

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Amar Telidji - Laghouat**



**Faculté de Technologie**

**THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES**

**Spécialité : Chimie des Substances Naturelles**

**Présentée et soutenue publiquement  
le 24/04/2019**

*par*

**Mme KHERKHACHE HAYAT**

**THEME**

**Etude Phytochimique de la plante *Saccocalyx satureioides*,  
identification de la stéréochimie par la RMN 2D**

**JURY :**

|          |                     |                |                                   |
|----------|---------------------|----------------|-----------------------------------|
| Monsieur | Chabira Salem Fouad | Président      | Professeur Université de Laghouat |
| Monsieur | Djedid Mebrouk      | Examineur      | MCA Université de Laghouat        |
| Monsieur | Lanez Touhami       | Examineur      | Professeur Université d'El-Oued   |
| Monsieur | Haba Hamada         | Examineur      | Professeur Université de Batna    |
| Monsieur | Lahrech Mokhtar     | Rapporteur     | Professeur Université de Djelfa   |
| Monsieur | Benalia Mokhtar     | Co- Rapporteur | Professeur Université de Laghouat |

**2018/2019**

# *Remerciements*

Mes remerciements les plus profonds et inexprimables, s'adressent avant tout à *ALLAH* le tout puissant, de m'avoir accordé la force, la santé et le courage afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de Chimie Organique et de Substances Naturelles de l'Université Ziane Achour –Djelfa et de laboratoire de Chimie Organique et Produits Naturel et Agro-alimentaire de l'Université d'Aveiro- Portugal. Je remercie les responsables de ces laboratoires de m'avoir accordé d'y accéder afin de réaliser mes expérimentations.

Mes très profondes reconnaissances vont à mon Directeur de thèse, Monsieur **Lahrech Mokhtar Boualem** Professeur au Département des Sciences Biologiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université Ziane Achour –Djelfa, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'encadrer ce travail, de le diriger avec tant de compétence et de gentillesse. Ses conseils et ses orientations éclairées m'ont permis de mener à terme ce travail. Je le remercie de m'avoir fait confiance et de m'avoir donné l'opportunité d'évoluer en tant que chercheuse au sein de son équipe de recherche « Synthèse de composés polycycliques par voies organométalliques» dans le laboratoire de «Chimie Organique et de Substances Naturelles».

Nous exprimons nos vifs remerciements à Monsieur **Benalia Mokhtar**, Professeur à l'Université Amar Téliidji de Laghouat et co-directeur de thèse pour son aide et ses conseils tout le long de la réalisation de ce travail.

Je tiens à adresser mes remerciements les plus sincères aux honorables membres du jury:

Monsieur **Chabira Salem Fouad**, Professeur au département génie des procédés à l'université de Laghouat. Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de présider ce jury de thèse. Qu'il nous permette de lui exprimer notre respectueuse gratitude

Toute ma reconnaissance à Monsieur **Djedid Mebrouk**, Maître de conférences à l'université de Laghouat, pour la bienveillante attention qu'elle a accordée à ce travail et pour la participation à ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de mes vifs remerciements et de mon profond respect.

Je remercie profondément Mr le Professeur **Lanez Touhami** Professeur à l'université d'EL-Oued Qui me fait l'honneur d'avoir accepté de porter son jugement hautement qualifié sur mon travail. Je le prie de bien vouloir trouver ici l'expression de ma plus grande estime d'avoir accepté de siéger parmi le jury.

*J'*exprime mes remerciements les plus sincères à Monsieur le professeur **Haba Hamada**, Doyen de la Faculté des Sciences de la Matière à l'Université de Batna , pour son soutien et pour le temps qu'il a pu consacrer pour m'aider dans l'identification des composées purs qui ont fait l'objet de ce travail. Merci pour sa patience, sa collaboration, son aide à la réalisation de ce manuscrit et la grande attention qu'il a portée à mon travail. Grâce à lui, j'ai pu développer mes connaissances en chimie, particulièrement sur la procédure d'identification des composés purifiés. Je tiens à lui adresser mes remerciements pour les relectures et corrections de mon article scientifique et d'avoir accepté de siéger parmi les membres de Jury.

Consciente de vos nombreuses responsabilités, je suis particulièrement touchée du temps que vous m'avez accordé.

*Je* remercie Monsieur le professeur **Artur Silva**, directeur de laboratoire de Chimie Organique et Produits Naturel et Agro-alimentaire de l'Université d'Aveiro- Portugal de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et de m'avoir permis de réaliser les analyses spectroscopiques RMN 1D et 2D et Masse lors de mes stages. Votre soutien, votre aide précieuse et votre extrême gentillesse étaient pour moi un très grand support pour la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.

*Je* remercie vivement mon amie et ma collègue **Mme Benabdelaziz Imane**, Maître de Conférences au Département de Chimie de la Faculté des Sciences Exactes et Informatique à l'Université Ziane Achour –Djelfa qui par son soutien moral, sa sympathie et sa bonne humeur et son aide précieuse ont rendu ce travail plus facile et agréable et de m'avoir accompagnée au cours de cette aventure avec toute l'attention et la fraternité, trouvant toujours les mots qu'il faut quand ça ne va pas. Aussi, pour la grande aide qu'il m'a apporté lors de la rédaction de cette thèse.

*Je* tiens à remercier Monsieur le professeur **Yousfi Mohamed**, Professeur à l'Université Amar Télidji de Laghouat pour leurs conseils, leur précieux soutien moral pendant des périodes difficiles et leur encouragements.

*Un* grand merci pour mes collègues du Laboratoire de Chimie Organique et de Substances Naturelles qui ont contribué par leur aide, leur soutien pendant les moments difficiles, leur gentillesse et pour leur franche camaraderie et amitié, chacun à sa façon, à la progression de mon travail dans une ambiance toujours amicale et stimulante.

*Toutes* les expressions de reconnaissance pour mes parents qui voulaient tout le temps que je pousse mes études jusqu'au bout avec un soutien incontestable, Merci pour tout, je vous admire...

**F**inalement, un merci du fond du cœur à mon Mari qui est toujours à mes côtés, qui m'a aidée, m'a encouragée, m'a soutenue et surtout m'a supportée pendant les moments difficiles.

**Au** moment où s'achève ce travail, permettez-moi de remercier du fond du coeur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de thèse, m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.



## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

***\*\*À mon très cher père,*** *je lui dédie avec fierté cette thèse qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.*

***\*\*À ma très chère mère,*** *pour tous les sacrifices et leur soutien moral, avec toute mon affection et ma reconnaissance; merci maman.*

***\*\*À mon cher époux,*** *Je vous remercie pour votre soutien, votre patience à mon égard. Les paroles m'échappent, tout simplement un grand merci pour votre grand amour, votre patience, vos encouragements et vos services. Merci pour la chaleur humaine que vous m'apportez au quotidien.*

***\*\*À mes chers enfants :*** *Yasmine, Ayoub et Safouane qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin. Merci pour votre amour sans limite.*

***\*\*À mes frères et mes sœurs,*** *Merci pour vos conseils, votre soutien, vos encouragements et surtout vos bénédictions et votre amour.*

***\*\*À tous mes professeurs,***

***\*\* Spéciale dédicace à toutes mes amies.***

***\*\*À tous ceux qui me sont chers.***

## *Abréviations*

|                           |                                              |
|---------------------------|----------------------------------------------|
| <b>AcOEt</b>              | Acétate d'éthyle                             |
| <b>EtOH</b>               | Ethanol                                      |
| <b>EP</b>                 | Ether de pétrole                             |
| <b>MeOH</b>               | Méthanol                                     |
| <b>CHCl<sub>3</sub></b>   | Chloroforme                                  |
| <b><i>n</i>-BuOH</b>      | Butanol                                      |
| <b>DMSO</b>               | Diméthyl sulfoxyde                           |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>     | Eau                                          |
| <b>CCM</b>                | Chromatographie sur couche mince             |
| <b>CC</b>                 | Chromatographie sur colonne                  |
| <b>VLC</b>                | Chromatographie liquide sous vide            |
| <b>SiO<sub>2</sub></b>    | Gel de silice normale                        |
| <b>R<sub>f</sub></b>      | Rapport frontal                              |
| <b><i>s</i></b>           | Singulet                                     |
| <b><i>sl</i></b>          | Singulet large                               |
| <b><i>d</i></b>           | Doublet                                      |
| <b><i>dd</i></b>          | Doublet de doublets                          |
| <b><i>ddd</i></b>         | Doublet de doublets de doublets              |
| <b><i>t</i></b>           | Triplet                                      |
| <b><i>td</i></b>          | Triplet de doublets                          |
| <b><i>m</i></b>           | Multiplet                                    |
| <b><i>nd</i></b>          | Nom déterminé                                |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b>  | Résonance magnétique nucléaire du proton     |
| <b>1D</b>                 | Monodimensionnelle                           |
| <b>2D</b>                 | Bidimensionnelle                             |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> | Résonance magnétique nucléaire du carbone 13 |
| <b>HMBC</b>               | Heteronuclear multiple bond correlation      |
| <b>HSQC</b>               | Heteronuclear single quantum correlation     |
| <b>HR</b>                 | haute résolution                             |
| <b>SM</b>                 | spectrométrie de masse                       |

|                            |                                                                                |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ESI</b>                 | Spectrométrie de masse par ionisation douce (Electrospray)                     |
| <b>UV</b>                  | Ultra-violet                                                                   |
| <b><math>\delta</math></b> | Déplacement chimique en ppm                                                    |
| <b><i>J</i></b>            | Constante de couplage en Hz                                                    |
| <b>uma</b>                 | Unité de masse atomique                                                        |
| <b><i>m/z</i></b>          | Masse/charge d'un ion                                                          |
| <b>F</b>                   | Fraction                                                                       |
| <b>ppm</b>                 | Partie par million                                                             |
| <b>Hz</b>                  | Hertz                                                                          |
| <b>MHz</b>                 | Megahertz                                                                      |
| <b>°C</b>                  | Température en degrés Celsius                                                  |
| <b>mg</b>                  | milligramme                                                                    |
| <b>g</b>                   | Gramme                                                                         |
| <b>mL</b>                  | Millilitre                                                                     |
| <b>nm</b>                  | Nanomètre                                                                      |
| <b>NADPH</b>               | Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate                                    |
| <b>ADN</b>                 | Acide désoxyribonucléique                                                      |
| <b>ERO</b>                 | Espèces réactive de l'oxygène                                                  |
| <b>ERN</b>                 | Espèces réactive nitrogénée                                                    |
| <b>DPPH</b>                | 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl                                                 |
| <b>ABTS</b>                | Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique) |
| <b>IC<sub>50</sub></b>     | Concentration inhibitrice de 50%                                               |

# Sommaire

|                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Introduction.....</b>                                                   | <b>1</b>  |
| <br><b>Chapitre I : Aspects botaniques et études antérieures</b>           | <b>5</b>  |
| <b>Partie I. Aspects botaniques .....</b>                                  | <b>6</b>  |
| I. 1. Famille Lamiaceae.....                                               | 7         |
| I. 1. 1. Présentation de la famille.....                                   | 7         |
| I. 1. 2. Description botanique.....                                        | 7         |
| I. 1. 3. Distribution géographique.....                                    | 8         |
| I. 1. 4. Intérêt des espèces de la famille des lamiacées.....              | 9         |
| I.1.4.1. Intérêts économiques.....                                         | 9         |
| I.1.4.2. Intérêts nutritionnels.....                                       | 9         |
| I.1.4.3. Intérêts pharmacologiques.....                                    | 9         |
| I. 2. Genre <i>Saccocalyx</i> .....                                        | 10        |
| I. 3. Espèce <i>Saccocalyx satureioides</i> .....                          | 11        |
| I. 3. 1. Classification systématique.....                                  | 11        |
| I. 3. 2. Noms vernaculaires et synonymes.....                              | 12        |
| I. 3. 3. Description botanique.....                                        | 12        |
| I. 3. 4. Répartition géographique.....                                     | 13        |
| I. 3. 5. Intérêts de <i>Saccocalyx satureioides</i> .....                  | 13        |
| I. 3. 5. 1. Intérêts écologiques.....                                      | 13        |
| I. 3. 5. 2. Intérêts pharmacopées.....                                     | 13        |
| <b>Partie II. Etudes chimiques antérieures.....</b>                        | <b>14</b> |
| II. 1. Famille Lamiaceae.....                                              | 15        |
| II. 1. 1. Flavonoïdes.....                                                 | 15        |
| II. 1. 2. Phényléthanoides et Phénylpropanoides.....                       | 27        |
| II. 1. 3. Terpenoides.....                                                 | 31        |
| II. 2. Espèce <i>Saccocalyx satureioides</i> .....                         | 37        |
| <br><b>Chapitre II : Généralités sur les flavonoides et les alcaloides</b> | <b>44</b> |
| <b>Partie I. Généralités sur les flavonoides.....</b>                      | <b>45</b> |
| I. 1. Généralités sur les polyphénols.....                                 | 46        |

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| I. 2. Flavonoïdes.....                                            | 47 |
| I. 2. 1. Définition.....                                          | 47 |
| I. 2. 2. Structure chimique.....                                  | 47 |
| I. 2. 3. Biosynthèse des flavonoïdes.....                         | 48 |
| I. 2. 4.. Classes des flavonoïdes.....                            | 49 |
| I. 2. 4..1. Flavones.....                                         | 50 |
| I. 2. 4..2. Flavanols ou flavan-3-ols.....                        | 50 |
| I. 2. 4..3. Flavonols.....                                        | 51 |
| I. 2. 4..4. Isoflavones.....                                      | 51 |
| I. 2. 4..5. Flavanones.....                                       | 51 |
| I. 2. 4..6. Anthocyanes.....                                      | 52 |
| I. 2. 5.. Nomenclature.....                                       | 53 |
| I. 2. 6.. Substitution du squelette flavonique.....               | 54 |
| I. 2. 6. 1. O-substitution.....                                   | 54 |
| I. 2. 6.. 1. 1. Hydroxylation.....                                | 54 |
| I. 2. 6.. 1. 2. O-méthylation.....                                | 55 |
| I. 2.6. 1. 3. O-glycosylation.....                                | 55 |
| I. 2. 6.. 2. C-substitution.....                                  | 56 |
| I. 2. 6.. 2. 1. C-méthylation.....                                | 56 |
| I. 2. 6.. 2. 2. C-glycosylation.....                              | 56 |
| I. 2. 7. Localisation des flavonoïdes.....                        | 57 |
| I. 2. 8. Distribution des flavonoïdes.....                        | 57 |
| I. 2. 9. Caractéristiques chromatographiques des flavonoïdes..... | 58 |
| I. 2. 10. Propriétés physiologiques des flavonoïdes.....          | 59 |
| I. 2. 11 Activités biologiques des flavonoïdes.....               | 61 |
| I. 2. 11. 1. Activité antioxydante.....                           | 61 |
| I. 2. 11. 1. 1. Propriétés antiradicalaires.....                  | 61 |
| I. 2. 11. 1. 2. Propriétés chélatrices des ions métalliques.....  | 63 |
| I. 2. 11.2. Activités toxique et pro-oxydante.....                | 63 |
| I. 2. 11. 3 Activité antimicrobienne des flavonoïdes.....         | 64 |
| I. 2. 11. 3.1 Activité antibactérienne.....                       | 64 |
| I. 2. 11. 3.2. Activité antifongique.....                         | 65 |
| I. 2. 11. 4 Activité anti-inflammatoire.....                      | 66 |

|                                                                          |           |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------|
| I. 2. 11. 5 Activité anti-tumorale.....                                  | 67        |
| I. 2. 11. 6. Activité anti-ulcérogène.....                               | 68        |
| I. 2. 11. 7. Effet sur le système cardiovasculaire.....                  | 69        |
| I. 2. 11. 8. Propriétés antivirales .....                                | 69        |
| I. 2. 11. 9. Propriétés antiallergiques.....                             | 70        |
| I. 2. 11. 10. Propriétés nutraceutiques.....                             | 70        |
| I. 2. 11. 11. Prévention de la cataracte diabétique.....                 | 70        |
| I. 2. 11. 12. Activité anti-ostéoporose.....                             | 71        |
| I. 3. Conclusion .....                                                   | 71        |
| <b>Partie II. Généralités sur les alcaloïdes.....</b>                    | <b>72</b> |
| II. 1. Introduction.....                                                 | 73        |
| II. 2. Définition.....                                                   | 73        |
| II. 3. Classification.....                                               | 74        |
| II. 3. 1. Classification structurale.....                                | 74        |
| II. 3. 2. Classification biogénétique.....                               | 75        |
| II. 3. 2.1. Alcaloïdes vrais.....                                        | 75        |
| II. 3. 2.2. Pseudo-alcaloïdes.....                                       | 76        |
| II. 3. 2.3. Proto-alcaloïdes.....                                        | 77        |
| II. 4. Nomenclature.....                                                 | 78        |
| II. 5. Distribution.....                                                 | 78        |
| II. 6. Localisation.....                                                 | 81        |
| II. 7. Biosynthèse.....                                                  | 81        |
| II. 8. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes.....                  | 83        |
| II. 10. Intérêts des alcaloïdes.....                                     | 84        |
| II. 10.1. Rôles dans les plantes.....                                    | 84        |
| II. 10.2. Intérêts pharmacologiques.....                                 | 85        |
| II. 11. Structure et activités biologiques de quelques alcaloïdes.....   | 87        |
| II. 11. 1. Alcaloïdes dérivés de l'ornithine.....                        | 87        |
| II. 11. 2. Alcaloïdes dérivés de la lysine.....                          | 89        |
| II. 11. 3. Alcaloïdes dérivés de la tyrosine et de la phénylalanine..... | 90        |
| II. 11. 4. Alcaloïdes dérivés du tryptophane.....                        | 91        |
| II. 11. 5. Alcaloïdes dérivés de l'acide anthranilique.....              | 93        |
| II. 11. 6. Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique.....                | 94        |

|                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------|-----|
| II. 11. 7. Alcaloïdes dérivés de l’histidine.....                            | 94  |
| II. 11. 8. Alcaloïdes produits à partir de réactions d’amination.....        | 95  |
| <b>Chapitre III : Etude phytochimique</b>                                    | 96  |
| III. 1. Etude phytochimique de l’espèce <i>Saccocalyx satureioides</i> ..... | 97  |
| III. 1. 1. Extraction.....                                                   | 97  |
| III. 1. 2. Séparation et purification.....                                   | 99  |
| III. 1.3. Identification structurale des composés isolés.....                | 100 |
| III. 1. 3. 1. Identification structurale du composé SS1.....                 | 101 |
| III. 1. 3.2. Identification structurale du composé SS2.....                  | 114 |
| III. 1. 3.3. Identification structurale du composé SS3.....                  | 123 |
| III. 1. 3. 4. Identification structurale du composé SS4.....                 | 129 |
| III. 1. 3. 5. Identification structurale du composé SS5.....                 | 136 |
| III. 1. 3. 6. Identification structurale du composé SS6.....                 | 142 |
| III. 1. 3. 7. Identification structurale du composé SS7.....                 | 149 |
| III. 1. 3. 8. Identification structurale du composé SS8.....                 | 155 |
| III. 1. 3. 9. Identification structurale du composé SS9.....                 | 162 |
| III. 2. Conclusion.....                                                      | 165 |
| <b>Chapitre IV : Partie expérimentale</b>                                    | 168 |
| IV. 1. Matériel végétal.....                                                 | 168 |
| IV. 2. Méthodes et techniques chromatographiques.....                        | 168 |
| IV. 2. 1. Chromatographie sur couche mince(CCM).....                         | 168 |
| IV. 2. 2. Chromatographie liquide sur colonne (CC).....                      | 168 |
| IV. 2. 3. Chromatographie liquide sous vide (VLC).....                       | 169 |
| IV. 3. Techniques d’identification structurale.....                          | 169 |
| IV. 3.1. Spectrométrie de masse (SM).....                                    | 169 |
| IV. 3. 2. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN).....         | 169 |
| IV.4. Etude phytochimique de l’espèce <i>Saccocalyx satureioides</i> .....   | 170 |
| IV. 4.1. Obtention des extraits.....                                         | 170 |
| IV.4. 2. Fractionnement et purification de l’extrait acétate d’éthyle.....   | 170 |
| IV. 5. Composés isolés de l’espèce <i>Saccocalyx satureioides</i> .....      | 186 |
| <b>Chapitre V: Etude biologique</b>                                          | 190 |
| V. 1. Généralités sur les Activités biologiques étudiées.....                | 191 |
| V.2. Activités antioxydantes.....                                            | 191 |

|                                                                                        |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| V.2. 1. Historique.....                                                                | 191        |
| V.2. 2. Stress oxydatif.....                                                           | 192        |
| V.2. 3. Radicaux libres.....                                                           | 192        |
| V.2. 4. Marqueurs biologiques de stress oxydant.....                                   | 194        |
| V.2. 5. Maladies liées au stress oxydatif.....                                         | 195        |
| V.2. 6. Alimentation et stress oxydant.....                                            | 195        |
| V.2.7. Antioxydants.....                                                               | 196        |
| V.2.7.1. Antioxydants synthétiques.....                                                | 197        |
| V.2.7.2. Antioxydants naturels.....                                                    | 198        |
| V.2.8. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....                           | 199        |
| V.2. 8. 1. Test au DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle).....                         | 200        |
| V.2. 8. 2. Test de $\beta$ -carotène.....                                              | 201        |
| V.3. Activité antimicrobienne.....                                                     | 201        |
| V.3. 1. Effet antimicrobien.....                                                       | 201        |
| V.3. 2. Mécanisme de l'effet antimicrobien.....                                        | 202        |
| V.3. 3. Principales substances antimicrobiennes.....                                   | 202        |
| V.3. 3. 1. Antibiotiques.....                                                          | 202        |
| V.3. 3. 2. Antibiotiques traditionnels.....                                            | 203        |
| V.3.4. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.....                        | 204        |
| V.4. Evaluation in vitro de l'activité biologique.....                                 | 206        |
| V.4. 1 Activité antioxydante.....                                                      | 206        |
| V.4. 1. 1. Test du Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)..... | 206        |
| V.4. 1. 2. Test de blanchiment du $\beta$ -carotène.....                               | 207        |
| V.4. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....                                  | 209        |
| V. 5. Analyse statistique.....                                                         | 210        |
| V. 6. Résultats et discussion.....                                                     | 211        |
| V. 7. Conclusion.....                                                                  | 215        |
| <b>Conclusion générale.....</b>                                                        | <b>216</b> |
| <b>Bibliographie.....</b>                                                              | <b>220</b> |
| Résumé.....                                                                            | 249        |
| Abstract.....                                                                          | 250        |
| ملخص .....                                                                             | 251        |



# *Introduction*

## *Introduction*

Le temps n'est pas si lointain où l'on ne parlait de sa santé. Celle –ci était la condition de l'existence. On ne s'en préoccupait que lorsque le corps refusait par trop- et trop péniblement- les services qui lui étaient demandés. Il fallait être " dur au mal".

Aujourd'hui, la santé est devenue pour chacun une préoccupation majeure. Notre société consciente des risques que comportent le mode de vie actuel, est passé du quasi-refus de la maladie au souci permanent de sa prévention [1].

Au cours des dernières années, plusieurs raisons ont mené au rétablissement de l'usage des plantes médicinales. Elles sont d'abord d'un coût inférieur aux médicaments de synthèse, Laquelle en effet n'a pu trouver remède à tous les maux, en plus de se buter à une résistance accrue des pathogènes et à une panoplie d'effets secondaires liés à l'usage des médicaments traditionnels. Enfin, la valeur médicinale des plantes est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue un argument de taille pour utilisation en médecine. Ainsi, l'industrie des plantes médicinales est devenue, en peu de temps, le secteur de l'industrie pharmaceutique connaissant la plus forte croissance annuelle avec 15 à 20% [2].

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal. Parmi les milliers de molécules produites par ce métabolisme, l'homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus....) et de corriger ses troubles métaboliques [2-5].

Les espèces végétales produisent de nombreux métabolites primaires indispensables à leur développement. Ceux-ci comportent particulièrement des protéines, des lipides et des hydrates de carbones utilisés par les plantes pour leur subsistance et reproduction. De plus, elles synthétisent une vaste gamme de composés chimiques appelés métabolites secondaires

se répartissant en polyphénols, terpénoïdes, alcaloïdes, acides gras....etc. Ces substances naturelles déterminent à quel point les plantes médicinales peuvent être bénéfiques dans le domaine de santé sachant que plusieurs de leurs composés à certaines doses ont des propriétés thérapeutiques ou peuvent parfois être toxiques. Il est à noter qu'il n'y a pas une règle générale concernant la toxicité ou l'effet thérapeutique des mêmes biomolécules lorsqu'elles se trouvent dans la plante que si elles en sont extraites. En effet, des effets synergiques des constituants chimiques dans la plantes, mêmes ceux qui sont minoritaires, y peuvent intervenir. Ceci a été démantré particulièrement dans le cas des huiles essentielles [6].

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les montagnes, la steppe, le Sahara. Ces ressources naturelles sont importantes pour l'économie Algérienne et pour le maintien de l'équilibre écologique de la région.

Plus de trois milles espèces, appartenant à plusieurs familles botaniques, sont pour la plus part spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémique [7,8] ; ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable.

La recherche de molécules bioactives à partir des plantes peut s'effectuer selon plusieurs stratégie : une approche ethnopharmacologique qui consiste à utiliser le savoir des médecines traditionnelles, une approche chimiotaxonomique qui s'intéresse à des taxons connus pour renfermer des métabolites secondaires particuliers, ou encore un criblage systématiques des espèces ou toutes combinaison des précédentes. Le chemin qui mène de la plante à ses constituants purs est très long et nécessite un travail d'équipes pluridisciplinaires (botanistes, chimistes,.....etc), le travail de phytochimiste concerne essentiellement l'isolement, la purification et enfin la détermination structurale du produit isolé, et c'est dans cet axe que notre contribution peut s'inscrire.

Notre travail s'inscrit dans une perspective de valorisation et de développement de la recherche sur les plantes médicinales afin de pouvoir satisfaire au besoin de santé des populations ; ceci reste une volonté des autorités sanitaires de notre pays (Algérie) suite à l'engagement de l'OMS à œuvres dans ce domaine.

L'objectif de notre thèse vise la valorisation de la famille des lamiacées comme source de molécules renouvelables utilisables dans le domaine pharmaceutique, phytosanitaire et dans le domaine des arômes et parfums.

Le travail de recherche qui nous a été proposé fait suite aux résultats obtenus des travaux de magister initiés par le laboratoire de chimie organique et des substances naturelles de l'université de Djelfa. L'espèce médicinale de la famille de lamiacée a retenu l'attention au cours des travaux de recherche et il était important de réunir des informations phytochimiques et biologiques sur l'espèce *Saccocalyx satureioides*, une plante sauvage abondante dans notre région steppique, connue sous le nom local Zaâtar R'mel.

Le choix de cette plante a été guidé par les indications d'usage traditionnel et aussi par le fait qu'elles n'ont fait l'objet que de très peu d'investigations phytochimiques et biologiques.

Les principales parties de ce travail sont traitées selon le plan suivant :

- Une première partie, bibliographique, comportant deux chapitres dont le premier chapitre aborde les aspects botaniques et études chimiques antérieures. La première partie de ce chapitre est consacrée à la description botanique de la famille Lamiaceae, le genre *Saccocalyx* et l'espèce *Saccocalyx satureioides*. La deuxième partie illustre les études phytochimiques antérieures effectuées sur quelques genres de cette famille.
- Le deuxième chapitre ayant trait à des généralités sur les flavonoïdes et les alcaloïdes, est divisé également en deux parties. La première partie est

consacrée à un rappel bibliographique et des généralités sur les flavonoides. La deuxième partie couvre les alcaloïdes.

- Le troisième chapitre concerne l'étude phytochimique de l'espèce *Saccocalyx satureioides*, en fixant comme principal objectif l'extraction, la séparation et l'identification des métabolites secondaires des parties aériennes de l'espèce étudiée. L'élucidation structurale des composés obtenus à l'état pur est présentée en détail.
- Le quatrième chapitre englobe la partie expérimentale de cette investigation phytochimique en présentant toutes les procédures expérimentales (extraction, fractionnement, isolement et purification) conduisant à l'obtention des produits à l'état pur.
- Le cinquième chapitre sera consacré à une étude biologique *in vitro* visant d'une part à évaluer le pouvoir antimicrobien des extraits bruts de l'espèce *Saccocalyx satureioides* et d'autre part la mise en évidence *in vitro* du potentiel antioxydant des extraits de l'espèce étudiée par deux méthodes différentes, le piégeage du radical libre DPPH et le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène.
- Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion présentant une synthèse des résultats obtenus avec les perspectives envisagées, la liste des références bibliographiques, les annexes et la publication scientifique.



*Chapitre* I



*Partie I*

**I. 1. Famille Lamiaceae****I. 1. 1. Présentation de la famille**

La famille des lamiacées, dénommée aussi Labiée (anciennement, Labieae), regroupe des plantes herbacées et sous-arbustes répartis dans le monde entier. Il s'agit de l'une des principales familles de plantes dicotylédones, qui comprend environ 6500 espèces et 200 genres très diversifiés, plus ou moins cosmopolites, qui caractérisent les climats de type méditerranéen. C'est une famille très homogène : une lamiacée est facile à reconnaître [9].

Dans cette famille un même nom vernaculaire fait souvent référence à un très grand nombre d'espèces appartenant toutes au même genre, comme par exemple pour les menthes, les lavandes ou les basilics. Un bon nombre de ces espèces sont des plantes médicinales [10, 11].

Les lamiacées constituent une famille très importante dans la flore de l'Algérie, représentée par 28 genres et 146 espèces [12], parmi eux 8 genres et 12 espèces décrites par Zend (1991) se répartissent dans tous le Sahara [13]. Certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces [12].

**I. 1. 2. Description botanique**

Les Lamiacées sont le plus souvent des plantes herbacées, annuelles ou vivaces aromatiques, des sous-arbrisseaux et rarement des arbres ou des lianes [9]. En général, elles sont odorante [12].

Ce sont des plantes à essence dont l'odeur se dégage par simple attouchement des feuilles ou des tiges. En effet, les huiles essentielles des Lamiacées se forment dans des poils à essence et se localisent à l'extérieur sous la cuticule qui se soulève [10, 11].

**❖ Appareil végétatif**

- Les tiges sont quadrangulaires généralement ligneuses à leur base et très ramifiées [11].

- Les feuilles sont pétiolées et opposées [11].

#### ❖ Appareil reproducteur

- Les inflorescences, situées à l'aisselle des feuilles supérieures, sont toutes de type cyme : d'abord bipares, puis unipares par manque de place. Elles sont fréquemment condensées en glomérules et souvent simulent autour de la tige un verticille des fleurs [11].
- Les fleurs sont irrégulières [11].
  - La corolle est souvent à deux lèvres, d'où le nom de Labiées donné à cette famille. Ce nom provient du latin *labium* signifiant «lèvre» du fait de la forme des fleurs dont les cinq sépales soudés entre eux forment un calice bilabié.
  - L'androcée possède 4 ou 2 étamines soudées à la corolle, mais on trouve chez quelques rares Lamiacées tropicales une cinquième étamine (la supérieure) et, quelques genres dont les Sauges, le Romarin, n'ont plus que deux étamines.
  - Le gynécée comporte deux carpelles soudés qui se subdivisent chacun par une fausse cloison en deux demi-loges, chacune contenant un ovule.
- Le fruit est un tétrakène logé au fond d'un calice persistant, chaque demi-carpelle donnant naissance à un akène élémentaire [11].

#### I. 1. 3. Distribution géographique

La famille des Lamiacées répartie sur l'ensemble de la surface de la planète, elle est aussi bien répandue dans les zones tropicales que dans les zones tempérées du monde (Figure I. 1). La grande diversité est rencontrée selon cet ordre : le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le continent Américain, les Iles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine [14].

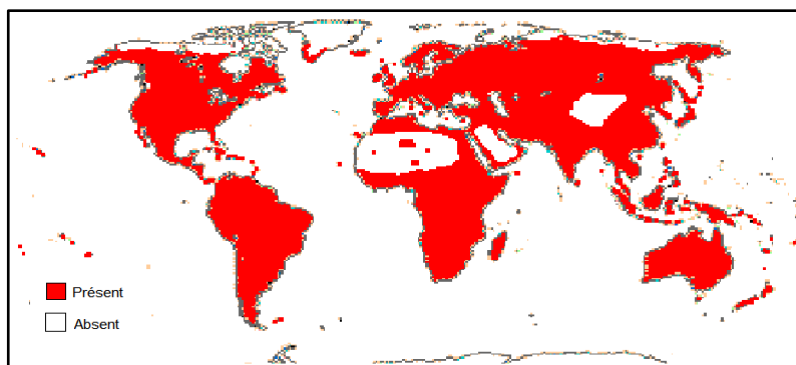


**Figure I. 1. Répartition géographique de la famille Lamiaceae dans le monde entier [14]**

#### **I. 1. 4. Intérêt des espèces de la famille des lamiacées**

##### **I. 1. 4. 1. Intérêts économiques**

La famille des Lamiacées présente un intérêt économique majeur, notamment comme source d'huiles essentielles, la parfumerie même si les parfums de synthèse tendent à remplacer ces essences. L'industrie des cosmétiques utilise également les Lamiacées pour leurs propriétés hydratantes et souvent antiseptiques. On y trouve aussi des plantes ornementales (sauge par exemple) tant en extérieur qu'en intérieur (*coléus*) [15].

##### **I. 1. 4. 2. Intérêts nutritionnels**

Cette famille est l'une des principales sources de légumes du monde entier. Les espèces de *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisées comme des légumes et des arômes alimentaires [16, 17].

##### **I. 1. 4. 3. Intérêts pharmacologiques**

Notons également que plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne, comme *Lavandula*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* [18]. Plusieurs travaux, réalisés *in vitro* et *in vivo*, rapportent des résultats intéressants pour certaines molécules antioxydantes d'origine végétale telles que les dicatéchols, la curcumine, les triterpènes pentacycliques et les flavonoïdes [19-23].

En Afrique, les plantes de la famille Lamiaceae sont utilisées comme diurétique, anti-syphilitique, anti-diarrhéique, cicatrisante, antiseptique et dans le traitement de nombreuses affections telles que les problèmes intestinaux ou encore le météorisme (ballonnement du ventre, dû à des gaz) [21, 22]. De nombreuses espèces de cette famille ont confirmé leur intérêt pharmacologique dans la littérature et qui peuvent être citées à titre indicatif [18] :

- ***Rosmarinus officinalis*** : Insecticide, antinociceptive, antioxydante, diurétique.
- ***Lavetula stoechas*** : Anticonvulsante, calmante, antispasmodique
- ***Thymus vulgaris*** : Anti-inflammatoire, fongicide, provoque l'agrégation de plaquettes, antispasmodique.
- ***Satureja khuzistanica Jamzad*** : Anti-hyper lipidémique, antidiabétique, antioxydant
- ***Melissa officinalis*** : Relaxant, activités antimicrobiennes, agglutination du récepteur, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral (Anti-HIV), cytotoxique, analgésique.
- ***Nepeta cataria*** : Activités antimicrobiennes et répulsives.
- ***Ocimum basilicum.*** : Activités antimicrobiennes, antioxydant et anti-inflammatoire
- ***Zhumeria majdae*** : Anti-nociceptive et anti-inflammatoire

## I. 2. Genre *Saccocalyx*

Le genre *Saccocalyx* est un genre de plantes à fleurs peu connu de la famille des lamiacées, décrite pour la première fois en 1835. Il contient plusieurs espèces qui se répartissent en majorité dans le bassin méditerranéen. Il s'agit des espèces originaire d'Afrique du Nord [24].

Ce genre regroupe de nombreuses espèces, on cite comme exemple : *Saccocalyx calycinus*, *Saccocalyx coluteoides*, *Saccocalyx follicularis*, *Saccocalyx halicacabus*,

*Saccocalyx laguroides*, *Saccocalyx lineatus*, *Saccocalyx lupulinus*, *Saccocalyx tumidus*, *Saccocalyx vulnerariae* [24], en plus *Saccocalyx satureioides* qui est l'objet de notre travail.

Le genre *Saccocalyx* est caractérisé par la corolle à lobes plans étalés, par les étamines au nombre de 4, distantes et presque égales. il se distingue de tous les autres genres de la tribu par la forme si remarquable du calice fructifère, la corolle à deux lèvres à peine distinctes et les étamines distantes nous paraissent devoir le faire rapporter à la sous-tribu des *Mentheae* ; dont il s'éloigne cependant par le port et par les étamines un peu conniventes ; ces derniers caractères le rapproche de la sous-tribu des *Melissa*, dont il diffère par la corolle obscurément bilabiée, et par les étamines distantes à peine ascendantes : ce genre est donc intermédiaire entre les deux sous-tribus des *Mentheae* et des *Melissa* [25].

### I. 3. Espèce *Saccocalyx satureioides*

L'étude botanique de *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. reste difficile, limitée et très controversée car cette espèce a fait l'objet de très peu d'études descriptives. Il en est de même pour le genre de *Saccocalyx*.

#### I. 3. 1. Classification systématique

L'espèce *Saccocalyx satureioides* (Figure.I. 2) est classée sur le plan botanique selon la façon suivante [26] :



**Figure .I. 2** Espèce *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur.

- **Règne :** Plantae
- **Sous règne :** Cormophytes
- **Embranchement :** Spermaphytes
- **Sous embranchement :** Angiospermes
- **Classe :** Dicotylédones
- **Sous classe :** Asteridae
- **Ordre :** Lamiales
- **Famille :** Lamiaceae
- **Sous famille :** Stachyoideae
- **Genre :** *Saccocalyx*
- **Espèce :** *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur.

### I. 3. 2. Noms vernaculaires et synonymes

Cette espèce est désignée sous les noms vernaculaires [11] :

- **Arabe :** Zaâtar R'mel, Azir El'ébel et Zaâtar El Khil.
- **Français :** Sarriette indigène.

Elle possède aussi deux synonymes [24] :

- *Faustia Font Quer & Rothm*
- *Faustia satureioides* (Coss. & Durand) Font Quer & Rothm.

### I. 3. 3. Description botanique

L'espèce *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. est un sous-arbrisseau de 20-100 cm à tiges érigées. Feuilles ovales lancéolées de 4-6 fois 2-3 mm, ciliées, hispides. Fleurs en verticillastres, petites, blanches rosées ou pourpres. Calice à 5 dents, fortement accrescent, vésiculeux à la maturité. Corolle incluse à 4 lobes très courts, sub-égaux, les supérieurs plus ou moins émarginés [12].

### **I. 3. 4. Répartition géographique**

*Saccocalyx satureioides* est une espèce endémique et cosmopolite qui est commune dans les hauts plateaux. En Algérie, cette plante est répandue dans [12] :

- Les dunes de la zone prédésertique.
- Le sous – secteur de l’Atlas Saharien Oranais.
- Le sous – secteur de l’Atlas Saharien Algérois.
- Le sous – secteur de l’Atlas Saharien Constantinois.

Mais elle est rare dans le secteur du Hodna, et très rare dans le secteur du Sahara septentrional [12].

### **I. 3. 5. Intérêts de *Saccocalyx satureioides***

#### **I. 3. 5. 1. Intérêts écologiques**

L’espèce *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. est considérée comme fixatrice de dunes surtout par son enracinement profond qui contribue à la rétention du sol et lui permet de résister au dessèchement [13].

#### **I. 3. 5. 2. Intérêts pharmacopées**

*Saccocalyx satureioides* est une plante utilisée dans la médecine populaire, la décoction ou l’infusion de ses parties aériennes est utilisée généralement pour le traitement des désordres et des spasmes gastriques [27], pour le traitement des infections du système respiratoire [28] et comme tisane pour son effet digestif, antiarthritique, et dans certains cas de la brucellose [29]. Elle est employée comme ingrédient dans de nombreuses médecines traditionnelles locales et dans la plupart du temps dans le soin du diabète [30].



*Partie* II

**II. Etudes chimiques antérieures****II. 1. Famille Lamiaceae**

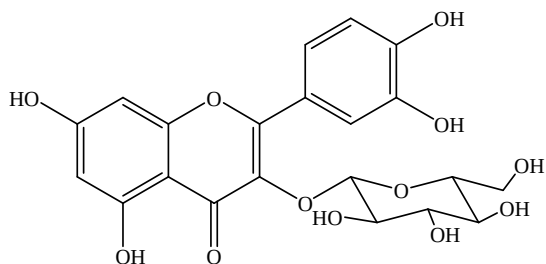
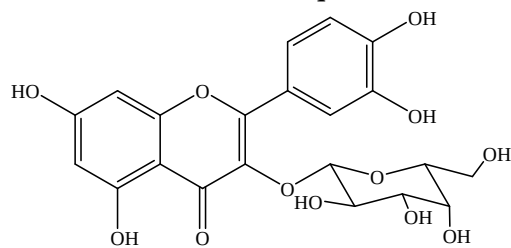
Du point de vue chimique, cette famille a fait l'objet d'intenses investigations dans le but d'isoler différents types de composés. Parmi les genres qui sont en cause, on cite : *Ajuga*, *Rhabdosia*, *Teucrium*, *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Leonurus*, *Ballota*, *Coleus*, *Thymus*, *Phlomis*. Ces études ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les iridoides, les sesquiterpènes, les diterpènes, les triterpènes et les stérols [31, 32].

**II. 1. 1. Flavonoïdes**

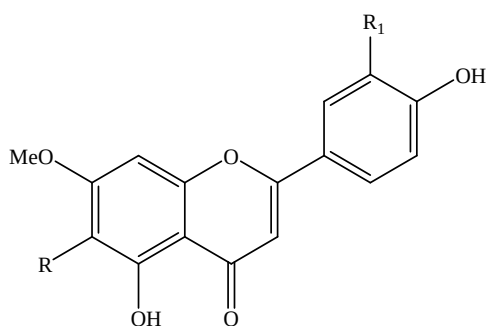
La famille des Lamiaceae compte près de 224 genres qui sont des sources importantes de flavonoïdes. L'apigénine, la lutéoline, le chrysoériol, le kaempférol, l'isorhamnétine et leurs dérivés glycosylés ont été détectés dans un grand nombre d'espèces Lamiaceae [33]. La présence des flavonoïdes *p*-coumaroyl glucosides et 8-hydroxyflavone-7-allosyl glucosides est restreinte aux genres de la sous-famille des Lamioïdes (tribu des Stachydeae) [34-44].

**❖ Genre *Hyptis***

Une étude chimique réalisée sur l'extrait méthanolique de l'espèce *Hyptis atrorubens* Poit. a permis d'identifier deux flavonoïdes : la quercétine-3-glucoside (isoquercétine), la quercétine-3-galactoside (hypéroside) [45]. Ces deux composés isoquercétine et hypéroside) sont largement présents dans les plantes médicinales. En dépit d'une forte similarité de structure entre ces deux composés, ils sont différents dans leur activité biologique et la biodisponibilité parce qu'ils ont des fragments distincts pour le sucre [46]. Ces composés ont été étudiés pour de nombreuses activités, notamment antivirale [47] et antimicrobienne [48, 49].

**Quercétine-3-glucoside (isoquercétine)****Quercétine-3-galactoside (hypéroside)**

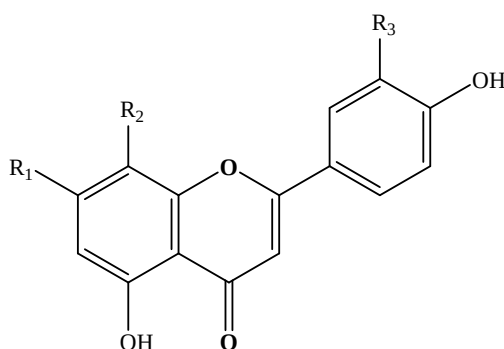
Une investigation chimique sur les feuilles de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. a permis l'isolement de quatre flavonoïdes dont : le cirsiolol, la cirsimaritrine, la 7-*O*-méthyllutéoline et genkwanine [50].



| Structure                     | R                | R <sub>1</sub>   |
|-------------------------------|------------------|------------------|
| Cirsiliol                     | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> |
| Cirsimaritrine                | OCH <sub>3</sub> | H                |
| 7- <i>O</i> -méthyl lutéoline | H                | OH               |
| Genkwanine                    | H                | H                |

#### ❖ Genre *Rosmarinus*

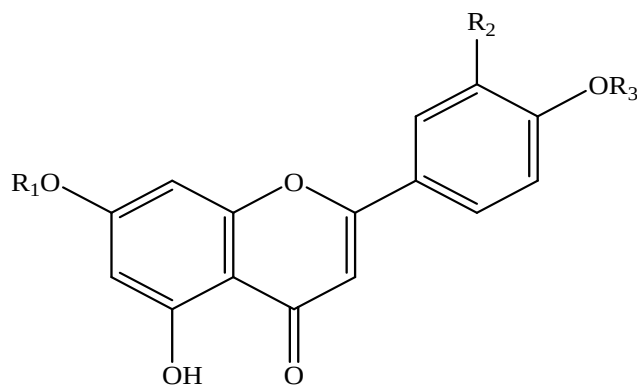
Trois flavonoïdes glucuronides : lutéoline-3'-*O*- $\beta$ -*D*-glucuronide, lutéoline-3'-*O*- (4''-*O*-acétyl)- $\beta$ -*D*-glucuronide et lutéoline-3'-*O*- (3''-*O*-acétyl)- $\beta$ -*D*-glucuronide ont été isolé à partir de 50% d'extrait aqueux méthanolique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* [51]. De la même espèce, il a été identifié également une flavone (genkwanine) et isoscutellareine-7-*O*-glucoside [52].



| Structure                                     | R <sub>1</sub>   | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub>                    |
|-----------------------------------------------|------------------|----------------|-----------------------------------|
| Lutéoline-3'-O-β-D-glucuronide                | OH               | H              | O-β-D-glucuronide                 |
| Lutéoline-3'-O-(4''-O-acétyl)-β-D-glucuronide | OH               | H              | O- (4''-O-acétyl)-β-D-glucuronide |
| Lutéoline-3'-O-(3''-O-acétyl)-β-D-glucuronide | OH               | H              | O- (3''-O-acétyl)-β-D-glucuronide |
| Genkwanine                                    | OCH <sub>3</sub> | H              | H                                 |
| Isoscutellareine- 7-O- glucoside              | O-Glu            | OH             | H                                 |

### ❖ Genre *Thymus*

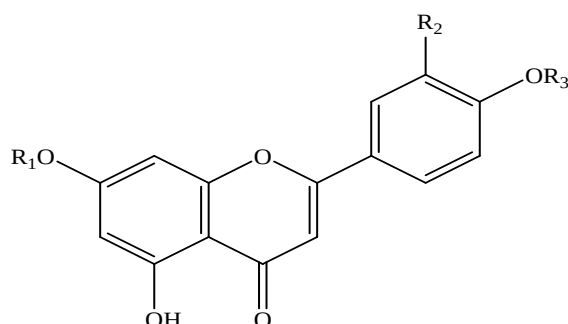
Les principaux métabolites secondaires du genre *Thymus* sont les flavonoïdes. Le genre *Thymus* appartient à la sous-famille des Nepetoideae réputée pour stocker des flavonoïdes polyméthoxylés, comme le montrent les tableaux (II .1 → II .4) [53-74]. La lutéoline et la 6-hydroxylutéoline sont des chémomarqueurs des espèces *Thymus*, la thymusine (5,6-dihydroxy-7, 8,4'-triméthoxyflavone) est aussi caractéristique de cette sous-famille [75-78].



| Structure               | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-------------------------|----------------|----------------|----------------|
| Apigénine               | H              | H              | H              |
| Lutéoline               | H              | OH             | H              |
| Chrysoériol             | H              | OMe            | H              |
| Diosmétine              | H              | OH             | Me             |
| 7-Méthoxyapigénine      | Me             | OH             | Me             |
| 7,4'-Diméthoxyapigénine | Me             | H              | Me             |
| 7-Méthoxylutéoline      | Me             | OH             | H              |

Tableau. II. 1 : Les flavones aglycones isolées du genre *Thymus*

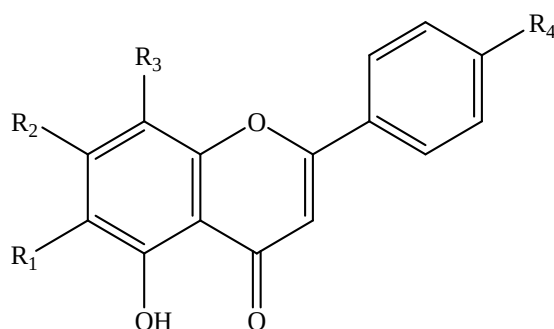
| Flavones                | Espèces                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Apigénine               | <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. hirtus</i> [56], <i>T. decassatus</i> [57], <i>T. webbians</i> [58], <i>T. carnosus</i> [59], <i>T. piperella</i> [60], <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>membranaceus</i> [61], <i>T. longidens</i> var. <i>lanicaulis</i> [62], <i>T. longidens</i> var <i>longidens</i> [62] |
| Lutéoline               | <i>T. vulgaris</i> [79], <i>T. wilddenowii</i> [53], <i>T. broussonetti</i> [54], <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. hirtus</i> [56], <i>T. carnosus</i> [59], <i>T. piperella</i> [60], <i>T. longidens</i> var. <i>lanicaulis</i> [62], <i>T. vulgaris</i> [63]                                                 |
| Chrysoériol             | <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>Membranaceus</i> [61]                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Diosmétine              | <i>T. hirtus</i> [56], <i>T. piperella</i> [60], <i>T. longidens</i> [62]                                                                                                                                                                                                                                         |
| 7-Méthoxyapigénine      | <i>T. vulgaris</i> [63]                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 7,4'-Diméthoxyapigénine | <i>T. vulgaris</i> [63]                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 7-Méthoxylutéoline      | <i>T. vulgaris</i> [79], <i>T. membranaceus</i> subsp. [61], <i>T. vulgaris</i> [63]                                                                                                                                                                                                                              |



| Structure                                         | R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|---------------------------------------------------|-----------------|----------------|----------------|
| Apigénin-7-O-β-D-glucoside                        | Glc             | H              | H              |
| Apigénin -7-O -glucosyl(1→2) glucoside            | Glc-glc         | H              | H              |
| Apigénin -7-O-(β-D- 6- caffeoylglucoside)         | 6'-caffeoyl glc | OMe            | H              |
| Lutéolin-7-O-β-Dglucoside                         | Glc             |                |                |
| Lutéolin-7-O-β-Dglucuronide                       | Glur            | OH             | H              |
| Lutéolin-3'-O-β-Dglucuronide                      | OH              | O-Glur         | H              |
| Lutéolin -7-O-(β-D-glucosyl-6-caffeoyl glucoside) | 6'-caffeoyl glc | OH             | H              |
| Lutéolin-7-O-β-D-xyloside                         | Xyl             | OH             | H              |
| Lutéolin-7-O-glucosyl(1→2) glucoside              | Glc-glc         | OH             | H              |
| Lutéolin-7-O-α-D-(rhamnosyl(1→2) glucoside)       | Rha-glc         | OH             | H              |
| Lutéolin-7-O-α-D-(xylosyl (1→2) glucoside)        | Xyl-glc         | OH             | H              |
| Lutéolin-7-O-β-Dgalacto (1→2) arabinoside         | Gal-ara         | OH             | H              |
| Diosmétin-7-O-β-D-glucoside                       | Glc             | OH             | OMe            |

Tableau. II. 2. Les flavones glycosidiques isolées du genre *Thymus*

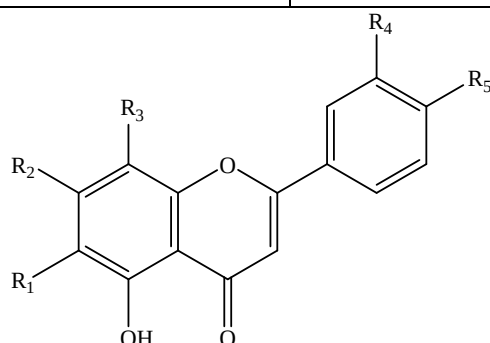
| Flavones                                         | Espèces                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Apigénine-7-O-β-D-glucoside                      | <i>T. webbianus</i> [58], <i>T. piperella</i> [60],<br><i>T. serpyllum</i> [64], <i>T. vulgaris</i> , <i>T. caucasus</i> [65]                                                                                                                                                                            |
| Apigénine -7-O-glucosyl (1→2) glucoside          | <i>T. Caucasus</i> [63]                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Apigénine -7-O-(β-D- 6-caffeoylglucoside)        | <i>T. caucasus</i> [65], <i>T. serpyllum</i> [66]                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Lutéoline-7-O-β-D-glucoside                      | <i>T. vulgaris</i> [80], <i>T. willdenowii</i> [53],<br><i>T. roussoonetti</i> [54], <i>T. webbianus</i> [58], <i>T. piperella</i> [60], <i>T. serpyllum</i> [62], <i>T. caucasus</i> [63], <i>T. vulgaris</i> [64], <i>T. serpyllum</i> [64],<br><i>T. vulgaris</i> [65], <i>T. loscosii</i> Willk [67] |
| Lutéoline-7-O-β-Dglucuronide                     | <i>T. broussonetti</i> [54]                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Lutéoline-3'-O-β-Dglucuronide                    | <i>T. willdenowii</i> [53]                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Lutéoline -7-O-(β-Dglucosyl-6-caffeoylglucoside) | <i>T. caucasus</i> ) [64]                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Lutéoline-7-O-α-D-xyloside                       | <i>T. membranaceus</i> [68]                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Lutéoline-7-O-glucosyl(1→2)glucoside             | <i>T. serpyllum</i> [64], <i>T. vulgaris</i> [64],<br><i>T. caucasus</i> [65]                                                                                                                                                                                                                            |
| Lutéoline-7-O-α-D-(rhamnosyl(1→2) glucoside)     | <i>T. membranaceus</i> [68]                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Lutéoline-7-O-β-D-(xylosyl(1→2) glucoside)       | <i>T. membranaceus</i> [68]                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Lutéoline-7-O-β-D-galacto (1→2)arabinoside       | <i>T. serpyllum</i> [64]                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Diosmétine-7-O-β-D-glucoside                     | <i>T. serpyllum</i> , <i>T. vulgaris</i> [64]                                                                                                                                                                                                                                                            |



| Structure                                  | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|--------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Genkwanine                                 | OH             | OMe            | H              | OH             |
| 8C-(hydroxybenzyl) apigénine               | OH             | OH             | Benzyl -OH     | OH             |
| Scutellareine-7-glucoglucuronide           | Glc            | OH             | Glc            | OH             |
| Apigénine-6,8-di- C-glucoside (vicénine-2) | OH             | Glc-glur       | H              | OH             |
| 5,4'-dihydroxy-6,7-diméthoxyflavone        | OH             | OMe            | H              | OH             |
| 5,6,4'-trihydroxy-7-méthoxyflavone         | OMe            | OMe            | H              | OH             |
| 5,6,4'-trihydroxy-7,8-diméthoxyflavone     | OH             | OMe            | OMe            | OH             |
| 5,4'-dihydroxy-6,7,8-triméthoxyflavone     | OMe            | OMe            | OMe            | OH             |
| 5,6-dihydroxy-7,4'-diméthoxyflavone (ou    | OMe            | OMe            | H              | OMe            |
| 5,6-dihydroxy-7, 8,4'-triméthoxyflavone    | OMe            | OMe            | OMe            | OMe            |

**Tableau. II. 3. Les flavones (dérivées de l'apigénine dont les positions 6 et /ou 8 sont Substituées) isolées du genre *Thymus***

| Flavones                                             | Espèces                                                                                                                               |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Genkwanine                                           | <i>T.herba-barona</i> [55], <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>Membranaceus</i> [61]                                                    |
| 8C-(hydroxybenzyl) apigénine                         | <i>T. hirtus</i> [56]                                                                                                                 |
| Scultellareine-7-glucoglucuronide                    | <i>T. serpyllum</i> [64]                                                                                                              |
| Apigénine-6,8-di- C-glucoside (vicénine-2)           | <i>T. webbianus</i> [58], <i>T. piperella</i> [60]                                                                                    |
| 5,4'-dihydroxy-6,7-diméthoxyflavone (Sorbifoline)    | <i>T. herba-barona</i> [55]                                                                                                           |
| 5,6,4'-trihydroxy-7-méthoxyflavone (Cirsimaritrine)  | <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. piperella</i> [60], <i>T.membranaceus</i> subsp. <i>membranaceus</i> [61], <i>T. vulgaris</i> [63] |
| 5,6,4'-trihydroxy-7,8-diméthoxyflavone(Thymusine)    | <i>T. herba-barona</i> [55]                                                                                                           |
| 5,4'-dihydroxy-6,7,8-triméthoxyflavone (Xanthomicrol | <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>membranaceus</i> [61], <i>T.vulgaris</i> [63]                           |
| 5,6-dihydroxy-7,4'-diméthoxyflavone ou (Ladaneine)   | <i>P. piperella</i> [60]                                                                                                              |
| 5,6-dihydroxy-7,8,4'-triméthoxyflavone (Pebrelline)  | <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>membranaceus</i> [61], <i>P. piperella</i> [60]                                                      |

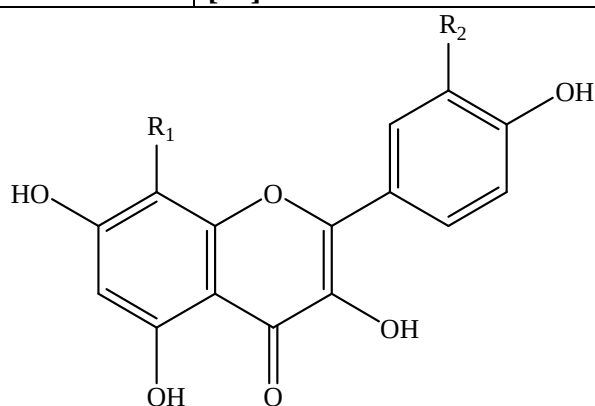


| Structure                                                  | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> | R <sub>5</sub> |
|------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 6-Hydroxy lutéoline                                        | OH             | OH             | H              | OH             | OH             |
| 6-Hydroxy lutéoline-7-O-glucoside                          | OH             | O-Glc          | H              | OH             | OH             |
| 8C-(hydroxybenzyl) lutéoline                               | H              | OH             | Benzyl -OH     | OH             | OH             |
| 8C-(hydroxybenzyl) diosmétine                              | H              | OH             | Benzyl -OH     | OH             | OMe            |
| 5,3',4'-trihydroxy-6,7-diméthoxyflavone (Cirsiliol)        | OMe            | OMe            | H              | OH             | OH             |
| 5, 4'-dihydroxy-6, 7,3'-triméthoxyflavone (Cirsilinéol)    | OMe            | OMe            | H              | OMe            | OH             |
| 8-méthoxy circilinéol                                      | OMe            | OMe            | OMe            | OMe            | OH             |
| 5, 6, 7, 8,3',4'- hexahydroxy flavone (desméthylnobiletine | OH             | OH             | OH             | OH             | OH             |
| 5- hydroxy-6, 7,3',4'-tétraméthoxyflavone                  | OMe            | OMe            | H              | OMe            | OMe            |
| 5,3'-dihydroxy-6, 7,4'-triméthoxyflavone (Eupatorine)      | OMe            | OMe            | H              | OH             | OMe            |
| 5,4'-dihydroxy-6,7,3'-triméthoxyflavone                    | OMe            | OMe            | H              | OMe            | OH             |
| 5,6-dihydroxy-7,3',4'-triméthoxyflavone                    | OH             | OMe            | H              | OMe            | OMe            |

|                                                              |    |     |     |     |    |
|--------------------------------------------------------------|----|-----|-----|-----|----|
| 5, 6,4'- trihydroxy-7,3'-diméthoxyflavone                    | OH | OMe | H   | OMe | OH |
| 5, 6,4'- trihydroxy-7, 8,3'-triméthoxyflavone<br>(Thymonine) | OH | OMe | OMe | OMe | OH |

**Tableau. II. 4. Les flavones (dérivées de la lutéoline et dont les positions 6 et /ou 8 sont substituées) isolées du genre *Thymus***

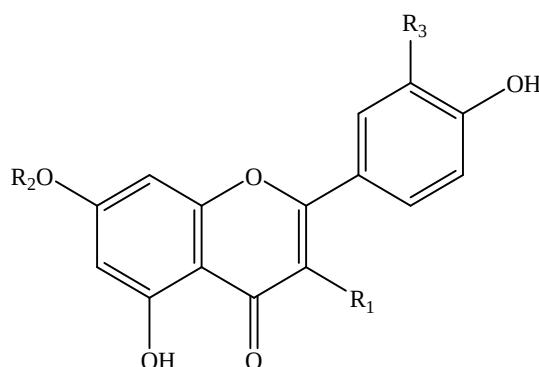
| Flavones                                                       | Espèces                                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6-Hydroxy lutéoline                                            | <i>T. carnosus</i> [59]                                                                                                                                        |
| 6-Hydroxy lutéolin-7-O-glucoside                               | <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>Membranaceus</i> [61],<br><i>T. loscosii</i> Willk [67]                                                                       |
| 8C-(hydroxybenzyl) lutéoline                                   | <i>T. hirtus</i> [56]                                                                                                                                          |
| 8C-(hydroxybenzyl) diosmétine                                  |                                                                                                                                                                |
| 5,3',4'-trihydroxy-6,7-diméthoxyflavone<br>(Cirsiliol)         | <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. piperella</i> [60], <i>T. vulgaris</i> [68]                                                                                 |
| 5, 4'-dihydroxy-6, 7,3'-triméthoxyflavone<br>(Cirsilinéol)     | <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. carnosus</i> [59]<br><i>T. vulgaris</i> [67], <i>T. vulgaris</i> [63], <i>T. vulgaris</i> [70]                              |
| 8-méthoxy circilinéol                                          | <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>Membranaceus</i> [61], <i>T. vulgaris</i> [63], <i>T. vulgaris</i> [70], <i>T. vulgaris</i> [71] |
| 5, 6, 7, 8,3',4'- hexahydroxy flavone<br>(desméthylnobiletine) | <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>membranaceus</i> [60]                                                                                                         |
| 5- hydroxy-6,7,3',4'-tétraméthoxyflavone                       | <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>membranaceus</i> [62],<br><i>T. saturoides</i> [72]                                                                           |
| 5,3'-dihydroxy-6, 7,4'-triméthoxyflavone<br>(Eupatorine)       | <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>membranaceus</i> [61]                                                                                                         |
| 5,4'-dihydroxy-6,7,3'-triméthoxyflavone                        | <i>T. serpyllum</i> [81], <i>T. vulgaris</i> [63], <i>T. vulgaris</i> [70]                                                                                     |
| 5,6-dihydroxy-7,3',4'-triméthoxyflavone                        | <i>T. algeriennsis</i> [72], <i>P. piperella</i> [60]                                                                                                          |
| 5,6,4'-trihydroxy-7,3'-diméthoxyflavone                        | <i>T. decassatus</i> [57], <i>T. algeriennsis</i> [73]                                                                                                         |
| 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone<br>(Thymonine)      | <i>T. serpyllum</i> [81], <i>T. decassatus</i> [57], <i>T. broussonetti</i> [54], <i>T. vulgaris</i> [70], <i>T. vulgaris</i> [71]                             |



| Structure                     | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> |
|-------------------------------|----------------|----------------|
| Quercétine                    | H              | OH             |
| 8C-(hydroxybenzyl) kaempférol | Benzyl -OH     | H              |
| 8C-(hydroxybenzyl) quercétine | Benzyl -OH     | OH             |

Tableau .II. 5. Les flavonols isolés du genre *Thymus*

| Flavonols                     | Espèces                 |
|-------------------------------|-------------------------|
| Quercétine                    | <i>T. vulgaris</i> [71] |
| 8C-(hydroxybenzyl) kaempférol | <i>T. hirtus</i> [56]   |
| 8C-(hydroxybenzyl) quercétine |                         |



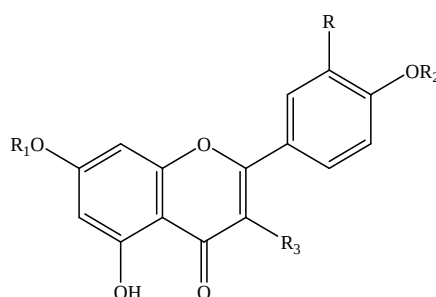
| Structure                                             | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| Naringénine                                           | H              | H              | H              |
| Eriodictoyl                                           | H              | H              | OH             |
| Eriodictoyl-7-O-glucoside                             | H              | Glc            | OH             |
| Eriodictoyl-7-O-rutinoside                            | H              | Rut            | OH             |
| 5, 7,3',4'-trihydroxydihydro flavonol (ou taxifoline) | OH             | H              | OH             |

Tableau .II. 6. Les flavanones et dihydroflavonols isolées du genre *Thymus*

| Flavanones ou dihydroflavonols                        | Espèce                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Naringénine                                           | <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. piperella</i> [60], <i>T. membranaceus</i> subsp. <i>Membranaceus</i> [62]                                                                                                                                |
| Eriodictoyl                                           | <i>T. vulgaris</i> [80], <i>T. broussonetti</i> [54], <i>T. herba-barona</i> [55], <i>T. webbiana</i> [58], <i>T. piperella</i> [60], <i>T. longidens</i> [62], <i>T. algeriensis</i> [73], <i>T. vulgaris</i> [63], <i>T. vulgaris</i> [74] |
| Eriodictoyl-7-O-glucoside                             | <i>T. algeriensis</i> [53]                                                                                                                                                                                                                   |
| Eriodictoyl-7-O-rutinoside                            | <i>T. vulgaris</i> [65]                                                                                                                                                                                                                      |
| 5, 7,3',4'-trihydroxydihydro flavonol (ou taxifoline) | <i>T. algeriensis</i> [69]                                                                                                                                                                                                                   |

❖ Genre *Phlomis*

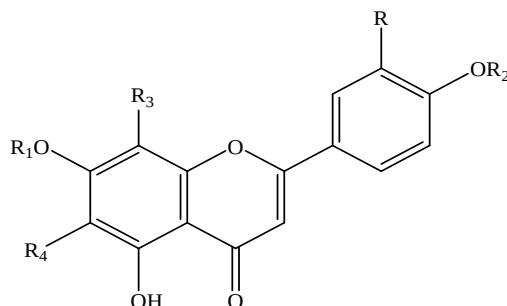
Le genre *Phlomis* contient un grand nombre de flavonoïdes. Les *p*-coumaroyl glucosides sont présents dans toutes les espèces du genre ; ce sont des marqueurs chimiotaxonomiques [82]. Les espèces méditerranéennes telles que *P. aurea* et *P. floccosa* poussent en Egypte [83,84] et *P. lychnitis* [85] se trouvant en Espagne, sont caractérisées par la présence de flavones méthylées (chrysoériol) alors que les espèces Indiennes telles que *P. spectabilis* [86] contiennent exclusivement des flavonols. Les espèces Russes telles que *P. agraria* [87] et *P. tuberosa* [88,89], contiennent des flavones (lutéoline, apigénine et leurs glucosides et glucuronides). Nous avons recensé la plus part des flavonoïdes isolés des espèces *Phlomis*; ils sont dressés dans les tableaux .II.7 et II. 8



| Structure             | R   | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-----------------------|-----|----------------|----------------|----------------|
| Apigénine             | H   | H              | H              | H              |
| Lutéoline             | OH  | H              | H              | H              |
| Chrysoériol           | OMe | H              | H              | H              |
| Narngénine            | OH  | H              | H              | H              |
| Kaempférol            | H   | H              | H              | OH             |
| 4'-méthylkaempférol   | H   | H              | Me             | OH             |
| 7,4'-méthylkaempférol | H   | Me             | Me             | OH             |

**Tableau .II. 7. Les flavonoïdes aglycones isolés du genre *Phlomis***

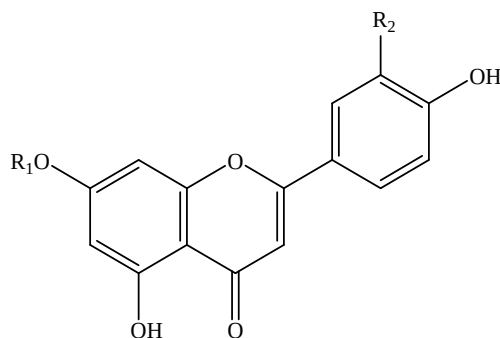
| Flavonoïdes aglycones | Espèce                                                                                                                      |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Apigénine             | <i>P. lychnitis</i> [85], <i>P. nissoli</i> [90], <i>P. pungens</i> [91], <i>P. samia</i> [92], <i>P. tuberosa</i> [88, 89] |
| Lutéoline             | <i>P. lychnitis</i> [85], <i>P. nissoli</i> [90], <i>P. pungens</i> [91], <i>P. tuberosa</i> [88, 89]                       |
| Chrysoériol           | <i>P. brachyodon</i> [93], <i>P. lychnitis</i> [85], <i>P. samia</i> [92]                                                   |
| Narangénine           | <i>P. aurea</i> [83, 84]                                                                                                    |
| Kaempférol            | <i>P. brachyodon</i> [93]                                                                                                   |
| 4'-méthylkaempférol   |                                                                                                                             |
| 7,4'-méthylkaempférol | <i>P. spectabilis</i> [86]                                                                                                  |



| Structure                                              | R   | R <sub>1</sub>     | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|--------------------------------------------------------|-----|--------------------|----------------|----------------|----------------|
| Apigénine-7-O-β-D-glucoside                            | H   | Glc                | H              | H              | H              |
| Apigénine-7-glucuronide                                | H   | Glur               | H              | H              | H              |
| Apigénine-7-O-coumaroyl-β-D-glucoside                  | H   | <i>p</i> -coum-Glc | H              | H              | H              |
| Lutéoline-7-O-β-D-glucoside                            | OH  | Glc                | H              | H              | H              |
| Lutéoline-7- glucuronide                               | OH  | Glur               | H              | H              | H              |
| Lutéoline-7-O-coumaroyl-β-D glucoside                  | OH  | <i>p</i> -coum-Glc | H              | H              | H              |
| Chrysoériol-7-O-β-D- glucoside                         | OMe | Glc                | H              | H              | H              |
| Hispiduline-7-O-β-D-glucoside                          | OH  | Glc                | H              | H              | OMe            |
| Chrysoériol-7-β-D-(3"- <i>p</i> -Ecoumaroyl) glucoside | OMe | <i>p</i> -coum-Glc | H              | H              | H              |
| 6-C-Glucosyl lutéoline                                 | OH  | H                  | H              | H              | C-Glc          |
| 6,8-DiC-Glucosyl apigénine                             | H   | H                  | H              | C-Glc          | C-Glc          |
| 6,8-DiC-Glucosyl lutéoline                             | OH  | H                  | H              | C-Glc          | C-Glc          |

Tableau .II. 8. Les flavonoïdes glycosides isolés du genre *Phlomis*

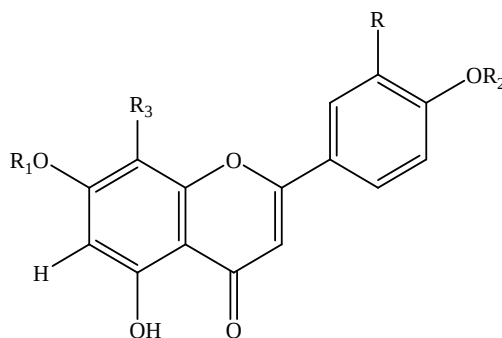
| Flavonoides glycosides                                 | Espèces                                                                                                                                              |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Apigénine-7-O-β-D-glucoside                            | <i>P. aurea</i> [83], <i>P. floccosa</i> [84], <i>P. lychnitis</i> [85], <i>P. nissoli</i> [90], <i>P. tuberosa</i> [88, 89]                         |
| Apigénine-7-glucuronide                                | <i>P. tuberosa</i> [88, 89]                                                                                                                          |
| Apigénine-7-O-coumaroyl-β-D-glucoside                  | <i>P. lychnitis</i> [85], <i>P. tuberosa</i> [88, 89]                                                                                                |
| Lutéoline-7-O-β-D-glucoside                            | <i>P. agraria</i> [87], <i>P. aurea</i> [83], <i>P. floccosa</i> [84], <i>P. lychnitis</i> [85], <i>P. nissoli</i> [90], <i>P. tuberosa</i> [88, 89] |
| Lutéoline-7- glucuronide                               | <i>P. aurea</i> [83], <i>P. floccosa</i> [84], <i>P. tuberosa</i> [88, 89]                                                                           |
| Lutéoline-7-O-coumaroyl-β-D glucoside                  | <i>P. aurea</i> [83, 84], <i>P. floccosa</i> [84], <i>P. lychnitis</i> [85], <i>P. tuberosa</i> [88,89]                                              |
| Chrysoériol-7-O-β-D glucoside                          | <i>P. aurea</i> [83], <i>P. floccosa</i> [84], <i>P. lychnitis</i> [85]                                                                              |
| Hispiduline-7-O-β-D-glucoside                          | <i>P. aurea</i> [84], <i>P. floccosa</i> [84]                                                                                                        |
| Chrysoériol-7-β-D-(3"- <i>p</i> -Ecoumaroyl) glucoside | <i>P. lychnitis</i> [85]                                                                                                                             |
| 6-C-Glucosyl lutéoline                                 | <i>P. tuberosa</i> [88, 89]                                                                                                                          |
| 6,8-DiC-Glucosyl apigénine                             | <i>P. aurea</i> [83, 84], <i>P. floccosa</i> [84]                                                                                                    |
| 6,8-DiC-Glucosyl lutéoline                             | <i>P. aurea</i> [83, 84] , <i>P. floccosa</i> [84]                                                                                                   |



| Structure                               | R <sub>1</sub>     | R <sub>2</sub> |
|-----------------------------------------|--------------------|----------------|
| Naringénine-7-O-β-D-glucoside           | Glc                | H              |
| Naringénine-7-O-coumaroyl-β-D-glucoside | <i>p</i> -coum-Glc | H              |
| Eriodictoyl-7-O-β-D-glucoside           | Glc                | OH             |
| Eriodictoyl-7-O-coumaroyl-β-D-glucoside | <i>p</i> -coum-Glc | OH             |
| Eriodictoyl -7-O-rutinoside             | Rha-Glc            | OH             |

Tableau .II. 8. Les flavonoïdes glycosides isolés du genre *Phlomis*

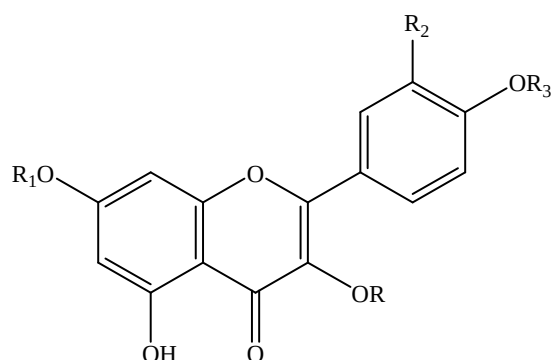
| Flavonoides glycosides                  | Espèces                |
|-----------------------------------------|------------------------|
| Naringénine-7-O-β-D-glucoside           | <i>P. aurea</i> [83]   |
| Naringénine-7-O-coumaroyl-β-D-glucoside |                        |
| Eriodictoyl-7-O-β-D-glucoside           | <i>P. nissoli</i> [83] |
| Eriodictoyl-7-O-coumaroyl-β-D-glucoside | <i>P. nissoli</i> [90] |
| Eriodictoyl -7-O-rutinoside             |                        |



| Structure                                           | R   | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-----------------------------------------------------|-----|----------------|----------------|----------------|
| Apigénin-7-O-rutinoside                             | H   | Rha-Glc        | H              | H              |
| Lutéolin-7-O-rutinoside                             | OH  | Rha-Glc        | H              | H              |
| Chrysoériol-7-O-rutinoside                          | OMe | Rha-Glc        | H              | H              |
| Lutéolin-7-(6''-β-D-apiofuranosyl)-β-D-glucoside    | OH  | Apio-Glc       | H              | H              |
| Chrysoériol-7-(6''-β-D-apiofuranosyl)-β-D-glucoside | OMe | Apio-Glc       | H              | H              |
| Chrysoériol-7-O-β-Allopyranosyl (1→2)-β-D-glucoside | OMe | Allo-Glc       | H              | H              |
| Stachyspinoside                                     | Me  | H              | Glucur-Glc     | Me             |

Tableau .II. 8. Les flavonoïdes glycosides isolés du genre *Phlomis*

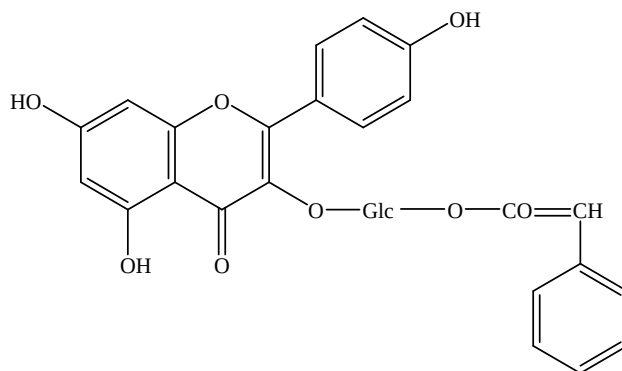
| Flavonoïdes glycosides                               | Espèce                                                                   |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Apigénine-7-O-rutinoside                             | <i>P. aurea</i> [83], <i>P. floccosa</i> [84],<br><i>P. nissoli</i> [85] |
| Lutéoline-7-O-rutinoside                             |                                                                          |
| Chrysoériol-7-O-rutinoside                           |                                                                          |
| Lutéoline-7-(6"-β-D-apiofuranosyl)-β-D-glucoside     | <i>P. nissoli</i> [90]                                                   |
| Chrysoériol-7-(6"-β-D-apiofuranosyl)-β-D-glucoside   |                                                                          |
| Chrysoériol-7-O-β- Allopyranosyle(1→2)-β-D-glucoside | <i>P. sintenesii</i> [94]                                                |
| Stachyspinoside                                      |                                                                          |



| Structure                                                   | R          | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-------------------------------------------------------------|------------|----------------|----------------|----------------|
| Kaempférol-3-O- β –Dglucoside (Astragaline)                 | Glc        | H              | H              | H              |
| Quercetin-3-O- β-D-glucoside                                | Glc        | H              | OH             | H              |
| Quercetin-3-O-β-Dglucuronide (isoquercitrine)               | Glucur     | H              | OH             | H              |
| 7,4'-dimethyl-Kaempférol-3-(6"-E-p-coumaroyl)-β-D-glucoside | p-coum-Glc | Me             | H              | Me             |
| 4'-apiofuranosyl-Kaempférol-3-O-β-D-glucoside               | Glc        | H              | H              | Apio           |
| 4'-apiofuranosyl-quercetin-3-O-β-D-glucoside                | Glc        | H              | OH             | Apio           |

Tableau .II. 8. Les flavonoïdes glycosides isolés du genre *Phlomis*

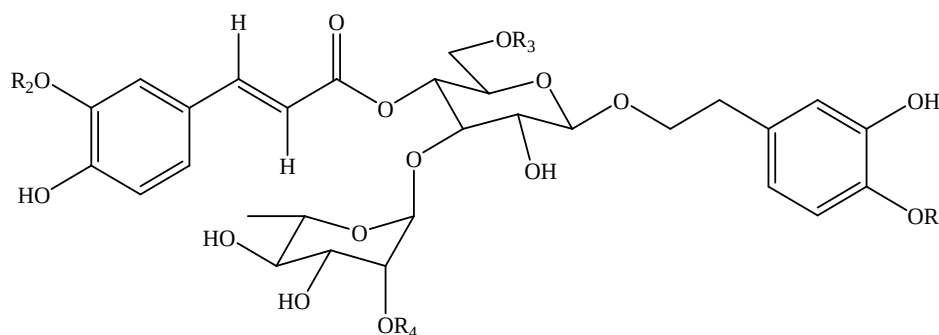
| Flavonoïdes glycosides                                      | Espèces                                                                            |
|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Kaempférol-3-O- β –Dglucoside (Astragaline)                 | <i>P. brachyodon</i> [93], <i>P. spectabilis</i> [86],<br><i>P. spinidens</i> [73] |
| Quercetin-3-O- β-D-glucoside                                | <i>P. aurea</i> [83,84], <i>P. floccosa</i> [84]                                   |
| Quercetin-3-O-β-Dglucuronide (isoquercitrine)               | <i>P. spinidens</i> [95]                                                           |
| 7,4'-dimethyl-Kaempférol-3-(6"-E-p-coumaroyl)-β-D-glucoside | <i>P. spectabilis</i> [86]                                                         |
| 4'-apiofuranosyl-Kaempférol-3-O-β-D-glucoside               | <i>P. spinidens</i> [95]                                                           |
| 4'-apiofuranosyl-quercetin-3-O-β-D-glucoside                |                                                                                    |

**Tiliroside**

| Flavonoïdes glycosides | Espèces                                           |
|------------------------|---------------------------------------------------|
| Tiliroside             | <i>P. brachyodon</i> , <i>P. spectabilis</i> [93] |

### II. 1. 2. Phényléthanoïdes et Phénylpropanoïdes

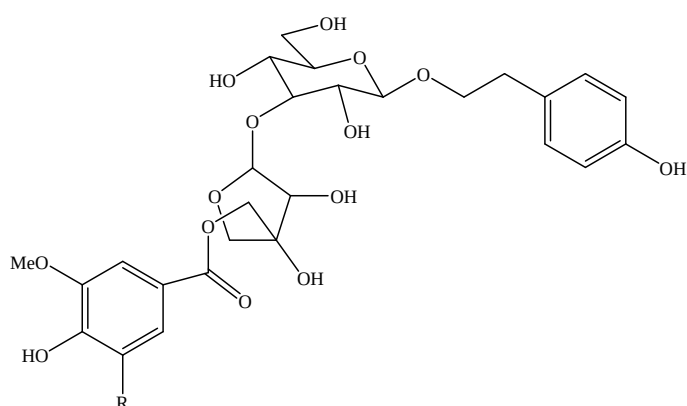
Les phényléthanoïdes sont un caractère taxonomique important des différents genres de la famille des Lamiacées. Les plus couramment trouvés dans le genre *Phlomis* sont le verbascoside qui a été isolé de 14 espèces *Phlomis*, le forsythoside B, décrit pour 16 espèces du genre et l'alyssonoside trouvé dans 8 espèces *Phlomis*. Les phényléthanoïdes possèdent des propriétés cytotoxiques [96], cytostatique [97] (l'étude de la relation structure-activité a montré que la présence d'un système aromatique *ortho* dihydroxy est nécessaire pour posséder une telle activité), antimicrobienne [98], et comme les flavonoïdes, ils servent aussi de pièges à radicaux libres [99]. Les phényléthanoïdes isolés d'espèces *Phlomis* sont dressés dans le Tableau .II. 9.



| Phénylétanoides          | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Actéoside (Verbascoside) | H              | H              | H              | H              |
| Leucosceptoside A        | H              | Me             | H              | H              |
| Martinoside              | Me             | Me             | H              | H              |
| Wiedemanoside            | H              | Me             | β-D-Glucosyl   | H              |
| Forsytoside B            | H              | H              | β-Apiosyl      | H              |
| Alyssonoside             | H              | Me             | β-Apiosyl      | H              |
| Leucosceptoside B        | Me             | Me             | β-Apiosyl      | H              |
| Teucroside               | H              | H              | H              | α-Lyxosyl      |
| Phlinoside A             | H              | H              | H              | β-D-Glucosyl   |
| Phlinoside B             | H              | H              | H              | β-D-Xylosyl    |
| Phlinoside C             | H              | H              | H              | α-L-Rhamnosyl  |
| Phlinoside D             | H              | Me             | H              | β-D-Xylosyl    |
| Phlinoside E             | H              | Me             | H              | α-L-Rhamnosyl  |
| Physocalysoside          | Me             | Me             | α-L-Rhamnosyl  | α-L-Rhamnosyl  |

Tableau .II. 9. Les phénylétanoides isolés du genre *Phlomis*

| Phénylétanoides             | Espèces                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Actéoside<br>(Verbascoside) | <i>P. armeniaca</i> [96], <i>P. aurea</i> [100], <i>P. bourgaei</i> Boiss. [101], <i>P. carica</i> [102], <i>P. chimerae</i> [103], <i>P. fruticosa</i> [104], <i>P. grandiflora</i> var. <i>grandiflora</i> [105], <i>P. grandiflora</i> var. <i>fimbrilligera</i> [104], <i>P. longifolia</i> var. <i>longifolia</i> [106], <i>P. monocephala</i> [102], <i>P. samia</i> [102], <i>P. sieheana</i> [107], <i>P. sintenisii</i> [108], <i>P. tuberosa</i> L [109]                                                                                                                             |
| Leucosceptoside A           | <i>P. armeniaca</i> [96], <i>P. licia</i> [101], <i>P. longiflora</i> var. <i>longiflora</i> [106], <i>P. siehana</i> [107], <i>P. physocalyx</i> [110]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Martynoside                 | <i>P. armeniaca</i> [96], <i>P. samia</i> [102], <i>P. sieheana</i> [107], <i>P. sintenisii</i> [108]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Wiedemanoside               | <i>P. physocalyx</i> [110]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Forsytoside B               | <i>P. armeniaca</i> [96], <i>P. bourgaei</i> Boiss [101], <i>P. carica</i> [102], <i>P. chimerae</i> [103], <i>P. fruticosa</i> [104], <i>P. grandiflora</i> var. <i>grandiflora</i> [105], <i>P. grandiflora</i> var. <i>fimbrilligera</i> [104], <i>P. licia</i> [111], <i>P. longifolia</i> var. <i>Longifolia</i> [106], <i>P. monocephala</i> [102], <i>P. Physocalyx</i> [110], <i>P. pungens</i> var. <i>hirta</i> [112], <i>P. pungens</i> var. <i>pungens</i> [112, 113], <i>P. sieheana</i> [107], <i>P. sintenisii</i> [108], <i>P. spinidens</i> [114], <i>P. tuberosa</i> L [109] |
| Alyssonoside                | <i>P. carica</i> [102], <i>P. chimerae</i> , [103], <i>P. fruticosa</i> [104], <i>P. grandiflora</i> var. <i>grandiflora</i> . [105], <i>P. grandiflora</i> var. <i>fimbrilligera</i> [104], <i>P. licia</i> [111], <i>P. monocephala</i> [102], <i>P. pungens</i> var. <i>pungens</i> [113]                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Leucosceptoside B           | <i>P. bourgaei</i> Boiss [101], <i>P. chimerae</i> [103], <i>P. pungens</i> var. <i>pungens</i> [113],                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Teucroside                  | <i>P. armeniaca</i> [96]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Phlinoside A                | <i>P. linearis</i> [115]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Phlinoside B                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Phlinoside C                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Phlinoside D                | <i>P. linearis</i> [116]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Phlinoside E                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Physocalysoside             | <i>P. physocalyx</i> [110]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |



| Phényléthanoïdes  | R   |
|-------------------|-----|
| Phlomiséthanoside | H   |
| Hattushoside      | OMe |

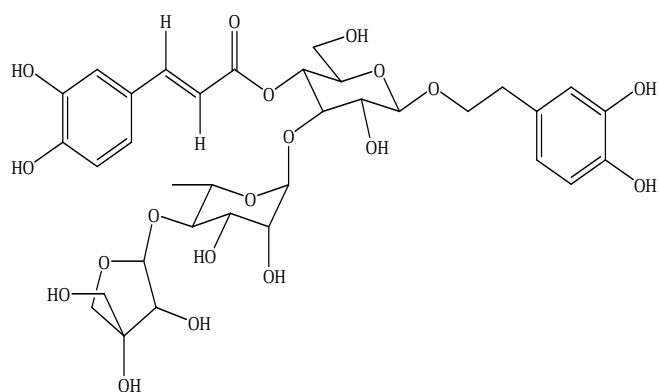
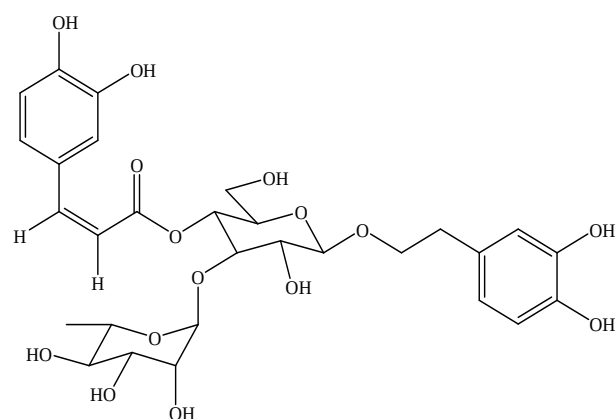
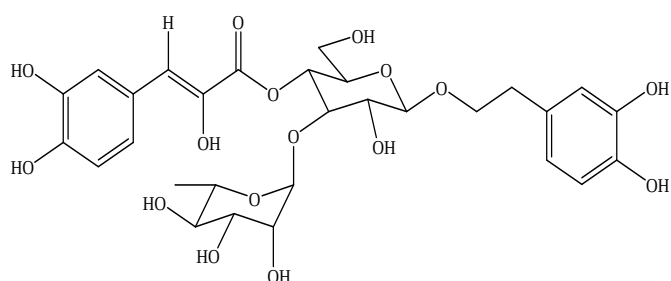
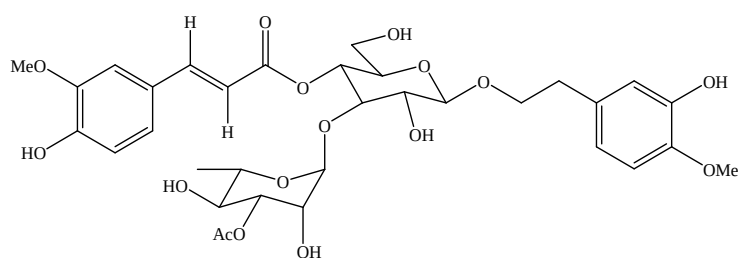
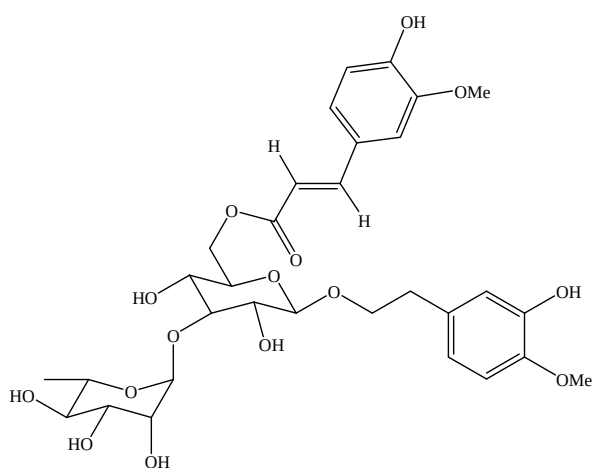
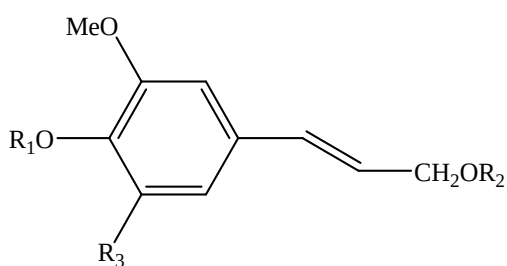
**Samioside****Cis-actéoside****β-hydroxy actéoside****4''-acétylmartynoside****Isomartynoside**

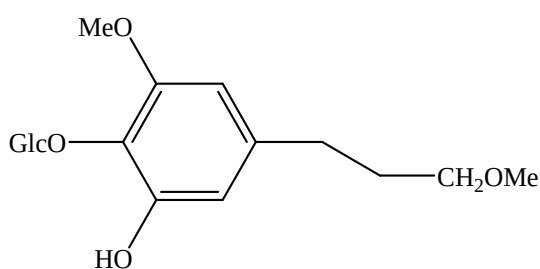
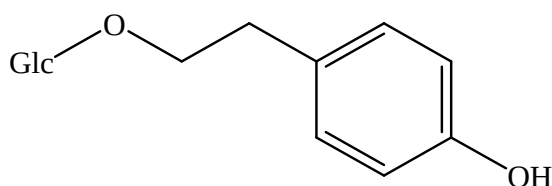
Tableau .II. 10. Les phényléthanoïdes isolés du genre *Phlomis*

| Phényléthanoïdes           | Espèces                                                                                                                                    |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Phlométhanoside            | <i>P. grandiflora</i> var. <i>grandiflora</i> . [105], <i>P. grandiflora</i> var. <i>fimbrilligera</i> [104]                               |
| Hattushoside               | <i>P. grandiflora</i> var. <i>grandiflora</i> . [105], <i>P. grandiflora</i> var. <i>fimbrilligera</i> [104], <i>P. pungens</i> var. [113] |
| Samioside                  | <i>P. samia</i> [98],                                                                                                                      |
| Cis-actéoside              | <i>P. siehana</i> [107]                                                                                                                    |
| $\beta$ -hydroxy actéoside |                                                                                                                                            |
| 4''-acétylmartynoside      | <i>P. samia</i> [103],                                                                                                                     |
| Isomartynoside             | <i>P. sintenisii</i> [108]                                                                                                                 |

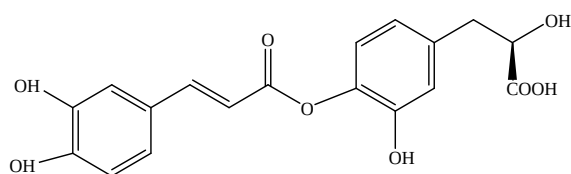
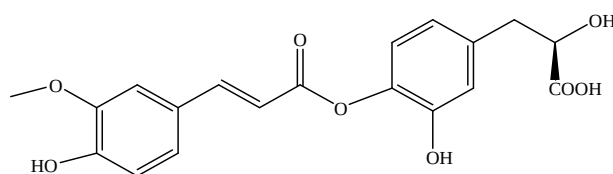
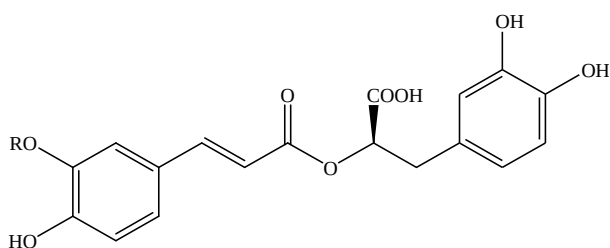
Des hydroxyphényléthanoïdes glycosides ne comportant pas de partie caféique ou férulique ont été trouvés dans des espèces *Phlomis*. La coniférine a été isolée du *P. carica* [102], la syringénine du *P. aurea* [100] et du *P. carica* [102], la dihydrosyringénine trouvée dans *P. carica* [102] et le salidroside isolé de *P. spinidens* [114].



