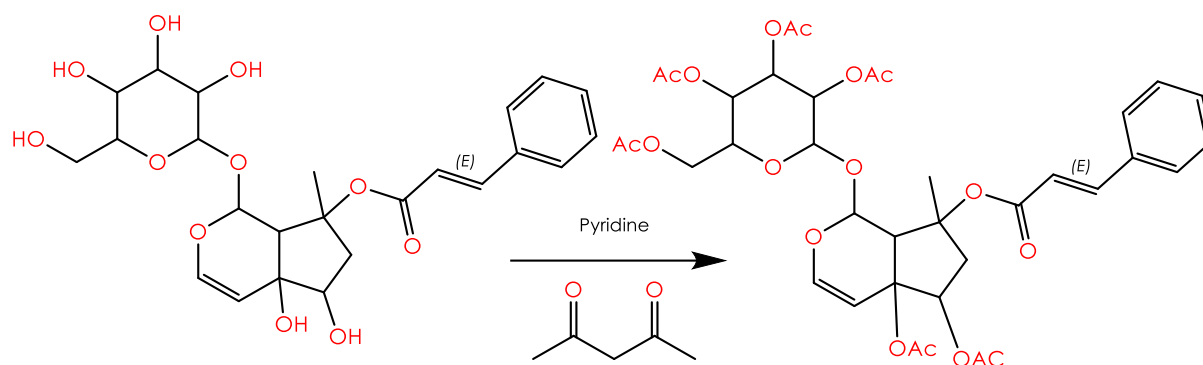


Figure 132. Réaction de peracétylation sur l'harpagoside

A une solution d'harpagoside dans la pyridine, sont ajoutés lentement, à température ambiante, huit équivalents d'anhydride acétique. Après 24 h, la réaction n'étant pas terminée (Figure 133), le milieu réactionnel a alors été chauffé à 70 °C pendant 4 h. La réaction n'étant toujours pas terminée, elle a été laissée sous agitation à température ambiante pendant 168 h.

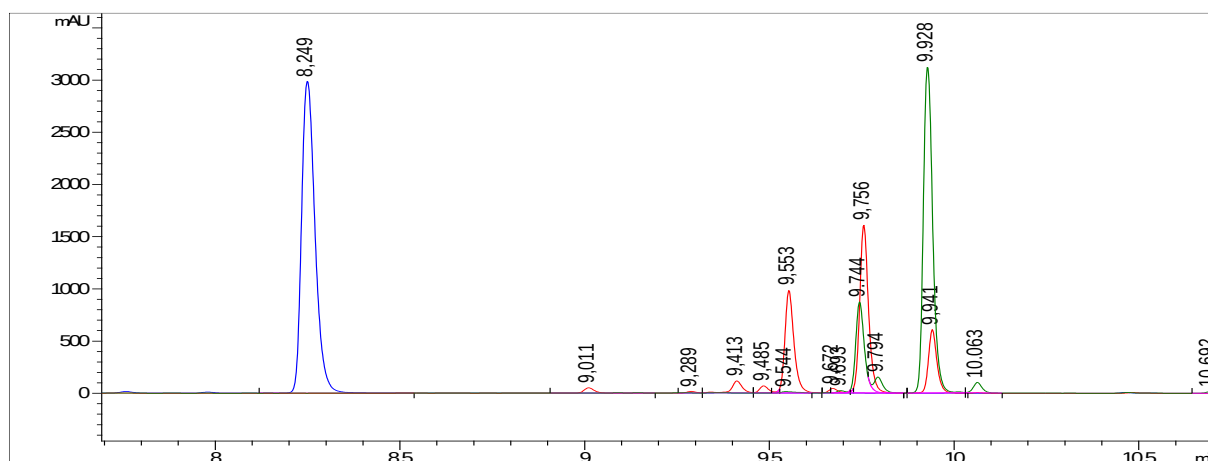


Figure 133. Chromatogrammes de l'harpagoside (bleu), de la réaction à $t = 24$ h (rouge) et de la réaction à $t = 168$ h (vert) (Méthode 1)

La pyridine est ensuite évaporée et le résidu repris par du CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée successivement par H_2O , HCl 10 %, une solution saturée de NaHCO_3 et une solution saturée de NaCl pour éliminer les traces de réactifs. Elle est ensuite séchée sur Na_2SO_4 et concentrée sous vide. Le produit n'étant toujours pas pur, une partie de la poudre a été utilisée directement pour un essai de cristallisation, une seconde partie a été purifiée par FC.

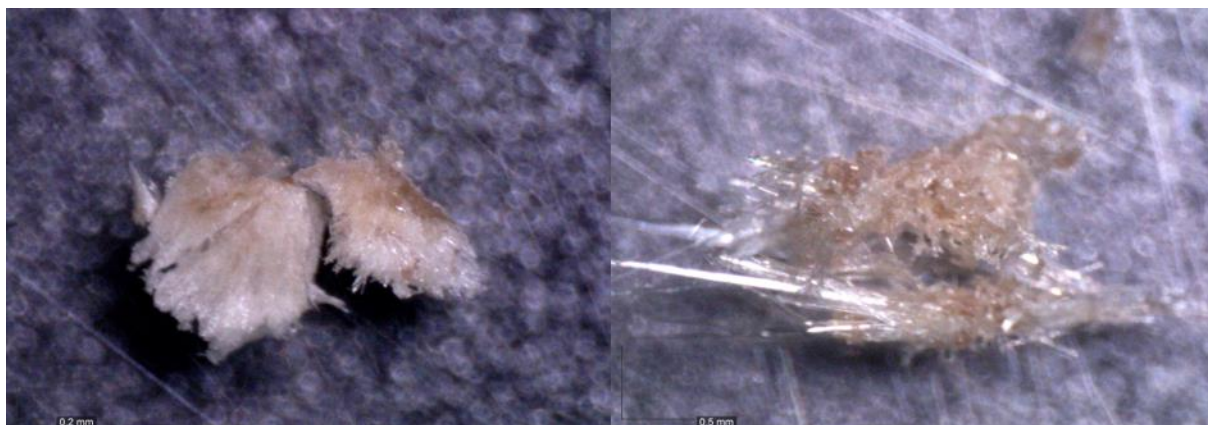


Figure 134. Photos des cristaux réalisés par échange de solvants après peracétylation de l'harpagoside

De nouveaux cristaux visibles sur la Figure 134 ont été obtenus sur la partie non purifiée de l'harpagoside acétylé. Ces derniers ont été analysés très récemment et ont permis de vérifier la structure des iridoïdes comme étant celle décrite dans la littérature (Figure 135).

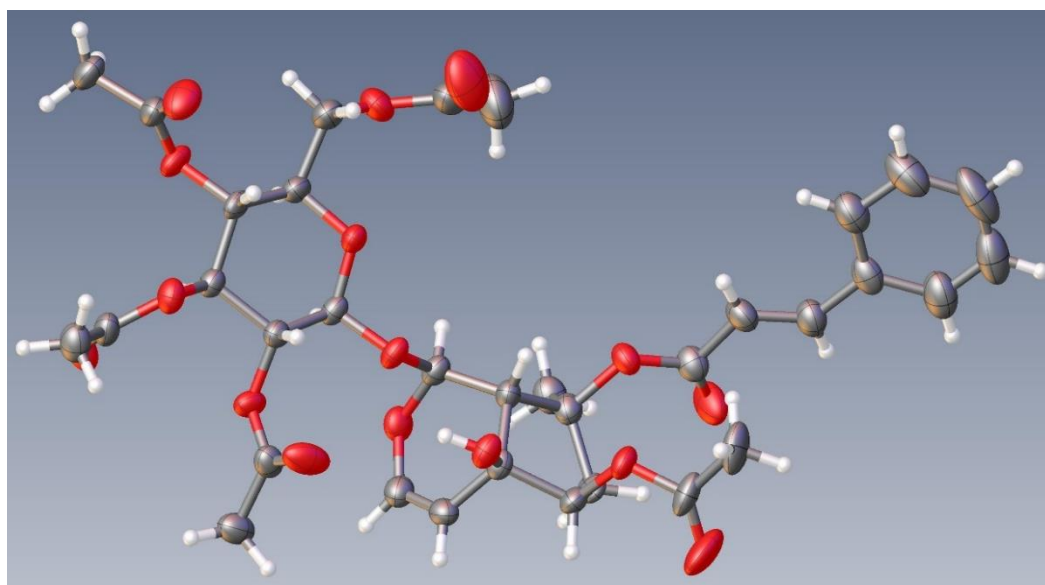


Figure 135. Structure 3D des cristaux d'harpagoside acétylé, données CIF en cours

4.1.7.2 Conclusion

Les premières analyses RMN ont soulevé une question sur la structure chimique des iridoïdes, seule une analyse par rayons X permettrait d'y répondre. Cette famille étant très difficile à cristalliser, aucune cristallisation n'a été publiée à ce jour dans la littérature. De ce fait, différentes techniques ont été employées pour cristalliser le 8-O-acétylharpagide. Cependant, aucun des cristaux réalisés sur la molécule isolée n'a permis d'obtenir des résultats exploitables (cristaux maclés). Ainsi, une dérivation sur une molécule de la même famille que cette dernière (l'harpagoside) a été effectuée pour faciliter sa cristallisation. Cette expérience a finalement permis de réaliser des cristaux exploitables par rayons X et de confirmer la structure des iridoïdes telle que présentée dans la littérature.

4.1.8 Étude biologique

Une seconde étude biologique a été réalisée sur six échantillons d'*A. pyramidalis* : les trois extraits primaires réalisés par macération (1725_EX2sup, 1725_EX2int et 1725_EX2aq), ainsi que trois autres fractions issues de purifications de la phase intermédiaire : le composé pur 3.2 (1725_EX2int_pur), le mélange d'iridoïdes de la fraction F4f5 (1725_EX2int_iri) et le mélange d'acides phénoliques de la fraction F4f6 (1725_EX2int_verba). Ces échantillons ont été testés sur des kératinocytes épidermiques humains sains (NHEK) issus de trois donneurs différents par analyse de l'expression (ARNm) de 44 marqueurs sélectionnés par les biologistes de l'entreprise CHANEL Parfums Beauté.

Une première étude a permis d'évaluer la cytotoxicité des composés. Ces derniers ont ensuite été testés à leur concentration maximale non cytotoxiques et seules les variations d'expression supérieures ou égales à un facteur deux comparativement à un témoin externe ont été considérées comme significatives. L'ensemble des résultats biologiques sont disponibles dans l'annexe 8.4.

4.1.8.1 Résultats de cytotoxicité

- **1725_EX2sup** présente une cytotoxicité forte à des concentrations supérieures à 0,001 %.
- **1725_EX2int** est cytotoxique au-delà de 0,03 %.
- **1725_EX2aq** n'est pas cytotoxique à la concentration la plus élevée de 0,19 %
- **1725_EX2int_pur** est cytotoxique au-delà de 0,003 %
- **1725_EX2int_iri** n'est pas cytotoxique à la concentration la plus élevée de 0,027 %
- **1725_EX2int_verba** est cytotoxique à partir de 0,007 %

L'iridoïde 3.2 pur (1725_EX2int_pur) et le mélange de verbascoside (1725_EX2int_verba) présentent une cytotoxicité 4 à 9 fois supérieure à l'extrait non purifié (1725_EX2int). En revanche, le mélange d'iridoïdes ne présente pas la même cytotoxicité que l'iridoïde 3.2 (10 fois moins élevée), ce qui indique un effet protecteur du mélange d'iridoïdes même s'il est composé à plus de 60 % du composé 3.2.

4.1.8.2 Résultats d'expression

Le choix de faire les tests biologiques à la concentration maximale non cytotoxique ne nous permet pas de comparer les différents composés entre eux, néanmoins, nous pouvons détecter des modifications dans le niveau d'expression des gènes et identifier les fonctions biologiques impliquées comparativement à la condition témoin.

Les kératinocytes issus des trois donneurs ont étéensemencés en plaques 24 puits et cultivés en milieu de culture pendant 24 h, puis en milieu d'essai pendant une heure supplémentaire. Le milieu a ensuite été remplacé par du milieu d'essai contenant les différents échantillons ou sans échantillons (témoins), puis incubés pendant 48 h.

Le donneur K341 semble avoir réagi très fortement à l'ensemble des composés. Les gènes impliqués dans le processus d'apoptose et de l'inflammation sont activés, ce qui laisse penser à un artefact de culture. Le donneur n'est donc pas considéré dans l'analyse. Les deux autres donneurs semblent réagir de façon similaire, il est donc possible de dégager une tendance d'action des différents composés. Afin de confirmer ces observations, il serait nécessaire de réaliser une approche histologique sur des cultures de kératinocytes et/ou sur des modèles de peau reconstruite *in vitro*.

1725_EX2sup : Du fait de sa forte cytotoxicité, l'extrait a été testé à une concentration faible qui ne permet pas d'observer d'impact sur les gènes.

1725_EX2aq : L'expression de K10 est stimulée chez un donneur et tend à être stimulée chez le second donneur (facteur 1,61). Ces deux gènes sont deux marqueurs biologiques impliqués dans le processus de différenciation de l'épiderme. De plus, le gène DSC1 est stimulé chez les deux donneurs. DSC1 est une protéine impliquée dans la formation de jonctions cellule-cellule appelées desmosomes et est importante dans le processus de différenciation épidermique. Ces résultats suggèrent que l'extrait pourrait stimuler les étapes de différenciation épidermique. D'un point de vue cosmétique, ce type d'extrait permettrait une action ciblée sur le renforcement de la fonction barrière de la peau et permettrait de participer au maintien de l'hydratation cutanée.

1725_EX2int : L'extrait a peu d'effet à la concentration testée. Seule la cible TGM1 est modulée de façon similaire chez les 2 donneurs (diminution d'expression). TGM1 est une enzyme impliquée dans la formation de l'enveloppe cornée des kératinocytes lors de l'étape terminale de différenciation. Il y a également une tendance à la diminution de l'expression du gène HSPB1. C'est une protéine impliquée dans la réponse au stress et préférentiellement exprimée dans les cellules différenciées de l'épiderme. Ces cibles biologiques étant diminuées dans les kératinocytes, ces résultats suggèrent que le processus de différenciation n'est pas favorisé et permettent de supposer une activité pro-proliférative.

1725_EX2int_verba : L'extrait à la concentration testée a peu d'effet. Néanmoins, une diminution de l'expression de TGM1 et de HSPB1 est visible chez les deux donneurs. Cette signature est proche de celle obtenue pour l'extrait 1725_EX2int. De plus, l'expression de CLDN1 est diminuée chez un donneur et tend à être diminuée chez le second donneur (0,55). CLDN1 est une protéine impliquée dans la formation de jonctions cellule-cellule appelées jonctions serrées et est importante dans le processus de différenciation terminale de l'épiderme. Enfin, l'expression de NOTCH1 est diminuée chez un donneur et tend à être diminuée chez le second donneur (0,57). NOTCH1 est impliquée dans la régulation de l'homéostasie épidermique (équilibre entre prolifération et différenciation cellulaire). NOTCH1 ralentit la prolifération cellulaire et stimule les étapes de différenciation précoces dans l'épiderme. NOTCH1 étant diminuée, le processus de prolifération pourrait être favorisé. Ces résultats

renforcent l'hypothèse d'un extrait pro-prolifératif avec une diminution de la différenciation cellulaire.

1725_EX2int_iri : L'extrait, à la concentration testée, module 11 gènes de façon similaire entre les deux donneurs. Parmi ces gènes, il est possible de retrouver une diminution de l'expression de TGM1, CLDN1, DSC1, LGALS7, HSPB1 et NOTCH1 qui sont associés aux processus de différenciation cellulaire. Ces observations suggèrent un impact fortement pro-prolifératif sur les kératinocytes. De plus, ce composé stimule l'expression de NQO1 chez les deux donneurs et HMOX1 chez un donneur. Ces derniers sont impliqués dans la réponse au stress oxydatif et le système de défense cellulaire. Ces résultats suggèrent que cet extrait pourrait stimuler la prolifération des kératinocytes ainsi que la réponse au stress oxydatif. D'un point de vue cosmétique, ce type de composés permettrait une action ciblée sur le renouvellement de l'épiderme et participerait à la défense cutanée dans une approche anti-âge.

1725_EX2int_pur : L'extrait a peu d'effet à la concentration testée. Néanmoins, il est possible de retrouver une tendance d'activité similaire sur les différents gènes actifs de l'extrait 1725_EX2int_iri.

4.2 SCUTELLARIA ALPINA L.

En parallèle des études menées sur *A. pyramidalis*, les mêmes protocoles et méthodes de quantification ont été réalisés sur *S. alpina*. Pour des raisons de priorisation, il n'a pas été effectué d'études de purification ou d'activité biologique sur cette plante.

4.2.1 Bibliographie

S. alpina est une plante du genre *Scutellaria* qui regroupe plus de 300 espèces distribuées en Europe, aux Etats-Unis et dans l'Est de l'Asie.^[115] Dans la littérature de cette plante, différentes familles chimiques ont été identifiées, des diterpènes de clérodane (scutorientaline E, scutalpine A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K et L), un acide phénolique (verbascoside) ainsi que différents flavonoïdes (baicaline, lutéoline et l'oroxindine).^[116–120] Comme présenté dans le chapitre 3.5.21, de nombreuses molécules apolaires ont été observées correspondant aux divers diterpènes évoqués dans la littérature. Néanmoins, les différentes familles de flavonoïdes et d'autres espèces chimiques ne sont que très peu décrites.

4.2.2 Études de quantification

Les travaux de quantification de *S. alpina* ont été réalisés sur les extraits obtenus par macération. Cette extraction a permis de produire trois extraits de polarités différentes (apolaire, intermédiaire et polaire). Le détail des manipulations étant développé dans le chapitre 4.1.4 d'*A. pyramidalis*, seuls les résultats obtenus sur *S. alpina* seront présentés ci-dessous.

4.2.2.1 Matière sèche des extraits

Matière sèche Extrait_{apolaire} = 51,5 % (CV = 1 %, n = 3)

Matière sèche Extrait_{intermédiaire} = 79,2 % (CV = 1 %, n = 3)

Matière sèche Extrait_{polaire} = 80,6 % (CV = 0,2 %, n = 3)

4.2.2.2 Étude de la fraction lipidique

Fraction lipidique Extrait_{apolaire} = 93,2 % (CV = 3 %, n = 3)

Fraction lipidique Extrait_{intermédiaire} = 14,4 % (CV = 5 %, n = 3)

Fraction lipidique Extrait_{polaire} = 0,3 % (CV = 65 %, n = 3)

Un profil GC/El-MS/FID de la fraction lipidique est réalisé sur l'extrait apolaire après dérivation des composés de l'extrait selon la Procédure 1.

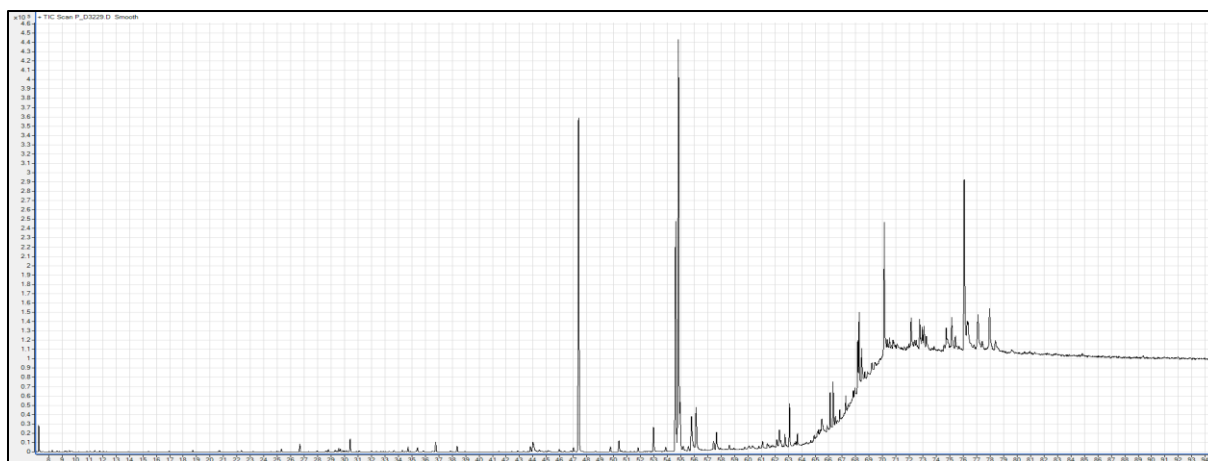


Figure 136. Chromatogramme FID de l'extrait apolaire de *S. Alpina* (méthode 5)

Dix-sept composés ont été identifiés dans l'extrait apolaire grâce à cette méthode et sont listés dans le Tableau 127 ci-dessous.

Tableau 127. Liste des composés identifiés dans la fraction lipidique de l'extrait apolaire de *S. alpina* (Méthode 5)

ID	Nom	Tr (min)	Indice de rétention	% FID	Méthode
20.31	Acétate de butyle	7,273	790	3,0	3
20.19	Acide Palmitique	47,40	1916	14,7	3
20.18	Acide Linoléique	54,61	2085	11,1	3
20.17	Acide Linolénique	54,83	2090	17,7	3
20.20	Acide Oléique	54,95	2093	1,8	3
20.32	Phytol	55,77	2112	4,4	3
20.21	Acide Stéarique	56,14	2120	1,7	3
20.33	Acide arachidique	63,08	2340	1,4	3
20.34	Docosanol	65,89	2493	0,6	3
20.35	Alcane (C25)	66,10	2509	1,1	3
20.36	Acide béhénique	66,32	2535	1,3	3
20.37	Tetracosanol	68,16	2695	4,4	3
20.38	Alcane (C27)	68,26	2709	2,5	3
20.22	Acide lignocérique	68,45	2630	0,9	3
20.39	Alcane (C31)	72,11	3104	5,7	3
20.40	Tocophérol	72,76	3165	3,1	3
20.41	Alpha-amyrine	77,95	3476	1,7	3

4.2.2.3 Détermination des cendresMinéraux Extrait_{apolaire} = 0,2 % (n = 1)Minéraux Extrait_{intermédiaire} = 1,9% (n = 1)Minéraux Extrait_{polaire} = 15,4 % (n = 1)**4.2.2.4 Dosage des acides aminés libres**Acides aminés libres Extrait_{apolaire} = 0,1 % (CV = 14 %, n = 3)Acides Aminés libres Extrait_{intermédiaire} = 0,6 % (CV = 7 %, n = 3)Acides Aminés libres Extrait_{polaire} = 1,5 % (CV = 6 %, n = 3)**4.2.2.5 Quantification des composés azotés**Azote totale Extrait_{intermédiaire} = 0,66 % (n = 1)Azote totale Extrait_{polaire} = 1,22 % (n = 1)Protéines (Azote*0,65-AA libres) Extrait_{intermédiaire} = 3,5 % (n = 1)Protéines (Azote*0,65-AA libres) Extrait_{polaire} = 6,2 % (n = 1)**4.2.2.6 Dosage des glucides**Tableau 128. Liste des glucides dosés dans les différents extraits de *S. alpina* (Méthode 3)

ID	Nom	Extrait	CV (%), n	Extrait	CV (%),
		intermédiaire (%)	= 3	polaire (%)	n = 3
20.42	Rhamnose	0	-	0	-
20.43	Arabinose	0	-	2	11
20.23	Fructose	20,2	3	10,8	1
20.24	Glucose	14,4	5	10,1	2
20.26	Sucrose	16,8	1	0	-

Glucides Extrait_{intermédiaire} = 64,8 ± 0,1 %Glucides Extrait_{polaire} = 28,4 ± 0,1 %

4.2.2.7 Dosage des acides organiques

Tableau 129. Liste des acides organiques dosés dans les différents extraits de *S. alpina* (Méthode 2)

ID	Nom	Extrait intermédiaire (%)	Extrait polaire (%)	CV (%), n = 3
20.27	Ac. Gluconique	0	4,4	4
20.44	Ac. Tartrique	0	4,6	6
20.28	Ac. Glucuronique	1,9	3,7	6
20.29	Ac. Malique	0	3,8	2
21.30	Ac. Cis-aconitique	0	1,5	8

Acides organiques Extrait intermédiaire = $1,9 \pm 0,1$ %

Acides organiques Extrait polaire = $17,8 \pm 0,3$ %

4.2.3 Conclusion

Toutes ces quantifications et dosages en masse sont rapportés à la quantité totale extraite lors des différentes extractions. Pour cela, le pourcentage de chaque extrait a été calculé, il est exprimé en pourcentage dans la matière sèche.

Extrait apolaire = 4,7 %

Extrait intermédiaire = 20,8 %

Extrait polaire = 74,5 %

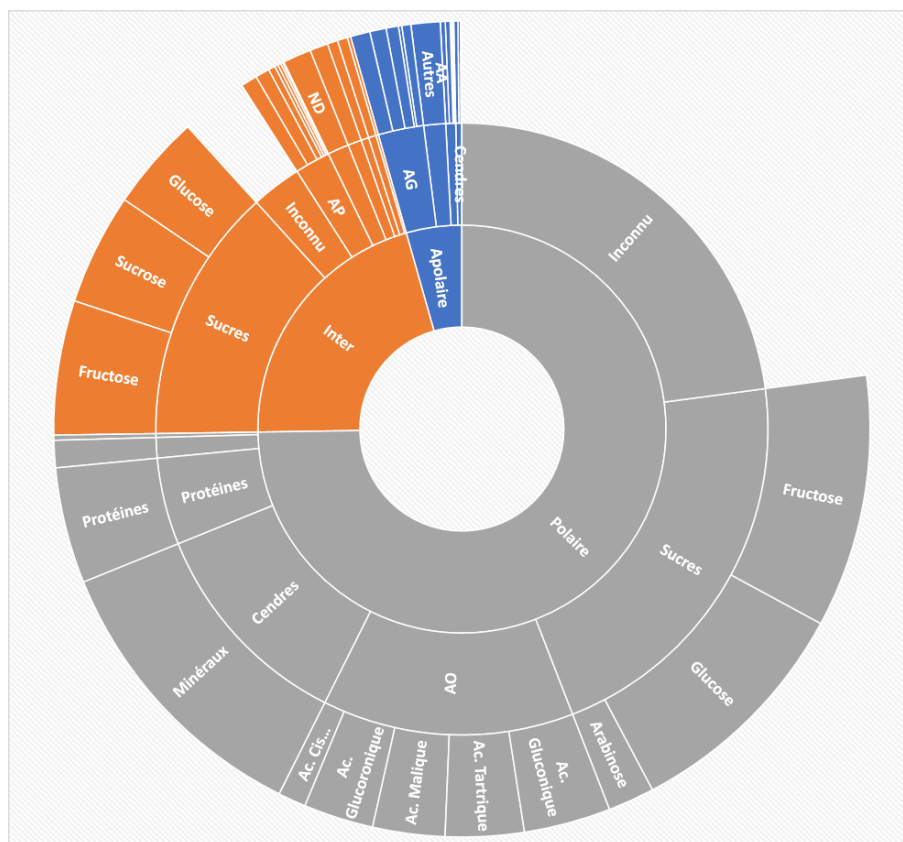


Figure 137. Graphique de composition des composés extraits dans *S. alpina*

Les dosages et quantifications réalisés sont rapportés rassemblés dans la Figure 137 ci-dessous. L'extrait apolaire a été caractérisé à 93 % en FID, il est composé majoritairement d'acides gras, et d'alcools de diterpènes. L'extrait intermédiaire a été caractérisé à 85 %, il est composé majoritairement de mono et disaccharides, de dérivés terpéniques et de dérivés de flavonoïdes non caractérisés dans cette étude. Enfin, l'extrait polaire a été caractérisé à 69 %, il est composé majoritairement de mono et disaccharides, de minéraux, d'acides organiques et de protéines quantifiées mais non identifiées. L'étude de quantification de *S. alpina* a permis de caractériser 70 % de la masse extraite, en revanche les travaux se sont arrêtés à ce niveau pour cette plante car ils n'étaient pas prioritaires.

CONCLUSION GENERALE

D'après la liste de plantes établie conjointement entre des botanistes de la SAJF et une anthropologue de la région, 22 plantes ont été sélectionnées sur des bases bibliographiques. Celles-ci ont été récoltées lors de la première année d'étude dans les alentours du col du Lautaret avec l'aide des botanistes pour la localisation et l'identification des espèces. Diverses méthodes d'extraction, dont certaines ont fait l'objet de mise au point méthodologique, ont ensuite été utilisées sur les plantes, dans le but de réaliser un screening phytochimique et biologique.

Le screening phytochimique a permis d'analyser 500 molécules réparties dans 13 familles de composés chimiques. Parmi celles-ci, 40 ont formellement été identifiées et se retrouvent dans plusieurs plantes. Le screening d'activités biologiques a, quant à lui, été effectué sur 66 extraits avec cinq tests différents. Ces évaluations biologiques ont permis d'objectiver les divers extraits des plantes. Les données engendrées par les deux screening ont été combinées afin de sélectionner les plantes les plus intéressantes selon nos critères, en particulier *A. pyramidalis* et *S. alpina*, pour une étude plus poussée.

Une quantification préliminaire de *S. alpina* a été effectuée permettant d'évaluer la composition chimique de 70 % de la masse extraite de la plante.

Des études plus approfondies ont cependant été menées sur *A. pyramidalis*. Dans un premier temps, des comparaisons inter et intra-espèces ont été effectuées ; celles-ci permettent de démontrer des différences minimales entre quatre espèces d'*Ajuga*. De même, aucune différence notable n'a été observée dans la saisonnalité intra-espèce (*A. pyramidalis*) sur les trois années de récolte. Toutefois, des différences ont été observées dans les diverses parties de la plante, les racines contenant moins d'acides phénoliques que les parties aériennes et les fleurs. Ces dernières contenant elles-mêmes plus de molécules polaires que les autres parties de la plante.

Une étude approfondie de caractérisation et quantification a ensuite été opérée. Celle-ci a permis de quantifier 96 % des masses extraites dans la plante. En revanche, une famille de molécules (diterpène de clérodane) déjà décrite dans la littérature de cette plante n'a pas pu être quantifiée ici. Finalement, un total de 64 molécules a été identifié dont 5 qui ont été isolées : le verbascoside, l'échinacoside, le teupolioside, l'harpagide et le 8-O-acétylharpagide.

Des études de cristallisation ont également été menées sur les iridoïdes dans le but de certifier leur structure chimique. En effet, les analyses RMN réalisées sur les composés isolés nous ont fait nous interroger sur leur structure. Une analyse aux rayons X des cristaux obtenus après dérivatisation de l'harpagoside a permis de confirmer la structure décrite dans la littérature.

Par ailleurs, de nouveaux tests biologiques ont été accomplis sur des fractionnements d'*A. pyramidalis*. Ceux-ci ont permis de démontrer des activités cosmétiques

intéressantes sur le mélange d'iridoïdes. En cosmétique, ce mélange permettrait une action ciblée sur le renouvellement de l'épiderme et participerait à la défense cutanée dans une approche anti-âge.

En définitive, après une phase préliminaire d'étude de 22 plantes, les travaux de recherche de cette thèse se sont focalisés sur une plante et ont permis de caractériser et d'objectiver celle-ci. Par ailleurs, de nombreuses données ont été obtenues sur la totalité des plantes tant sur la partie phytochimique que biologique et ouvrent des portes à différentes études.

En effet, ce travail va être le point de départ de nouveaux travaux de recherche sur les plantes intéressantes qui n'ont pas été étudiées plus précisément. C'est par exemple le cas de *Trifolium alpinum*, qui a déjà fait l'objet d'une étude phytochimique et métabolomique préliminaire au Département de Pharmacochimie Moléculaire de Grenoble à la suite des résultats de cette thèse. D'autres plantes sont également en cours de sélection afin de réaliser de nouvelles recherches.

Par ailleurs, au cours de cette thèse, différentes valorisations et publications ont été réalisées. Un travail de vulgarisation scientifique dans le cadre des journées grand public « Les conférences du jardin » a été mené. Le but de cette présentation était de présenter le travail de valorisation des plantes alpines pour une utilisation cosmétique. De plus, différentes présentations orales ou poster ont été réalisées dans le cadre de congrès scientifiques régionaux, nationaux et internationaux.