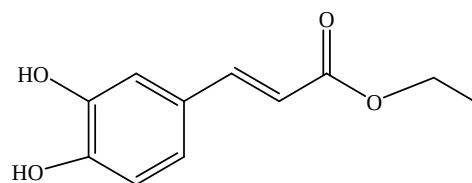
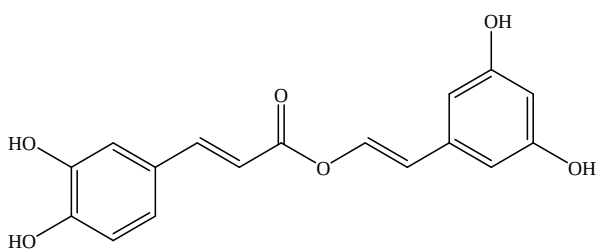
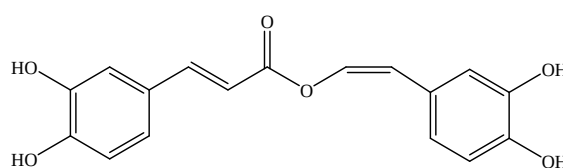
| Sructure    | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-------------|----------------|----------------|----------------|
| Coniférine  | $\beta$ -D-Glc | H              | H              |
| Syringénine | $\beta$ -D-Glc | H              | OMe            |

**Dihydrosyringénine****Salidroside**

Une étude chimique effectuée sur les feuilles de *Hyptis pectinata* (L.) Poit a permis de l'isolement de sept phénylpropanoïdes dont : l'acide sambacaitarique, l'acide 3-O-méthyl-Sambacaitarique, l'acide rosmarinique, l'acide-3-O-méthyl rosmarinique, cafféate d'éthyle, népétoldine A, népétoldine B [50].

**Acide sambacaitarique****Acide 3-O-méthyl-sambacaitarique**

**Acide rosmarinique**  $R = H$   
**Acide-3-O-méthyl rosmarinique**  $R = CH_3$

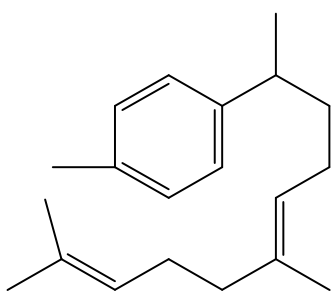
**Cafféate d'éthyle****Népétoldine A****Népétoldine B**

### II. 1. 3. Terpenoides

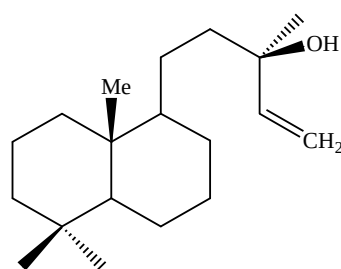
Un des traits les plus caractéristiques de la famille des lamiacées réside dans le fait que plusieurs genres renferment des terpènes qui sont responsables de l'odeur aromatique de ces plantes [117].

Les études phytochimiques du genre *Salvia* ont permis d'établir un profil chimique pour ce genre. Les triterpènes dérivant du squelette de base de l'oléanane, dammarane, ursane ont été isolés de ce genre. Les diterpènes du type labdane, clérodane, pimarane, abiétane, isolés de ce genre, sont utilisés comme des marqueurs taxonomiques à différents niveaux [118].

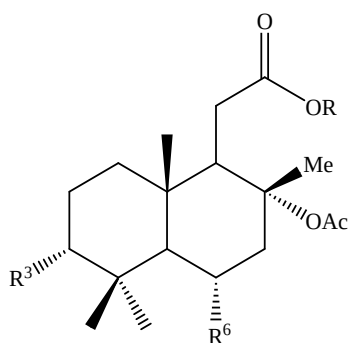
Il a été montré que le contenu des espèces du genre *Salvia* en diterpènes est en relation avec leurs distributions géographiques et leurs classifications botaniques en sous-genres selon la classification de Benthham [119]. Les résultats des études phytochimiques de plusieurs espèces du genre *Salvia* du Mexique (sous-genre Calosphaceae) ont permis d'établir une relation étroite entre le contenu en diterpènes des espèces et leurs sections taxonomiques[119]. Le tableau ci- dessous répertorie les dérivés des diterpènes isolés de quelques espèces du genre *Salvia*.



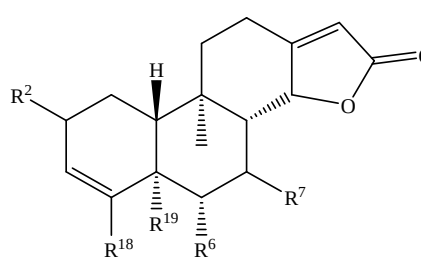
**2,6-dimethyl-10-(p-tolyl) undeca-2,6-(E)-diene**



**Manool**



| Structure                                                                            | R  | R <sup>3</sup> | R <sup>6</sup> |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|----------------|----------------|
| Acide-6- $\alpha$ -Hydroxy-8 $\alpha$ -acetoxy-3, 14, 15,16-tetranorlabdan-12-oïque  | H  | H              | OH             |
| Methyl-3 $\alpha$ -hydroxy-8 $\alpha$ -acetoxy- 13, 14, 15,16-tetranorlabdan-12-oate | Me | OH             | H              |

|  | Structure           | R <sup>2</sup> | R <sup>6</sup> | R <sup>7</sup> | R <sup>18</sup>    | R <sup>19</sup>    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------|----------------|----------------|--------------------|--------------------|
|                                                                                   | Lasianthine         | O              | H              | OAc            | Me                 | Me                 |
|                                                                                   | Thymonine           | H              | OH             | H              | CH <sub>2</sub> OH | CH <sub>2</sub> OH |
|                                                                                   | β-Hydroxythymonine  | H              | OH             | OH             | CH <sub>2</sub> OH | CH <sub>2</sub> OH |
|                                                                                   | Acide mélisodorique | H              | OH             | H              | Me                 | COOH               |

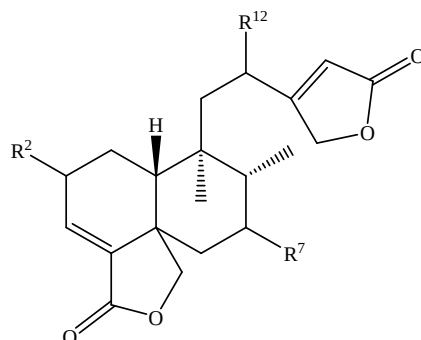
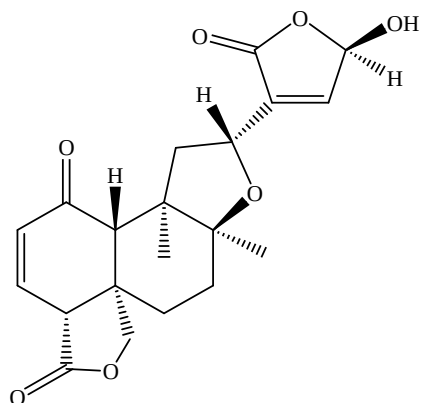
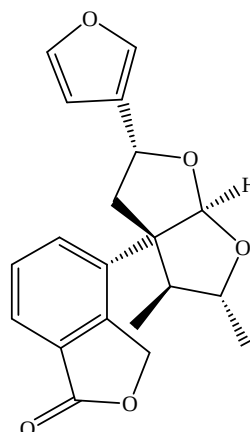
|  | Structure                                           | R <sup>2</sup> | R <sup>7</sup> | R <sup>12</sup> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|
|                                                                                   | Semiathrine                                         | H              | H              | OH              |
|                                                                                   | 7-α-Hydroxyneocleroda-3,13-dien-18,19:15,16-diolide | H              | OH             | H               |
|                                                                                   | 7-Oxoneocleroda-3,13-dien-,19:15,16-diolide         | H              | O              | H               |
|                                                                                   | Kerlinolide                                         | H              | OAc            | OH              |

Tableau.II .11. Les diterpènes isolés de quelques espèces du genre *Salvia*

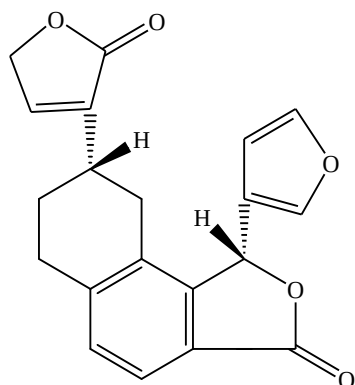
| Diterpènes                                                         | Espèces                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2,6-dimethyl-10-(p-tolyl)undeca-2,6-(E)-diene                      | <i>S. dorisiana</i> [120]                                                                                                |
| Manool                                                             | <i>S. candidissima</i> [121], <i>S. limbata</i> [122, 123], <i>S. multicaulis</i> [124], <i>S. officinalis</i> [125,126] |
| Acide -6α-Hydroxy-8α-acetoxy-13, 14, 15,16-tetranorlabdan-12-oïque | <i>S. yosgadensis</i> [127]                                                                                              |
| Methyl-3α-hydroxy-8α-acetoxy- 13, 14, 15,16-tetranorlabdan-12-oate | <i>S. aethiopis</i> [128]                                                                                                |
| Lasianthine                                                        | <i>S. lasiantha</i> [129]                                                                                                |
| Thymonine                                                          | <i>S. thymoides</i> [130]                                                                                                |
| β-Hydroxythymonine                                                 |                                                                                                                          |
| Acide mélisodorique                                                | <i>S. melissodora</i> [131]                                                                                              |
| Semiathrine                                                        | <i>S. semiathrata</i> [132]                                                                                              |
| 7-α-Hydroxyneocleroda-3,13-dien-18,19:15,16-diolide                | <i>S. fulgens</i> [133], <i>S. melissodora</i> [134],<br><i>S. semiathrata</i> [132], <i>S. thymoides</i> [130]          |
| 7-Oxoneocleroda-3,13-dien-18,19:15,16-diolide                      | <i>S. thymoides</i> [130]                                                                                                |
| Kerlinolide                                                        | <i>S. kerlii</i> [135]                                                                                                   |



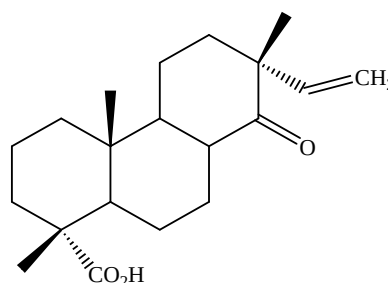
**15-Hydroxy-1-oxo-8 :12(R)-epoxy  
neocleroda-2,13(14) dien- 18,19 ;  
16,15-diolide**



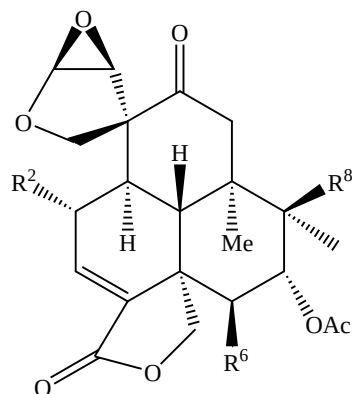
**Rhyacophilline**



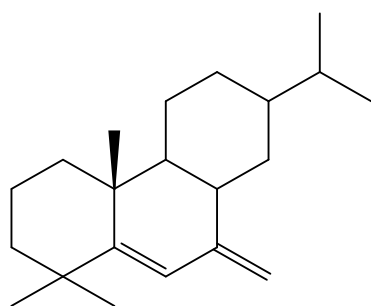
**Tilifodiolide**



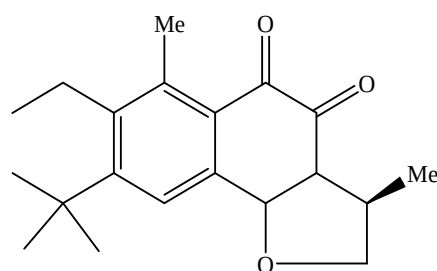
**Acide 14-oxopimarique**



| Structure         | R <sup>2</sup> | R <sup>6</sup> | R <sup>8</sup> |
|-------------------|----------------|----------------|----------------|
| Salviangudiline A | H              | H              | H              |
| Salviangudiline B | OH             | H              | H              |
| Salviangudiline C | H              | OH             | H              |
| Salviangudiline D | H              | H              | OH             |



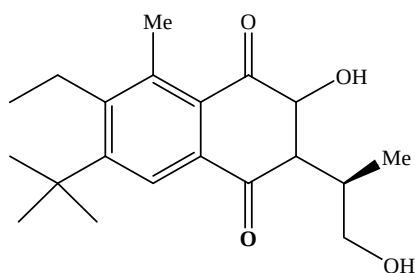
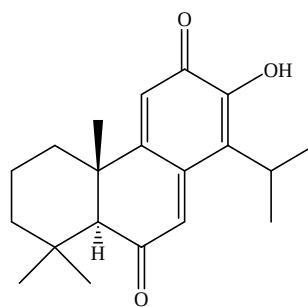
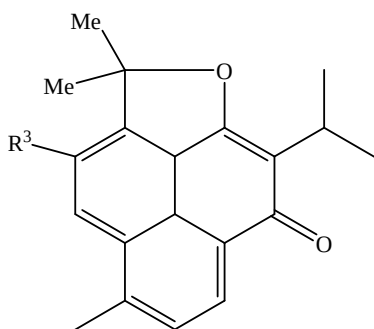
**Pachystazone**



**Aegyptionone A**

Tableau II .11. Les diterpènes isolés de quelques espèces du genre *Salvia*

| Diterpènes                                                                      | Espèces                                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 15-Hydroxy-1-oxo-8 :12-(R)-epoxy neocleroda-2,13(14) dien 18,19 ; 16,15-diolide | <i>S. urolepis</i> [136]                                                                  |
| Rhyacophilline                                                                  | <i>S. rhyacophylla</i> [137]                                                              |
| Tilifodiolide                                                                   | <i>S. tiliaefolia</i> [138]                                                               |
| Acide 14-oxopimarique                                                           | <i>S. candidissima</i> [140], <i>S. wiedmannii</i> [141]                                  |
| Salvialangudiline A                                                             | <i>S. languidula</i> [139]                                                                |
| Salvialangudiline B                                                             |                                                                                           |
| Salvialangudiline C                                                             |                                                                                           |
| Salvialangudiline D                                                             |                                                                                           |
| Pachystazone                                                                    | <i>S. candidissima</i> [121,142], <i>S. napifolia</i> [143], <i>S. pachystachys</i> [144] |
| Aegyptionone A                                                                  | <i>S. aegyptiaca</i> [145]                                                                |

**Aegyptionone B****Mattennoquinone**

| Structure            | R <sup>3</sup> |
|----------------------|----------------|
| Salvilenone          | H              |
| 3-hydroxysalvilenone | OH             |

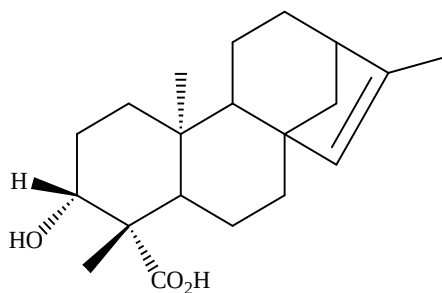
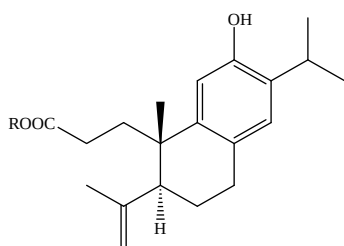
**Verbanicine**

Tableau .II. 11. Les diterpènes isolés de quelques espèces du genre *Salvia*

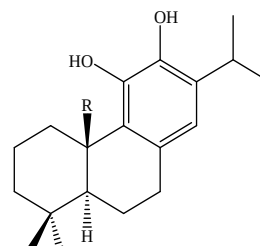
| Diterpènes           | Espèces                                                                                 |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Aegyptionone B       | <i>S. aegyptiaca</i> [145]                                                              |
| Mattenquinone        | <i>S. melissodora</i> [149]                                                             |
| Salvilenone          | <i>S. milthiorrhiza</i> [146], <i>S. prionitis</i> [147], <i>S. moorcraftiana</i> [148] |
| 3-hydroxysalvilenone | <i>S. prionitis</i> [147]                                                               |
| Verbanicine          | <i>S. verbenaca</i> [150]                                                               |

A notre connaissance, il y a seul diterpène tétracyclique de type kauranes (**Verbanicine**) isolé récemment de *Salvia verbenaca*.

Le seco-Hinokiol, un nouveau diterpénoïde d'abietane a été isolé à partir des feuilles du *Rosmarinus Officinalis*. C'est le quatrième rapport d'un seco-abietane ayant été isolé [151].

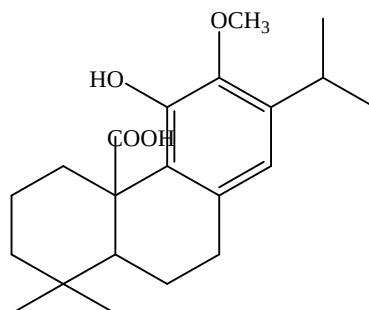


**seco-Hinokiol** R= H  
R= CH<sub>3</sub>



R= COOH  
R= COOMe

Un autre nouveau diterpène : l'acide 12 méthoxy- cis- carnosique a été isolé à partir de la même espèce par d'autre groupe de recherche [152].



**Acide 12- méthoxy- cis- carnosique**

Les parties aériennes de *Rosmarinus Officinalis* ont été étudiées aussi par .M.J.Del Bano et al., ils ont pu isoler deux diterpènes phénoliques : acide carnosique et carnosol .

## Partie II

## Etudes chimiques antérieures

Les résultats montrent que les extraits du *Rosmarinus Officinalis* représentent une excellente activité antioxydante dans les deux systèmes aqueux et lipidique [153].

## II. 2. Espèce *Saccocalyx satureioides*

Une recherche bibliographique exhaustive faite sur l'espèce *Saccocalyx satureioides*, nous a permis de constater que cette plante est peu étudiée et que sa composition chimique reste à déterminer.

La composition chimique de l'huile essentielle de cette espèce a été décrite par quelques études antérieures.

➤ L'étude menée par **Biondi et al., (2006)**, montre que l'analyse par GC et GC/MS de l'huile essentielle de la partie aérienne de l'espèce *Saccocalyx satureioides* récolté de la région de Bou-Saâda (Algérie), obtenue par hydrodistillation a permis l'identification de quarante et un (41) composés, regroupés en trois catégories, à savoir les monoterpènes hydrocarbonés, les monoterpènes oxygénés et les sesquiterpènes.

Les monoterpènes oxygénés étaient la classe la plus prédominante avec 76,9%, telles que : l' $\alpha$ - terpinéol (32,7%), le thymol (22,8%), le bornéol (11,6%) et le carvacrol (6,9%) sont les composés majoritaires (Tableau .II. 12) [154].

**Tableau .II. 12. Composition chimique de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. récolté de la région de Bou-Saâda [154].**

| Composés                             | IR  | %           | Composés                 | IR   | %    |
|--------------------------------------|-----|-------------|--------------------------|------|------|
| <b>Hydrocarbures monoterpéniques</b> |     | <b>16,8</b> |                          |      |      |
| Tricyclene                           | 924 | 0,1         | Terpinèn-4-ol            | 1191 | 1,2  |
| $\alpha$ -Thujene                    | 929 | 0,6         | $\alpha$ -Terpinéol      | 1193 | 32,7 |
| $\alpha$ -Pinene                     | 936 | 1,8         | Cis-<br>dihydroxycarvone | 1193 | 0,2  |
| Camphène                             | 950 | 2,9         | Formate<br>d'isopranyl   | 1222 | 0,2  |
| Sabinene                             | 975 | t           | Acétate de bornyl        | 1289 | t    |
| $\beta$ -Pinene                      | 977 | 0,3         | Thymol                   | 1291 | 22,8 |
| Myrcene                              | 992 | 0,8         | Carvacrol                | 1297 | 6,9  |

| Partie II                    |      |             | Etudes chimiques antérieures |      |            |
|------------------------------|------|-------------|------------------------------|------|------------|
| $\alpha$ -Phellandrène       | 1003 | t           | Acétate de thymol            | 1352 | 0,7        |
| $\alpha$ -Terpinène          | 1017 | 0,6         | Acétate de carvacrol         | 1364 | 0,1        |
| <i>p</i> -Cymène             | 1025 | 5,0         | <b>Sesquiterpènes</b>        |      | <b>2,7</b> |
| Limonène                     | 1030 | 1,5         | $\alpha$ -Gurjunène          | 1394 | t          |
| $\gamma$ -Terpinène          | 1060 | 2,8         | $\beta$ -Caryophyllène       | 1402 | 0,8        |
| Terpinolène                  | 1087 | 0,4         | $\alpha$ -Humulène           | 1437 | 0,3        |
| <b>monoterpènes oxygénés</b> |      | <b>76,9</b> | Aromadendrène                | 1444 | 0,2        |
| Hydrate de Cis-sabinène      | 1070 | t           | $\beta$ -acoradiène          | 1478 | 0,2        |
| Hydrate de Trans-sabinène    | 1097 | t           | $\gamma$ -Cadinène           | 1494 | 0,1        |
| Linalol                      | 1099 | 0,4         | $\delta$ -Cadinène           | 1503 | 0,3        |
| Déhydrocétone sabine         | 1121 | t           | Spathulénol                  | 1556 | 0,3        |
| $\alpha$ -Campholénal        | 1125 | t           | Oxyde de caryophyllène       | 1562 | 0,3        |
| Pinocarvéol                  | 1139 | t           | Viridiflorol                 | 1569 | 0,1        |
| Camphre                      | 1143 | 0,1         |                              |      |            |
| Bornéol                      | 1165 | 11,6        |                              |      |            |

t : trace

➤ D'autre part, **Laouer et al., (2006)**, rapportent que l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* poussant à l'état spontané à Sétif, a donné quarante-deux (42) composés, dont les principaux constituants sont l' $\alpha$ -terpinéol (35,9%), le thymol (15,6%) et le bornéol (12,4%) [155].

➤ Une étude similaire réalisée par **M .Bendahou et al., (2008)** sur l'huile essentielle de cette espèce provenant de la région d'Ain-Safra. Ils ont pu identifier 68 composés en utilisant trois méthodes d'extraction. Les composés majoritaires obtenus par l'hydrodistillation et l'extraction sans solvant assistée par micro-onde (SFME) sont : bornéol (28%), thymol (18%),  $\alpha$ -terpinéol (17%) et le camphène (8% et 6%) respectivement. Réciproquement, le thymol (25%) suivi du bornéol (21,6%), l' $\alpha$ -terpinéol (11,7%) et éthyl-o-méthylbenzoate (2,5%) étaient les principaux composants obtenus par extraction par micro-onde (MAE) (Tableau .II. 13) [27].

**Tableau .II. 13. Composition chimique de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides***  
**Coss. et Dur. récolté de la région d'Ain-Sefra [27]**

| Composés                             | IR <sup>a</sup> | IR <sup>b</sup> | % HD        | %SFME       | %MAE        |
|--------------------------------------|-----------------|-----------------|-------------|-------------|-------------|
| tricyclène                           | 921             | 1011            | 0.3         | 0.2         | tr          |
| $\alpha$ -thujène                    | 923             | 1022            | 0.8         | 0.6         | 0.1         |
| $\alpha$ -pinène                     | 931             | 1022            | 4.0         | 2.8         | 0.4         |
| <b>Camphène</b>                      | <b>945</b>      | <b>1066</b>     | <b>7.8</b>  | <b>5.9</b>  | <b>0.9</b>  |
| 3-octanone                           | 959             | 1337            | -           | 0.1         | 0.1         |
| sabinène                             | 966             | 1120            | 1.2         | 0.8         | 0.1         |
| $\beta$ -pinène                      | 971             | 1110            | 0.6         | 0.5         | 0.1         |
| dihydro-1,8-cinéole*                 | 979             | 1190            | tr          | 0.1         | 0.1         |
| myrcène                              | 981             | 1159            | 0.8         | 0.5         | 0.2         |
| $\alpha$ -terpinène                  | 1010            | 1178            | 0.5         | 0.2         | tr          |
| p-cymène                             | 1014            | 1268            | 2.4         | 2.2         | 08          |
| limonène                             | 1022            | 1199            | 1.0         | 0.7         | 0.6         |
| $\gamma$ -terpinène                  | 1050            | 1243            | 1.3         | 0.5         | 0.3         |
| hydrate de <i>trans</i> - sabinène   | 1055            | 1451            | 0.5         | 0.7         | 0.5         |
| camphénilone                         | 1061            | 1451            | tr          | tr          | -           |
| terpinolène                          | 1080            | 1280            | 0.2         | 0.1         | -           |
| hydrate de <i>cis</i> - sabinène     | 1086            | 1541            | tr          | tr          | 0.1         |
| linalool                             | 1086            | 1544            | 2.2         | 3.1         | 1.8         |
| $\alpha$ -campholénal                | 1107            | 1482            | 0.1         | 0.1         | -           |
| Camphre                              | 1124            | 1517            | 0.2         | 0.2         | 0.1         |
| <i>Trans</i> -pinocarvéol            | 1127            | 1650            | 0.2         | -           | -           |
| pinocarvone                          | 1141            | 1558            | 0.8         | 0.7         | -           |
| bornéol                              | 1150            | 1698            | 27.4        | 28.6        | 21.6        |
| méthyl o-méthylbenzoate *            | 1152            | 1676            | -           | 0.1         | 0.4         |
| p-cymèn-8-ol                         | 1165            | 1833            | tr          | -           | -           |
| terpinèn-4-ol                        | 1166            | 1600            | 1.7         | 1.4         | 0.7         |
| 3-décanone *                         | 1169            | 1680            | tr          | tr          | tr          |
| <i>trans</i> -dihydrocarvone         | 1174            | 1609            | tr          | tr          | -           |
| <i>cis</i> -dihydrocarvone           | 1177            | 1626            | tr          | tr          | -           |
| <b><math>\alpha</math>-terpinéol</b> | <b>1181</b>     | <b>1700</b>     | <b>17.2</b> | <b>16.2</b> | <b>11.7</b> |
| dihydrocarvéol                       | 1182            | 1723            | tr          | -           | -           |
| <i>cis</i> -piperitol                | 1184            | 1742            | tr          | Tr          | -           |
| <i>trans</i> -piperitol              | 1189            | 1738            | tr          | tr          | -           |
| 8, 9-dihydrothymol                   | 1195            | 1961            | tr          | -           | -           |
| <i>trans</i> -carvéol                | 1201            | 1863            | tr          | tr          | -           |
| éthyl o-méthylbenzoate *             | 1226            | 1720            | -           | 1.0         | 2.6         |
| pipéritone                           | 1232            | 1730            | tr          | tr          | -           |
| carvone                              | 1235            | 1739            | tr          | tr          | -           |
| <b>thymol</b>                        | <b>1277</b>     | <b>2189</b>     | <b>18.8</b> | <b>18.5</b> | <b>25.0</b> |
| acétate de bornyl                    | 1280            | 1575            | 0.2         | 1.2         | 0.2         |
| carvacrol                            | 1283            | 2219            | 1.7         | 1.3         | 1.7         |
| eugénol                              | 1336            | 2171            | 0.1         | 0.1         | 0.3         |
| $\beta$ -élemène                     | 1389            | 1589            | 0.1         | 0.1         | tr          |
| tétradécane *                        | 1392            | 1402            | -           | tr          | 1.0         |
| $\alpha$ -gurjunène                  | 1411            | 1591            | 0.2         | 0.1         | tr          |

## Partie II

## Etudes chimiques antérieures

|                                     |      |      |      |      |      |
|-------------------------------------|------|------|------|------|------|
| $\beta$ -caryophyllène              | 1420 | 1591 | 0.3  | 0.2  | 0.8  |
| acétone de géranyl                  | 1430 | 1851 | tr   | tr   | -    |
| aromadendrène                       | 1448 | 1611 | tr   | tr   | tr   |
| $\alpha$ -humulène                  | 1453 | 1665 | 0.1  | 0.2  | tr   |
| allo-aromadandrène                  | 1460 | 1643 | 0.3  | 0.4  | 0.1  |
| bicyclogermacrène                   | 1494 | 1727 | 0.8  | 0.6  | 1.8  |
| $\gamma$ -cadinène                  | 1509 | 1752 | 0.3  | 0.3  | 1.0  |
| (Z)-nerolidol                       | 1515 | 1997 | 0.3  | 0.1  | 0.1  |
| $\delta$ -cadinène                  | 1518 | 1752 | 0.2  | 0.1  | tr   |
| spathulénol                         | 1560 | 2119 | 0.9  | 0.6  | 1.3  |
| géracra-1(10),5-dien-4 $\alpha$ -ol | 1568 | 2005 | 0.2  | 0.1  | -    |
| oxyde de caryophyllène              | 1572 | 1980 | 0.2  | 0.1  | -    |
| globulol                            | 1586 | 2074 | 0.3  | 1.5  | 2.2  |
| hexadécane *                        | 1592 | 1603 | -    | tr   | 1.6  |
| Lédol                               | 1596 | 2026 | 0.3  | 0.1  | -    |
| époxyde I de humulène               | 1599 | 2044 | tr   | tr   | -    |
| 1, 10-di-epi-cubénol *              | 1608 | 2031 | 0.1  | 0.1  | -    |
| epi-cubénol                         | 1626 | 2059 | 0.1  | 0.1  | -    |
| $\tau$ -cadinol                     | 1631 | 2163 | 1.4  | 1.5  | 0.2  |
| cubénol                             | 1637 | 2013 | tr   | tr   | -    |
| $\alpha$ -cadinol                   | 1643 | 2227 | 0.4  | 0.1  | -    |
| $\alpha$ -bisabolol                 | 1674 | 2217 | tr   | tr   | -    |
| <b>Total</b>                        |      |      | 98.5 | 94.7 | 80.9 |
| Isolation (min)                     |      |      | 240  | 20   | 2    |
| Rendements %                        |      |      | 2.3  | 1.9  | 1.0  |
| Composés Hydrocarbonés              |      |      | 21.8 | 16.0 | 9.7  |
| Composés Oxygénés                   |      |      | 75.3 | 77.8 | 71.1 |
| monoterpène hydrocarbonés           |      |      | 20.9 | 15.0 | 3.5  |
| monoterpènes oxygénés               |      |      | 71.1 | 72.3 | 64.2 |
| Sesquiterpènes hydrocarbonés        |      |      | 2.3  | 1.9  | 3.7  |
| Sesquiterpène oxygénés              |      |      | 4.2  | 4.3  | 3.8  |

Index de rétention IR<sup>a</sup> et IR<sup>b</sup> sont donnés dans une colonne apolaire et polaire respectivement ; tr : trace (<0.05) ; HD, SFME, MAE : HE obtenu par hydrodistillation, extraction sans solvant assistée par micro-onde et l'extrait obtenu par extraction assistée par micro-onde respectivement.

Tous les composés sont identifiés par IR et CG/MS ; exception celles avec \* sont identifiés par les références.

➤ Une année après, N. Bendimerad et al., (2009) ont montré que le rendement de l'huile essentielle de l'espèce *Saccocalyx satureioides* récoltée de Sud-Ouest de l'Algérie est égal 4,42% . Ce travail a permis d'identifier 34 composés analysés par CG/MS. Les composants majoritaires sont le bornéol (24,7%), le thymol (21%), l' $\alpha$ -terpinéol (19,1%) et le comphène (6,3%) [30].

➤ En effet une autre étude récente sur les parties aériennes de cette espèce récolté de la région de Bechar, a été réalisée par S. Mohamadi et al., (2015) [156] . A partir des trois

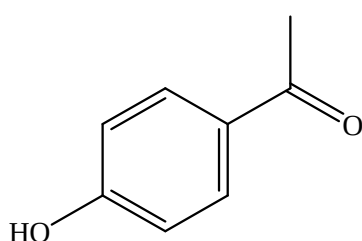
## Partie II

## Etudes chimiques antérieures

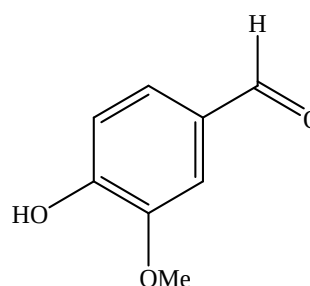
extraits : chloroformique, d'acétate d'éthyle et de n-butanolique, ils ont pu purifier par HPLC dix-sept (17) composés phénoliques et flavonoïdes : picéol , vanilline, aldéhyde férulique, 3,3'-bis(3,4-dihydro-4-hydroxy-6,8-dimethoxy-2H-1-benzo-pyrane), 3,3'-bis(3,4-dihydro-4-hydroxy-6-methoxy-2H-1-benzo-pyrane), acide diméthylque caféique, balanophonine, 7-methyl-sudachitine, acide caféique, acide-*p*-coumarique, isoscutellarein-7-*O*-[allopnyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranoside, isoscutellarein-7-*O*-[β-*D*-allopnyranosyl-(1→2)]-6"-*O*-acétyl-β-*D*-glucopyranoside , isoscutellarein-7-*O*-[6""-*O*-acetylallo- pyranosyl -(1→2)]-β-*D*-glucopyranoside, quercétine, isoscutellarein-7-*O*-[6'''-*O*-acétyl-β-*D*-allopnyranosyl-(1→2)]-6''-*O*-acétyl-β-*D*-glucopyranoside), apigenine 7-*O*-[6''-trans-*p*-coumaroyl]-β-*D*-glucopyranoside et sidéritiflavone.

L'identification de ces composés a été réalisée par des méthodes spectroscopiques telle que : HRMS, UV, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, COSY, NOESY, HSQCet HMBC.

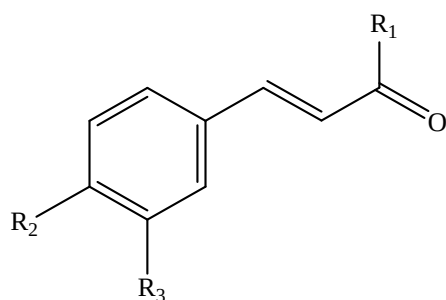
Tous ces composés sont décrits pour la première fois dans le genre *Saccocalyx*, alors que les composés : picéol, aldéhyde férulique 3, 3,3'- bis (3,4-dihydro-4-hydroxy- 6, 8-dimethoxy-2H-1-benzo-pyrane) et apigenine 7-*O*-[6''-trans-*p*-coumaroyl]-β-*D*-glucopyranoside sont décrits pour la première fois dans la famille des lamiacées.



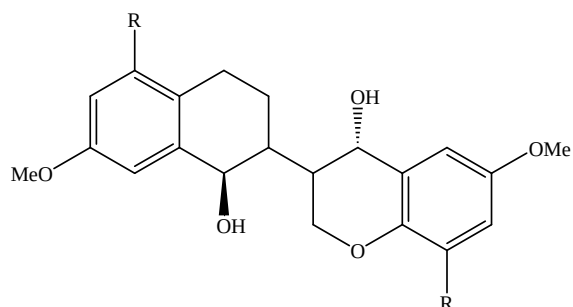
Picéol



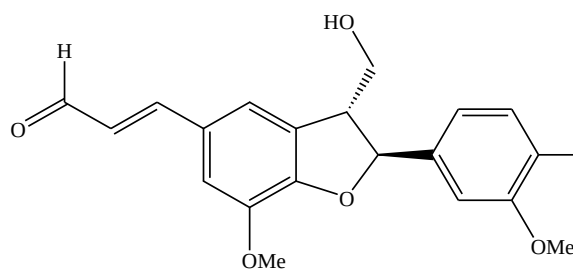
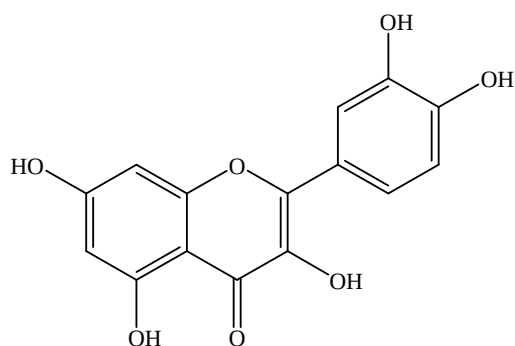
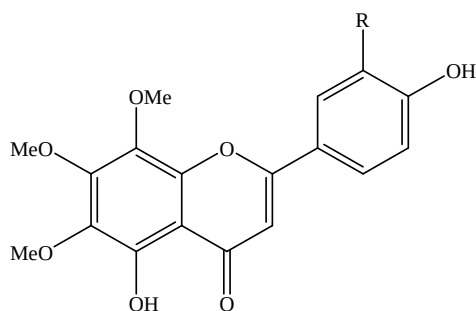
Vanilline



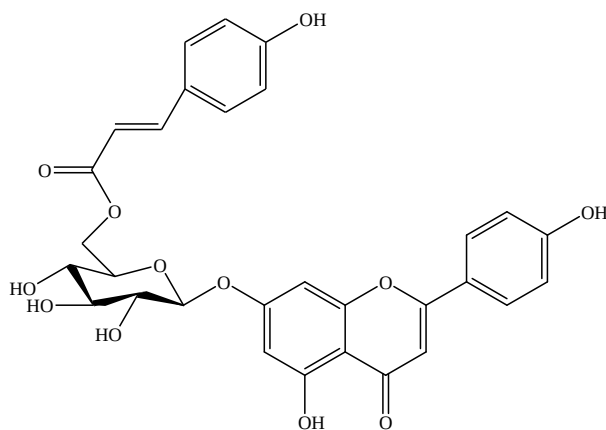
| Structure                   | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|
| aldéhyde férulique          | H              | OH             | OM             |
| acide diméthylque caféique  | OH             | OMe            | OM             |
| acide caféique              | OH             | OH             | OH             |
| acide- <i>p</i> -coumarique | OH             | OH             | H              |

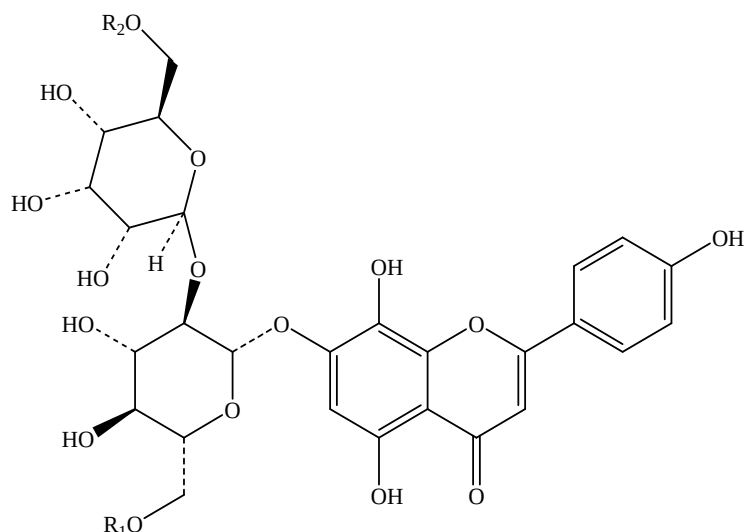


| Structure                                                        | R   |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| 3,3'-bis (3,4-dihydro-4-hydroxy-6,8-dimethoxy-2H-1-benzo-pyrane) | OMe |
| 3,3'-bis (3,4-dihydro-4-hydroxy-6-methoxy-2H-1-benzo-pyrane)     | H   |

**Balanophonine****Quercétine**

| Structure            | R   |
|----------------------|-----|
| 7-methyl-sudachitine | OMe |
| sidéritiflavone      | OH  |

**apigenine 7-O-[6''-trans-p-coumaroyl]- β-D-glucopyranoside**



| Structure                                                                                       | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|
| isoscutellarein-7-O-[β-D-allopyranosyl-(1→2)]-6''-O-acétyl-β-D-glucopyranoside                  | H              | H              |
| isoscutellarein-7-O-[β-D-allopyranosyl-(1→2)]-6''-O-acétyl-β-D-glucopyranoside                  | Ac             | H              |
| isoscute-llarein-7-O-[6'''-O-acetylallopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyrano-side                    | H              | Ac             |
| isoscutellarein-7-O-[6'''-O-acétyl- β-D-allopyranosyl-(1→2)]-6''-O-acétyl- β-D-glucopyranoside) | Ac             | Ac             |



# *Chapitre* II



*Partie I*

### I. 1. Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols sont des phytomicronutriments synthétisés par les végétaux et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire [157]. L'élément structural fondamental qui caractérise ces composés est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...) [158].

Les polyphénols, qui forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols ; les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes ; les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables [159].

De nombreuses études sont en faveur d'un impact positif de leur consommation sur la santé. En effet, les polyphénols pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer [160], les maladies dégénératives et cardio-vasculaires [161]. Un encouragement à la consommation d'aliments d'origine végétale riches en polyphénols constitue désormais une des principales recommandations en santé publique. Parmi les antioxydants végétaux, les polyphénols apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme [157].

Notre intérêt est essentiellement focalisé sur les flavonoïdes, substances que nous avons pu identifier dans notre travail et qui en particulier s'avèrent des composants phénoliques possédant une action biologique très diversifiée. Pour cette raison, nous allons développer essentiellement une recherche bibliographique sur cette classe de polyphénols.

## I. 2. Flavonoïdes

### I. 2. 1. Définition

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines [162].

Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées [163, 164].

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. [163].

Aujourd'hui plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements [165- 167].

### I. 2. 2. Structure chimique

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- $\gamma$ -pyran [168]. Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atomes de carbone (C6 -C3 -C6), constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux) que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygénés, qui désigne la lettre C (Figure 3) [159].

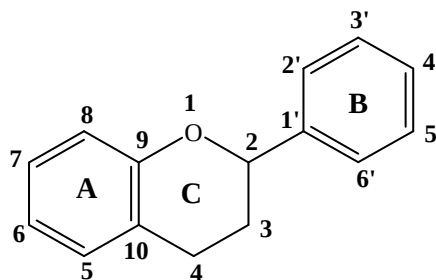
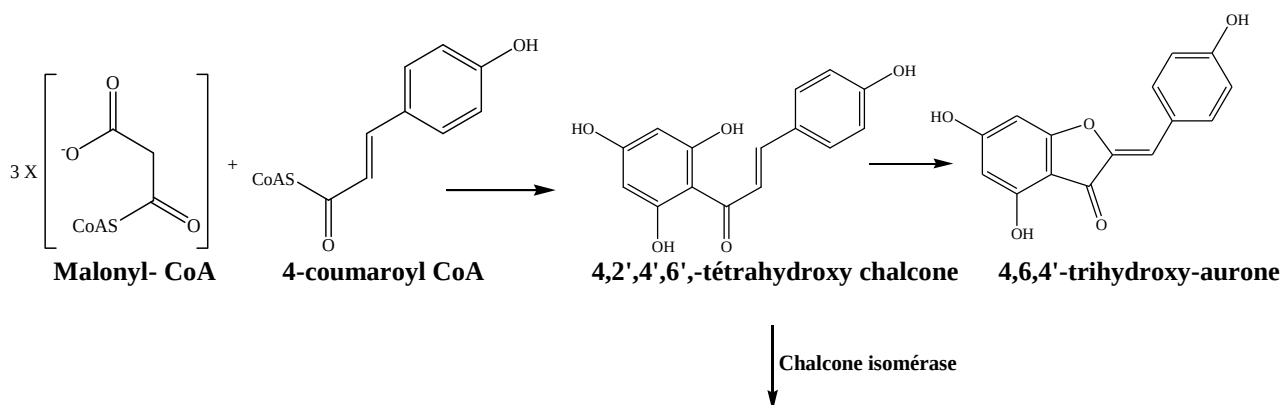


**Figure.I.1. Structure de base des flavonoïdes**

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose....ect, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères [159].

### I. 2. 3. Biosynthèse des flavonoïdes

Le squelette des flavonoides dérive de deux voies de synthèse, la voie shikimique [169], faisant intervenir deux enzymes clés (la *phénylalanine ammonialase* et la *tyrosine ammonialase*) et la voie acétate faisant appel à l'enzyme *chalcone synthase* [170]. Cette enzyme catalyse la condensation de trois entités *malonyl-CoA* avec la *4-coumaroyl-CoA* conduisant à la 4, 2,4',6-tetrahydroxychalcone qui s'isomérise en flavanone (naringénine), par action de l'enzyme *chalcone isomérase*, donnant lieu à une cascade de transformations enzymatiques conduisant à différents flavonoides [171]. La figure (I. 2) illustre la biosynthèse de la chalcone et de ses dérivés flavonoidiques.



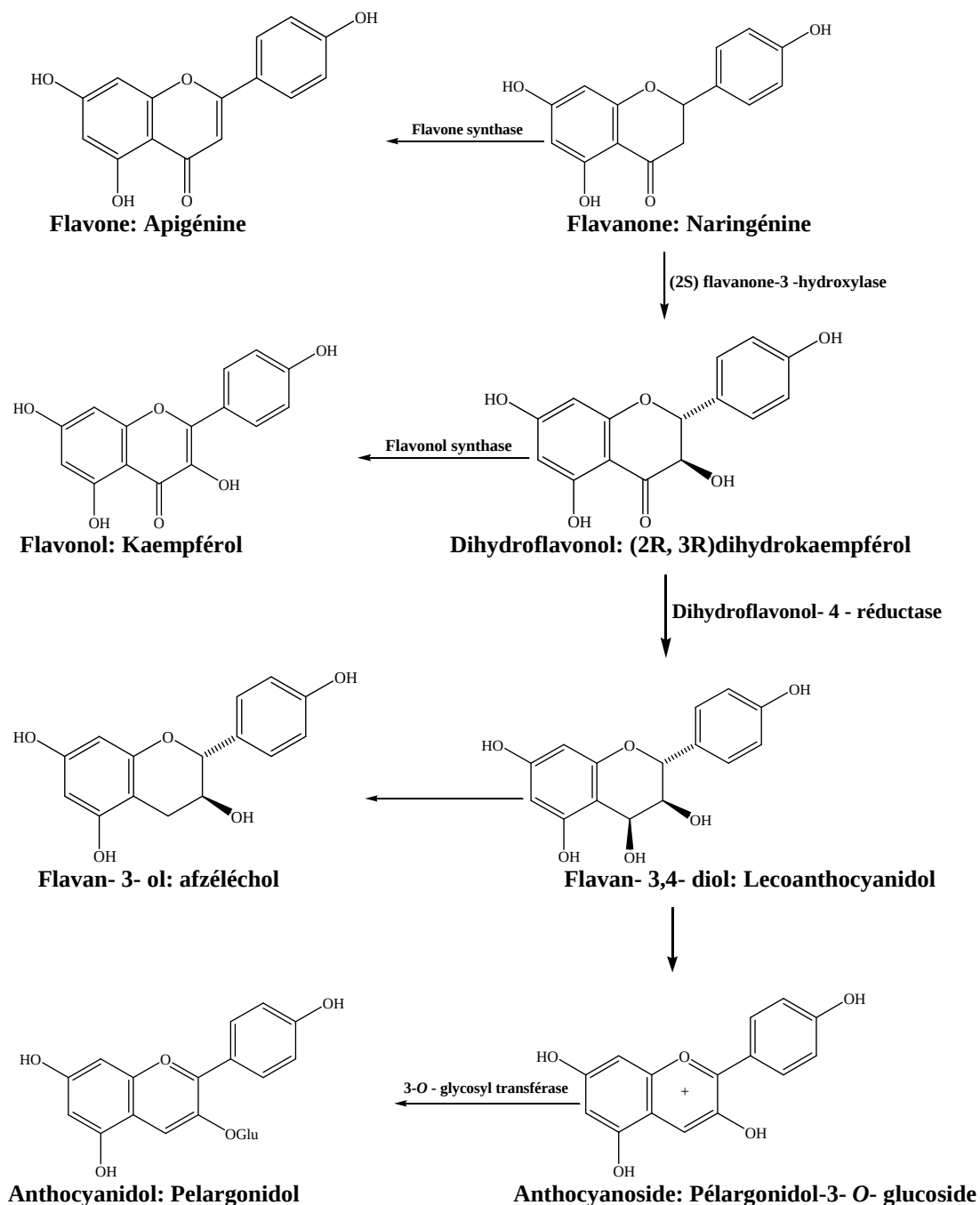


Figure. I. 2. Biosynthèse des flavonoïdes [158]

#### I. 2. 4.. Classes des flavonoïdes

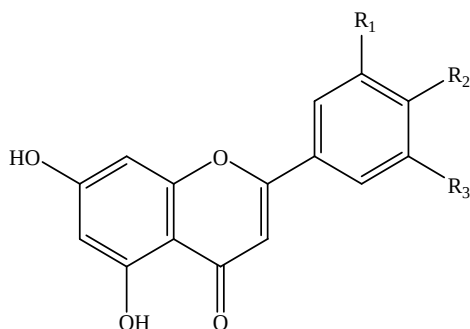
Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes : flavones, flavanols, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanes [172]. Ce sont, en premier lieu, la structure de la chaîne centrale à trois carbones, son degré d'oxydation et la position du deuxième cycle qui permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes. A l'intérieur de chacune des

classes, les variations autour du squelette de base se portent sur trois points: Le degré d'hydroxylation des différents cycles, Le niveau de méthylation et Le niveau de glycosylation [173]

Les diverses classes de flavonoïdes sont :

#### I. 2. 4. 1. Flavones

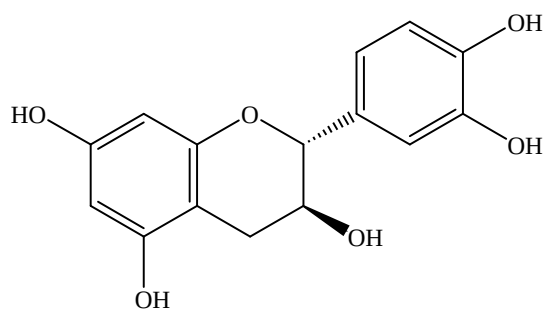
Cette famille est la moins couramment trouvée dans le règne végétal. Ces composés sont présents principalement dans les céréales et certains légumes. La structure de base est la 2-phénylchromène-4-one. Elles présentent une double liaison entre C2 et C3. Les principales flavones sont l'apigénine et la lutéoline [174].



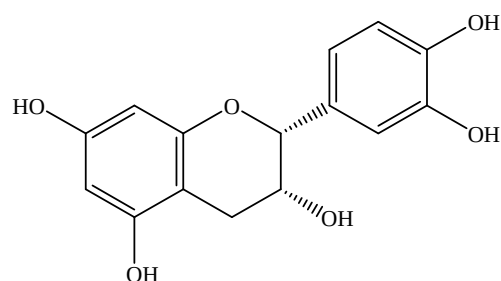
| Structure | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-----------|----------------|----------------|----------------|
| Apigénine | H              | OH             | H              |
| Lutéoline | OH             | OH             | H              |

#### I. 2. 4. 2. Les flavanols ou flavane-3-ols

Cette classe regroupe les diverses catéchines (catéchine, épicatechine, épicatechine gallate, gallocatéchine gallate, gallocatéchine.....ect) ainsi que les proanthocyanidines. Ces molécules présentent un groupe OH en position 3 [174].



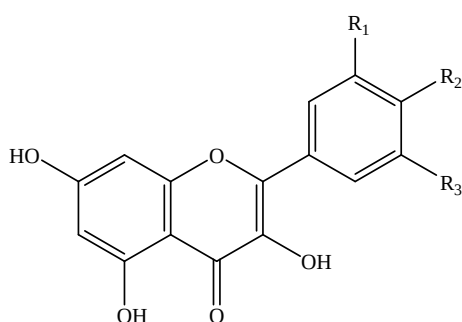
Catéchine



Épicatechine

### I. 2. 4. 3. Flavonols

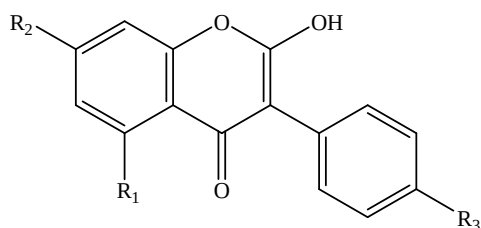
Cette sous-classe de flavonoïdes, la plus importante, est très largement répandue dans le règne végétal et dans l'alimentation. Ces molécules dérivent principalement de trois formes sont la quercétine, la myricétine et le kaempférol. Ils sont caractérisés par la présence d'une double liaison entre C2 et C3, d'une fonction carbonyle en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Chez les plantes, ils sont responsables de la coloration des organes de la plante dans les couleurs allant du blanc au jaune pâle [174].



| Structure  | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|------------|----------------|----------------|----------------|
| Quercétine | OH             | OH             | H              |
| Myricétine | OH             | OH             | OH             |
| Keampférol | H              | OH             | H              |

### I. 2. 4. 4. Isoflavones

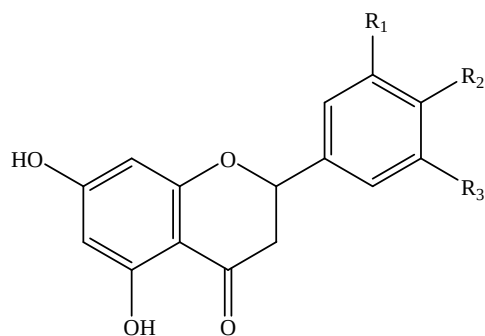
Les isoflavones ont des structures similaires aux œstrogènes. Le cycle aromatique B est lié en C3 au lieu de C2 comme chez les autres flavonoïdes. Des groupements OH sont présents en position C7 et C3'. La principale source alimentaire de cette classe des flavonoïdes est le soja [174].



| Structure  | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|------------|----------------|----------------|----------------|
| Genisteine | OH             | H              | OH             |
| Daidezine  | H              | O-Glu          | OH             |

### I. 2. 4. 5. Flavanones

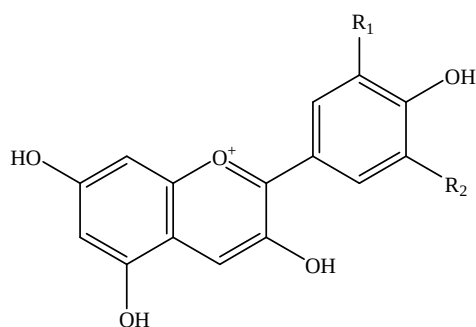
Les flavanones sont des composés présentant de fortes similitudes de structures avec les flavonols mais ne comportant aucun groupement OH en position 3, ni de double liaison entre C2 et C3. On y classe la naringénine et l'héspéridine, responsables du goût amer des agrumes.



| Structure   | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|-------------|----------------|----------------|----------------|
| Naringénine | H              | OH             | H              |
| Eriodictyol | OH             | OH             | H              |

### I. 2. 4. 6. Anthocyanes

Les anthocyanes ou anthocyanines sont des pigments naturels solubles dans l'eau, de couleur rouge à bleu. Ces molécules sont présentes dans un certain nombre de végétaux, principalement dans les pétales et dans les fruits rouges en leur conférant des couleurs allant du rouge au bleu. Si la coloration des fleurs et des fruits est leur rôle le plus connu, on les trouve également dans d'autres organes comme les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle. Elles possèdent toutes une structure commune : le squelette flavylum. Ce motif a la particularité d'être un chromophore. En raison de leurs propriétés physicochimiques, ces pigments font l'objet d'études en agroalimentaire en tant que colorants et alicaments. Ils représentent la forme extrême d'oxydation de l'hétérocycle central. Les formes non glycosylées se nomment « anthocyanidines » et il existe six formes non glycosylées abondamment retrouvées dans le règne végétal : pélargonidine, cyanidine, péonidine, delphinidine, pétunidine et malvidine [174].



| Structure     | R <sub>1</sub>   | R <sub>2</sub>   |
|---------------|------------------|------------------|
| Pélargonidine | H                | H                |
| Cyanidine     | OH               | H                |
| Delphénidine  | OH               | OH               |
| Pétunidine    | OCH <sub>3</sub> | OH               |
| Malvidine     | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> |

### I. 2. 5. Nomenclature

Le système de nomenclature le plus souvent utilisé par les auteurs pour les flavonoïdes fut initialement suggéré par Hemingway, puis étendu par Porter en 1980 [175].

En général, il y a deux systèmes parallèles pour la nomenclature des flavonoïdes, le premier est basé sur des noms insignifiants, à titre d'exemple flavane et chalcone, comme structure parente; l'autre est basé sur la nomenclature chimique systématique, tel que 3,4-dihydro-2-phenyl-2H-1-benzopyrane (nomenclature IUPAC) pour des flavanes et 2-phenyl-4-oxo-4H-1-benzopyrane pour la flavone [175].

Il y a également deux systèmes pour indiquer les substituants autour des noyaux flavane ou Flavone [176] :

- Un dans lequel des substituants précis sont placés en des positions précises des trois cycles comme par exemple 3, 5, 7,3',4'-pentahydroxyflavone à qui est attribué le nom de quercétine,
- l'autre utilise la nature et la position des substituants suivies du nom du noyau en question

Des noms insignifiants sont utilisés intensivement dans la littérature pour la nomenclature des flavonoïdes. Certains indiquent la classe du composé comme par exemple la fin « inidine » qui dénote une anthocyanidine comme la pélargonidine alors que la fin « étine » dénote un flavonol comme la quercétine.

L'évolution des noms a fait que certains glycosides ont des noms particuliers notamment certains dérivés de la quercétine comme la quercitrine qui désigne la 3-rhamnosylquercétine, l'isoquercitrine qui désigne la 3-glucosylquercétine ou la quercimitrine qui désigne la 7-glucosylquercétine. Cependant, il y a peu d'uniformité dans l'appellation des

flavonoïdes et beaucoup de noms sont dérivés du nom générique ou spécifique de la source comme tricine de *triticum* ou hypolaétine de *hypoleana* [176].

### I. 2. 5. Substitution du squelette flavonique

Il existe différents processus de substitution du squelette flavonique, à l'origine de la grande diversité des structures flavoniques. Elles se regroupent en sous classes. Les composés variés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les trois cycles A, B et C [177].

#### I. 2. 5. 1. O-substitution

##### I. 2. 5. 1. 1. Hydroxylation

La plupart des flavones et flavonols sont substitués par deux hydroxyles en C5 et C7, qui sont considérés comme originaux et existent avant la constitution du noyau chalcone. D'autres substitutions sont possibles avec des fréquences variables (hydroxyles en C6 et en C8) [178].

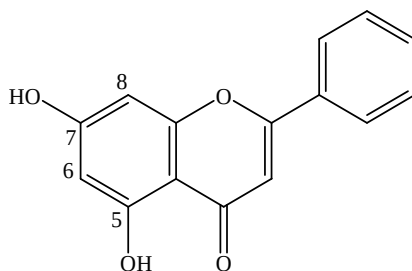


Figure .I. 3. Hydroxylation du cycle A

Le cycle B est substitué en C4' avant la formation du squelette chalcone ou disubstitué en C3' et C4'. Il est moins fréquemment trisubstitué en C3', C4' et C5'. Les autres positions C2' et C6' ne sont qu'exceptionnellement substituées [179].

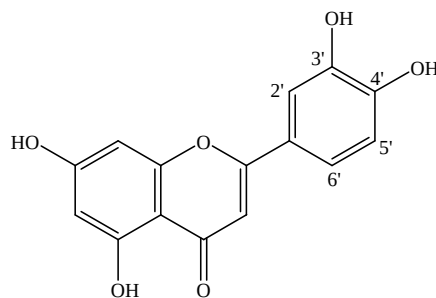
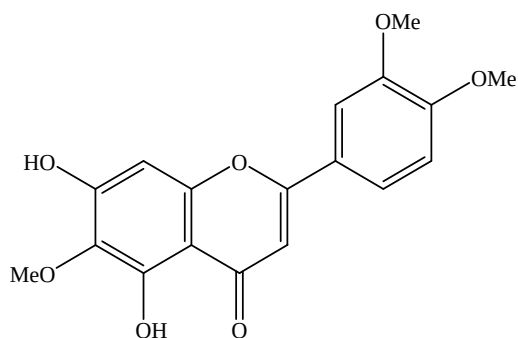


**Figure .I. 4. Hydroxylation du cycle B**

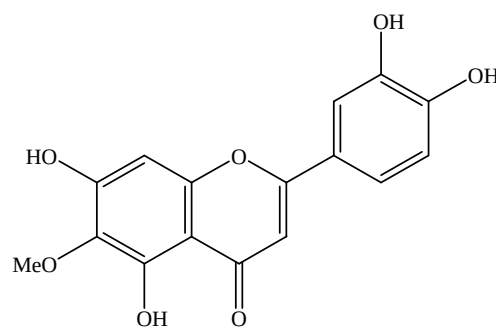
Pour le cycle C, la substitution a lieu sur la position 3 donnant à titre d'exemple, la quercétine [180].

#### I. 2. 5. 1. 2. O-méthylation

La méthylation fait partie de la biosynthèse de plusieurs flavonoïdes. Elle joue un rôle important dans la couleur de ces derniers [181].



**Epalitrine**

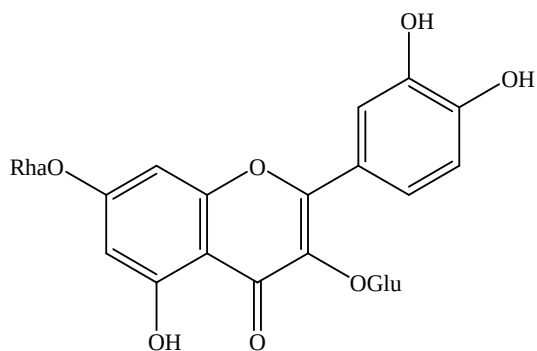
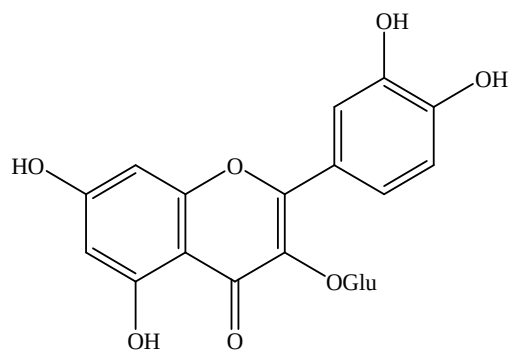


**Népétine**

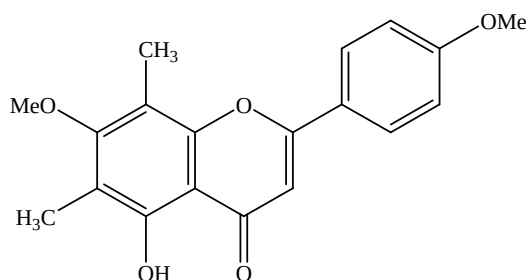
#### I. 2. 5. 1. 3. O-glycosylation

La liaison s'effectue entre un hydroxyle phénolique et un autre d'un sucre. Un deuxième sucre peut se rattacher à la structure flavonique à partir d'un autre OH phénolique ou un OH alcoolique du sucre déjà fixé.

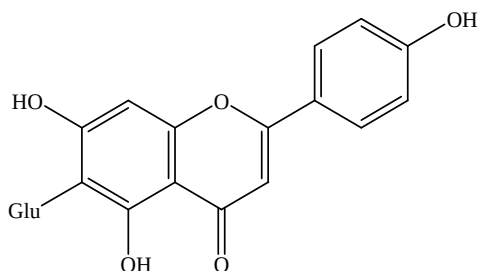
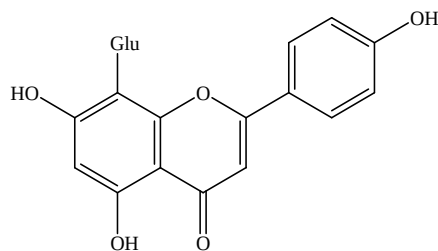
La O-glycosylation se fait préférentiellement avec l'hydroxyle en C7 chez les flavones et les flavanones, en C-3 chez les flavonols. Parfois, elle se fait sur les deux hydroxyles de la même molécule [182].

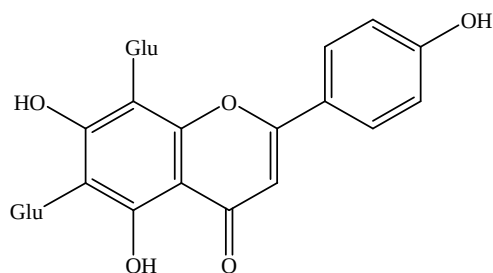
**3-O-glucosyl 7-O-rhamnosyl quercétine****3-O-glucosyl quercétine****I. 2. 5. 2. C-substitution****I. 2. 5. 2. 1. C-méthylation**

Le groupement méthyle est directement lié au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone [181].

**Eucalyptine****I. 2. 5. 2. 2. C-glycosylation**

Le sucre est directement lié au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone très résistante aux acides, contrairement aux O-glycosides. Dans cette glycosylation, la liaison s'établit entre le carbone du sucre et celui en position 6 et/ou 8 du flavonoïde, le plus souvent une flavone. Dans certains composés, les deux modes de glycosylation coexistent [182].

**Apigénine 6-C-glucoside****Apigénine 8-C-glucoside**



**Apigénine 6,8-C-glucoside**

### I. 2. 6. Localisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal. On signale environ 2% de la proportion du carbone photosynthétique global incorporé dans la biosynthèse flavonique. Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. De plus, leur localisation au sein de la plante est caractéristique. En effet, les flavonoïdes sont omniprésents dans les organes aériens jeunes où ils sont localisés dans les tissus superficiels [183].

Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux.

Lorsque les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupes hydroxyles [184].

### I. 2. 7. Distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits. On les trouve principalement dans les agrumes : citrons, oranges, pamplemousses, et dans une moindre mesure : abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, brocolis, tomates et sarrasin. On en trouve également en quantité dans nombreuses plantes médicinales et très spécifiquement dans les herbes aromatiques comme le thym, le persil, le romarin et le céleri [183 - 185].

Récemment, de nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonols, flavones et flavanones [186- 188]. La distribution des différentes familles de flavonoïdes dans le règne végétal a été évaluée par plusieurs auteurs. Le tableau I.1 regroupe la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes [189- 193].

**Tableau .I. 1 Distribution des flavonoïdes dans les fruits et légumes.**

| <b>Famille</b>     | <b>Molécules principales</b>         | <b>Distribution</b>                                                                                                                                 |
|--------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Flavone</b>     | apigénine, lutéoline, chrysine       | Pomme, céleri, grains de céréale, (teneur =5-100 mg/kg)<br>herbes aromatiques (persil, romarin, thym),<br>Petroselinum sativum, Apium graveolens... |
| <b>Flavanone</b>   | hespéritine, naringine, taxifoline   | Citrus et agrumes<br>eucalyptus globulus                                                                                                            |
| <b>Flavonol</b>    | quercétine, myricétine et kaempférol | Pomme, pamplemousse, radis, endive, brocoli, oignon, chou, laitue, vin rouge, raisin, olive, thé noir,...<br>Sophora japonica, Stellaria media.     |
| <b>Isoflavones</b> | genisteine et daidzeine              | Légumineuses (soja, haricots noirs et pois chiches verts), pousses de luzerne et de trèfle et les graines de tournesol                              |
| <b>Flavan-3-ol</b> | (+)-catéchine, (-)-epicatéchine,     | Thé vert et noir, vin rouge<br>Vitis vinifera                                                                                                       |
| <b>Anthocyanes</b> | cyanidine, pelargonidine             | Fruits et légumes rouges et violets (pommes, raisins, baies, kaki, cassis...)                                                                       |

Le monde animal est lui aussi concerné par les flavonoïdes. Par exemple la chrysine, la quercétine et la galangine se trouvent dans la propolis des abeilles. Ces insectes les

synthétisent à partir des sécrétions de bourgeons de nombreux arbres comme le bouleau, l'aulne, le sapin et les modifient grâce à leurs enzymes salivaires [194].

### I. 2. 8. Caractéristiques chromatographiques des flavonoïdes

Des indications significatives sur la structure chimiques des flavonoïdes peuvent être fournies par les valeurs des  $R_f$  dans un système de solvant donné. La couleur de la fluorescence sous lumière ultra- violette peut également orienter quant à la structure de la famille flavonique (tableau .I. 2) [195].

**Tableau .I. 2. Fluorescence des structures flavoniques sous lumière UV**

| Couleur des spots    | Structures flavoniques                                                                                               |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Noir- violette       | Flavones -5, 6,7<br>Flavonol substitué en 3                                                                          |
| Bleu                 | Flavone ou flavonol sans OH en 5<br>Flavanone avec OH en 3 ou flavanol<br>Flavonol avec 3-OH substitué ou sans 5- OH |
| Jaune ou jaune terne | Flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH                                                                             |
| Orange               | Isoflavones                                                                                                          |
| Jaune verte,         | Aurones                                                                                                              |
| Verte                | Chalcones                                                                                                            |
| Bleu verte           | Flavanone sans 5-OH                                                                                                  |

### I. 2. 9. Propriétés physiologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes comptent parmi les plus représentatifs des substances élaborées par les plantes à travers leurs métabolismes secondaires, ces substances possèdent des propriétés colorantes, aromatique, médicinales et cosmétologiques et confèrent à la plante des avantages adaptatifs. De nombreux principes actifs sont bénéfiques à l'homme et à l'animal.

### I. 2. 9. 1. Rôle attracteur chez les plantes

Les flavonoïdes sont à l'origine des propriétés chromatiques des différents pigments qui sont accumulés dans la plupart des organes des végétaux. Les pigments responsables des couleurs vives et variées des fleurs, ont non seulement un effet esthétique, mais sont aussi responsables de l'attraction des pollinisateurs (oiseaux et insectes). Un tel constat a été mis en évidence par Harborne *et al.* (1978), confirmant le rôle des anthocyanes dans le processus de pollinisation [196].

D'autres auteurs soulignent l'importance des flavonoïdes dans la fertilité des plantes, ils sont indispensables dans le développement des gamétophytes mâles. Des mutations affectant l'enzyme clé *chalcone synthétase* qui catalyse la biosynthèse des composés phénoliques entraîne l'absence de pigments dans les anthères et une stérilité mâle [197].

### I. 2. 9. 2. Rôle protecteur chez les plantes

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les agressions parasites ou abiotiques. Les plantes étant immobiles, elles ont dû mettre en place un système de résistance pour combattre les effets de l'environnement comme le gel et la sécheresse. Les flavonoïdes pourraient également permettre aux plantes de survivre sur les sols riches en métaux toxiques comme l'aluminium [198].

Les flavonoïdes de défense peuvent être divisés en deux groupes : ceux préformés, et ceux dont la synthèse va être induite par un phénomène physique, une infection ou un stress. Ils peuvent être présents de manière constitutive, mais leur synthèse va être augmentée par un facteur déclenchant, dans ce cas on parle de phytoalexines [199, 200].

Vanetten *et al.* (1994) définissent les phytoalexines comme les composés synthétisés en réponse à une attaque et les phytoanticipines comme les composés présents avant toute attaque. Les flavonoïdes préformés sont des composés synthétisés durant le développement normal de la plante. Ils sont souvent accumulés à des endroits stratégiques de la plante pour sa

défense. Ce qui explique que certains de ces composés possèdent un potentiel thérapeutique contre les microorganismes (bactéries, virus, champignons), et les insectes. Les flavonoïdes pourraient entraîner des changements dans la différenciation tissulaire et promouvoir la formation de thylle et de cal, empêchant ainsi l'agression par des agents invasifs [200].

En raison de leur structure, les flavonoïdes présentent une zone d'absorption dans l'ultraviolet et leur synthèse est fortement stimulée chez certaines espèces par la lumière ultraviolette [201,202]. Ces composés s'accumulent en grandes quantités dans les tissus périphériques, ils font écran aux UV qui endommagent l'ADN et protègent ainsi les tissus internes des tiges et des feuilles [203].

### **I. 2. 10. Activités biologiques des flavonoïdes**

Comme cela a été démontré par de nombreux travaux, les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées pour leur potentiel en thérapeutique contre les microorganismes. On leur reconnaît les activités suivantes :

#### **I. 2. 10. 1. Activité antioxydante**

Les flavonoïdes sont considérés comme des agents antioxydants très puissants en raison de leur structure, se rapportant en particulier à la position des groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques, et la capacité des composés aromatiques à supporter une délocalisation électronique. Ces dernières années, un intérêt particulier a été accordé aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes [204 - 206], qui seraient attribuées à:

- leur capacité à piéger directement les radicaux libres.
- leur pouvoir de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives (EOR).
- leur capacité d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases et d'inhiber les enzymes pro-oxydantes.

### I. 2. 10. 1. 1. Propriétés antiradicalaires

L'organisme possède ses propres mécanismes de défense permettant de lutter contre les radicaux libres ou les espèces oxygénées réactives, il s'agit principalement d'enzymes cytosoliques (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase, glutathion transférase). L'action protectrice de ces enzymes est complétée par celle de différents réducteurs présents dans les structures lipoprotéiques.

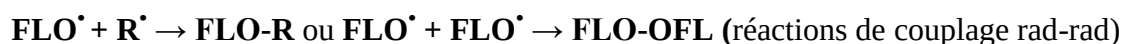
Dans les conditions physiologiques normales, du fait de l'efficacité des systèmes de défense, les radicaux libres n'auront pas d'effets néfastes majeurs. Toutefois, si les possibilités de protection enzymatique sont dépassées par des quantités importantes de radicaux ces derniers vont engendrer :

- des peroxydations lipidiques favorisant l'athérosclérose et le vieillissement,
- des modifications oxydatives des protéines les rendant inactives,
- des dommages oxydatifs de l'ADN et de l'ARN aboutissant à des mutations et à la cancérisation.

Les flavonoïdes hydroxylés (FLOH) sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles (FLO•) moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction représentée ci-dessous :



Cette réaction de piégeage donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyle, ce dernier va subir un changement de structure par résonance ; redistribution des électrons impaires sur le noyau aromatique pour donner des molécules de faible réactivité par rapport aux  $\text{R}^\bullet$ ; en outre les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs [207].



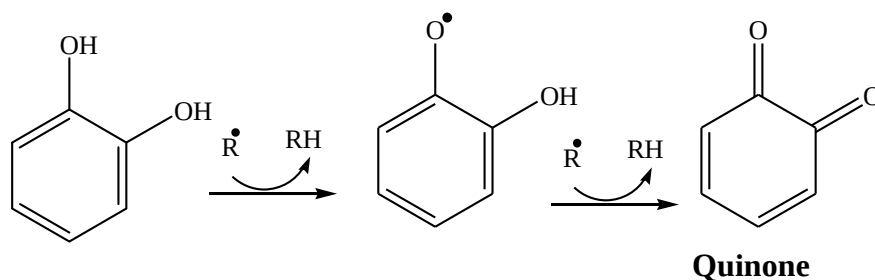
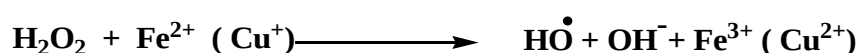


**Figure .I. 5. Piégeage des espèces réactives dérivées de l'oxygène (R<sup>•</sup>) par les flavonoïdes et la formation d'une structure stable [208]**

#### I. 2. 10. 1. 2. Propriétés chélatrices des ions métalliques

Les ions métalliques sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, Fe pour la catalase et Cu et Zn pour la superoxyde dismutase). Mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'un stress oxydatif, ou une blessure des tissus, à titre d'exemple  $\text{Cu}^{2+}$  est un stimulateur de la peroxydation des LDL [208]. Ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante:



Les flavonoïdes sont capables de former des complexes par chélation d'ions métalliques à charge élevée tels que  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  (Figure .I.6) :

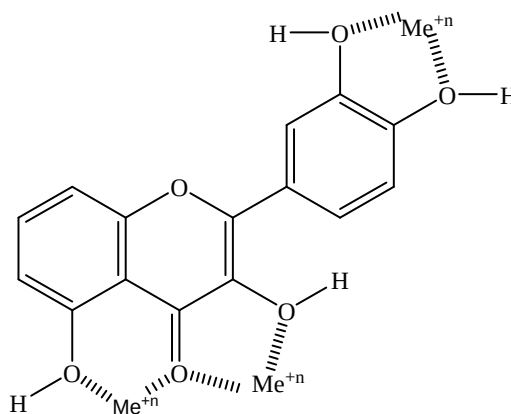


**Figure.I. 6. Principaux sites impliqués dans la chélation  
des ions métalliques ( $Me^{n+}$ ) [208, 209]**

**I. 2. 10. 2. Activités toxique et pro-oxydante**

Bien que les bienfaits des flavonoïdes sur la santé humaine soient reconnus actuellement, une revue critique des effets toxiques potentiels des flavonoïdes est nécessaire. Plusieurs études indiquent un effet mutagène et génotoxiques dans certains systèmes expérimentaux bactériens ou mammifères, effet lié à une activité pro-oxydante. De nombreuses études montrent à l'évidence que les activités biologiques des flavonoïdes sont doubles. Ils peuvent agir en tant qu'antimutagène / pro-mutagène, antioxydant/pro-oxydant. Tout dépend largement des quantités consommées et des conditions physiologiques de l'organisme. Un surdosage peut entraîner des dommages allant jusqu'à des mutations dans l'ADN. Certaines études récentes d'intervention chez l'homme montrent que les flavonoïdes, comme la quercétine semblent être antimutagènes *in vivo* [210]. Les flavonoïdes semblent donc être toxiques vis-à-vis des cellules tumorales mais plus ou moins toxiques vis-à-vis des cellules normales à des concentrations très élevées [211].

**I. 2. 10. 3 Activité antimicrobienne des flavonoïdes**

Plusieurs études ont été réalisées sur les plantes pour déterminer en général, les propriétés médicinales et en particulier les propriétés antimicrobiennes. Beaucoup de groupes de recherche ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié la structure des flavonoïdes qui possèdent l'activité antimicrobienne ou ont mesuré l'activité des flavonoïdes disponibles dans le commerce [212-213].

**Tableau .I. 3. Quelques flavonoïdes antimicrobiens [214]**

| Flavonoïdes       | Mécanisme                                                          |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 4'-méthoxyflavone | Se complexer aux protéines extracellulaires                        |
| Abyssinone        | Inactiver les enzymes et empêcher la transcriptase inversée du HIV |
| Catéchine         | Se complexer aux protéines extracellulaires                        |

|              |                                                          |
|--------------|----------------------------------------------------------|
| Chrysine     | Grippage aux adhésions complexes avec le mur de cellules |
| Épicatéchine | Rupture de membrane                                      |

### I. 2. 10. 3. 1 Activité antibactérienne

Les flavonoides sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries. Des études ont montré le pouvoir antibactérien des flavonoïdes contre des souches de bactéries gram (+) et gram (-) [215 - 217].

Des études *in vivo* sur animaux se sont révélées encourageantes après injection de la sophoraisoflavone par voie intra-péritonéale chez des souris infectées par *Salmonella thyphimurium* [218].

De nombreux ptérocarpanes sont connus comme bactéricides ou bactériostatiques, en particulier vis-à-vis des bactéries Gram (+) [219], pour ces composés, il semble que la présence de 2 groupements hydroxyles libres soit essentielle à l'activité. Il a été démontré que les 5-hydroxyflavanones et les 5 hydroxyisoflavanones avec un, deux ou trois groupements hydroxyles en position 7, 2' et 4' inhiberaient la croissance de *Streptococcus sp.*, l'hydroxylation la plus importante pour l'activité étant celle en position 2'. Par contre, les méthoxylations diminuent considérablement les effets antibactériens [220].

Les flavonoïdes agiraient à plusieurs niveaux : le cycle B jouerait un rôle important dans l'intercalation avec les acides nucléiques inhibant ainsi la synthèse d'ADN et d'ARN des microorganismes, ils peuvent également inhiber l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* [221].

Certaines catéchines (flavan-3-ols), la 2, 4,2'-trihydroxy-5'-méthylchalcone, la naringénine et la quercétine possèdent un effet antibactérien en provoquant un changement de perméabilité membranaire. Les licochalcones interféreraient avec le métabolisme énergétique en inhibant la NADH cytochrome c réductase [218].

Les flavonols issus de fractions de propolis ont montré des effets significatifs dans la lutte contre l'herpès simplex virus de type 2 ou HSV-2, sexuellement transmissible, et qui est considéré comme un facteur à haut risque pour la transmission du VIH [222].

#### I. 2. 10. 3. 2. Activité antifongique

Comme la majorité des polyphénols, les flavonoïdes ont une activité antifongique très puissante. L'une des études a démontré l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxyflavones de *Cirtus parasidi* de *Cirtus sinensis* sur *Penicillium digitatum*. En effet, la naringinine, l'hespéridine, la nobilétine, la simensetine et la tangerétine extraites de ces deux espèces de *Cirtus* servent à protéger ces dernières contre les attaques de *P. digitatum* [223].

D'autres flavonoïdes extraits de la poudre des inflorescences mâles de *Borassus dethiopum* ont une activité contre des dermatophytes comme *Trichophyton rubrum* grâce à des fractions flavonoïques [224]. Aussi, les flavonoïdes de *Conyza aegyptica* L. ont une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses : *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida zeylanoïdes* [225].

#### I. 2. 10. 4. Activité anti-inflammatoire

Bien que l'inflammation soit un phénomène normal d'autodéfense de l'organisme contre des blessures, elle est parfois incontrôlée dans les maladies auto-immunes (arthrite rhumatoïde) ou lorsqu'elle est liée aux réponses allergiques (asthme) [226, 227].

Les mastocytes sont des cellules qui participent aux réactions allergiques et à l'inflammation en sécrétant des médiateurs inflammatoires comme l'histamine et les cytokines pro-inflammatoires. L'action pharmacologique des flavonoïdes suggère qu'ils pourraient présenter un intérêt dans le traitement des allergies en régulant ces mastocytes.

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [228, 229].

Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. La quercétine a un effet anti-inflammatoire en inhibant quelques enzymes de synthèse tel que la cyclooxygénase [230]. Une étude portant sur l'astragaline, la fisétine, le kaempferol, la myricétine, la quercétine et la rutine, sur les réactions inflammatoires allergiques induites par les mastocytes a permis de constater que toutes ces molécules, hormis l'astragaline, inhibaient la sécrétion de l'histamine [231].

De même, dans la famille des stilbènes, le resvératrol a montré des propriétés anti-inflammatoires *in vivo* et *in vitro* [232].

#### I. 2. 10. 5. Activité anti-tumorale

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse [233, 234]. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Par exemple, les hépatocytes synthétisent des enzymes dites de phase I (notamment des monooxygénases, telle que les cytochromes P- 450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant le substrat des enzymes de phase II (glucoronyl transférases, sulfo transférases...). Ces enzymes convertissent leurs substrats en espèces hydrolysables facilement excrétées hors des cellules. Ces enzymes sont stimulées sous l'action des substances polyphénoliques trouvées dans les légumes, et aussi sous l'action des isothiocyanates (dérivés des glucosinolates) [235].

Des études montrent que certains flavonoïdes particulièrement; lutéoline, quercétine, kaempférol, apigénine, taxifoline inhibent d'une façon marquée la lipogenèse des cellules cancéreuses [236,237]. Certains flavanols (épigallocatechine-3- gallate) représentent des

effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses de prostate, ces effets sont corrélés avec leur capacité à inhiber les enzymes clés lipogéniques i.e. FAS (Fatty Acid Synthase) [238].

Les isoflavonoïdes peuvent prévenir les cancers hormonaux dépendants en agissant sur les récepteurs ER. Le soja est l'aliment le plus riche en isoflavones avec 1-3 mg/g de poids sec, le composé majoritaire parmi ces isoflavonoïdes étant la génistéine. Il semble qu'un régime riche en génistéine inhibe la croissance des tumeurs de la prostate, en réduisant à la fois le nombre de tumeurs et la taille de ces tumeurs. Néanmoins, les métabolites de la génistéine (composés halogénés) apparaissent prépondérants dans cette activité [239].

L'activité anticancéreuse des flavonoïdes est assurée par l'intervention de plusieurs mécanismes [237,240-242] :

- Piégeage des radicaux libres,
- Inhibition du métabolisme d'acide arachidonique,
- Formation d'un complexe inactif avec le carcinogène,
- Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes,
- Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses,
- Arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses,
- Induction de l'apoptose,
- Inhibition des processus d'angiogénèse

#### **I. 2. 10. 6. Activité anti-ulcérogène**

Les flavonoïdes protègeraient la muqueuse gastrique contre les agents ulcérogènes. La quercétine exerce ses effets cytoprotecteurs grâce à un complexe impliquant la stimulation de la prostaglandine et l'inhibition de la production de leucotriènes via la production de mucus et de ses propriétés antioxydantes [163].

Dans des expériences réalisées sur des rats, la quercétine et la naringénine ont montré un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production de mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production de leucotriènes [189].

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés anti-ulcère de la quercétine, la naringénine, la rutine et le kaempférol, et la production de PAF (*Platelet Activating Factor*) qui est un agent ulcérogène potentiel. En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes [243]. Une activité antibactérienne ciblant spécifiquement *Helicobacter pylori* a été observée [244].

#### I. 2. 10. 7. Effet sur le système cardiovasculaire

Les flavonoïdes sont réputés pour leur effet protecteur sur la santé cardiovasculaire en modifiant plusieurs processus pathologiques qui interviennent dans l'apparition des maladies cardiovasculaires. Certains flavonoïdes auraient un effet positif dans l'athérosclérose et les formes stables de maladies cardio-vasculaires en diminuant l'oxydation de LDL par inhibition de LOX, une atténuation du stress oxydatif et une diminution de l'inflammation [245]. Les flavonoïdes auraient également un intérêt dans le traitement des arythmies et de l'hypertension artérielle, en particulier grâce à une diminution du stress oxydatif. Dans la prévention des infarctus myocardiques, les flavonoïdes agiraient par inhibition de l'agrégation plaquettaire et une diminution des ROS [246, 247].

Les flavonoïdes inhiberaient l'agrégation plaquettaire par interaction avec les récepteurs aux thromboxanes et possèderaient une action vasodilatatrice, néanmoins, les mécanismes d'action qui interviennent sont encore flous [246]. Des pyrano-isoflavones possèdent une activité vaso-relaxante, [248].

### **I. 2. 10. 8. Propriétés antivirales**

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales permettant ainsi une bonne protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours [249]. D'autres chercheurs [250] ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées.

Les travaux de Spedding et al. [251] ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1 qui assure l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte [252].

L'activité antivirale des flavonoïdes contre HIV peut être liée directement par leurs effets sur les enzymes responsables de son réplication (HIV-1 reverse transcriptase ou HIV-1 intégrase) par ailleurs d'autres flavonoïdes montraient une activité antivirale contre le virus d'influenza, HIV-1, HIV-2 [253].

### **I. 2. 10. 9. Propriétés antiallergiques**

Les effets antiallergiques sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase  $\text{Ca}^{2+}$  dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des monocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase  $\text{Ca}^{2+}$  dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules [254].

### **I. 2. 10. 10. Propriétés nutraceutiques**

Le terme nutraceutique a été intervenu en 1979 par Steph De Felice [255], il s'agit d'une appellation commerciale élaborée par les industriels qui résulte de la contraction de "Nutrition" et de "Pharmaceutique" [256,257].

Les nutraceutiques sont des composés qui n'ont pas une valeur calorique mais qui ont un rôle fondamental pour ce qui concerne la prévention de certaines pathologies. Les produits nutraceutiques fondamentaux des plantes sont les composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes en raison de leurs propriétés bénéfiques sur la santé humaine [258].

#### **I. 2. 10. 11. Prévention de la cataracte diabétique**

Les flavonoïdes préviendraient la cataracte diabétique en inhibant l'aldose réductase. La myricétine possède des propriétés hypoglycémiantes et hypotriglycéridémiantes chez les animaux diabétiques [189].

#### **I. 2. 10. 12. Activité anti-ostéoporose**

L'ostéoporose est une pathologie caractérisée par une densité minérale osseuse relativement faible, surtout chez les femmes âgées. De nombreux nutriments comme la vitamine D, les minéraux et certaines protéines permettent le maintien osseux. Certains flavonoïdes inhiberaient la résorption osseuse ostéoclastique selon des mécanismes encore inconnus [259].

### **I. 3. Conclusion**

L'importance des produits naturels issus des plantes dans les différents domaines (pharmaceutique, thérapeutique, agriculture et cosmétique) nous a conduit à nous intéresser à la recherche et à l'étude bibliographique de ces substances, nous avons focalisé dans cette étude sur diverses familles de métabolites secondaires les plus rencontrés du genre *Saccocalyx* notamment les composés flavoniques, ainsi, que leur voie biosynthétique et leur intérêt biologique et pharmacologique.



*Partie* II

## II. 1. Introduction

Morphine, mescaline, cocaïne, strychnine, curare, codéine, caféine, théobromine, colchicine, atropine, acide lysergique... voilà des noms de substances naturelles alcaloïdiques qui sont réputées pour leur activité biologique ! Des drogues, des excitants ou des médicaments, selon les doses et les utilisations, présents dans notre vie quotidienne, dans notre pharmacie, dans un champ de fleurs ou de blé, mais aussi dans la peau de certains animaux, pour se protéger des prédateurs[ 260] .

Parmi les grandes classes de molécules naturelles ayant des activités biologiques très intéressantes (analgésique, anticancéreuse, hémostatique) et des structures complexes, on compte la vaste famille des alcaloïdes [261].

## II. 2. Définition

Plusieurs définitions du terme alcaloïde ont pu être données depuis son apparition en 1819, où W. Meissner a défini les alcaloïdes comme étant des substances dérivées de plantes qui réagissent comme des alcalis [262]. Cette définition est aujourd'hui très réductrice car les alcaloïdes ne sont pas isolés simplement des plantes mais également des champignons et du règne animal et n'ont pas forcément un caractère basique.

Au cours des années et des découvertes de nouveaux alcaloïdes, la définition a évolué. En 1896, I. Guareschi écrit que le terme alcaloïde est applicable à tous composés organiques basiques obtenus à partir du règne animal ou de plantes, ou préparé artificiellement [263].

Au 20<sup>ème</sup> siècle, des tournures différentes sont utilisées, la plus récente étant celle de S. W. Pelletier en 1983 : un alcaloïde est un composé organique cyclique contenant un atome d'azote dans un degré d'oxydation négatif qui a une distribution limitée à certains organismes vivants. Cette définition est l'une des plus exactes. Elle ne prend plus en compte le caractère basique systématique et elle tient compte de la présence d'un alcaloïde dans une ou plusieurs espèces vivantes, bien qu'il existe aussi des alcaloïdes acycliques [264].

Dans son livre, M. Hesse définit les alcaloïdes comme étant des substances organiques d'origine naturelle contenant un ou plusieurs atomes d'azote avec un caractère basique de degré plus ou moins fort [261].

A ce jour, plus de 15 000 alcaloïdes différents ont été isolés. Il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes et des autres métabolites azotés naturels, la classification de ceux-ci n'est pas plus simple [265].

Il est admis qu'un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées [265].

### II. 3. Classification

On estime qu'il y a plus de 10 000 alcaloïdes différents déjà isolés (ou détectés) à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes. Proposer une classification pour les alcaloïdes est une tâche difficile, en raison du grand nombre de composés connus et surtout à cause de la diversité structurale [266].

Afin de pouvoir mieux maîtriser cette grande liste, trois types de classification des alcaloïdes ont été proposées suivant : leurs structures chimiques, leurs voies de biosynthèse et leurs activités biologiques et écologiques.

#### II. 3. 1. Classification structurale

La classification des alcaloïdes tient compte de deux paramètres distincts : la position de l'atome d'azote au sein de la structure et les différentes fonctions qui en découlent, et la famille de plantes dont ils sont extraits (90 % des alcaloïdes sont issus de plantes). On compte cinq grandes classes d'alcaloïdes, chacune divisée en plusieurs sous familles : les alcaloïdes hétérocycliques, les alcaloïdes portant un atome d'azote exocyclique, les alcaloïdes de type putrescine, spermidine et spermine, les alcaloïdes peptidiques et les alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens [267].

La grande majorité des alcaloïdes fait partie de la classe des alcaloïdes hétérocycliques. Celle-ci est divisée en plusieurs familles suivant le motif hétérocyclique qui la compose (pyrrole, indole, pipéridine, tropane, imidazole, isoquinoline,...) et est divisée de nouveau suivant leur origine végétale ou animale. La figure .II. 1. montre quelques exemples de ces alcaloïdes [267].

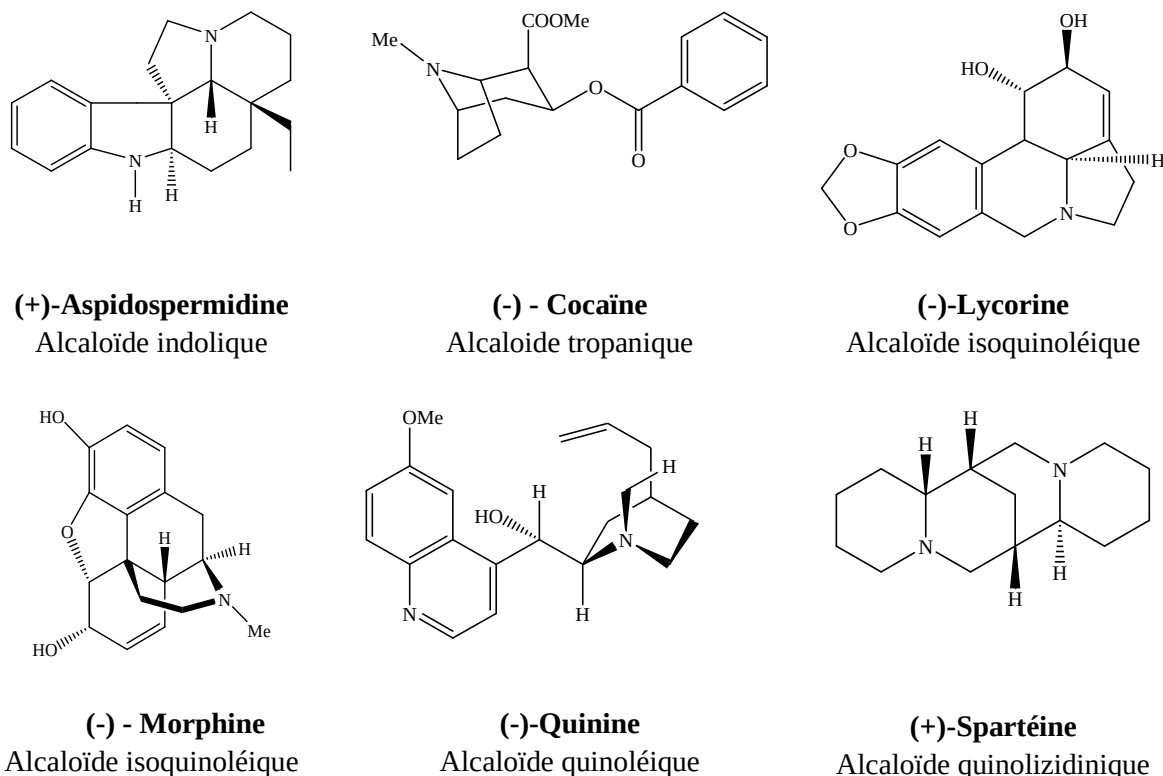


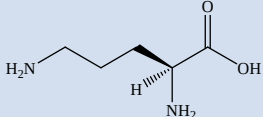
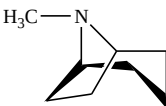
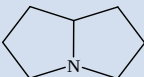
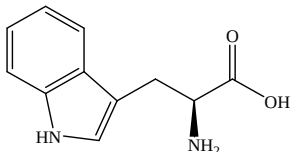
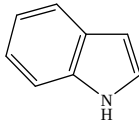
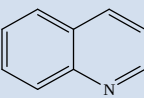
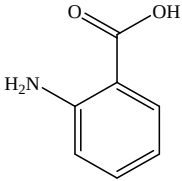
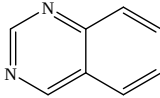
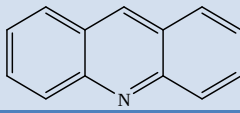
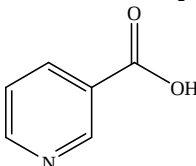
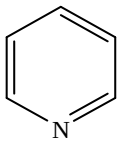
**Figure .II. 1. Exemples d'alcaloïdes hétérocycliques**

### II. 3. 2. Classification biogénétique

Les alcaloïdes peuvent être classés en fonction de leur précurseur avant leur synthèse dans une voie biologique. On distingue alors trois grandes classes [267]:

**II. 3. 2. 1. Les alcaloïdes vrais** qui sont des substances d'origine naturelle et de distribution restreinte, de structure souvent complexe, azotée (atome d'azote inclus dans un hétérocycle) et de caractère basique. Ils existent dans la plante sous forme de sels, ont pour origine biosynthétique un acide aminé et sont dotées d'une activité pharmacologique significative [267].

Tableau .II. 1 Quelques exemples des alcaloïdes vrais

| Précurseur                                                                                                        | Groupe d'alcaloïdes          | Noyau caractéristique                                                                               | Exemples                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>L- ornithine</b><br>          | Alcaloïdes pyrrolidiniques   | Pyrrolidine<br>   | Cuscohygrine, Hygrine                     |
|                                                                                                                   | Alcaloïdes tropaniques       | Tropane<br>       | Atropine, Cocaine                         |
|                                                                                                                   | Alcaloïdes pyrrolizidiniques | Pyrrolizidine<br> | Acétyl-lycopsamine, Europine, Mételoidine |
| <b>L- triptophane</b><br>       | Alcaloïdes indoliques        | Indole<br>       | Pcilocine, Triptamine, Arundacine,        |
|                                                                                                                   | Alcaloïdes quinoléiniques    | Quinoléine<br>  | Quinine, Chloroquinine, Quinidine,        |
| <b>Acide anthranilique</b><br> | Alcaloïdes quinazoliniques   | Quinazoline<br> | Péganine                                  |
|                                                                                                                   | Alcaloïdes acridoniques      | Acridine<br>    | Acronycine, Rutacridone                   |
| <b>Acide nicotinique</b><br>   | Alcaloïdes pyridiniques      | Pyridine<br>    | Nicotine, Cassinine, Anabesine, Evoline   |

**II. 3. 2. 2. Les pseudo-alcaloïdes** qui sont des métabolites présentant les caractéristiques des alcaloïdes vrais, excepté leur origine biosynthétique. Dans la majorité des

cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate [267].

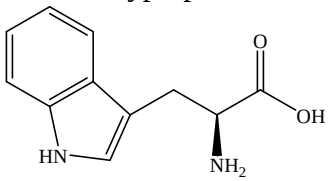
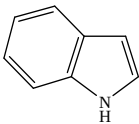
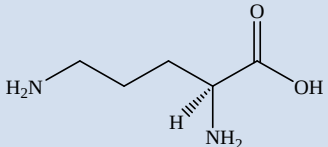
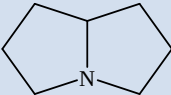
Tableau .II. 2. Quelques exemples des pseudo-alcaloïdes

| Précurseur          | Groupe d'alcaloïdes          | Noyau caractéristique | Exemples                                    |
|---------------------|------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------|
| Acétate<br>         | Alcaloïdes pipéridiniques    | Pipéridine<br>        | Coniline, Conicéine, Pinidine               |
|                     | Alcaloïdes sesquiterpéniques | Sesquiterpène         | Cassinine, Evonine, Maymysine, Wilforine    |
| Acide férulique<br> | Alcaloïdes aromatiques       | Hényle<br>            | Capsaïcine                                  |
| Acide pyruvique<br> | Alcaloïdes de l'Ephédra      | Phényle C             | Cathine, Cathinone, Ephédrine, Noréphédrine |
| Géraniol<br>        | Alcaloïdes terpéniques       | Terpénoïdes           | Aconine, Aconitine, Gentianine              |
| Saponines           | Alcaloïdes Stéroïdiques      |                       | Cholestane, Cnessine, Solanidine            |

**II. 3. 2. 3. Les proto-alcaloïdes** qui sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ont une réaction basique et sont élaboré *in vivo* à partir d'acides aminés [267].

Tableau .II. 3. Quelques exemples des proto-alcaloïdes

| Précurseur      | Groupe d'alcaloïdes          | Noyau caractéristique | Exemples                                       |
|-----------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------------------------|
| L- tyrosine<br> | Alcaloïdes phényléthylaminés | Phényléthylamine<br>  | Adrénaline, Dopamine, Noradrénaline, Hordenine |

|                                                                                                            |                                     |                                                                                                            |                                           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>L- tryptophane</b><br> | <b>Alcaloïdes indoloterpéniques</b> | <b>Indole</b><br>        | <b>Yohimbine</b>                          |
| <b>L- ornithine</b><br>   | <b>Alcaloïdes pyrrolizidinique</b>  | <b>Pyrrolizidine</b><br> | <b>4-hydroxy-stachydrine, Stachydrine</b> |

En pratique, il est admis 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 arylalkylamines [265].

## II. 4. Nomenclature

Les noms des alcaloïdes ne sont pas codifiés par une nomenclature officielle. En règle générale, le nom dérive de la plante dont l'alcaloïde a été extrait (Ex : la cocaïne est extraite de la *coca*). On trouve aussi des noms dérivant de la personne qui a découvert la plante (Ex : La spégazzine extraite de *l'aspidosperma chakensis* par Spegazzini). En français et en anglais, le suffixe "-ine" est utilisé le plus communément, mais plusieurs alcaloïdes peuvent être isolés d'une même plante, c'est pourquoi on peut trouver d'autres suffixes comme "-idine", "-anine", "-aline" ou "-inine". Pour les alcaloïdes dérivés du règne animal ou des champignons, le même type de "règles" est appliqué [264].

## II. 5. Distribution

Pendant longtemps, les alcaloïdes ont été considérés comme des produits du métabolisme des seuls végétaux. En fait, les structures alcaloïdiques existent également chez les animaux. Certains alcaloïdes existent dans plusieurs genres appartenant à des familles différentes, parfois très éloignées taxonomiquement comme pour le cas de la caféine retrouvée dans le café (*Rubiaceae*), le thé (*Ternstroemiaceae*), le kolatier (*Sterculiaceae*), le maté (*Aquifoliaceae*), le guarana (*Sapindaceae*) [268].

Parmi les 400.000 espèces d'Angiospermes recensées, 10 à 15% synthétisent des alcaloïdes. D'autres sont caractéristiques d'un nombre limité de genres à l'intérieur d'une famille (hyoscyamine - famille des *Solanaceae*) ou d'un groupe d'espèces à l'intérieur d'un genre (thébaïne – genre *Papaver*) ; certains sont étroitement spécifiques (morphine de *Papaver somniferum* Linné) [268].

La teneur en alcaloïdes varie dans de larges limites : de quelques ppm comme dans le cas des alcaloïdes antitumoraux de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus* Linné), à plus de 15% pour les écorces de tronc du quinquina (*Cinchona ledgeriana* Moens).

Les plantes à alcaloïdes ne renferment que très rarement un seul alcaloïde, elles livrent, le plus souvent, un mélange complexe, éventuellement dominé par un composé majoritaire. Il n'est pas rare que plusieurs dizaines d'alcaloïdes soient présents dans une même plante [268] (Tableau.II. 4).

**Tableau. II. 4 Répartition des alcaloïdes dans le règne végétal**

| Règne végétal       | Alcaloïdes                                                                                                                                                                                                                                           |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6% Bactéries        | Pyocyanine de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                                                                                                                                                                                                          |
| Champignons         | Psilocine des champignons hallucinogènes<br>Ergoline des <i>Claviceps</i><br>Amanitine des <i>Amanites</i>                                                                                                                                           |
| Ptéridophytes       | Alcaloïdes des <i>Lycopodiaceae</i>                                                                                                                                                                                                                  |
| Gymnospermes        | Alcaloïdes de <i>Cephalotaxus</i>                                                                                                                                                                                                                    |
| 16% Monocotylédones | <i>Amaryllidaceae</i><br><i>Colchicaceae</i>                                                                                                                                                                                                         |
| 78% Dicotylédones   | <i>Annonaceae</i> , <i>Apocynaceae</i> , <i>Lauraceae</i> ,<br><i>Loganiaceae</i> , <i>Magnoliaceae</i> , <i>Menispermaceae</i> ,<br><i>Papaveraceae</i> , <i>Ranunculaceae</i> , <i>Rubiaceae</i> , <i>Rutaceae</i> ,<br><i>Solanaceae</i> , etc... |

Dans certains cas, ce sont des produits formés à partir des alcaloïdes contenus dans les végétaux inclus dans la ration alimentaire de l'animal, tels que :

- la castoramine issue de la métabolisation des alcaloïdes des nénuphars que consomme le castor ;
- les alcaloïdes pyrrolizidiniques présents chez certains papillons.

Dans d'autres cas, les alcaloïdes isolés semblent être des produits du métabolisme de l'animal : c'est en particulier le cas chez des Amphibiens (salamandres, crapauds.), Arthropodes, Hyménoptères, Coléoptères, Neuroptères, Myriapodes...ect [268].

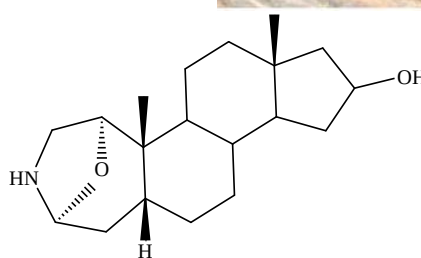
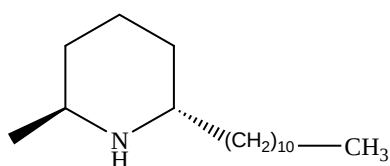
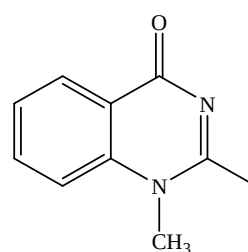
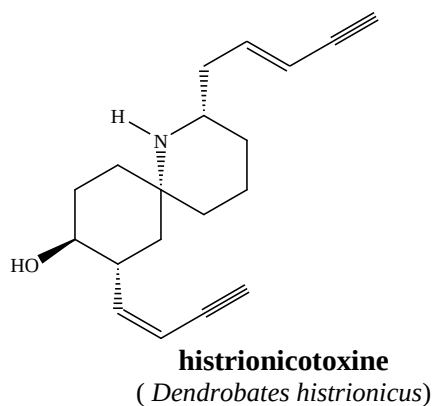


Figure .II. 2. Exemple d'alcaloïdes issus du métabolisme animal [268]

## II. 6. Localisation

Pour une plante donnée, la teneur en alcaloïdes peut être très inégale selon les organes, certains pouvant en être dépourvus. Les alcaloïdes sont retrouvés sous forme solubles, sels (citrate, malate, tartrate, méconate, isobutyrate, benzoate) ou sous forme complexée avec des tanins [265].

Ils sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques : assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graines, etc. La basicité et les actions antimétabolites de la plupart de ces molécules imposent leur compartimentation : elles sont normalement stockées dans les vacuoles cellulaires, que ces dernières s'effectuent au niveau de sites précis (laticifères) ou non. Le plus souvent, la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage [269].

## II. 7. Biosynthèse

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques unique [270].

Rappelons que les alcaloïdes vrais dérivent d'acides aminés (Tableau.II.1) : ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane, histidine, acide anthranilique. [271]. La formation de l'alcaloïde peut nécessiter l'intervention d'une seule molécule d'acide aminé (hygrine), de deux molécules de même acide aminé (quinolizidines), plus rarement de deux acides aminés différents (tubulosine) ou de plusieurs molécules du même acide aminé (spartéine). Quand la molécule comporte des carbones supplémentaires, ils sont apportés par des éléments largement impliqués dans d'autres métabolismes : acétate (tropane), diméthylallylpyrophosphate (ergolines, furoquinoléines) ou plus spécifiques à un groupe particulier de végétaux comme le sécologanoside (alcaloïdes indolomonoterpéniques) (Figure .II. 3.) [272].

Les réactions d'oxydation, d'alkylation, d'estérification, d'éthérifications, etc., justifient la diversité structurale des alcaloïdes. Dans le cas particulier des alcaloïdes terpéniques, les

précurseurs ont une origine strictement terpénique et l'animation de la molécule est tardive [265].

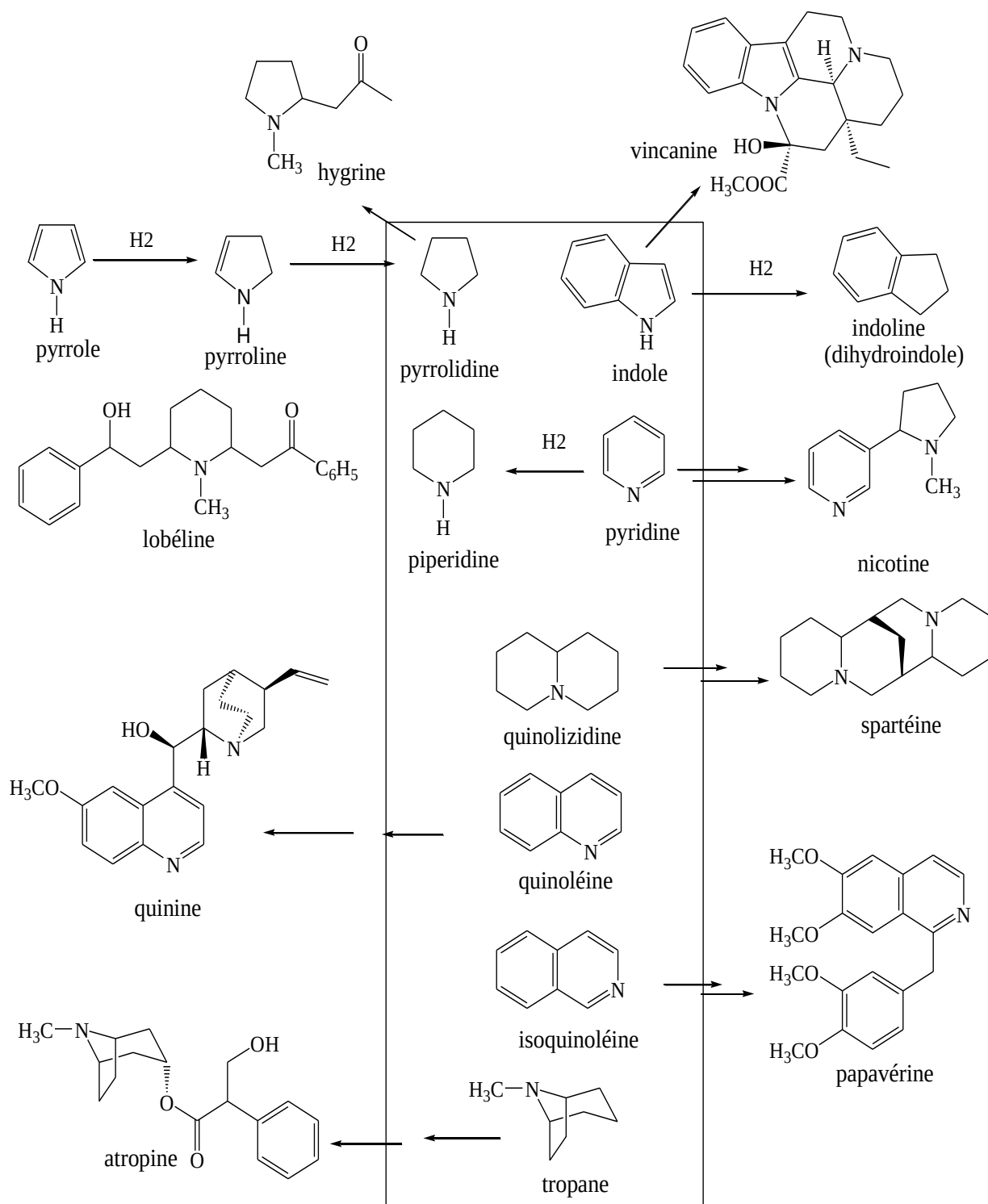
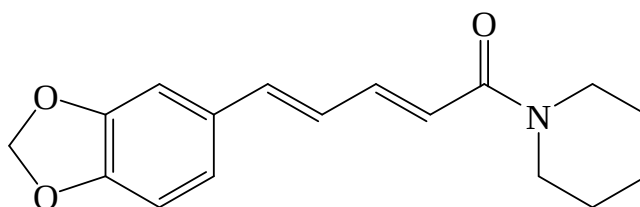


Figure .II. 3. Biosynthèse des alcaloïdes [271]

## II. 8. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

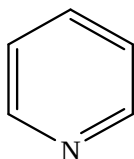
Les alcaloïdes sont des substances azotées ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire (nicotine, sparténite, coniine) ; celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont normalement des solides cristallisables, rarement colorés. Ces derniers dévient la lumière polarisée et ont des points de fusion nets, sans décomposition et surtout au dessous de 200°C. En règle générale, les alcaloïdes bases sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, solubles dans les alcools de titre élevé [265].

La basicité des alcaloïdes est très variable, étroitement fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote. Des groupements électro-attracteurs adjacents à l'atome d'azote diminuent la basicité, tandis que les groupements électro-donneurs la renforcent. La pipérine est, du fait de l'existence du carbonyle de l'amide, pratiquement neutre [265].

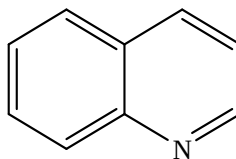


**Pipérine**

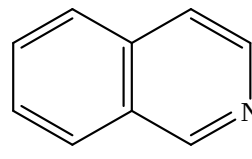
Le système hétérocyclique peut lui-même être de basicité variable : chez la Pyridine à 6 six électrons  $\pi$  ainsi que chez la quinoléine et l'isoquinoléine où le doublet de l'azote est disponible, le caractère basique est affirmé.



**Pyridine**

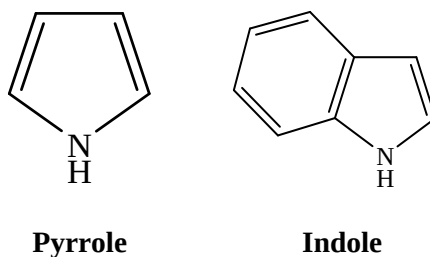


**Quinoléine**



**Isoquinoléine**

Dans le cas du pyrrole et de l'indole où le doublet de l'azote participe à l'aromaticité, la basicité est nulle.



La pyrrolidine, l'hétérocycle est insaturé, quand- à elle une base relativement forte.

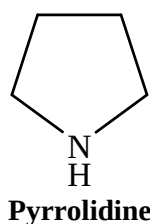


**Figure .II.4. Structure d'alcaloïdes**

La basicité est également influencée par des contraintes stériques (au moins dans les molécules polycycliques complexes). La basicité peut être également un facteur d'instabilité pour ces molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène [265].

La basicité des alcaloïdes permet de former des sels avec des acides minéraux (chlorures, sulfates, nitrates) ou organiques (tartrates, sulfamates, maléates). Les sels d'alcaloïdes sont généralement solubles dans l'eau et les alcools dilués, ils sont, sauf rares exceptions, insoluble dans les solvants organiques. Les sels cristallisés se conservant plutôt bien, ils constituent la forme commerciale habituelle pour des molécules [265].

## **II. 10. Intérêts des alcaloïdes**

### **II. 10. 1. Rôles dans les plantes**

Le rôle des alcaloïdes dans les plantes est souvent inconnu, et leur importance dans le métabolisme de la plante n'est pas très bien définie [266]. Une plante peut contenir plus de cent alcaloïdes différents, mais en général leur concentration ne représente pas plus de 10%

du poids sec. L'existence de plantes ne contenant pas d'alcaloïdes démontre que ces composés ne sont apparemment pas essentiels à leur reproduction. Pourtant, plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent, par conséquent, un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et des micro-organismes [266,273, 274-276]. La nicotine empêche la croissance des larves du tabac. Le composé pur est également appliqué comme insecticide efficace dans des serres [273].

En outre, des alcaloïdes protègent les plantes contre les dommages provoqués par la lumière UV. Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres fragments nécessaires au développement de la plante [266, 273]. Parfois, ils n'ont pas de rôle précis et sont simplement des sous-produits du métabolisme végétal.

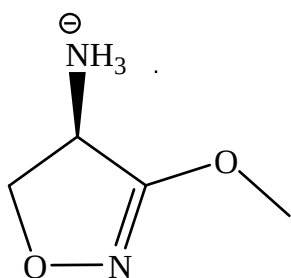
### II. 10. 2. Intérêts pharmacologique

Les alcaloïdes sont recherchés pour leurs effets physiologiques constituant ainsi des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés [277] :

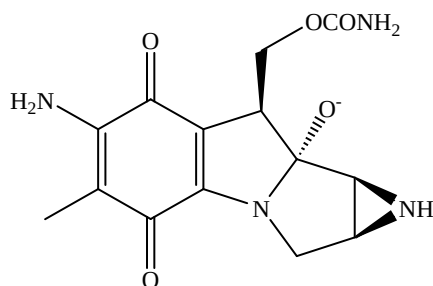
- les alcaloïdes qui agissent au niveau du système nerveux central sont soit des déprimeurs (morphine, scopolamine) ou stimulants strychnine, caféine) ;
- les alcaloïdes qui interviennent au niveau du système nerveux autonome sont sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques (yohimbine), parasympathomimétiques (ésérine, pilocarpine), anticholinergiques (atropine, hyoscyamine), ganglioplégiques (spartéine, nicotine).

Il est important de préciser l'existence des alcaloïdes utilisés dans d'autres domaines comme curarisants d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antifibrillants (quinidine), d'antitumoraux (vinblastine, ellipticine), d'antimalariques (quinine) et d'amœbicides (émétine) [277].

Les alcaloïdes jouent aussi le rôle d'antibiotique comme la cyclosérine, la mytomycine.



Cyclosérine

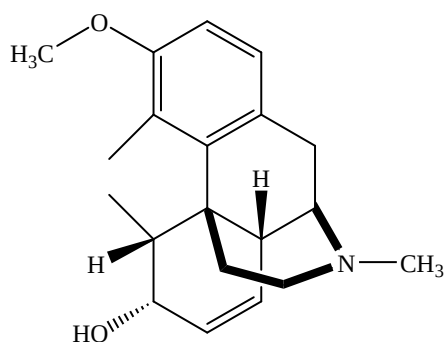


Mytomycine

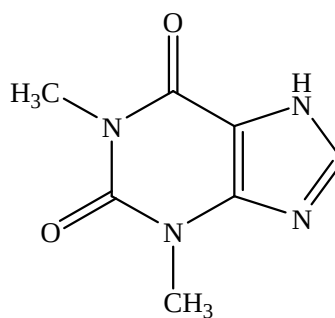
Ces différentes propriétés confèrent aux plantes alcaloïdiques une place de choix dans la pharmacopée tant traditionnelle que moderne compte tenu d'un panel d'activités thérapeutiques. Bien que certaines drogues à alcaloïdes soient synthétisées industriellement (préparations galéniques) comme la belladone, la stramoine ou la jusquiame noire, il n'en résulte que beaucoup ne sont que des matières premières pour l'extraction industrielle des alcaloïdes qu'elles renferment telles que la morphine de la paille de pavot ou de l'opium, la vincamine des feuilles de pervenche de Madagascar, la quinine des écorces de quinquina,...ect [278].

De ces alcaloïdes extraits une faible partie peut être transformée : la codéine est obtenue par méthylation de la morphine, la quinine est convertible en quinidine.

Rarement l'industrie produit directement des alcaloïdes par synthèse tels que la théophylline et la papavérine [278].



Codéine



Théophylline

## II. 11. Structure et activités biologiques de quelques alcaloïdes

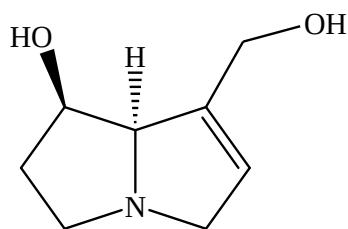
Les alcaloïdes constituent une classe de produits naturels présentant une grande diversité structurale. Leurs propriétés biologiques, aussi variées que leurs structures, continuent à être bénéfiques dans les traitements de différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain.

Afin de donner un aperçu des différentes structures, nous présenterons ici un bref descriptif de quelques alcaloïdes les plus connus et cliniquement intéressants [265].

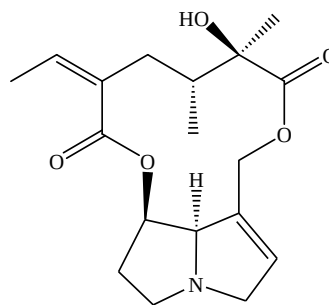
### II. 11. 1. Alcaloïdes dérivés de l'ornithine

Dans ce groupe, les pyrrolizidines et les tropanes sont les plus importants. Les pyrrolizidines, très répandues dans la nature, sont présentes dans les plantes qui font partie des familles botaniques *Asteracea*, *Boraginaceae*, *Fabaceae* et *Orchidaceae* [279, 280]. Très toxiques (souvent hépatotoxiques), ces alcaloïdes ont déjà provoqué des empoisonnements de masse chez les humains et les animaux au milieu du siècle dernier [281].

Parmi les pyrrolizidines naturelles, la rétronécine et la sénécionine (isolées des plantes de l'espèce *Senecio* et *Heliotropium*) sont les plus connues.

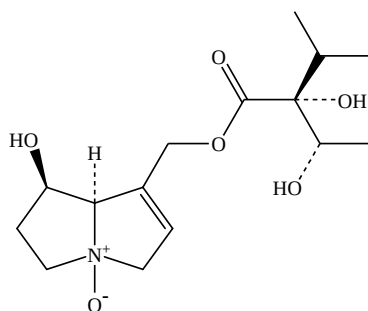


Rétronécine



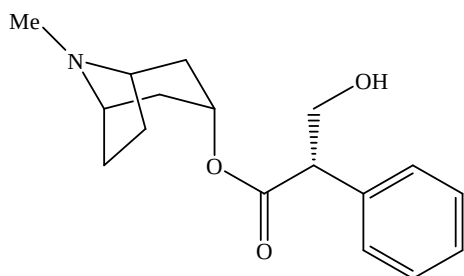
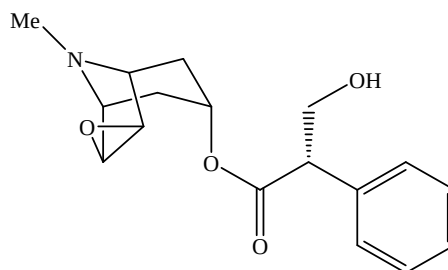
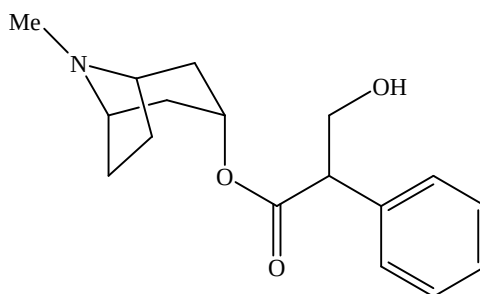
Sénécionine

Les pyrrolizidines peuvent être isolées sous la forme de base tertiaire ou sous la forme de *N*-oxide. Mais c'est majoritairement sous cette seconde forme qu'elles sont présentes dans les plantes. On peut citer comme exemple l'indicine *N*-oxide, isolée d'*Heliotropium indicum*, qui s'est révélé être un agent antitumoral et antileucémique [261, 282] et fait objet d'une étude clinique à l'Institut National du Cancer aux Etats-Unis.

**Indicine N-oxide**

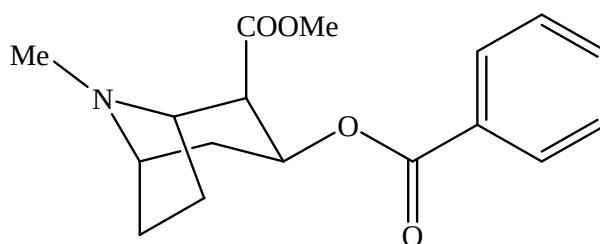
Dans la famille des tropanes, la (-)- hyoscyamine et la (-) - hyoscine (ou scopolamine) sont parmi les alcaloïdes les plus utilisés dans le domaine médical. Ils sont présents dans les plantes de l'espèce *Atropa belladonna*, *Hyoscyamus niger* et *Mandragora officinarum*.

L'hyoscyamine n'est pas très stable, et se racémise facilement au cours de l'isolement pour conduire à l'atropine. Ces alcaloïdes ont des propriétés antispasmodiques dans le système gastrointestinal et également des propriétés antisécrétrices (utiles au cours des interventions chirurgicales). L'atropine est largement utilisée dans le domaine de l'ophtalmologie en tant qu'agent mydriatique (pour dilater la pupille [266, 282]).

**(-) - Hyoscyamine****(-) – Hyoscine****Atropine**

La cocaïne est un alcaloïde peu abondant présent dans les plantes de l'espèce *Erythroxylum*. La source la plus importante de ce composé est l'*Erythroxylum coca*, utilisé depuis l'antiquité comme anesthésique local. Elle a été beaucoup utilisée dans le domaine de

l'odontologie, mais aujourd'hui, en raison de ses propriétés neurotoxiques elle a été remplacée par d'autres drogues moins toxiques. Au cours des interventions chirurgicales des yeux, de l'appareil auditif, du nez et de la gorge, la cocaïne est encore largement utilisée. Associée à l'héroïne, elle est également efficace pour soulager la douleur chez les patients atteints d'un cancer, en phase terminale [266].

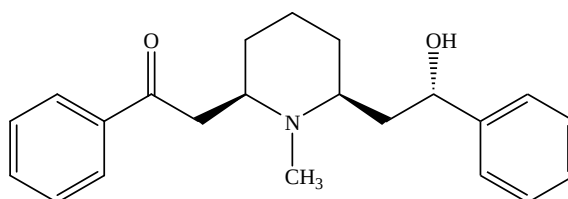


**Cocaïne**

### II. 11. 2. Alcaloïdes dérivés de la lysine

Dans ce groupe nous trouvons les composés pipéridiniques, quinolizidiniques et indolizidiniques.

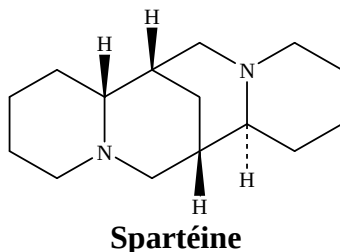
La lobéline, extraite de la *Lobelia inflata*, est utilisée dans les préparations pour lutter contre le tabagisme [283]. L'extrait brut de la plante est largement employé dans le traitement de l'asthme et de la bronchite [284].



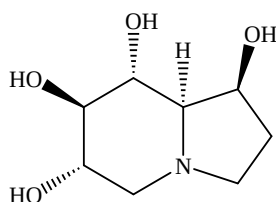
**Lobéline**

Les quinolizidines se rencontrent principalement dans les plantes appartenant aux familles de *Leguminosae* et *Fabaceae*. Ces alcaloïdes ont une action répulsive contre les herbivores et ils sont également connus pour provoquer des problèmes d'empoisonnement chez l'homme.

La spartéine, isolée de *Cytisus scoparius*, est très toxique mais le sel de sulfate correspondant est utilisé en médecine comme agent stimulant du rythme cardiaque [285]. Elle est également utilisée pour provoquer la contraction de l'utérus au cours de l'accouchement [286, 287].



Les alcaloïdes indolizidiniques sont également présents dans les plantes de la famille des *Leguminosae* et *Fabaceae*. Parmi ces composés, les indolizidines polyhydroxylées sont dotées de propriétés biologiques intéressantes. La castanospermine (isolée de *Castanospermum australe*) et ses dérivés présentent un intérêt particulier en raison de leur action contre le virus du SIDA (HIV) [288].



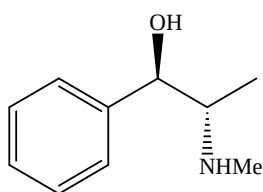
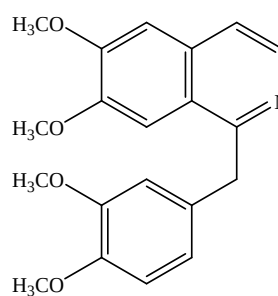
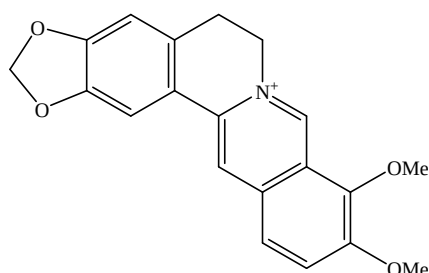
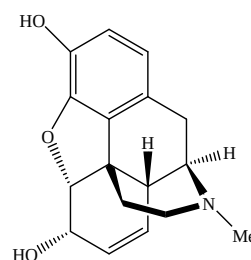
**Castanospermine**

### II. 11. 3. Alcaloïdes dérivés de la tyrosine et de la phénylalanine

Les principales classes d'alcaloïdes de ce groupe sont des composés monocycliques simples comme :

- L'éphédrine, isolée d'*Ephedra sinica*, elle est utilisée avec succès dans le traitement de l'asthme bronchique et également comme médicament analgésique et anti-allergique [266, 282].

- Les isoquinoléines tell que la papavérine, isolée de *Papaver somniferum*, a une activité vasodilatatrice et des propriétés hypnotiques et analgésiques [276].
- La berbérine, isolée de *Berberis vulgaris*, a des propriétés anti-inflammatoires [289] et antimicrobiennes [290].
- les benzyltétrahydroisoquinoléines modifiées telles La très renommée morphine, isolée de la plante de la famille des opiacées, le *Papaver somniferum*, reste encore à ce jour un des analgésiques les plus efficaces utilisés en médecine [261, 266, 282].

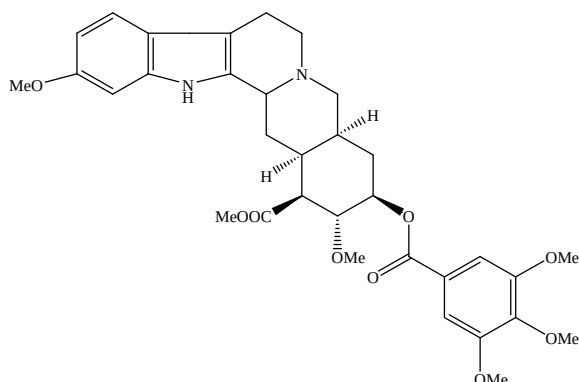
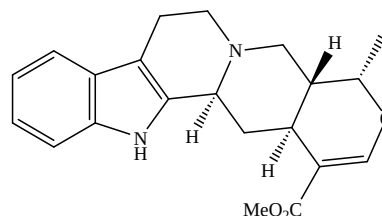
**Éphédrine****Papavérine****Berbérine****Morphine**

#### II. 11. 4. Alcaloïdes dérivés du tryptophane

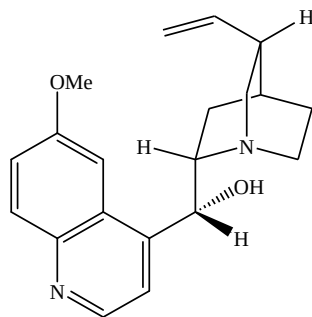
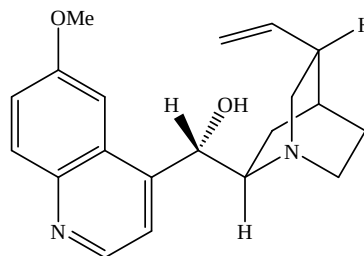
Nous retrouvons ici les alcaloïdes indoliques, quelques structures quinoléiniques, les pyrroloindoles et les alcaloïdes de l'ergot.

Parmi les indoles, ceux qui présentent une structure terpénoïde sont les plus répandus et également les plus complexes d'un point de vue structural. Les plantes des familles botaniques *Rubiaceae*, *Apocynaceae* et *Logoniaceae* sont des sources riches en alcaloïdes de ce type.

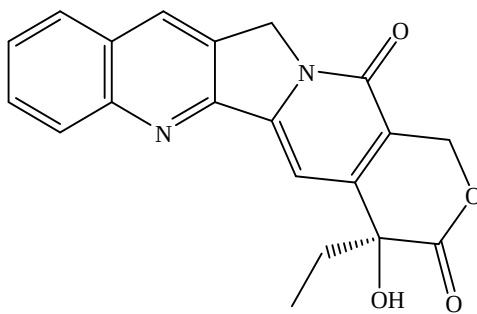
La réserpine et l'ajmalicine, rencontrées dans les plantes de l'espèce *Rauwolfia*, sont toutes les deux efficaces dans le traitement de l'hypertension [266, 282].

**Résérpine****Ajmalicine**

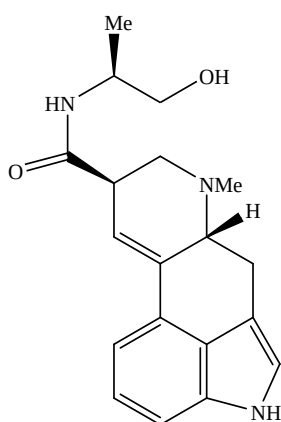
Certains alcaloïdes quinoléiniques proviennent du réarrangement d'une structure indolique initiale. La quinine, la quinidine, isolées des plantes de la famille des *Rubiaceae*, sont les exemples les plus classiques. Elles sont toutes actives contre le *Plasmodium falciparum*, l'agent responsable de la malaria, mais la quinine reste la plus efficace. Cette dernière est également utile dans la prévention et dans les traitements de la crampe nocturne de la jambe [266, 282].

**(-) - Quinine****(+) - Quinidine**

La camptothécine, présentant une structure pyrroloquinoléinique, est également issue du réarrangement d'un motif pyridoindole. Ce composé pentacyclique est également très populaire en chimiothérapie anticancéreuse [282, 291, 292].

**Camptothécine**

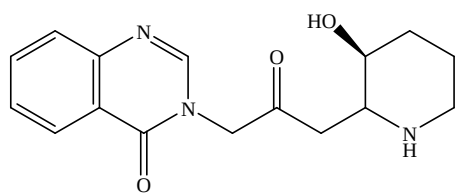
Nous devons mentionner ici les alcaloïdes de l'ergot, produits principalement par des champignons parasites (*Claviceps*) et qui possèdent un large spectre d'activité pharmacologique. Toutefois, leurs nombreuses vertus médicales s'accompagnent souvent d'effets secondaires dangereux. L'ergométrine est très renommé. En obstétrique, il est employé depuis fort longtemps pour son action sur le muscle utérin. Par son action vasoconstrictrice, il agit sur le rythme cardiaque, la circulation sanguine (traitement de l'hypertension), le système nerveux et le cerveau [266, 282].

**Ergométrine**

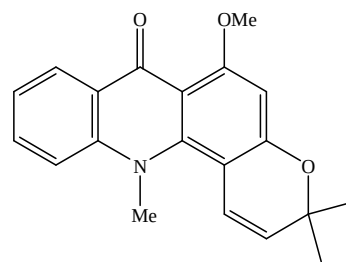
### II. 11. 5. Alcaloïdes dérivés de l'acide anthranilique

L'acide anthranilique contribue à l'élaboration de quinazolines, de quinoléines et également d'acridines. Pour donner quelques exemples dans ce groupe, nous pouvons citer la fébrifugine isolée de *Dichroa febrifuga*, et l'acronycine isolée d'*Acronychia baueri*. La première présente d'excellentes propriétés antipyrétiques et antiparasitaires [293, 294] tandis

que la deuxième présente une activité antitumorale remarquable sur différents modèles de tumeurs humaines du poumon, du colon et des ovaires [295, 296].



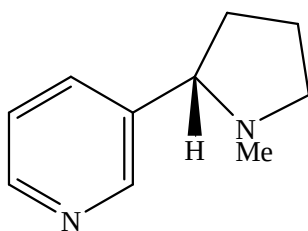
Febrifugine



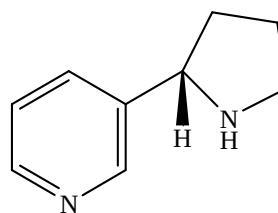
Acronycine

### II. 11. 6. Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique

Les composés de cette série comportent une structure pyridine centrale et se trouvent principalement dans les feuilles du tabac. Les représentants majeurs sont la nicotine qui présente un motif pyrrolidine, et l'anabasine qui présente un motif pipéridine. On trouve quelques utilisations bénéfiques de la nicotine en tant que stimulant respiratoire ou encore comme agent aidant le processus de sevrage tabagique. Des études plus récentes ont montré que la nicotine pouvait améliorer la mémoire, en stimulant la transmission d'impulsions nerveuses. Cela peut d'ailleurs expliquer la faible incidence de la maladie d'Alzheimer chez les fumeurs [266, 282].



Nicotine

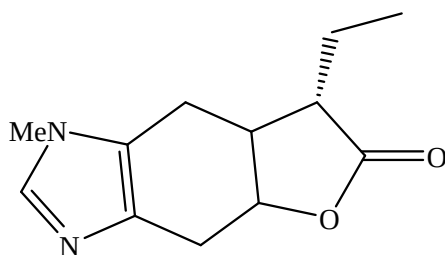


Anabasine

### II. 11. 7. Alcaloïdes dérivés de l'histidine

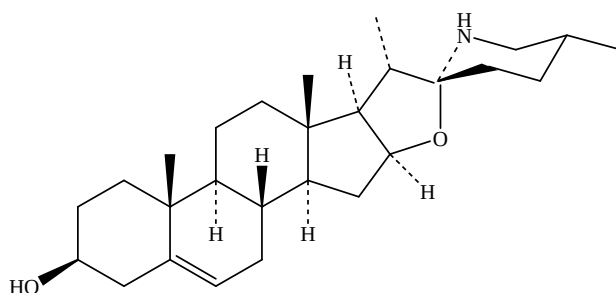
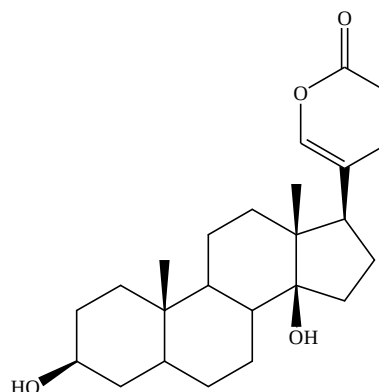
L'histidine comporte un motif imidazole et il est donc probable que cet aminoacide soit le précurseur des imidazoles naturels. Mais peu d'évidences confirment de façon définitive cette hypothèse.

Un composé de ce groupe, important dans le domaine médical, est la pilocarpine, utilisée en ophtalmologie dans le traitement du glaucome [282].

**Pilocarpine**

### II. 11. 8. Alcaloïdes produits à partir de réactions d'amination

Les alcaloïdes terpéniques et les alcaloïdes stéroïdiens entrent dans cette catégorie. La solasodine isolée de *Solanum laciniatum*, et la bufaline isolée d'une grenouille, sont intéressants d'un point de vue pharmacologique, en raison de leurs propriétés anticancéreuses. Tandis que la solasodine est utilisée dans le traitement de certains cancers de la peau [297], la bufaline est active contre la leucémie, les tumeurs hépatiques et le cancer de la prostate [298].

**Solasodine****Bufaline**

En conclusion, cette partie du chapitre II a montré d'une manière générale la grande diversité d'alcaloïdes que nous pouvons trouver dans la nature, mais surtout les propriétés pharmacologiques de quelques alcaloïdes utilisés en médecine au bénéfice des humains.



# *Chapitre* III

### III. 1. Etude phytochimique de l'espèce *Saccocalyx satureioides*

#### III. 1. 1. Extraction

La matière végétale (la partie aérienne), séchée et broyée pour donner 1,5 Kg de poudre fine, est macérée dans un mélange hydro-alcoolique : éthanol/eau ; (70:30; (v/v)) pendant 48 heures à température ambiante puis filtrée et concentrée sous pression réduite (cette opération a été répétée trois fois). La phase aqueuse obtenue a subi une extraction liquide-liquide par l'utilisation de différents solvants commençant par l'éther de pétrole suivi du chloroforme, acétate d'éthyle et enfin le *n*-butanol. Les phases organiques obtenues sont séchées avec du sulfate de sodium anhydre afin d'éliminer toutes traces d'eau ; Pui filtrées et concentrées à sec sous pression réduite et pesées, ce qui mène à l'obtention de 10,27 g d'extrait d'éther de pétrole, 20,76 g d'extrait chloroformique, 18,3 g d'extrait d'acétate d'éthyle et 30 g d'extrait *n*-butanolique.

Les différentes étapes de l'extraction de l'espèce *Saccocalyx satureioides* sont représentées dans le schéma ci-dessous (figure III. 1. 1. 1).

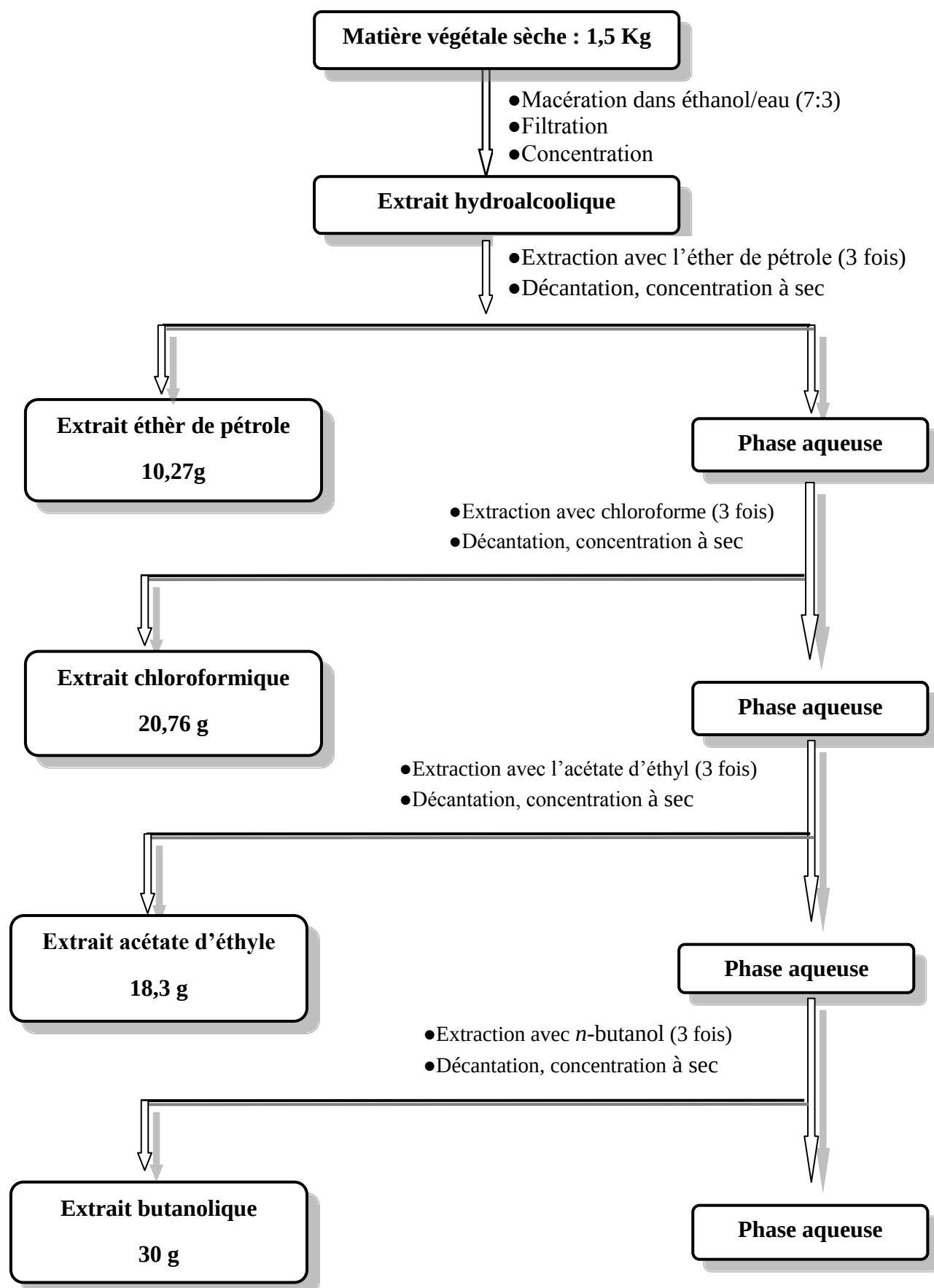


Figure III. 1. 1. Schéma de l'extraction des parties aériennes de l'espèce *S. satureioides*

### III. 1. 2. Séparation et purification

Pour l'ensemble des extraits, nous avons débuté le traitement par une chromatographie analytique sur couche mince pour mettre au point l'éluant ou le système d'élution qui donne les meilleurs résultats. Les analyses nous ont poussés à sélectionner l'extrait acétate d'éthyle à cause de sa richesse en produits.

La purification de ces composés a été faite grâce à l'utilisation de différentes techniques chromatographiques (VLC, CC, CCM) et l'usage de plusieurs phases stationnaires (gel de silice phase normale, polyamide et Sephadex), ainsi qu'une vaste gamme de solvants.

L'extrait acétate d'éthyle est soumis à des fractionnements successifs par différentes méthodes chromatographiques conduisant à l'isolement de plusieurs molécules pures. Un premier fractionnement de cet extrait de *Saccocalyx satureioides* a été réalisé par chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice en phase normale avec un gradient d'élution : éther de pétrole - acétate d'éthyle (100-0) à (0-100) puis acétate d'éthyle-méthanol (100-0) à (0-100), 32 fractions ont été collectées. L'analyse CCM de ces fractions sous une lampe UV aux longueurs d'onde 254 et 366 nm et la révélation à l'aide d'une solution acide puis chauffage à 100°C, permettent de regrouper cinq (05) fractions. Ces dernières sont soumises par la suite à des opérations de purification (figure III. 1. 2. 1.), conduisant à l'isolement de 09 composés naturels purs dont un nouveau (SS1).

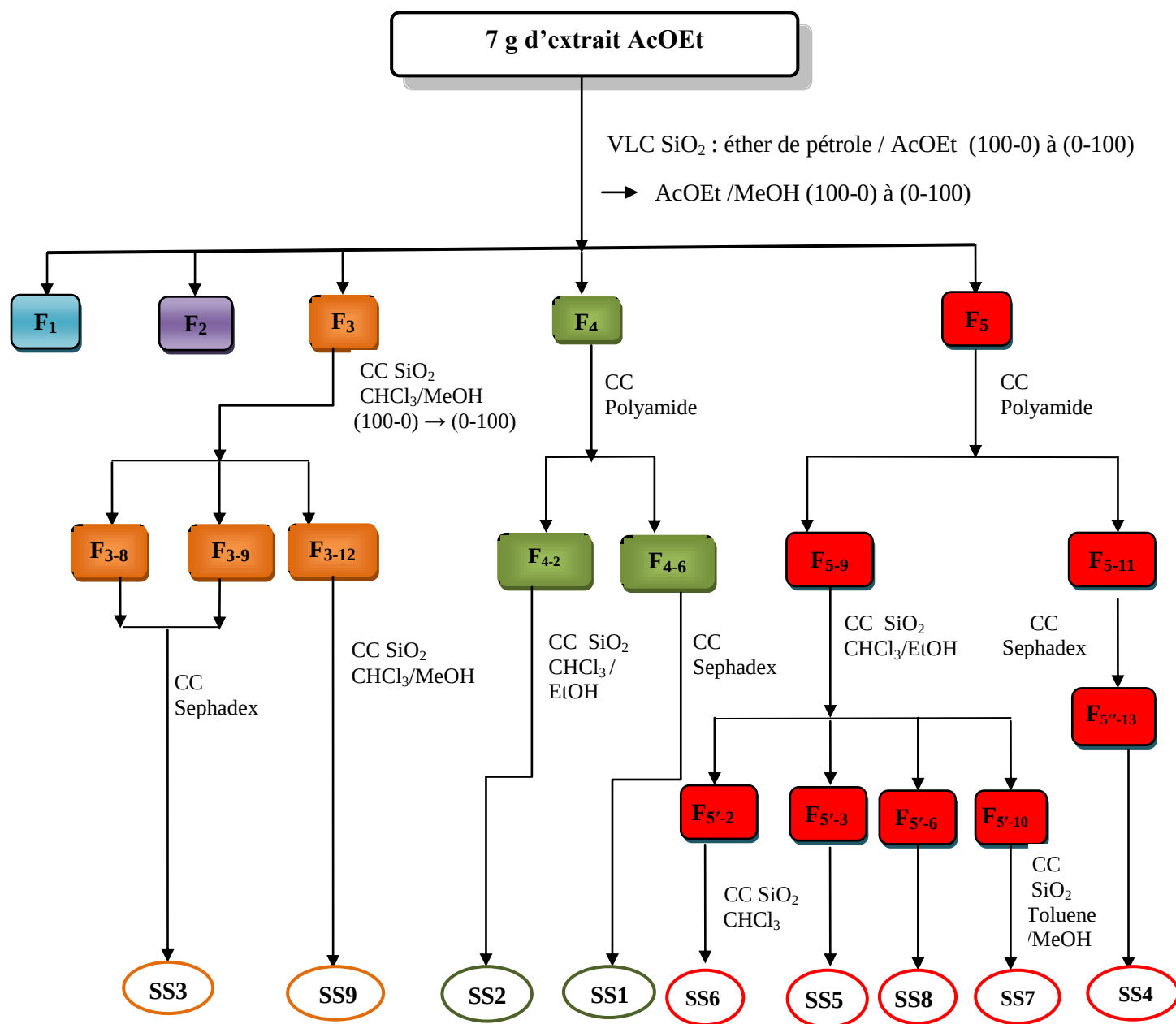
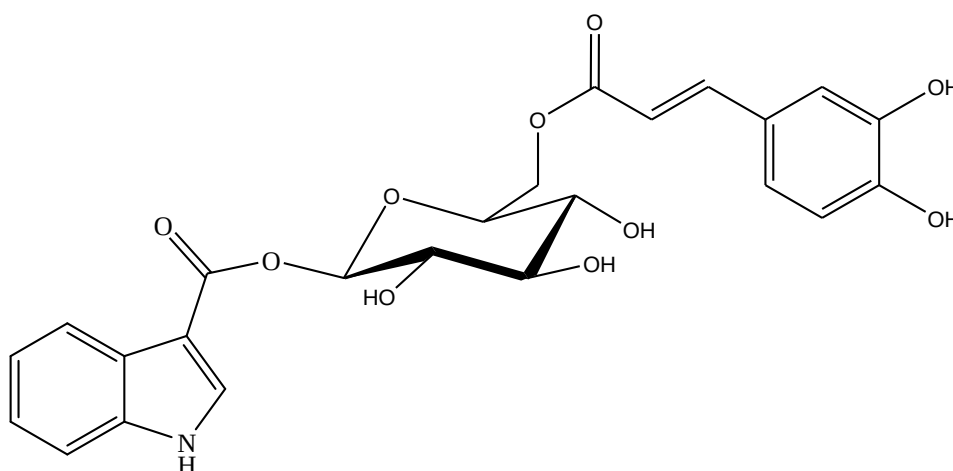


Figure III. 1. 2. 1. Séparation et purification de l'extrait AcOEt

### III. 1. 3. Identification structurale des composés isolés

La caractérisation structurale des composés isolés a été réalisée par les méthodes d'analyses spectroscopiques RMN 1D (RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ ), RMN 2D (HSQC, HMBC), spectrométrie de masse ESI-MS et par comparaison avec les données de la littérature.

### III. 1. 3. 1. Identification structurale du composé SS1



#### Acide indole-3-carboxylique-(6'-O-caffeoyl)-β-D-glucoside

Le composé **SS1** est obtenu sous forme d'une laque marron, visible à la lumière UV (254 et 366 nm). Il se colore en marron après révélation par une solution acide et chauffage à 100°C. Il s'agit d'un nouveau alcaloïde nommé : Acide indole-3-carboxylique-(6'-O-caffeoyl)-β-D-glucoside.

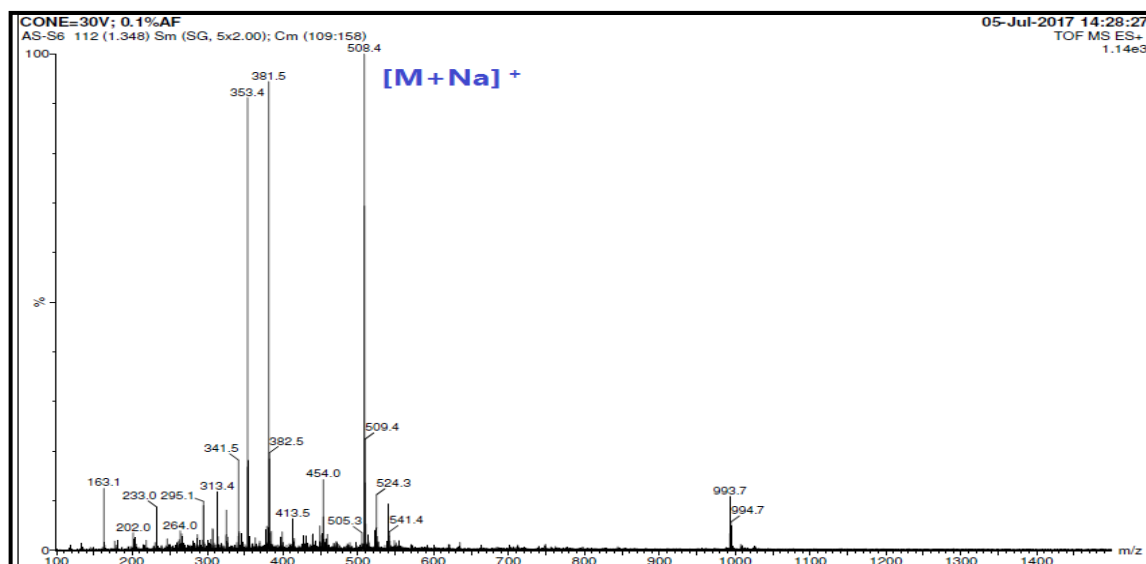


**Figure III. 1. 3. 1. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé SS1**

Le spectre de masse obtenu par ionisation électrospray ESI-MS de ce composé (figure III. 1. 3. 1. 1) conduit à la production d'ion chargé  $[M+Na]^+$  qui se traduit sur ce spectre par un pic d'ion pseudomoléculaire à  $m/z = 508,4$  permettant d'attribuer à ce composé une masse moléculaire impaire  $M = 485$  uma, indiquant un composé azoté correspondant à une formule

brute en  $C_{24}H_{23}O_{10}N$ , permet de compter 14 insaturation suggérant la présence au moins d'un groupement aromatique.