En conclusion, les travaux de cette thèse ont engendré de nombreux résultats. Certains ont été valorisés directement pendant la thèse, mais la majorité des résultats serviront d'armes pour de nombreuses autres recherches. L'engouement de la phytochimie aussi bien dans la recherche publique que privée permet un réel renouveau dans ce domaine et de nombreuses découvertes restent encore à réaliser.

DONNEES EXPERIMENTALES

MATIERES PREMIERES UTILISEES

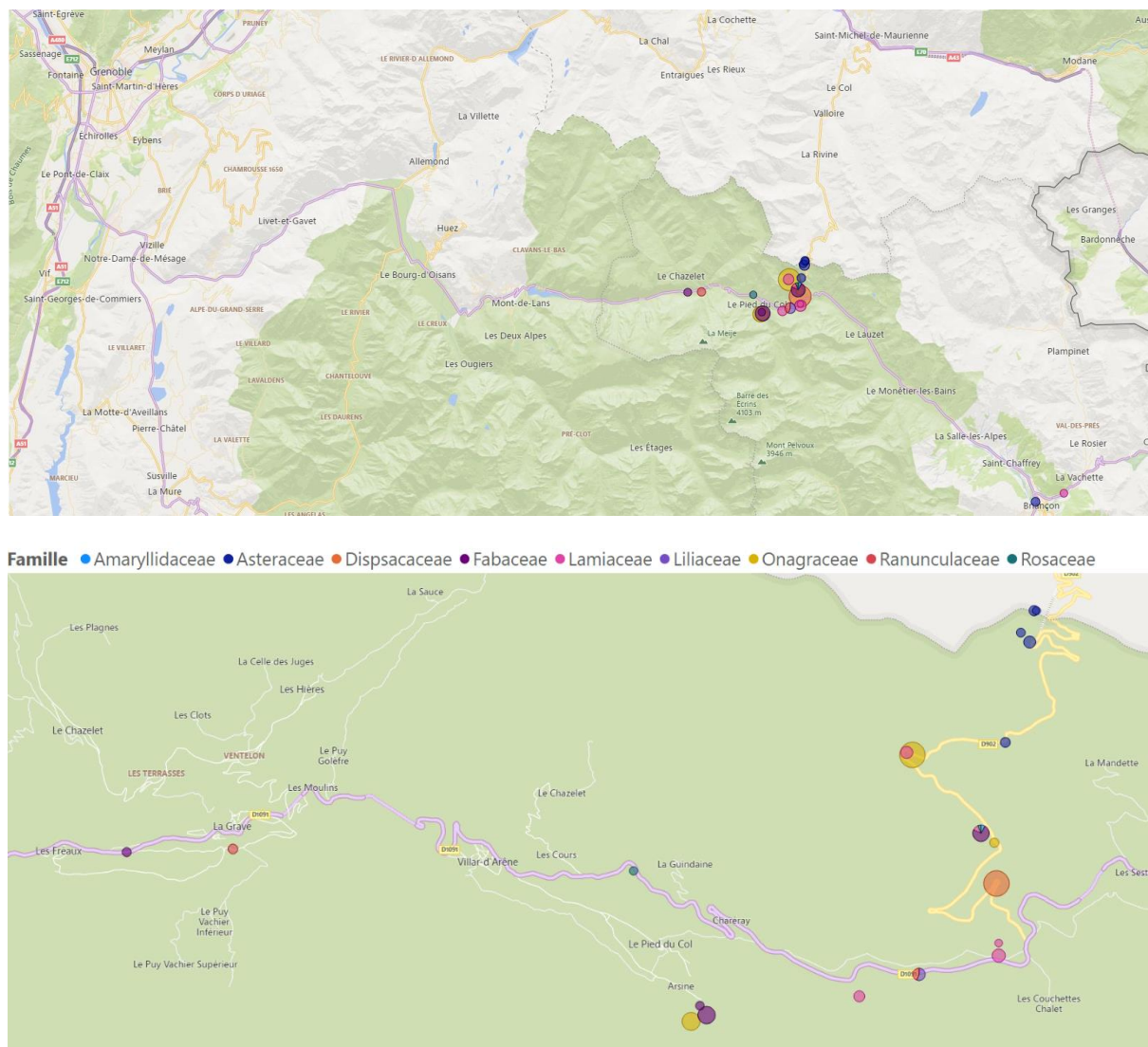


Figure 138. Carte et zoom de la zone de récolte des plantes de l'étude, la couleur du cercle différencie les familles de plantes et le diamètre la masse récoltée.

Les plantes ont été récoltées dans différentes zones allant de La Grave à Briançon, visibles sur les Figure 138. Elles ont été récoltées à différentes altitudes, chaque année de 2017 à 2019, pendant la période de floraison. Sauf mention contraire, elles ont été séchées à température ambiante (Figure 139). Les échantillons et leur lieu de collecte ont été identifiés par les botanistes de la Station Alpine Joseph Fourier, Maxime Rome et Rolland Douzet. Un spécimen de chaque espèce des sept plantes récoltées en 2018 est en cours de dépôt à l'Herbier du Muséum National d'Histoire Naturelle. Le détail des collectes est présenté dans le Tableau 130.



Figure 139. Photos de séchage et de presse à hercier

Tableau 130. Tableau de récolte des plantes étudiées

Nom latin	Nom français	Famille	Floraison	Parties récoltées	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Date	Masse sèche (g)	Référence	Lot
<i>Achillea nana</i> L.	Achillée naine	Asteraceae		Parties aériennes fleuries	2650	45°3'53" N	6°24'23" E	13/07/2017	64	1738	R17/397
<i>Aconitum vulparia</i> L.	Aconit tue-loup	Ranunculaceae	Juin-Août	Parties aériennes fleuries	1360	45°2'37" N	6°18'20" E	26/06/2017	152	1737	R17/398
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Avril-Août	Parties aériennes fleuries	2280	45°2'42" N	6°23'58" E	26/06/2017	15	1725	R17/399
<i>Alchemilla alpina</i> L.	Alchémille des Alpes	Rosaceae		Parties aériennes fleuries	2280	45°2'42" N	6°23'58" E	26/06/2017	33	1722	R17/400
<i>Antennaria carpatica</i> Bluff. & Fingherh.	Antennaire des Carpates	Asteraceae	Juin-Août	Parties aériennes fleuries	2410	45°3'11" N	6°24'9" E	11/07/2017	57	1730	R17/401
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	Antennaire dioïque, Pied de chat	Asteraceae	Mai-Juillet	Parties aériennes fleuries	2410	45°3'11" N	6°24'9" E	11/07/2017	41	1731	R17/402
<i>Artemisia genipi</i> Weber	Génépi noir	Asteraceae	Juillet-Septembre	Parties aériennes fleuries	2650	45°3'53" N	6°24'23" E	13/07/2017	7	1732	R17/403
<i>Asphodelus albus</i> L. subsp. <i>delphinensis</i> (Gr. & Godr.) Diaz Lifente	Asphodèle du Dauphiné	Liliaceae	Mai-Juillet	Parties aériennes non fleuries	2020	45°1'57" N	6°23'30" E	26/06/2017	169	1721	R17/404

<i>Astragalus monspessulanus</i> L.	Astragale de Montpellier	Fabaceae	Avril-Août	Parties aériennes non fleuries	1680	45°1'47" N	6°21'51" E	26/06 /2017	97	1723	R17/405
<i>Astragalus onobrychis</i> L.	Astragale faux-sainfoin	Fabaceae	Juin-Août	Parties aériennes fleuries	1400	45°2'36" N	6°17'32" E	26/06 /2017	121	1727	R17/406
<i>Cirsium spinosissimum</i>	Cirse très épineux	Asteraceae	Juillet-Septembre	Parties aériennes non fleuries	2580	45°3'43" N	6°24'20" E	30/08 /2017	282	1740	R17/407
<i>Cota tinctoria</i> (L.) J. Gay	Anthémis des teinturiers	Asteraceae	Juin-Septembre	Parties aériennes fleuries	1240	44°53'59" N	6°37'48" E	13/07 /2017	179	1728	R17/408
<i>Epilobium angustifolium</i>	Epilobe à feuilles étroites	Onagraceae	Juin-Septembre	Parties aériennes fleuries	2370	45°3'7" N	6°23'27" E	30/08 /2017	1000	1202	R17/409
<i>Epilobium fleischeri</i>	Epilobe des moraines	Onagraceae	Juillet-Septembre	Parties aériennes fleuries	2270	45°2'39" N	6°24'4" E	30/08 /2017	131	1741	R17/410
<i>Knautia dipsacifolia</i>	Knautie de Sixt	Dispsacaceae		Parties aériennes fleuries	2102	45°2'26" N	6°24'5" E	11/07 /2017	1000	1729	R17/412
<i>Narcissus poeticus</i> L.	Narcisse des poètes	Amaryllidaceae		Parties aériennes fleuries	2280	45°2'42" N	6°23'58" E	26/06 /2017	42	1724	R17/413
<i>Nepeta nepetella</i>	Petit népéta	Lamiaceae	Juillet-Août	Parties aériennes fleuries	1959	45°1'50" N	6°23'3" E	30/08 /2017	173	1743	R17/414
<i>Rosa pendulina</i> L.	Rosier des Alpes	Rosaceae	Mai-Août	Partie fleurie	1768	45°2'30" N	6°21'21" E	11/07 /2017	80	1733	R17/415
<i>Salvia aethiopis</i> L.	Sauge d'Ethiopie	Lamiaceae	Juin-Juillet	Parties aériennes	1350	44°54'20" N	6°39'27" E	13/07 /2017	110	1734	R17/416

				non fleuries							
Scutellaria alpina L.	Scutellaire des Alpes	Lamiaceae		Parties aériennes fleuries	2100	45°2'7" N	6°24'6" E	11/07 /2017	39.5	1735	R17/417
Trifolium alpinum L.	Trèfle des Alpes	Fabaceae	Juin-Août	Parties aériennes fleuries	2280	45°2'42" N	6°23'58" E	26/06 /2017	97	1638	R17/420
Trollius europaeus L.	Trolle d'Europe	Ranunculaceae	Mai-Août	Parties aériennes fleuries	2020	45°1'57" N	6°23'30" E	26/06 /2017	132	1726	R17/421
Achillea nana L.	Achillée naine	Asteraceae		Parties aériennes fleuries	2670	45°3'53" N	6°24'22" E	17/07 /2018	182	1738	R18/365
Ajuga pyramidalis L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Avril-Août	Parties aériennes fleuries	2280	45°2'42" N	6°23'58" E	28/06 /2018	13	1725	R18/236
Ajuga pyramidalis L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Avril-Août	Parties aériennes fleuries	2060	45°2'3" N	6°24'6" E	28/06 /2018	300	1725	R18/237
Antennaria dioica (L.) Gaertn.	Antennaire dioïque, Pied de chat	Asteraceae	Mai-Juillet	Parties aériennes fleuries	2410	45°3'11" N	6°24'9" E	17/07 /2018	67	1731	R18/363
Antennaria dioica (L.) Gaertn.	Antennaire dioïque, Pied de chat	Asteraceae	Mai-Juillet	Parties aériennes fleuries	2580	45°3'46" N	6°24'16" E	17/07 /2018	110	1731	R18/362
Astragalus monspessulanus L.	Astragale de Montpellier	Fabaceae	Avril-Août	Parties aériennes non fleuries	1660	45°1'44" N	6°21'54" E	28/06 /2018	570	1723	R18/238

<i>Epilobium fleischeri</i>	Epilobe des moraines	Onagraceae	Juillet-Septembre	Parties aériennes fleuries	1670	45°1'42" N	6°21'47" E	17/07/2018	602	1741	R18/360
<i>Nepeta nepetella</i>	Petit népéta	Lamiaceae	Juillet-Août	Parties aériennes fleuries	1959	45°1'50" N	6°23'3" E	16/07/2018	50	1743	R18/364
<i>Scutellaria alpina</i> L.	Scutellaire des Alpes	Lamiaceae		Parties aériennes fleuries	2347	45°03'07.8" N	6°23'24.4" E	16/07/2018	287	1735	R18/359
<i>Trifolium alpinum</i> L.	Trèfle des Alpes	Fabaceae	Juin-Août	Parties aériennes fleuries	2280	45°2'42" N	6°23'58" E	16/07/2018	288	1638	R18/361
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Avril-Août	Parties aériennes fleuries	2280	45°2'42" N	6°23'58" E	19/06/2019	30	1725	R19/249
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Avril-Août	Fleurs	2060	45°2'3" N	6°24'6" E	19/06/2019	15	1725	R19/250
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Avril-Août	Racines	2060	45°2'3" N	6°24'6" E	19/06/2019	1	1725	R19/251
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Avril-Août	Parties aériennes non fleuries	2060	45°2'3" N	6°24'6" E	19/06/2019	25	1725	R19/252
<i>Ajuga genevensis</i> L.	-	Lamiaceae	-	Parties aériennes fleuries	-	-	-	-	-	-	R19/246
<i>Ajuga chamaepitys</i> (L.) Schreb	-	Lamiaceae	-	Parties aériennes fleuries	-	-	-	-	-	-	R19/247
<i>Ajuga reptans</i>	-	Lamiaceae	-	Parties aériennes fleuries	-	-	-	-	-	-	R19/248

METHODES

5.1 METHODE 1

Appareillage : Système agilent 1290 infinity équipé d'un DAD agilent et d'un ELSD Sedex 100 ou Sedex 90

Colonne : Agilent Zorbax Eclipse Plus RRHD silice greffée C18 ; 50 mm * 2,1 mm * 1,8 µm

Température colonne : 50 °C

Volume d'injection : 1 µL

Débit : 0,55 mL/min

Phases mobiles : Voie A = Eau + Acide formique 0,1% (v/v)
Voie B = Méthanol

Gradient :

Minutes	% A	%B
0	95	5
0,5	95	5
7	45	55
10	5	95

Durée totale : 17 min + 5 min d'équilibrage

Détection : DAD 280 nm
ELSD, Gain 9

HRMS, voltage source : 3500 V, Température source : 300 °C, Fragmentor : 130 V, Gaz séchant : 10 L/min, Nébuliseur : 40 psig, Scan : 70-1200 m/z (20-1200 en MS/MS), Temps de scan : 200 ms, Energie de collision MS/MS : 10 et 30 eV.

5.2 METHODE 2

Appareillage : Système agilent 1200 infinity équipé d'un DAD agilent et d'un ELSD Sedex 100

Colonne : Acquity UPLC BEH amide ; 100 mm * 2,1 mm * 1,7 µm

Température colonne : 50 °C

Volume d'injection : 1 µL

Débit : 0,5 mL/min

Phases mobiles : Voie A = 90/10 : ACN/Eau +10 mmol NH₄OH à pH = 9
Voie B = 50/50 : ACN/Eau +10 mmol NH₄OH à pH = 9

Gradient :

Minutes	% A	%B
0	98	2
15	2	98

Durée totale : 25 min + 7 min d'équilibrage

Détection : ELSD, Gain 2

HRMS, voltage source : 3500 V, Température source : 300 °C, Fragmentor : 130 V, Gaz séchant : 10 L/min, Nébuliseur : 40 psig, Scan : 70-1200 m/z (20-1200 en MS/MS), Temps de scan : 200 ms, Energie de collision MS/MS : 10 et 30 eV.

5.3 METHODE 3

Appareillage : Système agilent 1200 équipé d'un DAD agilent et d'un ELSD Sedex 100

Colonne : Acquity UPLC BEH amide ; 100 mm * 2,1 mm * 1,7 µm

Température colonne : 50 °C

Volume d'injection : 1 µL

Débit : 0,2 mL/min

Phases mobiles : Voie A = 90/10 : ACN/Eau +10 mmol NH₄OH à pH = 9

Isocratique :

Minutes % A

0	100
---	-----

Durée totale : 25 min

Détection : ELSD, Gain 2

HRMS, voltage source : 3500 V, Température source : 300 °C, Fragmentor : 130 V, Gaz séchant : 10 L/min, Nébuliseur : 40 psig, Scan : 70-1200 m/z (20-1200 en MS/MS), Temps de scan : 200 ms, Energie de collision MS/MS : 10 et 30 eV.

5.4 METHODE 4

Appareillage : Système agilent 1200 équipé d'un DAD agilent et d'un ELSD Sedex 90

Colonne : Agilent Zorbax Eclipse Plus RRHD silice greffée C18 ; 50 mm * 2,1 mm * 1,8 µm

Température colonne : 40 °C

Volume d'injection : 1 µL

Débit : 0,2 mL/min

Phases mobiles : Voie A = 10 mM Na₂HPO₄, 10 mM Na₂B₄O₇ pH : 8,2 (dissoudre 1,4 g de Na₂HPO₄ et 3,8 g de Na₂B₄O₇ dans 1 litre d'eau. Ajouter 1,2 mL d'HCl concentré, puis ajuster à pH 8,2)
Voie B = Méthanol / acétonitrile / eau (45/45/10)

Gradient :

Minutes	% A	% B
0	98	2
0,2	98	2
7,67	43	57
8,7	30	70
8,8	0	100
9,4	0	100
9,5	98	2

Durée totale : 13 min

Détection : DAD, 338 nm et 390 nm
Fluo, Gain 10

OPA : de 0 à 6,96 min - Em.¹ : 450 nm - Ex.² : 340 nm

FMOC : à partir de 6,96 min - Em : 325 nm - Ex : 260 nm

¹ Em, Emission

² Ex, Excitation

5.5 METHODE 5

Appareillage : Système agilent 5975N

Colonne : Capillaire 100% Polydiméthylsiloxane (Agilent VF-1MS) 60 m * 0,25 mm * 0,25 µm

Température colonne : 250 °C

Volume d'injection : 0,5 µL

Débit : Hélium 1 mL/min

Gradient :

Minutes	°C
0	70
20	150
60	230
95	320

Durée totale : 95 min

Détection : FID et IE

PROCEDURE

6.1 PROCEDURE 1 : QUANTIFICATION DE LA PARTIE LIPIDIQUE

6.1.1 Principe

Caractérisation de la composition lipidique d'extraits à l'aide d'une préparation par méthylation puis d'une analyse en chromatographie gazeuse.

6.1.2 Matériels

Système de chromatographie en phase gazeuse (Agilent GC6890N) avec double détection MS/FID (Agilent MSD5975).

6.1.3 Réactifs

Tous les produits chimiques et solvants ont été achetés chez Sigma-Aldrich ou VWR.

6.1.4 Protocole

6.1.4.1 Préparation des échantillons

Dans un flacon de 15 mL, 0,6 g ou 0,3 g d'extrait végétal sont solubilisés dans 3 g de méthanol acidifié avec de l'acide chlorhydrique afin d'obtenir une concentration finale de 1 mol/L. La solution homogénéisée au vortex est placée à l'étuve à 80 °C pendant 15 minutes.

Une fois l'échantillon refroidi, la partie apolaire de l'extrait est récupérée par extraction liquide/liquide avec 3 g de cyclohexane.

La phase organique supérieure est injectée dans le chromatographe en phase gazeuse.

Ordre		Poids (g)	[C]
1	Extrait	0,6	20 %
2	MeOH	2,1	
3	HCl	0,3	1 N
Total		3	
Reprise cyclo		3	

Ordre		Poids (g)	[C]
1	Extrait	0,3	10 %
2	MeOH	2,4	
3	HCl	0,3	1 N
Total		3	
Reprise cyclo		3	

6.1.4.2 Méthode chromatographique

La méthode de chromatographie utilisée est la Méthode 5.

6.2 PROCEDURE 2 : DOSAGE DES ACIDES AMINES

6.2.1 Principe

Dosage des acides aminés dans les extraits de plantes par étalonnage interne en chromatographie en phase liquide avec une double détection DAD et fluo.

6.2.2 Matériels

Système de chromatographie en phase liquide (Agilent HPLC 1200) comprenant un système de pompage, un injecteur automatique, un compartiment colonne thermostaté, un détecteur à barrette de diodes et un de fluorescence.

Le système doit être optimisé pour diminuer les volumes morts de la chaîne. Utiliser une chambre de mélange de 200 µl. La colonne doit être connectée directement à la sortie de l'injecteur (sans passer par la vanne du four pour colonne). La sortie de la colonne se connecte directement au DAD puis au fluo.

6.2.3 Réactifs

Tous les produits chimiques et solvants ont été achetés chez Sigma-Aldrich ou VWR.

6.2.4 Protocole

6.2.4.1 Préparation de la gamme

6.2.4.1.1 Solution mère des étalons internes

Dans une fiole de 25 mL, introduire :

- 58 mg de norvaline
- 44 mg de sarcosine
- Ajouter 12 mL d'HCl 0,1 mol/L puis « sonifier » jusqu'à dissolution
- QSP avec de l'eau.

6.2.4.1.2 Solution fille des étalons internes

Dans une fiole de 10 mL, introduire :

- 0,1 mL de solution mère
- QSP avec de l'HCl 0,05 mol/L

6.2.4.1.3 Solution mère d'acides aminés :

Dans une fiole de 25 mL, introduire :

- 59 mg d'asparagine
- 59 mg d'hydroxyproline
- 65 mg de glutamine
- 92 mg de tryptophane
- Ajouter 12 mL d'HCl 0,1 mol/L puis « sonifier » jusqu'à dissolution

- QSP avec de l'eau.

6.2.4.1.4 Solution fille d'acides aminés :

Dans une fiole de 20 mL, introduire :

- 0,1 mL de solution mère
- QSP avec de l'HCl 0,05 mol/L

6.2.4.1.5 Préparation de la gamme d'étalonnage

Préparer la solution de calibration dans un flacon de 15 mL :

Sol. fille (mL)	Ampoule à 100 pmol (mL)	HCl 0,05 mol/L (mL)
0,9	0,9	0,2

Préparation des points de gamme directement dans les flacons :

Std	Sol. calibration (mL)	Sol. fille (mL)	HCl 0,05 mol/L (mL)
S5	0,9	0,1	-
S3	0,6	0,1	0,3
S2	0,2	0,1	0,7
S1	0,1	0,1	0,8

6.2.4.2 Echantillons à doser :

Dans un flacon de 15 mL :

- Diluer l'échantillon de façon à se trouver dans la gamme de calibration.
- Filtrer la préparation sur membrane GHP à 0,2 µm.
- Reprendre 0,9 mL de la préparation dans un flacon. Ajouter 0,10 mL d'étalon interne. Tenir compte de cette dilution dans l'expression des résultats.

6.2.4.3 Préparation des réactifs de dérivation

6.2.4.3.1 o-PhtalAldéhyde (OPA)

L'OPA est commercialisé dans des ampoules de 1 mL sous gaz inerte pour prévenir son oxydation.

Transférer l'OPA dans un insert et le stocker à 5 °C. Dans ces conditions le réactif est stable une semaine.

Changer de flacon tous les jours.

6.2.4.3.2 FluorénylMéthOxyCarbonyl (FMOC)

Le FMOC est sensible à l'humidité. Il est commercialisé dans des ampoules de 1 mL.

Transférer le FMOC dans un insert et le stocker à 5 °C. Dans ces conditions le réactif est stable une semaine.

Changer de flacon tous les jours.

6.2.4.4 Conditions chromatographiques

6.2.4.4.1 Programme de dérivation

- Draw 1.4 µl from borate vial (2) (p/n 5061-3339)
- Draw 1.0 µl from sample vial
- Mix 2.4 µl in wash port five times
- Wait 0.2 minutes
- Draw 0.4 µl from OPA vial (3) (p/n 5061-3335)
- Mix 2.8 µl in wash port 10 times default speed
- Draw 0.4 µl from FMOC vial (4) (p/n 5061-3337)
- Mix 3.2 µl in wash port 10 times default speed
- Wait 0.2 minutes
- Draw 16 µl from injection diluent vial (5)
- Mix 19 µl in wash port 10 times
- Wait 0.1 minutes
- Inject
- Wait 0.1 minutes
- Valve bypass

6.2.4.4.2 Méthode de chromatographie

La méthode de chromatographie utilisée ensuite est la Méthode 4.

6.3 PROCEDURE 3 : DOSAGE DES SUCRES

6.3.1 Principe

Dosage des sucres simples (rhamnose, arabinose, fructose, glucose et sucrose) d'un extrait botanique par étalonnage externe en HPLC/ELSD.

6.3.2 Matériels

Système analytique de chromatographie en phase liquide (HPLC) "Agilent 1200SL" équipé d'un détecteur à barrette de diodes (DAD) couplé à un détecteur ELSD (Sedex90, Sedere).

6.3.3 Réactifs

Tous les produits chimiques et solvants ont été achetés chez Sigma-Aldrich ou VWR.

6.3.4 Protocole

6.3.4.1 Préparation de la gamme

Les étalons de calibration sont obtenus par des dilutions (p/p) en cascade dans l'eau, à partir d'une solution mère (S0) des 5 sucres. Passer les solutions au vortex pendant 1 min pour solubiliser les étalons.

6.3.4.1.1 Solution mère

S0	Masse étalon (g)	Pureté fournisseur	[C] S0 %
Rhamnose	0,2	≥ 99 %	2
Arabinose	0,2	≥ 99 %	2
Fructose	0,2	≥ 99 %	2
Glucose	0,2	≥ 99,5 %	2
Sucrose	0,2	≥ 99,5 %	2
Eau	9,0		
Total	10,0		

6.3.4.1.2 Gamme de concentrations

Standards	S0 (g)	S1 (g)	Eau (g, QSP)	[C] %
S1	2,5	-	10	0,5
S2	1,0	-	10	0,2
S3	-	2,0	10	0,1
S4	-	0,4	10	0,02

6.3.4.1.3 Echantillon de qualification (QC)

Un échantillon QC indépendant à 0,1 % est préparé par dilution (p/p) d'une seconde solution mère à 1% de chacun des sucres (S0').

6.3.4.1.4 Préparation des échantillons

Les extraits à doser sont préparés par solubilisation dans l'eau, 0,5 g d'extrait dans 5 g d'eau (10 %). Pour faciliter la solubilisation, passer la solution au vortex puis aux ultrasons pendant environ 15 min. Si la solubilisation est difficile, la solution peut être préparée à 5 %.

Réaliser trois prises d'essais indépendantes par échantillon.

Prélever et filtrer 1 mL d'échantillon sur membrane GHP 0,2 µm puis transférer dans un flacon adapté.

6.3.4.1.5 Méthode chromatographique

La méthode de chromatographie utilisée est la Méthode 3.

CARACTERISATION

7.1 HARPAGOSIDE COMMERCIAL

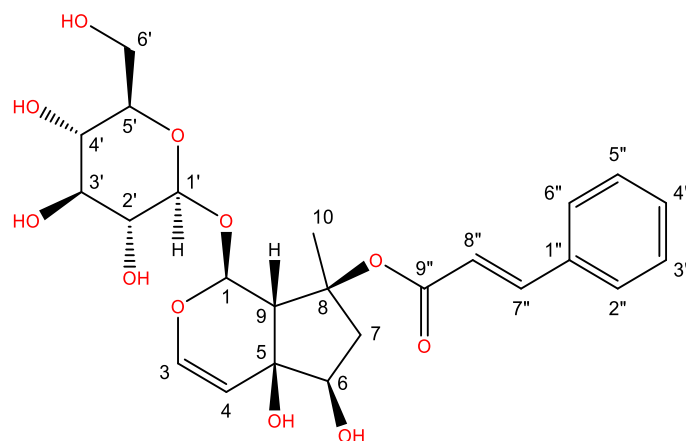


Figure 140. Structure de l'harpagoside commercial

Les caractéristiques de l'harpagoside sont décrites ci-après, ainsi que ses signaux RMN.