Le spectre RMN  $^1H$  (figure III. 1. 3. 1. 2) montre la présence de plusieurs signaux allant de 7,20 à 8,00 ppm, avec différentes constantes de couplage, ce qui confirme de plus la présence de groupement aromatique.

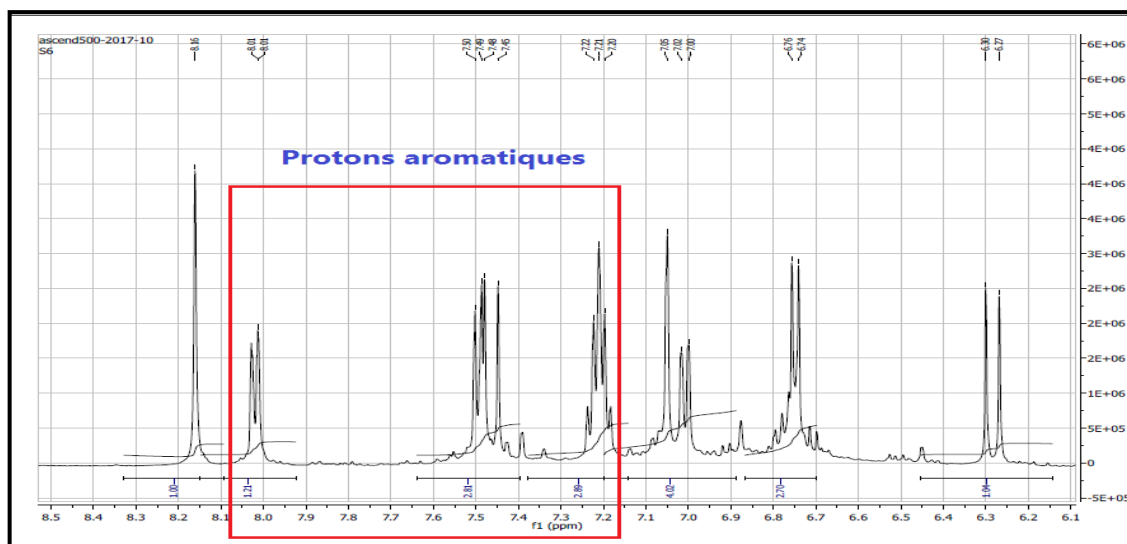


Figure III. 1. 3. 1. 2. Spectre RMN  $^1H$  de la partie aromatique du composé SS1

De même, le spectre RMN  $^{13}C$  (figure III. 1. 3. 1. 3) de ce composé montre une série de signaux d'absorption allant de 112 à 140 ppm attribués aux carbones aromatiques.

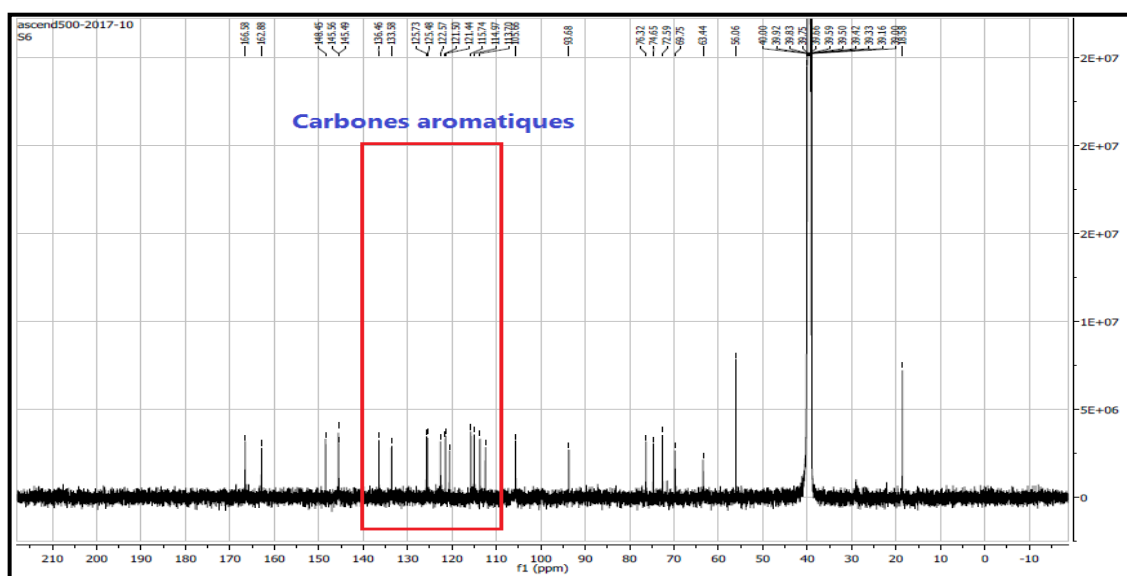


Figure III. 1. 3. 1. 3. Spectre RMN  $^{13}C$  de la partie aromatique du composé SS1

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 1. 4) montre la présence d'un signal correspond à un doublet résonant à  $\delta_{\text{H}}$  8,02 avec une constante de couplage  $J = 7,5$  Hz qui indique une corrélation avec un proton situé en position *ortho*.

De même pour le proton à  $\delta_{\text{H}}$  7,49 sous forme d'un doublet avec une constante de couplage  $J$  égale à 7,7 Hz indiquant un voisinage avec un proton en position *ortho*.

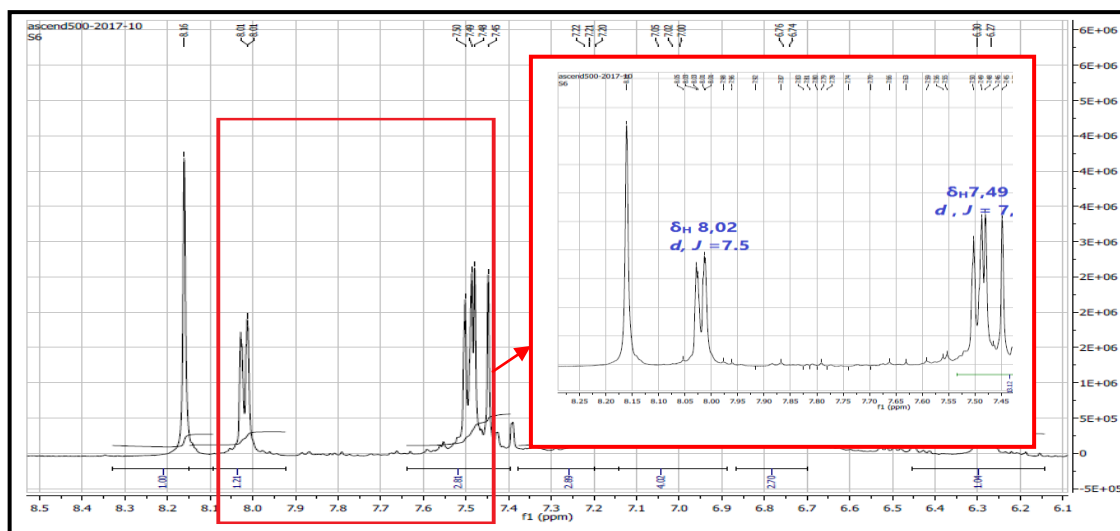


Figure III. 1. 3. 1. 4. Spectre RMN  $^1\text{H}$  des protons aromatiques du composé SS1

L'analyse du spectre HSQC (figure III. 1. 3. 1. 5) nous a permis d'identifier les carbones de ces deux protons (( $\delta_{\text{H}}$  8,02/ $\delta_{\text{C}}$  120,58), ( $\delta_{\text{H}}$  7,49/ $\delta_{\text{C}}$  112,46).

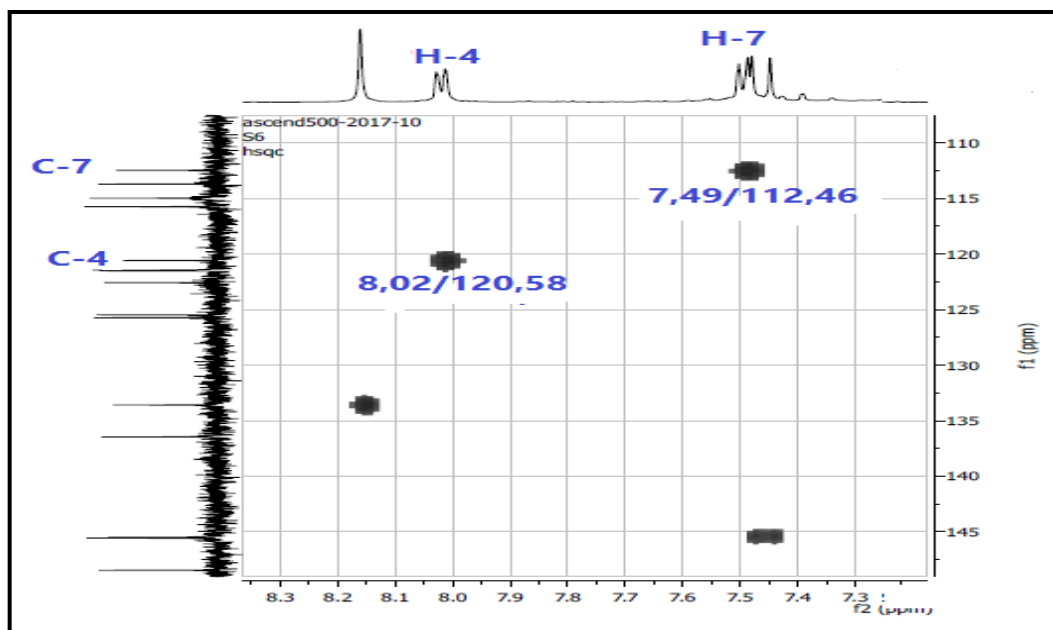


Figure III. 1. 3. 1. 5. Spectre HSQC des protons aromatiques du composé SS1

Le proton résonant à  $\delta_H$  8,02 présente des corrélations en  $^2J$  sur le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 1. 6) avec un carbone quaternaire résonant à  $\delta_C$  125,48 et carbone méthine sortant à  $\delta_C$  121,50. Ces deux carbones ne peuvent être que C-3a ( $\delta_C$  125,48) et C-5 ( $\delta_C$  121,50). Comme il montre des corrélations en  $^3J$  avec les deux carbones résonant à  $\delta_C$  122,57 et 136,46. Ces deux derniers sont identifiés comme étant C-6 ( $\delta_C$  122,57) et C-7a ( $\delta_C$  136,46).

Le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 1. 6) permet d'identifier un autre proton aromatique ( $\delta_H$  7,49) à partir des corrélations en  $^2J$  et  $^3J$  avec les carbones résonant à  $\delta_C$  121,50 (C-5),  $\delta_C$  122,57 (C-6) et  $\delta_C$  125,48 (C-3a).

A partir de ces données spectrales, ces deux protons sont identifiés comme étant H-4 ( $\delta_H$  8,02) et H-7 ( $\delta_H$  7,49).

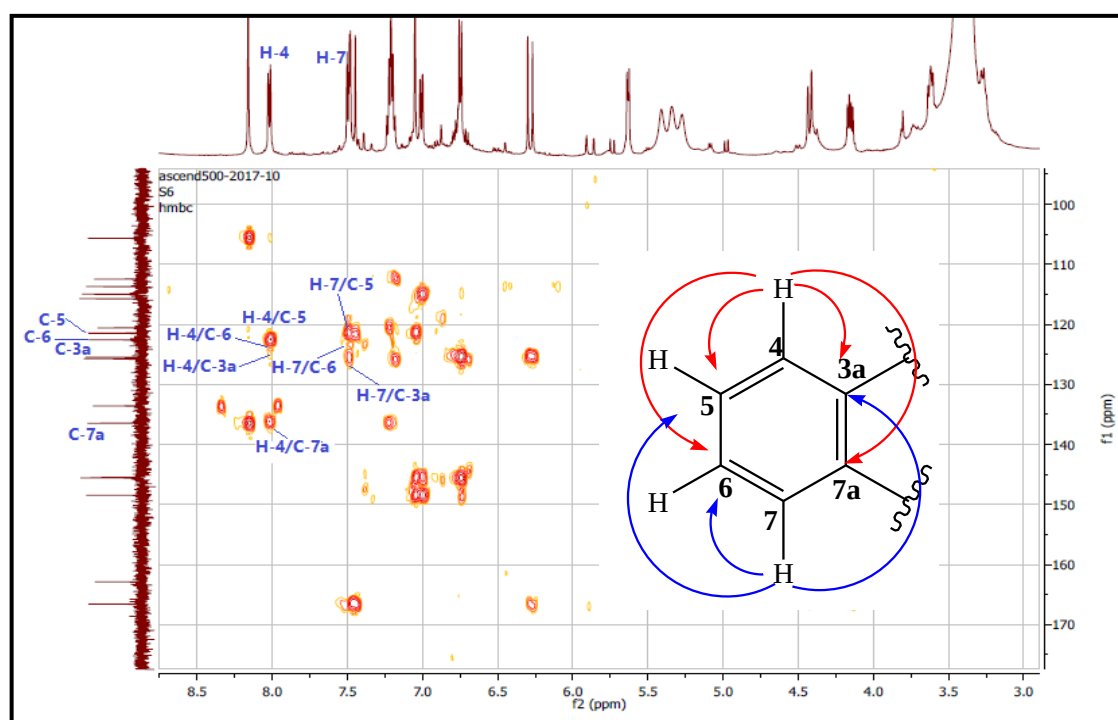


**Figure III. 1. 3. 1. 6. Spectre HMBC des protons aromatiques du composé SS1**

Les protons des groupements méthine (5-CH) et (6-CH) sont identifiés par les corrélations des carbones identifiés précédemment C-5 et C-6 sur le spectre HSQC (figure III. 1. 3. 1. 7) avec les protons sortant à  $\delta_H$  7,20 (5-H) et  $\delta_H$  7,22 (6-H).

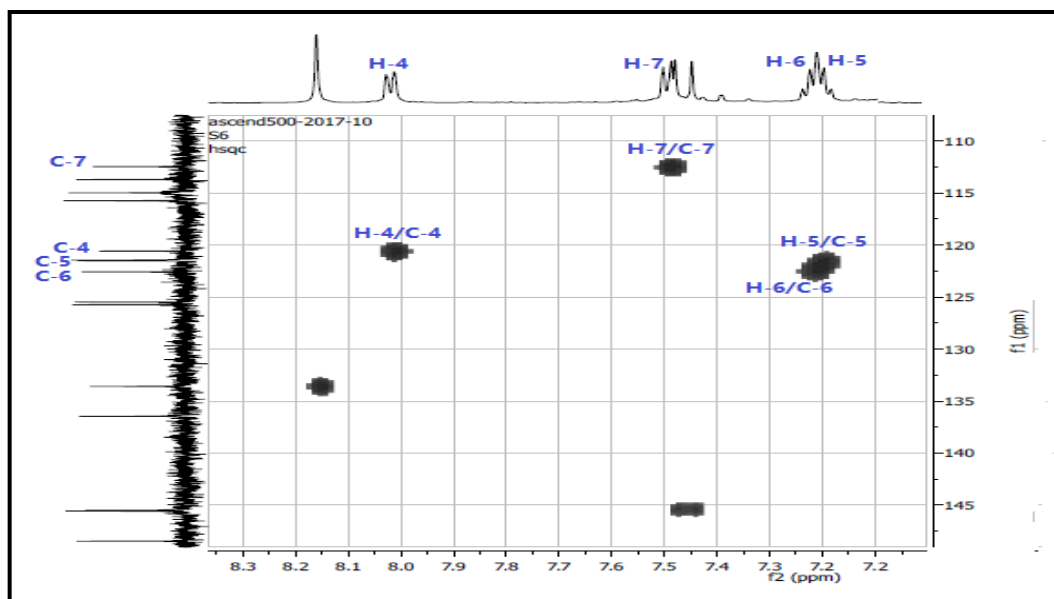


**Figure III. 1. 3. 1. 7. Spectre HSQC des protons aromatiques du composé SS1**

L'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 1. 8) révèle la présence d'un singulet sortant à  $\delta_{\text{H}}$  8,16, corrélant avec les deux carbones quaternaires C-3a et C-7a sur le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 1. 9).

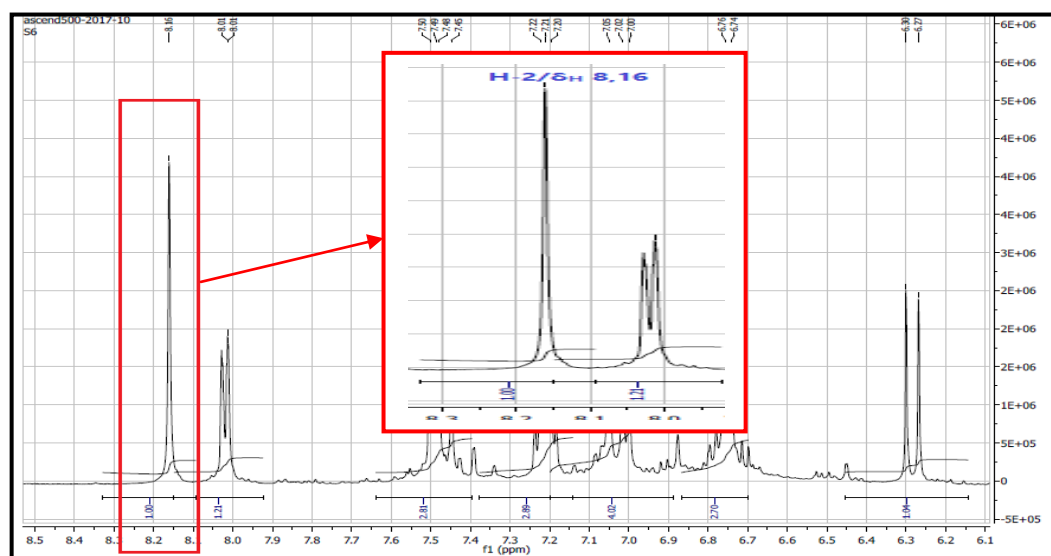


**Figure III. 1. 3. 1. 8. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé SS1**

Il montre aussi des corrélations avec un autre carbone quaternaire résonant à  $\delta_{\text{C}}$  105,66. La comparaison de ces données avec celles citées dans la littérature, révèle la présence d'un noyau de type indole [299]. Ce qui conduit à identifier le singulet sortant à  $\delta_{\text{H}}$  8,16 comme étant H-2 ; ainsi que le carbone quaternaire résonant à  $\delta_{\text{C}}$  105,66 comme étant C-3.

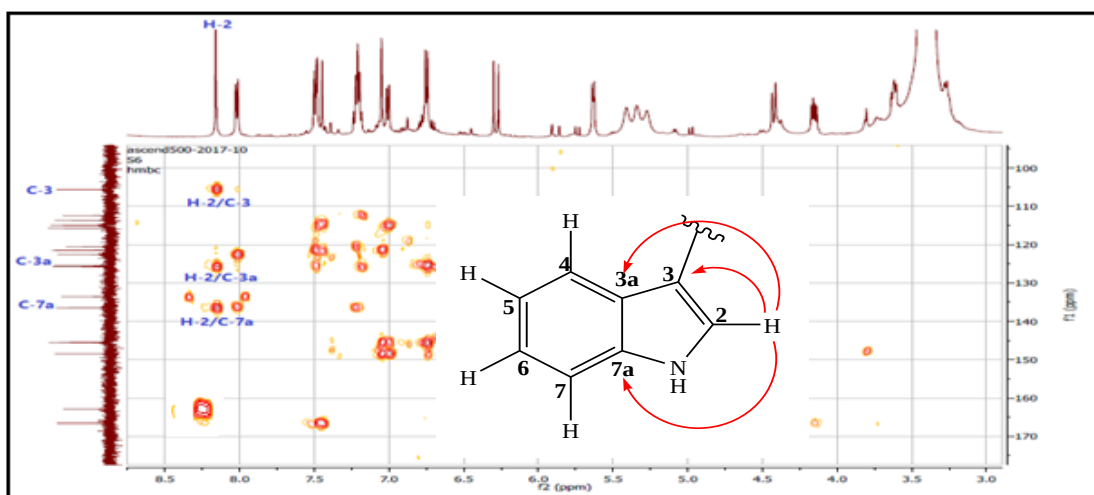


**Figure III. 1. 3. 1. 9. Spectre HMBC du noyau indole du composé SS1**

La résonance du proton H-2 sous forme d'un singulet suggère la présence d'un substituant en position C-3. Ceci a été confirmé par la corrélation observée sur le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 1. 10) entre le proton H-2 et un carbone quaternaire résonnant à  $\delta_C$  162,8 où cette valeur du déplacement chimique révèle la présence d'un carbonyle ester [300]. Ce qui conduit à identifier le carbone quaternaire ( $\delta_C$  162,8) comme étant C-8.

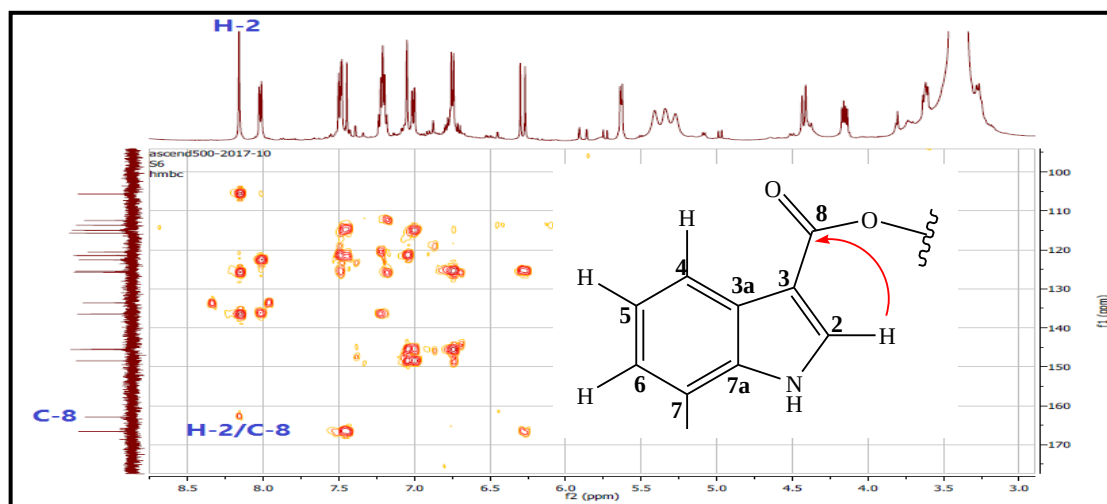


**Figure III. 1. 3. 1. 10. Spectre HMBC du noyau indole du composé SS1**

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 1. 11) révèle l'apparition d'un nombre important des signaux sortant dans la zone allant de 3,29 jusqu'à 4,41 ppm. D'autre part le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (figure III. 1. 3. 1. 11) montre la présence des carbones résonant dans la zone s'étalant entre 60,0 et 80,0 ppm, ce qui indique l'existence d'une unité osidique.

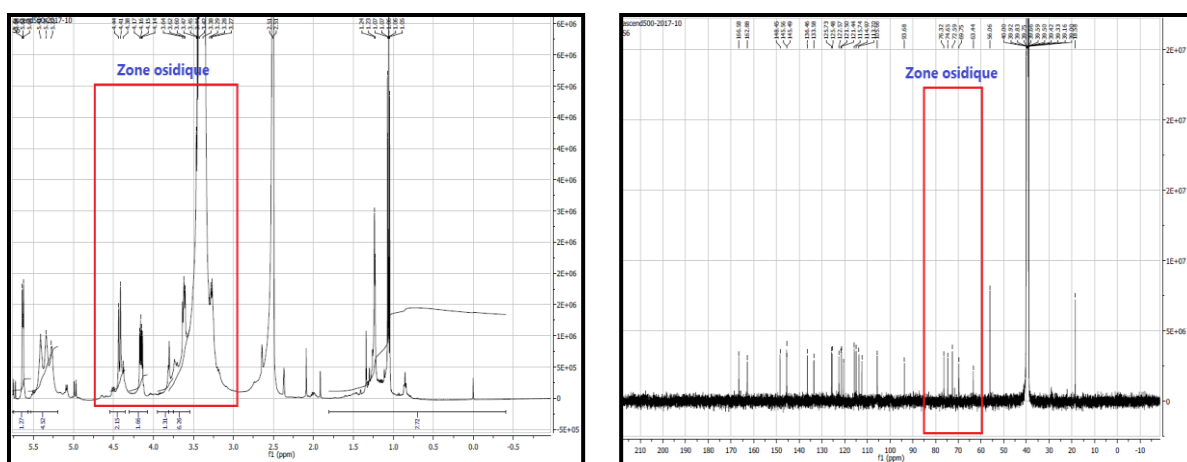


**Figure III. 1. 3. 1. 11. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  de la zone osidique du composé SS1**

Cela est confirmé par la présence d'un signal sortant sous forme d'un doublet à  $\delta_{\text{H}}$  5,63 ( $J = 7,2$  Hz) sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 1. 12) lié à un carbone résonant à  $\delta_{\text{C}}$  93,68 sur le spectre HSQC (figure III. 1. 3. 1. 13), caractéristique d'un proton anomérique.

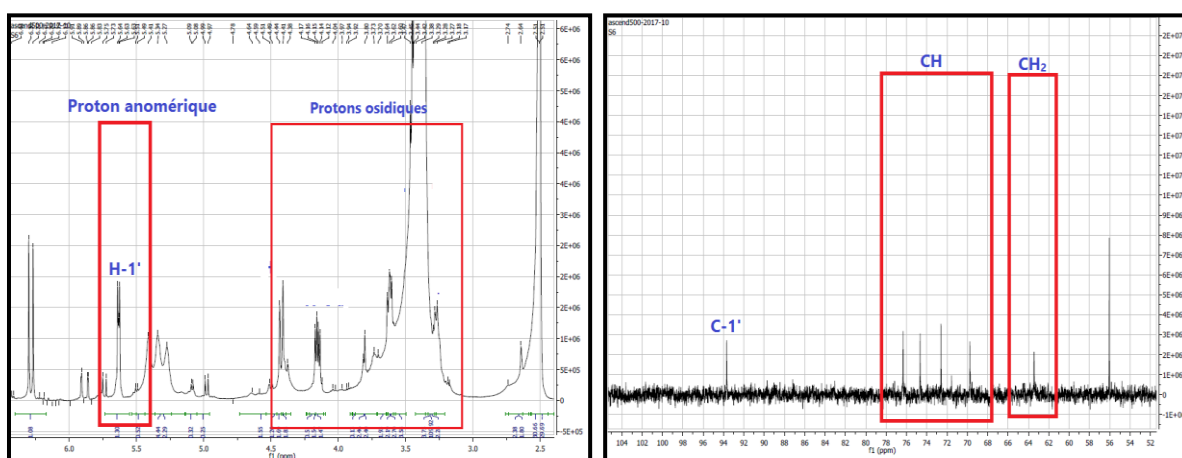


**Figure III. 1. 3. 1. 12. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  de la zone osidique du composé SS1**

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (figure III. 1.3. 1. 12) montre l'apparition de quatre groupements oxyméthines et un groupement oxyméthylène, atteste la présence d'un hexose. L'enchainement de ces groupements réalisés sur la base des corrélations obtenus des expériences HSQC et HMBC (figure III. 1.3. 1. 13), ainsi que par la comparaison avec les données de la littérature [301].

A partir du proton anomérique H-1' identifié précédemment, ce spectre montre les corrélations suivantes : (H-2' ( $\delta_H$  3,38) / C-3' ( $\delta_C$  76,3)), (H-3' ( $\delta_H$  3,38) / C-2' ( $\delta_C$  72,5), (H-4' ( $\delta_H$  3,29) / C-3' ( $\delta_C$  76,3)), (H-5' ( $\delta_H$  3,60) / C-4' ( $\delta_C$  69,4)), (H-6'a ( $\delta_H$  4,41) / C-4' ( $\delta_C$  69,4)) et (H-6'b ( $\delta_H$  4,16) / C-5' ( $\delta_C$  74,6)).

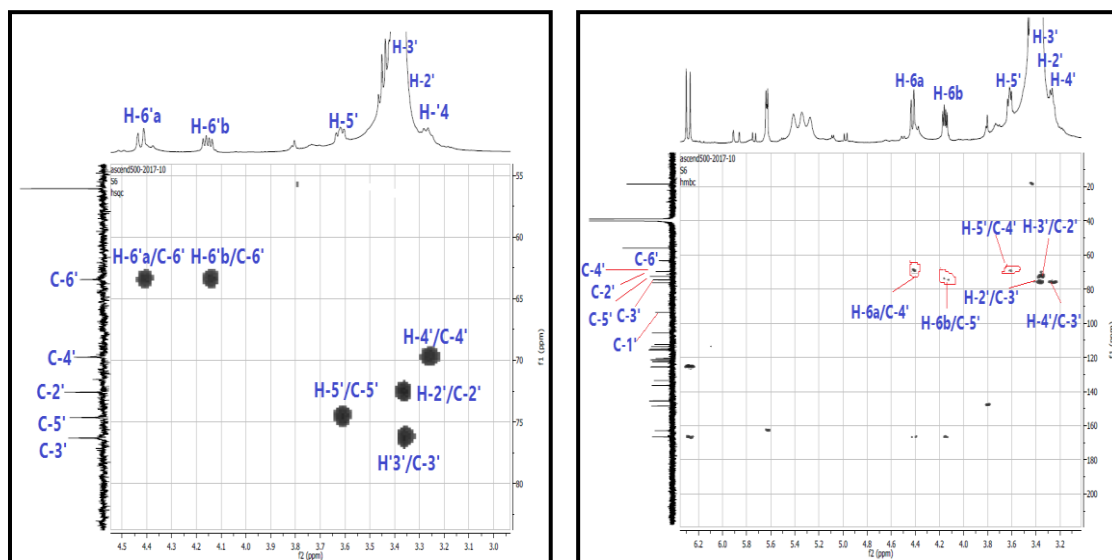


Figure III. 1. 3. 13. Spectres HSQC et HMBC de la zone osidique du composé SS1

Cet hexose a été identifié comme étant un  $\beta$ -D- glucose à partir des valeurs des constantes de couplage entre les protons  $J_{H-1'/H-2'}=7,2$  Hz,  $J_{H-3'/H-4'} = 7,9$  Hz et  $J_{H-4'/H-5'} = 8,1$ Hz qui indique une orientation axiale pour tous les protons (figure III. 1.3. 1. 14).

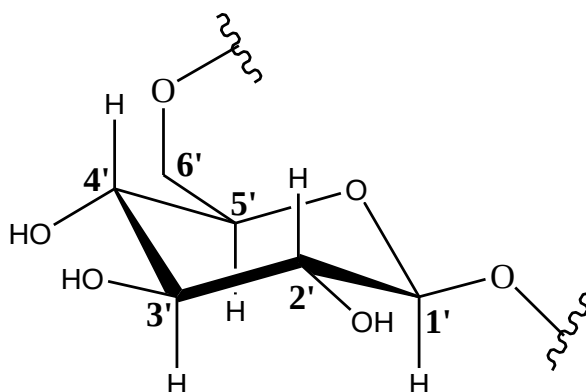


Figure III. 1. 3. 14. L'orientation axiale pour tous les protons osidiques

du composé SS1

Les signaux restant non identifiés dans le spectre RMN  $^1\text{H}$  sortent à  $\delta_{\text{H}}$  7,05 sous forme d'un singulet large et à  $\delta_{\text{H}}$  6,75 et  $\delta_{\text{H}}$  7,01 sous forme des doublets corrérent sur le spectre HSQC (figure III. 1.3. 1. 15) avec les carbones résonant à ( $\delta_{\text{H}}$  7,05/ $\delta_{\text{C}}$  114,9), ( $\delta_{\text{H}}$  6,75/ $\delta_{\text{C}}$  115,7) et ( $\delta_{\text{H}}$  7,01/ $\delta_{\text{C}}$  121,4), indiquent par ses valeurs de constantes de couplage la présence d'un système de spin aromatique de type *ABX* dont la valeur  $J = 7,9$  Hz du signale  $\delta_{\text{H}}$  6,75 révèle un voisinage *ortho*, ce qui est confirmé par la valeur du signal  $\delta_{\text{H}}$  7,01 ( $J = 8,0$  Hz).

Alors que la multiplicité du proton singulet à  $\delta_{\text{H}}$  7,05 ne montre aucun voisinage avec d'autre proton. Ces données permettent de proposer les positions 2'', 5'' et 6'' pour ces protons.

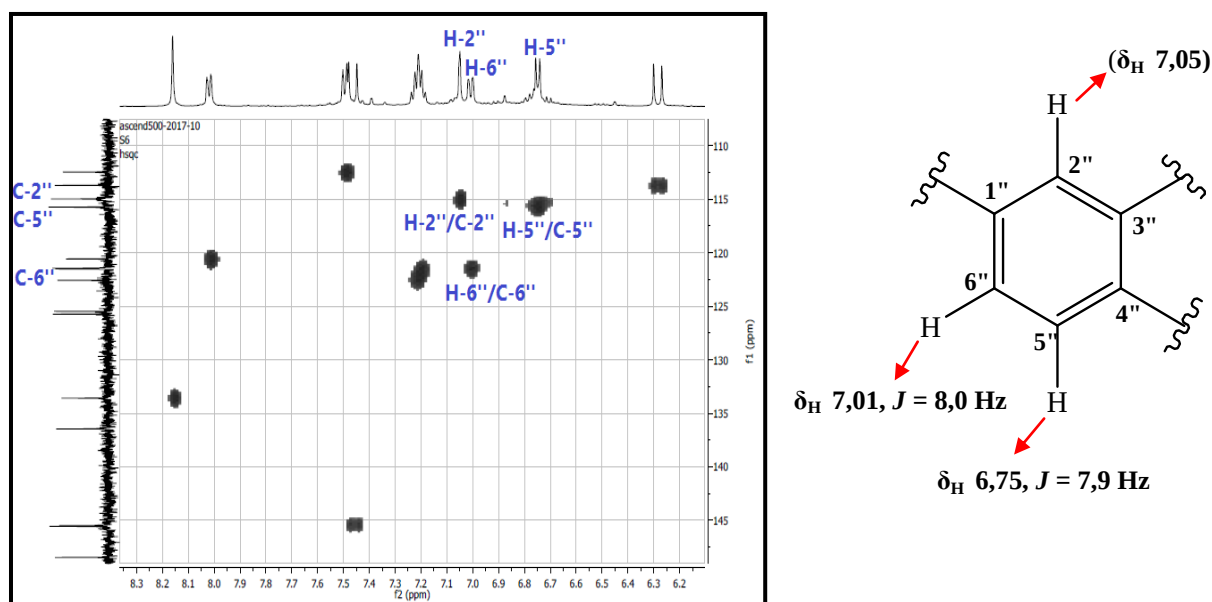


**Figure III. 1.3. 1. 15. Spectre HSQC des protons aromatiques du composé SS1**

Le spectre HMBC (figure III. 1.3. 1. 16) confirme les positions de ces protons et permet d'identifier les autres groupements de ce noyau aromatique par les corrélations du proton H-2'' en  $^3J$  avec un carbone quaternaire oxygéné résonant à  $\delta_{\text{C}}$  148,45 identifié comme étant le carbone C-4'' et le carbone C-6'' ( $\delta_{\text{C}}$  121,4).

D'autres corrélations sont observées sur ce spectre des protons H-5'' et H-6'' avec les carbones (C-4'' ( $\delta_{\text{C}}$  148,4), C-6'' ( $\delta_{\text{C}}$  121,4)) et (C-2'' ( $\delta_{\text{C}}$  114,9), C-4'') respectivement.

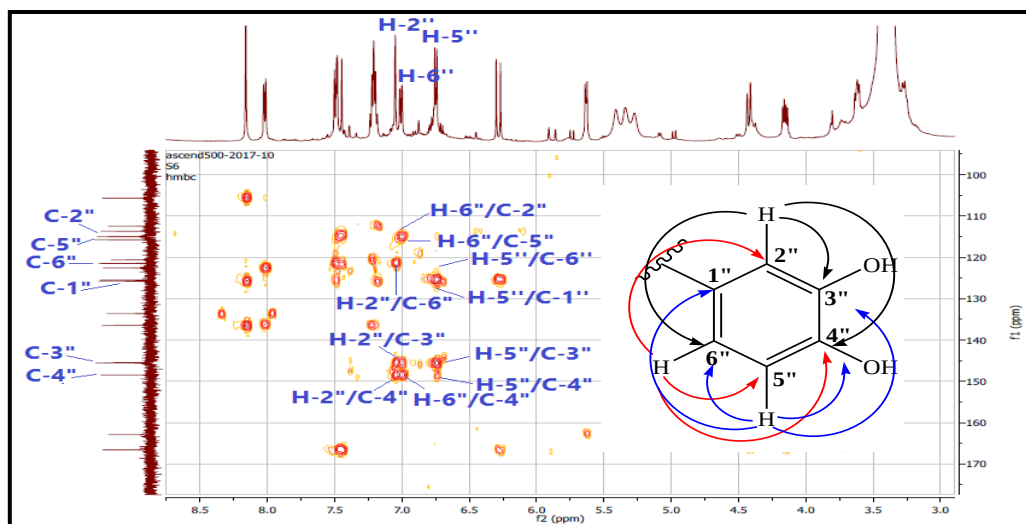


Figure III. 1. 3. 1. 16. Spectre HMBC des protons aromatiques du composé SS1

L'analyse du spectre HMBC (figure III. 1.3. 1. 18) montre les corrélations des protons du cycle aromatique H-2'' et H-6'' avec un carbone résonant à  $\delta_C$  145,4, accorder sur le spectre HSQC (figure III. 1.3. 1. 17) à un proton sortant sous forme de doublet à  $\delta_H$  7,46 avec une constante de couplage  $J = 15,9$  Hz, attribué clairement à un proton oléfinique.

Ce spectre montre aussi des corrélations entre le carbone C-1'' et un doublet résonant à  $\delta_H$  6,28 ( $J = 15,8$ Hz) et accordé sur le spectre HSQC au carbone sortant à  $\delta_C$  113,7. Ces données permettent d'identifier le système insaturé HC-8''=CH-7''.

La grande valeur de constante de couplage entre ces protons oléfiniques  $J = 15,8$  Hz traduit une géométrie *trans* de la double liaison C-8''=C-7''.

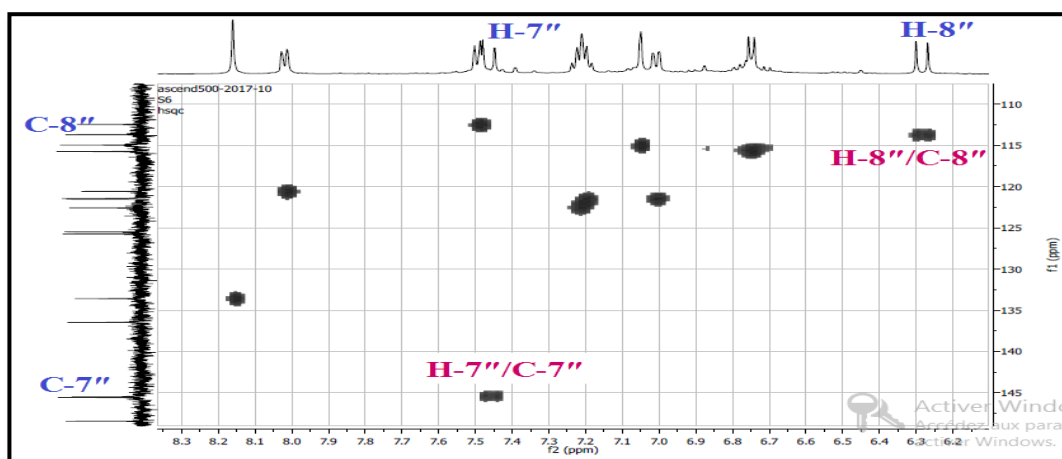


Figure III. 1. 3. 1. 17. Spectre HSQC des protons oléfiniques du composé SS1

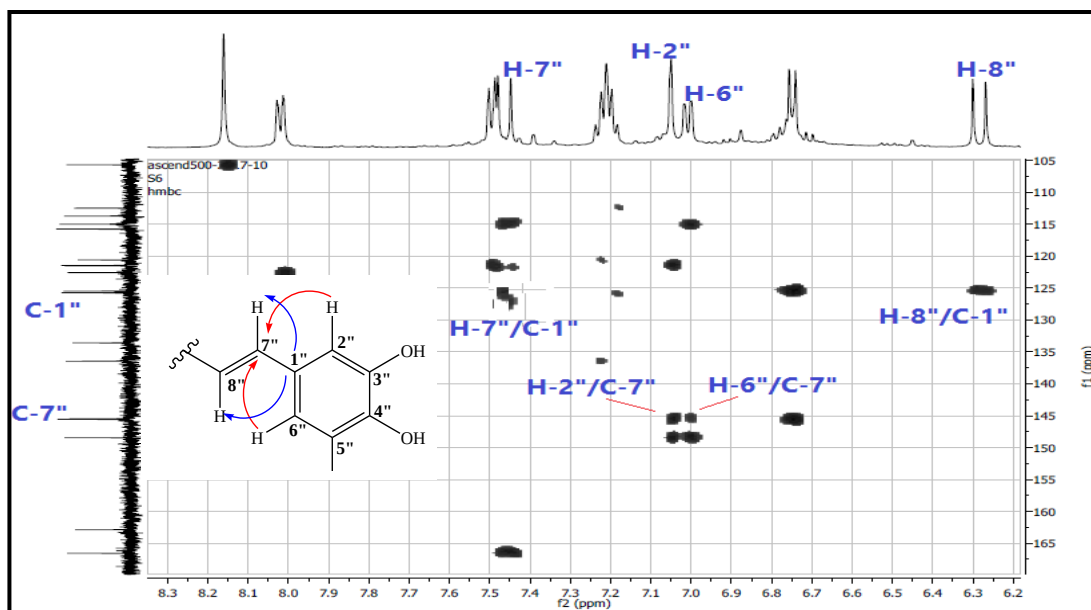


Figure III. 1. 3. 1. 18. Spectre HMBC des protons oléfiniques du composé SS1

Ces deux protons oléfiniques H-7'' et H-8'' exhibent d'autres corrélations sur le spectre HMBC (figure III. 1.3. 1. 19) avec un carbone quaternaire résonnant à  $\delta_C$  166,5 attribué au carbonyle C-9''. Ces données avec la comparaison de celles de la littérature permettent d'identifier cette unité comme étant l'acide caféique [302].

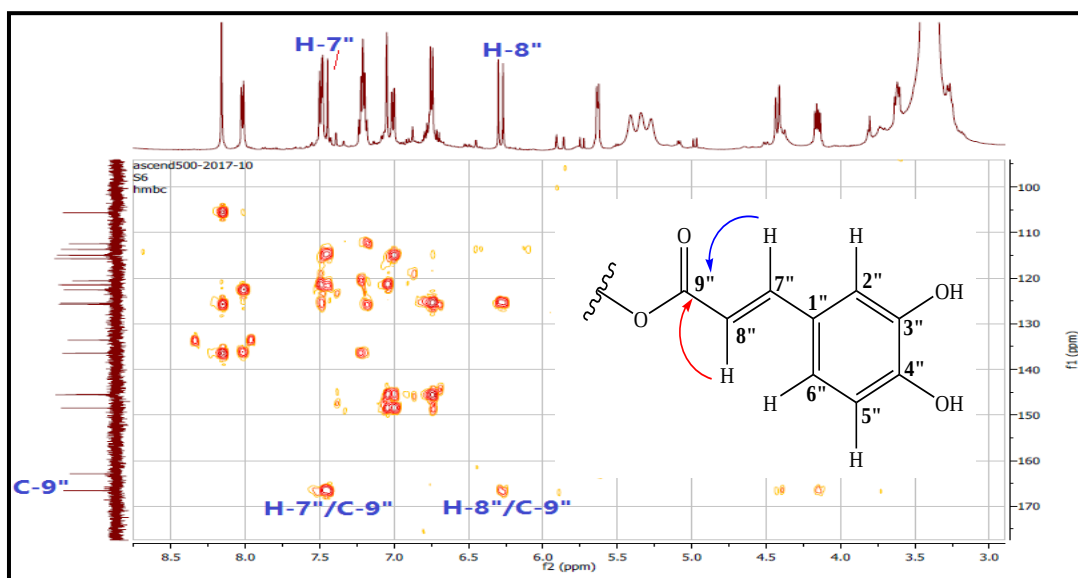


Figure III. 1. 3. 1. 19. Spectre HMBC des protons oléfiniques du composé SS1

Le  $\beta$ -D-glucose montre deux sites de substitution (figure III. 1.3. 1. 21), le premier en position C-1' et le deuxième localisé en position C-6' suite au déblindage de leurs déplacements chimiques : (C-1'  $\delta_C$  93,6, C-6'  $\delta_C$  63,4) [302].

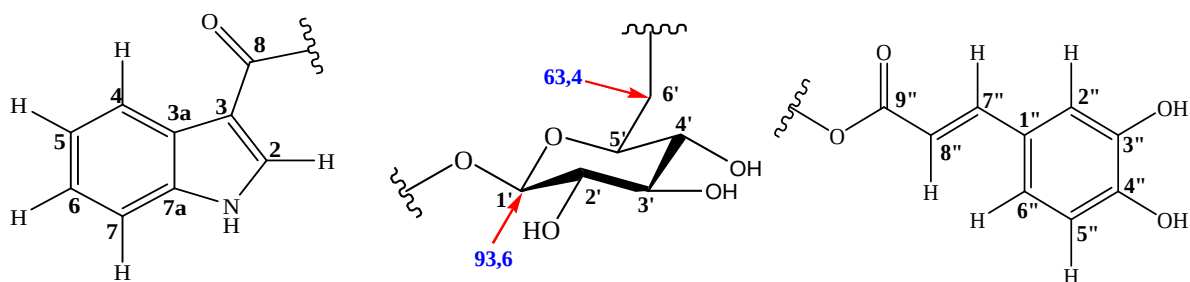


**Figure III. 1. 3. 1. 20. Sites de substitutions des constituants du composé SS1**

Le spectre HMBC permet d'établir le point de branchement de  $\beta$ -D-glucose avec l'acide caféique par la tache de corrélation entre  $H_2-6'$  et le carbone  $C-9''$  (figure III. 1.3. 1. 21).

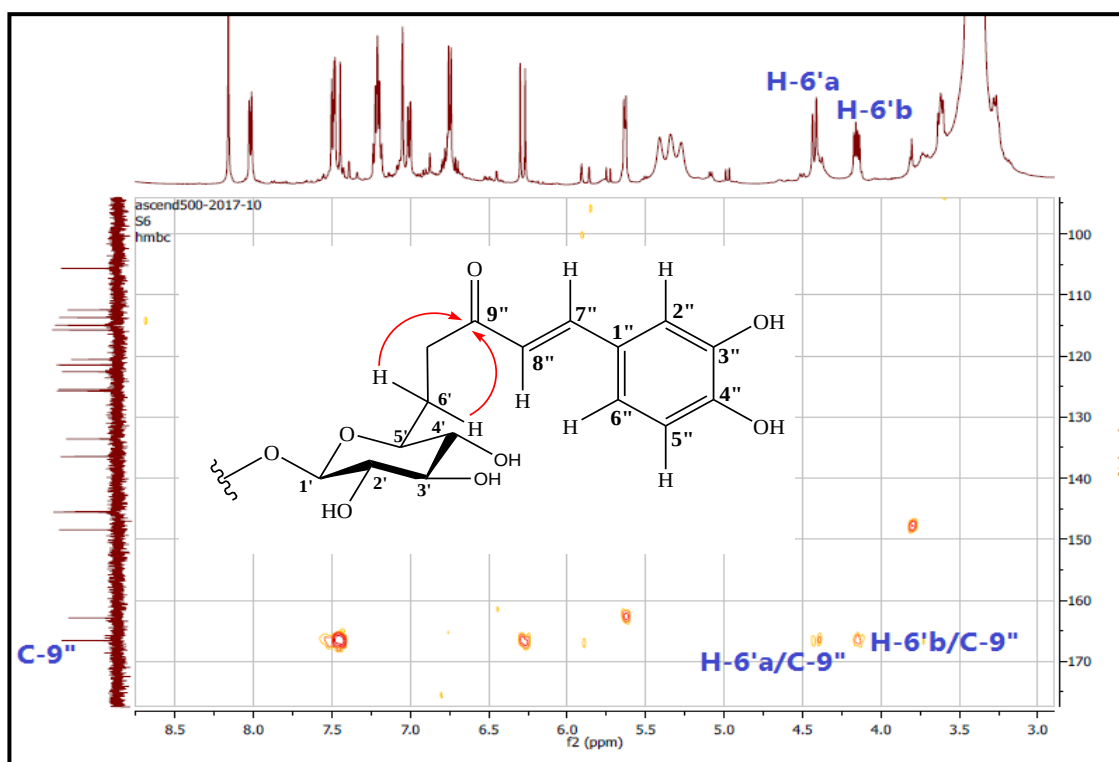


**Figure III. 1. 3. 1. 21. Spectre HMBC montrant le point de branchement de glucose et l'acide caféique du composé SS1**

Le constituant résultant de cet enchainement est lié au noyau indole en position C-8 en raison de la corrélation HMBC détectée entre le proton anomérique  $H-1'$  du  $\beta$ -D-glucose et le carbone C-8 (figure III. 1.3. 1. 22).

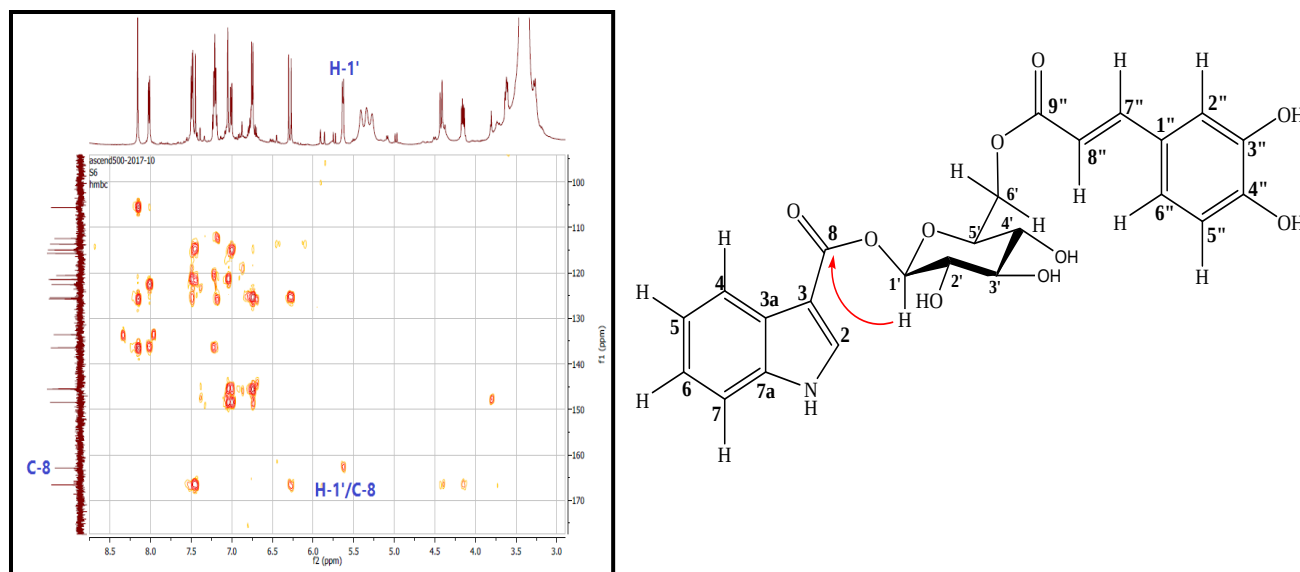


**Figure III. 1. 3. 1. 22. Spectre HMBC montrant l'attachement des constituants du composé SS1**

L'ensemble des données spectrales accumulées, permettent d'assigner pour le composé **SS1** la structure : **Acide indole-3-carboxylique-(6'-O-caffeoyl)- $\beta$ -D-glucoside** (figure III. 1.3. 1. 23) ou les recherches bibliographiques effectuées sur ce composé montrent qu'il s'agit d'un nouveau dérivé d'alcaloïde indolique.

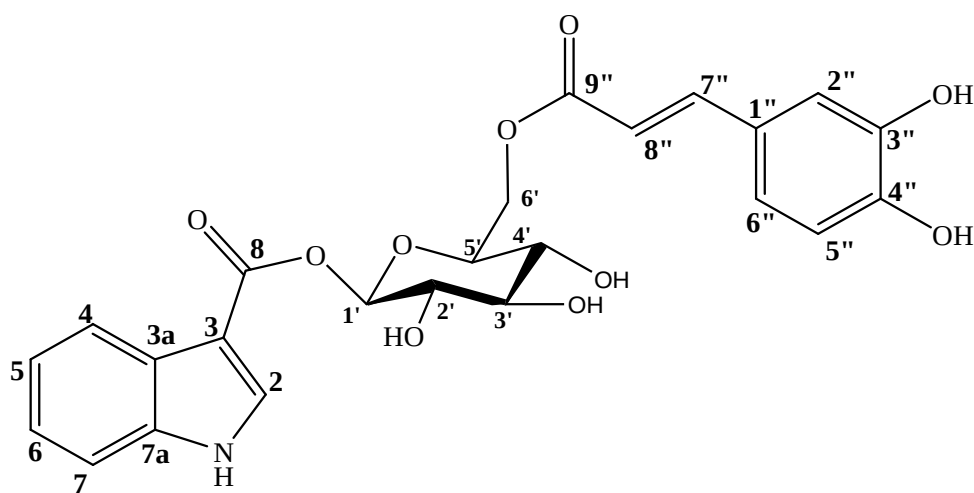


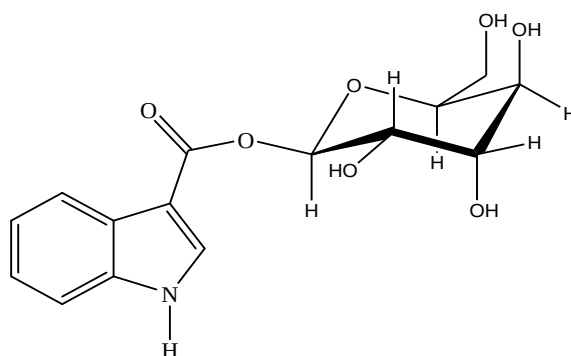
**Figure III. 1. 3. 1. 23. Structure du composé SS1 (Acide indole-3-carboxylique-(6'-O-caffeoyl)- $\beta$ -D-glucoside)**

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **SS1** sont rassemblés dans le tableau III. 1. 3. 1.

**Tableau III. 1. 3. 1. Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) du composé SS1 enregistrés dans DMSO**

| SS1      |                                                     |                           |
|----------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| Position | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| NH       | 12,06 (1H, s)                                       | -                         |
| 2        | 8,16 (1H, s)                                        | 133,5                     |
| 3        | -                                                   | 105,6                     |
| 3a       | -                                                   | 125,4                     |
| 4        | 8,02 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,5)                | 120,5                     |
| 5        | 7,20 (1H, <i>m</i> )                                | 121,5                     |
| 6        | 7,22 (1H, <i>m</i> )                                | 122,5                     |
| 7        | 7,49 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,7)                | 112,4                     |
| 7a       | -                                                   | 136,4                     |
| 8        | -                                                   | 162,8                     |
| 1'       | 5,63 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,2)                | 93,6                      |
| 2'       | 3,38 (1H, <i>m</i> )                                | 72,5                      |
| 3'       | 3,38 (1H, <i>m</i> )                                | 76,3                      |
| 4'       | 3,29 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 8,1)                | 69,4                      |
| 5'       | 3,60 (1H, <i>m</i> )                                | 74,6                      |
| 6'a      | 4,41 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11,5)               | 63,4                      |
| 6'b      | 4,16 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,9- 6,0)         |                           |
| 1''      | -                                                   | 125,7                     |
| 2''      | 7,05 (1H, s)                                        | 114,9                     |
| 3''      | -                                                   | 145,5                     |
| 4''      | -                                                   | 148,4                     |
| 5''      | 6,75 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,9)                | 115,7                     |
| 6''      | 7,01 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,0)                | 121,4                     |
| 7''      | 7,46 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,9)               | 145,4                     |
| 8''      | 6,28 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,8)               | 113,7                     |
| 9''      | -                                                   | 166,5                     |

### III. 1. 3. 2. Identification structurale du composé SS2



**Acide indole-3-carboxylique- $\beta$ -D-glucoside**

Le composé SS2 est purifié aussi sous forme d'une laque marron visible sous la lumière UV à 254 et 366 nm. Il donne une tache marron sur CCM après révélation par une solution acide.

Le spectre de masse ESI-MS (figure III. 1.3. 2. 1) de ce composé révèle la présence des pics d'ions pseudomoléculaires  $[M+Na]^+$  à  $m/z = 346,3$  et  $[2M+Na]^+$  à  $m/z = 669,5$  indiquant une masse moléculaire impaire égale à 323 uma correspondant à une formule brute en  $C_{15}H_{17}O_7N$ .

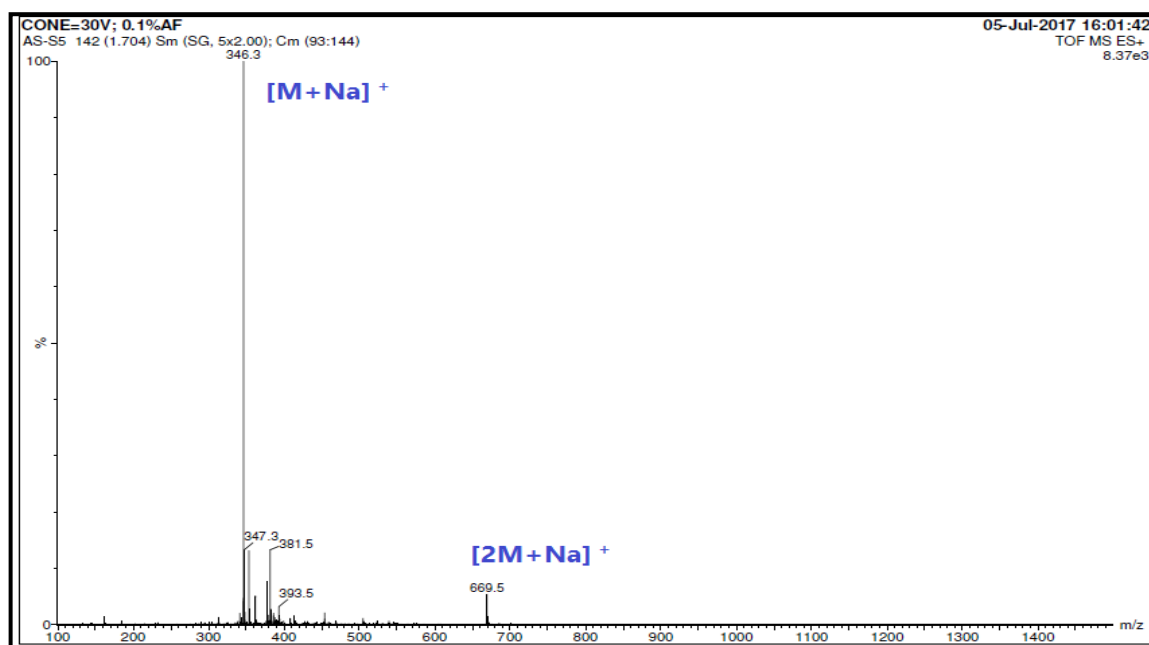


Figure III. 1. 3. 2. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé SS2

Le spectre RMN<sup>1</sup>H (figure III. 1.3. 2. 2) de ce composé montre la présence d'une série de signaux allant de 7,20 à 8,02 ppm similaire à celles observés pour le composé **SS1** décrit précédemment provenant des protons aromatiques. Cette similitude est remarquée aussi sur le spectre RMN <sup>13</sup>C (figure III. 1.3. 2. 2) qui montre des signaux allant de 112 à 140 ppm attribuables aux carbones aromatiques.

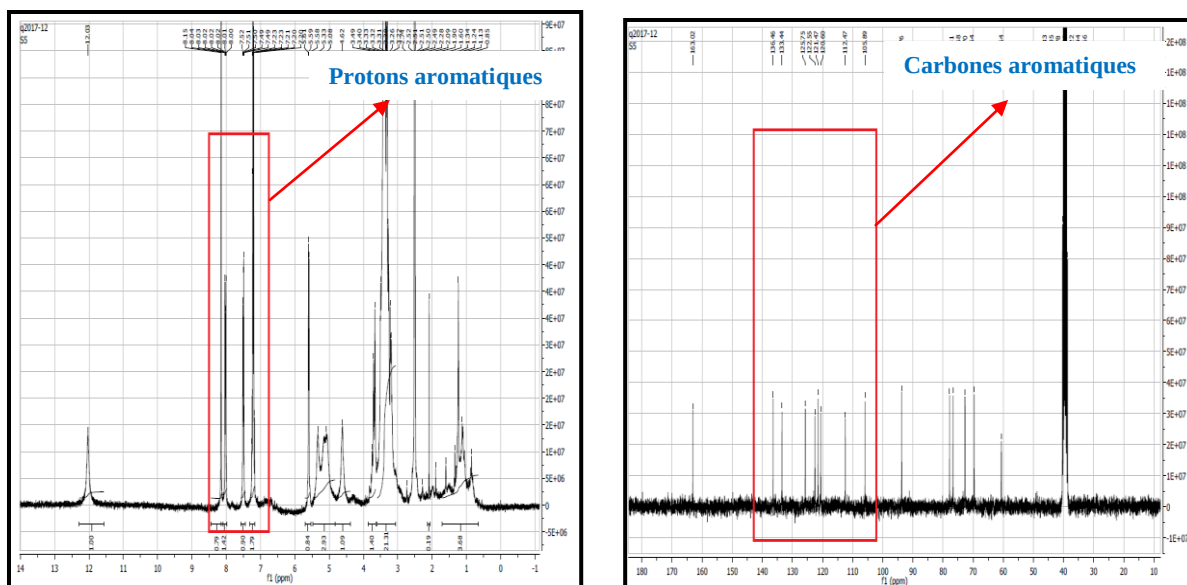


**Figure III. 1. 3. 2. 2. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de la partie aromatique du composé SS2**

La ressemblance des composés **SS1** et **SS2** est clairement déduite des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ . En effet le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1.3. 2. 3) du composé **SS2** montre facilement les deux signaux du cycle aromatique sortant à  $\delta_{\text{H}}$  8,02 et 7,50 attribuables aux protons H-4 et H-7.

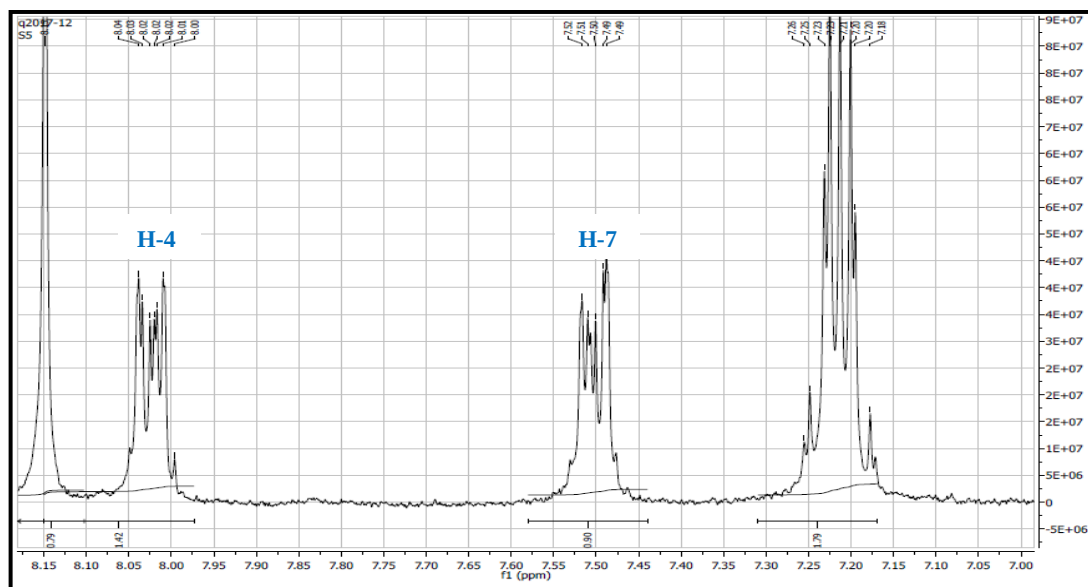


**Figure III. 1. 3. 2. 3. Spectres RMN  $^1\text{H}$  des protons aromatiques du composé SS2**

Les carbones de ces protons sont localisés par l'analyse du spectre HSQC (figure III. 1.3. 2. 4) à  $\delta_{\text{C}}$  120,6 (C-4) et  $\delta_{\text{C}}$  112,4 (C-7).

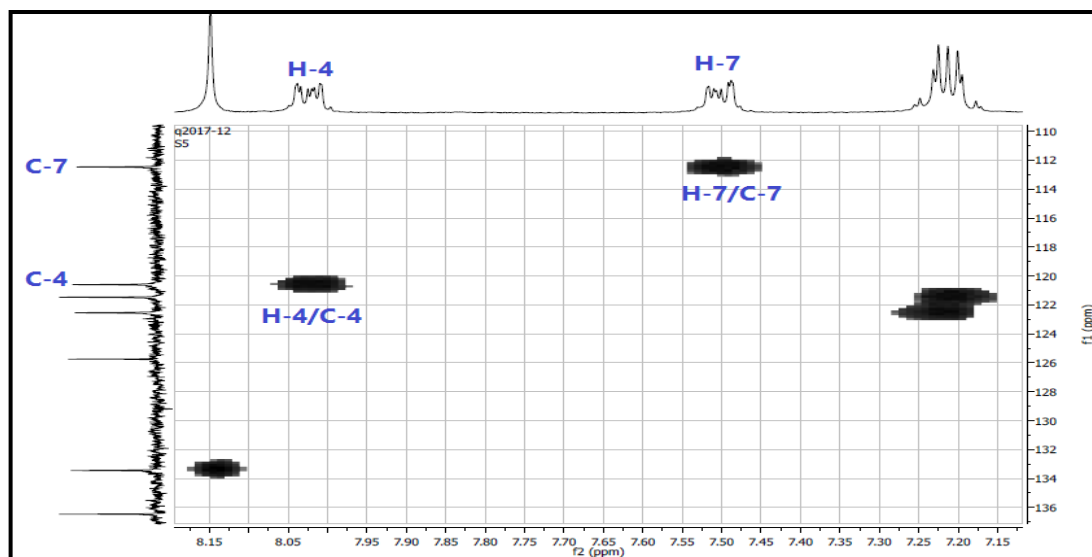


Figure III. 1. 3. 2. 4. Spectre HSQC des protons aromatiques du composé SS2

Alors que, le spectre HMBC (figure III. 1.3. 2. 5) met clairement en évidence les corrélations en  $^3J$  de ces protons qui permettent d'identifier et de caractériser tous les carbones du cycle aromatique de ce composé. Ces corrélations sont entre :

- Le proton H-4 ( $\delta_H$  8,02) et les carbones C-6 ( $\delta_C$  122,5) et le carbone quaternaire C-7a ( $\delta_C$  136,4).
- Le proton H-7 ( $\delta_H$  7,50) et les carbones C-5 ( $\delta_C$  121,4) et le carbone quaternaire C-3a ( $\delta_C$  125,7).

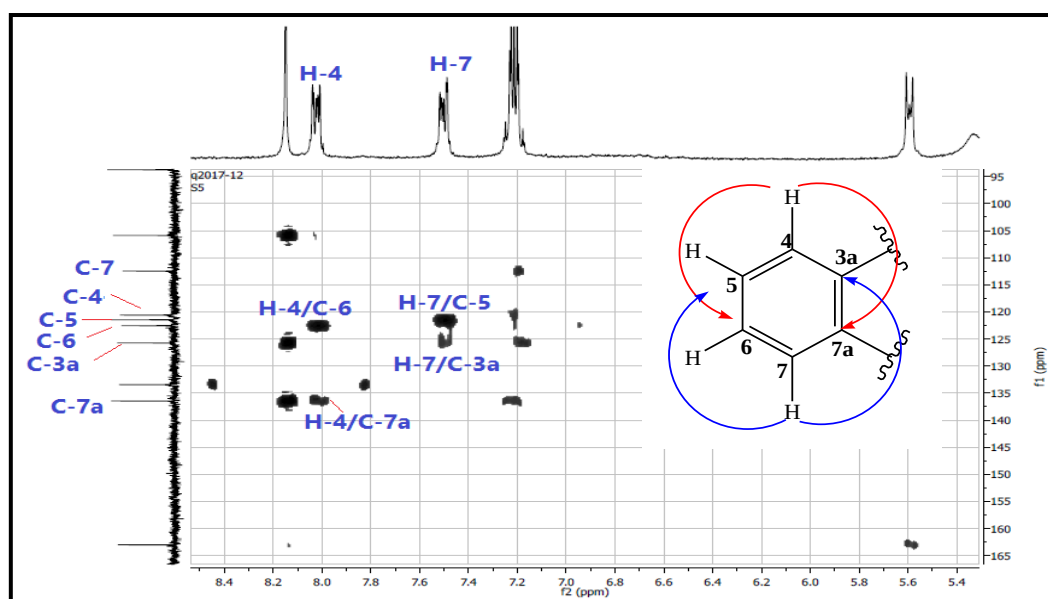


Figure III. 1. 3. 2. 5. Spectre HMBC des protons aromatiques du composé SS2

Les protons des carbones C-5 ( $\delta_C$  121,4) et C-6 ( $\delta_C$  122,5) sont localisés par l'expérience HSQC (figure III. 1.3. 2. 6) à ( $\delta_H$  7,20, *td*,  $J = 7,07$ -1,7 Hz / H-5) et ( $\delta_H$  7,23, *t*,  $J = 7,09$ -2,01Hz / H-6).

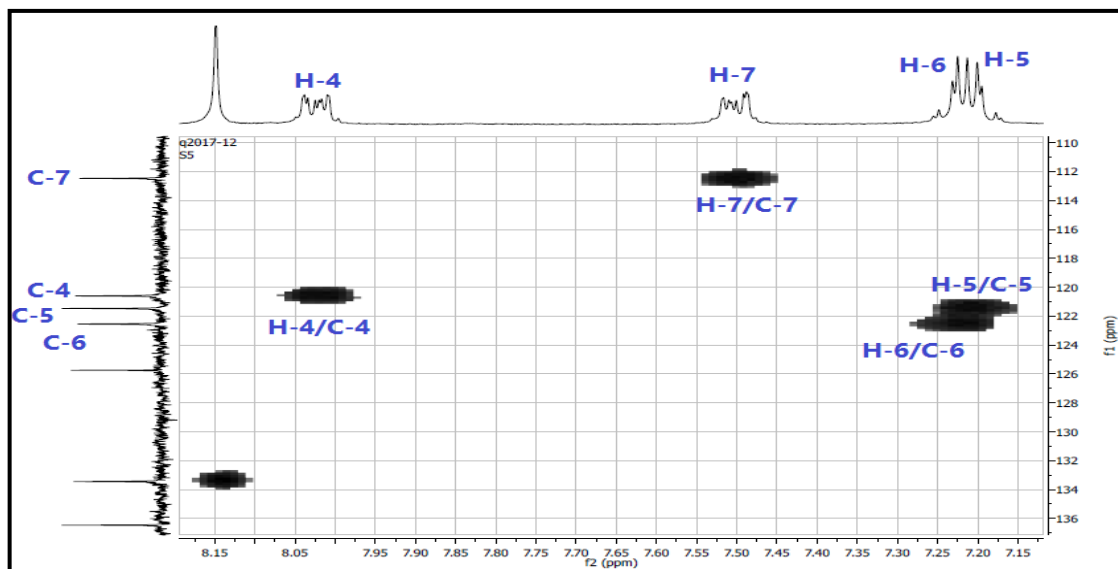


Figure III. 1.3. 2. 6. Spectre HSQC des protons aromatiques du composé SS2

Comme le composé précédent, le spectre RMN  $^1H$  (figure III. 1.3. 2. 7) du composé SS2 montre un signal sortant à  $\delta_H$  8,15 sous forme de singlet, accordé sur le spectre HSQC à un pic résonant à  $\delta_C$  133,4 (figure III. 1.3. 2. 7).

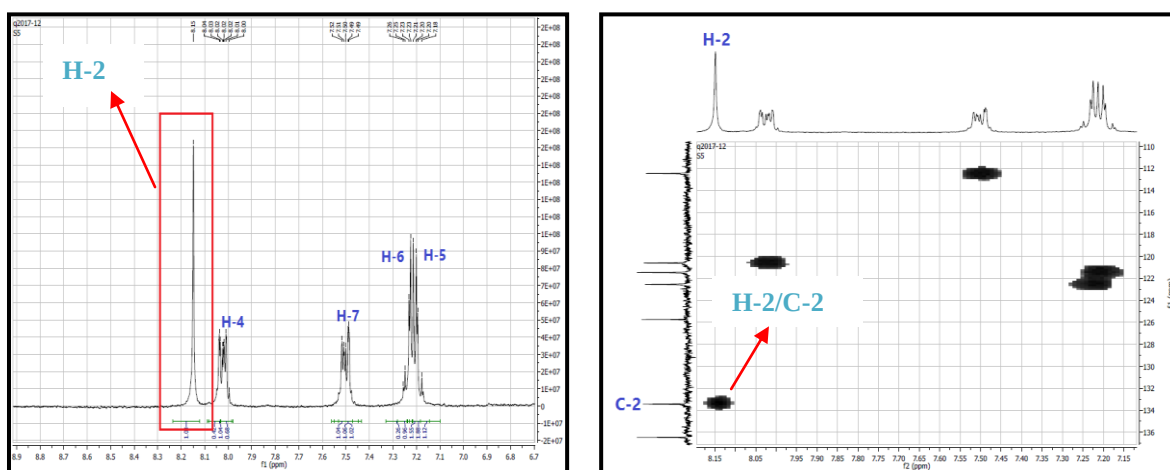


Figure III. 1.3. 2. 7. Spectres RMN  $^1H$  et HSQC du composé SS2

Ce signal ( $\delta_H$  8,15/  $\delta_C$  133,4) est attribué au proton H-2 en raison de ces corrélations observées en  $^3J$  avec les carbones quaternaires C-3a et C-7a. De même, les corrélations observées sur le spectre HMBC (figure III. 1.3. 2. 8) de ce proton permettent de localiser le

carbone quaternaire C-3 ( $\delta_C$  105,8). Toutes ces données spectrales sont similaires à celles du composé **SS1** et permettent de confirmer la présence d'un noyau de type indole.

Le spectre HMBC (figure III. 1.3. 2. 8) montre aussi la corrélation entre le proton H-2 et un carbone quaternaire résonant à  $\delta_C$  163,0 qui ne peut être que le carbone du carbonyle C-8 ( $\delta_C$  163,0).

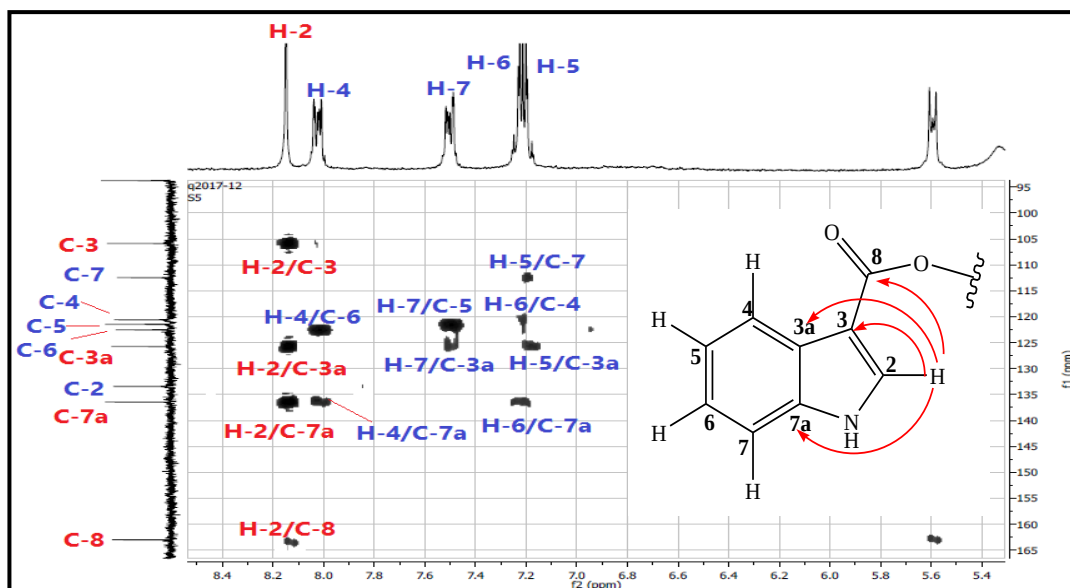


Figure III. 1.3. 2. 8. Spectre HMBC du composé **SS2**

La présence d'une unité osidique est clairement observée sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1.3. 2. 9) qui montre un ensemble de signaux sortant dans la zone allant de 3,20 à 3,67 ppm.

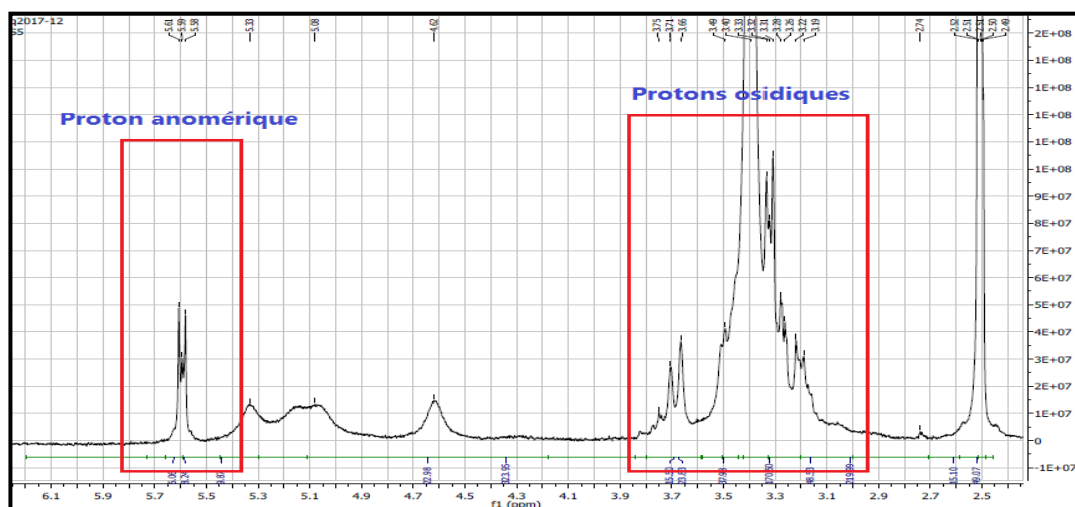


Figure III. 1.3. 2. 9. Spectre RMN  $^1\text{H}$  de la zone osidique du composé **SS2**

Le proton anomérique H-1' de cette unité osidique est localisée à  $\delta_H$  5,59. Alors que, de la même manière du composé précédent, l'analyse de spectres HMBC et HSQC (figure III. 1.3. 2. 10) permet d'identifier tous les protons et les carbones.

Comme le composé précédent ces groupements osidiques sont identifiés par les taches de corrélations visualisées sur le spectre HMBC (figure III. 1.3. 2. 10) de cet hexose à CH-1' ( $\delta_H$  5,59, C-1' ( $\delta_C$  93,7), CH-2' ( $\delta_H$  3,32,  $\delta_C$  72,7), CH-3' ( $\delta_H$  3,28,  $\delta_C$  76,6), CH-4' ( $\delta_H$  3,20,  $\delta_C$  69,6), CH-5' ( $\delta_H$  3,26,  $\delta_C$  77,8), CH-6'a ( $\delta_H$  3,67,  $\delta_C$  60,6) et CH-6'b ( $\delta_H$  3,50,  $\delta_C$  60,6).

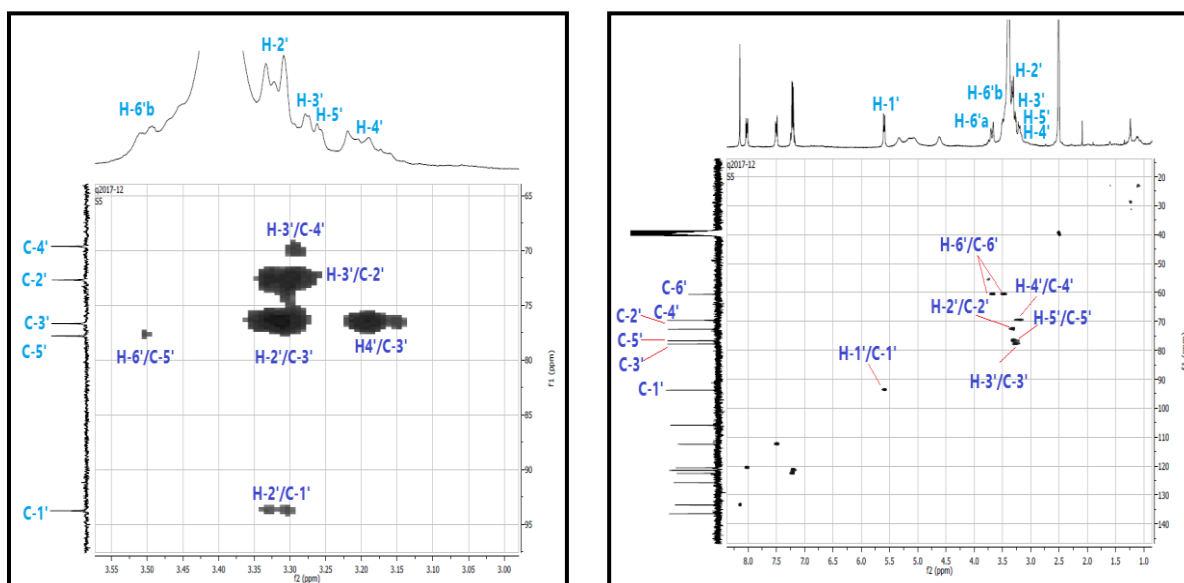


**Figure III. 1.3. 2. 10. Spectre HMBC et HSQC de la zone osidique du composé SS2**

Comme pour le composé précédent, cet hexose est identifié au  $\beta$ -D-glucose en raison des grandes valeurs des constantes de couplage de ces protons.