Forme : Solide amorphe blanc cassé

Formule brute : $C_{24}H_{30}O_{11}$

RMN 1H et ^{13}C (DMSO- d_6 , 400 MHz et 100 MHz respectivement)

Tableau 131. Attribution des signaux RMN 1H et ^{13}C (J en Hz) de l'harpagoside commercial (DMSO- d_6 , 400 MHz et 100 MHz respectivement)

δ_c	δ_H (Hz)	N $^{\circ}C$	N $^{\circ}H$	COSY	HMBC
Aglycone					
22,67	1,57 ; s	10	10	-	8 ; 7 ; 9
46,24	2,04 ; dd (15,29 ; 4,51)	7	7a	7b ; 6	10
46,24	2,30 ; td (15,21 ; 1,43 ; 1,23)	7	7b	7a ; 6 ; 9	8 ; 6 ; 5 ; 9
55,66	2,97 ; m (1,63 ; 1,50)	9	9	4 ; 1	5 ; 4 ; 8 ; 1
73,46	-	5	-	-	-
77,75	3,80 ; dd (4,61 ; 1,23)	6	6	7a ; 7b	8 ; 5 ; 4
88,81	-	8	-	-	-
94,68	6,21 ; d (1,50)	1	1	9	5 ; 1' ; 3
106,94	4,97 ; dd (6,48 ; 1,63)	4	4	3 ; 9	3 ; 9 ; 6
143,96	6,44 ; d (6,44)	3	3	4	4 ; 1 ; 5 ; 9
Glucose					
63,04	3,76 ; dd	6'	6'a	6'b ; 5'	-
63,04	3,97 ; dd	6'	6'b	6'a ; 5'	-
71,82	3,36 ; t	4'	4'	5' ; 3'	-
74,60	3,25 ; t	2'	2'	1' ; 3'	-
77,70	3,43 ; t	3'	3'	2' ; 4'	-
78,20	3,38 ; m	5'	5'	6'a ; 6'b ; 4'	-
100,07	4,66 ; d	1'	1'	2'	1 ; 2'
Acide caféique					
120,18	6,54 ; d (16,20)	7''	7''	8''	-

129,25	7,62 ; m	2''	2''	-	-
129,25	7,62 ; m	6''	6''	-	-
130,05	7,41 ; m	3''	3''	-	-
130,05	7,41 ; m	5''	5''	-	-
131,52	7,44 ; m	4''	4''	-	-
135,83	-	1''	-	-	-
146,13	7,70 ; d (16,21)	8''	8''	7''	9'' ; 7'' ; 1''
168,75	-	9''	-	-	-

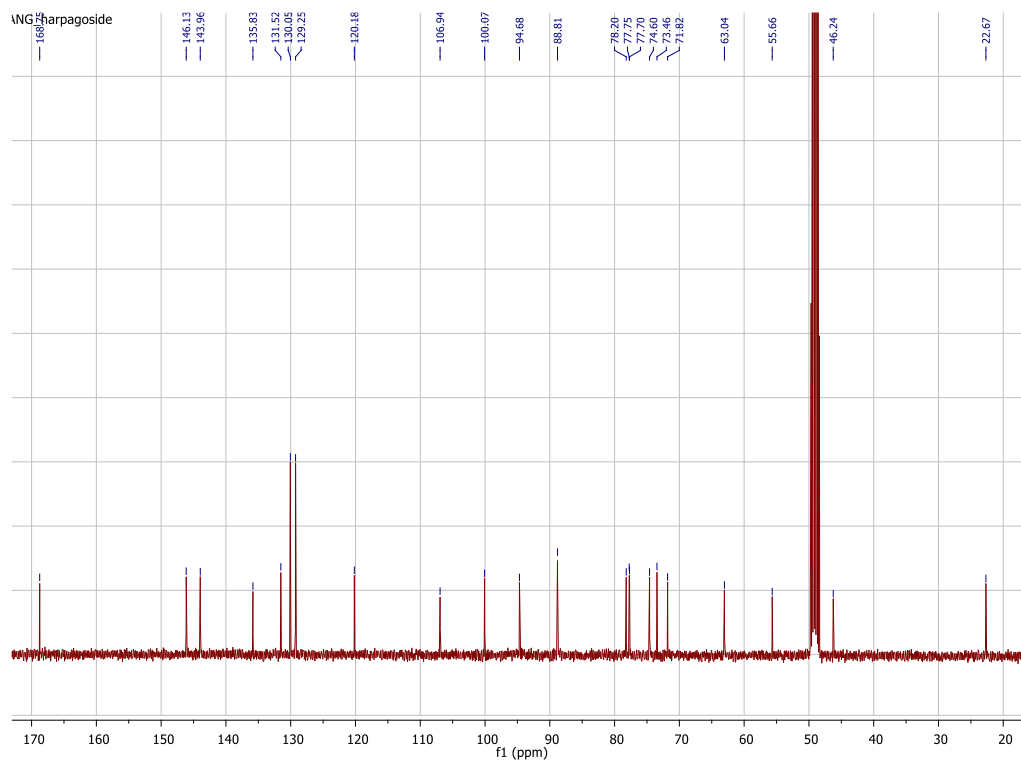


Figure 141. Spectre RMN ^{13}C de l'harpagoside commercial (DMSO- d_6 , 100 MHz)

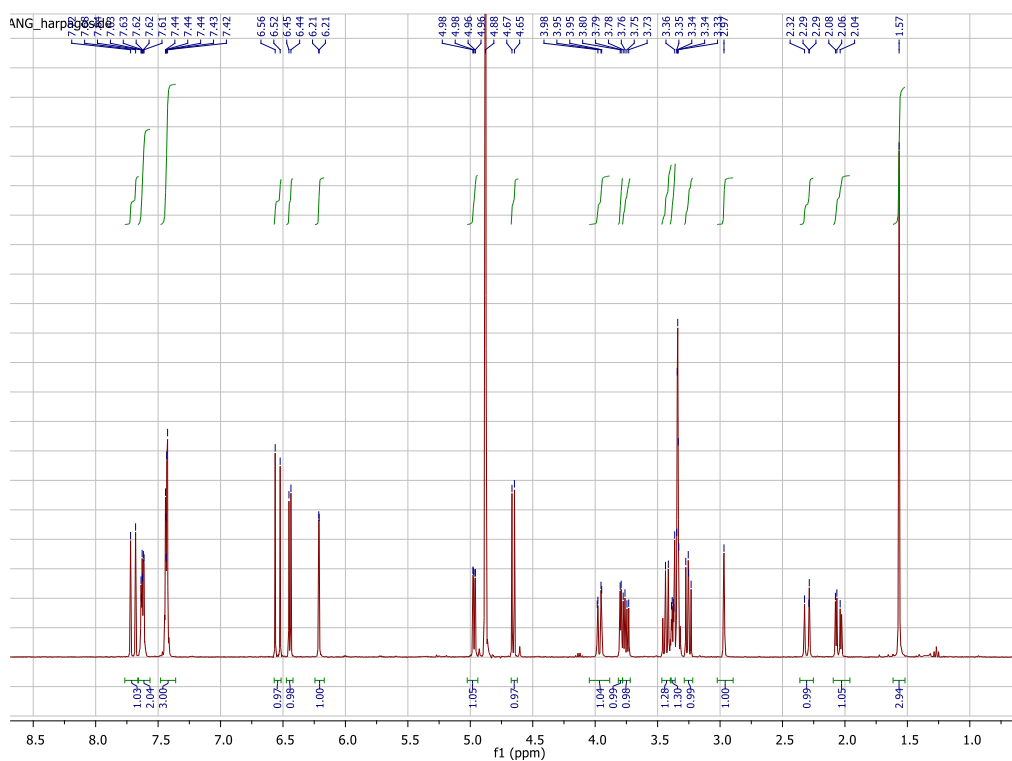


Figure 142. Spectre RMN ^1H de l'harpagoside commercial (DMSO-d_6 , 400 MHz)

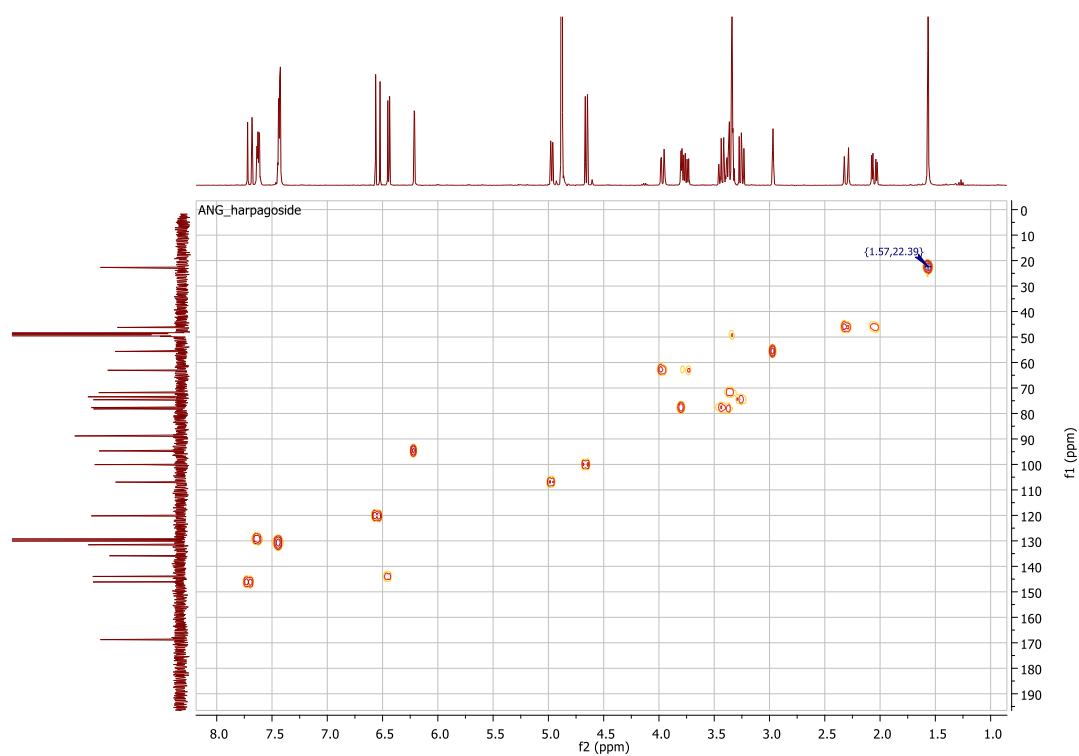


Figure 143. Spectre RMN HSQC de l'harpagoside commercial (DMSO-d_6)

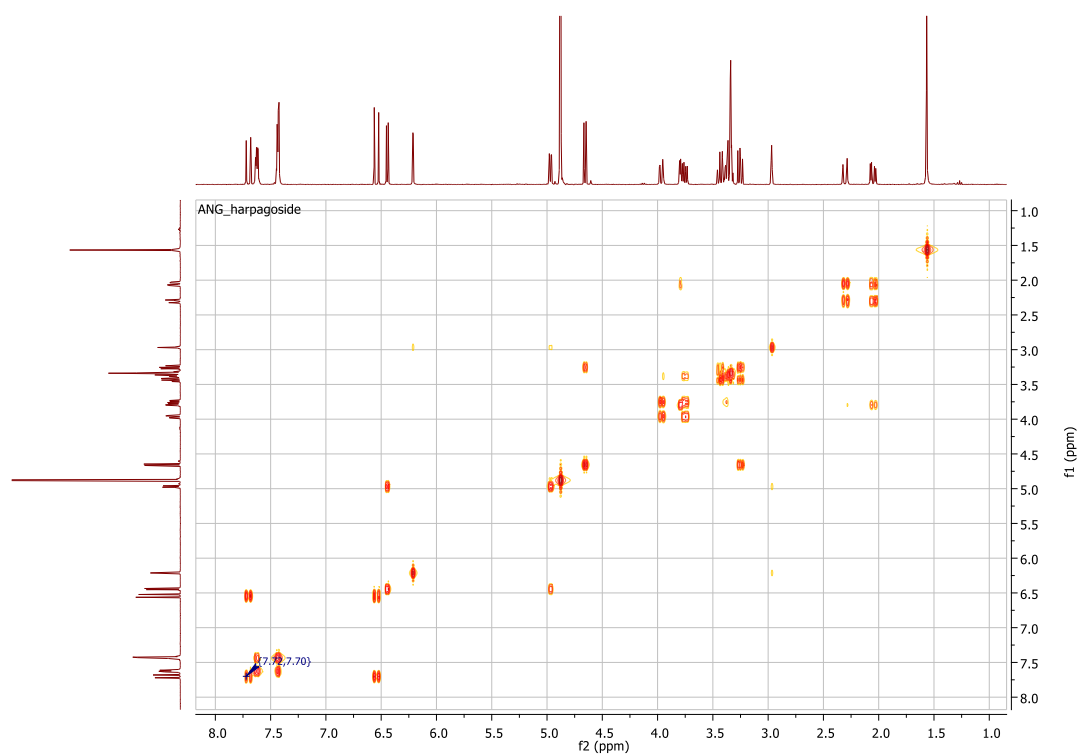


Figure 144. Spectre RMN COSY de l'harpagoside commercial (DMSO- d_6)

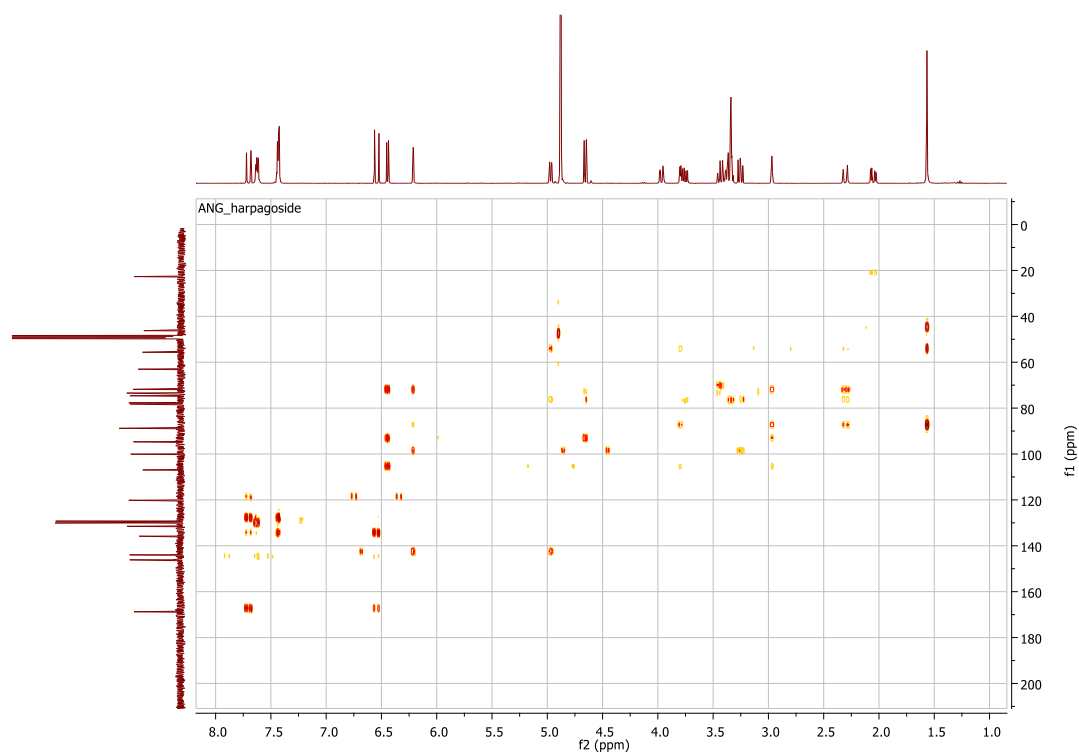


Figure 145. Spectre RMN HMBC de l'harpagoside commercial (DMSO- d_6)

7.2 8-O-ACETHYLPARPAGIDE COMMERCIAL

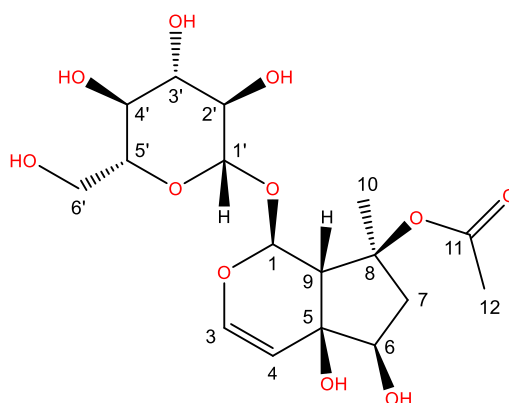


Figure 146. Structure du 8-O-acétylparpagide commercial

Les caractéristiques du composé 3.2 sont décrites ci-après, ainsi que ses signaux RMN.

Forme : Solide amorphe blanc cassé

Formule brute : $C_{17}H_{26}O_{11}$

HRMS : $m/z = 405,1412$: $[M-H]^-$; $m/z = 405,1412$: $[M-H]^-$; $m/z = 345,1187$: $[M-H-OCOCH_3]^-$; $m/z = 165,0549$: $[M-H-2OH-OCOCH_3-C_6H_{12}O_5]^-$; $m/z = 119,0512$: $[Aglycone]^-$

RMN 1H et ^{13}C (DMSO- d_6 , 500 MHz et 125 MHz respectivement)

Tableau 132. Attribution des signaux RMN 1H et ^{13}C (J en Hz) du 8-O-acétylparpagide commercial (DMSO- d_6 , 500 MHz et 125 MHz respectivement)

δ_c	δ_H (Hz)	N°C	N°H	COSY	HMBC
Aglycone					
22,50	1,46 ; s	10	10	-	7 ; 9 ; 8
46,05	1,95 ; dd (15,1 ; 4,5)	7	7a	7b ; 6	10
46,05	2,17 ; td (15,27 ; 1,24)	7	7b	7a ; 6 ; 9	9 ; 5 ; 6 ; 8
55,52	2,85 ; dd (1,5 ; 1)	9	9	4 ; 1	5 ; 8 ; 1 ; 4
73,32	-	5	-	-	-
77,68	3,71 ; m (4,6)	6	6	7a ; 7b	9 ; 8 ; 4
88,64	-	8	-	-	-
94,53	6,07 ; d (1)	1	1	9	4 ; 1 ; 5
106,93	4,91 ; dd (6,4 ; 1,5)	4	4	3 ; 9	9 ; 6 ; 3
143,86	6,38 ; d (6,4)	3	3	4	5 ; 1' ; 3
Acétyl					
22,20	2,02 ; s	12	12	-	11
173,32	-	11	-	-	-
Glucose					
62,87	3,69 ; m (12)	6'	6'a	6'b ; 5'	5' ; 4'
62,87	3,89 ; dd (12 ; 1,4)	6'	6'b	6'a ; 5'	4'
71,72	3,30 ; m	4'	4'	3' ; 5'	-
74,57	3,20 ; dd (9,17 ; 8,08)	2'	2'	3' ; 1'	1' ; 3'
77,68	3,38 ; t (9,17)	3'	3'	2' ; 4'	-
78,21	3,31 ; m	5'	5'	4' ; 6'a ; 6'b	-
99,92	4,59 ; d (7,92)	1'	1'	2'	1 ; 2'

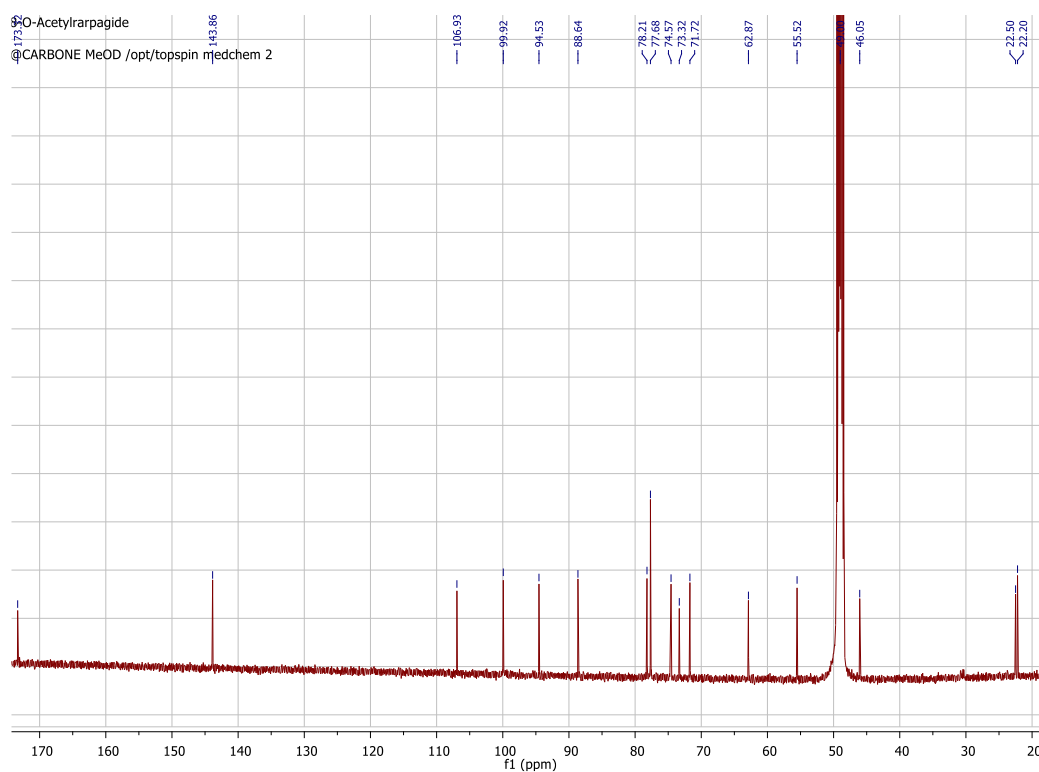


Figure 147. Spectre RMN ^{13}C du 8-O-acétylharpagide commercial (DMSO- d_6 , 125 MHz)

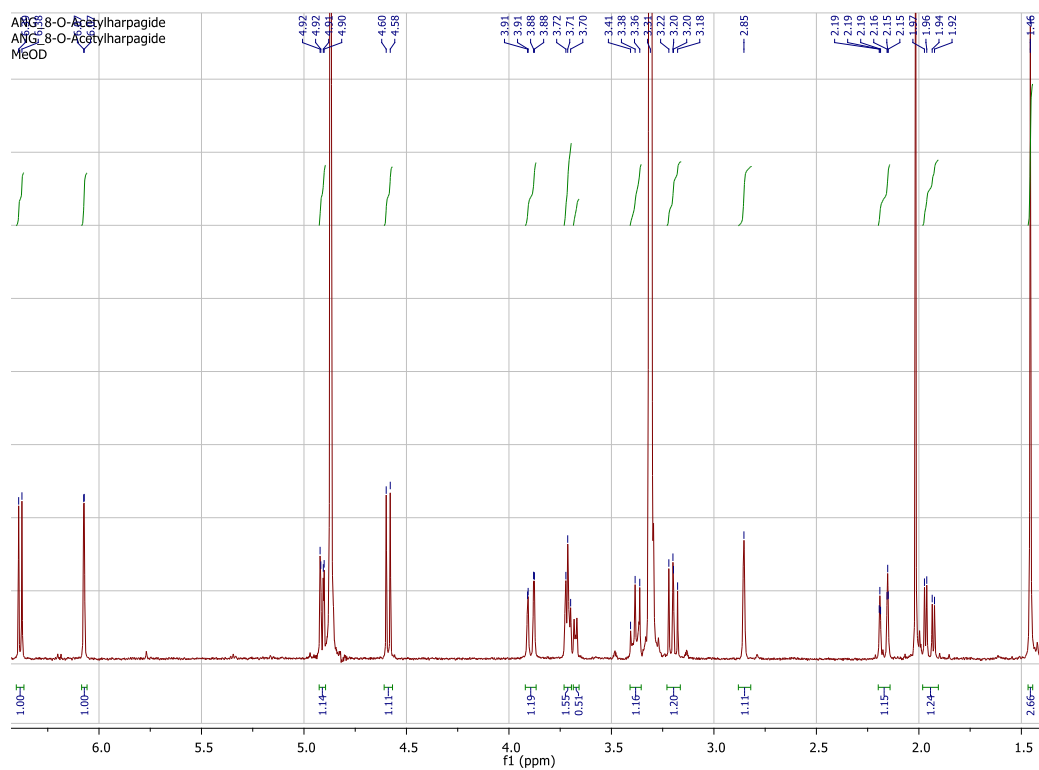


Figure 148. Spectre RMN ^1H du 8-O-acétylharpagide commercial (DMSO- d_6 , 500 MHz)

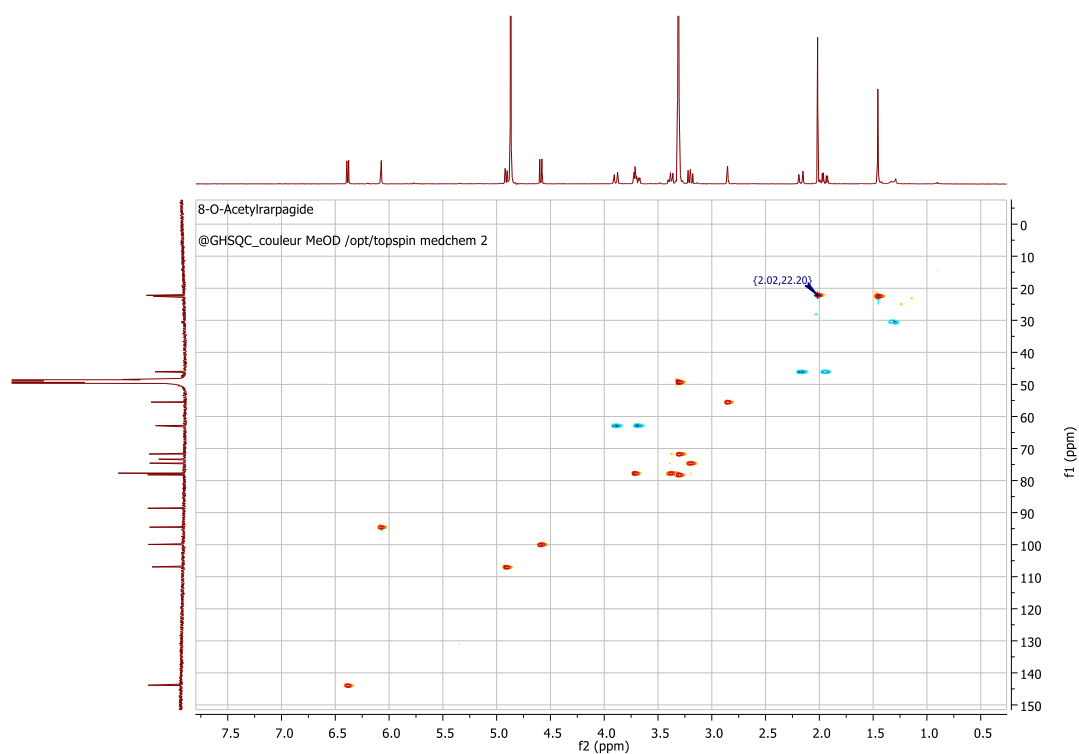


Figure 149. Spectre RMN HSQC du 8-O-acétylharpagide commercial (DMSO-d₆)

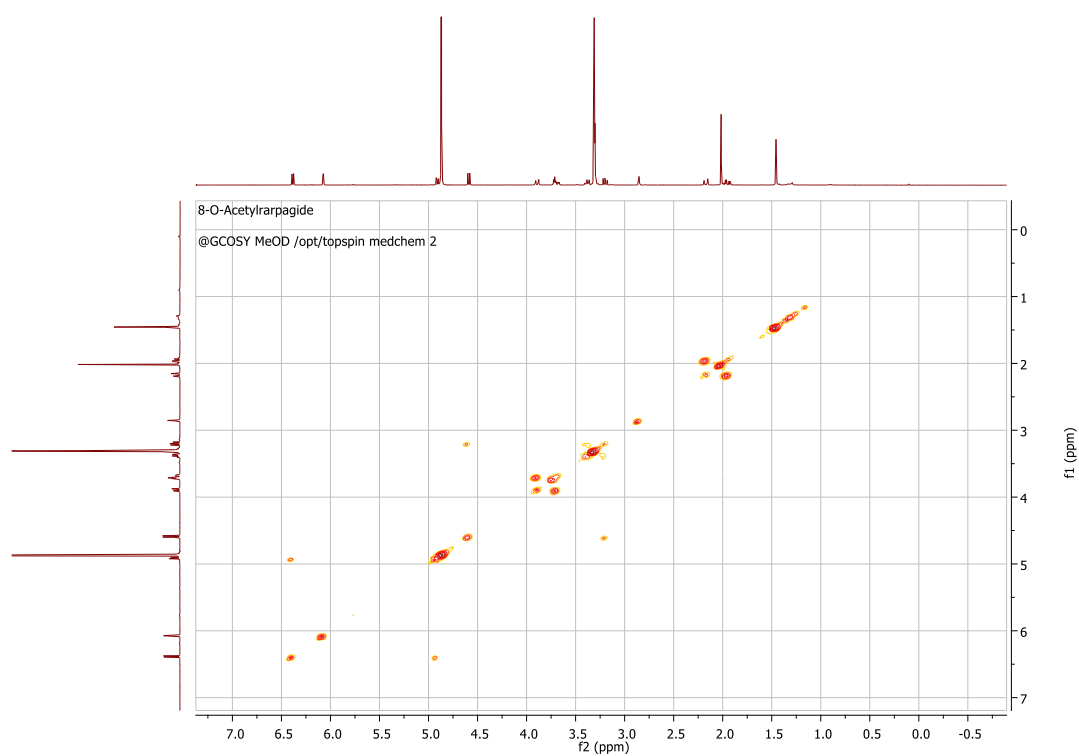


Figure 150. Spectre RMN COSY du 8-O-acétylharpagide commercial (DMSO-d₆)

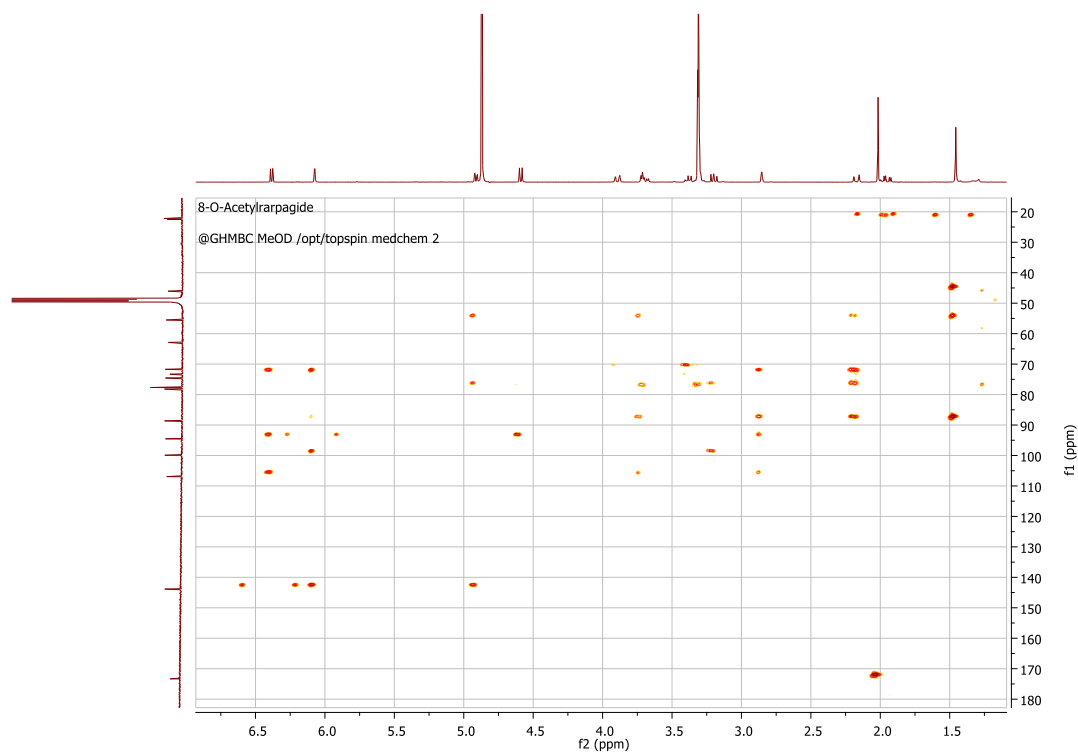


Figure 151. Spectre RMN HMBC du 8-O-acétylharpagide commercial (DMSO- d_6)

7.3 COMPOSE 3.1 (HARPAGIDE)

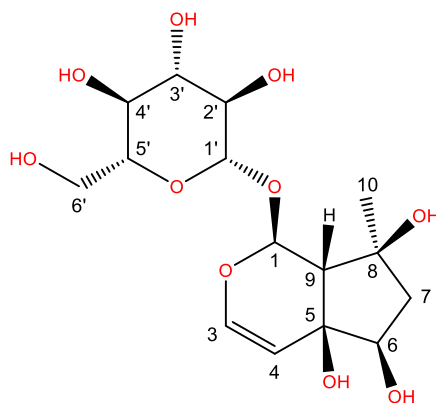


Figure 152. Structure du composé 3.1 (harpagide)

Les caractéristiques du composé 3.1 sont décrites ci-après, ainsi que ses signaux RMN.