La différence entre **SS1** et **SS2** réside dans la disparition des protons de l'acide caféique lié au carbone C-6' du  $\beta$ -D-glucose du **SS1**. Cette absence atteste de la présence d'un hydroxyle libre à la position C-6' ce qui est confirmé par les déplacements chimiques des protons (H-6'a) à ( $\delta_H$  3,67, *dd*,  $J = 11,7-2,1$  Hz) blindé de  $\Delta$ -0,74 et H-6'b à ( $\delta_H$  3,50, *m*) blindé de  $\Delta$ -0,66 par rapport aux mêmes protons du composé **SS1** (H-6'a  $\delta_H$  4,41, H-6'b  $\delta_H$  4,16). Le déplacement chimique du carbone C-6' à  $\delta_C$  60,6 en apporte la confirmation de la déacétylation du composé **SS2**.

Le point de branchement de l'unité osidique avec le noyau indole est localisé au carbone C-1' suite à sa valeur du déplacement chimique C-1' ( $\delta_C$  93,7) (figure III.1.3. 2. 12) [303].

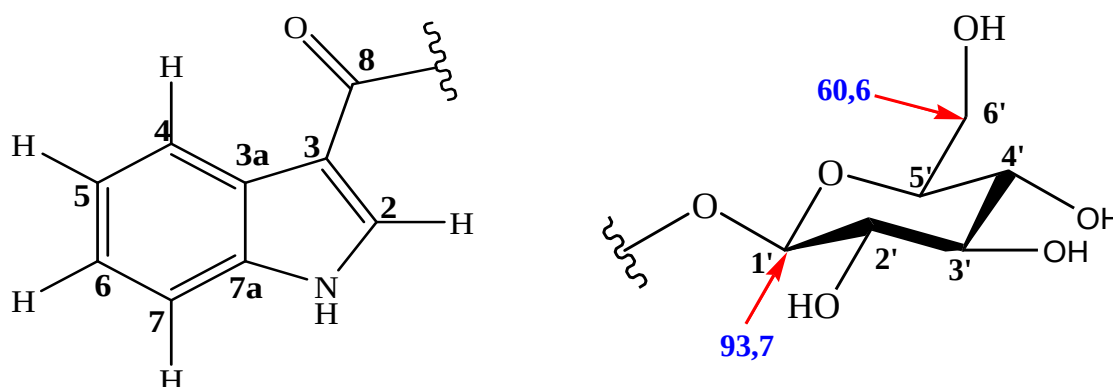


**Figure III. 1. 3. 2. 12. Sites de substitutions des constituants du composé SS2**

Cette jonction se trouve une autre fois confirmée par la tache de corrélation observée sur le spectre HMBC (figure III. 1.3. 2. 13) entre le proton H-1' et le carbone du carbonyle ester C-8 ( $\delta_C$  163,0).

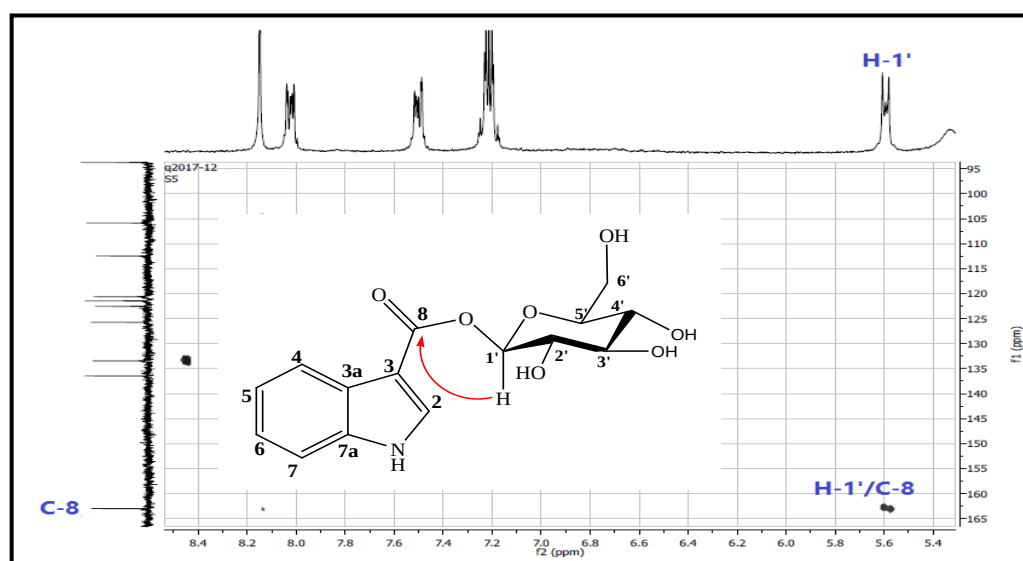


**Figure III. 1. 3. 1. 13. Spectre HMBC montrant l'attachement des constituants du composé SS2**

Sur la base de cette analyse et par la comparaison avec les données de la littérature [301], le composé SS2 est identifié comme étant **Acide indole-3-carboxylique- $\beta$ -D-glucoside** (figure III. 1.3. 2. 14). Ce composé est isolé pour la première fois de l'espèce *Saccocalyx satureoides* ainsi que le genre *Saccocalyx*.

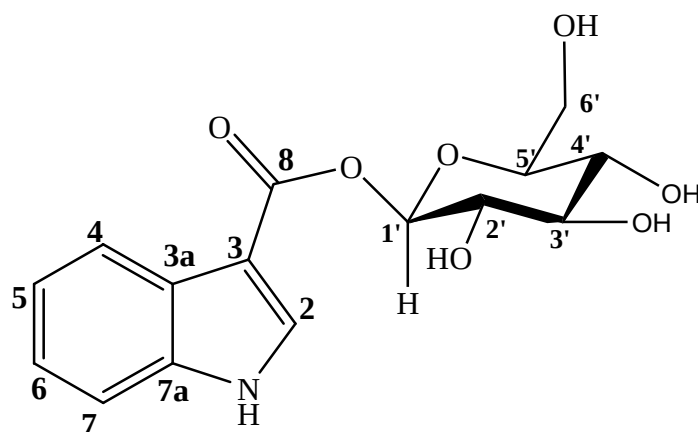


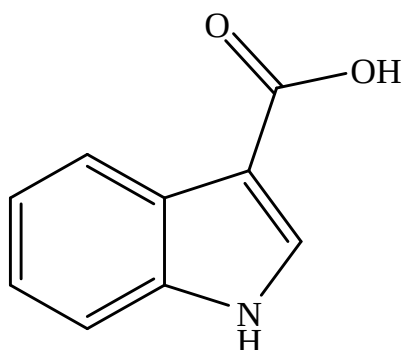
**Figure III. 1. 3. 1. 14. Structure du composé SS2 (Acide indole-3-carboxylique- $\beta$ -D-glucoside**

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **SS2** sont réunis dans le tableau III. 1. 3. 2.

**Tableau III. 1. 3. 2. Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) du composé SS1 enregistrés dans DMSO**

| SS2      |                                                     |                           |
|----------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| Position | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| NH       | 12,03(1H, s)                                        | -                         |
| 2        | 8,15(1H, s)                                         | 133,4                     |
| 3        | -                                                   | 105,8                     |
| 3a       | -                                                   | 125,7                     |
| 4        | 8,02 (1H, <i>m</i> )                                | 120,6                     |
| 5        | 7,20 (1H, <i>t d</i> , <i>J</i> = 7,07- 1,7)        | 121,4                     |
| 6        | 7,23(1H, <i>t d</i> , <i>J</i> = 7,09- 2,01)        | 122,5                     |
| 7        | 7,50 (1H, <i>m</i> )                                | 112,4                     |
| 7a       | -                                                   | 136,4                     |
| 8        | -                                                   | 163,0                     |
| 1'       | 5,59 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,2)                | 93,7                      |
| 2'       | 3,32(1H, <i>nd</i> )                                | 72,7                      |
| 3'       | 3,28 (1H, <i>nd</i> )                               | 76,6                      |
| 4'       | 3,20 (1H, <i>nd</i> )                               | 69,6                      |
| 5'       | 3,26 (1H, <i>nd</i> )                               | 77,8                      |
| 6'a      | 3,67 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7-2,1)          | 60,6                      |
| 6'b      | 3,50 (1H, <i>nd</i> )                               |                           |

### III. 1. 3. 3. Identification structurale du composé SS3



**Acide indole-3-carboxylique**

Ce composé est isolé sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Il montre une tache visible sur CCM à 254 nm se colorant en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100°C.

Le spectre de masse ESI-MS enregistré en mode positif pour le composé **SS3** (figure III. 1.3. 3. 1) montre un pic d'ion pseudomoléculaire à  $m/z = 184,5$   $[M+Na]^+$  suggérant une masse moléculaire impaire de 161 uma et une formule brute en  $C_9H_7O_2N$ , correspondant à un nombre d'insaturation égal à 7. Ce nombre d'insaturation indique une nature aromatique pour ce composé.

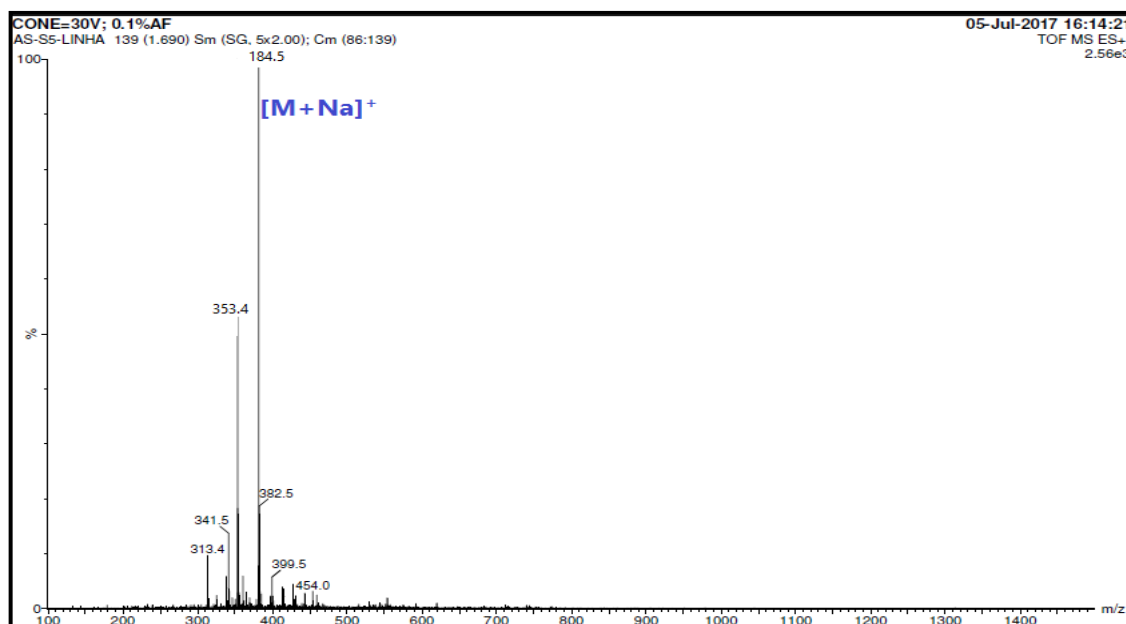


**Figure III. 1. 3. 3. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé SS3**

L'analyse du spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1.3. 3. 2) de ce composé révèle la présence de quatre signaux dans la zone des protons aromatiques, presque identiques à ceux des composés précédents SS1 et SS2.

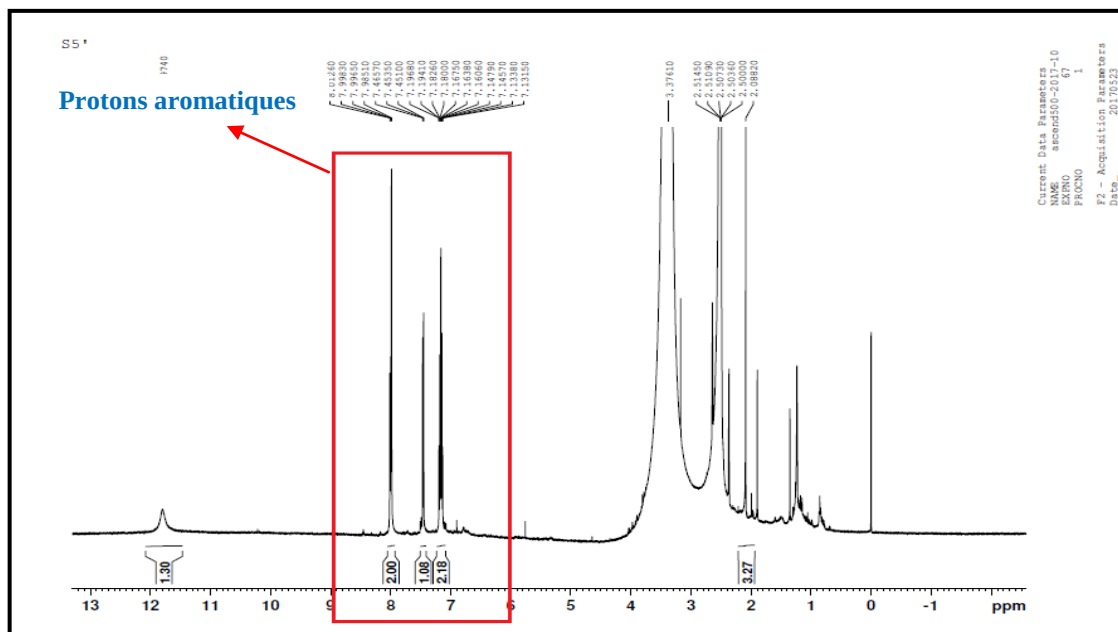


Figure III. 1. 3. 3. 2. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé SS3

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (figure III. 1.3.3. 3) confirme cette supposition par le nombre et la nature des carbones qu'ils présentent à savoir : deux carbones quaternaires et quatre groupements méthines (CH).

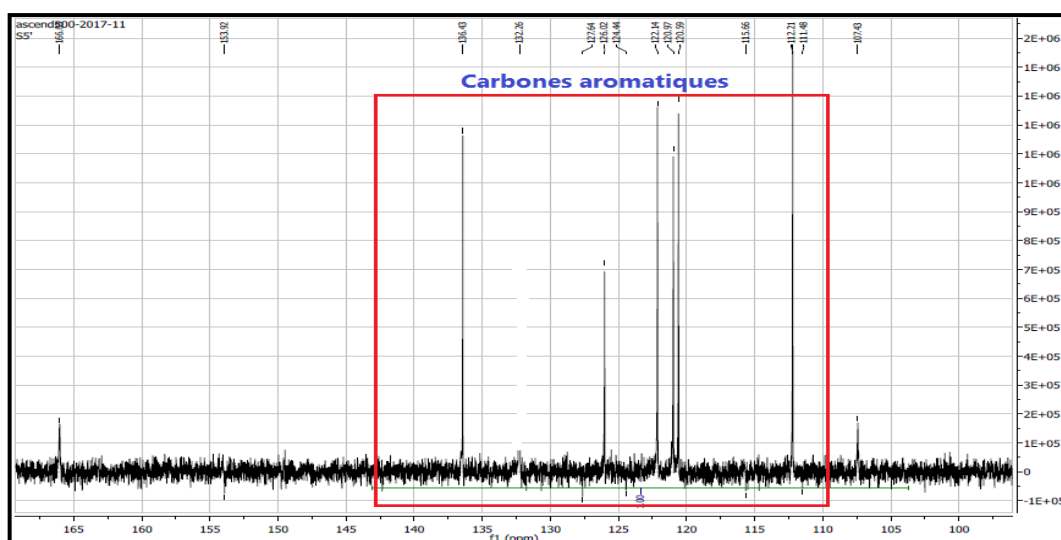


Figure III. 1. 3. 3. 3. Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  montrant les carbones du cycle aromatique du composé SS3

La comparaison du spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **SS3** (figure III. 1.3. 3.4) avec ceux des composés précédents **SS1** et **SS2** permet de localiser facilement les protons du cycle aromatique.

Ces protons aromatiques (figure III. 1.3. 3. 4) sont localisés à ( $\delta_{\text{H}}$  8,01, *d*,  $J = 7,10$  Hz / H-4), ( $\delta_{\text{H}}$  7,16, *td*,  $J = 7,10-1,15$  Hz / H-5), ( $\delta_{\text{H}}$  7,18, *td*,  $J = 7,10-1,30$  Hz / H-6) et ( $\delta_{\text{H}}$  7,45, *d*,  $J = 7,30$  Hz / H-7).

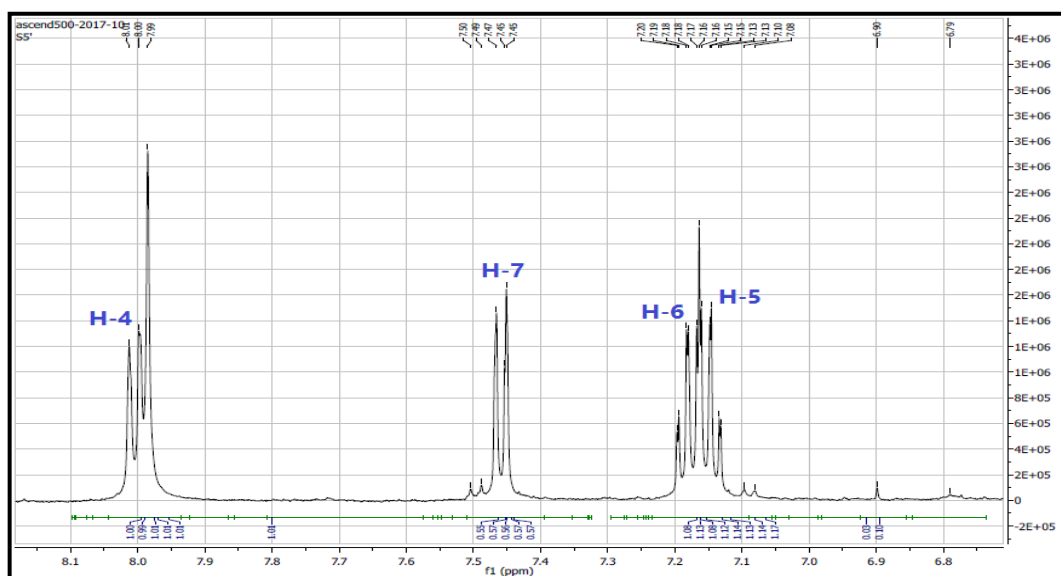


Figure III. 1. 3. 3. 4. Spectre RMN  $^1\text{H}$  montrant les protons aromatiques du composé **SS3**

Ces protons sont accordés sur le spectre HSQC (figure III. 1.3. 3. 5) aux carbones C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  120,5), C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  120,9), C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  122,1) et C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  112,2).

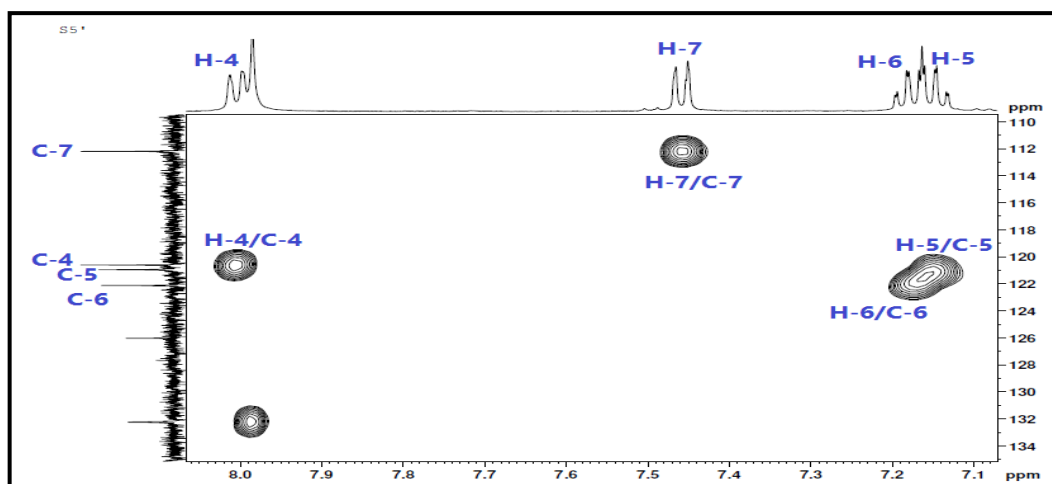


Figure III. 1. 3. 3. 5. Spectre HSQC du composé **SS3**

Les corrélations observées en  $^3J$  pour ces protons sur le spectre HMBC (figure III. 1.3. 3. 6) permettent de reconnaître tous les carbones du cycle aromatique par les taches visualisées entre :

- Le proton H-4 et les carbones C-6 et C-7a ( $\delta_C$  136,4).
- Le proton H-5 et les carbones C-3a ( $\delta_C$  126,0) et C-7.
- Le proton H-6 et les carbones C-4 et C-7a.
- Le proton H-7 et les carbones C-3a et C-5.

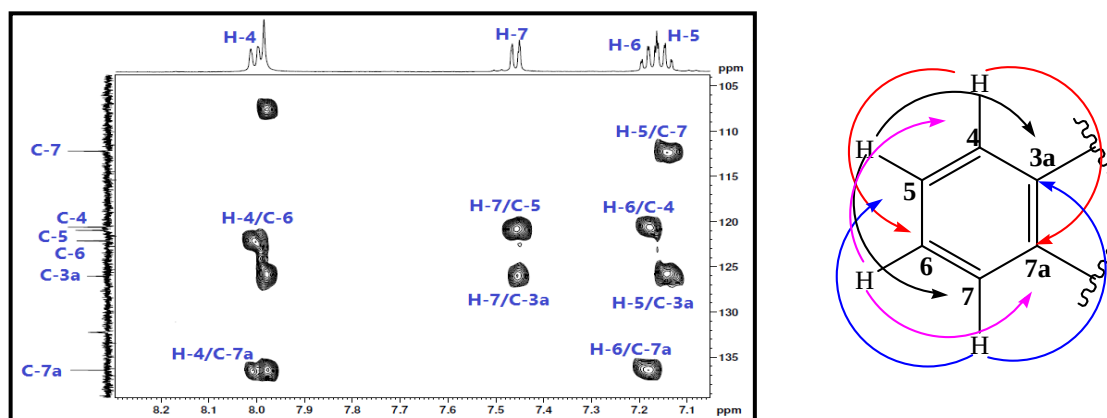


Figure III. 1.3. 3. 6. Spectre HMBC du composé SS3

Le signal restant du spectre RMN  $^1H$  (figure III. 1.3. 3. 7) du composé **SS3** sorte sous forme d'un singulet à  $\delta_H$  7,99 attribué de la même manière que les composés **SS1** et **SS2** au proton H-2. Le carbone de ce proton est localisé sur le spectre HSQC (figure III. 1.3. 3. 7) à  $\delta_C$  132,2 (C-2).

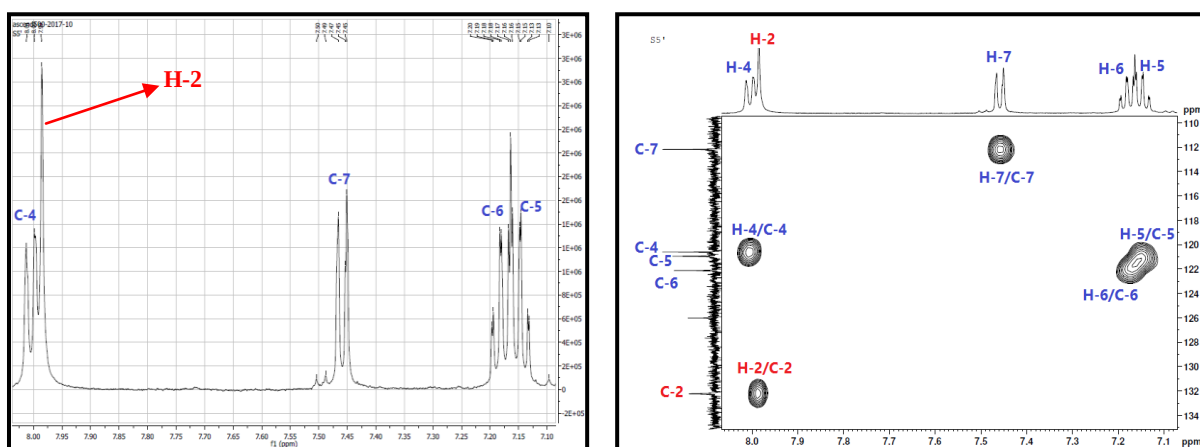


Figure III. 1.3. 3. 7. Spectre RMN  $^1H$  et HSQC du composé SS3

Ainsi, le proton H-2 couple sur le spectre HMBC (figure III. 1.3. 3. 8) en  $^2J$  avec le carbone C-3 ( $\delta_C$  107,4) et en  $^3J$  avec les carbones C-3a et C-7a. La comparaison des spectres de **SS3** avec ceux des composés identifiés précédemment témoigne d'une grande similitude structurale avec les composés **SS1** et **SS2**, suggérant la présence pour ce composé d'un noyau de type indole.

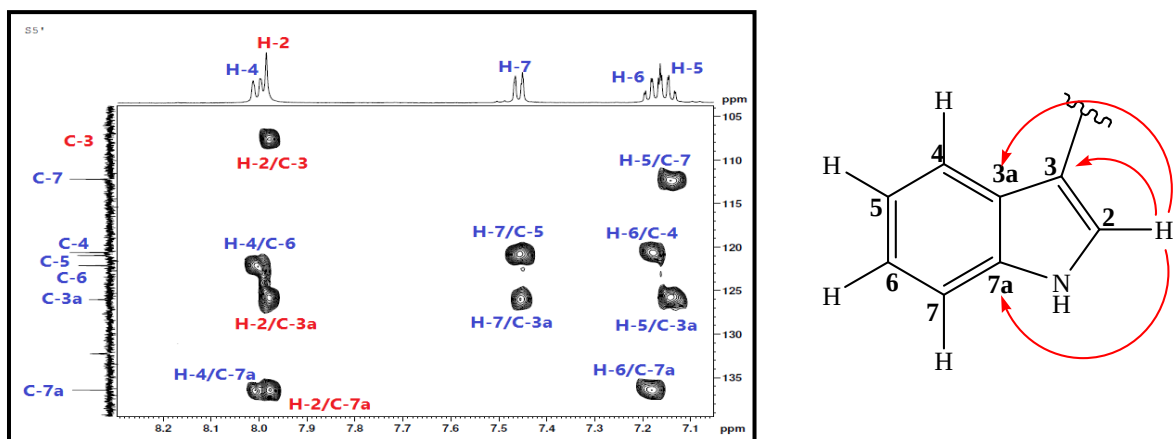


Figure III. 1.3. 3. 8. Spectre HMBC du composé **SS3**

Pour compléter l'élucidation structurale de ce composé, l'analyse du spectre HMBC (figure III. 1.3. 3. 9) montre aussi la corrélation du proton H-2 avec un carbone quaternaire résonnant à  $\delta_C$  166,0 attribué au carbone carbonyle acide C-8 [300] en tenant compte de sa valeur de déplacement chimique ( $\delta_C$  166,0) qui est déblindé par rapport au même carbone des composés précédents **SS1** et **SS2**.

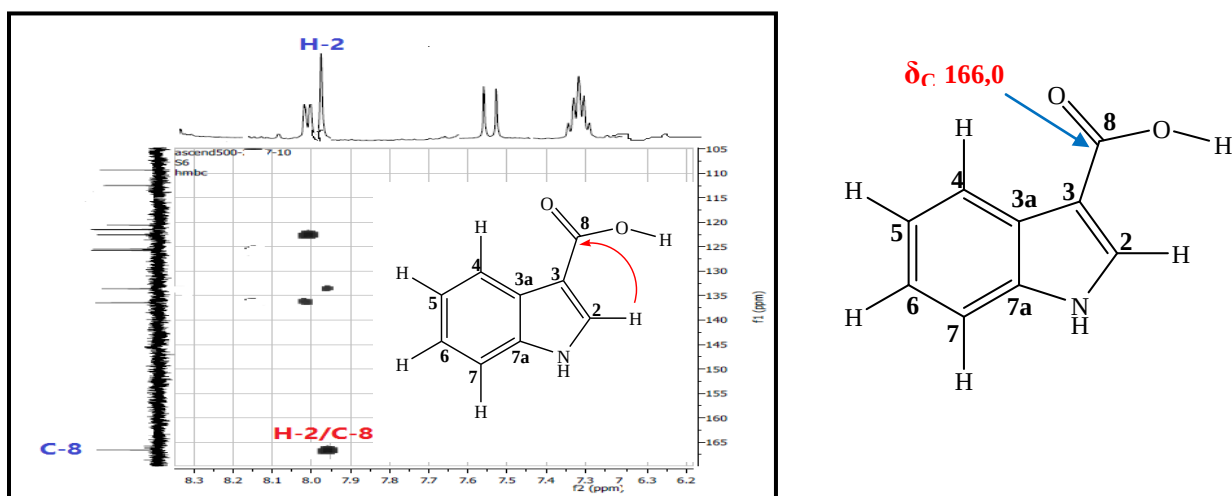


Figure III. 1.3. 3. 9. Spectre HMBC du composé **SS3**

A l'issu de ces résultats et la comparaison avec les données de la littérature [300], Le composé **SS3** est identifié à l' **Acide indole-3-carboxylique** (figure III. 1.3. 3. 10), isolé pour la première fois de cette espèce et le genre *Saccocalyx*.

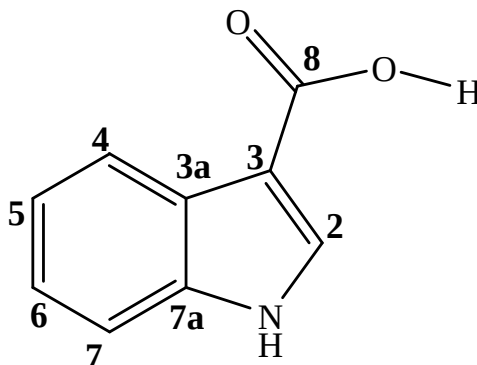


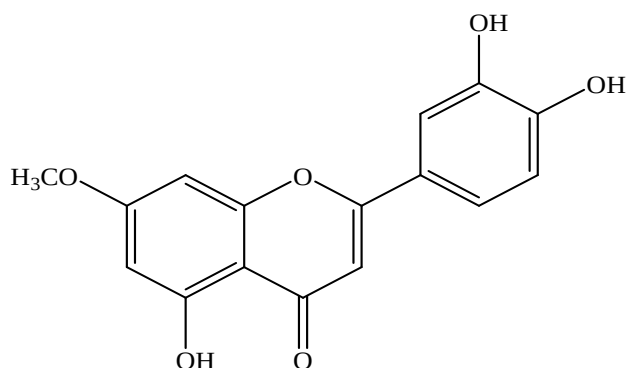
**Figure III. 1. 3. 3. 10. Acide indole-3-carboxylique**

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **SS3** sont regroupés dans le tableau III. 1. 3. 3.

**Tableau III. 1. 3. 3. Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) du composé SS3 enregistrés dans DMSO**

| SS3      |                                                     |                           |
|----------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| Position | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| NH       | 11,79(1H, s)                                        | -                         |
| 2        | 7,99(1H, s)                                         | 132,2                     |
| 3        | -                                                   | 107,4                     |
| 3a       | -                                                   | 126,0                     |
| 4        | 8,01 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,1)                | 120,5                     |
| 5        | 7,16 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 7,1- 1,15)         | 120,9                     |
| 6        | 7,18 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 7,1- 1,3)          | 122,1                     |
| 7        | 7,45 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,3)                | 112,2                     |
| 7a       | -                                                   | 136,4                     |
| 8        | -                                                   | 166,0                     |

## III. 1. 3. 4. Identification structurale du composé SS4



Lutéoline-7-méthyl éther

Le composé **SS4** a été isolé sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. Il est visible à la lumière UV à 366 nm. Sa CCM se colore en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100°C.

L'examen du spectre de masse en mode d'ionisation douce (figure III. 1. 3. 4. 1) du composé **SS4** montre un pic d'ion pseudomoléculaire à  $m/z = 301,2$   $[M+H]^+$ , soit une masse moléculaire égale à 300 uma correspond à une formule brute en  $C_{16}H_{12}O_6$  dont le degré d'insaturation égal à 11.

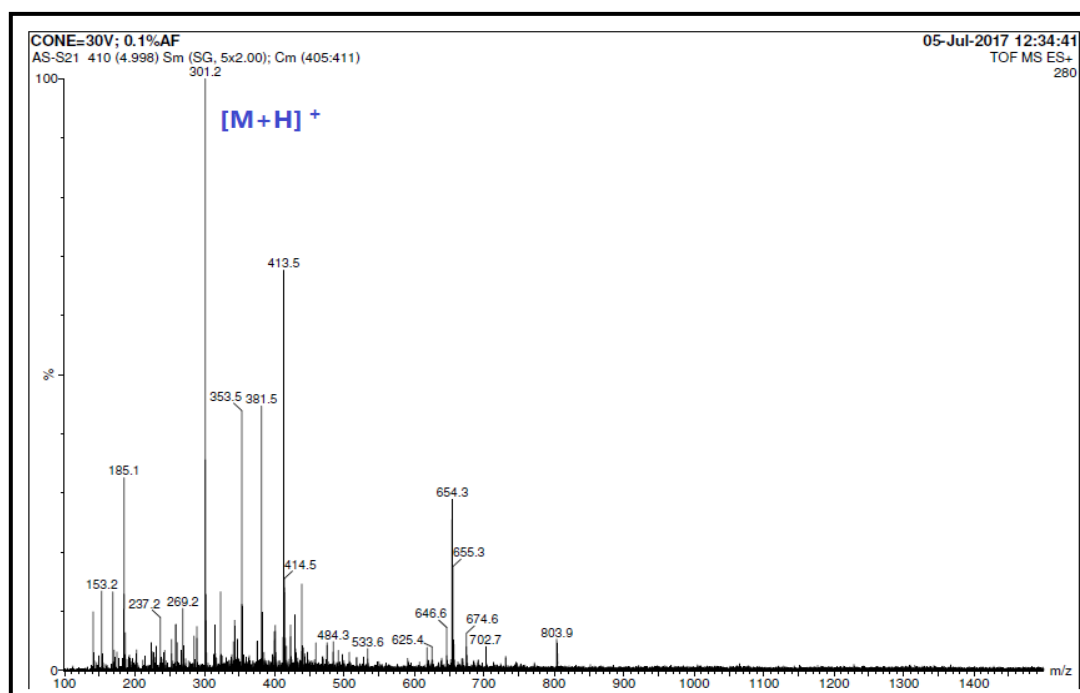


Figure III. 1. 3. 4. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé SS4

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 4.2) de ce composé révèle la présence des signaux déblindés dans la zone s'étallant de 6,00 jusqu'à 8,00 ppm.

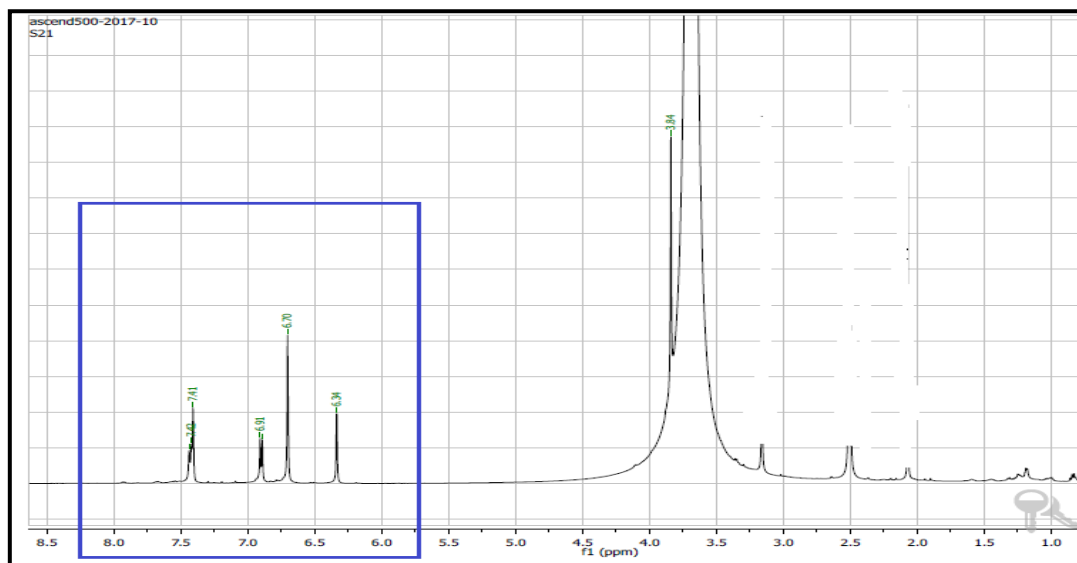


**Figure III. 1. 3. 4. 2. Spectre RMN $^1\text{H}$  du composé SS4**

L'étude du spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (figure III. 1. 3. 4. 3) de ce composé montre la présence de 16 atomes de carbone s'étalant entre 90 et 180 ppm caractéristiques des carbones aromatiques se répartissant en six groupements CH résonnant à ( $\delta_{\text{C}}$  92,82 ; 98,22 ; 104,86 ; 113,63 ; 116,27 et 119,38), neuf carbones quaternaires localisés à ( $\delta_{\text{C}}$  104,86 ; 121,61 ; 146,00 ; 150,10 ; 157,47 ; 165,39 ; 161,37 ; 182,11 et 164,52) et un groupement  $\text{CH}_3$  ( $\delta_{\text{C}}$  56,30).

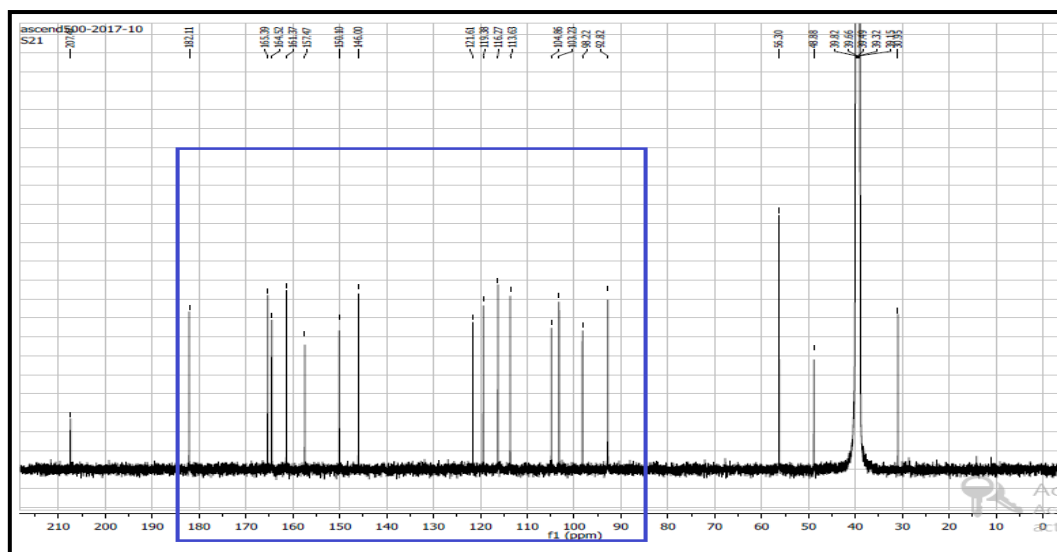


**Figure III. 1. 3. 4. 3. Spectre RMN $^{13}\text{C}$  du composé SS4**

L'examen du spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 4. 4) montre deux singulets chacun résonnant à  $\delta_{\text{H}}$  6,34 et 6,70.

Les corrélations de ces protons observés sur le spectre HSQC (figure III. 1. 3. 4. 4) permettent de déterminer les déplacements chimiques de leurs carbones résonnant à  $\delta_{\text{C}}$  98,22 et 92,82. Ces données conduisent à identifier ces deux groupements CH comme étant 6-CH ( $\delta_{\text{H}}$  6,34/ $\delta_{\text{C}}$  98,22) et 8-CH ( $\delta_{\text{H}}$  6,70/ $\delta_{\text{C}}$  92,8) [304].

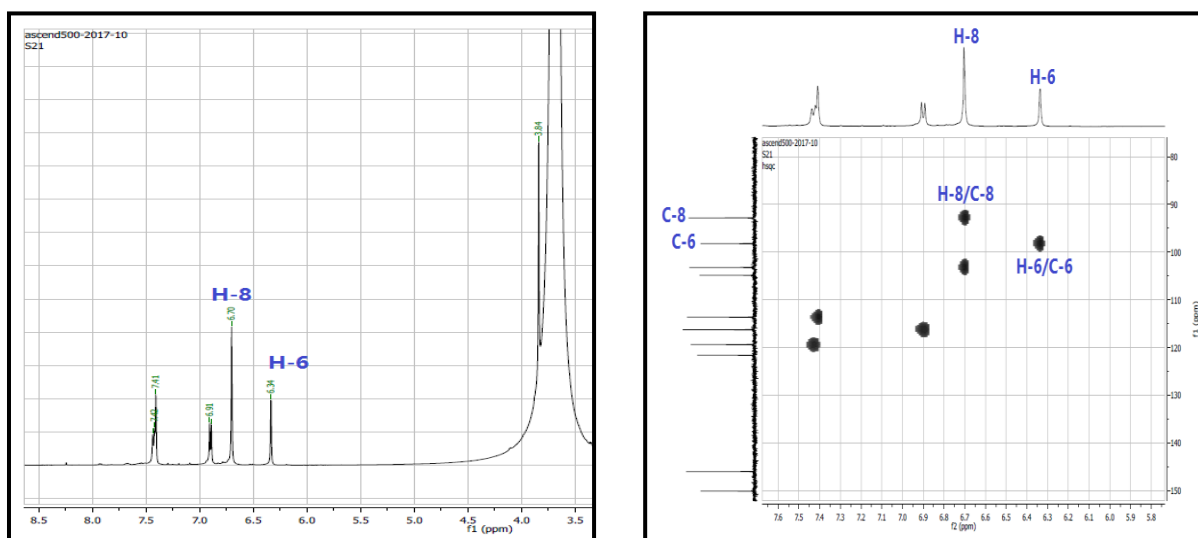


**Figure III. 1. 3. 4. 4. Spectres RMN $^1\text{H}$  et HSQC du cycle A du composé SS4**

A partir de ces protons le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 4. 5) permet de localiser les autres carbones du cycle A par :

- Les corrélations du proton H-6 en  $^2J$  avec des carbones oxygénés qui résonnent à  $\delta_{\text{C}}$  161,37 et 165,39 identifiés comme étant les carbones C-5 et C-7. Ce proton corrèle également en  $^3J$  avec un carbone quaternaire localisé à  $\delta_{\text{C}}$  104,86 attribuable au carbone C-10, comme il montre aussi la corrélation attendue avec le carbone C-8.
- D'autres corrélations sont observées sur ce spectre du proton H-8 avec les carbones C-6, C-7, C-10 et un carbone quaternaire sortant à  $\delta_{\text{C}}$  157,47 attribuable au carbone C-9.

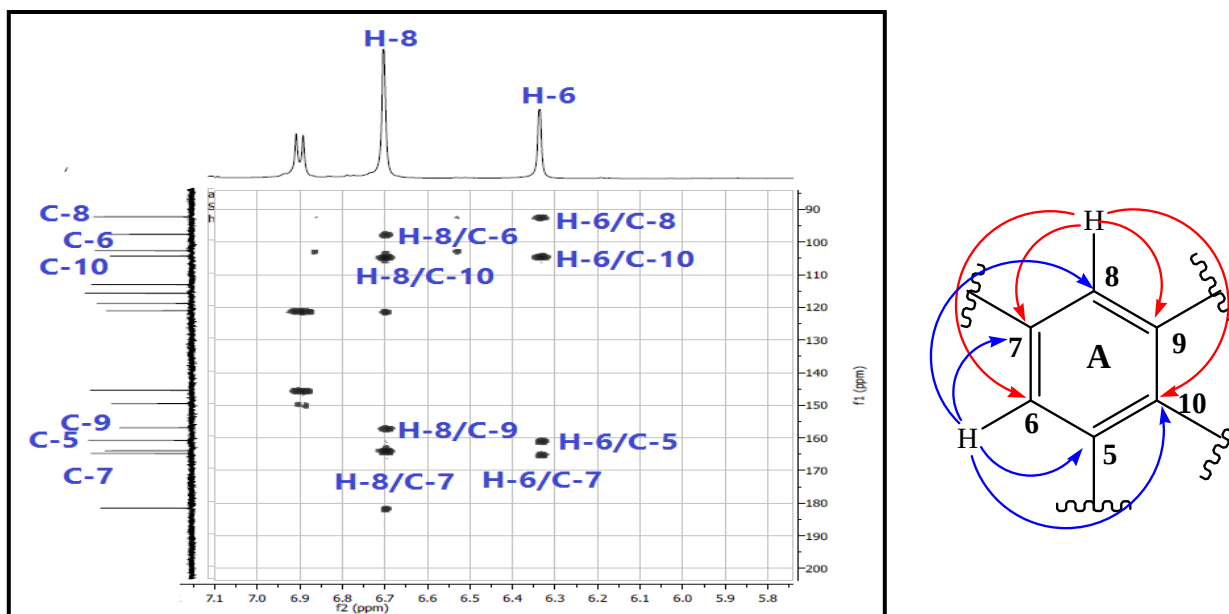


Figure III. 1. 3. 4. 5. Spectre HMBC du cycle A du composé SS4

D'autre part, le spectre RMN  $^1\text{H}$  montre un singulet résonant à 12,95 ppm et ne présentant aucune corrélation sur le spectre HSQC attribuable à un proton hydroxylique positionné au carbone C-5 [304].

Par ailleurs, un singulet d'intégration 3H, sortant à 3,84 ppm sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 4. 6) et formant une tache de corrélation sur le spectre HSQC (figure III. 1. 3. 4. 6) avec le carbone résonant à 56,30 ppm, est attribué aux protons méthoxyliques.

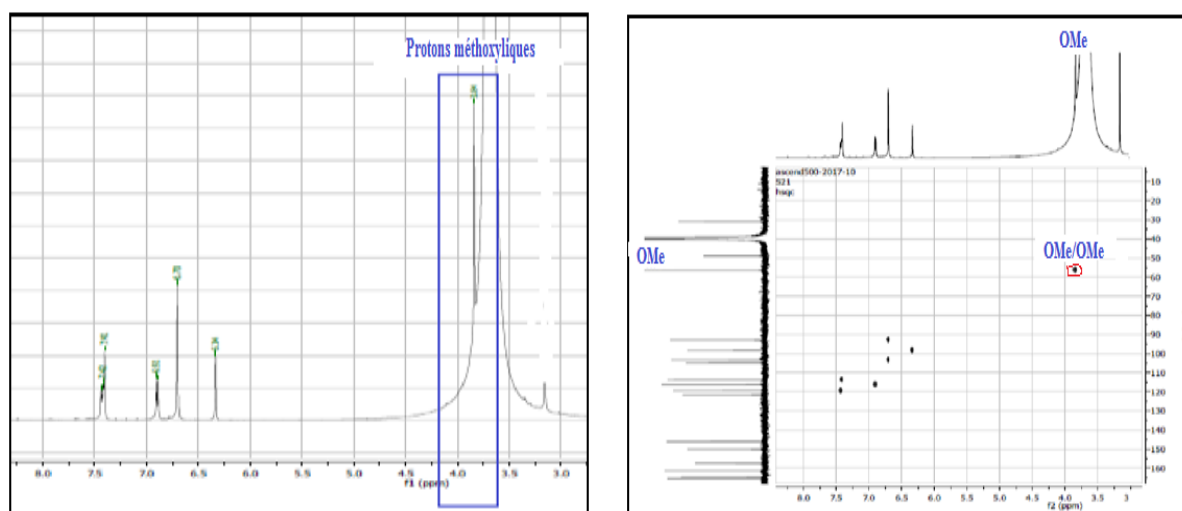


Figure III. 1. 3. 4. 6. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et HSQC des protons méthoxyliques du composé SS4

La position de ce groupement méthoxyle est localisée par le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 4. 7) qui montre la corrélation de ces protons méthylique avec le carbone C-7. A ce stade d'analyse tout les groupements de cycle A sont identifiés.

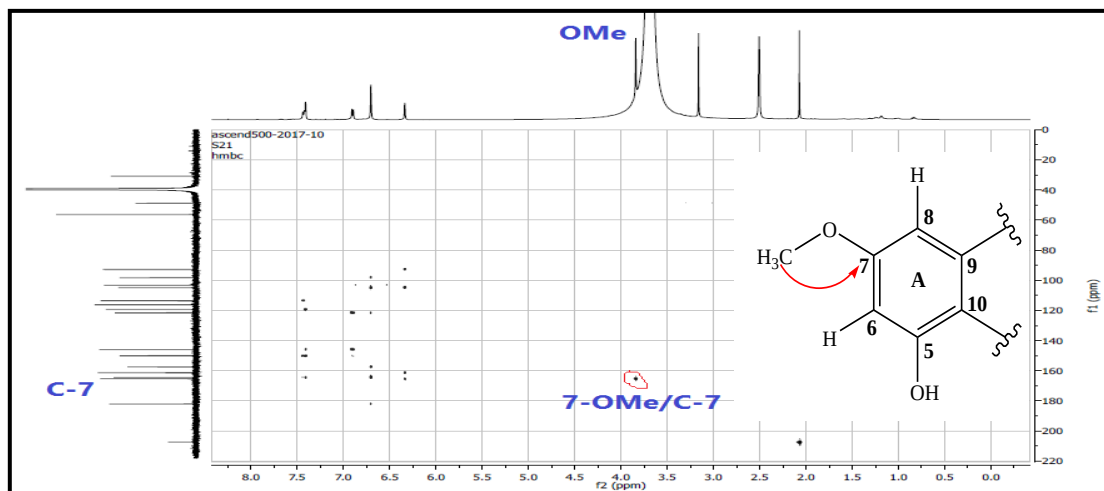


**Figure III. 1. 3. 4. 7. Spectre HMBC des protons méthoxylique du composé SS4**

Le proton localisé à  $\delta_H$  6,70 sous forme singlet attribué au proton H-3 du cycle C suite à ces corrélations HMBC (figure III. 1. 3. 4. 8) avec deux carbones quaternaires résonant à  $\delta_C$  104,86 et 182,11. Ces derniers ne peuvent être que le carbone C-10 déjà identifié et le carbone carbonyle C-4 ( $\delta_C$  182,1). Comme il montre aussi des corrélations avec deux autres carbones quaternaires résonant à 164,52 et 121,61 ppm attribuables aux carbones C-2 et C-1' respectivement.

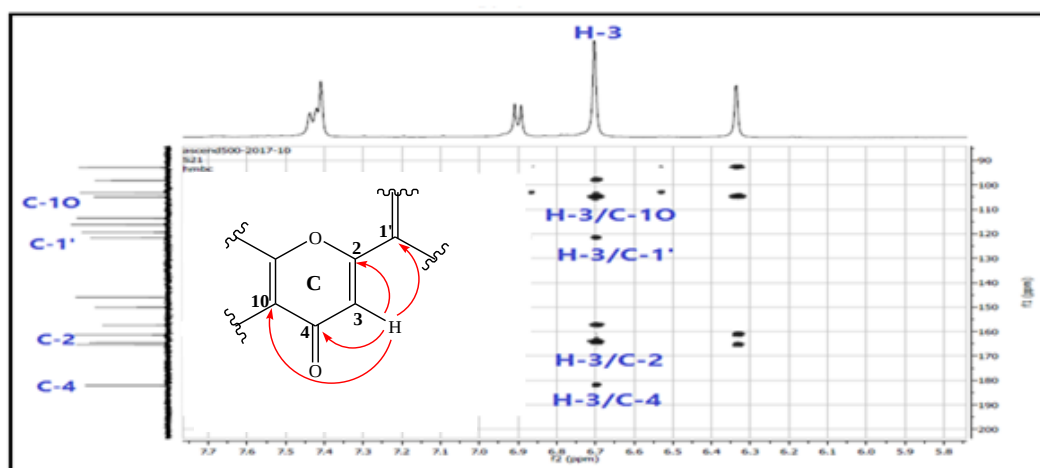


**Figure III. 1. 3. 1. 8. Spectre HMBC montrant les corrélations au niveau du cycle C du composé SS4**

Les signaux restant dans la zone aromatique (figure III. 1. 3. 4. 9) indiquent la présence d'un cycle B de type 1, 3,4-trisubstitué suite aux multiplicités et valeurs des constantes de couplage de ces protons dont le signal sortant à ( $\delta_H$  7,41, s) est attribué au proton H-2'. Le signal résonant à  $\delta_H$  7,42 (d,  $J = 8,5$  Hz) correspond au proton H-6' et en conséquence le proton H-5' résonne à  $\delta_H$  6,91 (d,  $J = 8,1$  Hz).

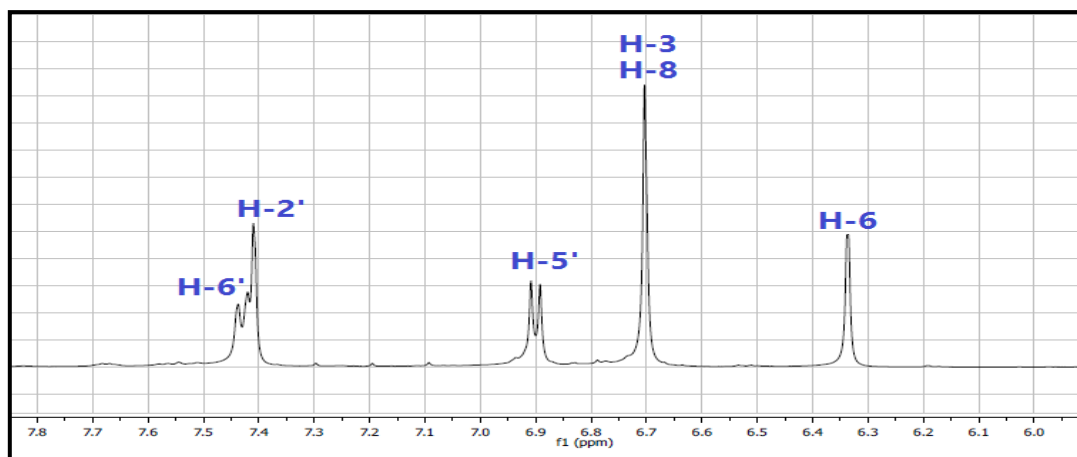


Figure III. 1. 3. 4. 9. Spectre RMN  $^1H$  des protons aromatiques du composé SS4

Les corrélations observées pour les protons de ce système de spins de type ABX sur le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 4. 10.) Permettent de reconnaître tous les carbones du cycle B par les taches visualisées entre :

- Les protons *para* H-2' et H-5' et les carbones C-1' ( $\delta_C$  121,6) et C-6' ( $\delta_C$  119,3), et les carbones oxygénés C-3' ( $\delta_C$  146,0) et C-4' ( $\delta_C$  150,1).
- Le proton H-6' et les carbones C-1' et C-2' ( $\delta_C$  113,6), C-4' et C-5' ( $\delta_C$  116,2).

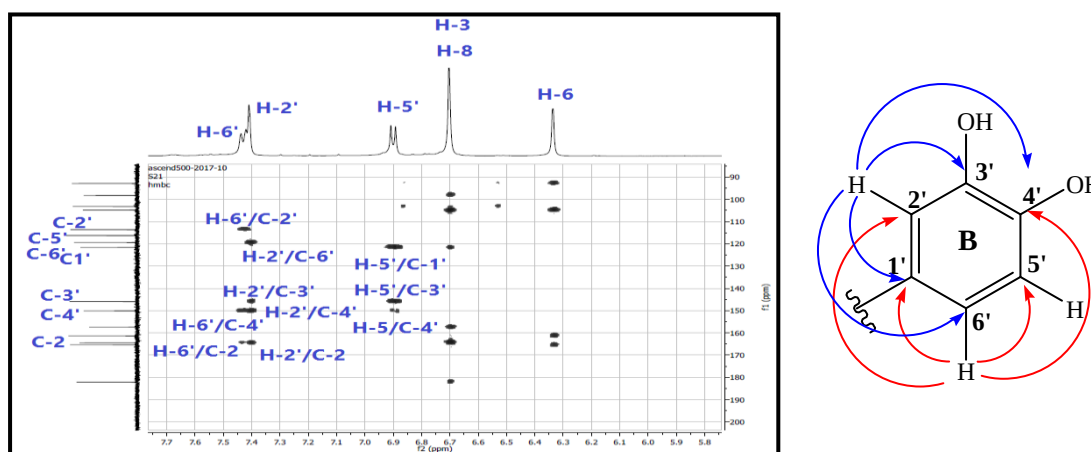


Figure III. 1. 3. 4. 10. Spectre HMBC du cycle B du composé SS4

L'ensemble de ces données spectroscopiques et la comparaison avec celles trouvés dans la littérature [304] conduisent à identifier le composé **SS4** comme étant **2-(3,4-Dihydroxyphenyl)- 5-hydroxy-7-methoxy-4H-1-benzopyran-4-one** connue sous le nom **Lutéoline 7-methyl éther** (figure III. 1. 3. 4. 11.).

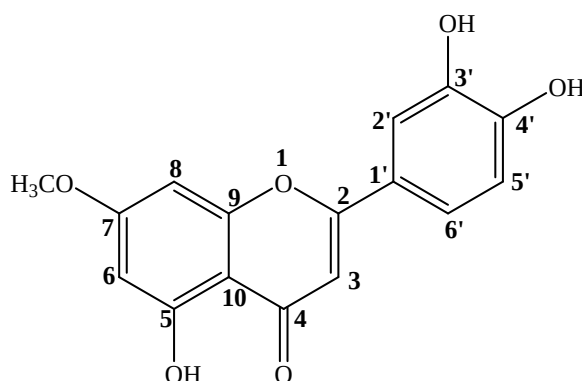


**Figure III. 1. 3. 4. 11. Structure du composé SS4 (Lutéoline-7-methyl éther)**

Ce composé est isolé pour la première fois de l'espèce *Saccocalyx satureioides* et le genre *Saccocalyx*. Il a été obtenu à partir des espèces de la famille des lamiaceae suivantes : *Phlomis cashmeriana* [305], *Satureja thymbra*, *Satureja spinosa* [306], *Leonurus sibiricus* [307] et *Salvia limbata* [308].

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **SS4** sont regroupés dans le tableau III. 1. 3. 4.

**Tableau III. 1. 3. 4 Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) du composé SS4 enregistrés dans DMSO**

| SS4      |                                                     |                           |
|----------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| Position | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| 1        | -                                                   | -                         |
| 2        | -                                                   | 164,5                     |
| 3        | 6,70 (1H, s)                                        | 104,8                     |
| 4        | -                                                   | 182,1                     |
| 5        | -                                                   | 161,3                     |
| 6        | 6,34 (1H, s)                                        | 98,2                      |
| 7        | -                                                   | 165,3                     |
| 8        | 6,70 (1H, s)                                        | 92,8                      |
| 9        | -                                                   | 157,4                     |
| 10       | -                                                   | 104,8                     |
| 1'       | -                                                   | 121,6                     |
| 2'       | 7,41 (1H, s)                                        | 113,6                     |

|                    |                                      |       |
|--------------------|--------------------------------------|-------|
| 3'                 | -                                    | 146,0 |
| 4'                 | -                                    | 150,1 |
| 5'                 | 6,91 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,1) | 116,2 |
| 6'                 | 7,42 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5) | 119,3 |
| 7-OCH <sub>3</sub> | 3,84 (3H, <i>s</i> )                 | 56,3  |
| 5-OH               | 12,95 (H, <i>s</i> )                 | -     |

### III. 1. 3. 5. Identification structurale du composé SS5

#### Lutéoline 3',7-diméthyl éther (Velutine).

Ce composé purifié sous forme d'une poudre jaune est visible à la lumière UV à 254 et 366 nm. Il montre sur CCM une tache jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C.

Le spectre de masse ESI-MS de ce composé (figure III. 1. 3. 5. 1) enregistré en mode positif donne un pic d'ion pseudomoléculaire à  $m/z = 315,2$   $[M+H]^+$  correspondant à une masse moléculaire de 314 uma et une formule brute en C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>.

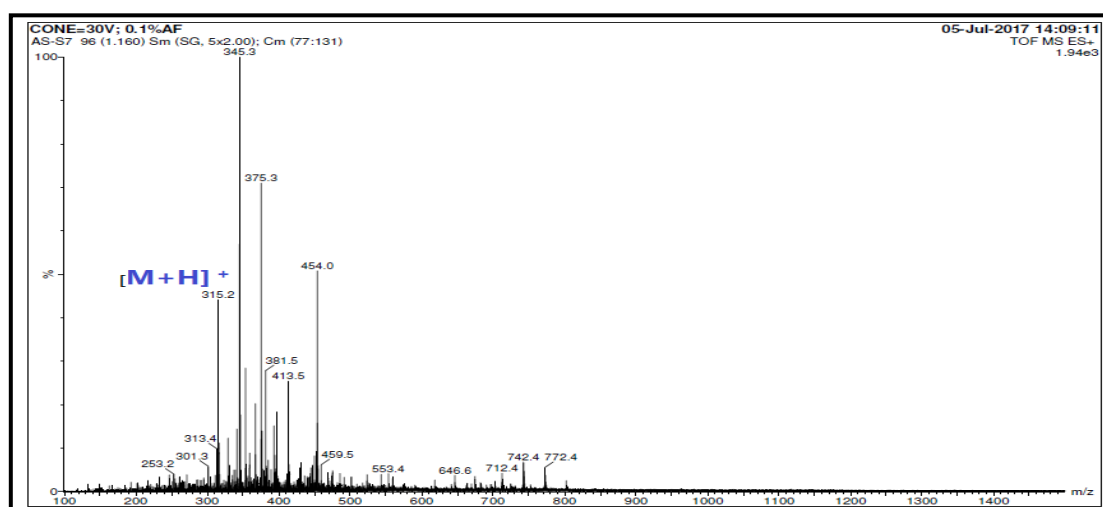


Figure III. 1. 3. 5. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé SS5

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 5. 2) du composé SS5 présente une grande similitude avec celui du composé SS4 précédent. La différence notable consiste en l'apparition de deux singulets d'intégration 3H chacun, le premier à  $\delta_{\text{H}}$  3,87 et le deuxième à  $\delta_{\text{H}}$  3,90 attribuables à deux groupements  $\text{OCH}_3$ .

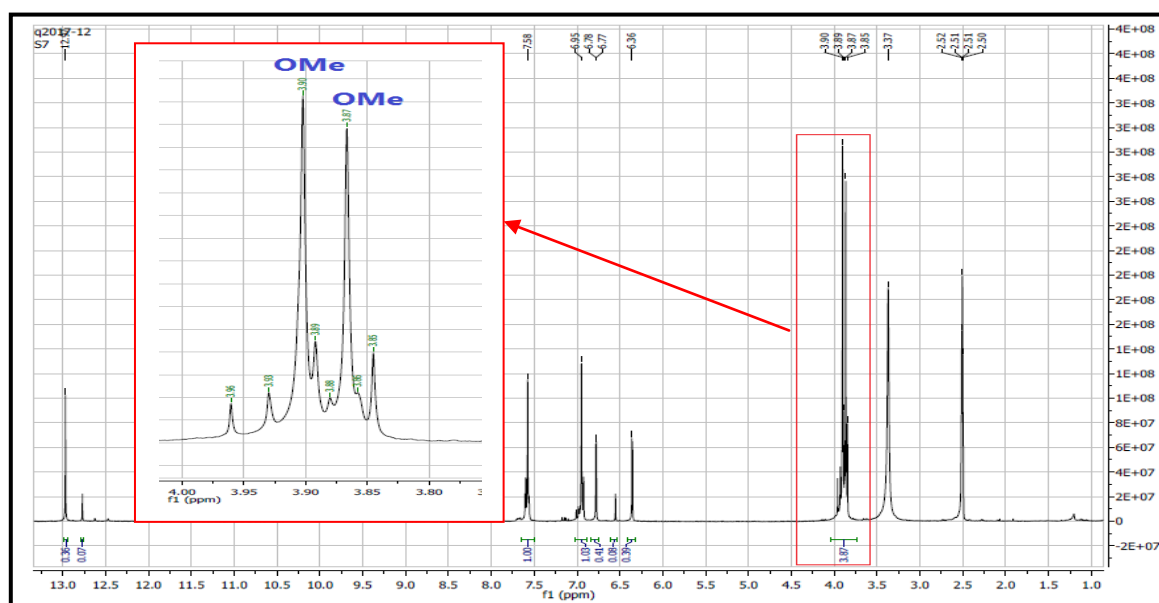


**Figure III. 1. 3. 5. 2. Spectre RMN  $^1\text{H}$  des composés SS5**

Les carbones de ces protons méthoxyliques sont localisés par l'analyse du spectre HSQC (figure III. 1. 3. 5. 3) à  $\delta_C$  55,98/  $\delta_H$  3,87 et  $\delta_C$  56,3/  $\delta_H$  3,90.

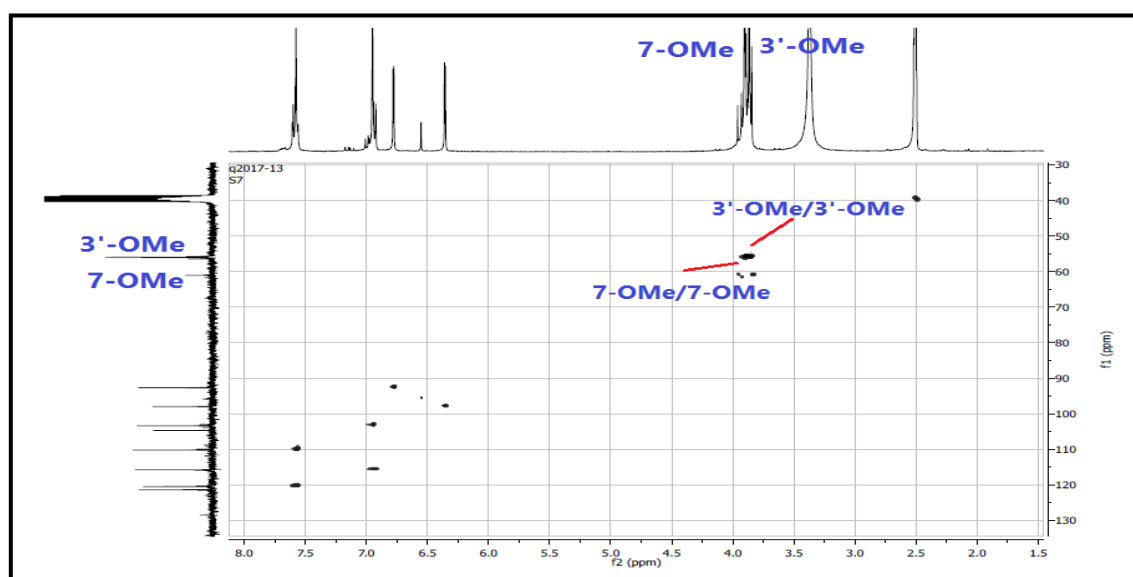


**Figure III. 1. 3. 5. 3. Spectre HSQC des protons méthoxyliques du composé SS5**

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 5. 4) du composé **SS5** montre facilement les deux signaux du cycle A sortant à  $\delta_{\text{H}}$  6,36 ( $d$ ,  $J = 2,2$  Hz) attribuable au proton H-6 et à  $\delta_{\text{H}}$  6,77 ( $d$ ,  $J = 2,2$  Hz) accordé au proton H-8 et les protons du cycle B résonant à  $\delta_{\text{H}}$  7,56 ( $d$ ,  $J = 2,2$  Hz) accordé au proton H-2' et les protons du cycle C résonant à  $\delta_{\text{H}}$  7,60 ( $dd$ ,  $J = 7,7 - 2,1$  Hz/ H-6'),  $\delta_{\text{H}}$  6,93 ( $d$ ,  $J = 7,7$  Hz/H-5') et  $\delta_{\text{H}}$  7,00 ( $d$ ,  $J = 2,1$  Hz / H-2'). Comme il présente également un signal qui apparaît sous la forme de singulet à 6,95 ppm, attribuable au proton H-3 du cycle C.

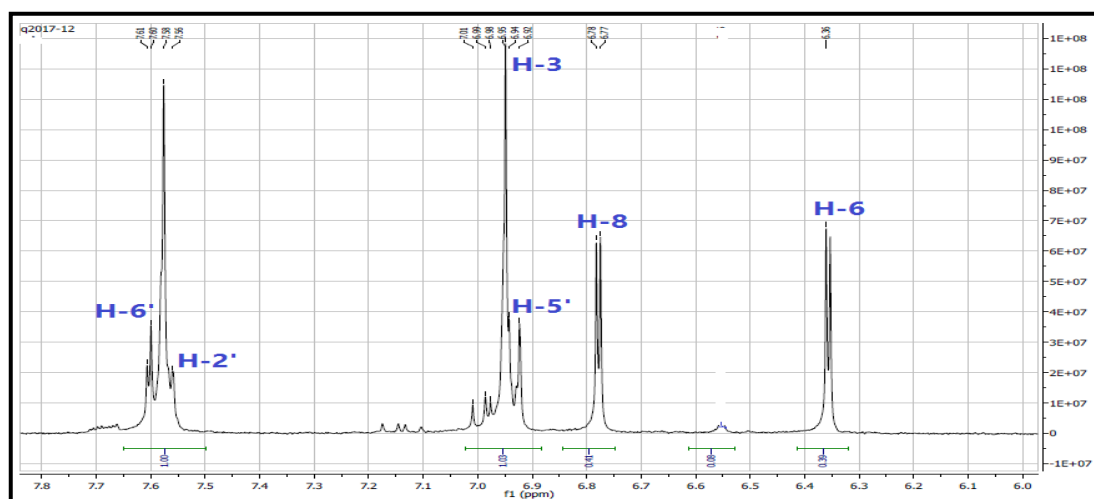


Figure III. 1. 3. 5. 4. Spectre RMN  $^1\text{H}$  de l'aglycone du composé **SS5**

Les carbones de ces protons sont localisés par l'analyse du spectre HSQC (figure III. 1. 3. 5. 5) à  $\delta_{\text{C}}$  97,9 (C-6), 92,6 (C-8), 103,3 (C-3), 110,1 (C-2'), 115,7 (C-5') et 120,4 (C-6').

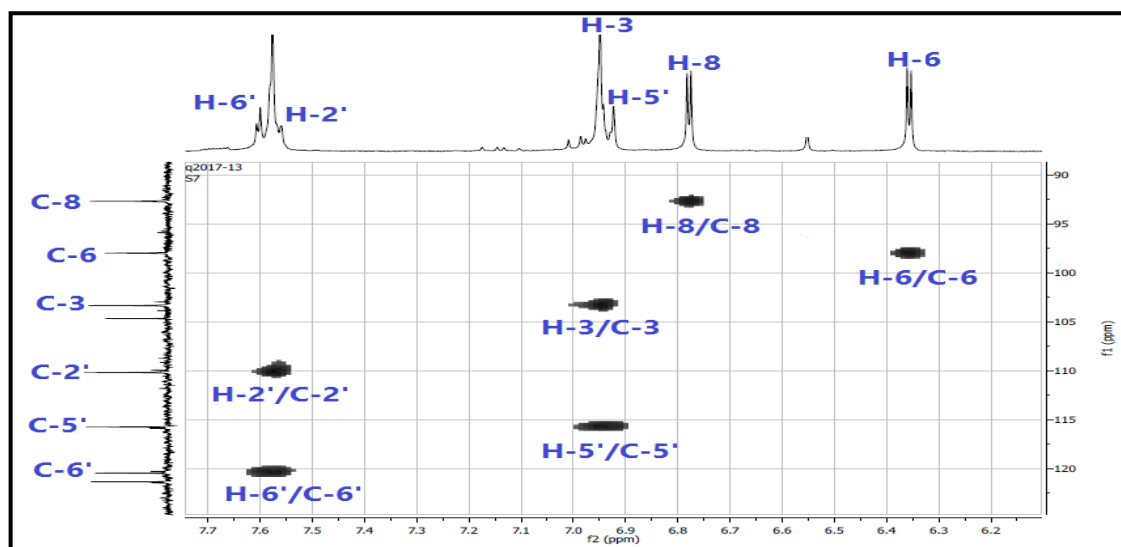


Figure III. 1. 3. 5. 5. Spectre HSQC du composé **SS5**

Le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 5. 6) permet d'identifier les autres carbones de ce composé à partir des corrélations en  $^2J$  et  $^3J$  des protons H-6 et H-8 pour le cycle A; H-2', H-5' et H-6' pour le cycle B et H-3 pour le cycle C. Ceci conduit à la localisation des carbones oxygénés à  $\delta_C$  161,1, 165,1, 157,2, 163,9 et 150,8 attribués aux carbones C-5, C-7, C-9, C-2 et C-4' respectivement (figure III. 1. 3. 5. 5).

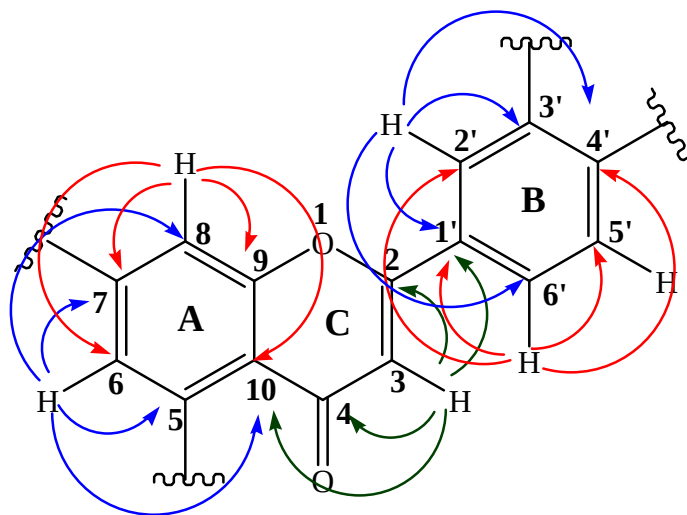


Figure III. 1. 3. 5. 5. Corrélations HMBC des protons aromatiques du composé  
SS5

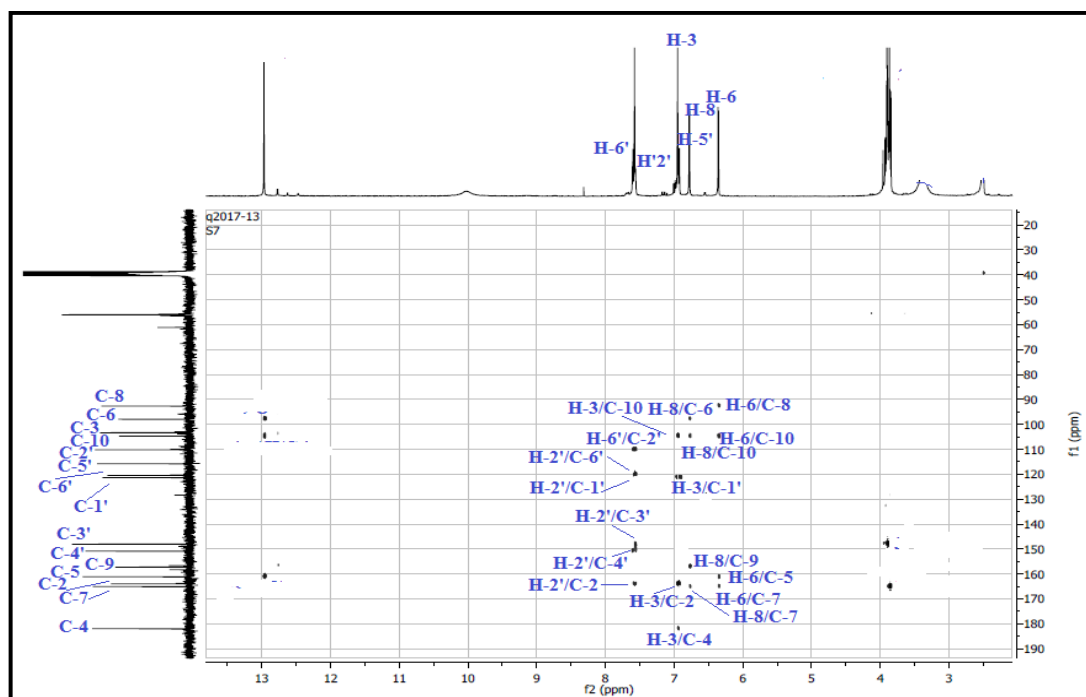


Figure III. 1. 3. 5. 6. Spectre HMBC des protons aromatiques du composé SS5

De même, il permet d'identifier les carbones quaternaires C-1' ( $\delta_C$  121,3) et C-10 ( $\delta_C$  104,6). Les carbones C-3 et C-4 sont repérés à 103,3 et 181,9 ppm respectivement comme le montre le spectre RMN  $^{13}C$  (figure III. 1. 3. 5. 7).

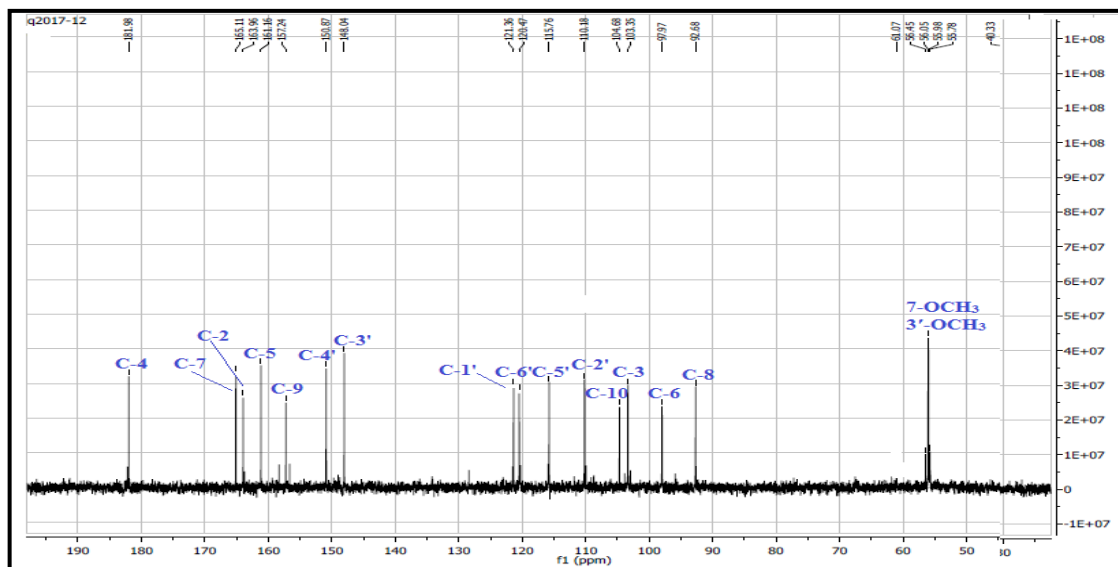


Figure III. 1. 3. 5. 7. Spectre RMN  $^{13}C$  du composé SS5

La position des deux groupements méthoxyles est localisée par l'analyse du spectre HMBC (figure III. 1. 3. 5. 8), qui montre des corrélations entre les protons sortant à  $\delta_H$  3,90 et le carbone C-7 ( $\delta_C$  165,1) du cycle A et entre les protons du deuxième méthoxyle  $\delta_H$  3,87 et le carbone C-3' ( $\delta_C$  148,0) du cycle B.

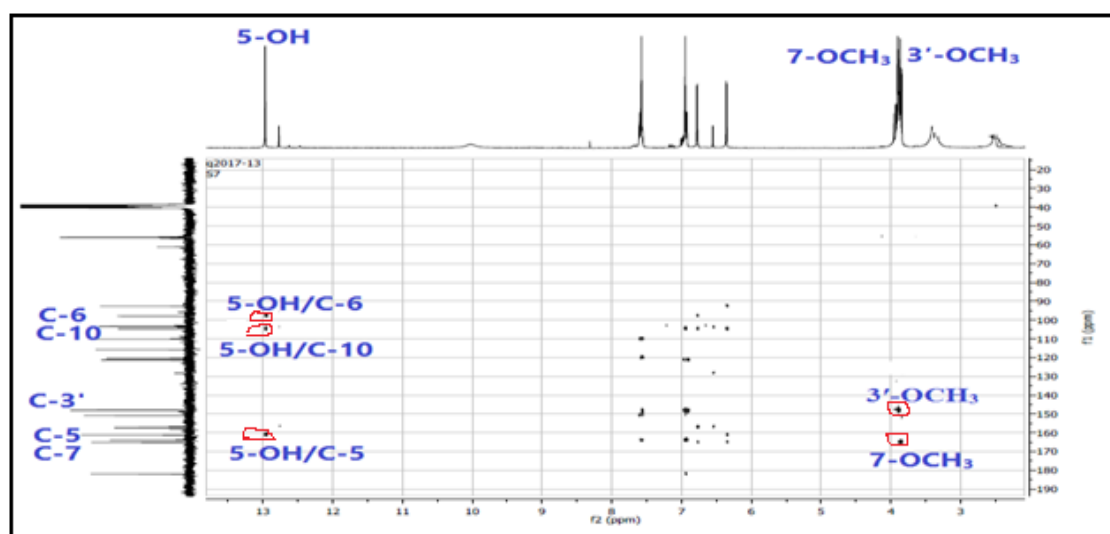


Figure III. 1. 3. 5. 8. Spectre HMBC des protons méthoxyliques et du proton hydroxylique du composé SS5

Le proton hydroxyle qui résonne à 12,75 ppm montre aussi des corrélations sur le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 5. 9) avec les carbones du cycle A : C-5, C-6 et le carbone quaternaire C-10. Ces corrélations indiquent l'attachement de ce groupe hydroxylique au carbone C-5 (figure III. 1. 3. 5. 9).

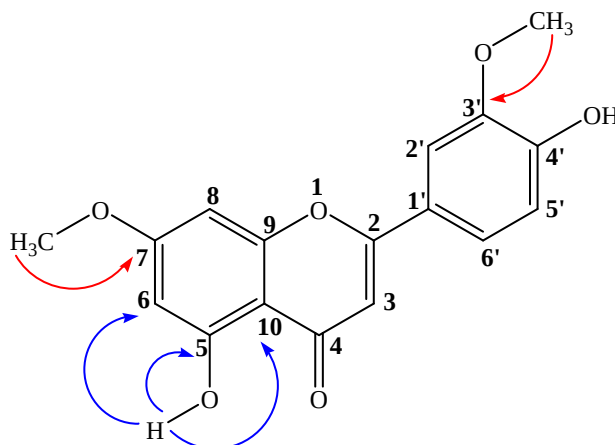


**Figure III. 1. 3. 5. 9. Corrélations HMBC des protons méthoxyliques et du proton hydroxylique du composé SS5**

Tous ces résultats comparés avec ceux de la littérature [309], permettent d'identifier la structure du composé **SS5** au **Luteoline 3',7-dimethyl éther** connu sous le nom **Velutine** (figure III. 1. 3. 5. 10).