Forme : Solide amorphe blanc cassé

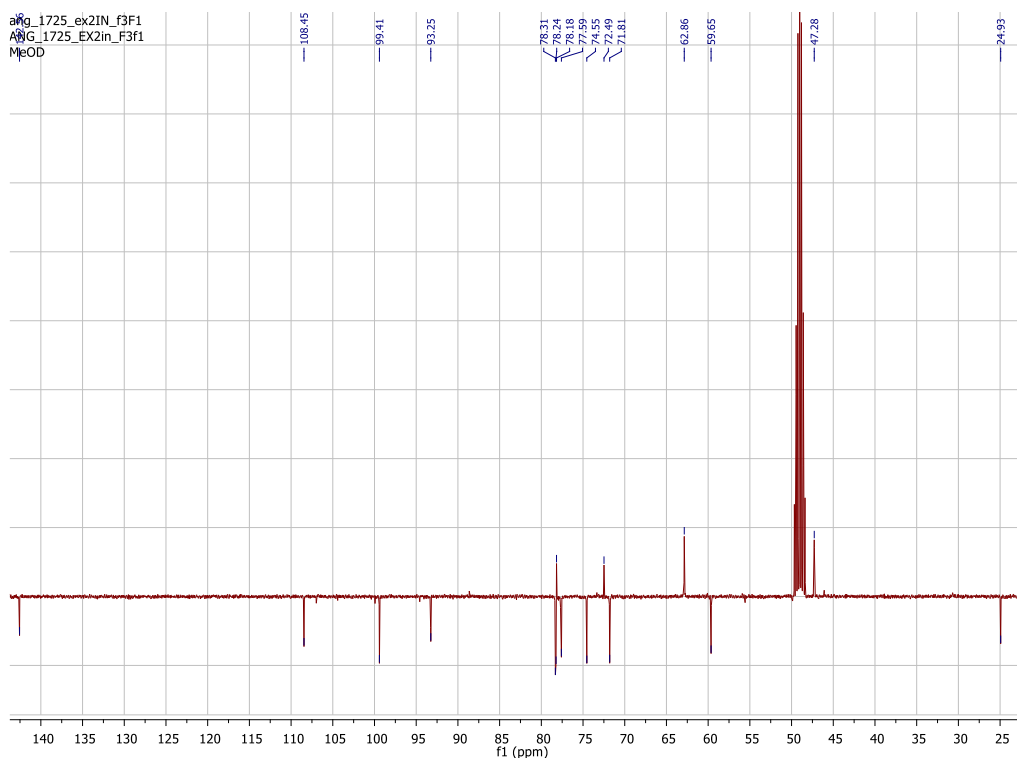
Formule brute : $C_{15}H_{24}O_{10}$

HRMS : $m/z = 363,1300$: $[M-H]^-$; $m/z = 201,0759$: $[M-C_6H_{10}O_5]^-$; $m/z = 165,0549$: $[M-C_6H_{12}O_5-2H_2O]^-$

RMN 1H et ^{13}C (CD $_3$ OD, 400 MHz et 100 MHz respectivement)

Tableau 133. Attribution des signaux RMN ^1H et ^{13}C (J en Hz) du composé 3.1 (CD_3OD , 400 MHz et 100 MHz respectivement)

δ_c	δ_H (Hz)	N $^\circ\text{C}$	N $^\circ\text{H}$	COSY	HMBC
Aglycone					
24,93	1,38 ; s	10	10	-	8 ; 9 ; 7
47,28	1,8 ; dd	7	7a	7b ; 6	8 ; 6 ; 9 ; 10 ; 5
47,28	2,08 ; td	7	7b	7a ; 6 ; 9	8 ; 6 ; 9 ; 10 ; 5
59,65	2,67 ; dd (1,34 ; 0,74)	9	9	4 ; 1	8 ; 5 ; 1 ; 4
72,49	-	5	-	-	-
78,18	-	8	-	-	-
78,31	3,59 ; m	6	6	7a ; 7b	6 ; 9 ; 4
93,25	5,89 ; d (0,74)	1	1	9	5 ; 1' ; 8
108,45	4,89 ; dd (6,41 ; 1,34)	4	4	3 ; 9	3 ; 9 ; 8
142,56	6,37 ; d (6,38)	3	3	4	1 ; 5 ; 4
Glucose					
62,86	3,4 ; dd	6'	6'a	6'b ; 5'	-
62,86	3,7 ; dd	6'	6'b	6'a ; 5'	-
71,81	3,11 ; t	4'	4'	3' ; 5'	-
74,55	2,99 ; t	2'	2'	3' ; 1'	-
77,59	3,18 ; t	3'	3'	2' ; 4'	-
78,24	3,15 ; m	5'	5'	4' ; 6'a ; 6'b	5' ; 4' ; 6'
99,41	4,4 ; d	1'	1'	2'	1 ; 2' ; 5'

Figure 153. Spectre RMN ^{13}C du composé 3.1 (CD_3OD , 100 MHz)

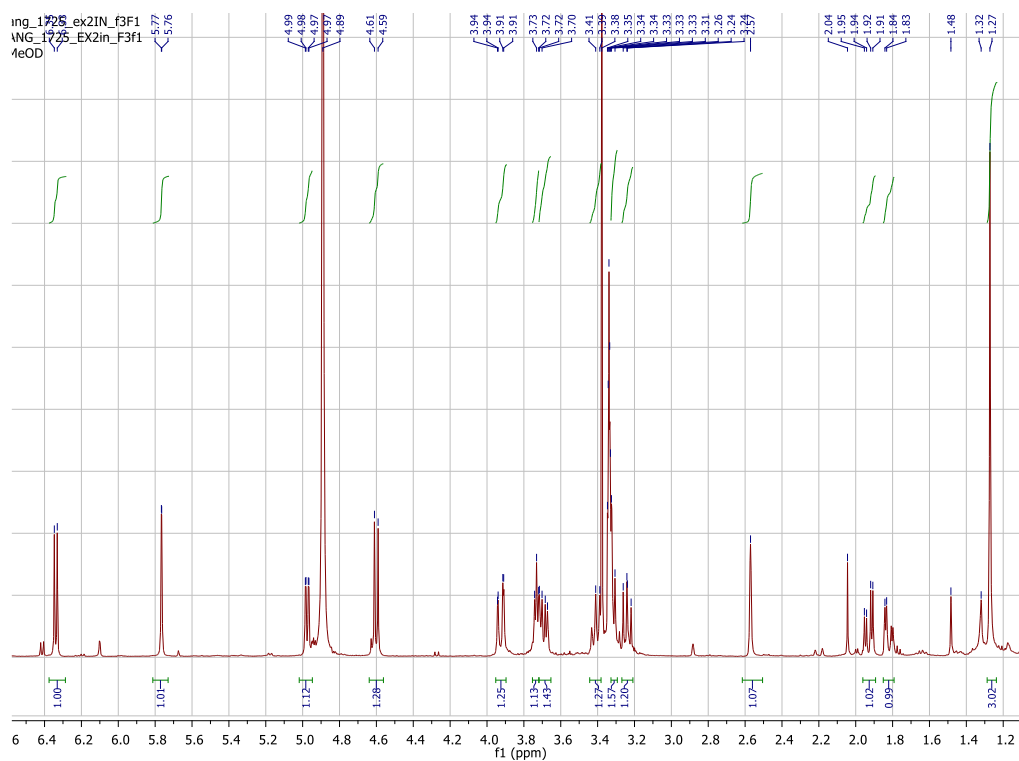


Figure 154. Spectre RMN ^1H du composé 3.1 (CD₃OD, 400 MHz)

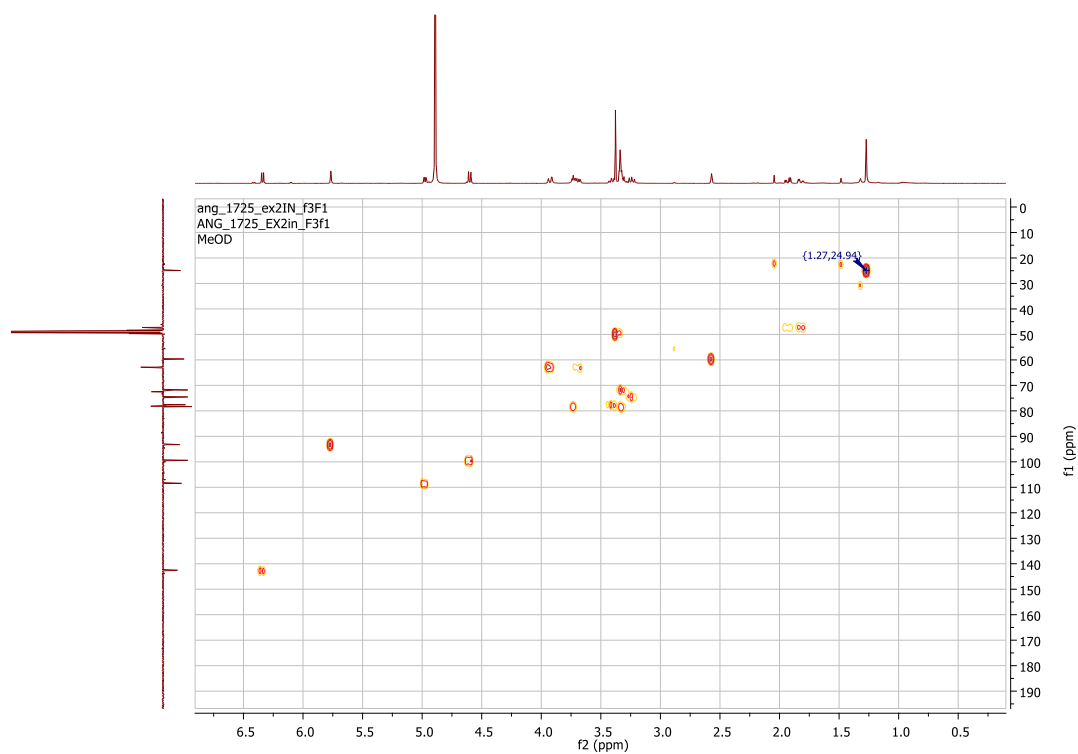


Figure 155. Spectre RMN HSQC du composé 3.1 (CD₃OD)

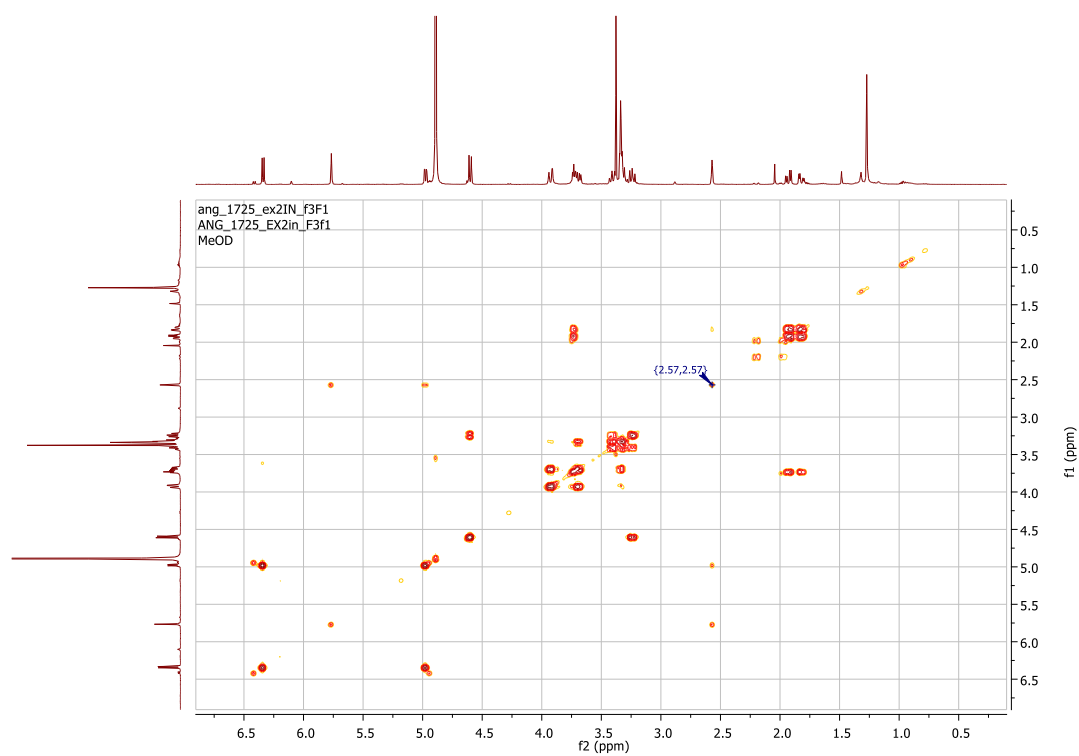


Figure 156. Spectre RMN COSY du composé 3.1 (CD_3OD)

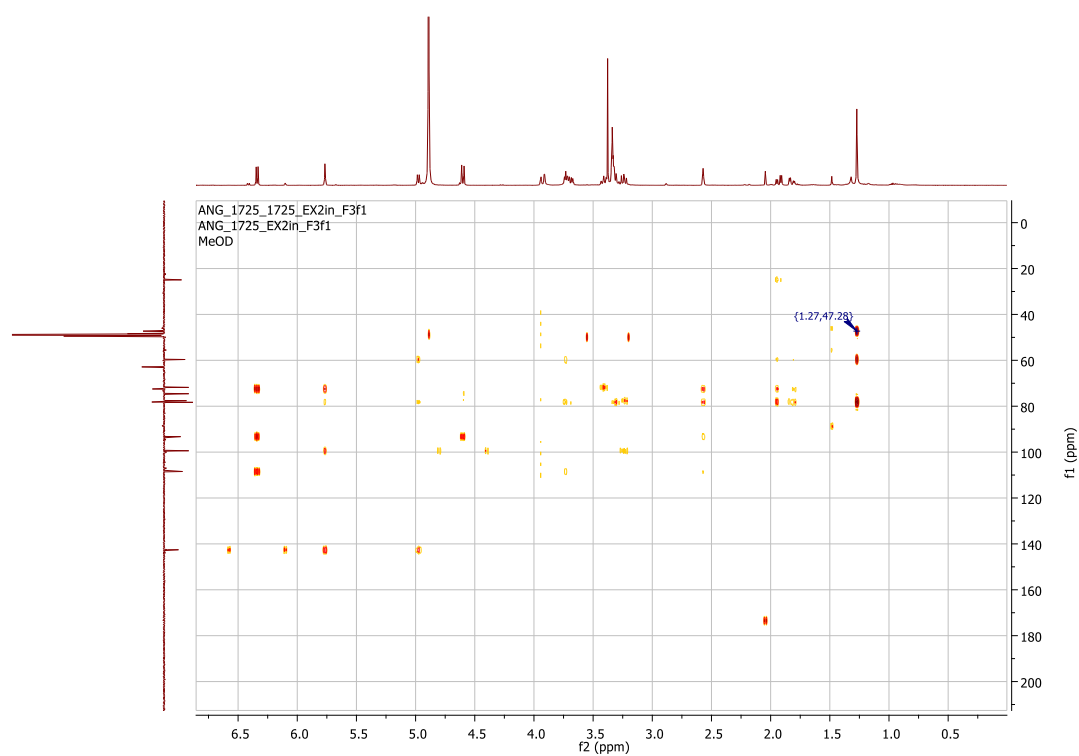


Figure 157. Spectre RMN HMBC du composé 3.1 (CD_3OD)

7.4 COMPOSE 3.2 (8-O-ACETHYLHARPAGIDE)

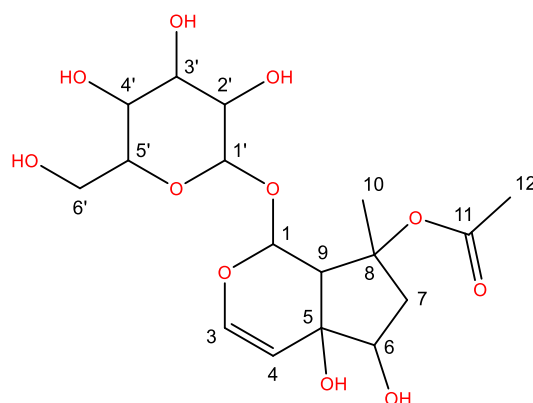


Figure 158. Structure du composé 3.2 (8-O-acétylharpagide)

Les caractéristiques du composé 3.2 sont décrites ci-après, ainsi que ses signaux RMN.

Forme : Solide amorphe blanc cassé

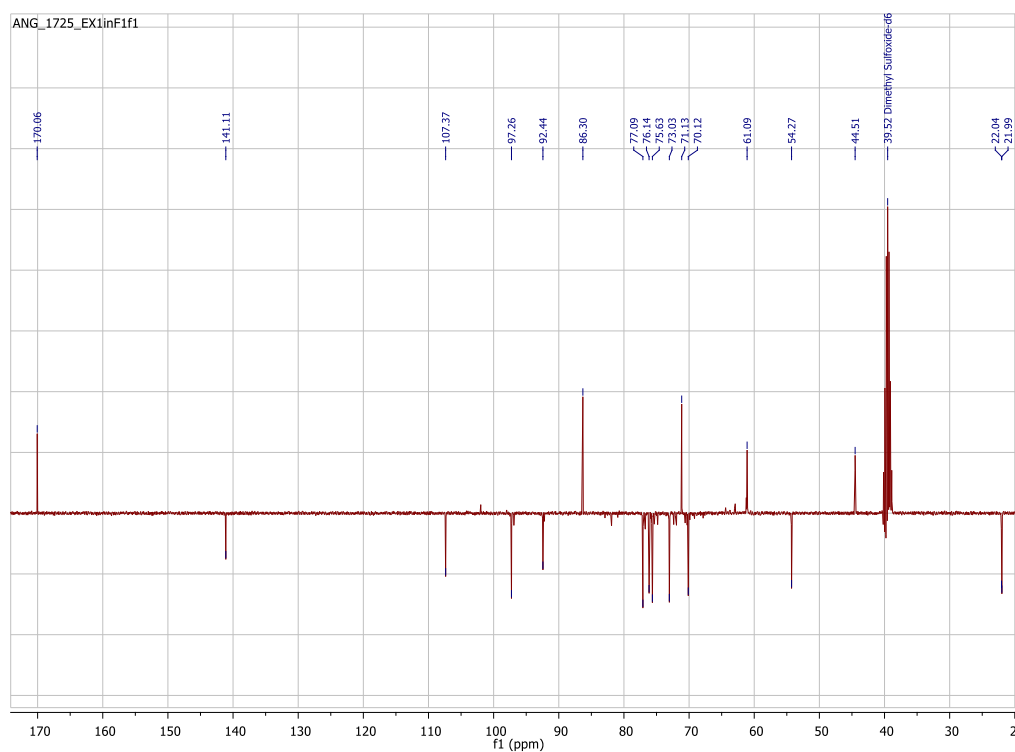
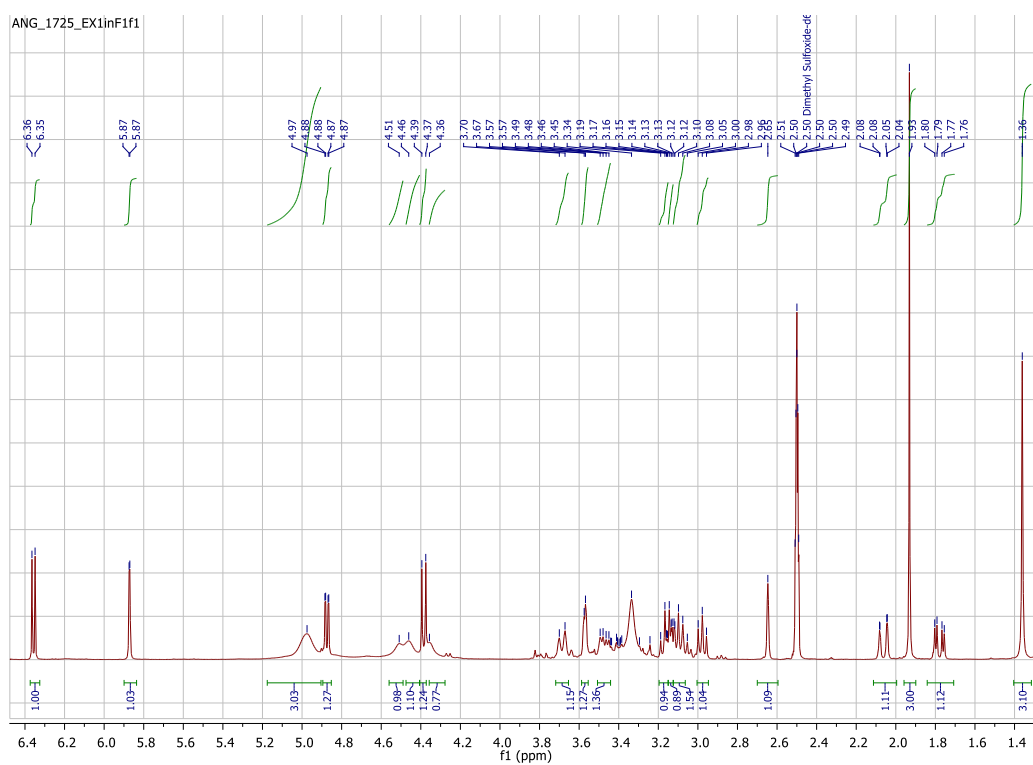
Formule brute : $C_{17}H_{26}O_{11}$

HRMS : $m/z = 405,1412$: $[M-H]^-$; $m/z = 345,1187$: $[M-HOCOCH_3]^-$; $m/z = 165,0549$: $[M-HOCOCH_3-C_6H_{12}O_6]^-$

RMN 1H et ^{13}C (DMSO- d_6 , 400 MHz et 100 MHz respectivement)

Tableau 134. Attribution des signaux RMN 1H et ^{13}C (J en Hz) du composé 3.2 (DMSO- d_6 , 400 MHz et 100 MHz respectivement)

δ_c	δ_H (Hz)	N $^{\circ}C$	N $^{\circ}H$	COSY	HMBC
Aglycone					
22,04	1,38 ; s	10	10	-	8 ; 5 ; 7
44,51	1,8 ; dd (14,64 ; 4,59)	7	7a	7b ; 6	10 ; 9 ; 5 ; 6 ; 8
44,51	2,08 ; td (14,64 ; 2,09 ; 0,99)	7	7b	7a ; 6 ; 9	10 ; 6 ; 9 ; 8 ; 5
54,27	2,67 ; dd (1,54 ; 1,54)	9	9	4 ; 1	8 ; 5 ; 4 ; 1 ; 10
71,13	-	5	-	-	-
75,63	3,59 ; m (4,59 ; 2,09)	6	6	7a ; 7b	-
86,30	-	8	-	-	-
92,43	5,89 ; d (1,54)	1	1	9	5 ; 3 ; 1' ; 8
107,37	4,89 ; dd (6,3 ; 1,54)	4	4	3 ; 9	3 ; 9 ; 6
141,11	6,37 ; d (6,3)	3	3	4	1 ; 5 ; 4 ; 9
Acétyl					
21,99	1,95 ; s	12	12	-	11 ; 8 ; 10
170,05	-	11	-	-	-
Glucose					
61,09	3,4 ; dd (11,63 ; 5,82)	6'	6'a	6'b ; 5'	-
61,09	3,7 ; dd (11,63 ; 2,07)	6'	6'b	6'a ; 5'	-
70,12	3,11 ; t (8,97 ; 8,72)	4'	4'	3' ; 5'	-
73,02	2,99 ; t (9,07 ; 7,92)	2'	2'	3' ; 1'	6 ; 5
76,14	3,18 ; t (9,07 ; 8,97)	3'	3'	2' ; 4'	-
77,09	3,15 ; m (8,72 ; 5,82 ; 2,07)	5'	5'	4' ; 6'a ; 6'b	-
97,26	4,4 ; d (7,92)	1'	1'	2'	-

Figure 159. Spectre RMN ^{13}C du composé 3.2 (DMSO- d_6 , 100 MHz)Figure 160. Spectre RMN ^1H du composé 3.2 (DMSO- d_6 , 400 MHz)

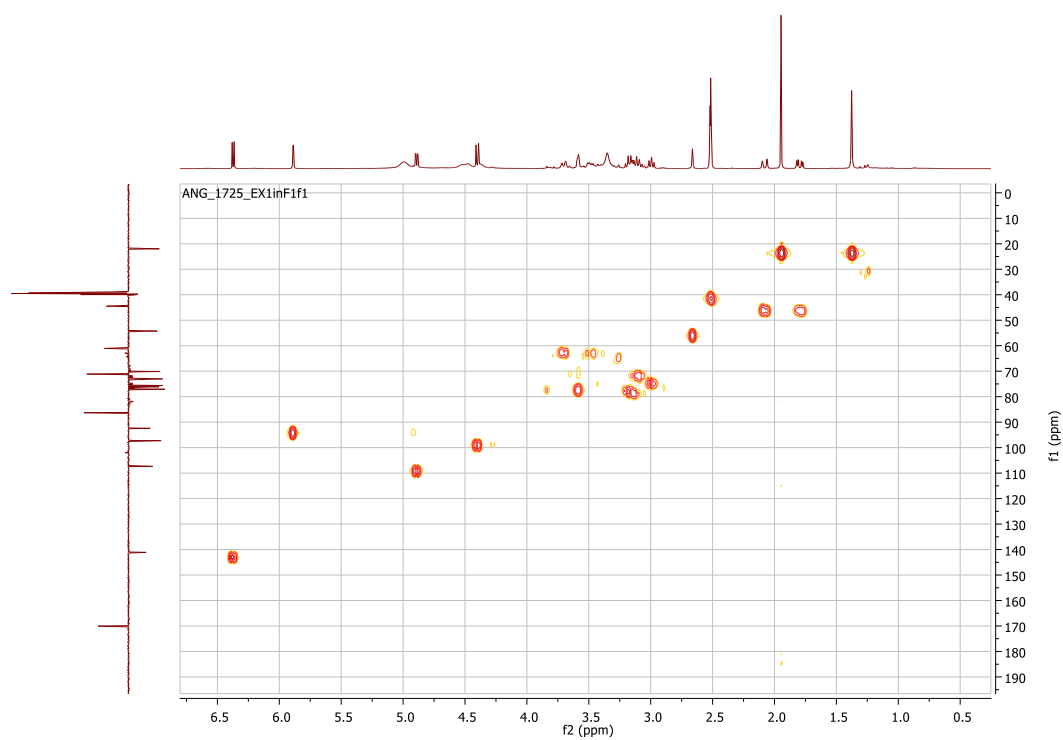


Figure 161. Spectre RMN HSQC du composé 3.2 (DMSO-d₆)

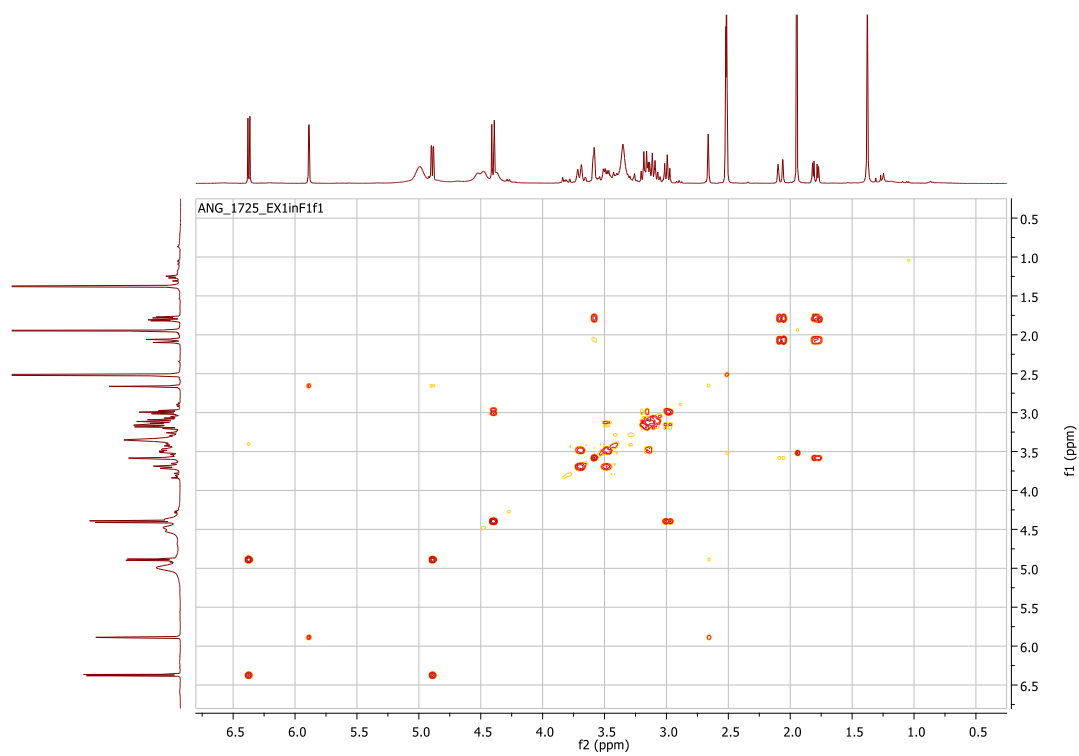


Figure 162. Spectre RMN COSY du composé 3.2 (DMSO-d₆)



The chemical structure depicts a complex molecule with a central sugar moiety. The sugar is a six-membered ring with an oxygen atom at the top position. It is substituted with a hydroxyl group (OH) at the C2 position, a carboxylic acid group (COOH) at the C3 position, and a hydroxyl group (OH) at the C4 position. The C1 position is linked to a phenyl ring (labeled 1' to 6'). The C5 position is linked to a carboxylic acid group (labeled 7' to 10'). The C6 position is linked to a hydroxyl group (labeled 11'). The C1' position is linked to a hydroxyl group (labeled 12'). The C2' position is linked to a hydroxyl group (labeled 13'). The C3' position is linked to a hydroxyl group (labeled 14'). The C4' position is linked to a hydroxyl group (labeled 15'). The C5' position is linked to a hydroxyl group (labeled 16'). The C6' position is linked to a hydroxyl group (labeled 17'). The C1'' position is linked to a hydroxyl group (labeled 18'). The C2'' position is linked to a hydroxyl group (labeled 19'). The C3'' position is linked to a hydroxyl group (labeled 20'). The C4'' position is linked to a hydroxyl group (labeled 21'). The C5'' position is linked to a hydroxyl group (labeled 22'). The C6'' position is linked to a hydroxyl group (labeled 23').

Formule brute : $C_{35}H_{46}O_{20}$

HRMS : $m/z = 785,2565$: $[M-H]^-$; $m/z = 623,2334$: $[M-C_9H_7O_3]^-$; $m/z = 461,1754$: $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5]^-$; $m/z = 315,1143$: $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4]^-$; $m/z = 153,0557$: $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4-C_6H_{10}O_5]^-$
 RMN 1H et ^{13}C (CD_3OD , 500 MHz et 125 MHz respectivement)

Tableau 135. Attribution des signaux RMN 1H et ^{13}C (J en Hz) du composé 3.4 (CD_3OD , 500 MHz et 125 MHz respectivement)

δ_c	δ_H (Hz)	N°C	N°H	COSY
Aglycone				
36,52	2,8 ; td (7,2 ; 3,4)	7	7	8a ; 8b
72,21	3,72 ; m	8	8a	8a ; 7
72,21	4,05 ; m	8	8b	8b ; 7
116,29	6,68 ; d (8,0)	5	5	6
117,14	6,71 ; d (2,0)	2	2	6 ; 2
121,27	6,57 ; dd (8,1 ; 2,0)	6	6	5
131,56	-	1	-	-
146,66	-	4	-	-
146,11	-	3	-	-
Acide caféique				
114,64	6,27 ; d (15,9)	8''	8''	7''
115,18	7,06 ; d (1,9)	2''	2''	6''
116,52	6,78 ; d (8,2)	5''	5''	6''
123,21	6,96 ; dd (8,2 ; 1,9)	6''	6''	5'' ; 2''
127,63	-	1''	-	-
146,86	-	3''	-	-
148	7,6 ; d (15,9)	7''	7''	8''
149,82	-	4''	-	-
168,23	-	9''	-	-
Glucoses				
62,33	3,62 ; m	6'	6'a	6'b ; 5'
62,33	3,65 ; m	6'	6'b	-
62,84	3,71 ; m	G6	G6a	G6b ; G5
62,84	3,81 ; m	G6	G6b	G6a ; G5
70,43	3,81 ; m	G4	G4	-
70,43	4,93 ; t (9,4)	4'	4'	5' ; 6'a ; 6'b
74,87	3,46 ; dd (9,7 ; 3,4)	G5	G5	-
75,97	3,54 ; m	5'	5'	-
76,14	3,38 ; dd (9,1 ; 8,1)	2'	2'	1' ; 3'
76,96	3,52 ; m	G2	G2	-
82,96	3,99 ; m	G3	G3	-
83,04	3,77 ; t	3'	3'	2' ; 4'
104,13	4,38 ; d (7,9)	1'	1'	2'
107,59	4,35 ; d (7,7)	G1	G1	G1
Rhamnose				
18,44	1,05 ; d (6,2)	R6	R6	R5
70,37	3,54 ; m	R5	R5	-
71,82	3,65 ; m	R3	R3	-
72,82	3,58 ; m	R2	R2	R1 ; R3
74,13	3,27 ; t (9,64)	R4	R4	R3 ; R5
102,4	5,57 ; d (1)	R1	R1	R2



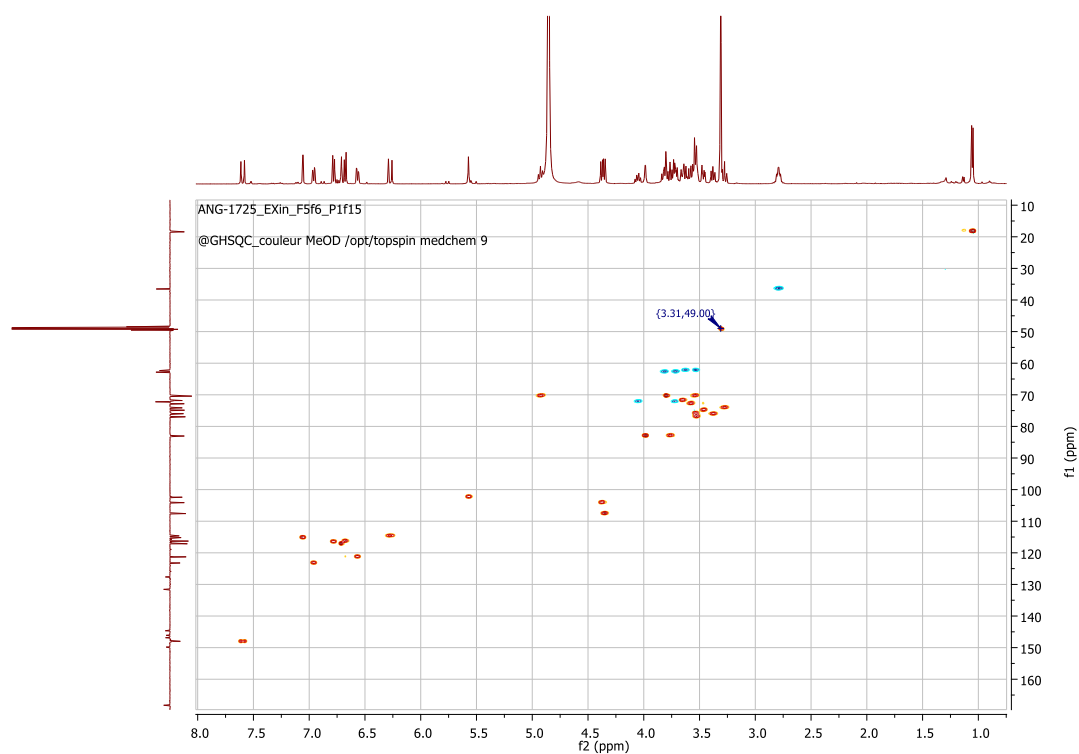


Figure 167. Spectre RMN HSQC du composé 3.4 (CD₃OD)

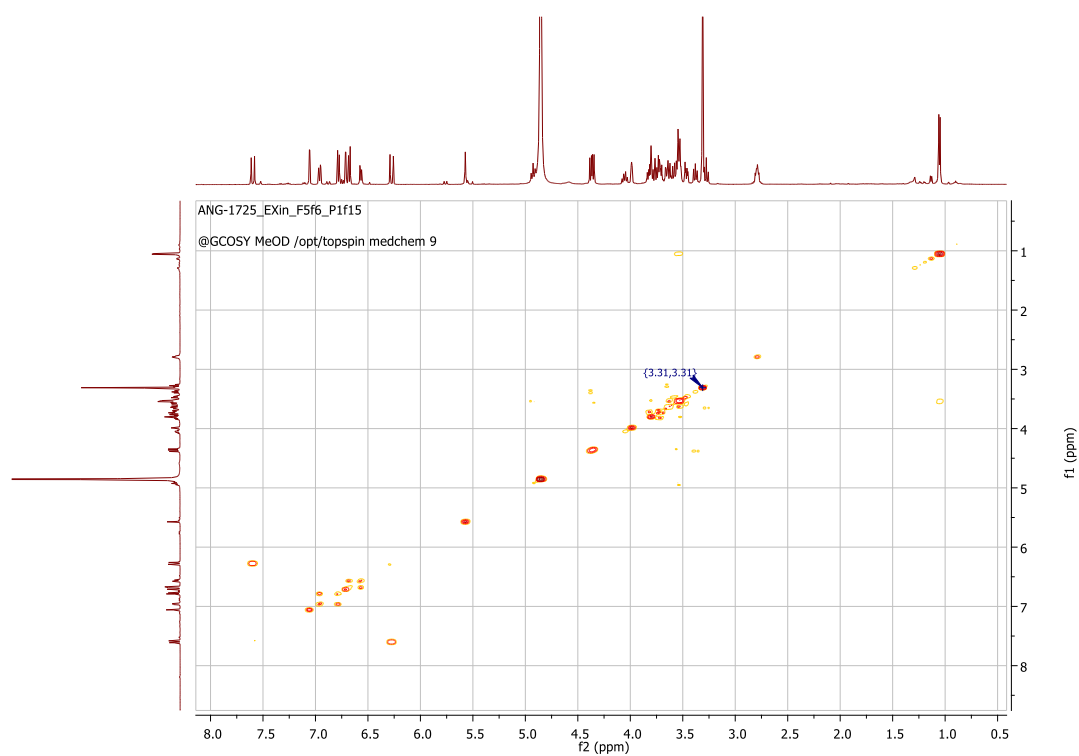


Figure 168. Spectre RMN COSY du composé 3.4 (CD₃OD)

7.6 COMPOSE 3.5 (VERBASCOSIDE)

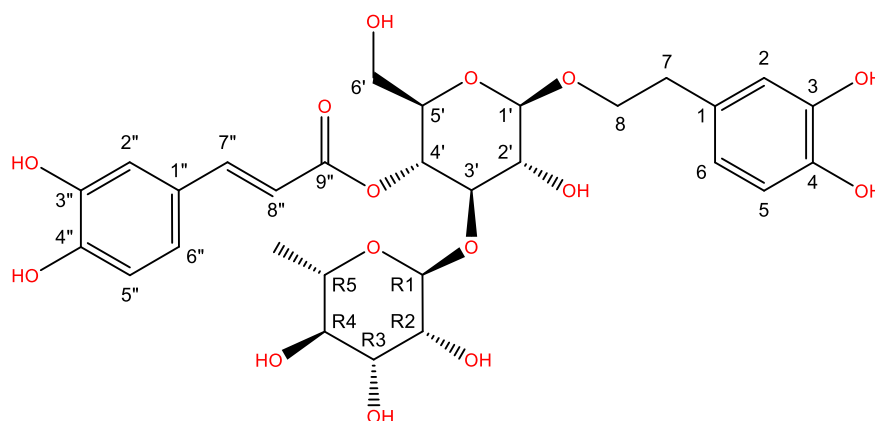


Figure 169. Structure du composé 3.5 (verbascoside)

Les caractéristiques du composé 3.5 sont décrites ci-après, ainsi que ses signaux RMN.

Forme : Solide amorphe blanc cassé

Formule brute : $C_{29}H_{36}O_{15}$

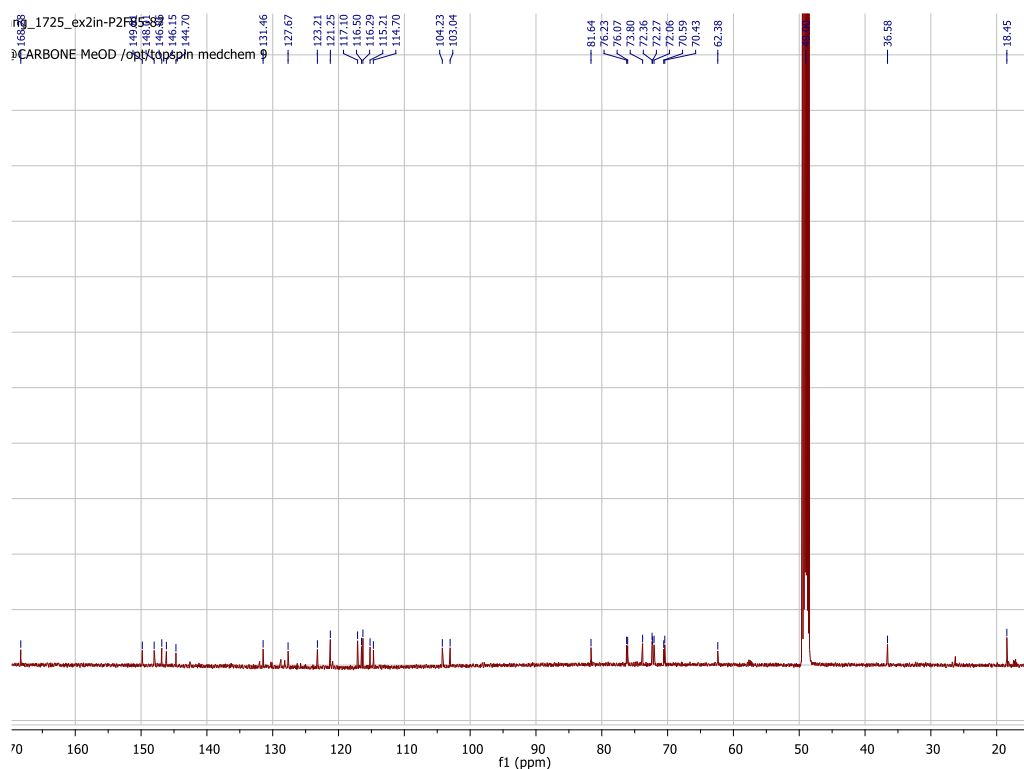
HRMS : $m/z = 623,1975$: $[M-H]^-$; $m/z = 461,1719$: $[M-C_9H_7O_3]^-$; $m/z = 315,1121$: $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_4]^-$; $m/z = 153,0566$: $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_4-C_6H_{10}O_5]^-$

RMN 1H et ^{13}C (CD_3OD , 500 MHz et 125 MHz respectivement)

Tableau 136. Attribution des signaux RMN 1H et ^{13}C (J en Hz) du composé 3.5 (CD_3OD , 500 Mhz et 125 MHz respectivement)

δ_c	δ_H (Hz)	N $^{\circ}C$	N $^{\circ}H$	COSY	HMBC
Aglycone					
36,58	2,8 ; m	7	7	8a ; 8b	1 ; 6 ; 2 ; 8
72,27	3,72 ; m	8	8a	8a ; 7	7 ; G1 ; 1
72,27	4,05 ; m	8	8b	8b ; 7	7 ; G1 ; 1
116,29	6,68 ; d (8)	5	5	6	1 ; 3
117,10	6,70 ; d (1,9)	2	2	6 ; 2	6 ; 4 ; 3 ; 1 ; 7
121,25	6,57 ; dd (8 ; 1,9)	6	6	5	7 ; 4 ; 2
131,46	-	1	-	-	-
146,70	-	4	-	-	-
146,15	-	3	-	-	-
Acide caféique					
114,70	6,27 ; d (15,9)	8''	8''	7'''	1''' ; 9'''
115,21	7,06 ; d (1,8)	2''	2''	6'''	6''' ; 7''' ; 4''' ; 3'''
116,50	6,78 ; d (8,2)	5''	5''	6'''	4''' ; 3''' ; 1''' ; 6'''
123,21	6,96 ; dd (8,2 ; 1,8)	6''	6''	5''' ; 2'''	4''' ; 7''' ; 2''' ; 5'''
127,67	-	1''	-	-	-
146,86	-	3''	-	-	-
148,01	7,6 ; d (15,9)	7''	7''	8'''	9''' ; 1''' ; 6''' ; 8'''
149,81	-	4''	-	-	-
168,28	-	9''	-	-	-
Glucose					
62,38	3,53 ; m	6'	6'a	-	-
62,38	3,62 ; m	6'	6'b	6'a ;	4'
70,59	4,93 ; t (9,40)	4'	4'	3' ; 5'	6' ; 3' ; 5' ; 9''

76,07	3,54 ; m	5'	5'	-	1' ; 4'
76,23	3,38 ; dd (9,30 ; 7,9)	2'	2'	1' ; 3'	3', 1'
81,64	3,80 ; t (9,27)	3'	3'	2' ; 4'	R1 ; 2' ; 4'
104,23	4,38 ; d (7,9)	1'	1'	2'	8 ; 5'
Rhamnose					
18,45	1,10 ; d (6,17)	R6	R6	R5	R4 ; R5
70,43	3,58 ; m	R5	R5	-	-
72,06	3,58 ; m	R3	R3	-	-
72,36	3,92 ; dd (3,39 ; 1,76)	R2	R2	R1 ; R3	R3 ; R4
73,80	3,27 ; t (9,59)	R4	R4	R3 ; R5	R6 ; R5 ; R3
103,04	5,19 ; d (7,94)	R1	R1	R2	3' ; R5 ; R3

Figure 170. Spectre RMN ^{13}C du composé 3.5 (CD_3OD , 125 MHz)

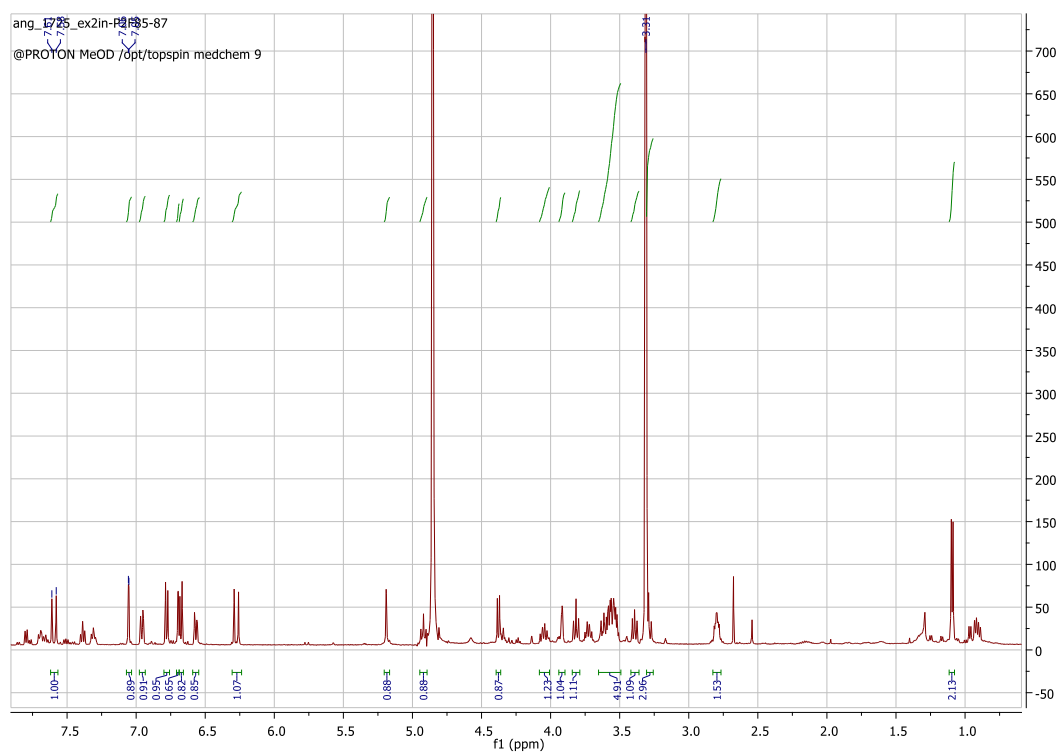


Figure 171. Spectre RMN ^1H du composé 3.5 (CD_3OD , 500 MHz)

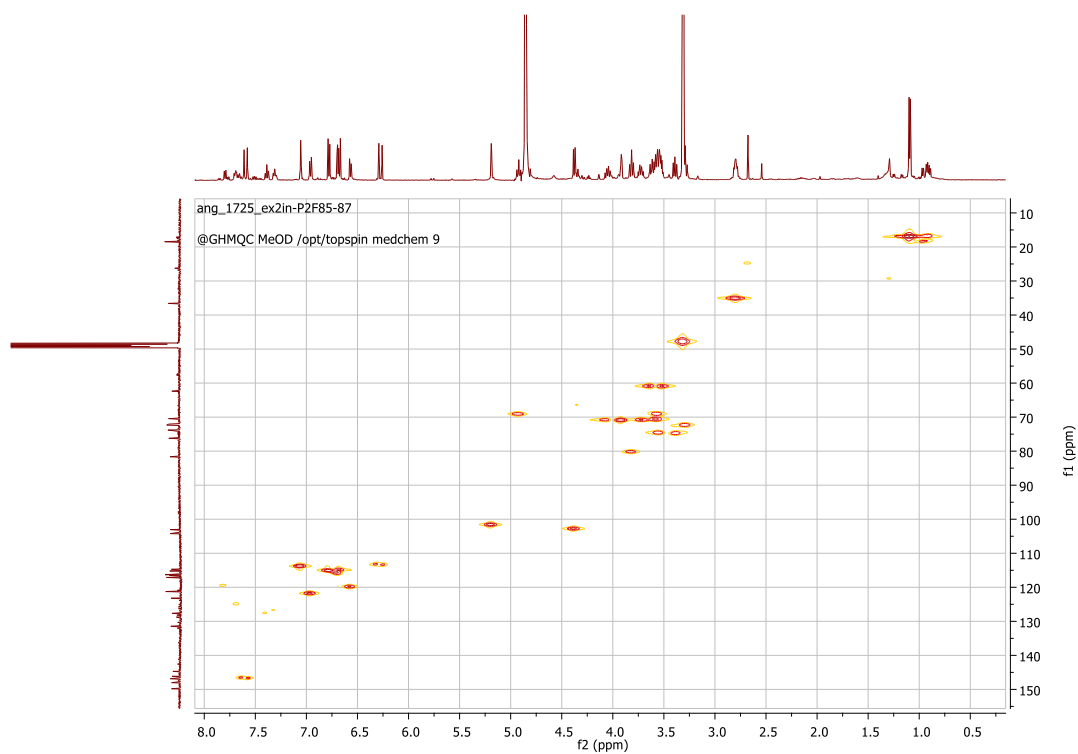


Figure 172. Spectre RMN HSQC du composé 3.5 (CD_3OD)

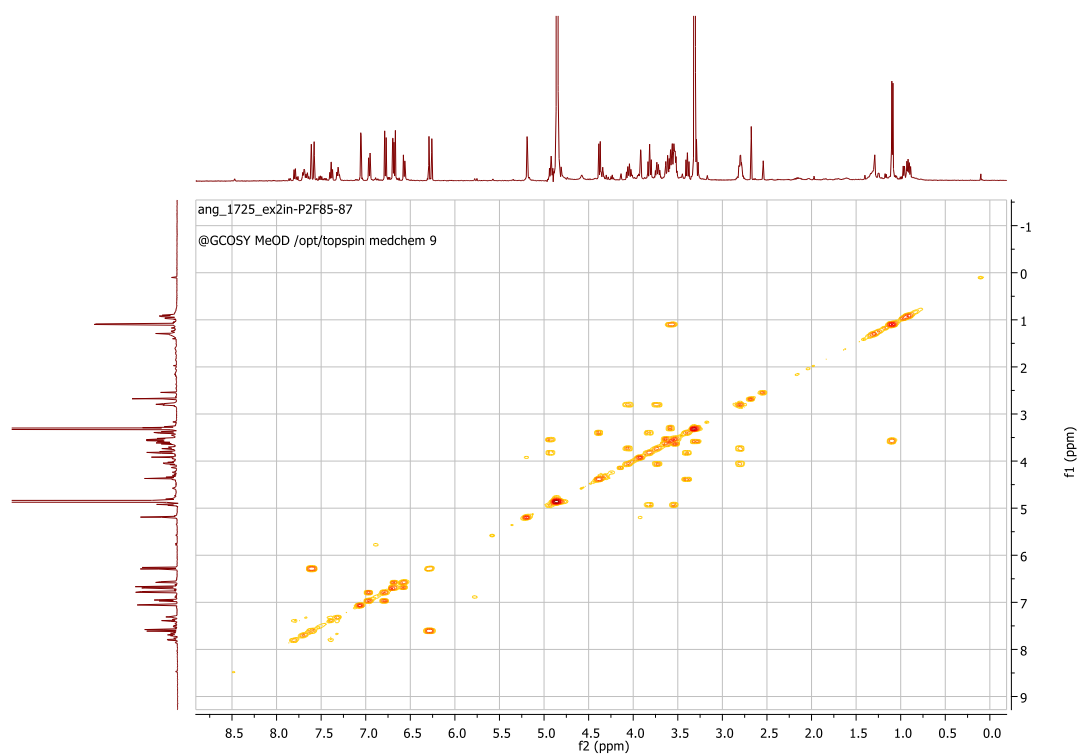


Figure 173. Spectre RMN COSY du composé 3.5 (CD₃OD)

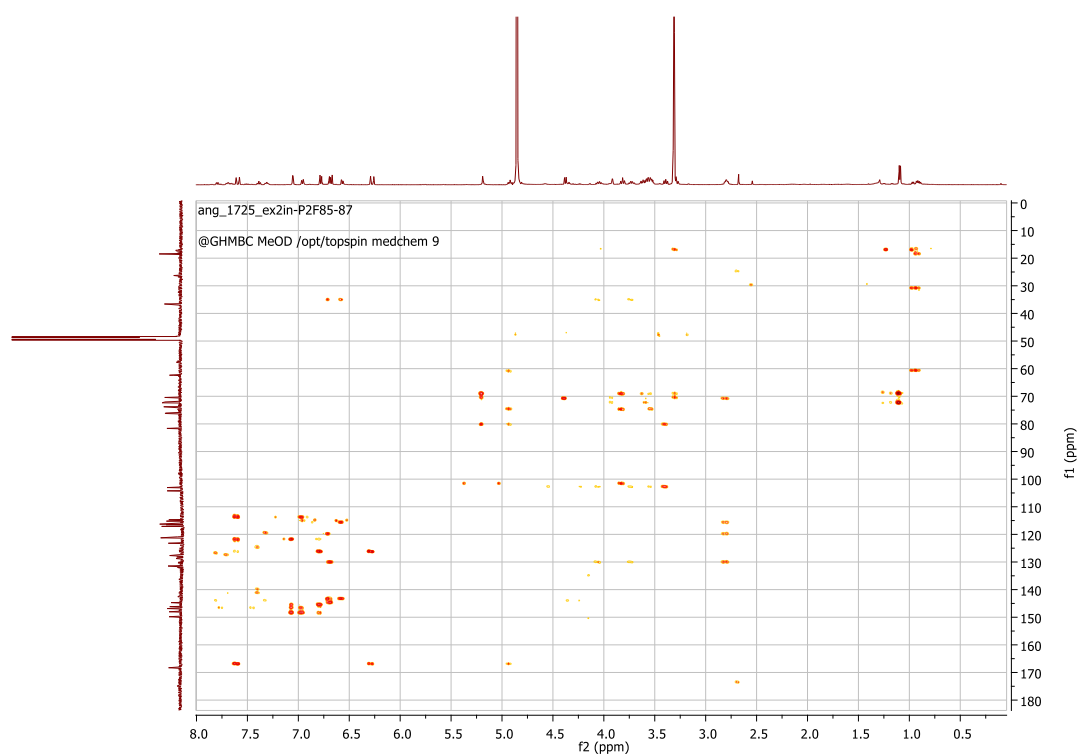


Figure 174. Spectre RMN HMBC du composé 3.5 (CD₃OD)

7.7 COMPOSE 3.7 (TEUPOLIOSIDE)

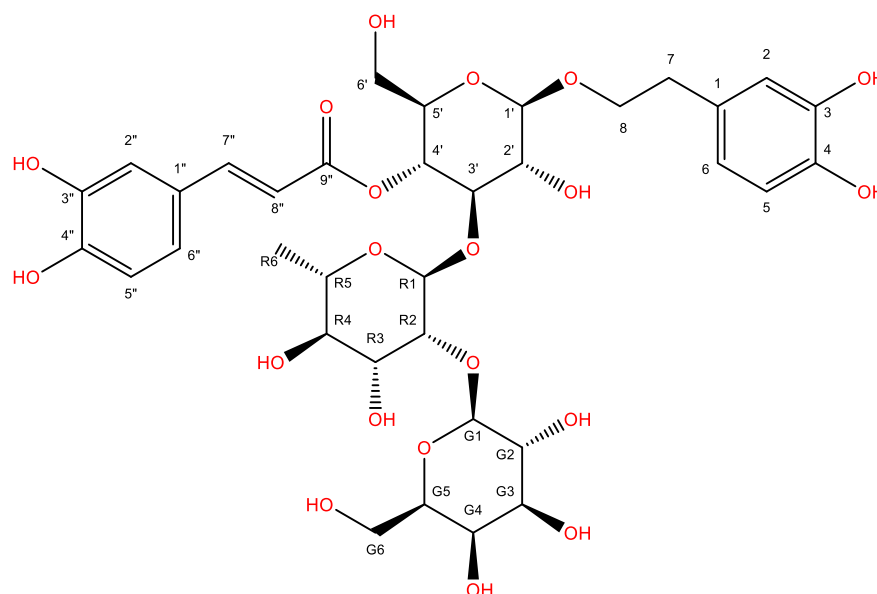


Figure 175. Structure du composé 3.7 (teupolioside)

Les caractéristiques du composé 3.7 sont décrites ci-après, ainsi que ses signaux RMN.

Forme : Solide amorphe blanc cassé

Formule brute : $C_{35}H_{46}O_{20}$

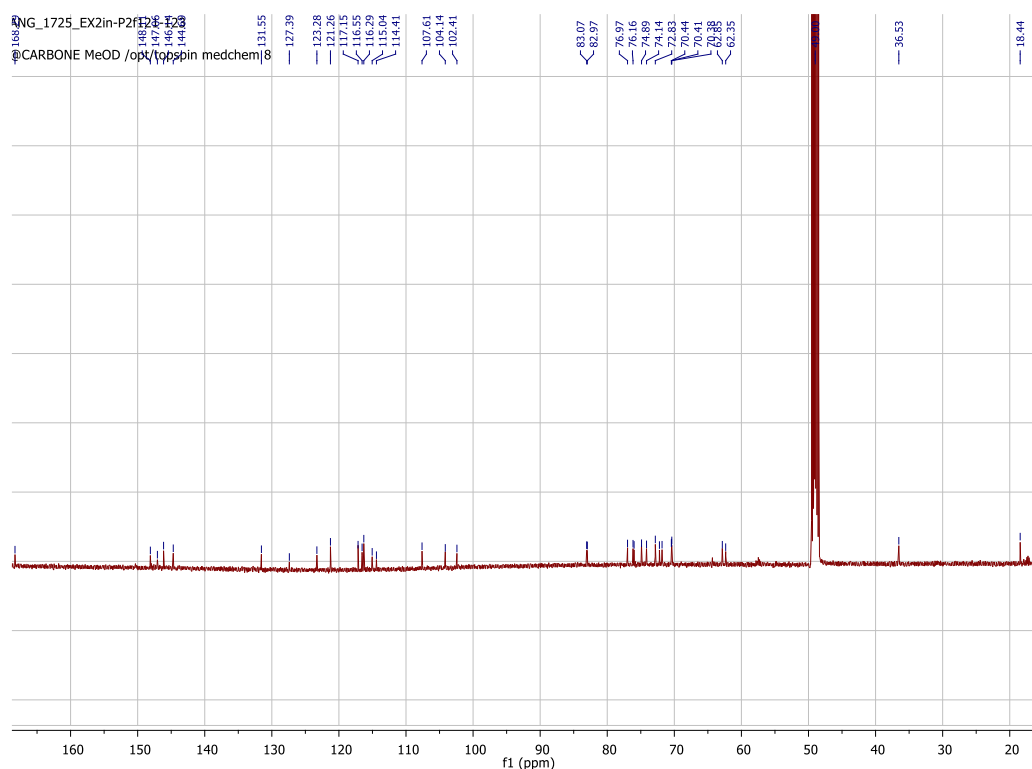
HRMS : $m/z = 785,2565$: $[M-H]^-$; $m/z = 623,2334$: $[M-C_9H_7O_3]^-$; $m/z = 461,1754$: $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5]^-$; $m/z = 315,1143$: $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4]^-$; $m/z = 153,0566$: $[M-C_9H_7O_3-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4-C_6H_{10}O_5]^-$

RMN 1H et ^{13}C (CD_3OD , 500 MHz et 125 MHz respectivement)

Tableau 137. Attribution des signaux RMN 1H et ^{13}C (J en Hz) du composé 3.7 (CD_3OD , 500 MHz et 125 MHz respectivement)

δ_c	δ_H (Hz)	N°C	N°H	COSY	HMBC
Aglycone					
36,53	2,79 ; td (7,2 ; 3,4)	7	7	8a ; 8b	1 ; 6 ; 8 ; 2
72,22	3,72 ; m	8	8a	8a ; 7	7 ; 1' ; 1
72,22	4,05 ; m	8	8b	8b ; 7	7 ; 1' ; 1
116,29	6,67 ; d (8,0)	5	5	6	6 ; 1 ; 4 ; 3
117,15	6,71 ; d (1,9)	2	2	6 ; 2	7 ; 6 ; 4 ; 3 ; 1
121,26	6,57 ; dd (8,1 ; 1,9)	6	6	5	7 ; 4 ; 5 ; 2
131,16	-	1	-	-	-
144,69	-	4	-	-	-
146,14	-	3	-	-	-
Acide caféique					
114,41	6,26 ; d (15,9)	8''	8''	7''	1'' ; 9''
115,04	7,05 ; d (1,9)	2''	2''	6''	6'' ; 3'' ; 7'' ; 4''
116,55	6,77 ; d (8,2)	5''	5''	6''	4'' ; 3'' ; 6'' ; 1''
123,28	6,95 ; dd (8,2 ; 1,9)	6''	6''	5'' ; 2''	4'' ; 5'' ; 7'' ; 2''
127,39	-	1''	-	-	-

147,06	-	3''	-	-	-
148,11	7,59 ; d (15,9)	7''	7''	8''	9'' ; 6'' ; 2'' ; 1'' ; 8''
168,29	-	9''	-	-	-
Glucoses					
62,33	3,62 ; m	6'	6'a	6'b ; 5'	4'
62,33	3,65 ; m	6'	6'b	-	-
62,84	3,71 ; m	G6	G6a	G6b ; G5	-
62,84	3,81 ; m	G6	G6b	G6a ; G5	-
70,43	3,81 ; m	G4	G4	-	-
70,43	4,93 ; t (9,3)	4'	4'	5' ; 6'a ; 6'b	9'' ; 6' ; 5' ; 3'
72,82	3,58 ; m	G3	G3	-	G5
74,87	3,46 ; dd (9,7 ; 3,4)	G5	G5	-	-
75,97	3,54 ; m	5'	5'	-	-
76,14	3,38 ; dd (9,0 ; 8,1)	2'	2'	1' ; 3'	-
76,96	3,52 ; m	G2	G2	-	-
83,04	3,77 ; t	3'	3'	2' ; 4'	R1 ; 4' ; 2'
104,13	4,38 ; d (7,9)	1'	1'	2'	8 ; 2'
107,59	4,35 ; d (7,7)	G1	G1	G1	G3 ; R2
Rhamnose					
18,44	1,05 ; d (6,2)	R6	R6	R5	R4 ; R5
70,37	3,54 ; m	R5	R5	-	-
71,82	3,65 ; m	R3	R3	-	R4 ; R5 ;
74,13	3,27 ; t (9,61)	R4	R4	R3 ; R5	R5 ; R3
82,96	3,98 ; dd (3,70 ; 1,68)	R2	R2	-	G1 ; R3 ; R4
102,4	5,57 ; d (1,1)	R1	R1	R2	3' ; R3 ; R5

Figure 176. Spectre RMN ^{13}C du composé 3.7 (CD_3OD , 125 MHz)

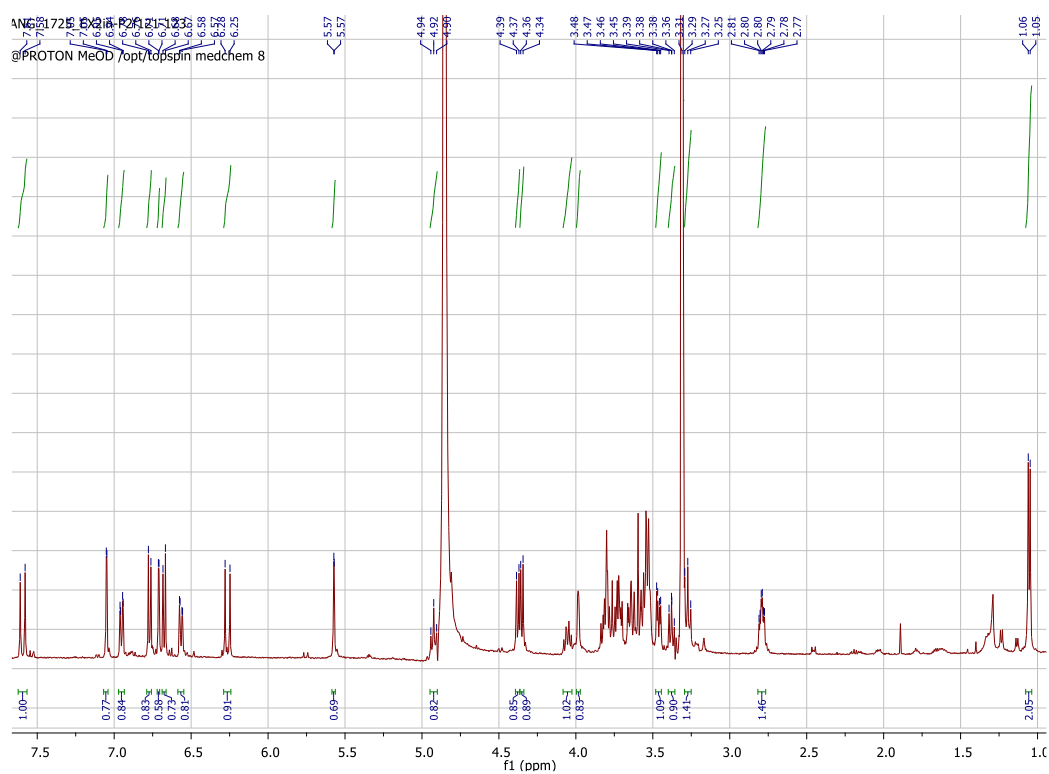


Figure 177. Spectre RMN ^1H du composé 3.7 (CD_3OD , 500 MHz)