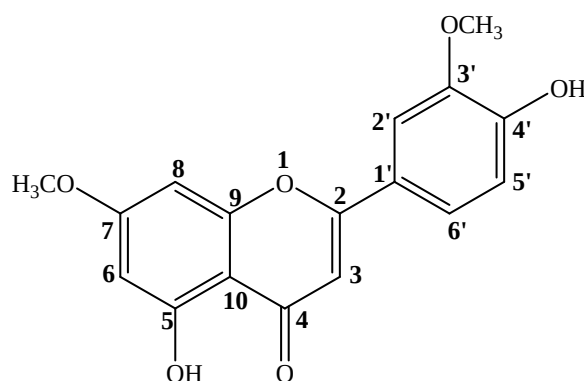


**Figure III. 1. 3. 5. 10. Structure du composé SS5 Lutéoline 3',7-dimethyl éther (Velutin)**

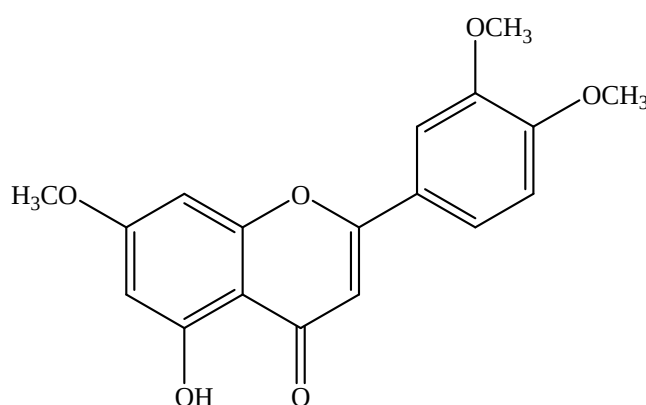
Comme le composé précédent **SS4**, ce composé (**SS5**) est isolé pour la première fois de l'espèce *Saccocalyx satureoides*, et le genre *Saccocalyx*. Il a été antérieurement isolé à partir des espèces suivantes *Melissa officinalis* [310] et *Ballota undulata* [311] de la famille des Lamiaceae.

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **SS5** sont réunis dans le tableau III. 1. 3..5.

**Tableau III. 1. 3. 5. Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) du composé SS5 enregistrés dans DMSO**

| SS5                 |                                                     |                           |
|---------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| Position            | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| 1                   | -                                                   | -                         |
| 2                   | -                                                   | 163,9                     |
| 3                   | 6,95 (1H, <i>s</i> )                                | 103,3                     |
| 4                   | -                                                   | 181,9                     |
| 5                   | -                                                   | 161,1                     |
| 6                   | 6,36 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,2)                | 97,9                      |
| 7                   | -                                                   | 165,1                     |
| 8                   | 6,77 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,2)                | 92,6                      |
| 9                   | -                                                   | 157,2                     |
| 10                  | -                                                   | 104,6                     |
| 1'                  | -                                                   | 121,3                     |
| 2'                  | 7,56 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)                | 110,1                     |
| 3'                  | -                                                   | 148,0                     |
| 4'                  | -                                                   | 150,8                     |
| 5'                  | 6,93 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,7)                | 115,7                     |
| 6'                  | 7,60 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 7,7-2.1)           | 120,4                     |
| 7-OCH <sub>3</sub>  | 3,90 (3H, <i>s</i> )                                | 56,3                      |
| 3'-OCH <sub>3</sub> | 3,87 (3H, <i>s</i> )                                | 55,98                     |
| 5-OH                | 12,75 (H, <i>s</i> )                                | -                         |

### III. 1. 3. 6. Identification structurale du composé SS6



**Lutéoline 3',4',7-triméthyl éther (Gonzalitosine)**

Le composé **SS6** a été isolé aussi sous forme d'une poudre jaune. Il est visible à la lumière UV à 254 et 366 nm. Sa CCM se colore en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100°C.

Le spectre de masse ESI-MS (figure III. 1. 3. 6. 1) du composé **SS6** obtenu en mode positif présente un pic d'ion pseudomoléculaire à  $m/z = 329,3$   $[M+H]^+$  soit une masse moléculaire de 328 uma correspond à la formule brute  $C_{18}H_{16}O_6$ .

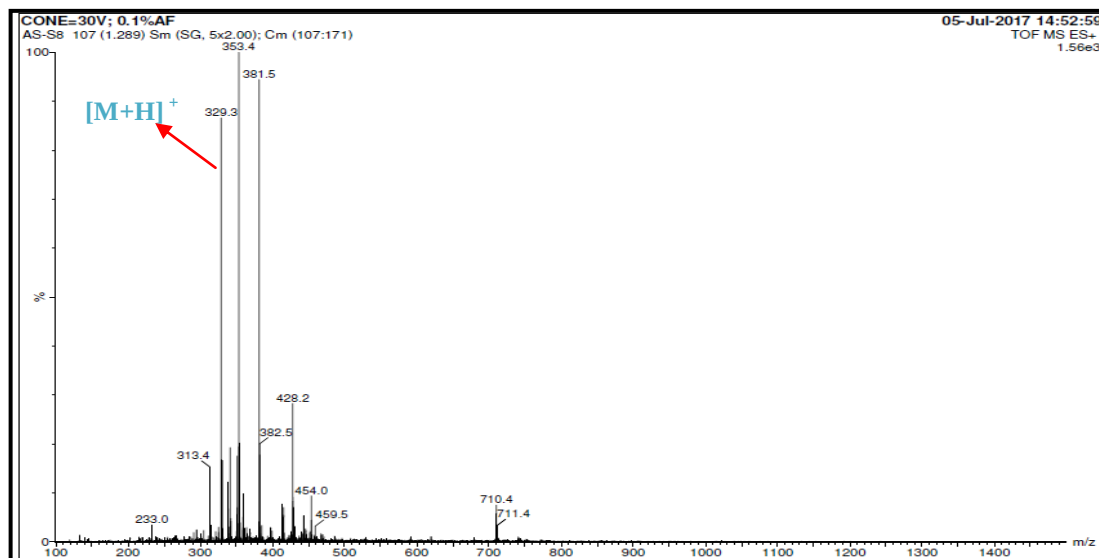


Figure III. 1. 3. 6. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé **SS6**

L'élucidation structurale de ce composé a été réalisée par comparaison entre ses spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  et ceux du **SS4** et **SS5** déjà identifiés.

Les données RMN du proton et carbone (figure III. 1. 3. 6. 2) de ce composé suggèrent son appartenance à la classe des flavonoïdes.

Cette comparaison montre une grande similitude structurale au niveau des cycles A et C avec quelques différences au niveau du cycle aromatique B.

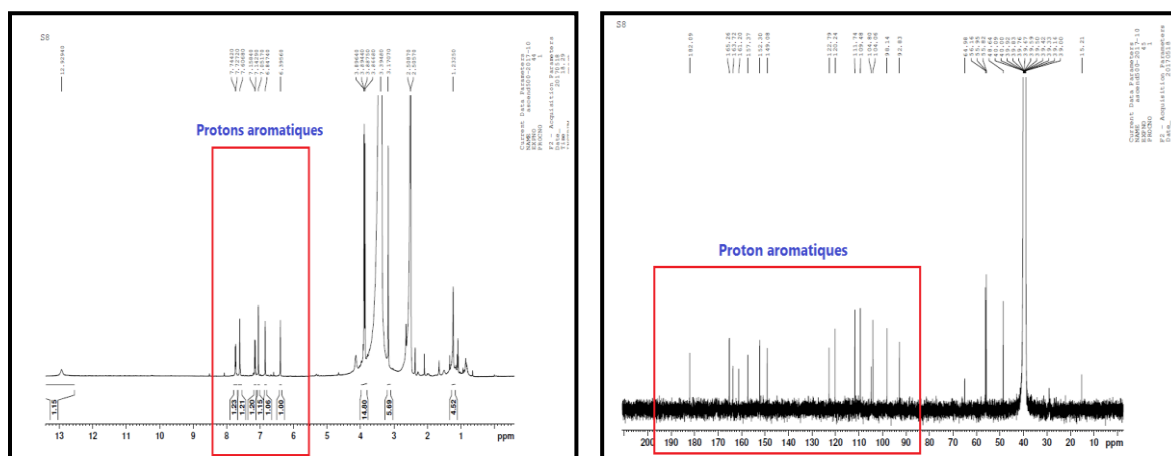


Figure III. 1. 3. 6. 2. Spectre RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  du composé **SS6**

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 6. 3) révèle clairement la présence de trois signaux sous forme des singulets et deux signaux doublets, d'intégration 1H chacun, dans la zone des protons aromatiques.

L'assignement des protons aromatiques à leurs carbones sur le spectre HSQC (figure III. 1. 3. 6. 3) conduit à la localisation des protons du cycle A. En effet, les deux singulets résonant à  $\delta_{\text{H}}$  6,39/  $\delta_{\text{C}}$  98,1 et  $\delta_{\text{H}}$  6,84/  $\delta_{\text{C}}$  92,8 sont attribués aux protons H-6 et H-8.

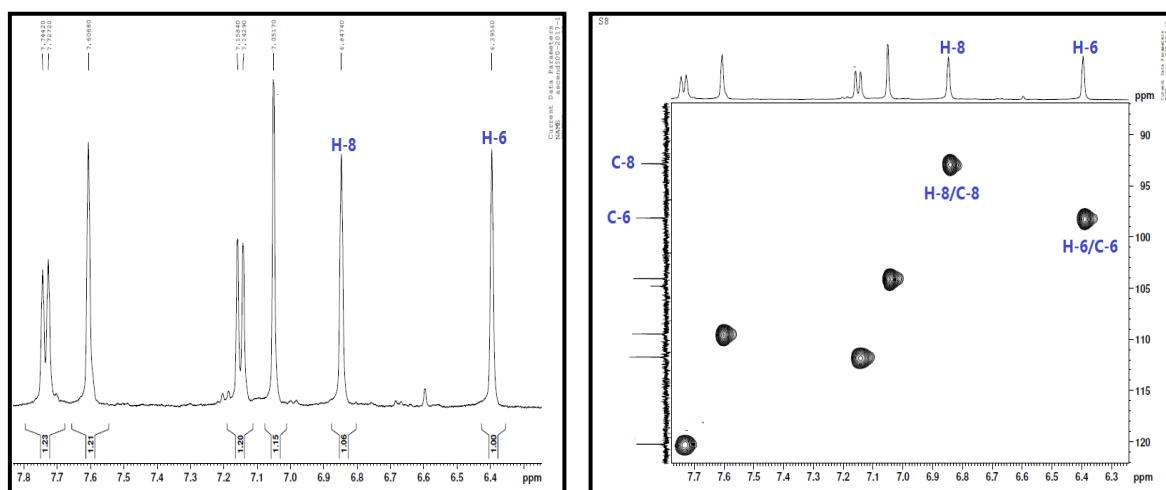


**Figure III. 1. 3. 6. 3. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et HSQC du composé SS6**

Les positions de ces deux protons sont confirmées par l'analyse du spectre HMBC (figure III. 1. 3. 6. 4) qui montre des corrélations en  $^3J$  entre le proton H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  6,39) et les carbones C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  161,2), C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  165,2), C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  92,8) et C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  104,8) et le proton H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  6,84) avec les carbones C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  98,1), C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  165,2), C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  157,3) et C-10.

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 6. 3) montre aussi un signal sous forme d'un singulet résonant à  $\delta_{\text{H}}$  7,05 attribué au proton H-3 du cycle C en raison de ces corrélations HMBC (figure III. 1. 3. 6. 4) en  $^2J$  et  $^3J$  avec les carbones quaternaires C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  163,7), C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  104,8) et un carbone résonant à  $\delta_{\text{C}}$  182,0 qui ne peut être que le carbone carbonyle C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  182,0), il corrèle aussi avec le carbone C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  122,7) du cycle B.

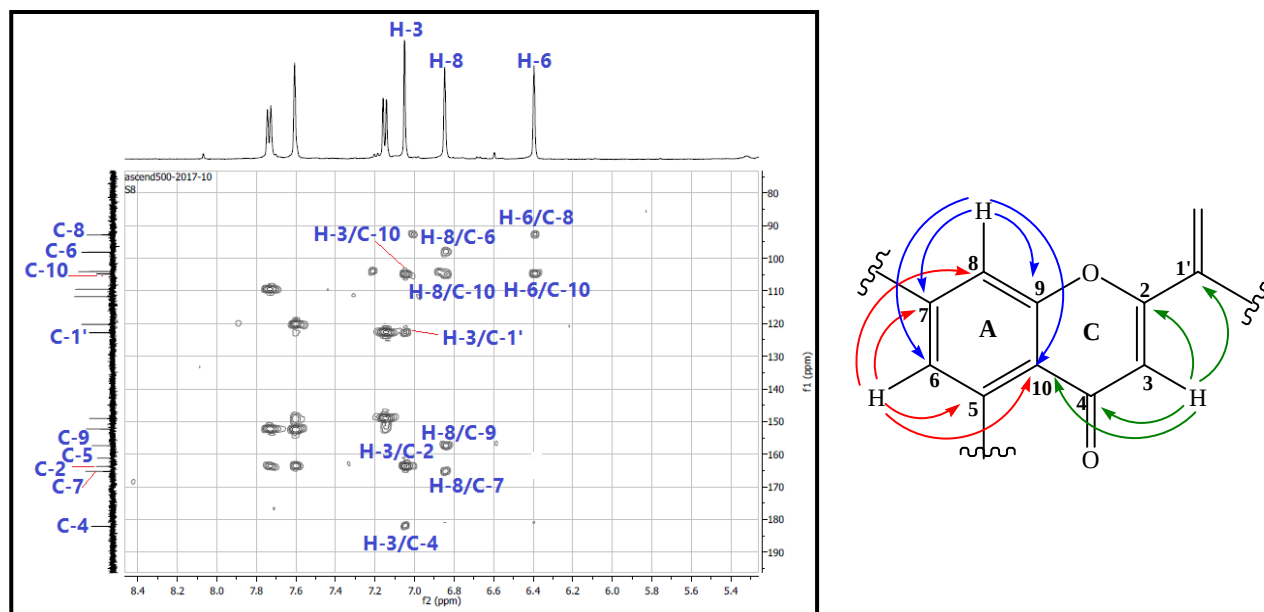


Figure III. 1. 3. 6. 4. Spectre HMBC du composé SS6

Les signaux remarquables dans les spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (figure III. 1. 3. 6. 2) sortant dans la zone des protons et carbones aromatiques témoignent de la présence d'un cycle B de type ABX. Ceci est supporté d'une part par le signal d'un proton sortant sous forme d'un singulet résonant à  $\delta_{\text{H}}$  7,60 attribué au proton H-2' et d'autre part par deux doublets résonnent à  $\delta_{\text{H}}$  7,14 et 7,73 d'intégration 1H chacun et possédant une constante de couplage  $J = 8,5$  Hz. Cette valeur de  $J$  indique une position *ortho* pour ces protons ce qui permet de les attribuer respectivement aux protons H-5' et H-6' du cycle B (figure III. 1. 3. 6. 5).

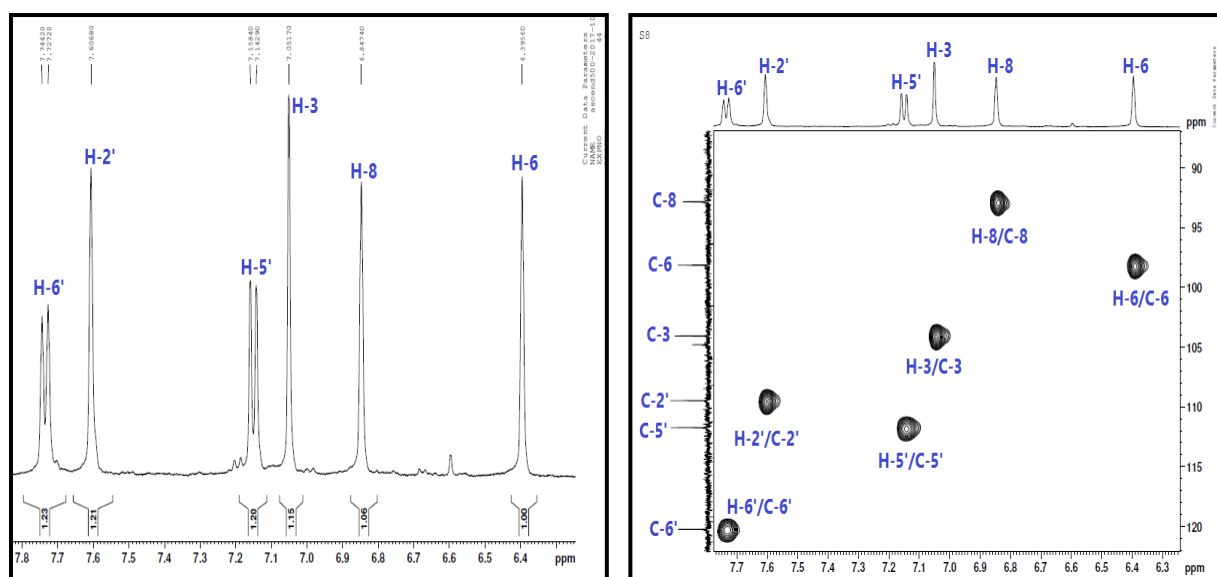


Figure III. 1. 3. 6. 5. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et HSQC du composé SS6

Les carbones quaternaires de ce cycle sont localisés par l'analyse HMBC (figure III. 1. 3. 6. 6) en suivant la même procédure appliquée aux composés flavonoïdiques décrits précédemment (**SS4**, **SS5**) à travers les corrélations en  $^2J$  et  $^3J$  :

- Le proton H-2' et les carbones C-1' ( $\delta_C$  122,7), C-2 ( $\delta_C$  163,7), C-3' ( $\delta_C$  149,0), C-4' ( $\delta_C$  152,3) et C-6' ( $\delta_C$  120,2).
- Le proton H-5' et les carbones C-1', C-3', C-4' et C-6'.
- Le proton H-6' et les carbones C-1', C-2' ( $\delta_C$  109,4), C-4', C-5' ( $\delta_C$  111,7) et C-2 ( $\delta_C$  163,7)

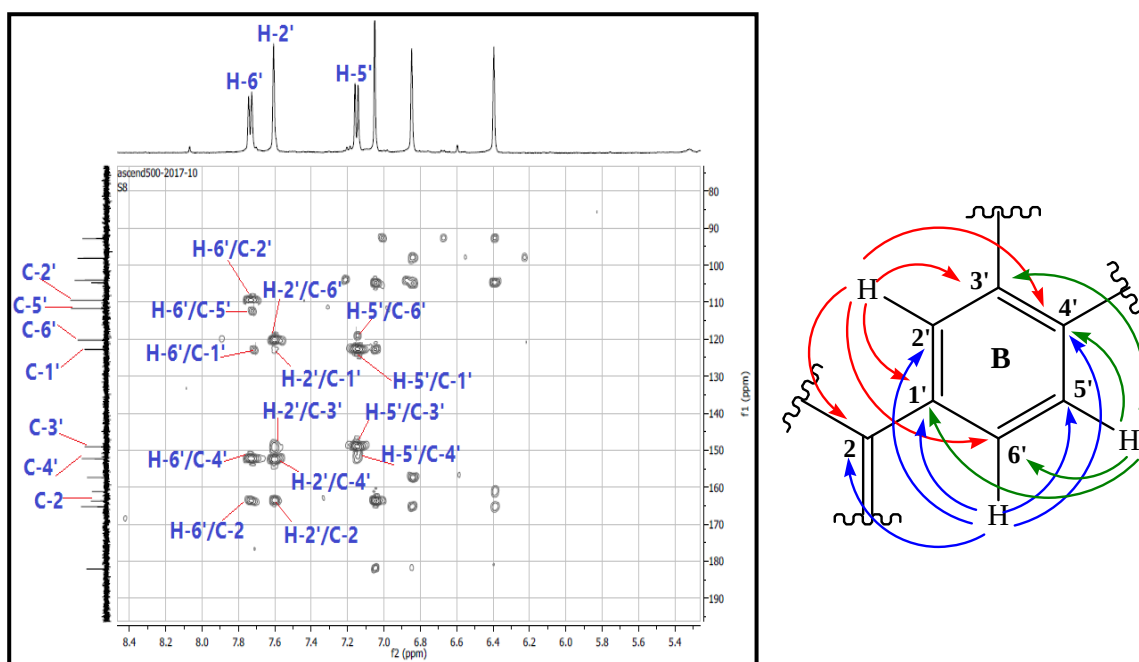


Figure III. 1. 3. 6. 6. Spectre HMBC du composé **SS6**

Les différences remarquées au niveau du cycle B de ce composé par rapport aux composés **SS4** et **SS5** résident dans l'apparition sur le spectre RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  (figure III. 1. 3. 6. 7) de **SS6** un signal résonant à ( $\delta_H$  3,89/  $\delta_C$  55,8) attribué à un groupement méthoxyle.

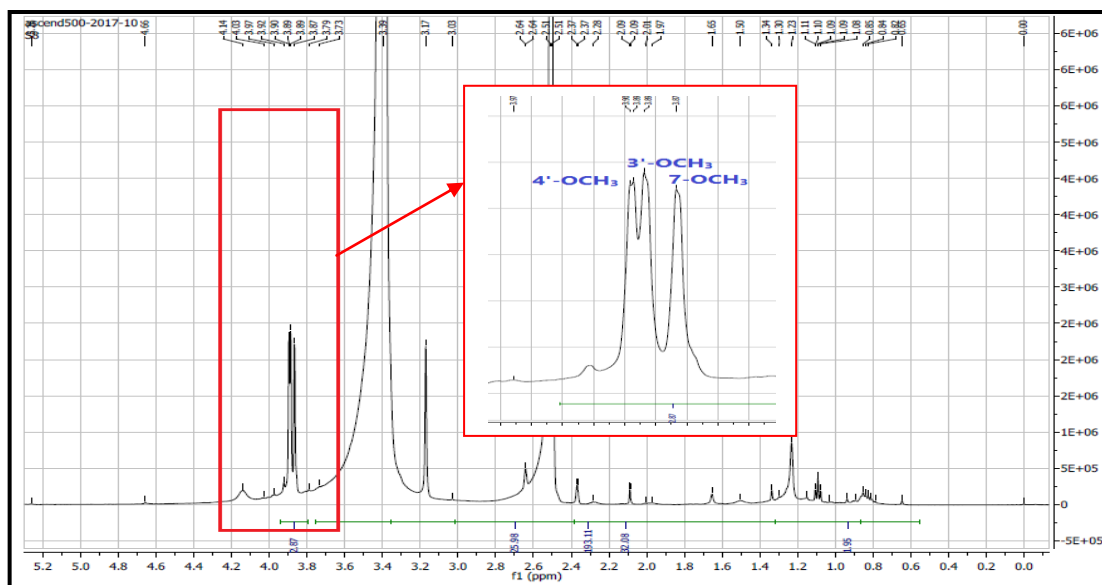


**Figure III. 1. 3. 6. 7. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé SS6**

Ceci est confirmé par les corrélations observées sur le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 6. 8) des protons méthoxyliques avec le carbone C-4'. Ce spectre montre aussi les corrélations de deux autres groupements méthoxyles, le premier corrèle avec le carbone C-7 du cycle A, le deuxième montre une corrélation avec le carbone quaternaire C-3' du cycle B.

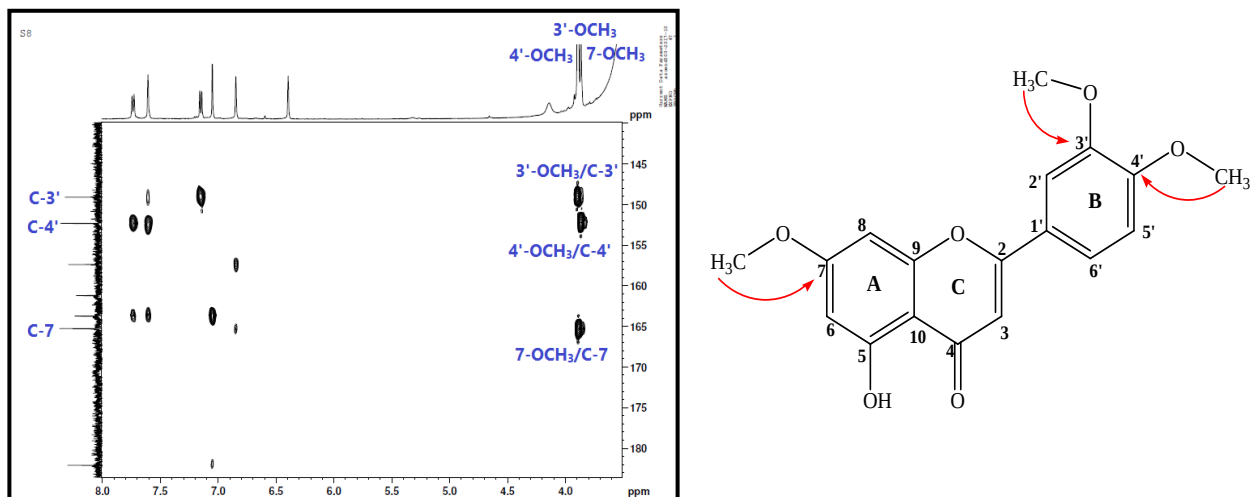


**Figure III. 1. 3. 6. 8. Spectre HMBC du composé SS6**

Les carbones de ces protons méthoxyliques 7-OCH<sub>3</sub> et 3'-OCH<sub>3</sub> sont localisés par l'analyse du spectre HSQC (figure III. 1. 3. 6. 9) à ( $\delta_{\text{H}}$  3,86/  $\delta_{\text{C}}$  56,1) et ( $\delta_{\text{H}}$  3,88/  $\delta_{\text{C}}$  55,9) respectivement.

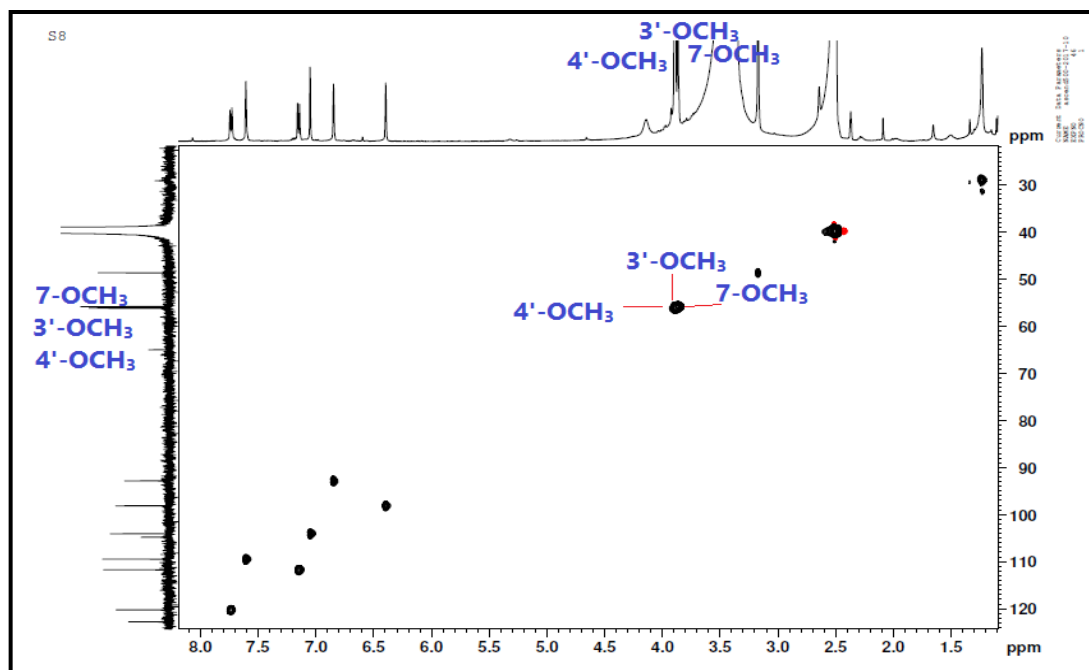


Figure III. 1. 3. 6. 9. Spectre HSQC du composé SS6

L'ensemble de ces données spectrales et celles de la littérature [312,313] permettent d'assigner pour le composé **SS6** la structure **Lutéoline 3',4',7-triméthyl éther** connue sous le nom **Gonzalitosine** (figure III. 1. 3. 6. 10). Sa présence dans le genre *Saccocalyx* même pour l'espèce *Saccocalyx satireioides* est signalée pour la première fois.

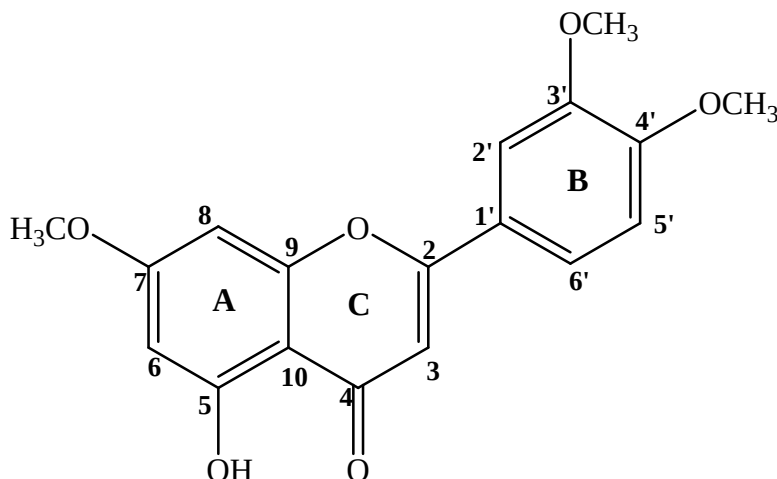


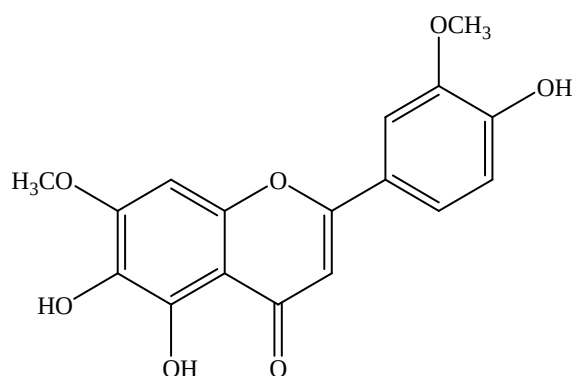
Figure III. 1. 3. 6. 10. Lutéoline 3',4',7-triméthyl éther (Gonzalitosin)

Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **SS6** sont réunis dans le tableau III. 1. 3. 6.

**Tableau III. 1. 3. 6. Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) du composé SS6 enregistrés dans DMSO**

| SS6                 |                                                     |                           |
|---------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| Position            | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| 1                   | -                                                   | -                         |
| 2                   | -                                                   | 163,7                     |
| 3                   | 7,05 (1H, s)                                        | 104,0                     |
| 4                   | -                                                   | 182,0                     |
| 5                   | -                                                   | 161,2                     |
| 6                   | 6,39 (1H, s)                                        | 98,1                      |
| 7                   | -                                                   | 165,2                     |
| 8                   | 6,84 (1H, s)                                        | 92,8                      |
| 9                   | -                                                   | 157,3                     |
| 10                  | -                                                   | 104,8                     |
| 1'                  | -                                                   | 122,7                     |
| 2'                  | 7,60 (1H, s)                                        | 109,4                     |
| 3'                  | -                                                   | 149,0                     |
| 4'                  | -                                                   | 152,3                     |
| 5'                  | 7,14 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)                | 111,7                     |
| 6'                  | 7,73 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,5)                | 120,2                     |
| 7-OCH <sub>3</sub>  | 3,86 (3H, s)                                        | 56,1                      |
| 3'-OCH <sub>3</sub> | 3,88 (3H, s)                                        | 55,9                      |
| 4'-OCH <sub>3</sub> | 3,89 (3H, s)                                        | 55,8                      |
| 5-OH                | 12,93 (H, s)                                        | -                         |

### III. 1. 3. 7. Identification structurale du composé SS7



**4', 5,6-trihydroxy-3',7-diméthoxyflavone**

Le composé **SS7** se présente sous forme d'une poudre marron. Il donne une tache visible à la lumière UV à 366 nm et se révèle en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100 °C. Ceci suppose une nature flavonoïdique de ce composé.

Le spectre de masse obtenu par ionisation électrospray ESI-MS de ce composé (figure III. 1. 3. 7. 1) conduit à la production d'ions chargés  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  et  $[M+K]^+$ , qui se traduisent sur ce spectre par trois pics d'ions pseudomoléculaire à  $m/z = 331,3$ ,  $353,4$  et  $369,3$  respectivement permettant d'attribuer à ce composé une masse moléculaire  $M = 330$  uma correspondant à une formule brute en  $C_{17}H_{14}O_7$  et un nombre d'insaturation de 11 degrés.

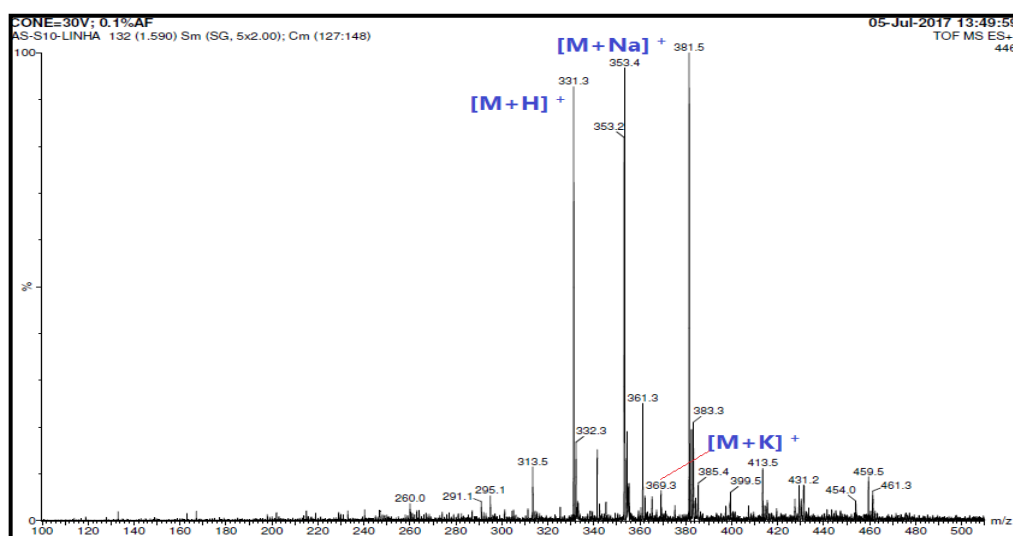


Figure III. 1. 3. 7. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé SS7

Les spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  (figure III. 1. 3. 7. 2) montrent une certaine ressemblance avec les composés précédents (SS4, SS5, SS6) par la présence des protons et carbones aromatiques, suggérant l'appartenance de ce composé à la classe des flavonoïdes.

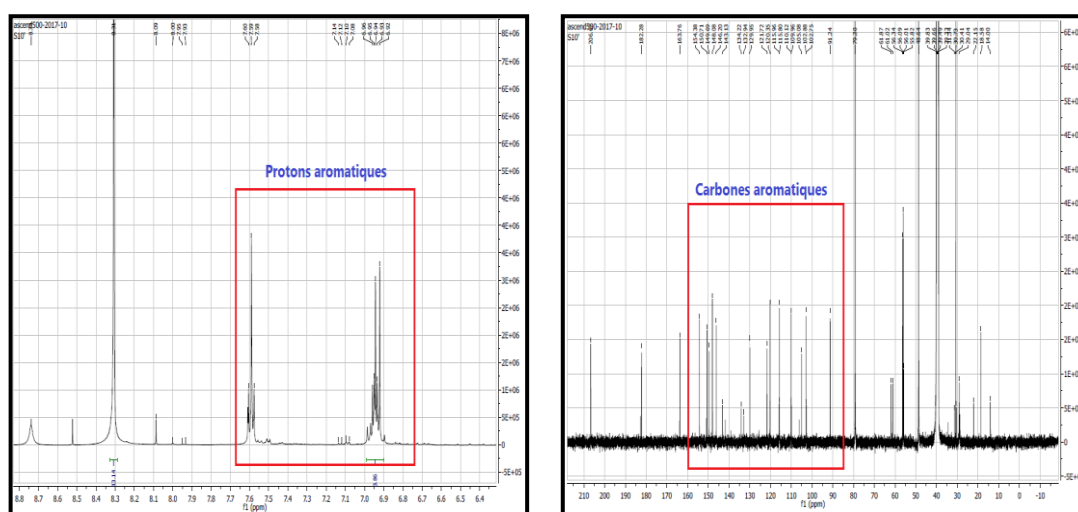


Figure III. 1. 3. 7. 2. Spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  du composé SS7

La comparaison des spectres de **SS7** avec ceux des composés identifiés précédemment témoigne d'une grande similitude structurale avec les composés **SS4** et **SS6** au niveau du cycle A et avec le composé **SS5** au niveau du cycle B.

L'analyse des signaux visualisés sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 7. 3) indique la présence d'un seul proton du cycle A résonant à  $\delta_{\text{H}}$  6,94 sous forme d'un singulet attribué au proton H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  6,94). Cette analyse nous a permis d'identifier le cycle A du composé **SS7** comme étant 5, 6,7-tri- substitué.

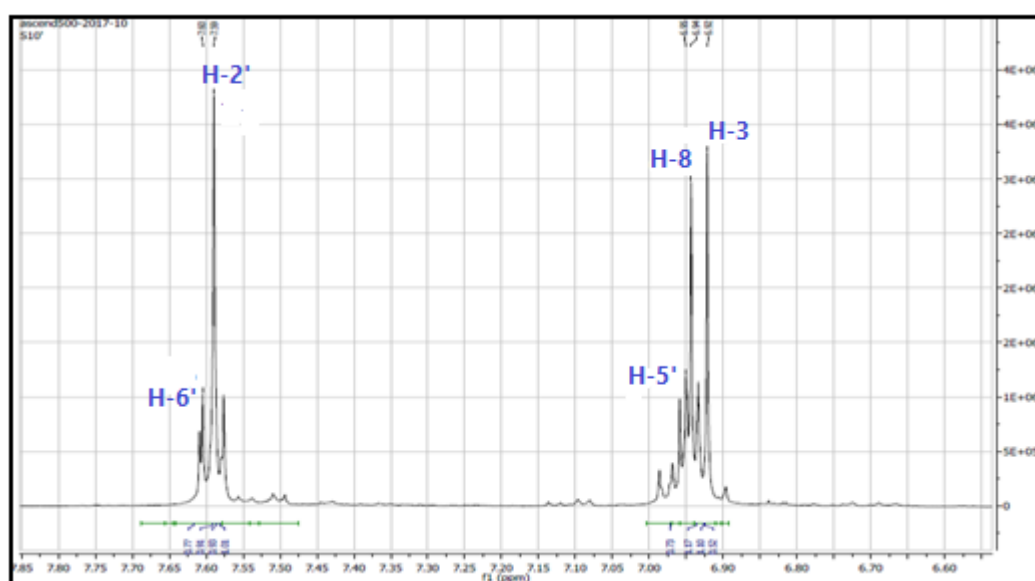


**Figure III. 1. 3. 7. 3. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé SS7**

En effet le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 7. 3) révèle l'existence de quatre autres signaux d'intégration 1H chacun et de multiplicités différentes s'étalant de 6,92 jusqu'à 7,60 ppm, il permet de distinguer un singulet sortant à  $\delta_{\text{H}}$  6,92 attribué au proton H-3 du cycle C, un autre singulet résonant à  $\delta_{\text{H}}$  7,59 attribué au proton H-2' du cycle B et deux signaux sous forme de doublets repérés à 6,94 et 7,60 ppm attribuables aux protons restants du cycle B H-5' et H-6' respectivement.

Ces protons sont associés par l'analyse du spectre HSQC (figure III. 1. 3. 7. 4) aux carbones  $\delta_{\text{C}}$  91,2/  $\delta_{\text{H}}$  6,94 (CH-8),  $\delta_{\text{C}}$  102,7/  $\delta_{\text{H}}$  6,92 (CH-3),  $\delta_{\text{C}}$  110,1/  $\delta_{\text{H}}$  7,59 (CH-2'),  $\delta_{\text{C}}$  115,8/  $\delta_{\text{H}}$  6,94 (CH-5') et  $\delta_{\text{C}}$  120,3/  $\delta_{\text{H}}$  7,60 (CH-6').

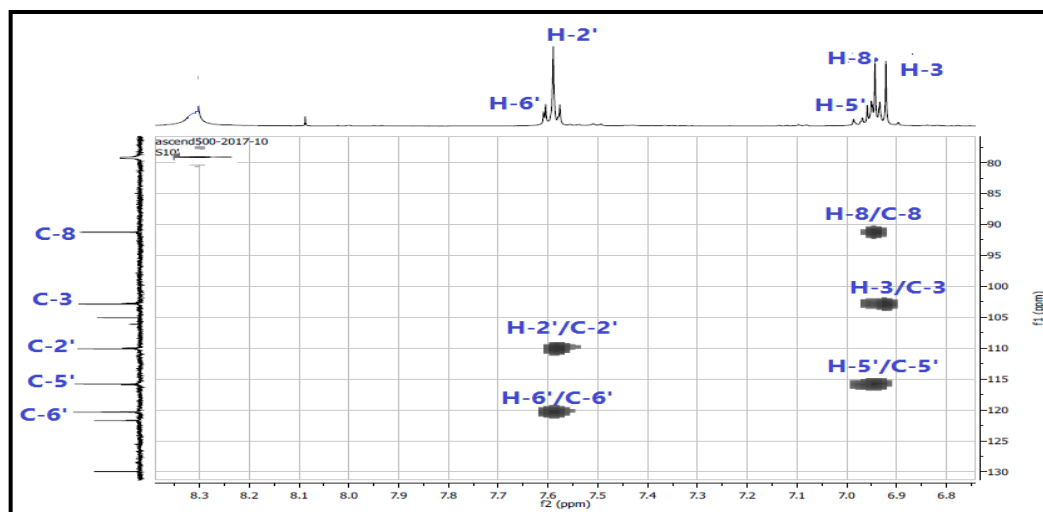


**Figure III. 1. 3. 7. 4. Spectre HSQC du composé SS7**

Alors que, le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 7. 5) met clairement en évidence les corrélations en  $^2J$  et  $^3J$  des protons aromatiques qui permettent d'identifier et de caractériser tous les carbones des cycles A et B. Les corrélations du cycle A sont entre le proton H-8 ( $\delta_H$  6,94) et les carbones C-6 ( $\delta_C$  129,9) et C-10 ( $\delta_C$  105, 0).

Ainsi, les couplages du cycle B se présentent entre :

- Le proton H-2' ( $\delta_H$  7,59) et les carbones C-3' ( $\delta_C$  148,0) et C-6' ( $\delta_C$  120,3).
- Le proton H-5' ( $\delta_H$  6,94) et les carbones C-1' ( $\delta_C$  121,7), C-3' et C-4' ( $\delta_C$  150,7)
- Le proton H-6' ( $\delta_H$  7,60) et les carbones C-2' ( $\delta_C$  110,1) et C-4'.

Aussi, le proton H-3 du cycle C présente les corrélations attendues visualisées sur le spectre HMBC avec les carbones C-2 ( $\delta_C$  163,7) et C-10 déjà identifié.

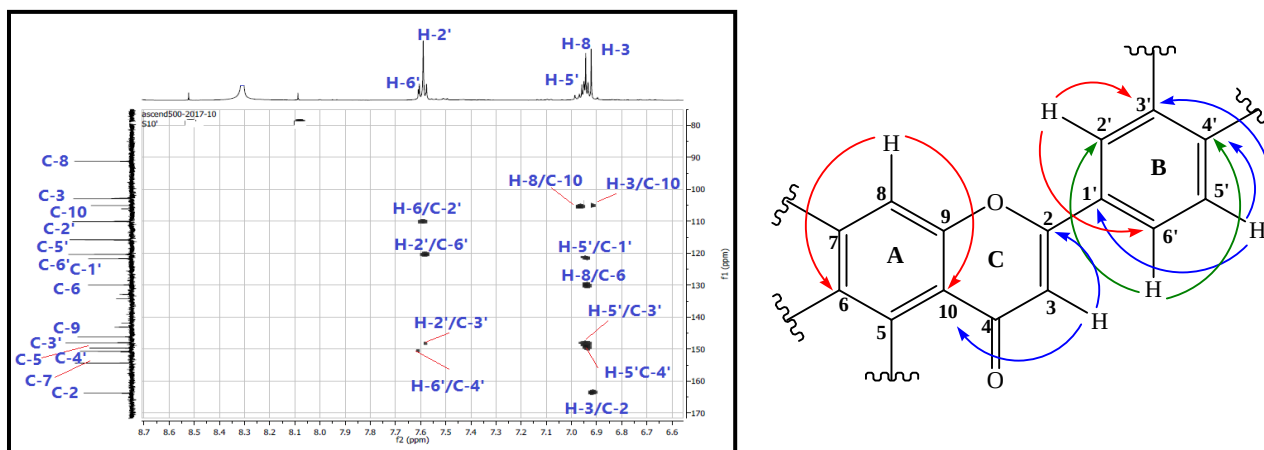


**Figure III. 1. 3. 7. 5. Spectre HMBC du composé SS7**

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  révèle la présence de deux signaux sous forme de singulet d'intégration 3H sortant à 3,90 et 3,92 ppm accordé sur le spectre HSQC (figure III.1. 3. 7. 6) à des carbones résonant à 56,0 et 56,3 ppm attribués aux groupements méthoxyles.

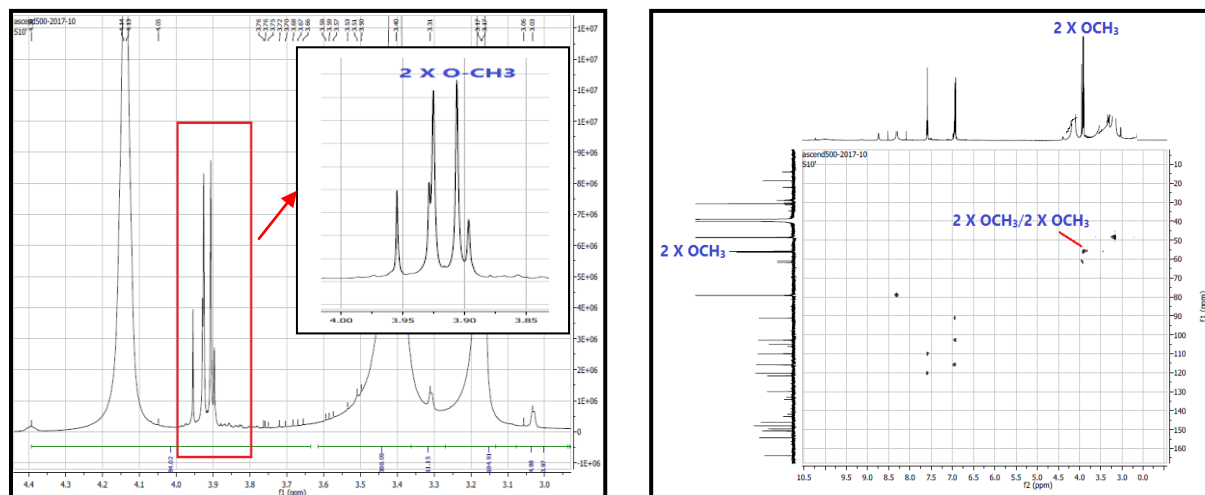


Figure III. 1. 3. 7. 6. Spectre RMN  $^1\text{H}$  et HSQC du composé SS7

Le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 7. 7) permet de localiser les positions de ces groupements méthoxyles ( $\delta_{\text{H}}$  3,90/  $\delta_{\text{C}}$  56,0) et ( $\delta_{\text{H}}$  3,92/  $\delta_{\text{C}}$  56,3) par les corrélations H/C de ces protons avec les carbones C-3' et C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  154,3) respectivement. Les carbones C-4', C-5 et C-6 sont porteurs de OH selon la comparaison avec les données de la littérature ainsi que par l'analyse du spectre de masse [314].

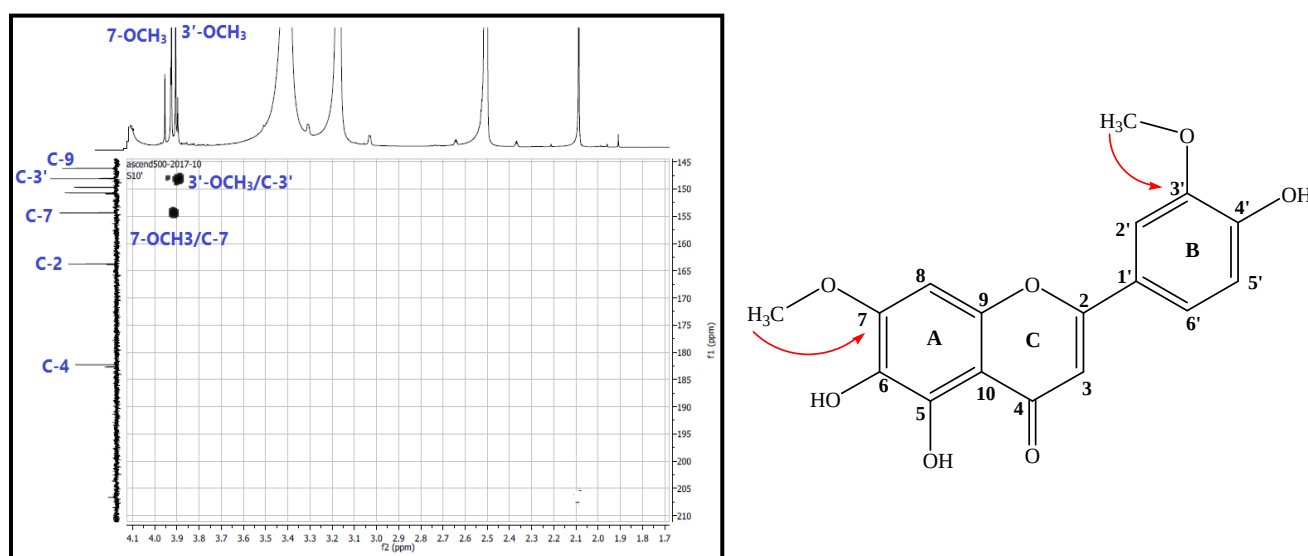


Figure III. 1. 3. 7. 7. Spectre HMBC montrant les corrélations des groupements méthoxyles du composé SS7

Sur la base de cette analyse et par comparaison avec les données de la littérature [314], le composé **SS7** est identifié comme étant **4', 5, 6-trihydroxy - 3',7- diméthoxyflavone** (figure III. 1. 3. 7. 8). Ce composé, identifié pour la première fois dans le genre *Saccocalyx* et l'espèce *Saccocalyx satureioides*, a été antérieurement isolé à partir des espèces du genre *Thymus* comme *Thymus satureioides* [315], *Thymus decassatus* [57] et *Thymus algeriensis* [73].

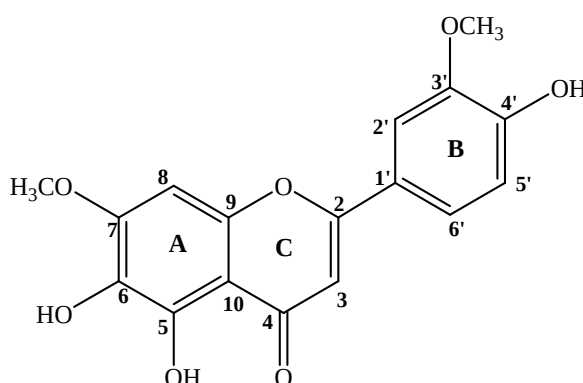


**Figure III. 1. 3. 7. 8. 4', 5, 6-trihydroxy - 3',7- diméthoxyflavone**

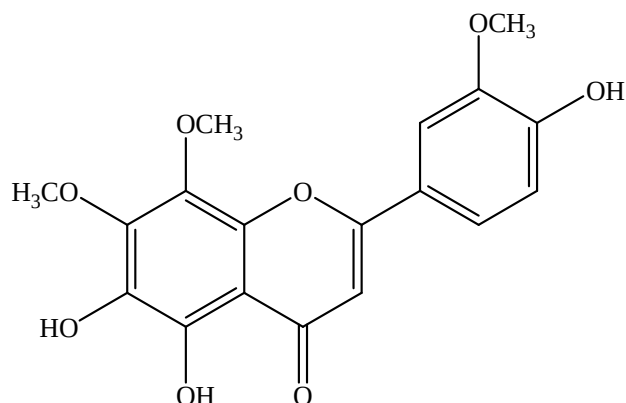
Les déplacements chimiques des protons et des carbones du composé **SS7** sont rassemblés dans le tableau III. 1. 3. 1.7.

**Tableau III. 1. 3. 7. Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$**

| (75 MHz) du composé SS7 enregistrés dans DMSO |                                                     |                           |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| SS7                                           |                                                     |                           |
| Position                                      | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| 1                                             | -                                                   | -                         |
| 2                                             | -                                                   | 163,7                     |
| 3                                             | 6,92 (1H, s)                                        | 102,7                     |
| 4                                             | -                                                   | 182,2                     |
| 5                                             | -                                                   | 149,6                     |
| 6                                             | -                                                   | 129,9                     |
| 7                                             | -                                                   | 154,3                     |
| 8                                             | 6,94 (1H, s)                                        | 91,2                      |
| 9                                             | -                                                   | 146,2                     |
| 10                                            | -                                                   | 105,0                     |
| 1'                                            | -                                                   | 121,7                     |
| 2'                                            | 7,59 (1H, s)                                        | 110,1                     |
| 3'                                            | -                                                   | 148,0                     |
| 4'                                            | -                                                   | 150,7                     |
| 5'                                            | 6,94 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,7)                | 115,8                     |
| 6'                                            | 7,60 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,6)                | 120,3                     |

|                     |              |      |
|---------------------|--------------|------|
| 7-OCH <sub>3</sub>  | 3,92 (3H, s) | 56,3 |
| 3'-OCH <sub>3</sub> | 3,90 (3H, s) | 56,0 |
| 5-OH                | 12,66 (H, s) | -    |

### III. 1. 3. 8. Identification structurale du composé SS8



#### 4', 5, 6-trihydroxy - 3', 7, 8 – triméthoxyflavone (Thymonine)

Le composé **SS8** a été isolé aussi sous forme d'une poudre jaune. Il montre une tache visible à 366 nm sur CCM et se colorant en jaune après révélation par une solution acide et chauffage à 100°C.

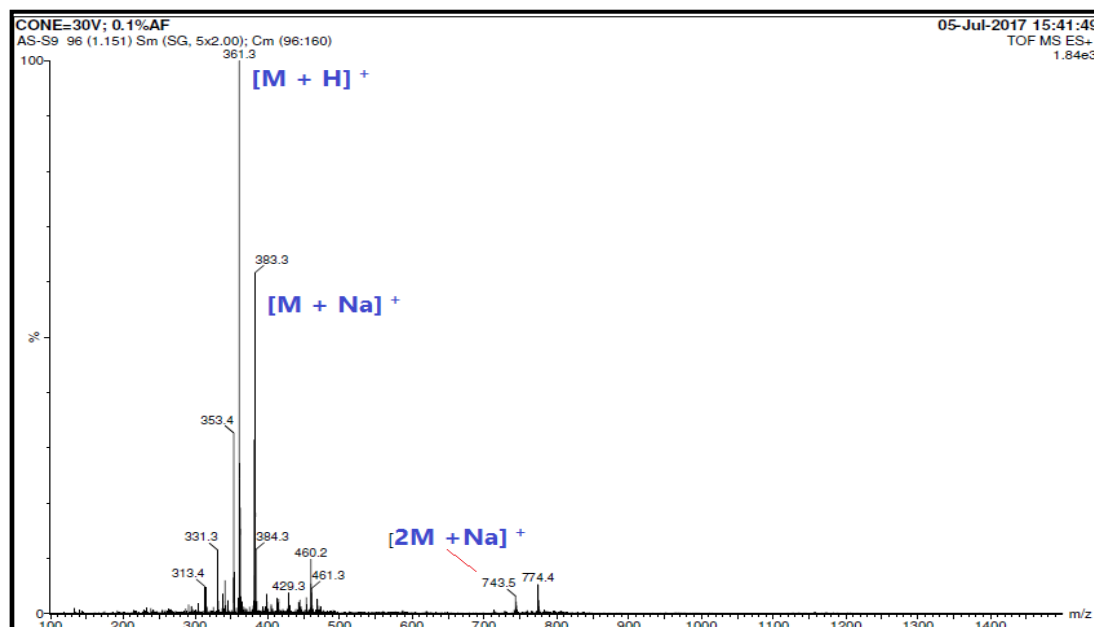


Figure III. 1. 3. 8. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé SS8

Le spectre de masse ESI-MS enregistré en mode positif pour ce composé (figure III. 1. 3. 8. 1) montre des pics d'ions pseudomoléculaires à  $m/z = 361,3 [M+H]^+$ ,  $383,3$

$[M+Na]^+$  et  $743,5 [2M+Na]^+$ , soit une masse moléculaire de 360 uma correspondant à une formule brute en  $C_{18}H_{16}O_8$ .

Le nombre de signaux observés sur les spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  de ce composé ainsi que leurs déplacements chimiques sont en accord avec la présence d'un squelette d'une nature flavonoïdique. En effet, le spectre RMN  $^1H$  (figure III. 1. 3. 8. 2) montre quatre signaux dans la zone des protons aromatiques (6,96 à 7,59 ppm).

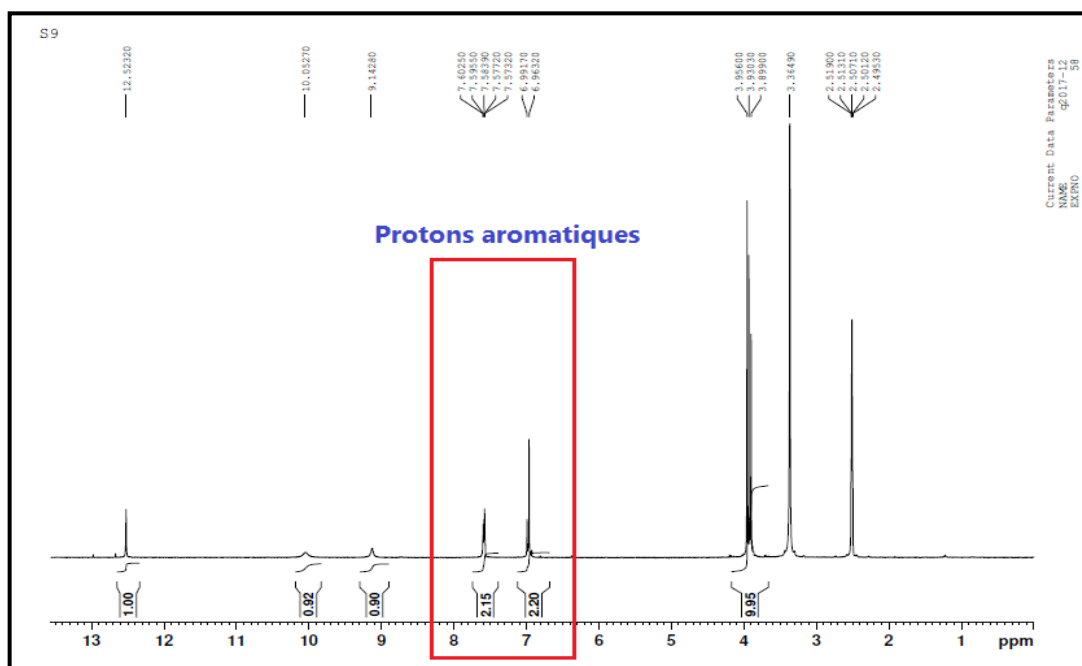


**Figure III. 1. 3. 8.2. Spectre RMN  $^1H$  du composé SS8**

Le spectre RMN  $^1H$  (figure III. 1. 3. 8. 3) exhibe trois signaux résonant à  $\delta_H$  7,57, 6,99 et 7,59 d'intégration 1H chacun, accordés sur le spectre HSQC (figure III. 1. 3. 8. 3) à trois pics, sortant à  $\delta_C$  109,9, 115,9 et 120,2 respectivement, attribué au cycle B en comparant ces données avec les composés identifiés précédemment (SS4  $\rightarrow$  SS7).

Ces signaux qui forment un système ABX, sont attribués aux protons H-2' ( $\delta_H$  7,57, d,  $J = 3,2$  Hz), H-5' ( $\delta_H$  6,99), et H-6' ( $\delta_H$  7,59, d,  $J = 3,4$  Hz).

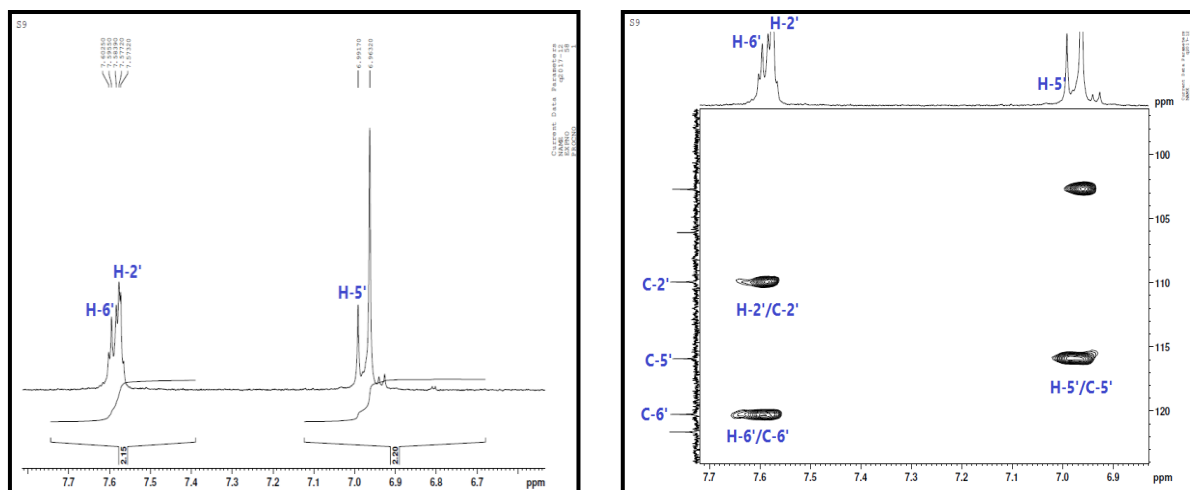


**Figure III. 1. 3. 8.3. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et HSQC des protons du cycle B du composé SS8**

Le proton H-2' présente des corrélations sur le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 8. 4) avec les carbones oxygénés résonant à  $\delta_{\text{C}}$  163,8 (C-2), 150,8 (C-4'), 147,9 (C-3') et 120,2 assigné au carbone C-6'. Ce spectre montre aussi les corrélations du proton H-5' avec les carbones C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  147,9), C-6' ( $\delta_{\text{C}}$  120,2) et entre le proton H-6' avec les carbones C-2' ( $\delta_{\text{C}}$  109,9) et C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  150,8).

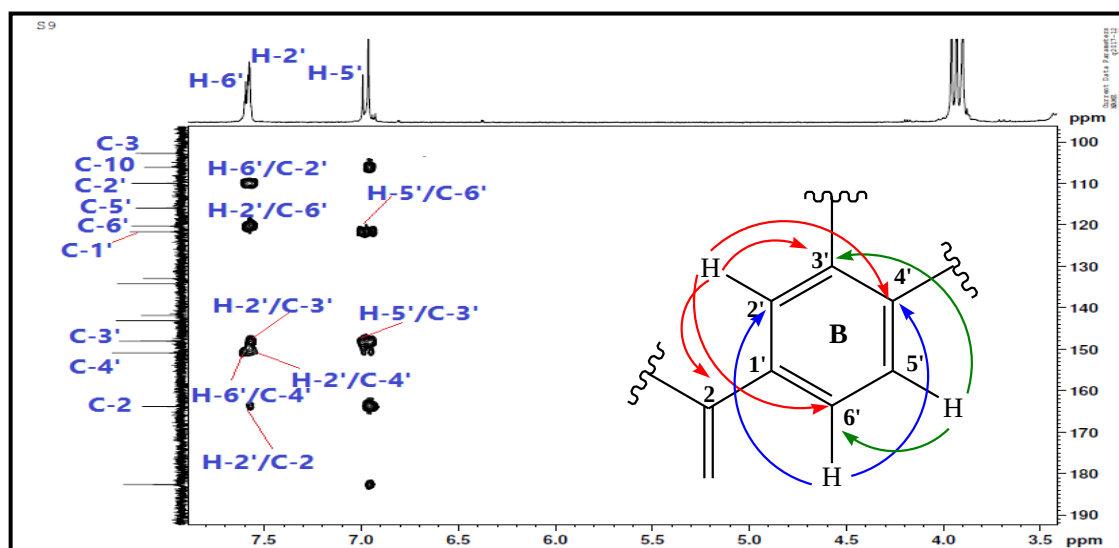


**Figure III. 1. 3. 8.4. Spectre et HMBC du cycle B du composé SS8**

Le proton restant dans la zone aromatique résonne à  $\delta_{\text{H}}$  6,96 sous forme de singulet attribué au proton H-3 du cycle C lié sur le spectre HSQC au carbone C-3 sortant à  $\delta_{\text{C}}$  102,7 (figure III. 1. 3. 8. 5), suite à ces corrélations HMBC (figure III. 1. 3. 8. 6) avec le carbone

C-2 déjà identifié et un carbone quaternaire résonant à  $\delta_C$  182,6 qui est clairement le carbonyle C-4.

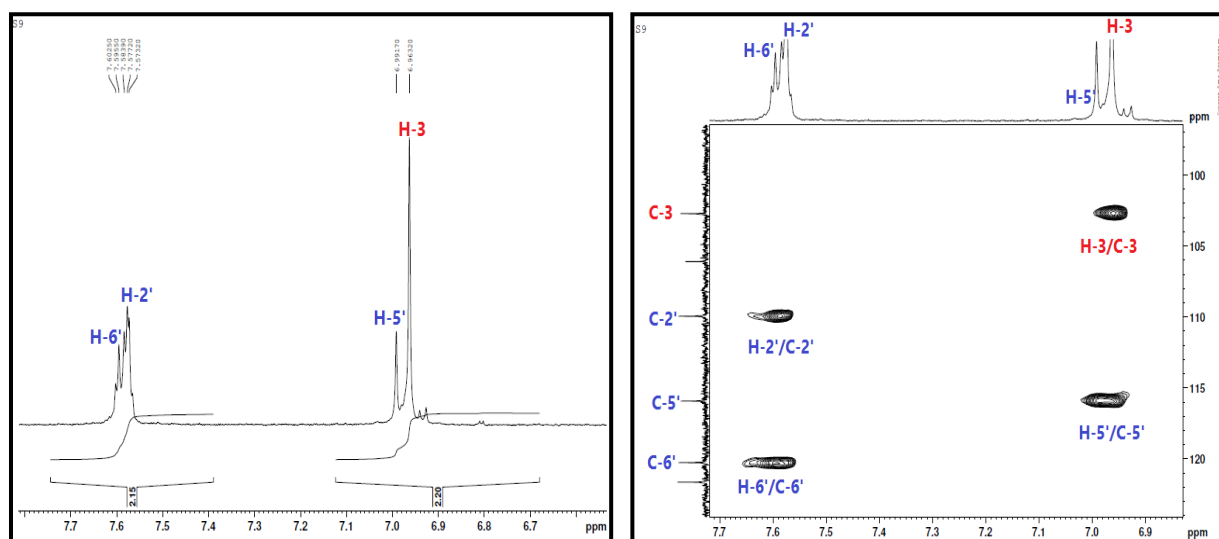


Figure III. 1. 3. 8.5. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et HSQC du composé SS8

Comme, il montre aussi des corrélations avec deux carbones quaternaires résonant à  $\delta_C$  121,6 (C-1') et  $\delta_C$  106,0. Ce dernier ne peut être que le carbone C-10.

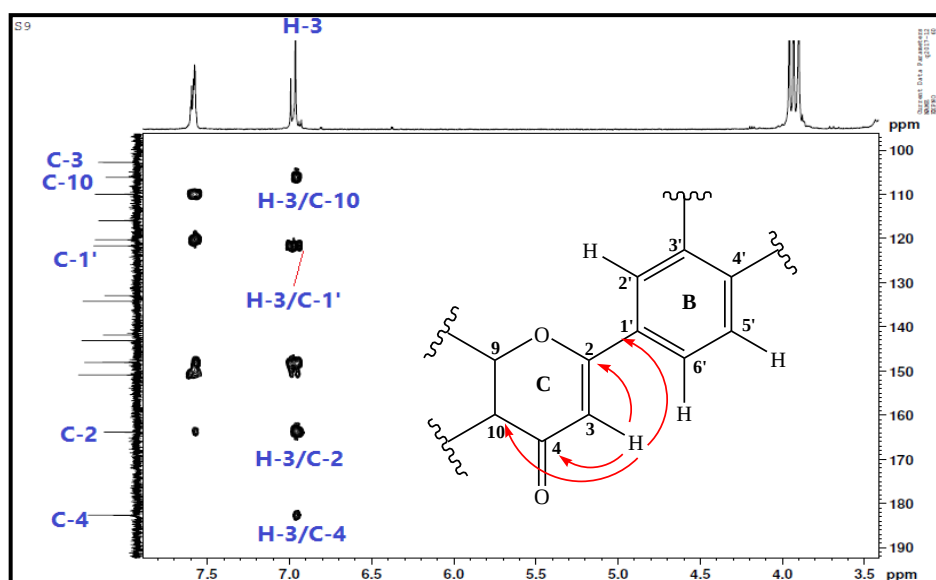


Figure III. 1. 3. 8.6. Spectre HMBC du cycle C du composé SS8

A ce stade d'analyse, les carbones quaternaires du cycle A de ce composé sont attribués sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (figure III. 1. 3. 8. 7) par comparaison avec les composés similaires décrits dans la littérature [308], en raison de l'absence des signaux des protons aromatiques de ce cycle sur le spectre RMN  $^1\text{H}$ .

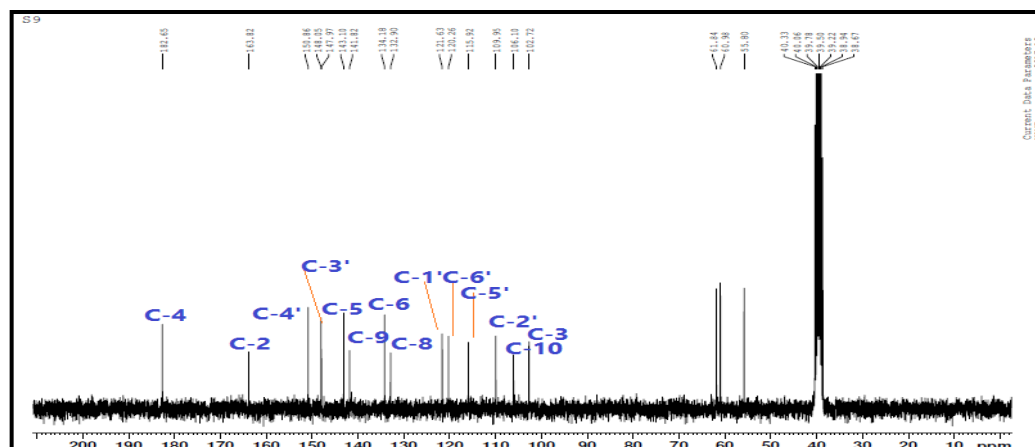


Figure III. 1. 3. 8. 7. Spectres RMN  $^{13}\text{C}$  du composé SS8

Toutefois, le spectre RMN  $^1\text{H}$  (figure III. 1. 3. 8. 8) montre aussi trois signaux de protons méthoxyliques résonant à  $\delta_{\text{H}}$  3,89, 3,93 et 3,95 accordés sur le spectre HSQC (figure III. 1. 3. 8. 8) aux carbones repérés à  $\delta_{\text{C}}$  55,5, 61,8 et 60,9 respectivement

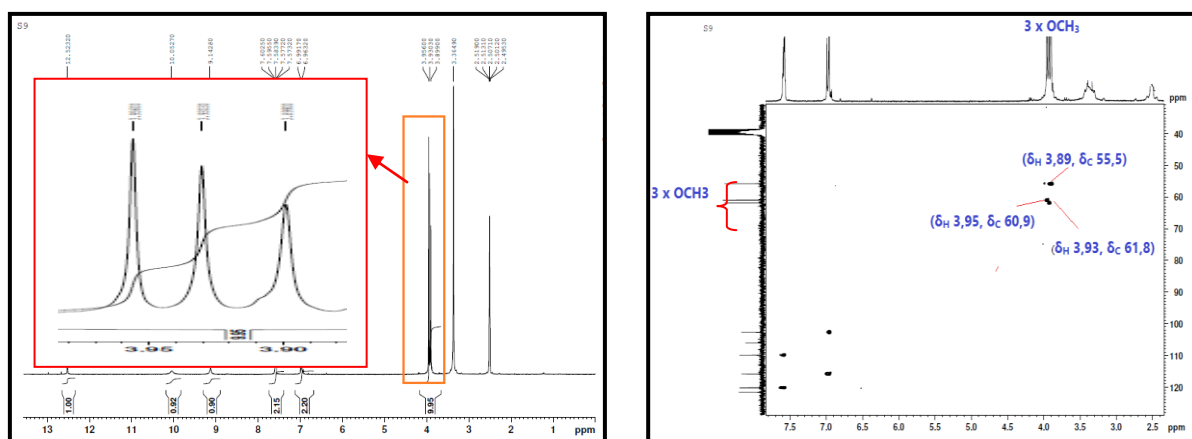


Figure III. 1. 3. 8. 8. Spectres RMN  $^1\text{H}$  et HSQC des protons méthoxyliques du composé SS8

Afin de localiser les positions de ces groupements méthoxyles ( $\delta_{\text{H}}$  3,89,  $\delta_{\text{C}}$  55,5), ( $\delta_{\text{H}}$  3,93,  $\delta_{\text{C}}$  61,8) et ( $\delta_{\text{H}}$  3,95,  $\delta_{\text{C}}$  60,9) sur les cycles aromatiques A et B du composé **SS8**, le spectre HMBC (figure III. 1. 3. 8. 9) en apporte la solution par les corrélations qu'il met en évidence entre :

- Le groupement  $\text{OCH}_3$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,89,  $\delta_{\text{C}}$  55,5) et le carbone C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  147,9)
- Le groupement  $\text{OCH}_3$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,93,  $\delta_{\text{C}}$  61,8) et le carbone C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  132,8).
- Le groupement  $\text{OCH}_3$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,95,  $\delta_{\text{C}}$  60,9) et le carbone C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  147,9)

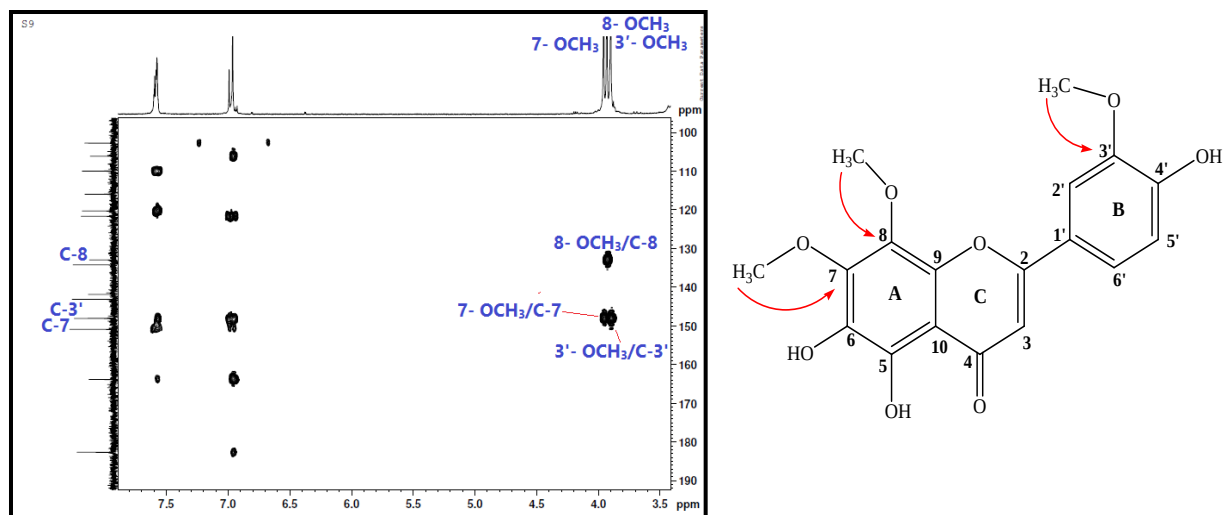


Figure III. 1. 3. 8. 9. Spectre HMBC des groupements méthoxyles  
du composé SS8

D'autre part, le spectre RMN <sup>1</sup>H montre un singulet résonnant à  $\delta_H$  12,52 et ne présentent aucune corrélation sur le spectre HSQC. Ce proton qui est attribué à un proton hydroxylique est positionné au carbone C-5, suite à ses corrélations HMBC (figure III. 1. 3. 8. 10) avec les carbones C-5 ( $\delta_C$  143,0), C-6 ( $\delta_C$  134,1) et C-10 ( $\delta_C$  106,0).

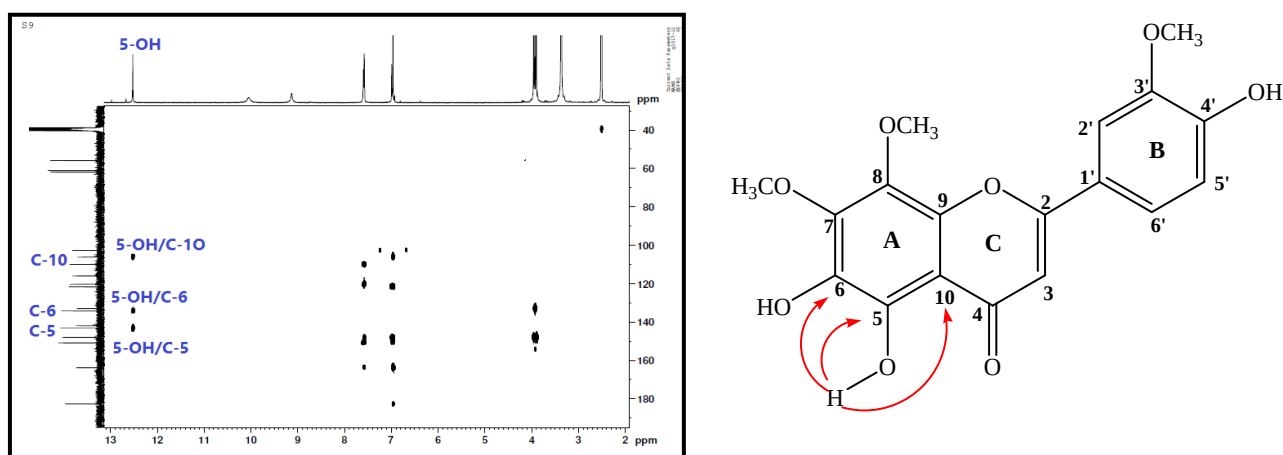


Figure III. 1. 3. 8. 10. Spectre HMBC du proton hydroxyle  
du composé SS8

La comparaison de ces données spectrales avec celles trouvées dans la littérature [316] confirme l'identification du composé SS8 au 4', 5, 6-trihydroxy- 3',7, 8 - triméthoxyflavone connu sous le nom de **Thymonine** (figure III. 1. 3. 8. 11). Sa présence dans l'espèce étudiée *Saccocalyx satureioides* et le genre *saccocalyx* est signalée pour la première fois. Ce composé

a été antérieurement isolé des espèces de la famille de lamiacée : *Thymus vulgaris* [70,71], *Thymus serpyllum* [81], *Thymus decassatus* [57] et *Thymus broussonetti* [81].

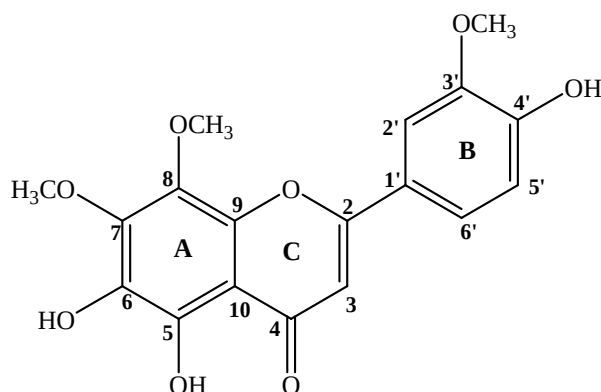


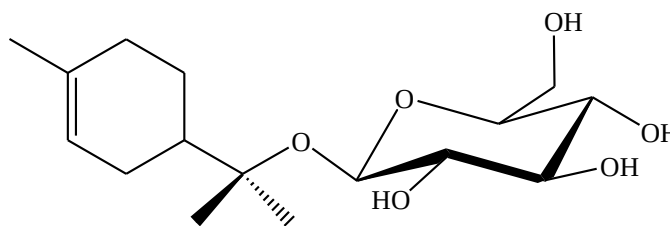
**Figure III. 1. 3. 8. 11. 4', 5, 6-trihydroxy - 3', 7,8 – triméthoxyflavone  
(Thymonine)**

Les déplacements chimiques des protons et des carbones du composé **SS8** sont donnés dans le tableau III. 1. 3. 8.

**Tableau III. 1. 3. 1. 8. Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$   
(75 MHz) du composé SS8 enregistrés dans DMSO**

| SS8                 |                                                     |                           |
|---------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| Position            | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| 1                   | -                                                   | -                         |
| 2                   | -                                                   | 163,8                     |
| 3                   | 6,96 (1H, <i>s</i> )                                | 102,7                     |
| 4                   | -                                                   | 182,6                     |
| 5                   | -                                                   | 143,0                     |
| 6                   | -                                                   | 134,1                     |
| 7                   | -                                                   | 147,9                     |
| 8                   | -                                                   | 132,8                     |
| 9                   | -                                                   | 141,8                     |
| 10                  | -                                                   | 106,0                     |
| 1'                  | -                                                   | 121,6                     |
| 2'                  | 7,57 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 3,2)                | 109,9                     |
| 3'                  | -                                                   | 147,9                     |
| 4'                  | -                                                   | 150,8                     |
| 5'                  | 6,99 (1H, <i>sl</i> )                               | 115,9                     |
| 6'                  | 7,59 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 3,4)                | 120,2                     |
| 3'-OCH <sub>3</sub> | 3,89 (3H, <i>s</i> )                                | 55,5                      |
| 7-OCH <sub>3</sub>  | 3,95 (3H, <i>s</i> )                                | 60,9                      |
| 8-OCH <sub>3</sub>  | 3,93 (3H, <i>s</i> )                                | 61,8                      |
| 5-OH                | 12,52 (H, <i>s</i> )                                | -                         |

### III. 1. 3. 9. Identification structurale du composé SS9



**$\alpha$ -Terpineol-8-O- $\beta$ -D-glucopyranoside**

Le composé **SS9** a été purifié sous forme d'une poudre blanche qui donne une tache visible sur CCM se révélant en marron par une solution acide et chauffage à 100°C.

Le spectre de masse ESI-MS (figure III. 1. 3. 9. 1) enregistré en mode négatif de ce composé indique la présence d'un pic d'ion pseudomoléculaire à  $m/z = 338,9$   $[M+Na]^+$  correspondant à une masse moléculaire de 316 uma et une formule brute en  $C_{16}H_{28}O_6$ .

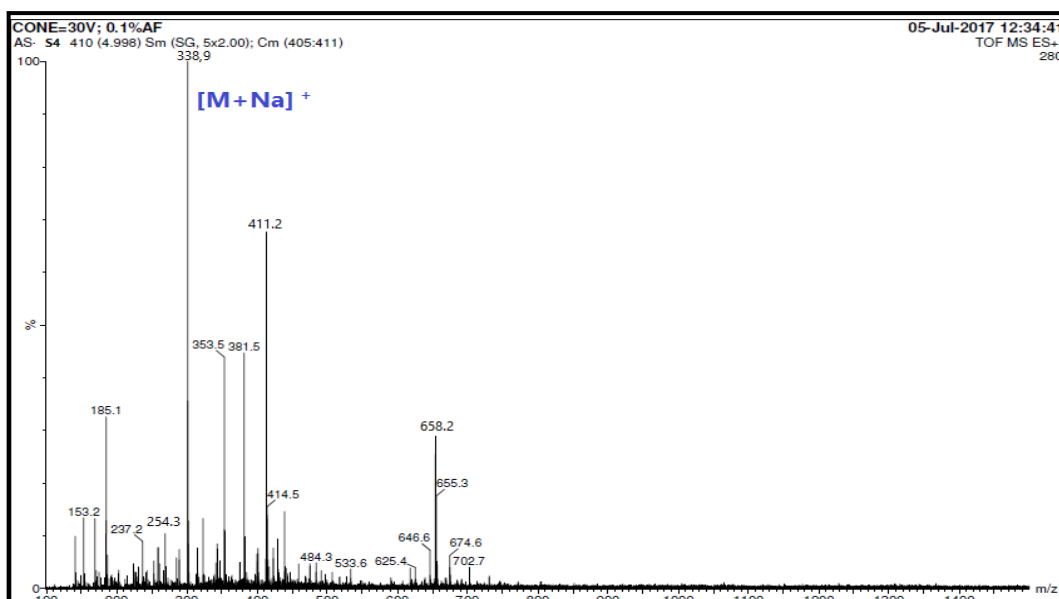


**Figure III. 1. 3. 9. 1. Spectre de masse ESI-MS du composé SS9**

Les spectres RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  du composé **SS9** montrent une similitude totale avec celui du composé qui a été isolé aux travaux de magister.

L'analyse RMN  $^1H$  (figure III. 1. 3. 9. 2) confirme bien la présence cette structure par l'apparition des protons : H-2 ( $\delta_H$  5,37), H-3 ( $\delta_H$  2,12), H-4 ( $\delta_H$  1,70), H-5 ( $\delta_H$  2,05), H-6 ( $\delta_H$  2,01), H-7 ( $\delta_H$  1,65), H-9 ( $\delta_H$  1,16) et H-10 ( $\delta_H$  1,25).

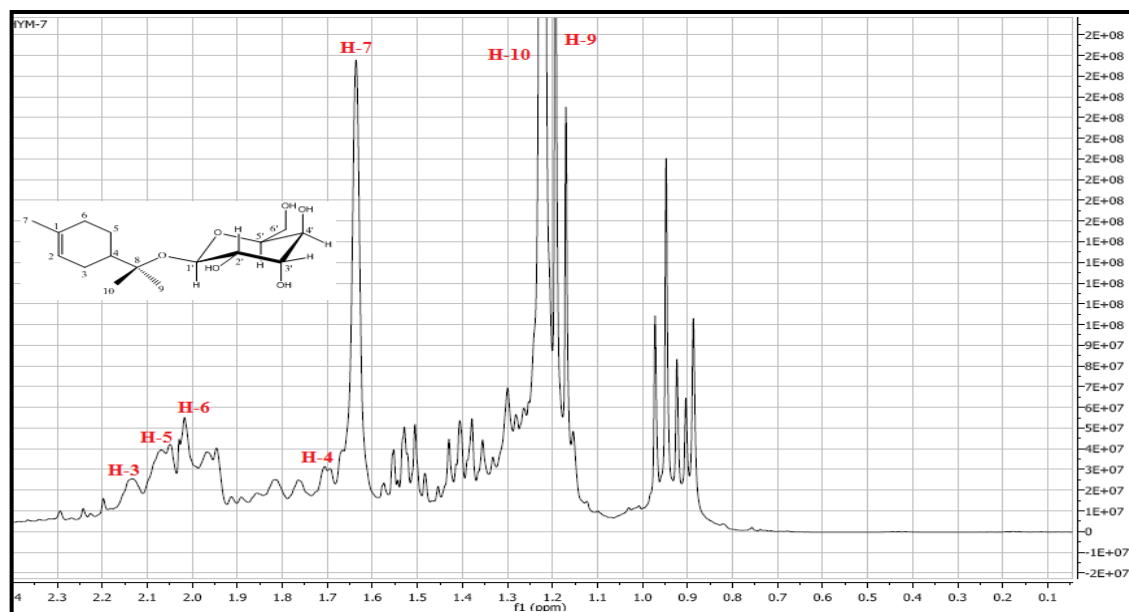


Figure III. 1. 3. 9. 2. Spectres RMN <sup>1</sup>H du composé SS9

Ainsi que pour les protons osidiques H-1' ( $\delta_H$  4,50), H-2' ( $\delta_H$  3,32), H-3' ( $\delta_H$  3,56), H-4' ( $\delta_H$  3,61), H-5' ( $\delta_H$  3,64) et H-6'a ( $\delta_H$  3,81), H-6'b ( $\delta_H$  3,69).

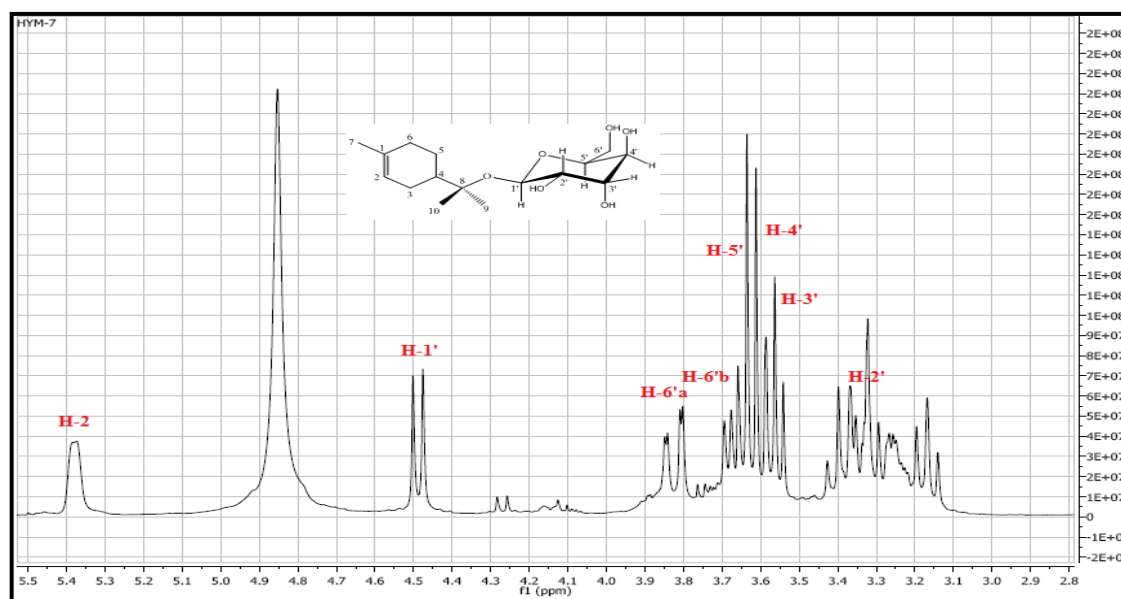


Figure III. 1. 3. 9. 2. Spectres RMN <sup>1</sup>H du composé SS9

De même pour le spectre RMN <sup>13</sup>C (*J*-modulé) (figure III. 1. 3. 9. 3) qui révèle la présence de 16 carbones divisés en :

- Deux carbones quaternaires C-1 ( $\delta_C$  133,7) et C-8 ( $\delta_C$  79,7) ;
- Trois groupements méthyles C-7 ( $\delta_C$  23,7), C-9 ( $\delta_C$  23,5) et C-10 ( $\delta_C$  24,0) ;

- Trois groupements méthylènes C-3 ( $\delta_C$  27,7), C-5 ( $\delta_C$  24,9) et C-6 ( $\delta_C$  32,0) ;
- Deux groupements méthines C-2 ( $\delta_C$  121,8) et C-4 ( $\delta_C$  44,8).

Les carbones du  $\beta$ -D-glucose sont repérés grâce à l'analyse du spectre HSQC à  $\delta_C$  97,9 (C-1'),  $\delta_C$  74,8 (C-2'),  $\delta_C$  78,05 (C-3'),  $\delta_C$  71,6 (C-4'),  $\delta_C$  77,1 (C-5') et  $\delta_C$  62,5 (C-6').

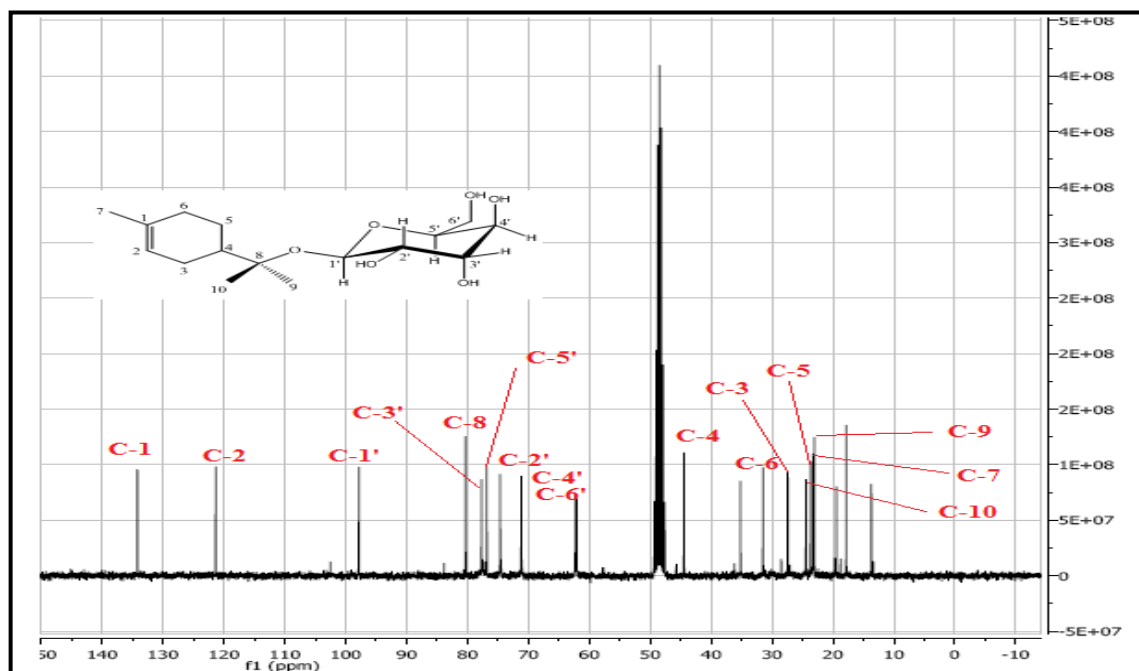


Figure III. 1. 3. 9. 3. Spectres RMN  $^{13}\text{C}$  du composé SS9

Dans ce cas, le composé SS9 est identifié comme étant  $\alpha$ -Terpineol-8-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (figure III. 1. 3. 9. 4).

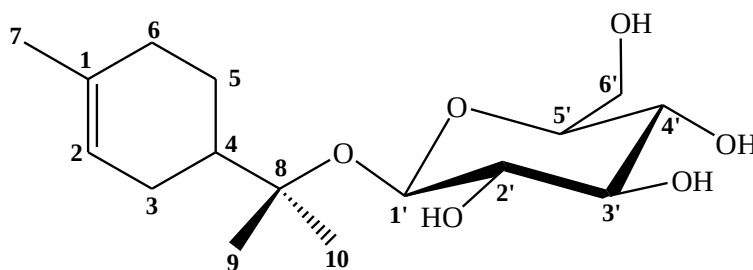


Figure III. 1. 3. 9. 4.  $\alpha$ -Terpineol-8-O- $\beta$ -D-glucopyranoside

Les déplacements chimiques des protons et des carbones du composé SS9 isolé de l'espèce *Saccocalyx satureioides* sont représentées dans le tableau III. 1. 3. 1.9.

**Tableau III. 1. 3. 9. Déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) du composé SS9 enregistrés dans MeOH**

| SS9      |                                                           |                           |
|----------|-----------------------------------------------------------|---------------------------|
| Position | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>m</i> , <i>J</i> (Hz)       | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |
| 1        | -                                                         | 133,7                     |
| 2        | 5,37(1H, <i>sl</i> )                                      | 121,8                     |
| 3        | 2,12 (2H, <i>m</i> )                                      | 27,7                      |
| 4        | 1,70 (1H, <i>dddd</i> , <i>J</i> = 12,0, 12,0, 4, 4, 2,2) | 44,8                      |
| 5        | 2,05(2H, <i>m</i> )                                       | 24,9                      |
| 6        | 2,01 (2H, <i>m</i> )                                      | 32,0-                     |
| 7        | 1,65 (3H, <i>s</i> )                                      | 23,7                      |
| 8        | -                                                         | 79,7                      |
| 9        | 1,16 (3H, <i>s</i> )                                      | 23,5                      |
| 10       | 1,25 (3H, <i>s</i> )                                      | 24,0                      |
| 1'       | 4,50 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,6)                      | 97,9                      |
| 2'       | 3,32 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 8,8-7,6)                 | 74,8                      |
| 3'       | 3,56 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 8,5)                      | 78,05                     |
| 4'       | 3,61 (1H, <i>t</i> )                                      | 71,6                      |
| 5'       | 3,64 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 8,8, 6,6, 2,2)          | 77,1                      |
| 6'a      | 3,81 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7, 6,6)               | 62,5                      |
| 6'b      | 3,69 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7, 6,6)               | -                         |

### III. 2. Conclusion

Ce travail nous a permis de réaliser une étude phytochimique sur les parties aériennes d'une plante endémique appartenant à la famille des lamiacées qui est *Saccocalyx satureioides*. Le critère de choix de cette espèce est dû, d'une part que la médecine traditionnelle régionale l'enchâssé uniquement dans le cadre d'emménagogue dont on ignorait les qualités, d'autre part et à l'issue de notre recherche bibliographiques, très peu d'études ont été réalisées sur cette espèce.

L'investigation phytochimique de l'extrait acétate d'éthyle des parties aériennes de cette espèce a montré une biodiversité en métabolite secondaire répartie en trois familles : les alcaloïdes, les flavonoïdes et les terpènes. En effet neuf (09) composés ont été identifiés à savoir :

➤ Un nouveau dérivé indole :

- Acide indole -3-carboxylique-(6'-*O*-caffeoyle)- $\beta$ -D-glucoside

➤ Deux autres alcaloïdes de type indole :

- Acide indole-3-carboxylique- $\beta$ -D-glucoside
- Acide indole-3-carboxylique

➤ Cinq flavonoïdes aglycones dont :

Trois flavonoïdes appartiennent au type de squelette lutéoline

- Lutéoline 7-méthyl éther
- Lutéoline 3',7-diméthyl éther (Velutine)
- Lutéoline 3',4',7-triméthyl éther (Gonzalitosine)

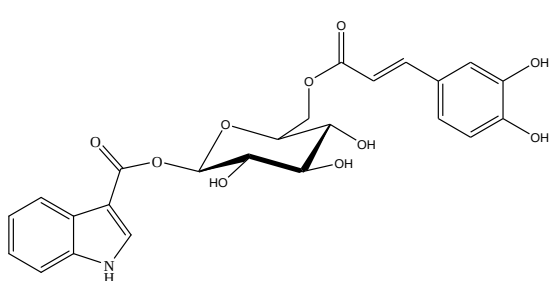
Deux flavones aglycones

- 4', 5,6-trihydroxy-3',7-diméthoxyflavone
- 4', 5, 6-trihydroxy - 3', 7,8 – triméthoxyflavone (Thymonine)

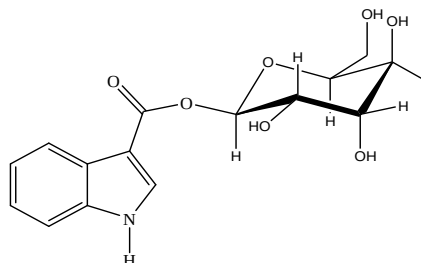
➤ Un monoterpène glycosylé :

- $\alpha$ -Terpineol-8-O- $\beta$ -D-glucopyranoside

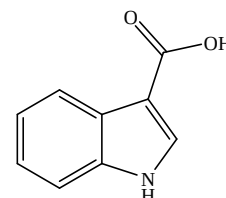
Les structures de ces composés se présentent comme suit:



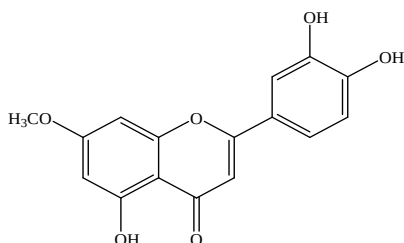
(SS1) Acide indole-3-carboxylique-(6'-O-caffeoyl)- $\beta$ -D-glucoside  
**Nouveau**



(SS2) Acide indole-3-carboxylique- $\beta$ -D-glucoside

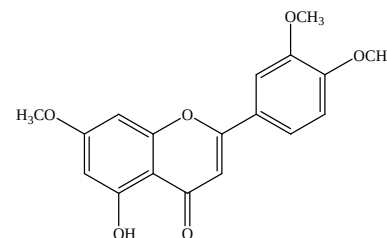


(SS3) Acide indole-3-carboxylique

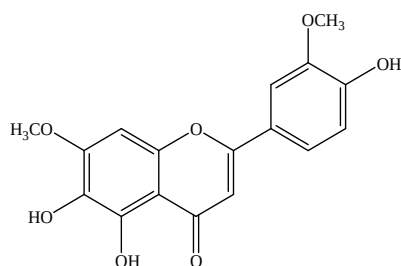


(SS4) Lutéoline-7-méthyl éther

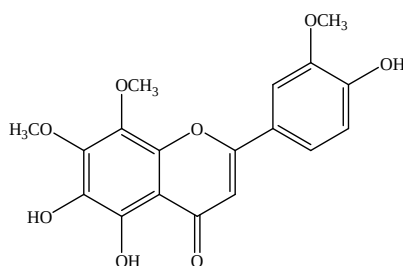
(SS5) Lutéoline 3',7-diméthyl éther (Velutine).



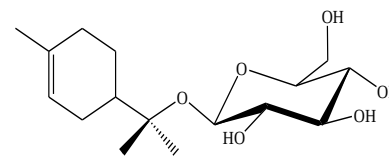
(SS6) Lutéoline 3',4',7-triméthyl éther (Gonzalitosine)



**(SS7)** 4', 5, 6-trihydroxy-3', 7-diméthoxyflavone



**(SS8)** 4', 5, 6-trihydroxy -3', 7, 8 - triméthoxyflavone (Thymonine)



**(SS9)** α-Terpineol-8-O-β-D-glucopyranoside

Le fractionnement et la purification des métabolites secondaires isolés ont été basés sur la combinaison des différentes méthodes chromatographiques (VLC (SiO<sub>2</sub>), CC (SiO<sub>2</sub>, polyamide et Sephadex)). L'identification des structures de ces composés **1-9** a été réalisé par les méthodes d'analyses spectroscopiques modernes particulièrement la RMN 1D (<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C) et 2D (HSQC, HMBC), la spectrométrie de masse et par la comparaison avec les données de la littérature.

Il est à noter que les flavonoïdes aglycones isolés de *S. satureioides* sont nouveaux pour l'espèce et pour le genre. Ces composés de type flavones semblent être des marqueurs caractéristiques des genres *Thymus*, *Melissa*, *Satureja*, *Salvia* et *Leonurus*. Ces composés sont également signalés dans la littérature pour leurs propriétés biologiques remarquables (antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire) [317]. Ce sont des puissants inhibiteurs de l'angiogénèse anormale des cellules cancéreuses [318]. Elles ont aussi des effets cardiovasculaires et antispasmodiques [319].

Ainsi que pour les deux alcaloïdes de type indole : Acide indole-3-carboxylique-β-D-glucoside (**SS2**) et Acide indole-3-carboxylique (**SS3**) sont décrite pour la première fois dans la famille des lamiacée.

Ces résultats tout à fait originaux soulignent tout l'intérêt de ce travail et de sa contribution à la connaissance de la chimio diversité de l'espèce *Saccocalyx satureioides* du genre *Saccocalyx* et de la famille Lamiacée..



*Chapitre* IV

## IV. 1. Matériel végétal

La récolte de la plante *Saccocalyx satureoides* a été effectuée au cours du mois de Mai 2010, pendant la période de floraison, dans la région de Zaâfrane. Cette zone est située dans le bassin du Zehrez Gharbi à environ 67 Km au nord du chef lieu de la wilaya de Djelfa.

La récolte a été pratiquée uniquement sur les parties aériennes sans déraciner la plante. Après séchage à l'obscurité, les parties aériennes de cette espèce broyées ont donné 1.5 Kg de poudre fine.

## IV. 2. Méthodes et techniques chromatographiques

Les extraits issus de la plante étudiée, font l'objet d'une étude phytochimique en utilisant des techniques d'isolement, de purification et d'identification structurale des principes actifs. Les techniques chromatographiques sont à la base de la séparation et la purification des composés des extraits.

### IV. 2. 1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les CCM sont effectuées au moyen des couches minces (0,2 mm d'épaisseur), sur des plaques de gel de silice en phase normal (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Merck<sup>®</sup> 250µm (20 x 20 cm)) sur support d'aluminium. Après l'élution dans des solvants donnés, les plaques CCM sont observées sous une lampe UV à 254 et 366 nm. Le révélateurs utilisé lors des expériences est une solution acide (50 % eau, 25 % acide chlorhydrique et 25 % acide sulfurique).

### IV.2.2. Chromatographie liquide sur colonne (CC)

Des colonnes ont été utilisées pour la phase de fractionnement et purification. Les phases stationnaires utilisées dans cette étude pour CC sont le gel de silice en phase normale (Kieselgel Merck<sup>®</sup> 70- 230 mesh), polyamide SC6 et Sephadex LH-20.

La taille des colonnes, le débit de la phase mobile ainsi que le volume des fractions récupérées ont été adaptés à la quantité des fractions à séparer. Le choix des conditions

d'élution, le suivi de la séparation et le rassemblement final des sous fractions ont été effectués sur la base d'analyses par CCM.

#### IV. 2. 3. Chromatographie liquide sous vide (VLC)

Pour une séparation grossière, les chromatographies d'adsorption en phase normale sur silice (Kieselgel Merck, 70-230 mesh, 63-200  $\mu\text{m}$ ) ont été réalisées selon le principe de la VLC. Le fractionnement sous vide a été effectué dans un entonnoir Büchner avec verre fritté, rempli avec la phase stationnaire (10 fois la masse de l'extrait). Les extraits bruts ont été introduits sous forme solide en les mélangeant avec la phase stationnaire. Des éluants à polarité croissante ou décroissante ont été choisis en fonction de la phase stationnaire utilisée. Des fractions de 100 ml ont été collectées à chaque fois.

#### IV. 3. Techniques d'identification structurale

L'identification des structures moléculaires organiques se fait généralement par utilisation combinée de plusieurs techniques spectroscopiques : la spectroscopie de masse et la résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone.

Ces techniques permettent dans un temps réduit d'avoir des données importantes conduisant à l'élucidation structurale. Les plus utilisées au cours de notre travail ont été :

##### IV.3.1. Spectrométrie de masse (SM)

Les spectres de masse (ESI-MS) réalisés sur les composés isolés sont obtenus à l'aide d'une source d'ionisation douce ESI sur des spectromètres Micromasse Q-TOF du Département de Chimie Organique et Produits Naturel et Agro- alimentaire, Université d'Aveiro (Portugal).

##### IV. 3. 2. Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

L'ensemble des spectres de RMN monodimensionnelle ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et bidimensionnelle ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC) sont réalisés sur un appareil BRÜKER Avance 300 (300.13 MHz pour  $^1\text{H}$  et 75 MHz pour  $^{13}\text{C}$ ) du Département de Chimie Organique et Produits Naturel

et Agro- alimentaire, Université d'Aveiro (Portugal). Les échantillons ont été dissous dans les solvants DMSO et MeOH. Les déplacements chimiques  $\delta$  ont été exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS), utilisé comme référence interne.

#### IV.4. Etude phytochimique de l'espèce *Saccocalyx satureioides*

##### IV.4.1. Obtention des extraits

Les parties aériennes de la plante *Saccocalyx satureioides* préalablement séchées à l'air libre puis broyées ont donné une quantité de 1,5 Kg de poudre fine. Cette dernière a été mise à macérer dans un mélange hydroalcoolique (éthanol/eau 70/30 v/v), à raison de 1L pour 100 g de poudre, à température ambiante pendant (48h). Cette opération est répétée deux fois avec renouvellement de solvant.

Après filtration et élimination du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif à la température de 40°C. Ensuite la liqueur est épuisée dans une ampoule à décantation, plusieurs fois, successivement, en utilisant des solvants de polarité croissante (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol).

Les extraits obtenus ont été évaporés à sec, ce qui a conduit à la récupération de 10,27 g d'extrait d'éther de pétrole, 20,76 g d'extrait chloroformique, 18,3 g d'extrait d'acétate d'éthyle et 30 g d'extrait *n*-butanolique.

##### IV. 4. 2. Fractionnement et purification de l'extrait acétate d'éthyle

L'extrait acétate d'éthyle a été l'un des premiers étudiés. 7 g de cet extrait ont été fractionnés par une chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice en phase normale en utilisant un gradient d'élution éther de pétrole -acétate d'éthyle allant de (100-0) à (0-100) puis acétate d'éthyle-méthanol (100-0) à (0-100) (tableau IV. 4. 2.1). Cette étape de fractionnement nous a permis de recueillir 5 fractions majoritaires **F1** à **F5** (figure IV. 4. 2. 1).

Tableau IV. 4. 2.1. Progression de la VLC de l'extrait AcOEt

| Eluant                | Fractions collectées | Fractions Regroupées | Masse           |
|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------|
| E.P                   | 1                    | <b>F<sub>1</sub></b> | <b>114,8 mg</b> |
| E.P - AcOEt (99 – 1)  | 2                    |                      |                 |
| E.P - AcOEt (97 – 3)  | 3                    |                      |                 |
| E.P - AcOEt (95 – 5)  | 4                    |                      |                 |
| E.P - AcOEt (90 – 10) | 5                    |                      |                 |
| E.P - AcOEt (80 – 20) | 6                    |                      |                 |
| E.P - AcOEt (70 – 30) | 7                    |                      |                 |
| E.P - AcOEt (60 – 40) | 8                    |                      |                 |
| E.P - AcOEt (50 – 50) | 9                    |                      |                 |
| E.P - AcOEt (40 – 60) | 10                   | <b>F<sub>2</sub></b> | <b>628,8 mg</b> |
|                       | 11                   |                      |                 |
| E.P - AcOEt (30 – 70) | 12                   |                      |                 |
|                       | 13                   |                      |                 |
| E.P - AcOEt (20 – 80) | 14                   |                      |                 |
|                       | 15                   | <b>F<sub>3</sub></b> | <b>218,7 mg</b> |
| E.P - AcOEt (10 – 90) | 16                   |                      |                 |
|                       | 17                   | <b>F<sub>4</sub></b> | <b>4,478 g</b>  |
| acétate d'éthyle pur  | 18                   |                      |                 |
|                       | 19                   |                      |                 |
| AcOEt-MeOH (99 – 1)   | 20                   |                      |                 |
| AcOEt-MeOH (97 – 3)   | 21                   |                      |                 |
| AcOEt-MeOH (95 – 5)   | 22                   |                      |                 |
| AcOEt-MeOH (90 – 10)  | 23                   |                      |                 |
|                       | 24                   |                      |                 |
| AcOEt-MeOH (80 – 20)  | 25                   |                      |                 |
|                       | 26                   | <b>F<sub>5</sub></b> | <b>1,278 g</b>  |
| AcOEt-MeOH (70 – 30)  | 27                   |                      |                 |
|                       | 28                   |                      |                 |
|                       | 29                   |                      |                 |
| AcOEt-MeOH (60 – 40)  | 30                   |                      |                 |
| AcOEt-MeOH (40 – 60)  | 31                   |                      |                 |
| méthanol pur          | 32                   |                      |                 |

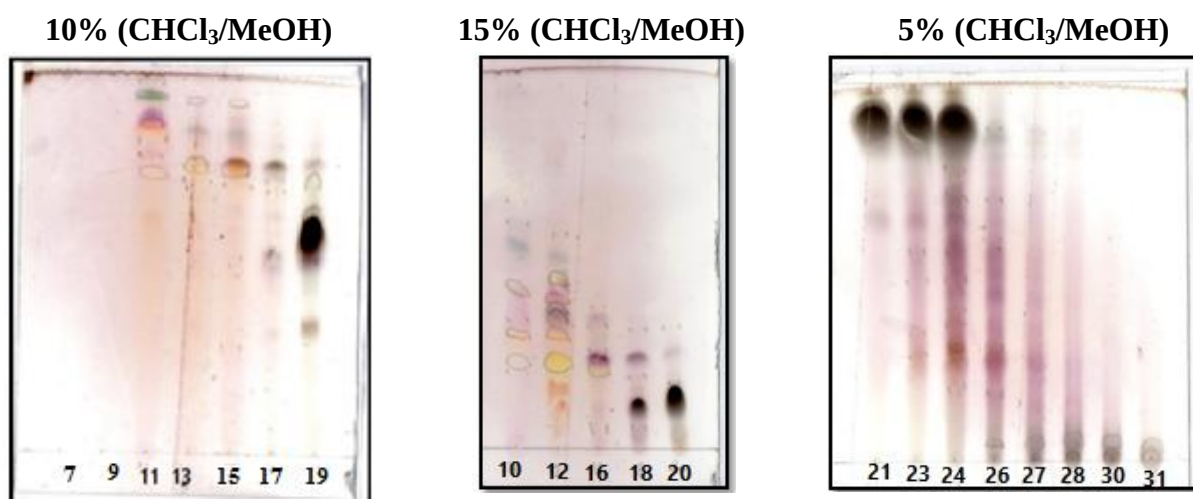


Figure IV. 4. 2. 1. CCM en phase normale des fractions de la VLC de l'extrait AcOEt

#### ❖ Etude de la fraction F<sub>3</sub>

Le fractionnement de F<sub>3</sub> (218,7 mg) est réalisé par une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale utilisant comme phase mobile le mélange de solvants Chloroforme/Méthanol (tableau IV. 4. 2.2.), ce qui a abouti à l'isolement de 20 sous fractions qui vont de F<sub>3-1</sub> à F<sub>3-20</sub>.

F<sub>3-8</sub>, F<sub>3-9</sub> et F<sub>3-12</sub> sont les sous fractions qui font l'objet d'investigations chimiques approfondies (figure IV. 4. 2.2).

Tableau IV. 4. 2.2. Progression de la colonne de la fraction F<sub>3</sub>

| Eluant                         | Fractions regroupées | Masse   | Eluant                           | Fractions regroupées | Masse  |
|--------------------------------|----------------------|---------|----------------------------------|----------------------|--------|
| Chloroforme 100%               | F <sub>3-1</sub>     | 31,2 mg | CHCl <sub>3</sub> / MeOH (97-3)  | F <sub>3-12</sub>    | 12,4mg |
|                                | F <sub>3-2</sub>     | 4,4 mg  |                                  | F <sub>3-13</sub>    | 8,7 mg |
| CHCl <sub>3</sub> /MeOH (99-1) | F <sub>3-3</sub>     | 3,6 mg  |                                  | F <sub>3-14</sub>    | 4,5 mg |
|                                | F <sub>3-4</sub>     | 16,3 mg | CHCl <sub>3</sub> / MeOH (95-5)  | F <sub>3-15</sub>    | 7,8 mg |
|                                | F <sub>3-5</sub>     | 16,2 mg |                                  | F <sub>3-16</sub>    | 2,9 mg |
|                                | F <sub>3-6</sub>     | 10,8 mg | CHCl <sub>3</sub> / MeOH (93-7)  | F <sub>3-17</sub>    | 6,4 mg |
|                                | F <sub>3-7</sub>     | 11,8 mg | CHCl <sub>3</sub> / MeOH (90-10) |                      |        |
|                                | F <sub>3-8</sub>     | 24,7 mg | CHCl <sub>3</sub> /MeOH (85-15)  | F <sub>3-18</sub>    | 1,8 mg |
|                                | F <sub>3-9</sub>     | 11,3 mg | CHCl <sub>3</sub> /MeOH (80-20)  | F <sub>3-19</sub>    | 2,6 mg |
|                                | F <sub>3-10</sub>    | 4,9 mg  | CHCl <sub>3</sub> /MeOH (70-30)  |                      |        |
|                                | F <sub>3-11</sub>    | 7,5 mg  | MeOH 100%                        | F <sub>3-20</sub>    | 4,5 mg |

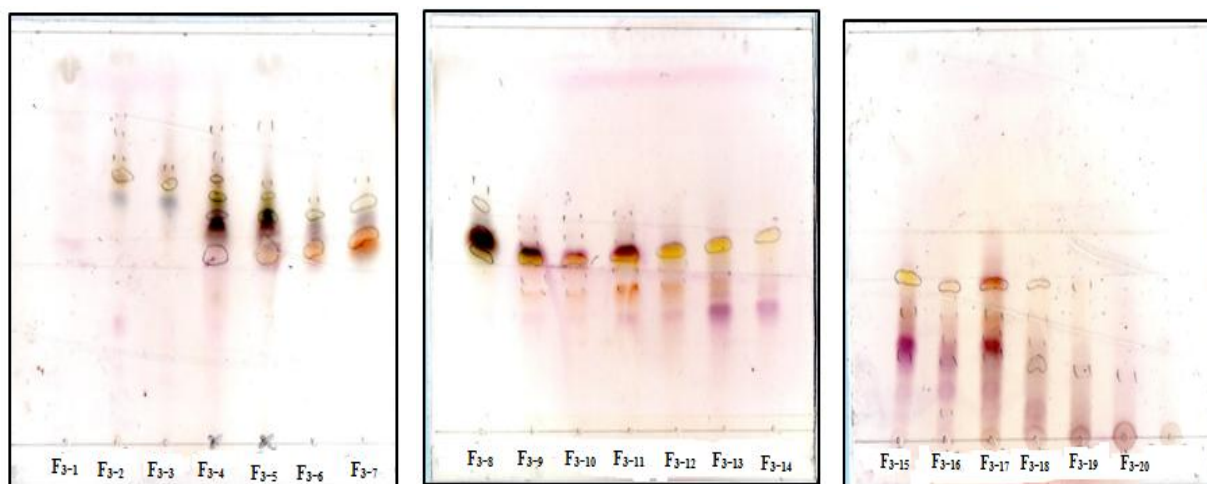
10% CHCl<sub>3</sub> / MeOH

**Figure IV. 4. 2.2. CCM en phase normale des sous fractions étudiée de la fraction F<sub>3</sub>**

Les deux sous fractions F<sub>3-8</sub> et F<sub>3-9</sub> montrant un profil presque similaire sur CCM, sont regroupées pour donner une masse de 36 mg (F<sub>3</sub><sup>'</sup>). Cette dernière est traitée par une chromatographie sur colonne de Séphadex LH-20. L'élution réalisée par un seul solvant (Méthanol), a permis de récolter 11 sous fractions (tableau IV. 4. 2.3).

**Tableau IV. 4. 2.3. Progression de la colonne de la fraction F<sub>3</sub><sup>'</sup>**

| Eluant    | Fractions regroupées     | Masse |
|-----------|--------------------------|-------|
| MeOH 100% | F <sub>3</sub> (1-28)    | 1,2   |
|           | F <sub>3</sub> (29-31)   | 2,2   |
|           | F <sub>3</sub> (32-42)   | 19,6  |
|           | F <sub>3</sub> (43-56)   | 2,8   |
|           | F <sub>3</sub> (57-68)   | 1,3   |
|           | F <sub>3</sub> (69-81)   | 2,4   |
|           | F <sub>3</sub> (82-88)   | 2,4   |
|           | F <sub>3</sub> (89-98)   | 0,4   |
|           | F <sub>3</sub> (99-107)  | 3     |
|           | F <sub>3</sub> (108-118) | 2,2   |
|           | F <sub>3</sub> (119-145) | 0,7   |

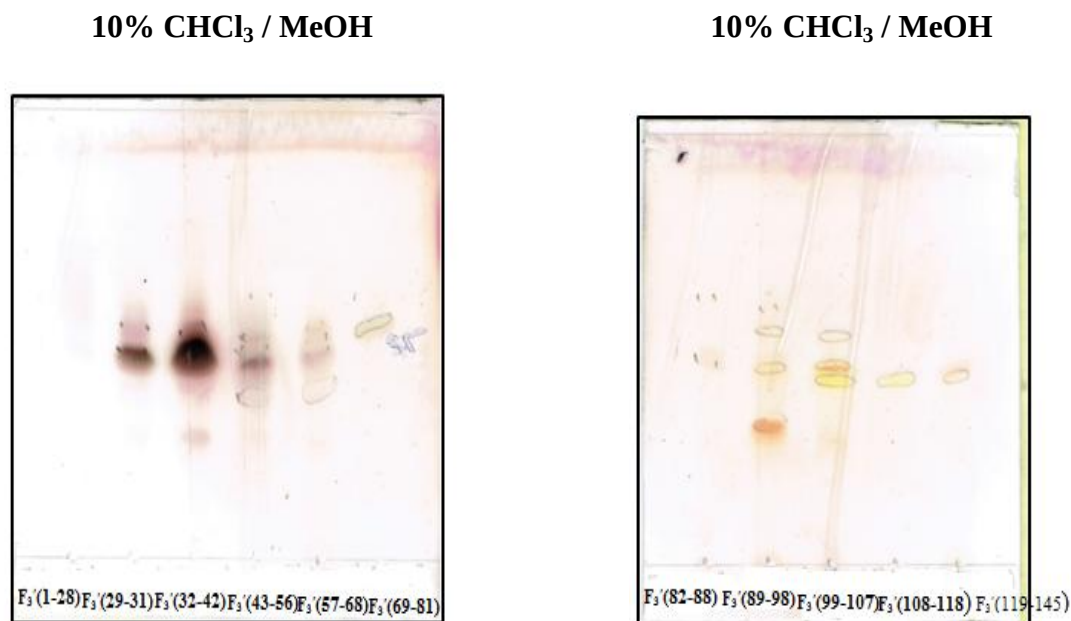


**Figure IV. 4. 2.3. CCM en phase normale des sous fractions étudiée de la fraction F<sub>3</sub>'**

La purification de la fraction **F<sub>3</sub>'** (**F<sub>3-8</sub>** + **F<sub>3-9</sub>**) a conduit à l'isolement du composé **SS3** [**F<sub>3</sub>' (69-81)**] d'une masse de 2,4 mg (figure IV. 4. 2.4).

**10% CHCl<sub>3</sub> / MeOH**



**Figure IV. 4. 2.4. CCM en phase normale du composé SS3**

La sous fraction **F<sub>3-12</sub>** d'une masse de 12,4 mg a subi une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale éluée par chloroforme/ méthanol (95-5, 93-7, 90-10, 85-15, 80-20, 75-25, 70-30, 65-35 et 60-40) pour donner le composé **SS9** (3.4 mg) à l'état pur (figure IV. 4. 2.5).

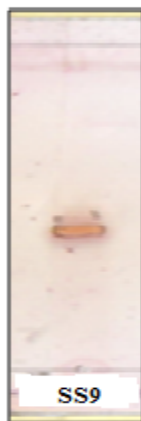
20%  $\text{CHCl}_3$  / MeOH

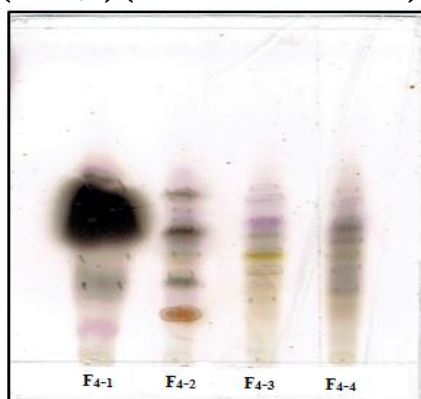
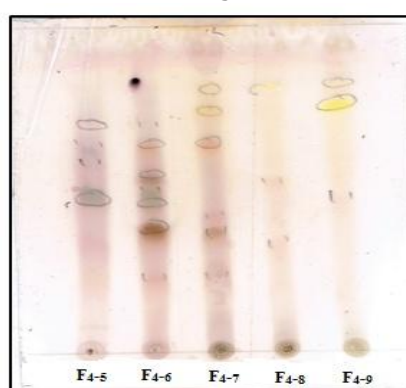
Figure IV. 4. 2.5. CCM en phase normale du composé SS9

❖ Etude de la fraction  $F_4$ 

Cette fraction d'une masse de 4,478 g a fait l'objet d'une chromatographie sur colonne de polyamide utilisant le mélange  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$  comme phase mobile avec différents gradients  $(100-0) \rightarrow (0-100)$  (tableau IV. 4. 2. 4). Les fractions collectées sont rassemblées selon leur profil en CCM pour donner 9 sous fractions  $F_{4-1}$  à  $F_{4-9}$  (figure IV. 4. 2. 6).

Tableau IV. 4. 2.4. Progression de la colonne de la fraction  $F_4$ 

| Eluant                          | Fractions<br>regroupées | Masse    | Eluant                        | Fractions<br>regroupées | Masse   |
|---------------------------------|-------------------------|----------|-------------------------------|-------------------------|---------|
| H <sub>2</sub> O 100%           | F <sub>4-1</sub>        | 2,82 g   | H <sub>2</sub> O/MeOH (50-50) | F <sub>4-5</sub>        | 36,3 mg |
| H <sub>2</sub> O 100%           | F <sub>4-2</sub>        | 185 mg   | H <sub>2</sub> O/MeOH (20-80) |                         |         |
| H <sub>2</sub> O / MeOH (80-20) |                         |          | H <sub>2</sub> O/MeOH (20-80) | F <sub>4-6</sub>        | 97,4 mg |
| H <sub>2</sub> O / MeOH (80-20) | F <sub>4-3</sub>        | 140,5 mg |                               | F <sub>4-7</sub>        | 56.5 mg |
| H <sub>2</sub> O / MeOH (50-50) |                         |          | MeOH 100%                     | F <sub>4-8</sub>        | 34,5 mg |
| H <sub>2</sub> O / MeOH (50-50) | F <sub>4-4</sub>        | 264,1 mg |                               | F <sub>4-9</sub>        | 64,8 mg |

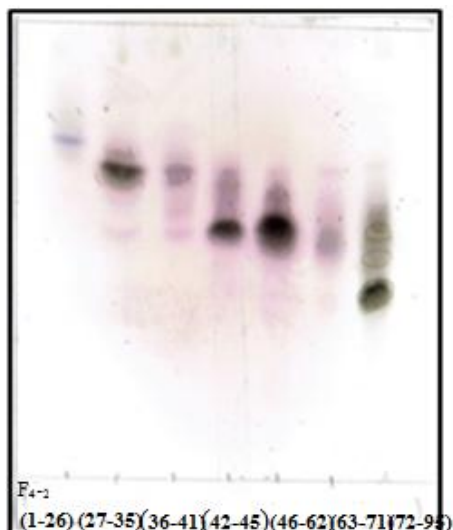
(8-2-0,2) ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ )20%  $\text{CHCl}_3$  / MeOHFigure IV. 4. 2.6. CCM en phase normale des sous fractions étudiée de la fraction  $F_4$

La première sous fraction étudiée,  $F_{4-2}$  (185 mg) est soumise à une chromatographie sur colonne de  $\text{SiO}_2$  éluée par le système de solvants Chloroforme / Ethanol allant de (100-0) à (0-100) (tableau IV. 4. 2.5) pour donner 15 sous fractions (figure IV. 4. 2.7).

**Tableau IV. 4. 2.5. Progression de la colonne de la fraction  $F_{4-2}$**

| Eluant                             | Fractions regroupées | Masse   | Eluant                             | Fractions regroupées | Masse  |
|------------------------------------|----------------------|---------|------------------------------------|----------------------|--------|
| $\text{CHCl}_3$ 100%               | $F_{4-2}$ (1-26)     | 10,8 mg | $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}(90-10)$ | $F_{4-2}$ (96-107)   | 6,3 mg |
| $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ (99-1) |                      |         |                                    | $F_{4-2}$ (108-115)  | 4,2 mg |
| $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ (97-3) | $F_{4-2}$ (27-35)    | 21,9 mg | $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}(85-15)$ | $F_{4-2}$ (116)      | 0,3 mg |
| $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ (95-5) | $F_{4-2}$ (36-41)    | 5,1 mg  |                                    | $F_{4-2}$ (117-119)  | 4,4 mg |
|                                    | $F_{4-2}$ (42-45)    | 10,5 mg |                                    | $F_{4-2}$ (120-123)  | 8,7 mg |
|                                    | $F_{4-2}$ (46-62)    | 35,4 mg |                                    | $F_{4-2}$ (124-135)  | 8,7 mg |
| $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ (93-7) | $F_{4-2}$ (63-71)    | 6,6 mg  |                                    | $F_{4-2}$ (136-141)  | 2,8 mg |
|                                    | $F_{4-2}$ (72-95)    | 29,3 mg | EtOH 100%                          | $F_{4-2}$ (142-150)  | 9 mg   |

(8-2-0,2) ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ )



(8-2-0,2) ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ )

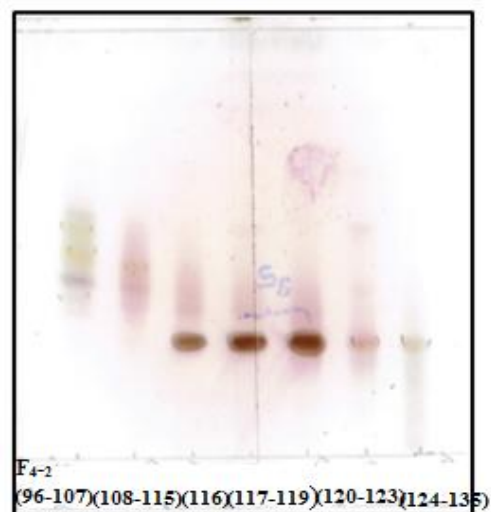


**Figure IV. 4. 2.7. CCM en phase normale des sous fractions étudiée de la fraction  $F_{4-2}$**

Cette purification a conduit à l'isolement du composé **SS2** [ $F_{4-2}$  (120-123) +  $F_{4-2}$  (124-135)] (17.4 mg) (figure IV. 4. 2.8).

(8-2-0,2) ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ )**Figure IV. 4. 2. 8. CCM en phase normale du composé SS2**

Cependant, la deuxième sous fraction  $F_{4-6}$  (97,4 mg) a fait l'objet d'une purification sur colonne de Sephadex LH-20 où l'élution est réalisée par l'éthanol (tableau IV. 4. 2.6). Ainsi, 9 sous fractions ont été regroupées (figure IV. 4. 2.9). Ceci a permis d'isoler le composé **SS1** [ $F_{4-6}$  (48-49) +  $F_{4-6}$  (50-56)] (6,7 mg) (figure IV. 4. 2.10).

**Tableau IV. 4. 2. 6. Progression de la colonne de la fraction  $F_{4-6}$** 

| Eluant    | Fractions regroupées | Masse   |
|-----------|----------------------|---------|
| EtOH 100% | $F_{4-6}$ (1-7)      | 3,2 mg  |
|           | $F_{4-6}$ (8-19)     | 10,3 mg |
|           | $F_{4-6}$ (20-23)    | 6,5 mg  |
|           | $F_{4-6}$ (24-28)    | 9,3 mg  |
|           | $F_{4-6}$ (29-41)    | 34,4 mg |
|           | $F_{4-6}$ (42-47)    | 9,7 mg  |
|           | $F_{4-6}$ (48-49)    | 1,7 mg  |
|           | $F_{4-6}$ (50-56)    | 5 mg    |

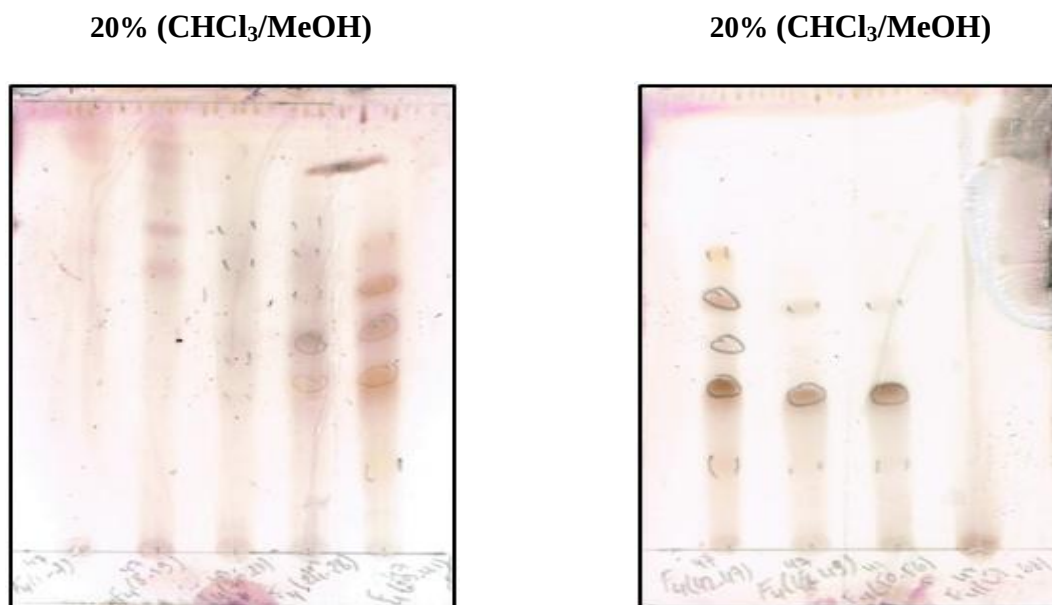


Figure IV. 4. 2.9. CCM en phase normale des sous fractions étudiée de la fraction  $F_{4-6}$

20%  $\text{CHCl}_3$  / MeOH



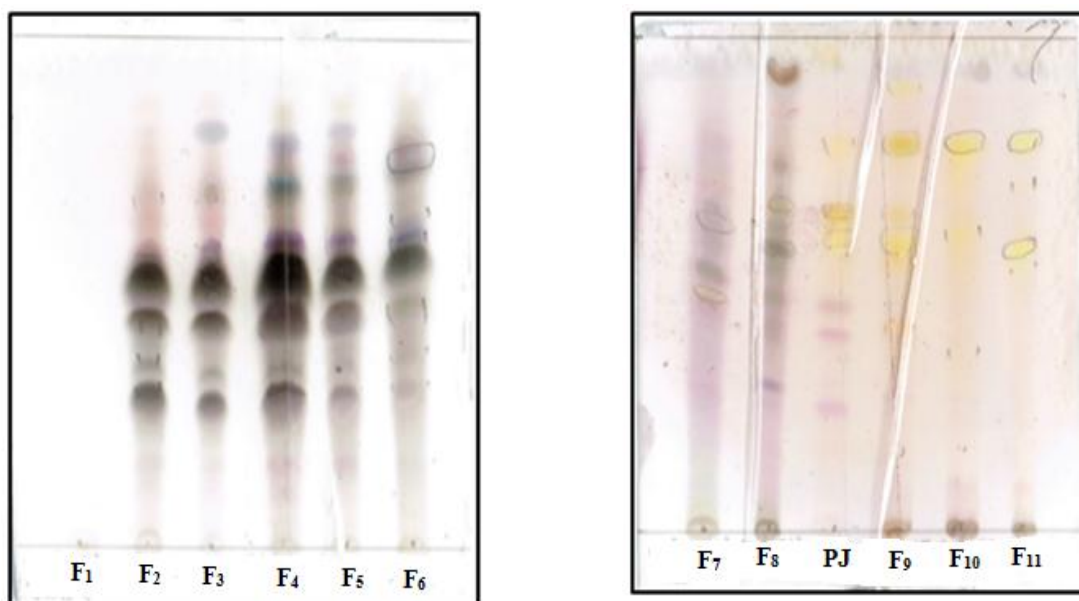
Figure IV. 4. 2.10. CCM en phase normale du composé SS1

#### ❖ Etude de la fraction $F_5$

La fraction  $F_5$  d'une masse 1,278 g est traitée par une chromatographie sur colonne de polyamide éluee par le système de solvants  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$  (tableau.IV. 4. 2. 7). Après fractionnement et rassemblement, 11 fractions majoritaires ont été obtenues (figure IV. 4. 2.11).

Tableau IV. 4. 2.7. Progression de la colonne de la fraction F<sub>5</sub>

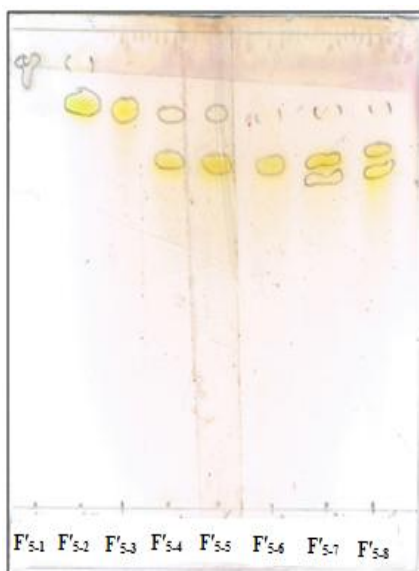
| Eluant                          | Fractions regroupées | Masse    | Eluant                          | Fractions regroupées | Masse    |
|---------------------------------|----------------------|----------|---------------------------------|----------------------|----------|
| H <sub>2</sub> O 100%           | F <sub>5-1</sub>     | 4,7 mg   | H <sub>2</sub> O / MeOH (20-80) | F <sub>5-7</sub>     | 56,99 mg |
|                                 | F <sub>5-2</sub>     | 49,69 mg |                                 | F <sub>5-8</sub>     | 20,96 mg |
| H <sub>2</sub> O / MeOH (80-20) | F <sub>5-3</sub>     | 37,86 mg |                                 | F <sub>5-9</sub>     | 761,4mg  |
|                                 | F <sub>5-4</sub>     | 97,16 mg | MeOH 100%                       | F <sub>5-10</sub>    | 54,5 mg  |
| H <sub>2</sub> O / MeOH (50-50) | F <sub>5-5</sub>     | 40,15 mg |                                 | F <sub>5-11</sub>    | 63,8 mg  |
|                                 | F <sub>5-6</sub>     | 90,79 mg |                                 |                      |          |

10% (CHCl<sub>3</sub>/MeOH)Figure IV. 4. 2.11. CCM en phase normale des sous fractions de la fraction F<sub>5</sub>

La sous fraction F<sub>5-9</sub> (761,4 mg) a subi un fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale éluée par le mélange de solvants Chloroforme / Ethanol (100-0) → (0-100) (tableau IV.4.2.8) pour aboutir 16 sous fractions allant de F'<sub>5-1</sub> à F'<sub>5-16</sub> (figure IV. 4. 2.12).

Tableau. IV. 4. 2. 8. Progression de la colonne de la fraction F<sub>5-9</sub>

| Eluant           | Fractions regroupées | Masse    | Eluant                           | Fractions regroupées | Masse   |
|------------------|----------------------|----------|----------------------------------|----------------------|---------|
| Chloroforme 100% | F' <sub>5-1</sub>    | 13,3 mg  | Chloroforme 100%                 | F' <sub>5-9</sub>    | 83,4 mg |
|                  | F' <sub>5-2</sub>    | 32,3 mg  |                                  | F' <sub>5-10</sub>   | 33,7 mg |
|                  | F' <sub>5-3</sub>    | 20,6 mg  | CHCl <sub>3</sub> / EtOH (99-1)  | F' <sub>5-11</sub>   | 53,8 mg |
|                  | F' <sub>5-4</sub>    | 40,3 mg  | CHCl <sub>3</sub> / EtOH (97-3)  | F' <sub>5-12</sub>   | 4,7 mg  |
|                  | F' <sub>5-5</sub>    | 47,5 mg  |                                  | F' <sub>5-13</sub>   | 12,6 mg |
|                  | F' <sub>5-6</sub>    | 29,9 mg  | CHCl <sub>3</sub> / EtOH (95-5)  | F' <sub>5-14</sub>   | 22,8 mg |
|                  | F' <sub>5-7</sub>    | 37,6 mg  | CHCl <sub>3</sub> / EtOH (90-10) | F' <sub>5-15</sub>   | 25,5 mg |
|                  | F' <sub>5-8</sub>    | 455,8 mg | EtOH 100%                        | F' <sub>5-16</sub>   | 29,4 mg |

10% (CHCl<sub>3</sub>/MeOH)10% (CHCl<sub>3</sub>/MeOH)Figure IV. 4. 2.12. CCM en phase normale des sous fractions étudiée de la fraction F<sub>5-9</sub>

Cette fraction présente deux produits majoritaires **SS5** (F'<sub>5-3</sub>) (20,6 mg) et **SS8** (F'<sub>5-6</sub>) (29,6 mg) à l'état pur (figure IV. 4. 2.13.) .

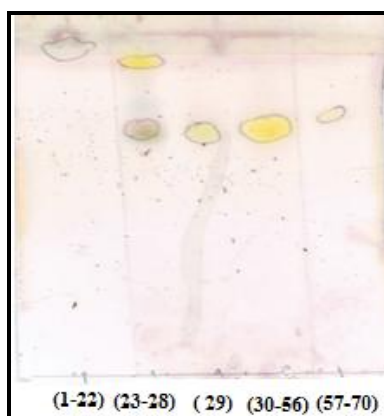
5% ( $\text{CHCl}_3$  / MeOH)5% ( $\text{CHCl}_3$  / MeOH)

Figure IV. 4. 2.13. CCM en phase normale des composés SS5 et SS8

Alors que, la purification de la sous fraction  $F'_{5-2}$  (32,3 mg) a été réalisée par une CC de gel de silice en phase normale éluée par le chloroforme (tableau IV.4.2.9), ce qui a permis de collecter 5 sous fractions (figure IV. 4. 2.14.) .

Tableau IV. 4. 2. 9. Progression de la colonne de la sous fraction  $F'_{5-2}$ 

| Eluant           | Fractions regroupées | Masse   |
|------------------|----------------------|---------|
| Chloroforme 100% | $F'_{5-2}$ (1-22)    | 1,7 mg  |
|                  | $F'_{5-2}$ (23-28)   | 11,4 mg |
|                  | $F'_{5-2}$ (29)      | 2,1 mg  |
|                  | $F'_{5-2}$ (30-56)   | 23,3 mg |
|                  | $F'_{5-2}$ (57-70)   | 0,7 mg  |

10%  $\text{CHCl}_3$  / MeOHFigure IV. 4. 2.14. CCM en phase normale des sous fractions étudiées de  $F'_{5-2}$

Cependant, la deuxième sous fraction **F'<sub>5-2</sub>(23-28)** (11,4 mg) a fait l'objet d'une purification sur colonne de SiO<sub>2</sub> en phase normale où l'élution est réalisée par le chloroforme (tableau IV.4.2.10). Ces fractions sont regroupées, selon leur analyse par CCM (chloroforme-méthanol :90-10) en 5 sous-fractions qui vont de **F'<sub>5-2</sub> (1-6)<sup>23</sup>** à **F'<sub>5-2</sub> (43-70)<sup>23</sup>** comme le montre la figure IV.4. 2.15. La fraction **F'<sub>5-2</sub> (1-6)<sup>23</sup>** a donné le produit **SS6** (2,6 mg) (figure IV. 4. 2.16).

**Tableau IV. 4. 2.10. Progression de la colonne de la sous fraction F'<sub>5-2</sub>(23-28)**

| Eluant           | Fractions regroupées                    | Masse  |
|------------------|-----------------------------------------|--------|
| Chloroforme 100% | F' <sub>5-2</sub> (1-6) <sup>23</sup>   | 2,6 mg |
|                  | F' <sub>5-2</sub> (7-17) <sup>23</sup>  | 9,5 mg |
|                  | F' <sub>5-2</sub> (18-28) <sup>23</sup> | 0,5 mg |
|                  | F' <sub>5-2</sub> (29-42) <sup>23</sup> | 1,3 mg |
|                  | F' <sub>5-2</sub> (43-70) <sup>23</sup> | 0,1 mg |

**10% CHCl<sub>3</sub> / MeOH**

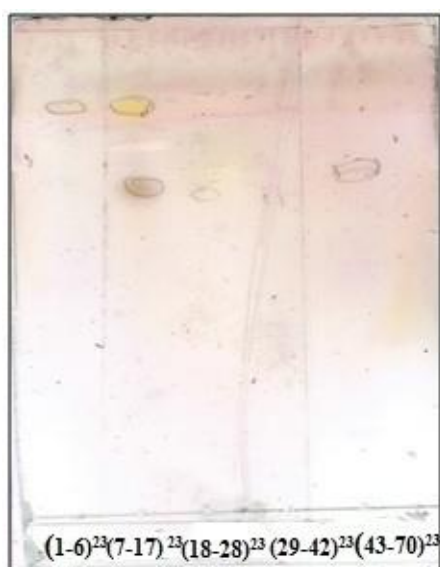


**Figure IV. 4. 2.15. CCM en phase normale des sous fractions de F'<sub>5-2</sub>(23-28)**

10% CHCl<sub>3</sub> / MeOH

Figure IV. 4. 2.16. CCM en phase normale du composé SS6

Le composé **SS7** (4,7 mg) (figure IV. 4. 2.18) est issu d'une chromatographie sur colonne de SiO<sub>2</sub> de la fraction **F'<sub>5-10</sub>** (33,7 mg) éluée par toluène / MeOH (100-0) → (0-100) (tableau IV. 4. 2.11.), cette purification a permis de collecter 23 sous fractions allant de **F'<sub>5-10</sub> (1 – 58)** à **F'<sub>5-10</sub> (313 – 339)** selon leur analyse par CCM CHCl<sub>3</sub> / MeOH 10% (figure IV. 4. 2.17).

Tableau IV. 4. 2.11. Progression de la colonne de la sous fraction **F'<sub>5-2</sub>(23-28)**

| Eluant               | Fractions regroupées           | Masse  | Eluant               | Fractions regroupées          | Masse  |
|----------------------|--------------------------------|--------|----------------------|-------------------------------|--------|
| Toluène (100%)       | F' <sub>5-10</sub> (1 – 58)    | 0,1 mg | Toluène/MeOH (90-10) | F' <sub>5-10</sub> (205– 216) | 1,9 mg |
| Toluène/MeOH (99-1)  |                                |        |                      | F' <sub>5-10</sub> (217– 239) | 4,7 mg |
| Toluène/MeOH (99-1)  | F' <sub>5-10</sub> (59 – 80)   | 0,1 mg | Toluène/MeOH (80-20) | F' <sub>5-10</sub> (240– 242) | 0,3 mg |
| Toluène/MeOH (97-3)  |                                |        |                      | F' <sub>5-10</sub> (243– 254) | 3,8 mg |
| Toluène/MeOH (97-3)  | F' <sub>5-10</sub> (81– 82)    | 0,6 mg |                      | F' <sub>5-10</sub> (255– 265) | 2,4mg  |
|                      | F' <sub>5-10</sub> (83– 107)   | 2,7 mg |                      | F' <sub>5-10</sub> (266– 270) | 1 mg   |
|                      | F' <sub>5-10</sub> (108 – 124) | 0,8 mg |                      | F' <sub>5-10</sub> (271– 278) | 1,2mg  |
|                      | F' <sub>5-10</sub> (125 – 139) | 1,2 mg |                      | F' <sub>5-10</sub> (279– 288) | 1,9mg  |
|                      | F' <sub>5-10</sub> (140 – 160) | 0,8 mg |                      | F' <sub>5-10</sub> (289– 291) | 0,2 mg |
| Toluène/MeOH (95-5)  | F' <sub>5-10</sub> (161 – 167) | 0,2 mg |                      | F' <sub>5-10</sub> (292– 295) | 0,3 mg |
|                      | F' <sub>5-10</sub> (168 – 176) | 1,1mg  | Toluène/MeOH (70-30) | F' <sub>5-10</sub> (296– 312) | 3,3 mg |
|                      | F' <sub>5-10</sub> (177– 190)  | 1 mg   | MeOH(100%)           | F' <sub>5-10</sub> (313– 339) | 4,1 mg |
| Toluène/MeOH (90-10) | F' <sub>5-10</sub> (191– 204)  | 3,9 mg |                      |                               |        |

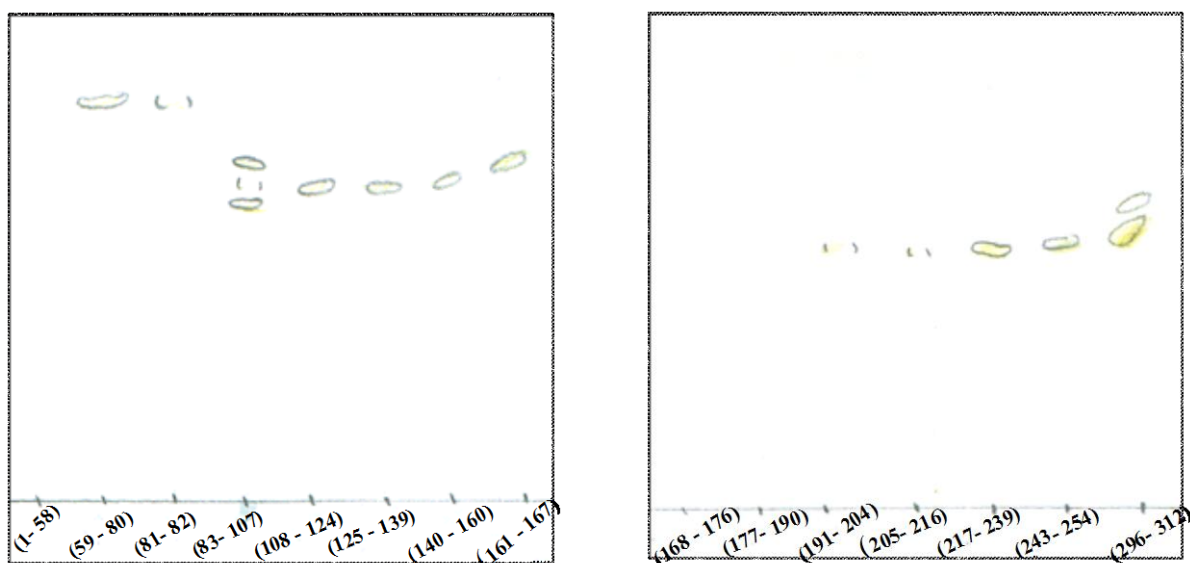
10%  $\text{CHCl}_3$  / MeOHFigure IV. 4. 2.17. CCM en phase normale des sous fractions de  $F'_{5-10}$ 10%  $\text{CHCl}_3$  / MeOH

Figure IV. 4. 2.18. CCM en phase normale du composé SS7

La fraction  $F_{5-11}$  (63,8 mg) est soumise à une chromatographie sur colonne de Séphadex LH-20. L'élution réalisée par un mélange chloroforme-méthanol (100-0, 0-100) a permis de récolter 89 fractions (tableau IV.4.2.12) .

Le suivi CCM (chloroforme - méthanol: 95-5) de ces fractions a permis de les rassembler en 16 sous-fractions s'étalant de  $F''_{5-1}$  à  $F''_{5-16}$  (figure IV. 4. 2.19). La fraction résultante  $F''_{5-13}$  a donné directement le produit **SS4** pur (15,6 mg) (figure IV. 4. 2.20).

Tableau. IV. 4. 2.12. Progression de la colonne de la fraction F<sub>5-11</sub>

| Eluant                          | Fractions regroupées | Masse  | Eluant                          | Fractions regroupées | Masse   |
|---------------------------------|----------------------|--------|---------------------------------|----------------------|---------|
| CHCl <sub>3</sub> 100%          | F'' <sub>5-1</sub>   | 6,9 mg | CHCl <sub>3</sub> / MeOH (95-5) | F'' <sub>5-9</sub>   | 0,1 mg  |
|                                 | F'' <sub>5-2</sub>   | 2 mg   |                                 | F'' <sub>5-10</sub>  | 1,9 mg  |
|                                 | F'' <sub>5-3</sub>   | 2,3 mg |                                 | F'' <sub>5-11</sub>  | 2,5 mg  |
|                                 | F'' <sub>5-4</sub>   | 2 mg   |                                 | F'' <sub>5-12</sub>  | 2,4 mg  |
|                                 | F'' <sub>5-5</sub>   | 0,5 mg |                                 | F'' <sub>5-13</sub>  | 15,6 mg |
|                                 | F'' <sub>5-6</sub>   | 2,5 mg | CHCl <sub>3</sub> / MeOH (93-7) | F'' <sub>5-14</sub>  | 9,2 mg  |
|                                 | F'' <sub>5-7</sub>   | 2,3 mg |                                 | F'' <sub>5-15</sub>  | 0,5 mg  |
| CHCl <sub>3</sub> / MeOH (99-1) | F'' <sub>5-8</sub>   | 8,4 mg | MeOH 100%                       | F'' <sub>5-16</sub>  | 4,7 mg  |

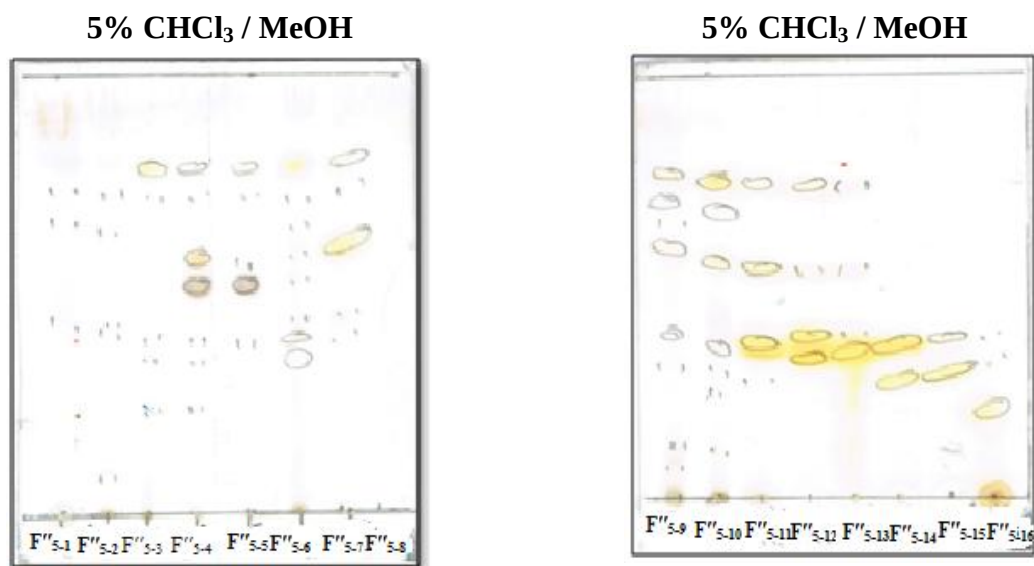
Figure IV. 4. 2.19. CCM en phase normale des sous fractions étudiées de F<sub>5-11</sub>5% CHCl<sub>3</sub> / MeOH

Figure IV. 4. 2.20. CCM en phase normale du composé SS4

### IV. 5. Composés isolés de l'espèce *Saccocalyx satureioides*

L'étude par chromatographie liquide de l'extrait d'acétate d'éthyle de l'espèce *Saccocalyx satureioides* a mené à l'isolement et la purification de plusieurs produits à l'état pur.

Avant de soumettre nos échantillons à l'analyse structurale par les différentes techniques spectroscopiques, nous avons procédé à des co-chromatographies dans divers systèmes et enregistré des spectres de RMN  $^1\text{H}$  de l'ensemble des produits isolés.

Tenant compte du poids des composés isolés et de l'allure de leur spectre RMN  $^1\text{H}$ , seuls les échantillons : SS1 → SS9 ont été soumis à l'analyse structurale complète.

Les structures des composés isolés ont été établies par les méthodes spectroscopiques modernes citées précédemment et la comparaison avec les données de la littérature.

#### IV. 5. 1. Composé SS1

- **Nom** : Acide indole -3-carboxylique-(6'-O- caffeoyl)- $\beta$ -D-glucoside

- **Formule brute** :  $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{O}_{10}\text{N}$

- **Aspect** : Laque marron

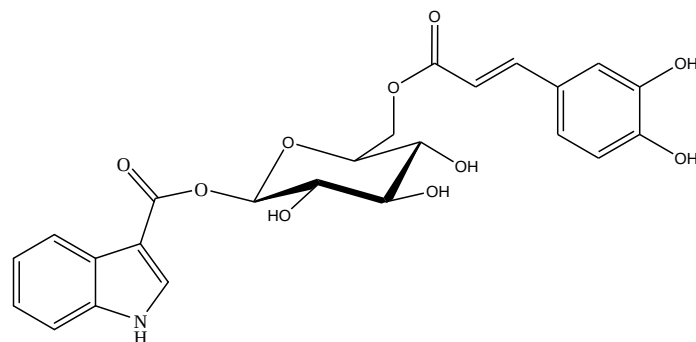
- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 508,4 [\text{M}+\text{Na}]^+$$

- **RMN  $^1\text{H}$**  : 300 MHz, DMSO

- **RMN  $^{13}\text{C}$**  : 75 MHz, DMSO

- **Tableau des données** : III. 1. 3. 1



#### IV. 5. 2. Composé SS2

- **Nom** : Acide indole-3-carboxylique- $\beta$ -D-glucoside

- **Formule brute** :  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}$

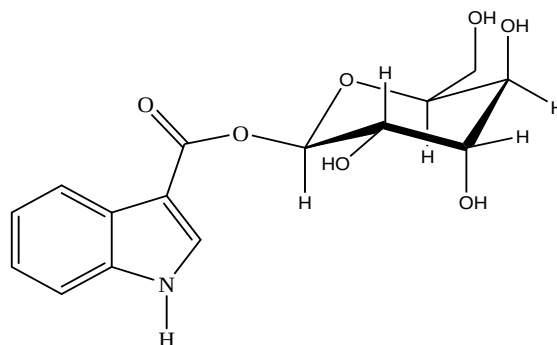
- **Aspect** : Laque marron

- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 346,3 [M+Na]^+$$

$$m/z = 669,5 [2M+Na]^+$$

- **RMN  $^1H$**  : 300 MHz, DMSO
- **RMN  $^{13}C$**  : 75 MHz, DMSO
- **Tableau des données** : III. 1. 3. 2

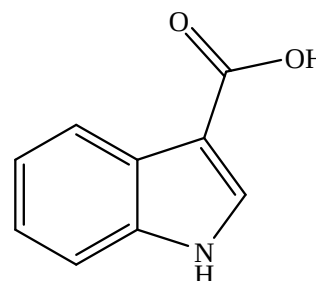


#### IV. 5. 3. Composé SS3

- **Nom** : Acide indole-3-carboxylique
- **Formule brute** :  $C_9H_7O_2N$
- **Aspect** : poudre blanche
- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 184,5 [M+Na]^+$$

- **RMN  $^1H$**  : 300 MHz, DMSO
- **RMN  $^{13}C$**  : 75 MHz, DMSO
- **Tableau des données** : III. 1. 3. 3

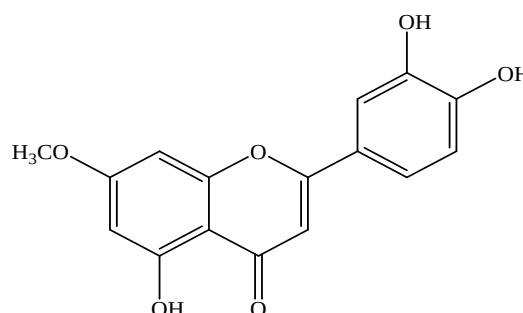


#### IV. 5. 4. Composé SS4

- **Nom** : Lutéoline 7-méthyl éther
- **Formule brute** :  $C_{16}H_{12}O_6$
- **Aspect** : poudre jaune
- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 301,2 [M+H]^+$$

- **RMN  $^1H$**  : 300 MHz, DMSO
- **RMN  $^{13}C$**  : 75 MHz, DMSO
- **Tableau des données** : III. 1. 3. 4



## IV. 5. 5. Composé SS5

- **Nom** : Lutéoline 3',7-diméthyl éther (Velutine)
- **Formule brute** :  $C_{17}H_{14}O_6$
- **Aspect** : poudre jaune
- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 315,2 [M+H]^+$$

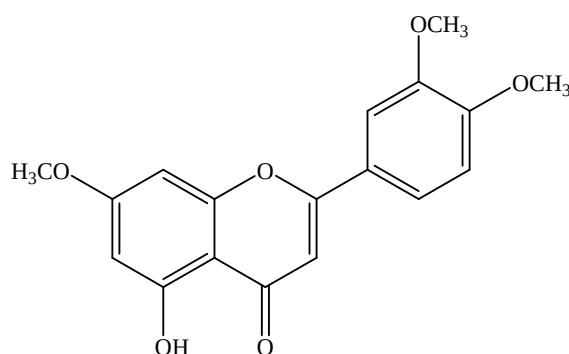
- **RMN  $^1H$**  : 300 MHz, DMSO
- **RMN  $^{13}C$**  : 75 MHz, DMSO
- **Tableau des données** : III. 1. 3. 5

## V. 5. 6. Composé SS6

- **Nom** : Lutéoline 3',4',7-triméthyl éther (Gonzalitosine)
- **Formule brute** :  $C_{18}H_{16}O_6$
- **Aspect** : poudre jaune
- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 329,3 [M+H]^+$$

- **RMN  $^1H$**  : 300 MHz, DMSO
- **RMN  $^{13}C$**  : 75 MHz, DMSO
- **Tableau des données** : III. 1. 3. 6



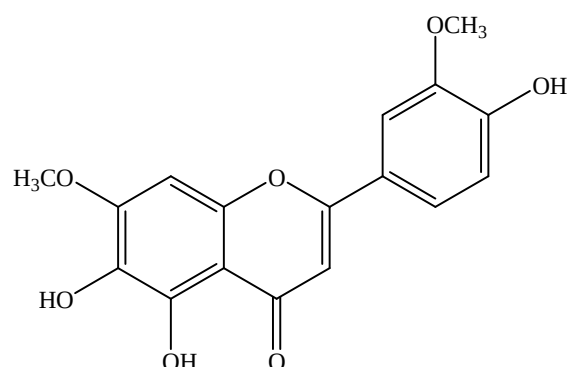
## IV. 5. 7. Composé SS7

- **Nom** : 4', 5,6-trihydroxy-3',7-diméthoxyflavone
- **Formule brute** :  $C_{17}H_{14}O_7$
- **Aspect** : poudre marron
- **MS** : ESI-MS mode positif

$$m/z = 331,3, [M+H]^+$$

$$m/z = 353,4, [M+Na]^+$$

$$m/z = 369,3, [M+K]^+$$



- RMN  $^1\text{H}$  : 300 MHz, DMSO
- RMN  $^{13}\text{C}$  : 75 MHz, DMSO
- Tableau des données : III. 1. 3. 7

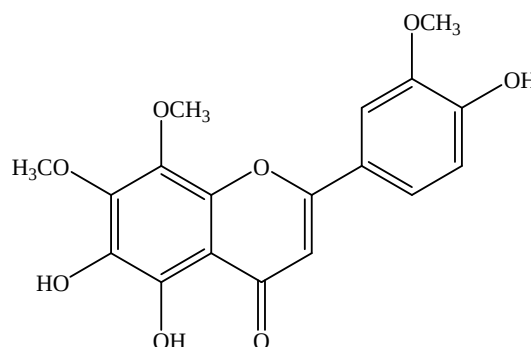
## IV. 5. 8. Composé SS8

- Nom : 4', 5, 6-trihydroxy - 3', 7,8 – triméthoxyflavone (Thymonine)
- Formule brute :  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$ .
- Aspect : poudre jaune
- MS : ESI-MS mode positif

$$m/z = 361,3 [\text{M}+\text{H}]^+$$

$$m/z = 383,3 [\text{M}+\text{Na}]^+$$

$$m/z = 743,5 [2\text{M}+\text{Na}]^+$$



- RMN  $^1\text{H}$  : 300 MHz, DMSO
- RMN  $^{13}\text{C}$  : 75 MHz, DMSO
- Tableau des données : III. 1. 3. 8

## IV. 5. 9. Composé SS9

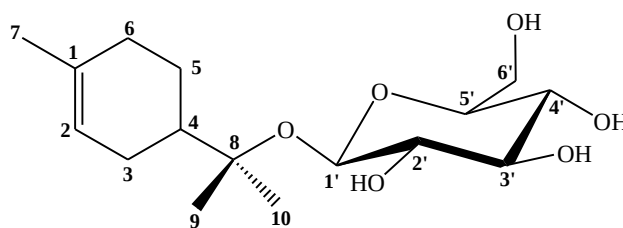
- Nom :  $\alpha$ -Terpineol-8-O- $\beta$ -D-glucopyranoside

- Formule brute :  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_6$
- Aspect : poudre blanche

- MS : ESI-MS mode positif

$$m/z = 338,9 [\text{M}+\text{Na}]^+$$

- RMN  $^1\text{H}$  : 300 MHz, MeOH
- RMN  $^{13}\text{C}$  : 75 MHz, MeOH
- Tableau des données : III. 1. 3. 9





# *Chapitre* V

## **V. 1. Généralités sur les Activités biologiques étudiées**

Les outils du chercheur se sont tellement perfectionnés et ce d'une manière exponentielle, que toutes les méthodes ont été bouleversées. Tant en chimie qu'en pharmacologie des substances naturelles, que dans le domaine des biotechnologies, les récents développements techniques ont déterminé trois approches différentes, ce sont celles de la chimie, de la pharmacologie et des biotechnologies.