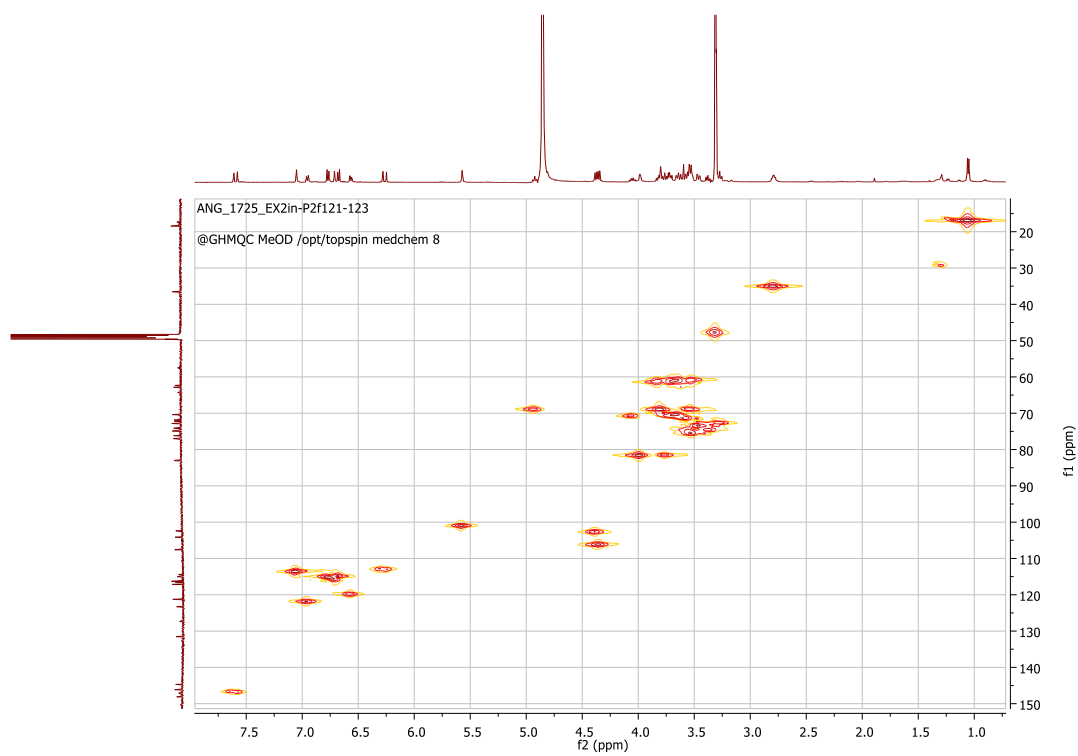


Figure 178. Spectre RMN HSQC du composé 3.7 (CD_3OD)

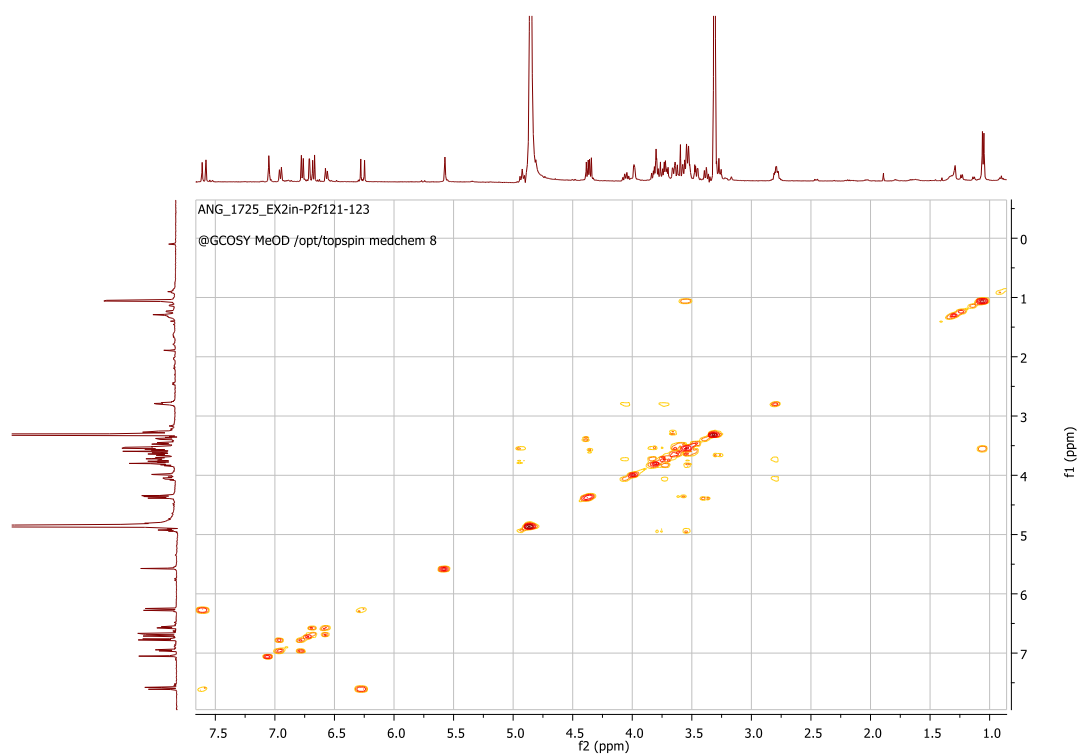


Figure 179. Spectre RMN COSY du composé 3.7 (CD₃OD)

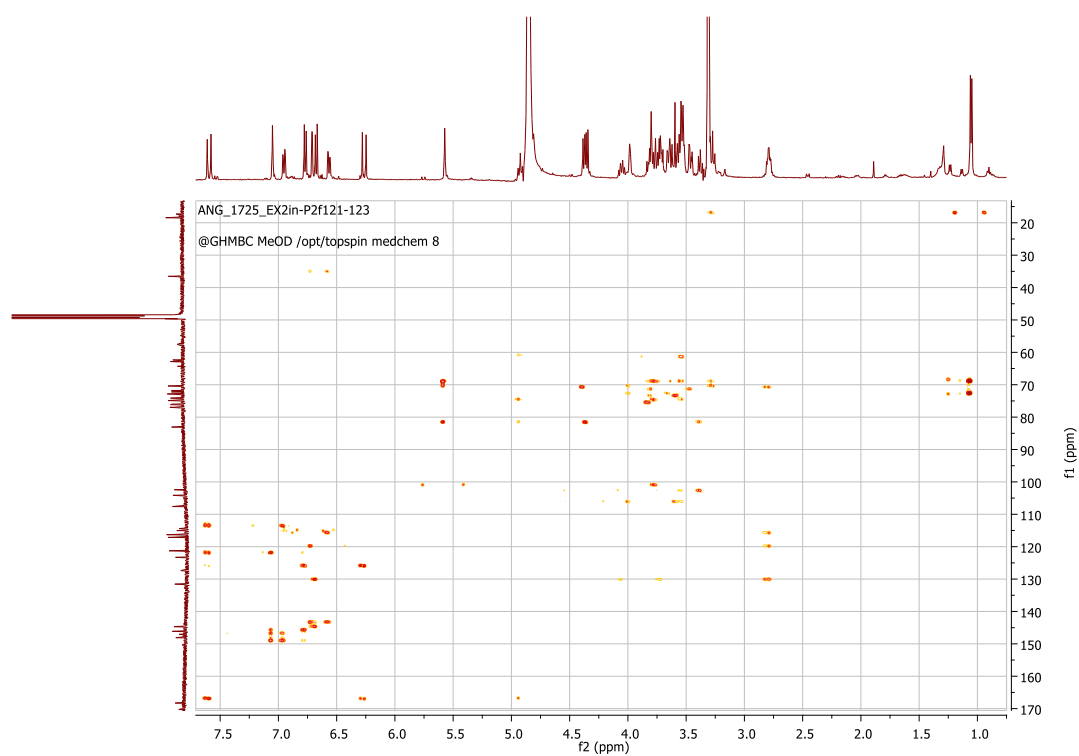


Figure 180. Spectre RMN HMBC du composé 3.7 (CD₃OD)

BIBLIOGRAPHIE

1. Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B. & Kent, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **468**, 895 (2000).
2. Aubert, S. *Jardin botanique Alpin du Lautaret*. (Station alpine Joseph Fourier/ UJF, **2013**).
3. Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R. & Elseviers, M. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet* **365**, 579-587 (2005).
4. Sharma, V. K., Johnson, N., Cizmas, L., McDonald, T. J. & Kim, H. A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere* **150**, 702-714 (2016).
5. Newman, D. J. & Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.* **79**, 629-661 (2016).
6. Search Mintel Reports - Mintel Group Ltd. Disponible sur: https://reports.mintel.com/search/?submit_srch=1&q=new+products&country=0&time=2015&fed_search_id=d8a452ac3566948e1bb1cff70b58f34f&page=1. (Consulté le: 7 janvier 2020)
7. Nutri-Lumière Jour - Clarins. Disponible sur: <https://www.clarins.fr/nutri-lumiere-jour/80058247.html>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
8. SUBLIMAGE L'ESSENCE FONDAMENTALE ULTIME DENSITÉ DE LA PEAU - Soin - CHANEL. Disponible sur: https://www.chanel.com/fr_FR/parfums-beaute/soin/p/par-categorie/serums/sublimage-l_essence-fondamentale-ultime-densite-de-la-peau-p141190.html#skuid-0141190. (Consulté le: 6 janvier 2020)
9. Revitalift Filler [+ Acide Hyaluronique] Jour Crème de jour, Soins de la Peau L'Oréal Paris. Disponible sur: <https://www.loreal-paris.fr/soin-de-la-peau/soin-du-visage/creme-de-jour/revitalift-filler--acide-hyaluronique-jour?varcode=3600522892472>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
10. Halberstein, R. A. Medicinal plants: Historical and cross-cultural usage patterns. *Ann. Epidemiol.* **15**, 686-699 (2005).
11. Loy, T. H., Spriggs, M. & Wickler, S. Direct evidence for human use of plants 28,000 years ago: Starch residues on stone artefacts from the northern Solomon Islands. *Antiquity* **66**, 898-912 (1992).
12. Behre, K. E. Collected seeds and fruits from herbs as prehistoric food. *Veg. Hist. Archaeobot.* **17**, 65-73 (2008).
13. Hastorf, C. A. & DeNiro, M. J. Reconstruction of prehistoric plant production and cooking practices by a new isotopic method. *Nature* **315**, 489-491 (1985).
14. Esteban, I., Albert, R. M., Eixea, A., Zilhão, J. & Villaverde, V. Neanderthal use of plants and past vegetation reconstruction at the Middle Paleolithic site of Abrigo de la Quebrada (Chelva, Valencia, Spain). *Archaeol. Anthropol. Sci.* **9**, 265-278 (2017).

15. Boullard, B. *Plantes médicinales du monde. Croyances et réalités.* (2001).
16. Civil, M. Prescriptions médicales Sumériennes. *Rev. Assyriol. Archeol. Orient.* **54**, 57-72 (1960).
17. Soleymani, S. & Zargaran, A. A Historical Report on Preparing Sustained Release Dosage Forms for Addicts in Medieval Persia, 16th Century AD. *Subst. Use Misuse* **53**, 1726-1729 (2018).
18. Gil, V., Domínguez-Rodríguez, A., Masip, J., Peacock, W. F. & Miró, Ò. Morphine Use in the Treatment of Acute Cardiogenic Pulmonary Edema and Its Effects on Patient Outcome: A Systematic Review. *Curr. Heart Fail. Rep.* **16**, 81-88 (2019).
19. Wichtl, M. & Anton, R. *Plantes thérapeutiques - Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.* (2003).
20. Francis Hallé. *Aux origines des plantes, tome 1.* (Fayard, 2008).
21. Janick, J. Ancient Egyptian agriculture and the origins of horticulture. in *Acta Horticulturae* **582**, 23-39 (International Society for Horticultural Science, 2002).
22. Magnin-Gonze, J. *Histoire de la botanique. Delachaux et Niestlé* (Delachaux et Niestlé, 2004).
23. Touwaide, A. & Appetiti, E. Knowledge of Eastern materia medica (Indian and Chinese) in pre-modern Mediterranean medical traditions: A study in comparative historical ethnopharmacology. *J. Ethnopharmacol.* **148**, 361-378 (2013).
24. Balland, B. *Optique géométrique.* **1**, (2007).
25. Devereaux, A. L., Mercer, S. L. & Cunningham, C. W. DARK Classics in Chemical Neuroscience: Morphine. *ACS Chem. Neurosci.* **9**, 2395-2407 (2018).
26. Pai-Dhungat, J. V., Caventou, Pelletier & - History of quinine. *Journal of Association of Physicians of India* **63**, 58 (2015).
27. Newman, D. J. & Cragg, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod.* **70**, 461-477 (2007).
28. Kingston, D. G. I. Modern Natural Products Drug Discovery and Its Relevance to Biodiversity Conservation. *J. Nat. Prod.* 496-511 (2011). doi:10.1016/B978-0-12-804765-1.00005-9
29. Hanson, J. R., Abel, E. W., Berry, M. & Drayton, C. *Natural Products: The Secondary Metabolites.* (Royal Society of Chemistry, 2003).
30. Graphique: Une décennie de montée en puissance pour les GAFAM | Statista. Disponible sur: <https://fr.statista.com/infographie/20321/evolution-capitalisation-boursiere-des-gafam/>. (Consulté le: 25 février 2020)
31. Chiffre d'affaires mondial du marché pharmaceutique 2001-2017 | Statista. Disponible sur: <https://fr.statista.com/statistiques/564968/marche-pharmaceutique-chiffre-d-affaires-mondial/>. (Consulté le: 6 décembre 2019)
32. Newman, D. J. From natural products to drugs. *Physical Sciences Reviews* **4**, (2019).
33. Euromonitor International | Strategic Market Research, Data & Analysis.

- Disponible sur: <https://www.euromonitor.com/>. (Consulté le: 10 janvier 2020)
34. Maiz, D. Expression Cosmétique, Hors-série - Décembre 2015. **(2015)**.
 35. V.G. Premium Beauty News - Le marché européen des cosmétiques renoue avec une croissance dynamique. **(2016)**. Disponible sur: <http://www.premiumbeautynews.com/fr/le-marche-europeen-des-cosmetiques,9947>.
 36. Nombre d'internautes dans le monde. Disponible sur: <https://www.journaldunet.com/ebusiness/le-net/1071539-nombre-d-internautes-dans-le-monde/>. (Consulté le: 3 janvier 2020)
 37. L'usage d'Internet dans le monde en cinq chiffres | Les Echos. Disponible sur: <https://www.lesechos.fr/tech-medias/hightech/lusage-dinternet-dans-le-monde-en-cinq-chiffres-963228>. (Consulté le: 3 janvier 2020)
 38. Laroche, M., Bergeron, J. & Barbaro-Forleo, G. Targeting consumers who are willing to pay more for environmentally friendly products. *J. Consum. Mark.* **18**, 503-520 **(2001)**.
 39. Biodiversity Hotspots. Disponible sur: <https://www.conservation.org/priorities/biodiversity-hotspots>. (Consulté le: 2 janvier 2020)
 40. Explore the Biodiversity Hotspots | CEPF. Disponible sur: <https://www.cepf.net/our-work/biodiversity-hotspots>. (Consulté le: 2 janvier 2020)
 41. IUCN Red List of Threatened Species. Disponible sur: <https://www.iucnredlist.org/resources/summary-statistics>. (Consulté le: 3 janvier 2020)
 42. International BirdLife. *Ecosystem Profile: Mediterranean Basin Biodiversity Hotspot.* **(2017)**.
 43. Mediterranean Basin | CEPF. Disponible sur: <https://www.cepf.net/our-work/biodiversity-hotspots/mediterranean-basin>. (Consulté le: 3 janvier 2020)
 44. Mediterranean Basin - Species | CEPF. Disponible sur: <https://www.cepf.net/our-work/biodiversity-hotspots/mediterranean-basin/species>. (Consulté le: 3 janvier 2020)
 45. Medail, F. & Quezel, P. Biodiversity hotspots in the Mediterranean Basin: Setting global conservation priorities. *Conserv. Biol.* **13**, 1510-1513 **(1999)**.
 46. Romeiras, M. M. et al. IUCN Red List assessment of the Cape Verde endemic flora: Towards a global strategy for plant conservation in Macaronesia. *Bot. J. Linn. Soc.* **180**, 413-425 **(2016)**.
 47. Aeschimann, D., Lauber, K., Moser, D. M. & Theurillat, J.-P. *Flora alpina 1/3.* (BELIN, **2004**).
 48. Insee - Statistiques locales - Rapports et portraits de territoires. Disponible sur: <https://statistiques-locales.insee.fr/#c=report&chapter=compar&report=r01&selgeo1=reg.93>. (Consulté le: 6 janvier 2020)

49. Auvergne-Rhône-Alpes Tourisme - LES CHIFFRES CLES 2019. Disponible sur: <http://pro.auvergnerhonealpes-tourisme.com/article/les-chiffres-cles-2019>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
50. Notre région en chiffres : quelles données, quelles évolutions ? - Chambre de commerce et d'industrie de région Provence-Alpes-Côte d'Azur (CCIR PACA) - . Disponible sur: <http://www.paca.cci.fr/info-actu-regionale--notre-region-en-chiffres--quelles-donnees-quelles-evolutions--7770.php>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
51. Arrighi, J. & Samyn, S. Insee Analyses - n°40. 4 (**2016**).
52. Biodiversité - Ma Région Sud. Disponible sur: <https://www.maregionsud.fr/la-region-en-action/amenagement-et-developpement-durable/biodiversite>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
53. Portail des parcs nationaux de France |. Disponible sur: <http://www.parcsnationaux.fr/fr>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
54. Actualités et évènements marquants | Jardin Alpin du Lautaret -. Disponible sur: <https://www.jardinalpindulautaret.fr/jardin/actualites>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
55. FLOREALPES : Randonnées botaniques à la journée. Disponible sur: https://www.florealpes.com/randonnee_botanique.php?aff_journee=1&PHPSESSID=. (Consulté le: 6 janvier 2020)
56. Les Chemins de la Biodiversité en Provence-Alpes-Côte d'Azur. Disponible sur: <http://www.cheminsdelabiodiversite.com/>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
57. Le premier jardin alpin du Lautaret (1899-1918) | Jardin Alpin du Lautaret -. Disponible sur: <https://www.jardinalpindulautaret.fr/jardin/histoire-centenaire/premier-jardin-alpin-lautaret-1899-1918>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
58. Le deuxième Jardin alpin du Lautaret (depuis 1919) | Jardin Alpin du Lautaret -. Disponible sur: <https://www.jardinalpindulautaret.fr/jardin/histoire-centenaire/deuxieme-jardin-alpin-lautaret-1919>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
59. Le jardin aujourd'hui | Jardin Alpin du Lautaret -. Disponible sur: <https://www.jardinalpindulautaret.fr/jardin/histoire-centenaire/jardin-aujourd'hui>. (Consulté le: 6 janvier 2020)
60. User:Kelvin13 - Wikimedia Commons. Disponible sur: <https://commons.wikimedia.org/wiki/User:Kelvin13>. (Consulté le: 20 janvier 2020)
61. Encyclopédie Larousse en ligne - chimie latin médiéval chimia du grec médiéval khêmeia.
62. Encyclopédie Littré en ligne - phyton - définition, citations, étymologie.
63. Bruneton, J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. (Éditions médicales internationales Editions Technique & Documentation*, **1999**).
64. Cseke, L. J. *Natural products from plants*. (CRC/Taylor & Francis, **2006**).
65. Krishnaswamy, N. R. *Chemistry of natural products: a unified approach*. (Universities Press, **2010**).

66. Dewick, P. M. *Medicinal natural products : a biosynthetic approach*. (2009).
67. Harborne, J. B. (Jeffrey B. , Baxter, H. & Moss, G. P. *Phytochemical dictionary : a handbook of bioactive compounds from plants*. (Taylor & Francis, 1999).
68. Martini, M.-C. & Peyrefitte, G. *Esthétique-cosmétique. Tome 2, Cosmétologie BTS esthétique-cosmétique*. (Elsevier, Masson, 2008).
69. Martini, M.-C. & Seiller, M. *Actifs et additifs en cosmétologie*. (Éditions Tec & Doc, 2006).
70. Fu, J. J. J. et al. A randomized, controlled comparative study of the wrinkle reduction benefits of a cosmetic niacinamide/peptide/retinyl propionate product regimen vs. a prescription 0.02% tretinoin product regimen. *Br. J. Dermatol.* **162**, 647-654 (2010).
71. Sivamani, R. K., Jagdeo, J. R., Elsner, P. & Maibach, H. I. *Cosmeceuticals and active cosmetics*. (2005).
72. Réglementation des produits cosmétiques - ANSM: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Disponible sur: [https://www.ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-du-marche-des-produits-cosmetiques/Reglementation-des-produits-cosmetiques/\(offset\)/3](https://www.ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-du-marche-des-produits-cosmetiques/Reglementation-des-produits-cosmetiques/(offset)/3). (Consulté le: 1^{er} mars 2020)
73. Dinda, B., Debnath, S. & Banik, R. Naturally occurring iridoids and secoiridoids. An updated review, part 4. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **59**, 803-833 (2011).
74. Dinda, B. & Dinda, B. Applications of Iridoids in Pharmaceutical, Cosmetic, and Insecticide Industries. in *Pharmacology and Applications of Naturally Occurring Iridoids* 271-278 (Springer International Publishing, 2019). doi:10.1007/978-3-030-05575-2_7
75. Sathasivam, R. & Ki, J. S. A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries. *Marine Drugs* **16**, 26 (2018).
76. Tela Botanica. Disponible sur: <https://www.tela-botanica.org/>. (Consulté le: 8 janvier 2020)
77. Catalogue of Life - 2019 Annual Checklist: Search all names. Disponible sur: <http://www.catalogueoflife.org/col/search/all>. (Consulté le: 8 janvier 2020)
78. FLOREALPES : Fleurs et arbres des Hautes-Alpes, de montagne et de provence. Organisation de stages de botaniques. Disponible sur: <https://www.florealpes.com/index.php>. (Consulté le: 8 janvier 2020)
79. Home - PubMed - NCBI. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. (Consulté le: 9 janvier 2020)
80. SciFinder. Disponible sur: <https://scifinder.cas.org/>. (Consulté le: 9 janvier 2020)
81. Manjusha, S., Parameswaran, N. . & Malar, R. S. Studies on qualitative phytochemical analysis and antibacterial activity of Piper nigrum. *Indo Am. J. Pharm. Sci.* **5**, 2925-2929 (2018).
82. Sampath, B., Radha, R. & Vadivu, R. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*

- Phytochemical studies of *Hybanthus enneaspermus* Linn ., F Muell ... *World J. Pharm. Sci.* **(2016)**.
83. Sarker, S. D., Latif, Z. & Gray, A. I. Natural Product Isolation. in *Natural Products Isolation* 1-25 (Humana Press, **2006**).
84. Krasteva, I. et al. Flavoalkaloids and Flavonoids from *Astragalus monspessulanus*. *J. Nat. Prod.* **78**, 2565-2571 (**2015**).
85. Kurtoğlu, S. et al. Diterpenoid Alkaloids of *Aconitum vulparia* Rchb. *Z. Naturforsch* **67**, 103-107 (**2011**).
86. Atta-ur-Rahman & Choudhary, M. I. Diterpenoid and steroidal alkaloids. *Nat. Prod. Rep.* **12**, 361-379 (**1995**).
87. Fico, G., Braca, A., Morelli, I. & Tomè, F. Flavonol glycosides from *Aconitum vulparia*. *Fitoterapia* **74**, 420-422 (**2003**).
88. Boneva, I. M., Malakov, P. Y. & Papanov, G. Y. Ajugapyrin A, a neo-clerodane diterpene from *Ajuga pyramidalis*. *Phytochemistry* **47**, 303-305 (**1998**).
89. Ghedira, K., Goetz, P. & Le Jeune, R. *Alchemilla vulgaris* L.: Alchémille (Rosaceae). *Phytotherapie* **10**, 263-266 (**2012**).
90. Geneva Herbaria Catalogue. Disponible sur: <https://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/chg/index.php?lang=en>. (Consulté le: 19 février 2020)
91. Ionkova, I. *Astragalus* Species (Milk Vetch): In Vitro Culture and the Production of Saponins, Astragaline, and Other Biologically Active Compounds. in 97-138 (**1995**). doi:10.1007/978-3-662-08612-4_6
92. Abbet, C. et al. Comprehensive analysis of *Cirsium spinosissimum* Scop., a wild alpine food plant. *Food Chem.* **160**, 165-170 (**2014**).
93. Baert, N., Karonen, M. & Salminen, J. P. Isolation, characterisation and quantification of the main oligomeric macrocyclic ellagitannins in *Epilobium angustifolium* by ultra-high performance chromatography with diode array detection and electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1419**, 26-36 (**2015**).
94. Baert, N., Kim, J., Karonen, M. & Salminen, J. P. Inter-population and inter-organ distribution of the main polyphenolic compounds of *Epilobium angustifolium*. *Phytochemistry* **134**, 54-63 (**2017**).
95. Frolova, T. S., Sal'Nikova, O. I., Dudareva, T. A., Kukina, T. P. & Sinitsyna, O. I. Isolation of pomolic acid from *Chamaenerion angustifolium* and the evaluation of its potential genotoxicity in bacterial test systems. *Russ. J. Bioorganic Chem.* **40**, 82-88 (**2014**).
96. Ahmad, V. U., Bano, S. & Mohammad, F. V. Nephehinol - a new triterpene from *Nepeta hindostana*. *Planta Med.* **NO. 6**, 521-523 (**1985**).
97. Ahmad, V. U., Noorwala, M., Mohammad, F. V., Shah, M. G. & Parvez, A. Nephehinal: A new triterpenoidal aldehyde from *Nepeta hindostana*. *Planta Med.* **59**, 366-368 (**1993**).
98. Shimomura, H., Sashida, Y. & Ogawa, K. Iridoid glucosides and phenylpropanoid glycosides in *Ajuga* species of Japan. *Phytochemistry* **26**, 1981-1983 (**1987**).

99. Calcagno, M. P., Camps, F., Coll, J., Melé, E. & Sánchez-Baeza, F. New phytoecdysteroids from roots of *Ajuga reptans* varieties. *Tetrahedron* **52**, 10137-10146 (**1996**).
100. Frezza, C. et al. Preliminary study on the phytochemical evolution of different Lamiaceae species based on iridoids. *Biochem. Syst. Ecol.* **82**, 44-51 (**2019**).
101. Arot Manguro, L. O., Wagai, S. O. & Lemmen, P. Flavonol and iridoid glycosides of *Ajuga remota* aerial parts. *Phytochemistry* **67**, 830-837 (**2006**).
102. Bradstreet, R. B. Kjeldahl Method for Organic Nitrogen. *Anal. Chem.* **26**, 185-187 (**1954**).
103. Fleming, I. & Williams, D. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry. Spectroscopic Methods in Organic Chemistry* (Springer International Publishing, **2019**). doi:10.1007/978-3-030-18252-6
104. Takasaki, M., Yamauchi, I., Haruna, M. & Konoshima, T. New glycosides from *Ajuga decumbens*. *J. Nat. Prod.* **61**, 1105-1109 (**1998**).
105. Ono, M. et al. Four new iridoid glucosides from *Ajuga reptans*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **59**, 1065-1068 (**2011**).
106. Noboru, S., Akemi, U., Nobuyuki, S. & Shigenobu, A. nmr spectra of compound 1 showed one. *J. Nat. Prod.* **55**, 1004-1006 (**1992**).
107. Venditti, A. et al. Phytochemistry, micromorphology and bioactivities of *Ajuga chamaepitys* (L.) Schreb. (Lamiaceae, Ajugoideae): Two new harpagide derivatives and an unusual iridoid glycosides pattern. *Fitoterapia* **113**, 35-43 (**2016**).
108. Kuria, K. A. M. et al. The antiplasmodial activity of isolates from *Ajuga remota*. *J. Nat. Prod.* **65**, 789-793 (**2002**).
109. Takeda, Y., Tsuchida, S. & Fujita, T. Four new iridoid glucoside p-coumaroyl esters from *Ajuga decumbens*. *Phytochemistry* **26**, 2303-2306 (**1987**).
110. Akbay, P., Çaliş, I., Heilmann, J. & Sticher, O. Ionone, iridoid and phenylethanoid glycosides from *Ajuga salicifolia*. *Zeitschrift für Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* **58**, 177-180 (**2003**).
111. Kökdil, G., Topcu, G., C.Görenc, A. & Voelterd, W. Steroids and Terpenoids from *Ajuga relictata*. *Zeitschrift für Naturforsch. B* **57**, 957-960 (**2018**).
112. H. LICHTL, A. VON WARTBURG. Harpagosid, Zur konstitution von. *Tetrahedron Lett.* 835-843 (**1964**). doi:10.1038/1831433c0
113. Chaudhuri, R. K., Afifi-Yazar, F. Ü., Sticher, O. & Winkler, T. ¹³C NMR spectroscopy of naturally occurring iridoid glucosides and their acylated derivatives. *Tetrahedron* **36**, 2317-2326 (**1980**).
114. M.L. SCARPATI, M. GUIZO, L. PANIZZI. Iridoids harpagide acetate from melittis melissophyllum. *Tetrahedron Lett.* 3439-3443 (**1965**).
115. Grzegorzczak-Karolak, I., Rytczak, P., Bielecki, S. & Wysokińska, H. The influence of liquid systems for shoot multiplication, secondary metabolite production and plant regeneration of *Scutellaria alpina*. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* **128**, 479-486 (**2017**).

116. Malakov, P. Y., Bozov, P. I. & Papanov, G. Y. A neo-clerodane diterpenoid from *Scutellaria orientalis* subsp. *pinnatifida*. *Phytochemistry* **46**, 587-589 (**1997**).
117. de la Torre, M. C. et al. Neo-clerodane diterpenoids from *Scutellaria alpina*. *Phytochemistry* **38**, 181-187 (**1995**).
118. KIKUCHI, Y. et al. Studies on the constituents of *Scutellaria* species. XIV. On the constituents of the roots and the leaves of *Scutellaria alpina* L. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **39**, 199-201 (**1991**).
119. Grzegorzczak-Karolak, I., Kuźma, Ł. & Wysokińska, H. The use of long-term *Scutellaria altissima* callus cultures for shoot regeneration, production of bioactive metabolites and micropropagation. *J. Med. Plants Res.* **7**, 3303-3313 (**2013**).
120. Grzegorzczak-Karolak, I., Kuźma, Ł. & Wysokińska, H. In vitro cultures of *Scutellaria alpina* as a source of pharmacologically active metabolites. *Acta Physiol. Plant.* **38**, 1-9 (**2016**).

GLOSSAIRE (À DÉPLIER)

I

[C], Concentration molaire

A

A11, A12, A13, A21, A22, A23,
A31, A32, A33, Test du
nombre d'autophagosomes
AA, Acides Aminés
Ac., Acide
ACN, Acétonitrile
AcOEt, Acétate d'éthyle
AO, Acide Organique
Aq, Phase polaire
ARNm, Acide ribonucléique
messenger
ATG, Autophagosomes

C

CEA, Commissariat à l'énergie
atomique et aux énergies
alternatives
CIF, Crystallographic Information
File (Fichier d'informations
structurale)
CMBA, équipe de Criblage de
Molécules BioActives
CNRS, Centre National de la
Recherche Scientifique
COSY, Correlation Spectroscopy
(Spectroscopie de
corrélation)
CT1, CT2, CT3, Test de
cytotoxicité sur lignée
HEK293T
CV, Coefficient de Variation

D

DAD, Diode Array Detector
(Détecteur à barrette de
Diode)
DCQ, Dicaféoylquinique
DMSO, Diméthylsulfoxyde
DPM, Département de
Pharmacochimie Moléculaire

E

ELSD, Evaporative Light-
Scattering Detection
(Détecteur Évaporatif à
Diffusion de la Lumière)
Em, Émission
EtOH, Éthanol
Ex, Excitation
EX2, Extrait deux

F

FC, Flash Chromatography
(Chromatographie sur
colonne)
FID, Free Induction Decay
(Détecteur à Ionisation de
Flamme)
FMOc,
FluorénylMéthOxyCarbonyle

G

GC, Gas Chromatography
(Chromatographie Gazeuse)
GPS, Global Positioning System
(Système de positionnement
par satellites)

H

Hex, Hexose
HILIC, Hydrophilic Interaction
Liquid Chromatography
(Chromatographie Liquide
d'Interaction Hydrophile)
HMBC, Heteronuclear Multiple
Bond Coherence (Corrélation
hétéronucléaire à travers
plusieurs liaisons)
HPLC, High Performance Liquid
Chromatography
(Chromatographie Liquide à
Haute Performance)
HPTLC, High-Performance Thin-
Layer Chromatography
(Chromatographie en
couche mince à haute
performance)
HRMS, High Resolution Mass
Spectrometry (Spéctrométrie
de Masse Haute Résolution)
HSQC, Heteronuclear Single
Quantum Coherence
(Corrélation quantique
unique hétéronucléaire)

I

ICMG, Institut de Chimie
Moléculaire de Grenoble
ID, Identity (Identité du
composé)
IL1, IL2, IL3, Test d'induction IL-8
IL-8, Interleukine-8
Int, Phase intermédiaire

M

MeOH, Méthanol

MP, Matière première
MS, Mass Spectrometry
(Spéctrométrie de Masse)
MtBe, Méthyl tert-butyl éther

N

NF1, NF2, NF3, Test de
translocation NFkB
NFkB, Nuclear Factor-κB
NHEK, Normal Human Epidermal
Keratinocytes (Kératinocytes
épidermiques humains sains)

O

ONG, Organisation Non
Gouvernementale
OPA, o-Phtalaldéhyde

P

PACA, Provence-Alpes-Côte-
d'Azur
Pent, Pentose
ppm, Partie par million

Q

QC, Quality Control (Échantillon
de qualification)
QSP, Quantité suffisante pour

R

R&D, Recherche &
Développement
R1, R2, R3, Test de cytotoxicité
sur lignée MES-SA
Rha, Rhamnose
RMN, Résonance Magnétique
Nucléaire
RR1, RR2, RR3, Test de
cytotoxicité sur lignée MES-SA
DX5
Rut, Rutinose

S

SAJF, Station Alpine Joseph
Fourier
Sol., Solution
Std, Standard

T

T1, T2, T3, Test de l'inhibition de la
tyrosinase
Tr, Temps de rétention

U

UV, Ultraviolet

ANNEXES

8.1 ANNEXE 1 : TABLEAU DE RECOLTES

Nom latin	Nom français	Famille	Parties utilisées	Propriétés supposées (in lit.)	Notes	Culture
<i>Achillea nana</i> L.	Achillée naine	Asteraceae	Sommités fleuries, feuilles	Apéritif, emménagogue, fébrifuge, stomachique	Native mais pas dans le secteur Lautaret, protégée.	Facile
<i>Aconitum vulparia</i> L.	Aconit tue-loup	Ranunculaceae	Plante très toxique	Analgésique, paralysie respiratoire et cardiaque	Fréquent	Facile
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	Bugle pyramidale	Lamiaceae	Plante fleurie	Astringente, tonique, fébrifuge, utilisé historiquement contre la goutte et l'asthme	Assez fréquent	Facile
<i>Alchemilla alpina</i> L.	Alchimille des Alpes	Rosaceae	Toute la plante (été)	Antidiarrhéique, astringent, diurétique, hémolytique (moutons)	Fréquent	Facile
<i>Antennaria carpatica</i> Bluff. & Fingherh.	Antennaire des Carpates	Asteraceae	Capitules femelles séchés	Antiseptique, béchique, cholagogue, expectorant, vulnéraire	Assez fréquent	Lente
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	Antennaire dioïque, Pied de chat	Asteraceae	Capitules femelles séchés	Antiseptique, béchique, cholagogue, expectorant, vulnéraire	Fréquent	Facile
<i>Artemisia genipi</i> Weber	Génépi noir	Asteraceae	Plante fleurie, racine (été)	Emménagogue, apéritif, stomachique, tonique, vulnéraire	Difficile d'accès	Difficile en grand mais déjà faite
<i>Asphodelus albus</i> L. subsp. <i>delphinensis</i> (Gr. & Godr.) Diaz Lifente	Asphodèle du Dauphiné	Asphodelaceae	Tubercules (comestibles bouillis)	Diurétique, utilisé en cataplasme contre ulcères et gale.	Fréquent	Facile
<i>Astragalus monspessulanus</i> L.	Astragale de Montpellier	Fabaceae	Racines	Diurétique, sudorifique, utilisé contre rhumatisme, goutte, syphilis, dermatoses...	Fréquent	Facile

<i>Astragalus onobrychis</i> L.	Astragale faux-sainfoin	Fabaceae	Racines	Diurétique, sudorifique, utilisé contre rhumatisme, goutte, syphilis, dermatoses...	Fréquent	Facile
<i>Cota tinctoria</i> (L.) J. Gay	Anthémis des teinturiers	Asteraceae	Pante fleurie	Apéritif, détersif, vulnérable	Fréquent (Briançon)	Facile (bisann.)
<i>Epilobium angustifolium</i> L.	Epilobe a feuilles étroites	Onagraceae	Racine, fleurs, feuilles séchées	Astringent, émollient, hémostatique, vulnérable	Fréquent	Facile
<i>Narcissus poeticus</i> L.	Narcisse des poètes	Amaryllidaceae	Bulbe (plante toxique)	Emétique puissant	Fréquent	Facile (bulbes)
<i>Rosa pendulina</i> L.	Rosier des Alpes	Rosaceae	Pétales, cynorhodons, Riche en Vitamine C	Astringent, diurétique, laxatif, tonique, vulnérable	Fréquent	Arbuste, lente
<i>Salvia aethiopis</i> L.	Sauge d'Ethiopie	Lamiaceae	Sommités fleuries	Stimulant, stomachique	Fréquent	Facile, (bisann.)
<i>Trifolium alpinum</i> L.	Trèfle des Alpes	Fabaceae	Fleurs	Anti-inflammatoire, vulnérable	Fréquent	Facile
<i>Trollius europaeus</i> L.	Trolle d'Europe	Ranunculaceae	Racines	Purgatif, révulsif	Fréquent	Facile

8.2 ANNEXE 2 : LISTE DES SYNONYMES

***Achillea nana* L.**

Achillea lanata Lam., *Ptarmica nana* (L.) DC.

***Aconitum lycoctonum* subsp. *vulparia* (Rchb.) Nyman**

Aconitum paniculatum var. *penninum* Ser., *Aconitum altissimum* Mill., *Aconitum croaticum* Degen & Gáyér, *Aconitum gracilescens* Gáyér, *Aconitum lasianthum* (Rchb.) Simonk., *Aconitum lasiostomum* f. *velutinum* Rchb., *Aconitum laxiflorum* (DC.) Rchb., *Aconitum pauciflorum* Host, *Aconitum penninum* (Ser.) Gáyér, *Aconitum puberulum* (Ser.) Gáyér, *Aconitum thalianum* (Wallr.) Gáyér, *Aconitum thelyphonum* Rchb., *Aconitum velebiticum* Degen ex Gáyér, *Aconitum velutinum* (Rchb.) Grin., *Aconitum vulparia* Rchb., *Aconitum altissimum* subsp. *penninum* (Ser.) Holub, *Aconitum lycoctonum* subsp. *croaticum* (Degen & Gáyér) Graebn. & P. Graebn., *Aconitum lycoctonum* subsp. *gracilescens* (Gáyér) Graebn. & P. Graebn., *Aconitum lycoctonum* subsp. *lasianthum* (Rchb.) Graebn. & P. Graebn., *Aconitum lycoctonum* subsp. *pauciflorum* (Host) Graebn. & P. Graebn., *Aconitum lycoctonum* subsp. *penninum* (Ser.) Graebn. & P. Graebn., *Aconitum lycoctonum* subsp. *puberulum* (Ser.) Graebn. & P. Graebn., *Aconitum lycoctonum* subsp. *thalianum* (Wallr.) Graebn. & P. Graebn., *Aconitum lycoctonum* var. *altissimum* (Mill.) DC., *Aconitum lycoctonum* subsp. *vulparia* (Rchb. ex Spreng.) Nyman, *Aconitum lycoctonum* var. *laxiflorum* DC., *Aconitum vulparia* var. *gracilescens* (Gáyér) P. Fourn., *Aconitum vulparia* var. *lasianthum* (Rchb.) P. Fourn., *Aconitum vulparia* var. *penninum* (Ser.) P. Fourn., *Aconitum vulparia* var. *puberulum* (Ser.) P. Fourn., *Aconitum vulparia* var. *thalianum* (Wallr.) P. Fourn., *Aconitum vulparia* subsp. *croaticum* (Degen & Gáyér) Hayek, *Aconitum vulparia* subsp. *pauciflorum* (Host) Gáyér, *Aconitum vulparia* subsp. *penninum* (Ser.) Gáyér, *Aconitum vulparia* subsp. *puberulum* (Ser.) Gáyér, *Aconitum vulparia* subsp. *thalianum* (Wallr.) Vollm., *Aconitum aegophonum* Rchb., *Aconitum alienum* Rchb., *Aconitum arctophonum* Reichb., *Aconitum baumgarteni* Schur, *Aconitum baumgartenianum* Simonk., *Aconitum boreale* Ser. ex Reichb., *Aconitum cynoctonum* Reichb., *Aconitum dissectum* Tausch ex Reichb., *Aconitum excelsum* Turcz., *Aconitum galectonum* Reichb., *Aconitum galeriflorum* Stokes, *Aconitum jacquinianum* Host, *Aconitum lagoctonum* Reichb., *Aconitum luparia* Reichb., *Aconitum lupicida* Reichb., *Aconitum meloetionum* Reichb., *Aconitum myoetionum* Reichb., *Aconitum pallidum* Reichb., *Aconitum perniciosum* Reichb., *Aconitum phthora* Reichb., *Aconitum rectum* Bernh. ex Reichb., *Aconitum strictissimum* Reichb., *Aconitum theriophonum* Reichb., *Aconitum tenuisectum* Schur, *Aconitum theriophonum* Reichb., *Aconitum toxicarium* Salisb., *Aconitum tragoetionum* Reichb., *Aconitum transilvanicum* Lerch. ex Schur, *Aconitum triste* Fisch. ex Steud., *Aconitum zooetionum* Reichb., *Delphinium lycoctonum* Baill., *Lycoetionum paishanense* Nakai, *Lycoetionum sylvaticum* Fourn.

***Ajuga pyramidalis* L.**

Teucrium pyramidalis (L.) Crantz, *Bugula pyramidalis* (L.) Mill., *Bugula pyramidalis* (L.) Kuntze, *Ajuga genevensis* subsp. *pyramidalis* (L.) Bonnier & Layens, *Ajuga vulgaris* subsp. *pyramidalis* (L.) Rouy

***Alchemilla alpina* L.**

Alchemilla viridicans Rothm., *Alchemilla alpina* var. *angustifolia* Buser, *Alchemilla alpina* subsp. *glomerata* (Tausch) Camus, *Alchemilla*

	<i>anisiana</i> Wettst., <i>Alchemilla argentea</i> Lam., <i>Alchemilla glomerata</i> E. G. Camus, <i>Potentilla viridicans</i> (Rothm.) Christenh. & Väre
<i>Antennaria carpatica</i> (Wahlenb.) Bluff. & Fingherh.	<i>Antennaria carpatica</i> subsp. <i>Carpatica</i> , <i>Antennaria carpatica</i> subsp. <i>helvetica</i> (Chrtek & Pouzar) Chrtek & Pouzar, <i>Gnaphalium carpaticum</i> Wahlenb.
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	<i>Antennaria dioica</i> var. <i>borealis</i> E.G.Camus, <i>Antennaria dioica</i> var. <i>discolor</i> Rouy, <i>Antennaria dioica</i> var. <i>gallica</i> E.G.Camus, <i>Antennaria dioica</i> var. <i>hyperborea</i> Lang, <i>Antennaria foenina</i> H. S. Pak, <i>Antennaria hibernica</i> Br.-Bl., <i>Antennaria hyperborea</i> D. Don, <i>Antennaria insularis</i> Greene, <i>Antennaria insulensis</i> H. S. Pak, <i>Antennaria montana</i> Gray, <i>Antennaria nigrifolia</i> H. S. Pak, <i>Antennaria parviflora</i> Nutt., <i>Antennaria zosonia</i> H. S. Pak, <i>Chamaezelum dioicum</i> (L.) Link, <i>Cyttarium dioicum</i> (L.) Peterm., <i>Gnaphalium alpinum</i> Asso ex DC., <i>Gnaphalium boreale</i> Turcz. ex DC., <i>Gnaphalium dioicum</i> L., <i>Gnaphalium hyperboreum</i> Winch ex DC., <i>Gnaphalium pes-cati</i> Garsault, <i>Margaritaria simplex</i> Opiz
<i>Artemisia genipi</i> Weber	<i>Absinthium spicatum</i> (Wulfen) Dulac, <i>Artemisia bocconeii</i> All., <i>Artemisia genipi</i> var. <i>accedens</i> Rouy, <i>Artemisia genipi</i> subsp. <i>foliosa</i> Giacom. & Pignatti, <i>Artemisia genipi</i> subsp. <i>genipi</i>
<i>Asphodelus albus</i> L. subsp. <i>delphinensis</i> (Gr. & Godr.) Diaz Lifente	<i>Asphodelus delphinensis</i> Gren. & Godr., <i>Asphodelus albus</i> f. <i>delphinensis</i> (Gren. & Godr.) Asch. & Graebn., <i>Asphodelus albus</i> var. <i>delphinensis</i> (Gren. & Godr.) Rouy, <i>Asphodelus albus</i> f. <i>monticola</i> (Jord.) Asch. & Graebn., <i>Asphodelus albus</i> var. <i>monticola</i> (Jord.) Rouy, <i>Asphodelus albus</i> f. <i>neglectus</i> (Schult. & Schult.f.) Asch. & Graebn., <i>Asphodelus albus</i> var. <i>neglectus</i> (Schult. & Schult.f.) Nyman, <i>Asphodelus albus</i> f. <i>pyrenaicus</i> (Jord.) Asch. & Graebn., <i>Asphodelus albus</i> var. <i>pyrenaicus</i> (Jord.) Rouy, <i>Asphodelus albus</i> subsp. <i>subalpinus</i> Nyman, <i>Asphodelus monticola</i> Jord., <i>Asphodelus neglectus</i> Schult. & Schult.f., <i>Asphodelus pyrenaicus</i> Jord., <i>Asphodelus subalpinus</i> Gren. & Godr.,
<i>Astragalus monspessulanus</i> L.	<i>Astragalus monspessulanus</i> var. <i>monspessulanus</i> , <i>Astragalus monspessulanus</i> var. <i>alpinus</i> Foucault, <i>Astragalus monspessulanus</i> var. <i>canescens</i> Boiss., <i>Astragalus monspessulanus</i> subsp. <i>illyricus</i> (Bernh.) Chater, <i>Astragalus monspessulanus</i> subsp. <i>gypsophilus</i> Rouy
<i>Astragalus onobrychis</i> L.	<i>Astragalus banaticus</i> Heuff., <i>Astragalus chlorocarpus</i> Griseb., <i>Astragalus circassicus</i> Grossh., <i>Astragalus dacicus</i> Heuff., <i>Astragalus linearifolius</i> Pers., <i>Astragalus onobrychis</i> var. <i>microphyllus</i> Ser., <i>Astragalus panicii</i> Heuff., <i>Astragalus pseudohirsutus</i> Nyár., <i>Astragalus rochelianus</i> Heuff. ex Griseb. & Schenk, <i>Astragalus skorpii</i> Velen., <i>Astragalus sofianus</i> Velen., <i>Astragalus stenophyllus</i> Schur, <i>Astragalus arenarius</i> var. <i>multijugus</i> Rochel, <i>Astragalus atrocarpus</i> Chamberlain & Matthews, <i>Astragalus borysthenicus</i> Klovov, <i>Astragalus chaldiranicus</i> Kit Tan & F. Sorger, <i>Astragalus chlorocarpus</i> f. <i>albiflorus</i> Vandas, <i>Astragalus dacicus</i> Heuff., <i>Astragalus goktschaicus</i> Grossh., <i>Astragalus kitianus</i> Sorger, <i>Astragalus kosmaljanicus</i> Rzazade, <i>Astragalus linearifolius</i> Pers., <i>Astragalus moldavicus</i> (DC.) Steud., <i>Astragalus onobrychis</i> f. <i>albiflorus</i> (Schur) Gusul., <i>Astragalus onobrychis</i> var. <i>albiflorus</i> Schur, <i>Astragalus onobrychis</i> var. <i>alpinus</i> DC., <i>Astragalus onobrychis</i> var. <i>banaticus</i> Rochel, <i>Astragalus onobrychis</i> f. <i>brevifolius</i> (Grecescu) Gusul., <i>Astragalus onobrychis</i> var. <i>brevifolius</i> Grecescu, <i>Astragalus onobrychis</i> var. <i>chlorocarpus</i> (Griseb.) Boiss., <i>Astragalus onobrychis</i> subsp. <i>chlorocarpus</i> (Griseb.) D.

***Cirsium spinosissimum* (L.) Scop.**

K. Pavlova & S. Kozhuharov, *Astragalus onobrychis* var. *ernesti-mayeri* Vasic, *Astragalus onobrychis* subsp. *goktschaicus* (Grossh.) Ponert, *Astragalus onobrychis* f. *grandiflorus* Savul. & Rayss, *Astragalus onobrychis* f. *kraljevensis* Novak, *Astragalus onobrychis* f. *leucanthus* Beck, *Astragalus onobrychis* f. *linearifolius* (Pers.) Asch. & Graebn., *Astragalus onobrychis* var. *linearifolius* (Pers.) Ledeb., *Astragalus onobrychis* subsp. *linearifolius* (Pers.) S. Kozhuharov & D. Pavlova, *Astragalus onobrychis* f. *microphyllus* (DC.) Gusul., *Astragalus onobrychis* f. *moldavicus* (DC.) Gusul., *Astragalus onobrychis* var. *moldavicus* DC., *Astragalus onobrychis* var. *multijugus* (Rochel) Hayek, *Astragalus onobrychis* var. *purpurascens* Rchb., *Astragalus onobrychis* var. *rigidus* Schur, *Astragalus onobrychis* f. *rochelianus* (Heuff.) Asch. & Graebn., *Astragalus onobrychis* var. *rochelianus* (Heuff.) Beck, *Astragalus onobrychis* var. *skorpili* (Vel.) S. Vulevin, *Astragalus onobrychis* subsp. *skorpili* (Velen.) S. Kozhuharov & D. Pavlova, *Astragalus onobrychis* var. *sofianus* (Velen.) Stoj. & Stef., *Astragalus onobrychis* var. *stenophyllus* Grecescu, *Astragalus onobrychis* var. *stenophyllus* Schur, *Astragalus onobrychis* var. *stipulaceus* DC., *Astragalus onobrychis* var. *varnensis* (Davidov) Stoj. & Stef., *Astragalus onobrychis* var. *wagneri* Jav., *Astragalus parvifolius* Formanek, *Astragalus pseudonobrychis* Andr., *Astragalus rasmontii* Podlech, *Astragalus troitzkii* Grossh., *Astragalus varnensis* Davidov, *Macrosema onobrychis* (L.) Stev., *Tragacantha onobrychis* (L.) Kuntze

Carduus comosus Lam., *Carduus spinosissimus* (L.) Vill., *Carthamus involucratus* Lam., *Cirsium spinosissimum* subsp. *spinosissimum*, *Carduus glaber* Steud., *Carthamus involucratus* Lam., *Cirsium caput-medusae* Schur ex Nym., *Cirsium cervini* Koch, *Cirsium controversum* DC., *Cirsium hallerianum* Gaudin, *Cirsium purpureum* All., *Cirsium spitzelii* Sch. Bip. ex Nym., *Cnicus purpureus* (All.) Bertol., *Cnicus spinosissimus* L.

***Cota tinctoria* (L.) J. Gay**

Anthemis tinctoria L., *Chamaemelum tinctorium* (L.) All., *Matricaria tinctoria* (L.) Baill., *Anacyclus tinctorius* (L.) G. Sampaio, *Anthemis brachyglossa* C. Koch, *Anthemis chrysantha* Schur, *Anthemis coarctata* Sibth. & Sm., *Anthemis debilis* Fedorov, *Anthemis discoidea* Willd., *Anthemis kelwayi* Hort. ex L. H. Bailey & N. Taylor, *Anthemis kochiana* Sosn., *Anthemis maris-nigri* Fedorov, *Anthemis maritima* Sibth. & Sm., *Anthemis markhotensis* Fedorov, *Anthemis pallescens* Heldr. ex Nym., *Anthemis parnassii* Boiss. & Heldr. ex Nym., *Anthemis subtinctoria* Dobroc., *Anthemis tinctoria* f. *halophila* Nguen N. Thin, *Anthemis tinctoria* var. *intermedia* Nguen N. Thin, *Anthemis tinctoria* f. *pectinata* Nguen N. Thin, *Anthemis tinctoria* var. *ramulosa* Nguen N. Thin, *Anthemis tinctoria* var. *subtinctoria* (Dobroc.) R. Govaerts, *Anthemis tinctoria* subsp. *subtinctoria* (Dobroc.) Soó, *Anthemis zephyrovii* Dobroc., *Buphthalmum bipinnatum* Gilib., *Chamaemelum discoideum* All., *Cota tinctoria* var. *discoidea* (All.) Özbek & C. Vural, *Cota tinctoria* subsp. *subtinctoria* (Dobroc.) Holub, *Cota triumfetti* var. *discoidea* (All.) Kuzmanov & Gushev, *Santolina flava* Forsk.

***Epilobium angustifolium* L.**

Chamaenerion angustifolium (L.) Schur, *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., *Chamaenerion angustifolium* var. *album* Yue Zhang & J. Y. Ma, *Chamaenerion angustifolium* var. *karsianum* Tzvelev, *Chamaenerion angustifolium* var. *pubescens* (Hausskn.) Tzvelev, *Chamaenerion angustifolium* f. *pubescens* (Haussknecht) M.

	Kitagawa, <i>Chamaenerion angustifolium</i> var. <i>pubescens</i> Hausskn., <i>Chamaenerion denticulatum</i> Schur, <i>Chamaenerion speciosum</i> Lodd. ex Steud., <i>Chamerion angustifolium</i> (L.) J. Holub, <i>Chamerion angustifolium</i> f. <i>pleniflorum</i> (Nakai) Yonek., <i>Chamerion spicatum</i> (Lam.) S. F. Gray, <i>Epilobium angustifolium</i> var. <i>intermedium</i> (Lange) Fernald, <i>Epilobium angustifolium</i> f. <i>leucanthum</i> T. Shimizu, <i>Epilobium angustifolium</i> var. <i>pleniflorum</i> Nakai, <i>Epilobium angustifolium</i> var. <i>pubescens</i> Hausskn., <i>Epilobium antonianum</i>, <i>Epilobium difforme</i> Gilib., <i>Epilobium elatum</i> Munro ex Hausskn., <i>Epilobium gesneri</i> Vill., <i>Epilobium gracile</i> Bruegg., <i>Epilobium intermedium</i> Wormsk. ex Ser., <i>Epilobium leiostylon</i> Peterm., <i>Epilobium macrocarpum</i> Steph., <i>Epilobium montanum</i> Hacq., <i>Epilobium neriifolium</i> H. Lév., <i>Epilobium persicifolium</i> Vill., <i>Epilobium rubrum</i> Luce, <i>Epilobium salicifolium</i> Stokes, <i>Epilobium spicatum</i> Lam., <i>Epilobium variabile</i> Luce, <i>Epilobium verticillatum</i> Tenore, <i>Pyrogennema angustifolium</i> (L.) Lunell
<i>Epilobium fleischeri</i> Hochst.	<i>Chamaenerion fleischeri</i> (Hochst.) Fritsch., <i>Chamerion fleischeri</i> (Hochst.) J. Holub, <i>Epilobium dodonaei</i> subsp. <i>fleischeri</i> (Hochst.) Schinz & Thell., <i>Epilobium angustissimum</i> Weber, <i>Epilobium dodonaei</i> f. <i>platyphyllum</i> Hausskn., <i>Epilobium dodonaei</i> var. <i>platyphyllum</i> (Hausskn.) Rouy & E.G. Camus
<i>Knautia dipsacifolia</i> subsp. <i>dipsacifolia</i>	<i>Anisodens sylvaticus</i> (L.) Dulac, <i>Astrocephalus sylvatica</i> (L.) Rafin., <i>Knautia angustata</i> (Rouy) Bonnier, <i>Knautia brandzai</i> Porc., <i>Knautia carniolica</i> Beck, <i>Knautia carpophylax</i> Jord., <i>Knautia catalaunica</i> f. <i>amoena</i> Szabo, <i>Knautia cuspidata</i> Jord., <i>Knautia dipsacifolia</i> f. <i>amoena</i> (Szabo) O. de Bolos & J. Vigo, <i>Knautia dipsacifolia</i> f. <i>angustata</i> (Rouy) O. de Bolos & J. Vigo, <i>Knautia dipsacifolia</i> var. <i>angustata</i> Rouy, <i>Knautia maxima</i> (Opiz) Ortmann, <i>Knautia pannonica</i> Heuff., <i>Knautia puberula</i> Jord., <i>Knautia sendtneri</i> Bruegg., <i>Knautia serajewensis</i> Beck., <i>Knautia silvatica</i> (L.) Kern., <i>Knautia sylvatica</i> (L.) Duby, <i>Knautia timeroyi</i> subsp. <i>carpophylax</i> (Jord.) B. Bock, <i>Scabiosa dipsacifolia</i> Host, <i>Scabiosa ovatifolia</i> Lag., <i>Scabiosa sylvatica</i> L., <i>Trichera budensis</i> A. Kern. ex Simonk., <i>Trichera carpophylax</i> (Jord.) Nym., <i>Trichera cuspidata</i> (Jord.) Nym., <i>Trichera dipsacifolia</i> (Kreutzer) Nym., <i>Trichera ovatifolia</i> (Lag.) Roem. & Schult., <i>Trichera puberula</i> (Jord.) Nym., <i>Trichera sylvatica</i> (L.) Schrad., <i>Trichera transilvanica</i> Schur ex Nym.
<i>Narcissus poeticus</i> L.	<i>Autogenes poeticus</i> (L.) Raf., <i>Helena croceocincta</i> Haw., <i>Helena purpleocincta</i> Haw., <i>Autogenes angustifolius</i> Raf., <i>Hermione angustifolia</i> M. Roem., <i>Narcissus maiialis</i> Curtis, <i>Narcissus ornatus</i> Haw., <i>Narcissus poeticus</i> var. <i>sulphureus</i> Rouy
<i>Nepeta nepetella</i> L.	<i>Cataria nepetella</i> (L.) Moench, <i>Cataria tenuifolia</i> Bubani, <i>Glechoma nepetella</i> (L.) Kuntze, <i>Nepeta lanceolata</i> subsp. <i>nepetella</i> (L.) Bonnier & Layens
<i>Rosa pendulina</i> L.	<i>Ozanonia alpina</i> (L.) Gand., <i>Rosa adenophora</i> Kit., <i>Rosa adjecta</i> Déségl., <i>Rosa affinis</i> Sternb., <i>Rosa alpina</i> L., <i>Rosa alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i> (Gouan) Nyman, <i>Rosa alpiniformis</i> Haynald ex Borbás, <i>Rosa balsamea</i> Kit., <i>Rosa brandisii</i> Wiesb., <i>Rosa cinnamomea</i> L., <i>Rosa coccialba</i> Heinr. Braun, <i>Rosa diplacantha</i> (Borbás) Heinr. Braun, <i>Rosa lagenaria</i> Vill., <i>Rosa pendula</i> Salisb., <i>Rosa pendulina</i> subsp. <i>ebelii</i> Heinr. Braun, <i>Rosa pendulina</i> f. <i>eriocephala</i> (J. B. Kell. & Form.) Vukicevic, <i>Rosa pimpinellifolia</i> subsp. <i>alpina</i> Hartm., <i>Rosa pyrenaica</i> Gouan, <i>Rosa reversa</i> W. D. J. Koch, <i>Rosa rupestris</i> Crantz, <i>Rosa</i>

	<i>semisimplex</i> (Borbás) Heinr. Braun, <i>Rosa stenodonta</i> (Borbás) Heinr. Braun, <i>Rosa tenuiflora</i> (Borbás) Heinr. Braun, <i>Rosa villarsii</i> Tratt. ex Link
<i>Salvia aethiopis</i> L.	<i>Aethiopis vera</i> Fourr., <i>Salvia kochiana</i> Kunze, <i>Salvia lanata</i> Stokes, <i>Salvia leuconeura</i> Boiss., <i>Sclarea lanata</i> Moench, <i>Sclarea aethiopis</i> (L.) Mill.
<i>Scutellaria alpina</i> L.	<i>Cassida alpina</i> (L.) Moench, <i>Scutellaria albida</i> Benth., <i>Scutellaria alpina</i> subsp. <i>jabalambrensis</i> Rivas Mart., Izco & M-J. Costa, <i>Scutellaria alpina</i> var. <i>lupulina</i> (L.) Nyman, <i>Scutellaria alpina</i> subsp. <i>olympica</i> Stoj. & Jordanov, <i>Scutellaria alpina</i> var. <i>prostrata</i> Trautv., <i>Scutellaria alpina</i> var. <i>pumila</i> Lange, <i>Scutellaria compressa</i> A. Ham., <i>Scutellaria lupulina</i> L., <i>Scutellaria variegata</i> A.Spreng., <i>Scutellaria viscida</i> A.Spreng.
<i>Trifolium alpinum</i> L.	<i>Lupinaster alpinus</i> (L.) J. Presl, <i>Trifolium alpinum</i> var. <i>stenophyllum</i> (Gibelli & Belli) Rouy, <i>Trifolium alpinum</i> subvar. <i>stenophyllum</i> Gibelli & Belli
<i>Trollius europaeus</i> L.	<i>Trollius aconitifolius</i> Hort. Berol. ex Steud., <i>Trollius connivens</i> Moench, <i>Trollius germanicus</i> Wender., <i>Trollius giganteus</i> Hort., <i>Trollius globosus</i> Lam., <i>Trollius grandiflorus</i> Tausch, <i>Trollius humilis</i> Crantz, <i>Trollius medius</i> Wender., <i>Trollius minimus</i> Wender, <i>Trollius montanus</i> Salisb., <i>Trollius napellifolius</i> Hegetschw., <i>Trollius napellifolius</i> Roep., <i>Trollius rotundiflorus</i> Stokes, <i>Trollius sphaericus</i> Salisb., <i>Trollius tatrae</i> Borb., <i>Trollius tauricus</i> Hort. ex Wender., <i>Trollius viridiflorus</i> Schur, <i>Trollius viridis</i> Mielichh.

8.3 ANNEXE 3 : LISTE DU NOMBRE DE PUBLICATIONS

Nom latin	Citation Depuis 2011	SCI Finder	PubMed	Moyenne
<i>Achillea nana</i> L.	1	8	0	4
<i>Aconitum lycoctonum</i> subsp. <i>vulparia</i> (Rchb.) Nyman	2	15	4	9,5
<i>Ajuga pyramidalis</i> L.	0	9	1	5
<i>Alchemilla alpina</i> L.	2	18	0	9
<i>Antennaria carpatica</i> (Wahlenb.) Bluff. & Fingherh.	0	0	0	0
<i>Antennaria dioica</i> (L.) Gaertn.	1	6	0	3
<i>Artemisia genipi</i> Weber	1	3	3	3
<i>Asphodelus albus</i> L. subsp. <i>delphinensis</i> (Gr. & Godr.) Diaz Lifente	0	1	1	1
<i>Astragalus monspessulanus</i> L.	2	10	4	7
<i>Astragalus onobrychis</i> L.	5	16	2	9
<i>Cirsium spinosissimum</i>	0	7	1	4
<i>Cota tinctoria</i> (L.) J. Gay	4	4	0	2
<i>Epilobium angustifolium</i> L.	36	268	58	163
<i>Epilobium fleischeri</i> Hochst.	0	2	2	2
<i>Knautia dipsacifolia</i> subsp. <i>dipsacifolia</i>	0	1	1	1
<i>Narcissus poeticus</i> L.	3	20	3	11,5
<i>Nepeta nepetella</i> L.	3	3	3	3
<i>Rosa pendulina</i> L.	1	3	0	1,5
<i>Salvia aethiopsis</i> L.	5	33	5	19
<i>Scutellaria alpina</i> L.	1	25	4	14,5
<i>Trifolium alpinum</i> L.	1	9	4	6,5
<i>Trollius europaeus</i> L.	2	18	0	9

8.4 ANNEXE 4 : RESULTATS D'ANALYSES BIOLOGIQUES

8.4.1 Résultats biologiques du donneur K341

FD190914 - mQPA 43 gènes à façon	Gènes		Témoin	1725_EX2sup		1725_EX2int		1725_EX2aq		1725_EX2int_pur		1725_EX2int_verba		1725_EX2int_iri	
			-	2.74 x 10 ⁻⁴ %		0.0025%		0.06%		0.0024%		0.0024%		0.0226%	
			Cycles	Cycles	% Témoin Moyenne HK	Cycles	% Témoin Moyenne HK	Cycles	% Témoin Moyenne HK	Cycles	% Témoin Moyenne HK	Cycles	% Témoin Moyenne HK	Cycles	% Témoin Moyenne HK
	Abréviation	Lien vers la base de données NCBI													
Housekeeping	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	19.23 19.13	18.98 18.84	134	18.97 19.08	125	18.84 18.78	144	19.07 18.96	110	18.88 18.85	126	18.86 18.80	161
	B2M	Beta-2-microglobulin	25.46 25.96	25.08 24.81	186	25.30 25.24	150	24.97 25.30	165	24.99 24.64	180	23.42 23.90	420	26.09 25.80	106
	RPLP0	Ribosomal protein large P0	19.30 19.24	19.68 19.63	85	19.54 19.46	96	19.84 19.68	80	19.18 19.19	104	19.25 19.50	95	20.00 19.99	76
	RPS28	Ribosomal protein S28	19.48 19.45	20.02 20.02	75	20.11 20.04	74	20.15 20.18	69	19.67 19.73	83	19.99 20.03	70	20.70 20.74	53
Différenciation des kératinocytes	FLG	Filaggrin	27.08 27.26	27.49 27.59	86	27.14 27.13	115	26.63 26.53	168	26.52 26.34	163	26.66 26.65	145	27.65 27.72	88
	IVL	Involucrin	27.98 27.96	27.94 28.06	109	27.93 27.88	118	26.17 26.18	387	27.11 27.25	169	27.46 27.56	140	28.01 28.29	112
	KRT10	Keratin 10	24.52 24.47	24.28 24.47	116	24.54 24.46	108	22.79 22.84	345	24.12 23.88	133	23.54 23.81	174	24.51 24.63	116
	KRT5	keratin 5, type II	22.30 22.28	21.83 21.81	153	22.12 22.11	127	22.04 22.06	132	21.90 22.15	118	22.16 22.09	114	23.09 23.10	72
	LOR	Loricrin	26.94 26.91	27.24 27.60	79	27.11 27.22	95	27.71 27.68	65	26.16 26.64	143	26.87 26.84	107	27.50 27.51	84
	TGM1	transglutaminase 1	25.69 25.72	26.50 26.43	65	27.15 27.33	39	24.92 24.95	190	25.88 25.85	87	27.20 27.45	33	28.79 28.99	14
Dégradation de la matrice extracellulaire	MMP1	matrix metalloproteinase 1	27.27 27.26	26.55 26.62	177	26.62 26.57	179	26.73 26.85	155	26.01 26.09	227	25.78 25.83	279	25.32 25.29	491
	MMP9	matrix metalloproteinase 9	32.18 32.69	31.83 32.00	157	32.22 31.89	145	31.79 31.65	181	31.25 31.70	189	30.85 31.01	284	31.79 31.43	222
	TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	21.80 21.68	22.25 22.06	83	22.02 21.91	96	22.44 22.44	69	21.98 21.90	85	21.83 21.90	93	20.88 20.90	227
	TIMP2	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	31.13 31.04	30.04 29.91	239	30.25 30.28	198	30.18 30.42	193	30.03 30.57	171	30.27 30.08	191	30.58 30.74	170
Apoptose	AKT1	V-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	28.22 28.70	27.50 27.31	227	27.50 27.61	208	27.05 27.04	294	26.94 27.04	267	26.67 26.80	332	27.48 27.78	222
	BAX	BCL2-associated X protein	28.29 28.32	28.06 27.93	137	28.20 28.12	124	27.92 27.92	146	27.66 27.77	147	27.69 27.85	147	28.69 29.09	85
	CASP3	Caspase 3, apoptosis-related cysteine peptidase	29.09 29.01	27.09 27.17	419	27.16 27.09	426	26.99 26.91	478	26.98 27.02	405	26.69 26.67	525	26.97 27.02	524
	FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	31.77 32.27	31.04 30.76	238	30.92 31.04	228	29.68 29.85	526	30.35 30.95	254	30.23 30.08	365	31.53 31.57	172
	TP53	Tumor protein p53	27.94 28.11	26.85 26.86	249	27.48 27.30	174	26.98 27.02	227	27.10 27.02	191	26.79 26.85	234	28.17 28.45	104

Interactions cellule cellule	CDH1	cadherin 1, type 1	24.93 24.94	24.51 24.44	152	24.97 25.42	95	23.75 24.47	204	23.74 23.74	224	23.65 23.90	228	24.07 24.46	203
	CLDN1	claudin 1	24.27 24.10	23.30 23.25	208	24.09 24.03	122	22.92 23.08	254	22.78 23.06	236	23.71 23.93	131	25.49 25.54	50
	DSC1	desmocollin 1	32.18 32.31	30.73 30.86	302	31.25 30.86	258	28.00 28.06	2071	30.53 30.11	375	30.03 29.91	492	33.19 33.83	54
	DSP	desmoplakin	25.99 25.88	23.50 23.28	648	23.54 23.26	654	22.78 22.78	993	23.76 23.60	467	22.73 22.70	946	24.28 24.19	410
	ITGA6	Integrin, alpha 6	27.80 27.71	25.76 25.75	443	25.59 25.52	516	24.86 25.42	696	25.70 25.74	400	24.60 24.73	865	25.67 25.72	526
	ITGB1	Integrin, beta 1 (fibronectin receptor, beta polypeptide, antigen CD29, includes MF2, MSK12)	21.92 21.76	21.10 21.07	187	21.37 21.21	164	21.21 21.13	177	21.01 21.18	164	20.85 20.94	195	21.07 21.02	219
	LGALS1	Lectin, galactoside-binding, soluble, 1	21.94 21.92	22.33 22.32	84	22.47 22.46	78	23.81 23.86	30	22.30 22.62	68	22.30 22.47	74	23.59 23.60	40
	LGALS7	Lectin, galactoside-binding, soluble, 7	23.86 23.93	25.44 25.39	39	25.47 25.58	36	25.20 25.21	45	24.97 25.16	44	25.17 25.42	39	28.41 28.68	5
Réponse au stress oxydatif et cellulaire	GPX1	glutathione peroxidase 1	22.79 22.68	22.70 22.67	115	22.66 22.54	123	23.45 23.43	68	22.59 22.72	103	22.55 22.69	110	22.86 22.79	119
	HIF1A	Hypoxia inducible factor 1, alpha, subunit (basic helix-loop-helix transcription factor)	25.74 25.78	25.07 25.12	176	25.12 25.14	174	24.83 24.91	207	24.72 24.87	191	24.75 24.64	213	25.47 25.53	151
	HMOX1	Heme oxygenase (decycling) 1	28.11 28.13	27.91 28.02	123	27.83 27.83	137	28.06 28.27	108	26.68 27.26	221	27.59 27.76	139	27.76 27.96	151
	HSPB1	heat shock 27kDa protein 1	18.65 18.69	19.21 19.30	74	19.72 19.58	57	18.98 19.01	89	19.24 19.18	67	19.33 19.49	61	21.52 21.51	18
	NFKB1	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, 1	25.97 25.79	25.78 25.80	118	25.86 25.77	117	25.42 25.24	163	24.98 25.25	166	25.20 25.24	160	25.77 25.82	134
	NQO1	NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1	29.88 29.63	28.68 28.59	240	27.83 27.62	458	27.68 27.17	568	27.63 27.79	402	27.17 27.07	629	27.94 28.00	433
	SOD1	Superoxide dismutase 1, soluble	23.97 23.71	23.54 23.46	140	23.50 23.23	156	23.36 23.20	164	23.32 23.35	138	22.88 23.03	187	23.63 23.60	147
Cytokines, Chimiokines	IL1A	interleukin 1, alpha	26.07 25.55	23.94 23.73	429	24.00 23.68	436	23.91 23.63	454	24.21 24.03	311	23.33 23.45	535	23.63 23.37	618
	IL6	interleukin 6	nd nd	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-
Régulation de la traduction	MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1	26.96 26.97	25.96 26.02	218	26.05 26.19	202	25.73 25.83	254	25.69 25.84	225	25.70 25.79	237	26.04 26.12	233
	MAPK14	mitogen-activated protein kinase 14	28.65 28.52	27.34 27.47	251	27.44 27.52	241	27.10 27.04	319	26.99 27.45	255	26.90 26.99	316	27.66 27.98	216
Cycle cellulaire / Facteur de croissance / facteurs de transcription	EGFR	epidermal growth factor receptor	25.15 24.92	24.69 24.51	149	24.61 24.53	155	25.00 24.88	119	24.13 24.54	160	24.48 24.44	151	25.00 24.92	133
	JUN	Jun proto-oncogene	29.23 29.56	28.77 29.03	156	28.91 29.00	151	28.72 29.15	154	27.94 27.65	296	28.09 28.46	221	28.70 28.94	187
	NOTCH1	Notch 1	30.15 30.31	28.77 28.98	284	29.34 29.28	212	29.18 29.02	244	29.14 29.22	202	28.99 29.48	205	30.53 31.05	87
	TGFB1	Transforming growth factor, beta 1	25.45 25.31	24.74 24.67	177	24.85 24.77	167	24.73 24.73	175	24.63 24.82	154	24.59 24.71	181	24.77 24.71	196
	TP63	Tumor protein p63	29.44 29.22	26.68 26.58	718	27.09 26.97	552	26.43 26.48	816	27.32 27.54	365	26.54 26.63	679	27.24 27.55	484
	FOXO1	Forkhead box O1	26.68 26.68	26.96 26.96	91	26.81 26.84	102	26.88 26.90	96	25.90 26.10	157	26.52 26.46	116	27.18 27.50	80

8.4.2 Résultats biologiques du donneur K1087

FD190914 - mQPA 43 gènes à façon	Gènes		Témoïn	1725_EX2sup		1725_EX2int		1725_EX2aq		1725_EX2int_pur		1725_EX2int_verba		1725_EX2int_iri	
			-	2.74 x 10 ⁻⁴ %		0.0025%		0.06%		0.0024%		0.0024%		0.0226%	
			Cycles	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK
	Abréviation	Lien vers la base de données NCBI													
Housekeeping	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	17.92 18.00	18.10 17.98	99	17.80 17.74	103	18.01 17.97	109	18.33 18.08	99	17.94 17.85	102	18.04 17.93	119
	B2M	Beta-2-microglobulin	25.16 24.82	24.50 24.23	161	25.72 25.24	65	25.64 25.13	86	24.58 24.62	153	25.89 25.48	60	25.46 25.34	91
	RPLP0	Ribosomal protein, large, P0	18.96 18.86	18.88 18.80	110	18.73 18.75	102	19.14 19.09	97	18.99 18.94	113	18.84 18.80	103	19.44 19.34	87
	RPS28	Ribosomal protein S28	19.23 19.30	19.49 19.50	89	19.25 19.26	91	19.68 19.74	82	19.74 19.74	84	19.37 19.30	93	20.12 20.02	69
Différenciation des kératinocytes	FLG	Filaggrin	26.74 26.89	26.58 26.71	118	26.87 26.78	90	26.73 26.88	112	27.09 27.09	97	27.00 26.78	92	27.29 27.50	81
	IVL	Involucrin	27.12 27.11	26.80 27.06	119	27.44 27.47	71	25.76 25.83	278	27.50 27.28	97	27.68 27.65	66	27.59 27.49	90
	KRT10	Keratin 10	23.67 23.79	23.94 24.05	87	24.14 24.36	63	23.21 23.18	161	24.36 24.35	76	23.90 23.98	84	24.26 24.22	85
	KRT5	keratin 5, type II	20.54 20.68	20.78 20.94	88	21.18 21.18	61	20.97 20.95	87	21.07 21.09	85	21.30 21.39	58	22.62 22.55	31
	LOR	Loricrin	27.01 27.08	26.57 26.70	139	26.91 26.85	101	27.20 27.52	90	27.08 27.19	110	26.93 26.96	104	27.19 27.21	109
	TGM1	transglutaminase 1	23.77 23.83	23.90 24.04	93	25.63 25.60	26	23.71 23.67	120	24.59 24.31	75	26.01 25.97	21	27.42 27.50	10
Dégradation de la matrice extracellulaire	MMP1	matrix metallopeptidase 1	26.58 26.70	26.72 26.99	90	26.59 26.28	105	26.73 26.60	110	26.87 26.76	104	25.87 25.76	172	24.99 25.04	374
	MMP9	matrix metallopeptidase 9	30.56 30.56	30.43 30.51	111	30.28 30.80	93	29.89 29.80	183	30.06 29.83	180	29.74 29.50	187	28.62 28.62	465
	TIMP1	TIMP metallopeptidase inhibitor 1	20.63 20.56	20.95 20.84	85	21.44 21.28	53	21.23 21.14	74	21.08 21.11	83	21.01 20.92	75	19.75 19.61	229
	TIMP2	TIMP metallopeptidase inhibitor 2	29.10 29.31	29.21 29.34	99	29.64 29.43	72	29.83 29.63	77	29.55 29.64	89	29.50 29.80	72	29.61 29.79	86
Apoptose	AKT1	V-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	26.58 26.82	26.78 26.75	100	26.83 26.85	82	26.97 27.00	91	26.93 26.99	98	26.98 26.80	85	26.76 26.87	112
	BAX	BCL2-associated X protein	27.77 28.00	27.81 27.75	112	27.73 27.72	101	27.76 27.58	129	27.81 27.73	127	27.51 27.74	116	28.09 28.63	88
	CASP3	Caspase 3, apoptosis-related cysteine peptidase	26.65 26.84	26.44 26.62	121	26.86 26.70	88	26.83 26.88	103	26.89 26.90	105	26.56 26.66	106	26.55 26.52	140
	FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	28.69 28.85	28.96 29.10	87	28.47 28.29	118	28.01 28.19	177	28.48 28.55	140	27.94 28.12	162	28.80 28.99	111
	TP53	Tumor protein p53	26.68 26.71	26.55 26.87	104	26.34 26.45	111	26.93 26.82	98	26.75 26.82	110	26.70 26.52	103	28.02 28.11	47

Interactions cellule cellule	CDH1	cadherin 1, type 1	23.49 23.13	23.91 24.14	63	23.60 23.82	68	23.27 23.05	123	23.28 23.43	113	23.04 23.59	98	22.85 22.75	171
	CLDN1	claudin 1	23.11 23.21	23.31 23.30	94	23.78 23.74	60	23.27 23.21	105	23.23 23.23	112	24.04 23.92	55	25.48 25.44	25
	DSC1	desmocollin 1	29.68 30.13	29.94 30.20	92	30.46 30.68	56	28.61 28.73	259	30.62 30.65	70	29.84 30.54	81	32.14 32.06	26
	DSP	desmoplakin	22.82 22.68	22.63 22.20	133	23.60 23.28	56	22.65 22.48	127	22.73 22.64	123	23.51 23.34	61	23.75 23.72	61
	ITGA6	Integrin, alpha 6	24.69 24.69	24.67 24.87	99	24.89 24.72	84	24.80 24.82	103	24.83 24.70	111	24.77 24.56	99	24.78 24.66	119
	ITGB1	Integrin, beta 1 (fibronectin receptor, beta polypeptide, antigen CD29, includes MD2, MSK12)	20.66 20.63	20.72 20.63	102	20.79 20.63	87	20.88 20.89	94	21.03 20.96	92	20.56 20.49	106	20.60 20.53	128
	LGALS1	Lectin, galactoside-binding, soluble, 1	21.32 21.24	21.58 21.54	86	21.46 21.37	82	22.95 22.92	35	22.02 22.02	70	21.52 21.51	82	22.36 22.29	59
	LGALS7	Lectin, galactoside-binding, soluble, 7	23.53 23.60	23.75 23.83	89	23.73 23.72	81	23.88 23.94	88	24.55 24.52	60	23.86 23.81	81	25.58 25.64	29
Réponse au stress oxydatif et cellulaire	GPX1	glutathione peroxidase 1	22.32 22.29	22.32 22.29	105	21.79 21.79	129	22.97 22.96	71	22.62 22.59	95	22.05 21.97	119	22.53 22.48	106
	HIF1A	Hypoxia inducible factor 1, alpha, subunit (basic helix-loop-helix transcription factor)	24.69 24.86	24.62 24.67	114	24.84 24.83	87	25.05 25.02	93	25.05 25.03	97	24.91 24.94	87	25.10 25.14	95
	HMOX1	Heme oxygenase (decycling) 1	27.61 27.79	27.16 27.62	131	27.74 27.86	84	27.91 27.99	94	27.57 27.80	119	28.02 27.90	81	27.52 27.68	130
	HSPB1	heat shock 27kDa protein 1	18.64 18.71	18.97 18.93	86	20.01 20.00	36	19.12 19.13	82	19.53 19.53	65	19.99 20.00	39	21.24 21.27	20
	NFKB1	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, 1	25.30 25.51	25.18 25.23	120	25.50 25.47	85	25.29 25.36	118	25.48 25.32	118	25.37 25.38	99	25.32 25.31	129
	NQO1	NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1	26.61 26.74	26.45 26.36	126	26.81 26.79	83	26.04 25.88	183	26.07 25.85	193	26.85 27.06	80	25.99 25.71	216
	SOD1	Superoxide dismutase 1, soluble	22.94 22.98	22.90 22.90	109	22.91 22.72	100	23.03 22.94	110	23.10 23.06	108	23.07 22.85	97	23.23 23.20	102
Cytokines, Chimiokines	IL1A	interleukin 1, alpha	23.80 23.91	23.79 23.59	117	23.55 23.15	129	23.58 23.45	141	23.53 23.29	160	23.88 23.53	108	23.23 23.05	199
	IL6	interleukin 6	nd nd	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-
Régulation de la traduction	MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1	25.52 25.73	25.51 25.66	107	25.66 25.62	89	25.67 25.63	109	25.83 25.83	101	25.62 25.57	99	25.65 25.70	117
	MAPK14	mitogen-activated protein kinase 14	26.79 27.02	26.91 27.08	98	27.03 27.05	82	26.96 27.03	104	27.16 27.18	97	27.09 27.16	83	27.47 27.32	86
Cycle cellulaire / Facteur de croissance / facteurs de transcription	EGFR	epidermal growth factor receptor	23.87 23.81	23.92 23.81	103	23.82 23.77	93	24.56 24.48	70	24.20 24.02	97	24.14 24.03	82	24.58 24.43	77
	JUN	Jun proto-oncogene	28.53 28.93	28.10 28.30	150	28.42 28.57	105	28.61 28.69	117	28.56 28.43	137	28.58 28.71	102	28.62 28.79	122
	NOTCH1	Notch 1	27.88 28.27	28.05 28.50	91	28.86 28.98	50	29.00 28.91	60	28.45 28.29	95	29.15 29.42	42	30.13 30.03	30
	TGFB1	Transforming growth factor, beta 1	23.86 23.93	23.98 23.92	101	23.95 23.91	88	24.13 23.98	100	24.10 24.06	103	24.09 23.75	85	23.87 23.75	129
	TP63	Tumor protein p63	26.02 26.14	26.04 26.22	101	26.20 26.27	81	26.58 26.43	83	26.50 26.49	88	26.32 26.25	84	26.89 26.89	69
	FOXO1	Forkhead box O1	26.56 26.66	26.21 26.28	135	26.71 26.81	81	26.93 26.86	91	26.68 26.76	109	26.88 26.98	78	27.10 27.14	85

8.4.3 Résultats biologiques du donneur K1089

FD190914 - mQPA 43 gènes à façon	Gènes		Témoïn	1725_EX2sup		1725_EX2int		1725_EX2aq		1725_EX2int_pur		1725_EX2int_verba		1725_EX2int_iri	
			-	2.74 x 10 ⁻⁴ %		0.0025%		0.06%		0.0024%		0.0024%		0.0226%	
			Cycles	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK	Cycles	% Témoïn Moyenne HK
	Abréviation	Lien vers la base de données NCBI													
Housekeeping	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	18.16 18.14	18.58 18.53	97	18.43 18.55	98	18.52 18.49	109	18.30 18.17	106	18.15 18.00	104	18.89 18.97	97
	B2M	Beta-2-microglobulin	25.59 25.58	26.09 25.65	106	26.80 26.50	60	24.99 25.09	203	25.60 25.84	103	25.80 25.87	83	25.89 26.05	128
	RPLP0	Ribosomal protein, large, P0	18.90 18.83	19.08 19.19	106	19.03 19.10	108	19.51 19.38	93	19.13 19.14	93	18.89 18.89	97	19.53 19.49	107
	RPS28	Ribosomal protein S28	19.36 19.38	19.69 19.80	99	19.78 19.83	92	20.00 20.03	89	19.62 19.59	96	19.48 19.37	95	20.18 20.17	96
Différenciation des kératinocytes	FLG	Filaggrin	27.06 26.92	27.20 27.27	108	26.91 27.09	124	27.27 27.20	117	26.74 26.94	125	26.58 26.81	121	26.75 26.76	197
	IVL	Involucrin	27.67 27.70	27.76 27.73	123	27.75 27.67	122	26.53 26.53	309	27.35 27.44	137	27.33 27.21	132	27.18 27.13	242
	KRT10	Keratin 10	24.59 24.51	24.81 24.79	108	24.67 24.70	113	23.84 23.93	220	24.42 24.59	116	24.02 24.05	141	24.53 24.58	167
	KRT5	keratin 5, type II	21.51 21.53	22.02 22.03	90	22.17 22.05	83	22.36 22.31	79	22.11 21.95	79	21.94 21.85	76	23.84 23.88	33
	LOR	Loricrin	26.61 26.87	26.92 27.06	107	26.77 26.97	114	27.09 27.28	102	26.49 26.53	131	26.46 26.52	117	26.44 26.49	202
	TGM1	transglutaminase 1	24.93 24.85	25.51 25.51	83	26.47 26.49	41	25.29 25.23	107	24.99 25.09	101	27.09 27.03	22	28.11 28.03	18
Dégradation de la matrice extracellulaire	MMP1	matrix metallopeptidase 1	26.00 26.01	25.98 26.11	125	25.12 25.08	233	25.51 25.54	194	26.08 26.04	108	24.99 25.03	197	24.96 24.98	343
	MMP9	matrix metallopeptidase 9	30.90 30.58	30.63 31.07	119	31.26 31.19	88	29.77 30.09	243	30.61 30.59	123	30.05 29.89	167	29.86 30.07	285
	TIMP1	TIMP metallopeptidase inhibitor 1	21.02 20.96	21.61 21.59	84	21.69 21.56	80	21.66 21.57	90	21.34 21.21	92	21.14 21.13	89	19.85 19.82	372
	TIMP2	TIMP metallopeptidase inhibitor 2	28.96 29.23	29.15 29.57	107	29.30 29.50	101	29.97 30.08	73	29.41 29.43	89	29.21 29.52	82	30.57 30.54	61
Apoptose	AKT1	V-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	26.71 26.85	26.97 27.18	104	26.83 27.14	109	27.20 27.19	104	27.02 27.20	89	26.56 26.70	109	27.84 27.81	81
	BAX	BCL2-associated X protein	27.58 27.82	27.53 27.64	138	27.94 28.04	102	27.81 28.05	118	27.85 28.03	95	27.58 27.45	112	28.66 28.71	84
	CASP3	Caspase 3, apoptosis-related cysteine peptidase	26.85 26.87	26.80 27.04	123	26.78 26.90	126	26.82 26.83	142	27.00 27.23	94	26.68 26.51	119	27.49 27.30	116
	FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	28.10 28.50	28.45 28.59	109	28.10 28.47	126	28.22 27.99	158	28.03 28.19	127	27.82 27.88	134	29.82 29.60	63
	TP53	Tumor protein p53	26.33 26.61	26.78 26.99	96	26.97 27.03	86	26.75 26.89	109	26.74 26.83	90	26.55 26.59	92	29.04 28.93	29

Interactions cellule cellule	CDH1	cadherin 1, type 1	23.43 23.89	23.01 23.03	197	22.51 23.21	220	22.94 22.83	235	23.01 23.74	140	23.10 22.52	179	23.21 23.79	188
	CLDN1	claudin 1	23.94 23.90	24.52 24.64	81	24.80 24.83	67	23.72 23.61	166	23.95 23.91	112	24.97 25.00	47	26.24 26.46	31
	DSC1	desmocollin 1	32.13 32.54	31.19 31.10	289	32.05 31.97	155	31.52 31.44	249	32.01 32.46	121	31.55 31.62	164	32.27 32.42	165
	DSP	desmoplakin	23.51 23.65	23.63 23.72	120	23.64 23.96	107	23.21 23.24	177	23.90 23.64	99	23.71 23.44	99	25.02 24.90	64
	ITGA6	Integrin, alpha 6	24.71 24.78	24.80 24.87	120	24.67 24.65	132	24.72 24.81	137	25.13 24.92	93	24.42 24.17	135	25.64 25.56	92
	ITGB1	Integrin, beta 1 (fibronectin receptor, beta polypeptide, antigen CD29, includes MF2, MSK12)	20.83 20.81	21.07 21.01	110	20.98 20.99	111	21.10 21.05	116	21.17 21.02	93	20.50 20.45	125	21.01 21.00	147
	LGALS1	Lectin, galactoside-binding, soluble, 1	20.25 20.28	20.65 20.62	99	20.60 20.60	99	21.54 21.51	58	20.75 20.74	81	20.10 20.10	111	21.14 21.08	93
	LGALS7	Lectin, galactoside-binding, soluble, 7	24.03 24.09	24.79 24.91	74	25.05 25.17	60	25.23 25.25	61	24.84 24.79	67	24.50 24.49	73	26.30 26.49	33
Réponse au stress oxydatif et cellulaire	GPX1	glutathione peroxidase 1	22.19 22.13	22.61 22.51	97	22.28 22.23	117	22.80 22.69	93	22.50 22.44	91	21.96 21.92	115	22.78 22.79	108
	HIF1A	Hypoxia inducible factor 1, alpha, subunit (basic helix-loop-helix transcription factor)	24.81 24.91	24.91 25.05	118	24.91 24.97	118	24.91 24.98	131	24.93 24.94	107	24.68 24.72	110	25.09 25.21	137
	HMOX1	Heme oxygenase (decycling) 1	27.62 28.08	27.93 28.07	114	27.90 28.01	114	28.16 28.02	116	27.57 27.68	130	27.66 27.65	112	27.48 27.44	216
	HSPB1	heat shock 27kDa protein 1	19.74 19.83	20.34 20.37	86	20.98 21.04	53	20.38 20.38	92	20.30 20.33	78	20.92 20.97	44	22.34 22.31	29
	NFKB1	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, 1	25.26 25.30	25.58 25.56	105	25.51 25.46	108	24.68 24.66	212	25.55 25.48	96	25.05 25.01	117	25.29 25.28	167
	NQO1	NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1	27.61 27.44	27.18 27.49	147	26.69 26.83	212	26.32 26.49	302	27.01 26.96	163	27.09 26.88	144	25.99 25.89	501
	SOD1	Superoxide dismutase 1, soluble	23.14 23.19	23.53 23.47	101	23.21 23.19	122	23.65 23.55	103	23.54 23.31	94	23.02 22.96	111	23.64 23.64	120
Cytokines, Chimiokines	IL1A	interleukin 1, alpha	23.70 23.66	23.88 23.83	113	23.36 23.28	160	22.32 22.10	386	23.88 23.64	107	23.21 23.05	145	23.65 23.62	173
	IL6	interleukin 6	nd nd	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-	nd nd	-
Régulation de la traduction	MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1	25.57 25.80	25.90 25.86	111	25.92 26.10	99	25.90 25.80	123	25.89 25.95	95	25.58 25.58	106	26.23 26.44	107
	MAPK14	mitogen-activated protein kinase 14	27.21 27.28	27.21 27.59	116	27.33 27.51	110	27.15 27.15	148	27.56 27.28	100	26.90 27.00	121	27.81 27.99	106
Cycle cellulaire / Facteur de croissance / facteurs de transcription	EGFR	epidermal growth factor receptor	24.04 24.01	24.42 24.24	104	24.25 24.23	107	24.25 24.06	127	24.67 24.53	76	24.11 24.04	95	24.84 24.85	95
	JUN	Jun proto-oncogene	28.63 28.83	28.55 28.56	144	28.52 28.68	136	28.76 28.91	129	28.50 28.59	128	27.82 28.17	169	27.85 28.17	277
	NOTCH1	Notch 1	28.78 28.69	28.89 29.01	110	29.01 29.26	95	29.02 29.10	111	29.02 29.08	90	29.49 29.57	57	30.99 31.52	30
	TGFB1	Transforming growth factor, beta 1	24.07 24.08	24.50 24.30	102	24.22 24.17	115	24.46 24.28	113	24.35 24.29	95	23.95 23.98	106	24.83 24.78	101
	TP63	Tumor protein p63	26.31 26.57	26.78 26.86	98	26.75 26.81	98	25.94 25.98	193	26.66 26.77	93	26.57 26.59	89	28.29 28.29	46
	FOXO1	Forkhead box O1	26.74 26.83	26.77 26.89	124	26.84 26.84	120	26.83 26.82	135	26.64 26.80	118	26.58 26.52	116	26.58 26.53	196

8.5 ANNEXE 5 : COMMUNICATIONS ET PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

Oral - « Stratégie de caractérisation quantitative d'extraits naturels» AFSEP, Paris, France, Novembre 2019

Poster - « Study of alpine flora as a source of bioactive compounds. » NatProdDDH, Lisbonne, Portugal, Juillet 2019

Poster - « Plants study from alpine flora for isolation and identification of compounds. », JAD, Grenoble, France, Juin 2019

Oral - « La flore alpine dans les cosmétiques. », Les conférences du jardin, Jardin botanique du Lautaret, France, Juillet 2018.

Publication en cours de soumission – Gori A., Boucherle B., Rey A., Rome M., Fuzzati N., Peuchmaur M. Development of a new maceration technique to optimize extraction and isolation of natural products