Les recherches chimiques sur les substances naturelles s'appuient sur des techniques de séparation des constituants (chromatographie) et de leur détermination structurale (spectroscopie).

Le chercheur doit aussi étudier l'activité des plantes médicinales et de leurs extraits et donc, tenter de plus en plus de sélectionner les plantes en fonction de leur activité biologique, ensuite se préoccuper de garantir à l'utilisateur une source permanente et suffisante de principes actifs, sans détruire les gîtes naturels productifs.

## **V.2. Activités antioxydantes**

### **V.2. 1. Historique**

Les radicaux libres, espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et les antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, R. Gerschman puis D. Hartman évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus du vieillissement [320]. En 1969, les Américains Mc Cord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant la SOD, démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit bel et bien des ERO dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants [320].

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps, en les abîmant et en accélérant le processus de vieillissement. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé stress oxydatif [321].

### V.2. 2. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération de radicaux libres et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs [322]. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire [323]. Dans les systèmes vivants, une production physiologique de radicaux libres se fait de manière continue. Dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, une surproduction de ces réactifs est possible. Ce sont les antioxydants qui peuvent empêcher les dégâts cellulaires causé par les radicaux libres de l'oxygène [324].

### V.2. 3. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène (Tableau V.1): anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) [325].

A côté des ROS, il existe des ERN (espèces réactives nitrogénées) dont le représentant majeur le  $NO^{\bullet}$ . C'est un agent vasodilatateur. Il est synthétisé par les NO synthases (NOS). Le  $NO^{\bullet}$  est un radical peu réactif mais peut se lier aux radicaux libres oxygénés pour former des molécules plus toxiques comme les peroxynitrites [320].

Tableau V. 1 Molécules du stress oxydatif

| Nomenclature                | Structure                               | Principales réactions                                                                                                                                                     |
|-----------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Superoxyde</b>           | $\cdot\text{O}=\text{O}^-$              | Catalyseur de la réaction de Haber-WeiB par recyclage de $\text{Fe}^{2+}$ et $\text{Cu}^+$ ; formation du peroxyde d'hydrogène et peroxynitrite                           |
| <b>Peroxyde d'hydrogène</b> | $\text{HO}=\text{OH}$                   | Formation du radical hydroxyle ; inactivation d'enzymes ; oxydation de biomolécules                                                                                       |
| <b>Radical hydroxyle</b>    | $\cdot\text{OH}$                        | Abstraction de l'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols                                                                   |
| <b>Ozone</b>                | $\cdot\text{O}=\text{O}^+=\text{O}$     | Oxydation de biomolécules, spécialement celles contenant des doubles liaisons, formations des ozonides et des aldéhydes cytotoxiques                                      |
| <b>Oxygène singulet</b>     | $\cdot\text{O}=\text{O}$                | Réaction avec les doubles liaisons, formation de peroxydes, décomposition des aminoacides et nucléotides                                                                  |
| <b>Oxyde nitrique</b>       | $\cdot\text{N}=\text{O}$                | Formation de peroxynitrite, réaction avec autres radicaux                                                                                                                 |
| <b>Peroxynitrite</b>        | $\text{O}=\text{N}=\text{O}=\text{O}^-$ | Formation du radical hydroxyle, oxydation des groupements thiols et aromatiques, conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase, oxydation des biomolécules |
| <b>Hypochlorite</b>         | $\text{ClO}^-$                          | Oxydation des groupements amine et sulfure, formation de chlore                                                                                                           |
| <b>Radical</b>              | $\text{R}^\cdot$                        | Abstraction de l'hydrogène, formation des radicaux peroxy et autres radicaux, décomposition de lipides et autres biomolécules                                             |
| <b>Radical peroxy</b>       | $\text{R}=\text{O}=\text{O}^\cdot$      | Abstraction de l'hydrogène, formation des radicaux, décomposition de lipides et autres biomolécules                                                                       |
| <b>Hydroperoxyde</b>        | $\text{R}=\text{O}=\text{OH}$           | Oxydation de biomolécules, destruction de membranes biologiques                                                                                                           |
| <b>Ions fer et cuivre</b>   | $\text{Cu}^{2+}, \text{Fe}^{3+}$        | Formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton et Haber-WeiB                                                                                                    |

On distingue deux types de production de radicaux libres:

- **Production endogènes** comme les réactions enzymatiques (NADPH oxydase, lipoxygénase et la xanthine oxydase (Enzyme dans le foie)), Mitochondries, Phagocytoses, Peroxysomes, Métaux de transition, Exercice physique, Inflammation, Choc. ..
- **Production exogènes** comme la pollution, alcool, médicaments, soleil, tabagisme, ozone et produits chimiques.

### V.2. 4. Marqueurs biologiques de stress oxydant

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, de lipides et des glucides (figure. V. 1), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. La mise en évidence des dérivés de l'oxydation de ces différents substrats seront donc des marqueurs de la présence d'un stress oxydant (Tableau V.2) [326].

**Tableau. V. 2. Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée [327].**

| Molécules cibles | Produits          | Exemples                               |
|------------------|-------------------|----------------------------------------|
| <b>Protéine</b>  | Protéines oxydées | Groupes carbonyle, tyrosine hydroxylée |
| <b>ADN</b>       | ADN oxydé         | 8-hydroxy-2, déoxyguanosine            |
| <b>Lipides</b>   | Lipide peroxydés  | Malondialdéhyde (MDA), isoprostanes    |

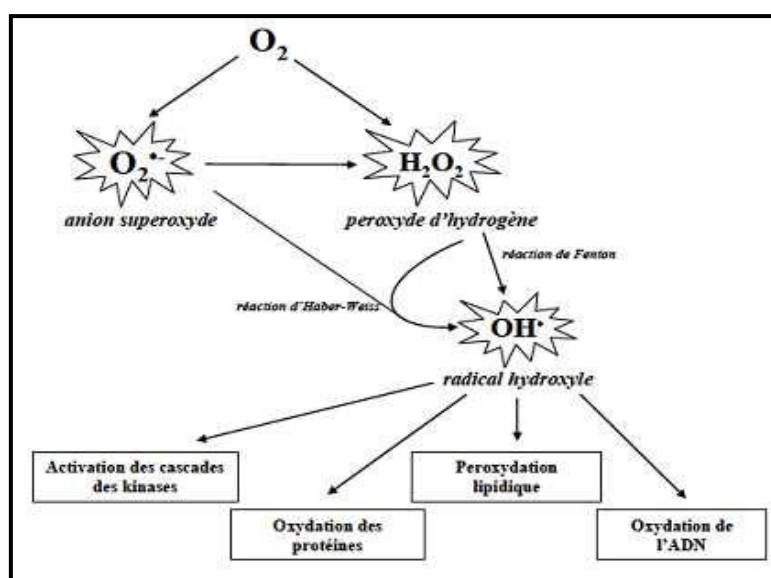


**Figure. V. 1. Les molécules cibles de l'attaque radicalaire**

### **V.2. 5. Maladies liées au stress oxydatif**

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant est accusé d'être à la base de nombreuses maladies chroniques : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, Alzheimer, parkinson, infections intestinales, rhumatisme, l'athérosclérose, le diabète [327, 328].

### **V.2. 6. Alimentation et stress oxydant**

La production des ERO peut se faire au niveau cellulaire en réponse à divers stimuli, tel que la surcharge métabolique elle-même provoquée par une surabondance de macronutriments. En effet, lorsque l'apport calorique dépasse la dépense énergétique, l'augmentation induite par le substrat en excès active le cycle de Krebs ce qui provoque la formation des ERO. Ainsi, l'ingestion excessive de macronutriments induit la production des ERO [329].

Dans ce sens, une étude a démontré que l'ingestion de 75 g de glucose induit une augmentation de la production de superoxyde dans les leucocytes, libérés ensuite dans le milieu extracellulaire. Une réponse similaire a également été observée suite à l'ingestion des graisses saturées [330]. Ainsi, un repas riche en graisse et en glucides induit une réponse oxydatif et inflammatoire plus intense et prolongée avec une production accrue des ERO chez les patients obèses par rapport aux sujets normo-pondérés [331].

Pour cela, il est possible de choisir des aliments antioxydants et non inflammatoires afin de minimiser l'inflammation et le stress oxydatif postprandial. L'avènement de la biologie moléculaire montre le rôle de certaines molécules de petite taille dans la défense antioxydante, en effet cette défense peut être renforcée par des apports exogènes. Le schéma suivant montre qu'une bonne alimentation fourni directement l'essentiel des éléments pouvant assurer une bonne défense antioxydante. Cette alimentation garantie [332]:

- Un apport en Vitamines A et C, les caroténoïdes et flavonoïdes qui ont pour rôle la neutralisation des entités radicalaires en les piégeant (Scavengers).
- Les oligoéléments tels que le Fer, Sélénium, Cuivre, Zinc et le Manganèse indispensables pour l'activité des enzymes antioxydantes (Cu, Zn-SOD, Se-GPx).

Sur la base de ces données, les scientifiques accordent de plus en plus d'importance à une alimentation riche en fruits et légumes, cette constatation amène donc une réflexion importante sur l'effet d'une thérapie antioxydante à long terme dans le cadre de la prévention de pathologies où le stress oxydant est impliqué (ex : maladies cardiovasculaires). Dans cette optique l'étude SUVIMAX a proposé d'évaluer quel sera l'impact d'une prise journalière pendant 8 ans d'un mélange d'antioxydants à des doses physiologiques (30 mg de Vit E, 120 mg de Vit C, 6 mg de  $\beta$ -Carotène, 100  $\mu$ g de sélénium et 20 mg de Zinc sur l'incidence de l'apparition des maladies cardiovasculaires (figure.V.2) [332].

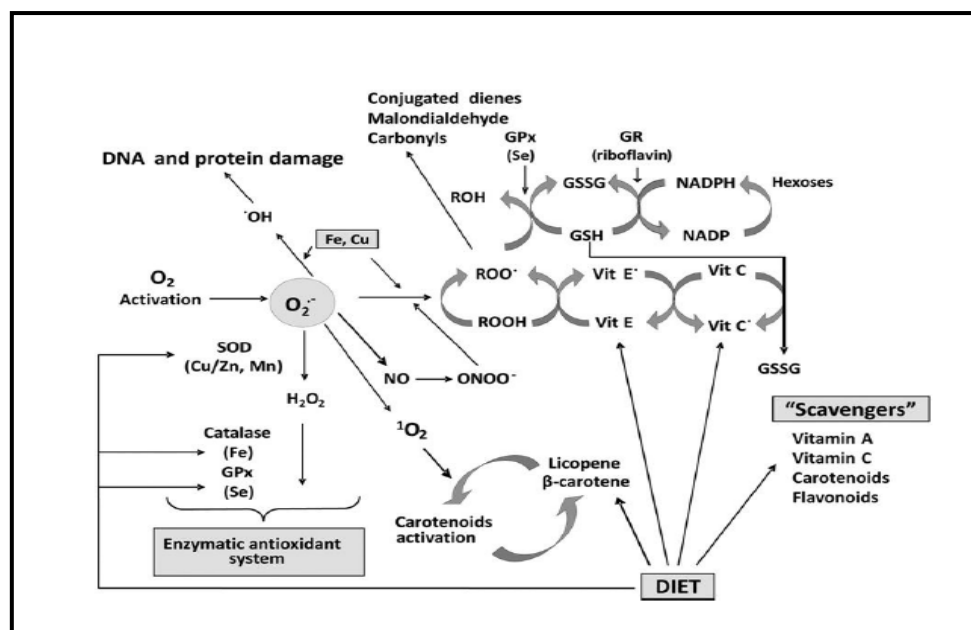


Figure .V. 2 Rôle de l'alimentation dans le métabolisme oxydatif [329]

### V.2.7. Antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance susceptible d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène [320]. Ils peuvent agir en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la

réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur. L'effet des antioxydants provient de deux mécanismes [333]:

1. Ils neutralisent les radicaux libres et empêchent les réactions en chaîne initialisées par ces derniers.
2. Les antioxydants détruisent les hydroperoxydes (composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la liaison (O-O), diminuant ainsi la vitesse de formation de radicaux libres.

D'un point de vue biologique, les composés antioxydants peuvent protéger les systèmes cellulaires des effets des processus potentiellement nocifs qui causent l'oxydation excessive, ils sont la stratégie préventive la plus prometteuse contre la formation des cataractes [334].

Parmi les antioxydants, on peut citer:

#### **V.2.7.1. Antioxydants synthétiques**

Outre les antioxydants produits par l'organisme pour sa défense, Il existe des antioxydants synthétiques comme butylhydroxytoluène (BHT), du butylhydroxyanisole (BHA) et des esters de l'acide gallique: gallate de propyle, gallate doctyle, et de dodécyle. Le BHT est un antioxydant de rupture de chaîne, très efficace et peu coûteux. Le BHA est un mélange de deux isomères de position dont l'efficacité est un peu inférieure à celle du BHT.

Il existe d'autres antioxydants synthétiques peu utilisés tels que la TBHQ (tertiobutylhydroquinone) utilisée pour la conservation des huiles brutes, l'acide nordihydrogualarétique (NDGA), ce dernier est utilisé dans les produits à usage topique et le 4-hydroxyméthyl 2,6-ditertiobutylphénol ou Ionox 100, dont les propriétés antioxydantes sont voisines de celles du BHT (figure.V.3) [335].

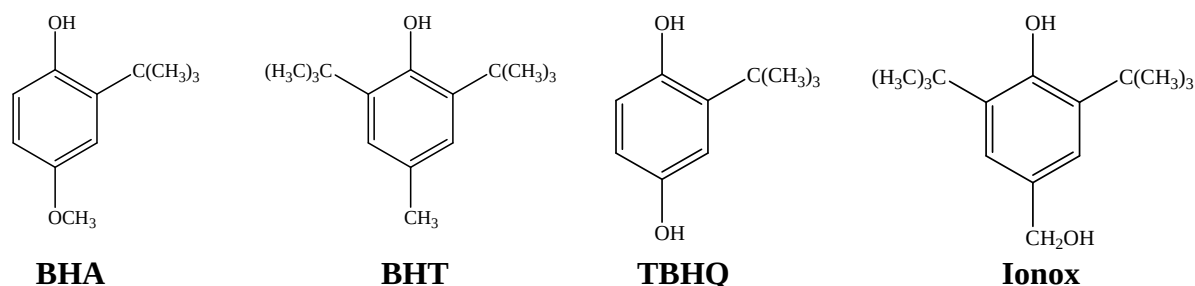


**Figure .V. 3: Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques.**

Mais, récemment, beaucoup d'études ont porté sur la toxicité élevée des antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire, comme, par exemple, le butylhydroxytoluène (BHT), l'hydroxyanisole butyle (BHA), le tert-butylhydroquinone (TBHQ), etc... [333,336]. Le besoin de réduire l'utilisation des antioxydants synthétiques (maintenant limitée dans plusieurs pays en raison de leurs possibles effets indésirables sur la santé humaine) impose d'orienter le marché vers des antioxydants d'origine naturelle et stimule la recherche dans ce domaine [337]. Les plantes représentent une source très riche et renouvelable d'antioxydants naturels [333, 336].

#### V.2.7.1. Antioxydants naturels

Les plantes constituent une source importante d'antioxydants, ces substances naturelles se trouvent sous forme de mélange complexe, qui assure la protection de la plante contre le stress oxydatif dû aux effets synergiques ou additifs [338, 339]. Les chercheurs s'intéressent en effet très particulièrement aux composés naturels possédant des propriétés antioxydantes [340]. L'utilisation des extraits de plantes ou de fractions enrichies est devenue aujourd'hui une façon très attractive pour préserver les aliments. De plus, il a été démontré que plusieurs produits naturels (antioxydants) avaient des propriétés médicinales, par exemple: anti-cancérigène, anti-inflammatoire [341].

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les plantes supérieures et dans toutes les parties de la plante. Les flavonoïdes constituent la classe la plus étudiée, la propriété antioxydante des flavonoïdes la mieux décrite est leur capacité à piéger le radical libre: radical

hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux peroxydes. Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C-3OH) fortement réactif [342]. Ils peuvent également protéger les membranes cellulaires par leur action à différents niveaux sur la peroxydation lipidique.

Il convient de noter que la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en parties, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tel que : les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ), les radicaux superoxydes ( $\text{O}^\bullet$ ) et les radicaux stables colorés  $\text{ABTS}^\bullet$ ,  $\text{DPPH}^\bullet$  [343].

#### V.2.8. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

La capacité antioxydante des molécules peut être évaluée soit de façon *in vivo*, sur des organismes vivants, soit de manière *in vitro* comme le cas du notre travail.

Plusieurs méthodes ont été mises en évidence pour évaluer l'efficacité de l'antioxydant à piéger les radicaux libres, comme les peroxydes  $\text{ROO}^\bullet$  par les tests de blanchissement du  $\beta$ -carotène, ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ; ou les radicaux  $\text{ABTS}^\bullet$  (sel d'ammonium de l'acide -2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) par la méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), ainsi que la méthode utilisant le radical libre  $\text{DPPH}^\bullet$  (diphényl-picrylhydrazyle).

Ces analyses diffèrent entre eux en terme de mécanismes de réaction, oxydants et espèces cibles (les sondes), états des réactions et la forme dont sont exprimés les résultats. En plus, même lorsque seulement une de ces analyses est envisagée, ça engendre d'autres paramètres à prendre en considération tels que : le solvant, le temps de réaction et le pH [344].

La comparaison des données de différentes études est difficile. Il est également d'une grande importance de choisir des méthodes acceptées, validées et normalisées, avec des données, à la fois, comparables et disponibles dans la littérature [344].

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. Il faut donc combiner les réponses obtenues à l'aide de tests différents et complémentaires. C'est pourquoi notre choix s'est porté sur l'utilisation de deux tests chimiques, à savoir : DPPH<sup>•</sup> et  $\beta$ -carotène.

#### **V.2. 8. 1. Test au DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle)**

Dans cette analyse, le DPPH<sup>•</sup> de couleur violet est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle. La capacité de piégeage est généralement évaluée dans des milieux organiques en surveillant la diminution de l'absorbance à 515-528 nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante [345].

La détermination de la capacité antioxydante est basée sur la réduction ampérométrique du DPPH<sup>•</sup> au carbone vitreux. Le courant qui en résulte sur une électrode vitreuse de carbone polarisée au potentiel fixe, est proportionnel à la concentration résiduelle de DPPH<sup>•</sup> après la réaction avec les antioxydants [346].

En opposition à ce qui a été toujours crue, le mécanisme de réaction est basé sur une réaction de transfert d'électron, tandis que l'abstraction d'atome d'hydrogène est un processus réactionnel marginal, parce qu'elle se produit lentement dans des solvants forts, tels que le méthanol et l'éthanol [347].

L'accessibilité stérique de DPPH<sup>•</sup> est une cause déterminante de la réaction, puisque les petites molécules qui ont un meilleur accès à l'emplacement du radical ont sans doute une capacité antioxydante relativement plus élevée [348]. D'une part, beaucoup de composés antioxydants de taille moléculaire élevée qui réagissent rapidement avec les radicaux peuvent réagir lentement ou peuvent même être inertes dans cette analyse.

L'inexistence de DPPH<sup>•</sup> ou des radicaux semblables dans les systèmes biologiques est également un point faible.

#### **V.2. 8. 2. Test de $\beta$ -carotène**

Cette technique consiste à mesurer à 470 nm, la décoloration du  $\beta$ -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50°C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induits un retard de la cinétique de la décoloration du bêta-carotène [349].

Cette méthode est, d'autre part, sujette au parasitage de composés absorbants dans la fenêtre spectrale du  $\beta$ -carotène et l'interprétation des données n'est pas aisée car le  $\beta$ -carotène est lui-même un antioxydant [350].

#### **V.3. Activité antimicrobienne**

Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en agents antimicrobiens et antioxydants naturels à savoir les polyphénols et les huiles essentielles. De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques est devenue un objectif prioritaire pour les recherches scientifiques en industries alimentaires et pharmaceutiques.

##### **V.3. 1. Effet antimicrobien**

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections avec les microorganismes résistant aux antibiotiques. Une des approches courantes pour la recherche

des substances biologiquement actives est le criblage systématique des micro-organismes ou des plantes, qui sont des sources de beaucoup d'agents thérapeutiques utiles. En particulier, l'activité antimicrobienne d'huiles essentielles et des extraits de plantes ont formé la base de beaucoup d'applications, y compris, pharmaceutiques, médicales et agro-alimentaires. Le premier rapport des propriétés antimicrobiennes des épices est apparu en 1880 et concernait la moutarde, le clou de girofle, la cannelle et leurs huiles [351].

### **V.3. 2. Mécanisme de l'effet antimicrobien**

Il est sans doute très complexe, peut impliquer de multiples modes d'actions tels que l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer, l'inhibition du métabolisme microbien [352], la dégradation de la paroi cellulaire, la perturbation de la membrane cytoplasmique (ce qui cause une fuite des composants cellulaires), l'influence sur la synthèse de l'ADN et de l'ARN [353], des protéines et des lipides [354].

Ces mécanismes ne sont pas des cibles séparées, certains peuvent être la conséquence d'un autre mécanisme. Le mode d'action des agents antimicrobiens dépend également du type de micro-organismes et de l'arrangement de la membrane externe.

### **V.3. 3. Principales substances antimicrobiennes**

#### **V.3. 3. 1. Antibiotiques**

Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries), dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme [355] ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier [356], mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales [357]. Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse [355].

Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui est la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, il est d'autant plus large, ou étendu, que le nombre des espèces microbiennes sensibles est grand. Le spectre d'action varie d'un antibiotique à l'autre [355].

L'utilisation intense et abusive de ces produits a rapidement conduit à l'apparition des deux phénomènes importants: les effets secondaires dus aux médicaments et l'acquisition d'une certaine résistance aux antibiotiques par certaines populations microbiennes.

En raison des résistances multiples possibles et des effets secondaires des antibiotiques synthétiques, une attention croissante a été dirigée vers les antibiotiques naturels [358]. Les chercheurs concentrent leurs efforts pour trouver des substances inhibitrices idéales, de large spectre d'activité, sans effets secondaires et surtout d'un prix de revient raisonnable. Le potentiel des plantes aromatiques et médicinales (PAM) pourrait donc jouer un rôle important dans la lutte contre les infections microbiennes [358].

### V.3. 3. 2. Antibiotiques traditionnels

A côté des antibiotiques d'origine microbienne, les plantes et leurs extraits ont été utilisés pendant plusieurs siècles comme remèdes pour la cure ou l'allègement des maladies. Ceci a ouvert la voie devant de nombreuses recherches qui ont montré, qu'effectivement, plusieurs végétaux supérieurs renferment des agents antimicrobiens très efficaces [359, 360]. Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenouil (*Foeniculum vulgare*), menthe poivrée (*Mentha piperita*), thym (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus [361]. D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique, la médecine alternative et la thérapie naturelle [362].

Etant donné le grand nombre de composants présents dans un extrait, il est évident que l'activité antibactérienne ne peut être due à un seul mécanisme d'action spécifique mais plutôt à divers mécanismes [363].

Ces mécanismes sont la conséquence de l'action d'extrait à différents point de la cellule. Plusieurs études montrent que la membrane des cellules bactériennes est la cible primaire des composés aromatiques bioactifs. En effet une caractéristique importante des extraits fixes et de leurs composants est leur hydrophobicité, qui leur permet de s'unir aux lipides de la membrane cellulaire tout en changeant sa structure et par conséquent sa fonction. La perte du caractère différentiel de la perméabilité de la membrane cytoplasmique est fréquemment identifiée comme étant la cause de la mort cellulaire. Toutefois, certains auteurs voient que la perte des fonctions de la membrane explique seulement en partie l'activité antimicrobienne des huiles essentielles [364].

Les composants des huiles essentielles peuvent aussi agir sur les protéines membranaires. Ils sont capables de s'accumuler dans la couche lipidique et interférer avec l'interaction lipide-protéine. De plus, une interaction directe entre les composés lipophiles et la partie hydrophane de la protéine peut avoir lieu [365].

#### V.3. 4. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

❖ *Staphylococcus aureus* : Cocci à Gram positif ubiquitaire qui est commensal de l'homme et se révèle être pathogène opportuniste dans certains. *Staphylococcus aureus* est aussi responsable d'infections nosocomiales, d'intoxications alimentaires et sa résistance aux antibiotiques est parfois un grand problème pour le traitement des patients.

❖ *Escherichia coli* : Bacille aérobie et Gram négatif que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud.

❖ *Pseudomonas aeruginosa* : Bacille aérobie, Gram négatif et très mobile grâce à un flagelle polaire. Il est de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales (germe ubiquitaire). C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement.

❖ ***Proteus mirabilis*** : Bacille aérobie, Gram négatif et très mobile. Germe impliqué dans l'apparition d'infections urinaires. Il se trouve habituellement dans l'intestin, le tractus urinaire et les reins de l'être humain. *Proteus mirabilis* est très souvent présent chez les personnes hospitalisées pour une période prolongée.

❖ ***Bacillus cereus*** : est une bactérie bêta-hémolytique à Gram-positive, en forme de bâtonnet, aérobie, anaérobie facultative, mobile, communément trouvée dans le sol et la nourriture. Certaines souches sont nocives pour les humains et provoquent des maladies d'origine alimentaire, alors que d'autres souches peuvent être bénéfiques en tant que probiotiques pour les animaux.

❖ ***Enterobacter aerogenes*** : est une bactérie à Gram négatif, nosocomiale et pathogène qui provoque des infections opportunistes, y compris la plupart des types d'infections. La plupart sont sensibles à la plupart des antibiotiques conçus pour cette classe bactérienne, mais compliquée par leurs mécanismes de résistance inductibles, en particulier la lactamase, ce qui signifie qu'ils deviennent rapidement résistants aux antibiotiques standards, nécessitant un changement d'antibiotique pour éviter l'aggravation de la septicémie.

❖ ***Streptococcus pneumoniae*** : ou pneumocoque est une bactérie à Gram positif, anaérobie facultatif du genre *Streptococcus*. Ils sont généralement trouvés par paires (diplocoques) et ne forment pas de spores et ne sont pas mobiles. En tant que bactérie humaine pathogène importante, *S. pneumoniae* a été reconnue comme une cause majeure de pneumonie et fait l'objet de nombreuses études d'immunité humorale.

❖ **Candida albicans** : Levure non pigmentée, non encapsulée, à bourgeonnement multiple et formant un pseudo-mycélium et du mycélium vrai. C'est un saprophyte endogène de la lumière intestinale humaine et des cavités génitales par contiguïté (chez la femme).

#### V.4. Evaluation in vitro de l'activité biologique

##### V.4. 1 Activité antioxydante

Nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits de l'espèce étudiée *Saccocalyx satureioides* par deux méthodes différentes en l'occurrence le piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et l'activité antioxydante par la méthode de décoloration du  $\beta$ -carotène [366] afin de tester et de localiser l'extrait le plus actif de la plante étudiée.

##### V.4. 1. 1. Test du Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse [367].

La méthode de DPPH présente plusieurs avantages du fait qu'elle est indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette) en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire le radical DPPH. La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde (figure. V. 4) [367].

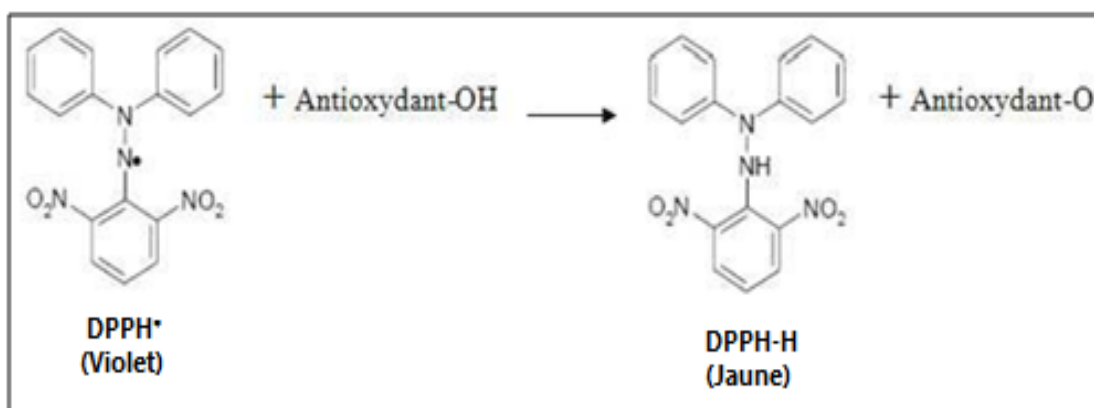


Figure. V. 4 Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Selon le protocole décrit par Von Gadow et al. 1997 [368], la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de ce produit dans 100 ml de méthanol. 50 µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 ml de solution DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min en utilisant un spectrophotomètre UV et la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517 nm. La même procédure a été répétée pour la solution étalon de quercétine. Les résultats de l'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\text{I\% d'inhibition} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire

Abs Contrôle : Absorbance de la solution du DPPH au temps  $t = 0$

Abs test : Absorbance de l'extrait

L'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice de 50 %) appelée aussi EC<sub>50</sub> (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testées [369]. Pour chaque extrait ou standard de référence, une courbe de régression linéaire ( $y = ax + b$ ) est établie afin de calculer l'IC<sub>50</sub> qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits. L'IC<sub>50</sub> étant la concentration de l'extrait ou du standard qui permet la réduction de 50% de DPPH. Une faible valeur de l'IC<sub>50</sub> indique une forte activité antioxydante. Une différence est statistiquement significative à  $P < 0,05$ .

#### **V.4. 1. 2. Test de blanchiment du $\beta$ -carotène**

Cette technique de spectrophotométrie dans l'ultraviolet consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du  $\beta$ -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique.

La dispersion de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de décoloration du  $\beta$ -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple s'agissant d'une mesure spectrophotométrique dans le visible. Elle présente également l'avantage de pouvoir être couplée à la chromatographie sur couche mince.

Cependant, l'oxydation induite par voie thermique est non contrôlée et donc non spécifique, ce qui conduit bien souvent à une variabilité des résultats [370].

Pour étudier l'activité antioxydante par la méthode de décoloration du  $\beta$ -carotène, nous avons choisi de travailler avec le protocole expérimental décrit par Pratt DE. et Mallet JF. et al., [371, 372] avec quelques modifications apportées à la méthode.

Pour préparer l'émulsion du  $\beta$ -carotène, 0,1 mg de ce dernier sont dissous dans 5 ml de chloroforme, puis 1 ml de cette solution est mélangé avec 25 mg d'acide linoléique purifié et 200 mg du Tween 40. Après évaporation du chloroforme, le résidu obtenu est repris par 50 ml de peroxyde d'hydrogène. 200  $\mu$ l d'extraits ou d'antioxydant de référence (la quercétine) solubilisés dans le méthanol (2 mg/ml), sont additionnés à 5 ml de l'émulsion précédente. Le mélange est bien agité et la lecture de l'absorbance à 470 nm se fait immédiatement à  $t_0$  contre un blanc qui contient l'émulsion sans le  $\beta$ -carotène.

Les tubes couverts sont placés dans un bain marie réglé à 50 °C et la lecture de l'absorbance est faite toutes les 15 minutes durant 120 minutes. Un contrôle négatif est réalisé en parallèle, comprenant 5 millilitres de l'émulsion du  $\beta$ -carotène et 200  $\mu$ l de méthanol.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la décoloration du  $\beta$ -carotène. L'activité antioxydante relative (AAR %) est calculée selon la formule :

$$AAR \% = [1 - (A^\circ - A_t / A^\circ_{t_0} - A^\circ_t)] \times 100 \text{ [373].}$$

**AAR %:** Pourcentage de l'activité antioxydante relative

**$A^\circ$  :** Absorbance de l'échantillon à  $t_0$  ;

$A_t$  : Absorbance de l'échantillon après incubation de 120 minutes ;

$A^{\circ}_{t_0}$  : Absorbance du contrôle négatif à  $t_0$  ;

$A^{\circ}_t$  : Absorbance du contrôle négatif après incubation de 120 minutes.

#### V.4. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Notre travail consiste à étudier l'activité antibactérienne des extraits de *S. satureioides*. via la méthode de diffusion sur disque de papier pour déterminer le diamètre d'inhibition. Huit souches sensibles ont été utilisées ; dont quatre de type Gram-négatif ; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* et *Enterobacter aerogenes*, trois de type Gram-positif; *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* et une levure *Candida albicans*. Ces souches proviennent du Laboratoire de Microbiologie, l'hôpital de Batna.

La méthode des aromatoigrammes est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne des extraits des plantes. Elle consiste à utiliser des disques de papier stérile de 6 mm imprégnés des concentrations différentes des extraits (50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 et 900 mg / ml). Le disque antibiotique a également été utilisé comme témoin positif [374].

L'agar Muller-Hinton (MH) stérile a été coulé dans des boîtes de pétri stériles de 9 cm. 1 ml de l'inoculum préparé à partir de chaque souche est uniformément bien étalé à la surface de l'agar MH. L'excédent de l'inoculum est éliminé par aspiration [375]. Un volume correspondant à cinquante microlitres des dilutions des extraits (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol) est déposé sur des disques de papier filtre stérile (whatman n°1, 6 mm de diamètre).

A l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface de gélose inoculée et incubée à 37° C pendant 18 heures. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible [376]. En parallèle, le DMSO et l'eau distillée sont utilisés (témoins négatifs) afin de vérifier

la croissance des différentes souches [377], et comme témoin positif la Ciprofoxacine a été utilisée. L'activité antimicrobienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. Les diamètres des zones claires d'inhibition autour des disques sont mesurés en mm. Un extrait est considéré comme actif s'il produit une zone d'inhibition supérieure ou égale à 10 mm. Une zone d'inhibition supérieure à 14 mm correspond à une activité antibactérienne très significative [378].

### V. 5. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard à la moyenne. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Graph pad Prism. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour  $p < 0,05$  dans l'ensemble des analyses statistiques en utilisant l'analyse de la covariance « One way » et le test de Tukey.

## V. 6. Résultats et discussion

### V. 6. 1. Evaluation de l'activité antioxydante

#### V. 6. 1. 1. Activité anti-radicalaire au DPPH

La capacité antioxydante de nos différents extraits est déterminée à partir des  $IC_{50}$ , paramètres couramment utilisés pour mesurer l'activité antioxydante. Une valeur faible d' $IC_{50}$  correspond à une activité antioxydante plus élevée de l'extrait [368].

**Tableau .V. 3. Valeurs des  $IC_{50}$  trouvées pour les extraits de la plante étudiée**

| Plante étudiée                 | Extraits         | $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|--------------------------------|------------------|--------------------------------|
| <i>Saccocalyx satureioides</i> | Ether de pétrole | $537,02 \pm 1,03$              |
|                                | Chloroformique   | $23,93 \pm 4,15$               |
|                                | Acétate d'éthyle | $20,81 \pm 3,52$               |
|                                | Butanolique      | $93,23 \pm 6,43$               |
|                                | Quercétine       | $8,5 \pm 1,45$                 |

Les valeurs des  $IC_{50}$  trouvées pour tous les extraits testés de *Saccocalyx satureioides* sont représentées dans le tableau. V. 3 et dans la figure. V. 5 sous forme d'histogramme.

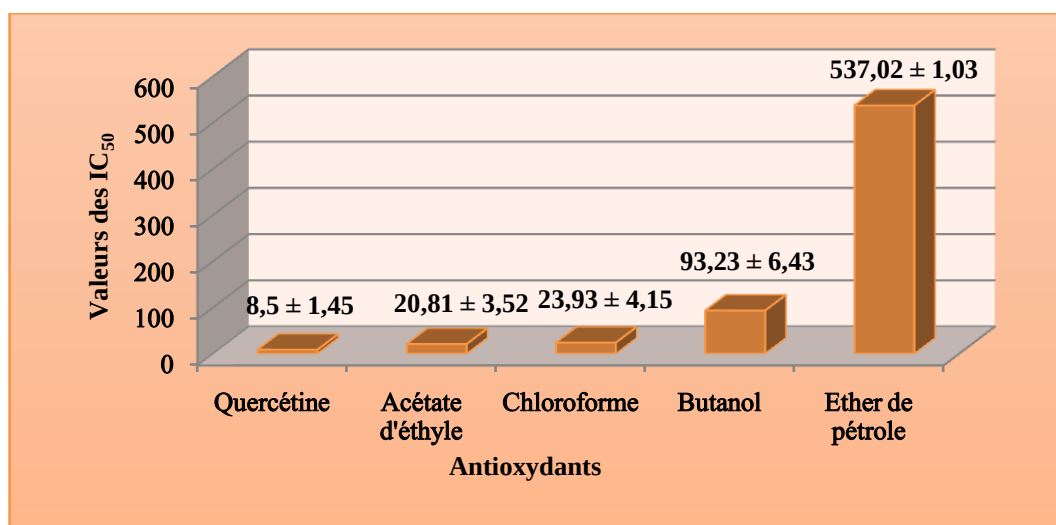


**Figure. V. 5. Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices  $IC_{50}$  des différents extraits en  $\mu\text{g/mL}$  de *S. satureioides***

Les données montrent donc un ordre décroissant du pouvoir réducteur de ces différents extraits et de standard (quercetine) [379]: Acétate d'éthyle ( $IC_{50} = 20,81 \pm 3,52 \mu\text{g/mL}$ ) > chloroforme ( $IC_{50} = 23,93 \pm 4.15 \mu\text{g/mL}$ ) > *n*-butanol ( $IC_{50} = 93,23 \pm 6.43 \mu\text{g/mL}$ ) > ether de pétrole ( $IC_{50} = 537,02 \pm 1,03 \mu\text{g/mL}$ ).

Selon les résultats obtenus, les extraits AcOEt et  $\text{CHCl}_3$  sont dotés d'un pouvoir antioxydant le plus élevé, leur  $IC_{50}$  est de  $20.81 \pm 3.52 \mu\text{g/mL}$  et  $23.93 \pm 4.15 \mu\text{g/mL}$  respectivement. Tandis que l'activité de l'extrait d'ether de pétrole était beaucoup plus faible. Il convient de noter que la polarité du substrat des extraits obtenus à partir des plantes n'affecte pas l'activité de piégeage de la DPPH [380 - 382].

Cependant, la moindre efficacité de l'extrait de  $\text{CHCl}_3$  par rapport à l'extrait d' AcOEt pourrait s'expliquer par la faible concentration des composants actifs dans l'extrait de  $\text{CHCl}_3$  ayant la capacité d'être des donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons et de capturer les radicaux libres [383]. De plus, notre étude phytochimique a révélé que les principaux constituants de l'extrait d'AcOEt sont des flavonoïdes connus pour leur activité antioxydante.

#### V. 6. 1. 2. Test de blanchiment de $\beta$ -carotène

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de nos extraits pour la plante étudiée, nous avons utilisé la méthode de décoloration du  $\beta$ -carotène en présence des extraits. La  $\beta$ -carotène présente une forte activité biologique et est importante comme composé physiologique puisqu'elle est le précurseur du rétinol. Ainsi le taux de dégradation ou de décoloration du  $\beta$ -carotène dépend de la capacité antioxydante de nos extraits.

Les hydro-péroxydes de l'acide linoléique attaquent la molécule de  $\beta$ -carotène et, par conséquent, subit une décoloration rapide en l'absence d'antioxydants. Cette diminution de la coloration correspond à une diminution de l'absorbance suivie spectrophotométriquement [384].

Les résultats de l'effet antioxydant des différents extraits de *S. satureioides* sur la décoloration du  $\beta$ -carotène sont représentés dans le tableau. V. 4 et dans la figure. V. 6 sous forme d'histogramme.

**Tableau .V. 4. Valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées pour les extraits de la plante étudiée**

| Plante étudiée                 | Extraits         | IC <sub>50</sub> (µg/mL) |
|--------------------------------|------------------|--------------------------|
| <i>Saccocalyx satureioides</i> | Ether de pétrole | 908,35 ± 0,90            |
|                                | Chloroformique   | 40,32 ± 5,32             |
|                                | Acétate d'éthyle | 57,12 ± 1,55             |
|                                | Butanolique      | 142 ± 9,40               |

Cette méthode est basée sur la perte de couleur orange du  $\beta$ -carotène due à sa réaction avec les radicaux formés par l'oxydation de l'acide linoléique dans un système d'émulsion. Le taux de blanchiment de  $\beta$ -carotène peut être ralenti en présence d'antioxydants [371, 372].

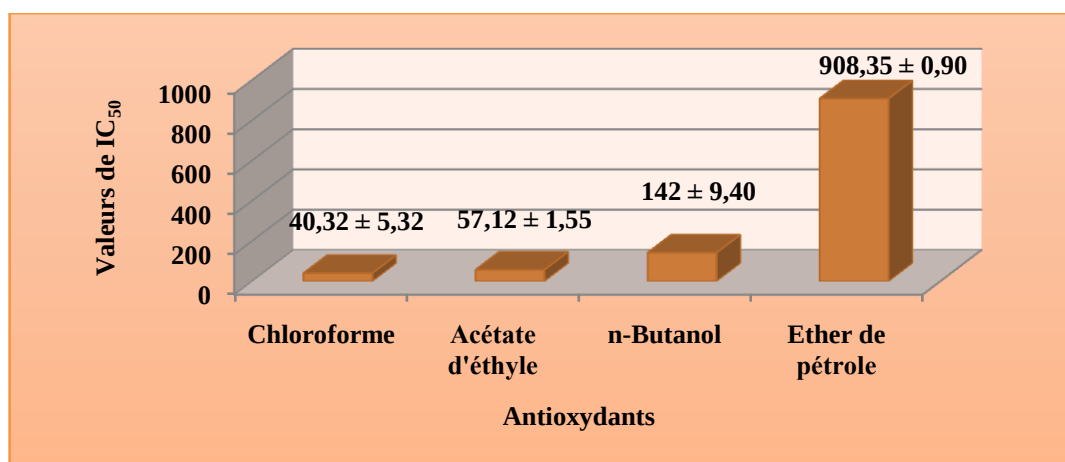


**Figure. V. 6. Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices IC<sub>50</sub> des différents extraits en µg/mL de *S. satureioides***

A partir des valeurs IC<sub>50</sub> des différents extraits (Tableau .V. 4.), les résultats indiquent clairement que l'extrait chloroformique possède un potentiel d'antioxydant le plus élevé (IC<sub>50</sub> = 40,32 ± 5,32 µg / mL). La plus faible activité protectrice vis-à-vis du  $\beta$ -carotène était présentée par l'extrait d'éther de pétrole avec une valeur de CI<sub>50</sub> = 908,35 ± 0,90 µg / mL.

Le fait que l'extrait de  $\text{CHCl}_3$  est plus efficace comme antioxydant que l'extrait semi-polaire AcOEt ( $\text{IC}_{50} = 57.12 \pm 1.55 \mu\text{g} / \text{mL}$ ), en comparaison avec les résultats obtenus pour le test DPPH, suggère que l'activité antioxydante de l'extrait de  $\text{CHCl}_3$  est probablement due au présence dans cet extrait des composés actifs lipophiles [383].

### V. 6. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits de *S. satureioides* contre les souches testées est expérimentée par la méthode des disques [385]. Leur potentiel antibactérien est qualitativement évalué par la mesure du diamètre des zones d'inhibition.

Les données des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits sont représentées dans la figure. V. 7. Les extraits exercent un effet inhibiteur variant en fonction des bactéries et selon l'extrait testé.

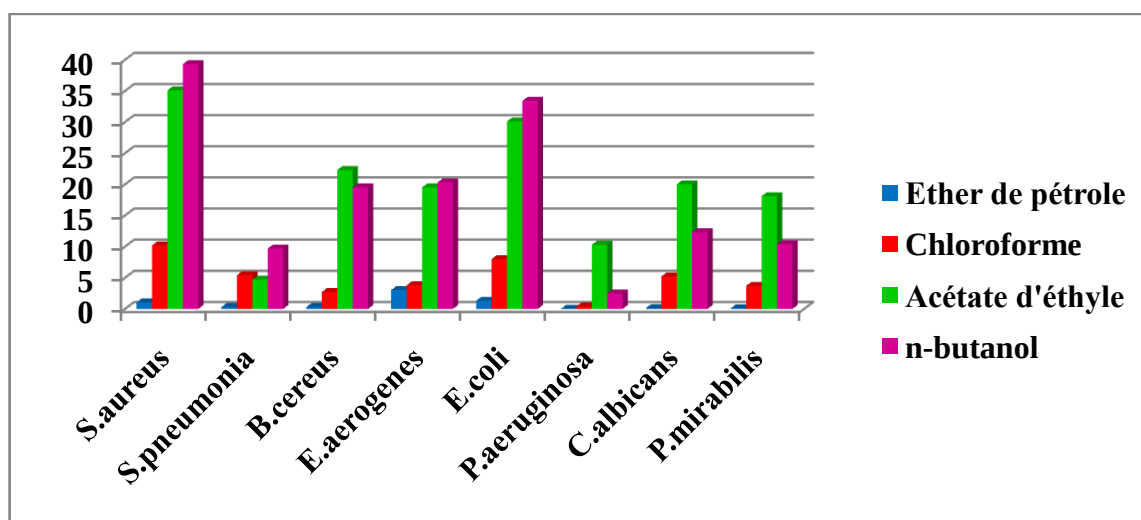


**Figure.V. 7. Activités antibactériennes des différents extraits de *S. satureioides***

Les résultats obtenus par la méthode de diffusion du disque indiquent que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sont les microorganismes les plus sensibles. Comme on peut le voir sur la figure. V. 7, les extraits *n*-BuOH et EtOAc ont une bonne activité contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* et *Enterobacter aerogenes*, où l'extrait de *n*-BuOH a montré une forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*. En général, l'activité la plus faible a été observée pour les extraits de

CHCl<sub>3</sub> et d'éther de pétrole, alors que ce dernier n'a indiqué en particulier aucune activité contre *Streptococcus pneumoniae* et *Bacillus cereus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne des différents extraits obtenus à partir de *S. satureoides* ont montré des différences dans l'inhibition des microorganismes qui pourraient s'expliquer par la nature et la quantité de composés actifs dans les extraits.

### V. 7. Conclusion

Notre étude a pour objectif global de vérifier l'activité antioxydante et antibactérienne de nos extraits. Tous ces résultats indiquent clairement que les différents extraits de *S. satureioides* constituent des sources d'agents antioxydants et antimicrobiens puissants sur une gamme étendue de micro-organismes pathogènes. Ces activités sont liées en grande partie à la composition des extraits et leur richesse en métabolites secondaires.

En perspective de ce travail nous comptons poursuivre l'étude de l'activité biologique de cette espèce et l'étendre aux molécules isolées à partir des différents extraits ayant montré une activité antioxydante et antibactérienne importantes.



## Conclusion générale

Les ressources naturelles du règne végétal restent la source fiable et capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques. À l'aide de la médecine traditionnelle et l'ethnobotanique, la recherche des molécules bioactives dans les extraits des plantes va mener à leur utilisation comme alternative des molécules de synthèse.

Le présent travail s'est proposé de quantifier les métabolites secondaires, d'élucider la constitution chimique et d'évaluer les pouvoirs antioxydants et antibactériens de l'espèce *Saccocalyx satureioides*, une plante sauvage abondante dans notre région steppique qui appartient à la famille des lamiacées largement répandue en Algérie, dans le but de valoriser et de rationaliser son usage traditionnel.

Notre choix pour cette espèce est justifié par l'endémisme de cette plante et le fait que très peu d'études ont été consacrées à cette espèce.

Cette étude réalisée sur l'extrait d'acétate d'éthyle des parties aériennes de l'espèce *Saccocalyx satureioides* a permis d'isoler neuf (09) composés naturels dont un composé original : Acide indole -3-carboxylique-(6'-O-caffeoyl)- $\beta$ -D-glucoside (**SS1**). Ces produits appartiennent à trois classes de métabolites secondaires :

- Les alcaloïdes : Acide indole-3-carboxylique- $\beta$ -D-glucoside (**SS2**) et Acide indole-3-carboxylique (**SS3**), ils sont décrits pour la première fois dans la famille des lamiacées.
- Les flavonoïdes aglycones : Lutéoline 7-méthyl éther (**SS4**), Lutéoline 3',7- diméthyl éther (Velutine) (**SS5**), Lutéoline 3',4',7- triméthyl éther (Gonzalitosine) (**SS6**), 4',5,6-trihydroxy-3',7-diméthoxyflavone (**SS7**), 4',5,6-trihydroxy-3',7,8-triméthoxy

flavone (Thymonine) (**SS8**). La présence de ces flavonoïdes dans l'espèce étudiée *Saccocalyx satureioides* et le genre *saccocalyx* est signalée pour la première fois.

- Les terpènes :  $\alpha$ -Terpineol-8-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**SS9**).

L'isolement de ces métabolites secondaires a été réalisé par l'utilisation des techniques chromatographiques de séparation et de purification des substances naturelles, à savoir la chromatographie sur colonne de gel de silice normale ( $\text{SiO}_2$ ), de Séphadex LH-20 et de polyamide Sc -b et sur CCM.

Les structures des produits isolés ont été établies par les méthodes spectroscopiques RMN 1D ( $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ), RMN 2D (HSQC, HMBC), spectroscopie de masse (ESI-MS) et par la comparaison avec les données de la littérature.

Le potentiel antiradicalaire des extraits bruts de cette espèce a été déterminé par deux méthodes différentes le test de DPPH et le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène. L'étude de l'activité antioxydante par le test DPPH montre que la plus grande activité est obtenue avec des extraits AcOEt et  $\text{CHCl}_3$ , tandis que l'extrait EP est plus faible. Ces activités sont positivement corrélées avec les contenus en flavonoïdes de l'extrait AcOEt de cette espèce qui semble être les principaux contributeurs à cette capacité antioxydante.

Alors que le pouvoir antioxydant des extraits bruts de la plante étudiée par le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène a révélé que l'extrait  $\text{CHCl}_3$  est plus actif que celui de l'AcOEt. En comparaison avec les résultats obtenus par le test DPPH, il est suggéré que l'activité antioxydante de l'extrait  $\text{CHCl}_3$  est probablement due à la présence dans cet extrait des composés actifs lipophiles.

Les tests biologiques effectués dans ce travail ont montré un effet antimicrobien remarquable des différents extraits obtenus à partir des parties aériennes de la plante étudiée *S. satureioides*. Cette évaluation a été faite, selon la disponibilité, sur huit (08) souches

bactériennes. Les résultats nous ont montré que les extraits *n*-BuOH et EtOAc révèlent une meilleure activité antibactérienne. En général, l'activité la plus faible a été observée pour les extraits de CHCl<sub>3</sub> et d'éther de pétrole. Ces activités sont très probablement dues à la nature et la quantité des métabolites secondaires dans les extraits de la plante.

En conséquence la plante étudiée a un potentiel antioxydant et antibactérien très important et pourrait être exploitée comme une source d'agents antibactériens et antioxydants naturels pour traiter les maladies infectieuses et d'autres pathologies liées au stress oxydant.

Les résultats obtenus constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel de la plante étudiée et confirment la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies. Ils sont encourageants mais ne constituent qu'une première étape dans la recherche des substances biologiquement actives. Il serait par conséquent intéressant de continuer cette étude dans le but de caractériser le maximum de molécules naturelles dans cette espèce et d'augmenter significativement le nombre de découverte de nouveaux composés actifs.



*Bibliographie*

## *Bibliographie*

- [1] Petit Larousse de la médecine, **2002**. Larousse, VUEF.
- [2] Segnou, Fatakun C.A, Akoroda, M., Hahn, S. **(1992)**. "Studies on the reproductive biology of white yam (*Dioscorea rotundata*)". *Euphytica*. 64(3):197.
- [3] Cordell G.A. **(2001)**. "Plants and drugs discovery- a future perspective. Proceedings of the international symposium on man and nature". Osaka, Japan
- [4] Akoroda M. **(1981)**. "Studies of the genetics and floral biology of yam (*Dioscorea rotundata* and *D. cayanaensis*)". Dept. of agronomy. Univ of Ibadan. 298.
- [5] Aighevi B.A., Akoroda, M., Asiedu, R. **(1998)**. "preliminary studies of seed yam production from minisetts with different thicknesses of cortex parenchyma in white yam ( *Dioscorea rotundata*)", 6th Symposium of the ISTRC-AB, Lilongwe (Malawi), 22-28 Oct.
- [6] J.A. Duke, E.S. Ayensu **(1985)**. Medicinal plants of China. Vol. 2 INC Algonac, USA.
- [7] Ozenda P. **(1977)**. "Flore du Sahara", Ed. CNRS, Paris, France, 250-259.
- [8] Gaussen H. et Leroy H. F. **(1982)**. "Précis de botanique, végétaux supérieurs", 2ème Ed., 426.
- [9] Botineau M. **(2010)**. Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs. Tech. Et Doc (eds): 1021.
- [10] Fernandez, X. ; Chemat, F. et Tiên Do, T .K. **(2012)** « *Les huiles essentielles – Vertus et application* », Ed. Vuibert, Paris, p. 160.
- [11] Dupont, F. et Guignard, J.L. **(2012)** « *Botanique : Les familles de plantes* », Ed. Elsevier Masson SAS, Issy- les- Moulinaux Cedex, France, pp. 237-240.
- [12] Quezel, F. et Santa, S. , **(1963)** , Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions Désertiques Méridionales, Vol. 1-2 Ed CNRS, Paris, France.
- [13] Ozenda, P., **(1982)**, Les végétaux dans la biosphère, .Edition Dom, Paris.
- [14] Judd et al. *Plant Systematics* **(2002)** : *a Phylogenetic Approach* (2<sup>nd</sup> ed.), , pp. 185-213.
- [15] Lambinon J. et al. , **(2012)** . *Nouvelle flore de la Belgique, du G.-D. de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisines (Ptéridophytes et Spermatophytes)*, Meise, Jardin botanique national de Belgique, 6e éd., 1195 p.

- [16] MEYER S., REEB C., BOSDEVEIX R. (2004). - Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris.
- [17] MESSAILI B.(1995).Botanique,systématique des spermaphytes.OPU(Ed).Alger, 91p.
- [18] NAGHIBI F., MOSADDEGH M., MOHAMMADI MOTAMED S & GHORBANI A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, Iran, J. Pharm. Res. 2, 63-79.
- [19] HASANI P., YASA N., VOSOUGH-GHANBARI S., MOHAMMADIRAD A., DEHGHAN G., ABDOLLAHI M. (2007). - In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to α-tocopherol. Acta Pharm, 57: 123–129.
- [20] GABRIELI C.N., KEFALAS P.G., KOKKALOU E.L. (2005). - Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. Journal of Ethnopharmacology, 96: 423– 428.
- [21] DJERIDANE A., BRUNEL J.M., VIDAL N., YOUSFI M., AJANDOUZ E.H., STOCKER P. (2008) . – Inhibition of porcine liver carboxylesterase by a new flavones glycoside isolated from *Deverrascoparia*. Chemico-Biological Interactions, 172: 22–26.
- [22] LOPEZ V., AKERRETA S., CASANOVA E., GARCIA-MINNA J M., YOLANDA CAVERO R et CALVO M. I., (2007).- In Vitro Antioxidant and Anti-rhizopus Activities of Lamiaceae Herbal Extracts. Plant Foods Hum Nutr, Vol.62:151–155
- [23] ÖZKAN G., KULEAOAN H., ÇELİK S., GOKTURK R.S., ÜNAL O. (2007).- Screening of Turkish endemic *Teucrium montbretii* subsp. *pamphylicum* extracts for antioxidant and antibacterial activities. Food Control, 18: 509–512.
- [24] Dobignard, A. & Chatelain, C. (2012). Index synonymique de la flore d'Afrique du nord 4: 1- 431. Éditions des conservatoires et jardin botaniques, Genève.
- [25] G.BENTHAM, (1826). Catalogue des plantes indigènes des Pyrénées, in- 8,.vol.1, p.148.
- [26] M. Botineau (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition TEC et DOC, Lavoisier, France.
- [27] Bendahou M, Benyoucef M, Museli A, Desjobert J, Paolini J, Bernardini A, and Costa J, (Apr. (2008)). “Antimicrobial activity and chemical composition of *saccocalyx satureioides* Coss. et .Dur . Essential oil and extract obtained by microwave extraction comparision with hydrodistilaton,”
- [28] Zerroug M.M, Laouer H, and Nichlin J.L, (2001). “The effect of essential oil of

- saccocalyx satureioides Coss .et Dur.on the growth of and the production of salanapyrone a by *ascochytrabiei* (pass.) labr,”pp. 501–506,
- [29] Belmekki N, (2009). “Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de *saccocalyx satureioides*, *salvia*,” AbouBekr Belkaid Tlemcen, .
- [30] Bendimerad N, Bekhechi C, Belmekki N, and Fernandez X , (2009). “Chemical analysis and antimicrobial activity of *saccocalyx satureioides* Coss.et Dur. essential oil from southwestern Algeria,”
- [31] J.R. Hanson, (1984-1995). In Terpenoids and Steroids Specialist Periodical Reports, *The chemical Society, London, and Nat. Prod. Reports*, 1-12.
- [32] A. Ulubelen, G. Topcu, Inatta-ur-Rahman. (1998). (Ed) *Studies in Natural Products Chemistry*, 1998, 20, 659.
- [33] F.A. Tomas-Barberan, R.J. Grayer-Barkmeijer, M.I...Gil, J.B. Harborne, (1988) *Phytochemistry*, , 27, 2631.
- [34] L.J.M. Rao, G.N.K. Kumari, N.S.P. Rao, (1983), *Phytochemistry*, 22, 1058.
- [35] V.V. Petrenko, *Khim. Prir. Soedin.*, (1965), 6471.
- [36] M.A.M Nawar, A.M.D. El-Mousallamy, H.H. Barakat, J. Buddrus, M. Linscheid, (1989). *Phytochemistry*, 28, 3201.
- [37] H. Itokawa, (1981). *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 254.
- [38] A. Lenherr, T.J. Mabry, (1987). *Phytochemistry*, 26, 1185.
- [39] A. Lenherr, M. Lahloub, O. Sticher, (1984). *Phytochemistry*, , 23, 2343.
- [40] M. El-Ansari, D. Barron, M.F. Abdalla, N.A.M. Saleh, J.L. Le Quéré, (1991) *Phytochemistry*, , 30, 1169.
- [41] J.B. Harborne, F.A. Tomas-Barberan, C.A. Williams, M.I...Gil, (1986). *Phytochemistry*, 25, 2811.
- [42] F.A. T. Barberan, F. Tomas, F. Ferreres,(1984) . *Phytochemistry*, , 23, 2112.
- [43] F.A. T. Barberan, F. Tomas, F. Ferreres, (1985). *J. Nat. Prod.*, , 48, 28..
- [44] F.A. Tomas- Barberan, M.A. Gil, F. Ferreres, F. Tomas-Lorente, (1991). *Phytochemistry*, , 30, 3311.
- [45] Amin Abedini, Vincent Roumy, SéverineMahieux, Murielle Biabiany, Annie Standaert-Vitse, Céline Rivière, Sevser Sahpaz, François Bailleul, ChristelNeut, and Thierry Hennebelle. (2013). Rosmarinic Acid and Its Methyl Ester as Antimicrobial Components of the Hydromethanolic Extract of *Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*: 1-11.

- [46] Gohari AR, Saeidnia S, Malmir, Yazdanpanah M, Ajani Y. (2011). Sterols and flavonoids of *Lomatopodium staurophyllum*, *Journal of Medicinal Plants* 10: 43-48.
- [47] Wu LL, Yang XB, Huang ZM, Liu HZ, Wu GX. (2007). *In vivo* and *in vitro* antiviral activity of hyperoside extracted from *Abelmoschus manihot* (L) Medik, *Acta Pharmacologica Sinica* 28: 404-409.
- [48] Sujatha S, Roseline Kantida S. (2012). Cytotoxicity and antimicrobial studies of quercetin-3-O-galactoside (hyperoside) isolated from the leaves of *Psidium guajava* (Linn.), *Novus International Journal of Pharmaceutical Technology* 1: 30-37.
- [49] Li S, Zhang Z, Cain A, Wang B, Long M, Taylor J. (2005). Antifungal activity of camptothecin, trifolin, and hyperoside isolated from *Camptotheca acuminata*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 32-37.
- [50] Rosangela A Falcao, Patricia LA do Nascimento, Silvana A de Souza, Telma MG da Silva, Aline C de Queiroz, Carolina BB da Matta, Magna SA Moreira, Celso A Camara, Tania MS Silva. (2013). Antileishmanial Phenylpropanoids from the Leaves of *Hyptis pectinata* (L.) Poit, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013: 1-11.
- [51] N.Okamura, H. Haraguchi, K. Hashimoto, A.Yagi... (1994). *J. Phytochem.* Vol 37, Issue. 5. 1463 – 1466,.
- [52] M.J. Del Bano, J. Lorente, J. Castillo, O. Benavente – Garcia, J.A. Del Rio, A. O. Karl – Werner Quirin et D.Gerard. *J.Agric.* (2003). *Food Chem.* Vol. 51; 4247 – 4253,.
- [53] H. Ismaili, S. Tortora, S. Sosa, S. Fkih-Tetouani, A. Ilidrissi, R. Della Loggia, A.Tubaro, R. Aquino, (2001). *J.Pharm. & Pharmacol.*, , 53, 1645.
- [54] H. Ismaili, S. Sosa, D. Brkic, S. Fkih-Tetouani, A. Ilidrissi, D. Touati, R.PAquino, A. Tubaro, (2002), *J. Pharm. & Pharmacol.*, , 54, 1137.
- [55] M. Corticchiato, A. Bernardini, J. Costa, C. Bayet, A. Saunois, B. Voirin, (1995). *Phytochemistry.*, 40, 115.
- [56] R. Merghem, M. Jay, M-R Viricel, C. Bayet, B. Voirin, (1995). *Phytochemistry.*, 38, 637.
- [57] A. Khodair, F.M. Hammouda, S.I. Ismail, M.M. El-Missiry, F.A. El-Shahed, H. Abdel-Azim, (1993). *Qatar University Science Journal*, 13, 211.
- [58] M. Amparo Blazquez, S. Manez, M.C. Zafra-Polo, Z. Naturforsch. C, (1994), 49c, 687..

- [59] E. Marhuenda, C. Alarcon de la Lastra, M.D. Garcia, A. Cert, Ann. Pharm. Fr.,(1988),45, 467.
- [60] F.A.T Barberan, L. Hernandez, F. Ferreres, F. Tomas, (1985). *Planta Med.*, 5, 452.
- [61] F. Ferreres, F. Tomas, F.A.T. Barberan, L. Hernandez, (1985). *Plant. Med. Phytother.*, 19, 89.
- [62] S. Kulevanova, T. Stafilov, M. Ristic, D. Brkic, (1997). *Acta Pharm.*, 47, 281.
- [63] K. Miura, N;Nakatani, (1989). *Agric. & Biol. Chem.*, 53, 3043.
- [64] W. Olechnowicz-Stepien, E. Lamer-Zarawska, (1975). *Herba Pol.*, , 21, 347.
- [65] A. V. Simonyan, A.L. Shinkarenko, V.I. Litvinenko, (1973). *Rast. Resur.*, 9, 395..
- [66] J.S. Washington, V.K. Saxena, (1985). *J. Inst. Chem. (India)*. , 57, 153.
- [67] T. Adzet, F. Martinez, I. Zamora, (1982). *Plant. Med. Phytother.*, 16, 116.
- [68] F. Tomas, L. Hernandez, F.A.T. Barberan, F. Ferreres, Z. Naturforsch., (1985), 40c, 583.
- [69] F. Ferreres, F.A.T. Barberan, F. Tomas, (1985). *Phytochemistry*, 24, 1869.
- [70] C.O. Van Den Broucke, R.A. Domisk, E.L. Esmans, J.A. Lemli, (1983). Three methylated flavones from *Thymus vulgaris*. *Phytochemistry*, Vol.21, N°. 10, PP. 2581-2583. .
- [71] Y. Morimitsu, K. Yoshida, S. Esaki, A. Hirota, (1995). *Biosci.,Biotechnol. &Biochem.*, 59, 2018..
- [72] B. Voirin, M.R. Viricel, J. Favre-Bonvin, C.O. Van den Broucke, J.A. Lemli, (1985). *Planta Med.*, 6, 523.
- [73] M.M. El-Domiaty, A.M. El-Shafae, M.M. Abdel-Aal, (1997). *Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11, 13.
- [74] H. Haraguchi , T. Saito, H. Ishikawa, H. Date, S. Kataoka Y. Tamura, K. Mizutani, (1996). *Planta Med.*, 62, 217.
- [75] F.A. Tomas - Barberan, S.Z. Husain, M.I. Gil, (1987). *Biochem. Syst. & Ecol.*,16, 43.
- [76] F.A. Tomas-Barberan, M.I. Gil, (1990). *Revista Latino Americana de Quimica*, 21,134.
- [77] F.A. Tomas-Barberan, E. Wollenweber, (1990). *Plant Systematics and Evolution*, 173, 109.
- [78] T. Adzet, F. Martinez-Verges, (1980). *Planta Med.*, (suppl), 52.
- [79] K.Miura,H. Kikuzaki,N. Nakatani, Nobuji., (2002). *J. Agric.& Food Chem.*, 50, 1845.

- [80] M. Wang, J. Li, G.S. Ho, X. Peng, C-T Ho, C.-T, **(1998)**. *J. Food Lip.*, 5, 313.
- [81] K. Kosaka, H. Miyazaki, H. Ito, Y. Osanai, **(2000)**. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, 6 pp. CODEN: JKXXAF JP 2000072650 A2 20000307 Patent writtenin Japanese. Application: JP 98-244957 19980831.
- [82] F.A. Tomas - Barberan, M.A. Gil, F. Ferreres, F. Tomas - Lorente, **(1992)**. *Phytochemistry*, 31, 3097.
- [83] M.S. Kamel, K.M. Mohamed, H.A. Hassanean, K. Ohtani, R. Kasai, Y.Yamasaki, **(2000)**. *Phytochemistry*, 55, 353.
- [84] S.I. El-Negoumy, M.F. Abdalla, N.A.M. Saleh, *Phytochemistry*, **(1986)**, 25, 772. [85] F. Tomas, J.L. Nieto, F.A.T. Barberan, F. Ferreres, *Phytochemistry*, , 25, 1253.
- [85] F. Tomas, J.L. Nieto, F.A.T. Barberan, F. Ferreres, **(1986)**. *Phytochemistry*, 25, 1253.
- [86] R. Kumar, S. Bhan, A.K. Kalla, K.L. Dhar, Kanaya, **(1985)**. *Phytochemistry*, 24, 1124.
- [87] T.A. Khokhrina, V. A. Peshkova, N.L. Shergina, **(1978)**. *Khim. Prir. Soedin.*, 6,804.
- [88] T.A. Khokhrina, V.A. Peshkova, V.I. Glyzin, **(1973)**. *Khim. Prir. Soedin.*, 6, 802.
- [89] E.V. Gella, N.K. Vavilova, T.A. Grimova, **(1982)**. T. A. *Brevet russe*, CODE: URXXAF SU 904710 A1 19820215..
- [90] F. Bucar, S. Ninov, L. Ionkova, T. Kartnig, M. Schubert-Zsilavec, I. Asenov, **(1998)** *Phytochemistry*, 48, 573.
- [91] N.A. Nedonoskova, V.A. Kompantsev, S.F. Dzhumyrko, I.I. Samokish, *Khim.Prir. Soedin.*, 1974, 5, 664. A. Kabouche, Z. Kabouche, E. Seguin, F. Tillequin,C. Bruneau, **(2004)**. *Chem. Nat. Comp.*, 1, 28.
- [92] I. Kyriakopoulou, M. Magiatis, S. Prokopios, A. Alexios - Leandrosm H.C.Nektarios, C. Harvala, **(2001)**. *J. Nat. Prod.*, 64, 1095..
- [93] S. Al-Khalil, N. Al-Douri, **(1997)**. *Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences*, , 11, 33.
- [94] I. Calis, H. Kirmizibekmez, T. Ersoz, I. Saracoglu, A.A. Donmez, M. Mitova, N. Handjieva, S. Popov, **(2002)**. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 44, 195.
- [95] Y. Takeda, N. Isai, T. Masuda, G. Honda, Y. Takaishi, M. Ito, H. Otsuka, O.A.Ashurmetov, Ozodbek A.; Khodzhimatov, K. Olimjon, **(2001)**. *Chem. Pharm. Bull.*, 49, 1039.
- [96] I. Saracoglu, M. Inoue, I. Calis, Y. Ogihara, **(1995)**. *Biol. Pharm. Bull.*, , 18, 1396.

- [97] I. Saracoglu, U.S. Harput, K. Kojima, Y. Ogihara, (1997). *Hacettepe Universitesi Eczacilik fakultesi Dergisi*, 17, 63.
- [98] I. Kyriakopoulou, P. Magiatis, A-L Skaltsounis, N. Aligiannis, C. Harvala, (2001). *J .Nat. Prod.*, 64, 1095.
- [99] J. Heilmann, I. Calis, H. Kirmizibekmez, W. Schuhly, S. Harput, O. Sticher, (2000). *Planta Medica*, 66, 746.
- [100] M.S. Kamel, K.M. Mohamed, H.A. Hassanean, K. Ohtani, R. Kasai, K.Yamasaki, (2000). *Phytochemistry*, 55, 353.
- [101] S. Harput, I. Saracoglu, I. Calis, (1999). *Hacettepe Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, , 19, 1
- [102] F.N. Yalcin, T. Ersoz, P. Akbay, I. Calis, A.A. Doenmez, O. Sticher, (2003). *Turkish Journal of Chemistry*, 27, 295.
- [103] T. Ersoz, I. Saracoglu, H. Kirmizibekmez, F.N. Yalcin, U.S. Harput, A. A. Donmez, I. Calis, (2001). *Hacettepe Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, , 21,23
- [104] T. Ersoz, I. Saracoglu, U.S. Harput, I. Calis, A.A. Donmez, (2002). *Turkish Journal of Chemistry*, 26, 171.
- [105] Y. Takeda, M. Kinugawa, T. Masuda, G.Honda, H. Otsuka, E. Sezik, E.Yesilada, (1999). *Phytochemistry*, 51, 323.
- [106] T. Ersoz, W. Schuhly, S. Popov, N. Handjieva, O. Sticher, I. Calis. (2001). *Natural Product Letters*, 15, 345.
- [107] T. Ersoz, I. Saracoglu, U.S. Harput, I. Calis, A.A. Donmez, (2002). *Turkish Journal of Chemistry*, 26, 1.
- [108] I. Calis, H. Kirmizibekmez, T. Ersoz, I. Saracoglu, A.A. Donmez, N.Handjieva, S. Popov, (2002). *Acta Pharmaceutica Turcica*, 44, 195.
- [109] T. Ersoz, S. Ivancheva, P. Akbay, O. Sticher, I. Calis, *Zeitschriftfuer*, (2001). *Natur forschung, C*, 56, 695.
- [110] T. Ersoz, K.I. Alipieva, F.N. Yalcin, P. Akbay, N. Handjieva, A.A. Doenmez, S. Popov, I. Calis, (2003). *Zeitschriftfuer Natur forschung, C*, , 58, 471.
- [111] I. Saracoglu, U.S. Harput, I. Calis, Y. Ogihara, (2002). *Turkish Journal of Chemistry*, 26, 133.
- [112] U.S. Harput, I. Saracoglu, F.A.C. Tlemis, S. Cevheroglu, (1998). *Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, , 18, 1.
- [113] I. Saracoglu, K. Kojima, U.S. Harput, Y. Ogihara, Yukio, (1998). *Chemical*

- & *Pharmaceutical Bulletin*, 46, 726.
- [114] Y. Takeda, N. Isai, T. Masuda, G. Honda, Y. Takaishi, M. Ito, H. Otsuka, O. A. Ashurmetov, O.K. Khodzhimatov, **(2001)**. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 49, 1039.
- [115] I. Calis, A.A. Basaran, I. Saracoglu, O. Sticher, P. Ruedi, **(1990)**. *Phytochemistry*, 29, 1253..
- [116] I. Calis, A.A. Basaran, A. Ahmet, I. Saracoglu, O. Sticher, P. Ruedi, **(1991)**. *Phytochemistry*, 30, 3073.
- [117] T.P. Ramamoorthy, M. Eliot, **(1993)**. *Mexican Lamiaceae: Evolution, distribution, endemism*. In T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fa (Editors) Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution... Oxford University Press, New York,.
- [118] A.V. Patudin, A.S. Romanova, V.S. Sokolov and G.I. Pribylova, **(1974)**. *Planta Med.*, 26, 201.
- [119] L. Rodriguez-Hann, B. Esquivel, J. Cardenas, **(1994)**. *J. Progress in the Chemistry of Natural Products*, 63, 107.
- [120] T.K. John, G.S. Rao, Krishna, **(1978)**. *Proc. Indian Acad. Sci.A*, , 87A (8), 235.
- [121] A. Ulubelen, N.Tan, G. Topcu, **(1997)**. *Phytochemistry*, 45, 1221.
- [122] G. Topcu, C. Eris, A. Ulubelen, **(1996)**. *Phytochemistry*,. 41, 1143.
- [123] A. Ulubelen, G. Topcu, U. Sonmez, C. Eris, U. Oezgen, **(1996)**. *Phytochemistry*, 43, 431.
- [124] A. Ulubelen, G. Topcu, C.B. Johansson, **(1997)**. *J. Nat. Prod.*, 60, 1275.
- [125] Z. Djarmati, R.M. Jankov, A. Djordjevic, B. Ribar, D. Lazar, P. Engel, **(1992)**. *Phytochemistry*, 31, 1307.
- [126] M. Tada, K. Okuno, K. Chiba, E. Ohnishi, T. Yoshii, **(1997)**. *Phytochemistry*, 35, 539.
- [127] G. Topcu, A. Ulubelen, N. Tan, C. M. Timothy, **(1996)**. *C. T. Che, J. Nat. Prod*, 59, 113.
- [128] M. S. Gonzalez, J. M. San Segundo, M.C. Grande, M. Medarde, I.S. Bellido, **(1989)**. *Tetrahedron*, 45, 3575.
- [129] A. A. Sanchez, B. Esquivel, A. Pera, J. Cardenas, M. Soriano-Garcia, A. Toscano, L. Rodriguez - Hahn, **(1987)**. *Phytochemistry*, 26, 479.
- [130] E. Maldonado, A. Ortega, **(1997)**. *Phytochemistry*, 46, 1249.
- [131] L. Rodriguez-Hahn, G.C. Martinez, **(1973)**. *J. Romo, Rev. Latinoam. Quim.*, 4, 93.
- [132] B. Esquivel, M. Hernandez, T. P. Ramamoorthy, J. Cardenas, L. Rodriguez-Hahn, **(1986)**. *Phytochemistry*, 25, 1484.

- [133] B. Esquivel, J. Cardenas, L. Rodriguez-Hahn, T. P. Ramamoorthy, **(1987)**. *J. Nat. Prod.*, 50, 738.
- [134] B. Esquivel, A. Vallejo, R. Gavino, J. Cardenas, A. A. Sanchez, T. P. Ramamoorthy, L. Rodriguez-Hahn, **(1988)**. *Phytochemistry*,. 27, 2903.
- [135] L. Rodriguez-Hahn, A. Garcia, B. Esquivel, J. Cardenas, Jorge. *Can.* **(1987)**. *J. Chem.*, 65, 2687.
- [136] A. A. Sanchez, B. Esquivel, T.P. Ramamoorthy, L. Rodriguez-Hahn, **(1995)**. *Phytochemistry*,. 38, 171.
- [137] M. D Fernandez, B. Esquivel, J. Cardenas, A.A. Sanchez, R.A. Toscano, L.Rodriguez-Hahn, **(1991)**. *Tetrahedron*, 47, 7199.
- [138] L. Rodriguez-Hahn, R. O'Reilly, B. Esquivel, E. Maldonado, A. Ortega, J.Cardenas, R. A. Toscano, T.M. Chan, **(1990)**. *J. Org. Chem.*, 55, 3522.
- [139] J. Cardenas, T. Pavon, B. Esquivel, A. Toscano, L. Rodriguez - Hahn, **(1992)**. *Tetrahedron Letters*, 33, 581.
- [140] A. Ulubelen, G. Topcu, N. Tan, **(1992)**. *Phytochemistry*,. 31, 3637.
- [141] G. Topcu, A. Ulubelen, **(1991)**. *Phytochemistry*, 30, 2412.
- [142] A. Ulubelen;N.Tan;G.Topcu; D. Sun; W.H. Watson, **(1995)**. *Phytochemistry*, 40, 501.
- [143] A. Ulubelen, G. Topcu, U. Sonmez, M. I. Choudhary, Atta-Ur-Rahman, **(1995)**. *Phytochemistry*, 40, 861.
- [144] A. Ulubelen, E. Tuzlaci, **(1990)**. *J. Nat. Prod.*, 53, 1597.
- [145] N. N. Sabri, A. A. Abou-Donia, N. M. Ghazy, A. M. Assad, A. M. El-Lakany,D. R. Sanson, H. Gracz, C. L., Barnes, E. O., Schlemper, M. S. Tempesta, **(1989)**. *J.Org. Chem.*, 54, 4097.
- [146] T. Kusumi, T. Ooi, T. Hayashi, H. Kakisawa, **(1985)**. *Phytochemistry*, , 24, 2118.
- [147] L. Z. Lin, X. Wang, X. Huang, Y. Huang, B. Yang, **(1988)**. *Planta Med.*,. 54,443.
- [148] B. Bakshi, N. B. Mulchandani, J. Shankar, **(1986)**. *Planta Med.*, , 5, 408.
- [149] M. Li, J. S. Zhang, Y. M. Ye, J. N. Fang, **(2000)**. *J. Nat. Prod.*, 63, 139 .
- [150] J. Hohmann, G. Janicsak, P. Forgo, D. Redei, I. Mathe, T. Bartok, **(2003)**. *Planta Med.*, 69, 254.
- [151] C.L. Cantrell, S. L. Richheimer, G. M. Nicholas, B.K.Schmidt, et D. T. Bailey. **(2005)**. *J. Nat. Prod. Vol. 68.* 986 – 100,.
- [152] M.Oluwatuyi, G.W. Kaatzet S. Gibbons. **(2004)**. *J. Phytochem. Vol 65, Issue. 24.*

- 3249 – 3254, .
- [153] M.J. Del Bano, J. Lorente, J. Castillo, O. Benavente – Garcia, J. A. Del Rio, A. O. Karl –Werner Quirin et D.Gerard. **(2003)**. J. Agric. Food Chem. Vol. 51. 4247-4253,.
- [154] Biondi D.M., Madani S., Zedam A.G., Giuseppe R.; **(2006)**. Essential oil of Algerian *Saccocalyx satureioides*. Coss et Dur . *Flavour and Frag r.. J. , 2*; 546-548.
- [155] Laouer H., Akkal S., Debarnot C., Canard B., Meierhenrich U.J., Baldovini N. ; **(2006)**. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Saccocalyx satureioides*. Coss.et .Dur. *Natural Product Communications; j j*; 645-650.
- [156] S. Mohamadi, M. Zhao, A. Amrani, E. Marchioni, D. Zama, F. Benayache, and S. Benayache, **(Dec. 2015)**. “On-line screening and identification of antioxidant phenolic compounds of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur,” *Industrial Crops and Products*, vol. 76, pp. 910–919,.
- [157] Gee J.M., Johnson I.T. **(2001)** Polyphenolic compounds : interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*. 8 : 1-182.
- [158] Bruneton J. **(1999)**. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris
- [159] Dacosta, Y. **(2003)** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.
- [160] Brown J. E., Khodr H., Hider R. C., Rice-Evans C. (1998) Structural dependence of flavonoid interactions with Cu<sup>2+</sup> ions. *Biochem. J.* **330** : 1173-1178.
- [161] Paganga G., Miller N., Rice-Evans C. A. **(1999)**. The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. *Free Radic Res.* 30 : 62-153
- [162] Nijveldt R. J., Van Nood E., Van Hoorn D. E. C., Boelens P. G., Van Norren K., Van Leeuwen P. A. M. **(2001)**. *American journal of clinical nutrition*, 74 : 418-425.
- [163] Ghedira K. **(2005)**. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, Vol 3(4) ; pp 162-169.
- [164] Malešev D. et Kuntić V. **(2007)**. *Journal of the Serbian chemical society*. 72 (10) : 921-939.
- [165] Beecher G. R. **(2003)**, .Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutri.*, 133 (10), 3248S-3254S.
- [166] Williams C.A., Grayer R.J. **(2004)**,. Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep.*, Vol. 21(4); pp 539-573.

- [167] Kueny-Stotz M. **(2008)**,. Contribution à la chimie des flavonoïdes : élaboration de squelettes flavylum sophistiqués, nouvelle voie d'accès aux flavan-3-ols et aux proanthocyanidines. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Chimie organique, Université Louis Pasteur Strasbourg, France.
- [168] Skerget M ., Kotnik P ., Hadolin M ., Hras A-R ., Simoncic M ., Knez Z. ,(2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, Vol. 89; pp191-198.
- [169] Davis, B.D. **(1955)** Advances in enzymology. 16, p.206.
- [170] Amerhein, N., Zenk, M.H., **(1977)**. Metabolism of phenylpropanoid compound. *Z. Pflanzea physiol*, 15, 250-260.
- [171] Riberau-gayou, J.B **(1968)**. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- [172] Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. **(2001)**. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*. **33** : 2-16.
- [173] Tapas A. R., Sakarkar D. M. et Kakde R. B. **(2008)**. Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research*. **7** (3) : 1089-1099
- [174] W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C.,. Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., WilliamsonG. et Burrowes J. **(2007)**. Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, **2005**, Washington. *Journal of Nutrition.*, 137 (3 supp1):718 s-737 s.
- [175] Porter L. J. **1980**. " Polymeric proanthocyanidins stereochemistry, structural units, and molecular weight". *J. Chem. Soc .I*.2278-2286
- [176] Czochanska Z., Foo Y., Newman R. H., Porter L. J. **1980**. "Polymeric Proanthocyanidins Stereochemistry, Structural Units, and Molecular Weight". *J. Chem. Soc. Perkin Trans*. 2278-2286.
- [177] J-B. Harborne **(1988)**. The flavonoids advances in research since 1986. Edition Chapman and Hall. London,.
- [178] A-G. Gonzales, J-B. Barera, T-Z. Garcia, F-E. Rosas. *Phytochemistry*, **(1984)**. 2071, 2072.
- [179] E. Gadeschi, Z-D. Jorge, G-M. Massanet, F-R. Luis. **(1989)**. *Phytochemistry*, 28 (8) ; 2071, 2072.
- [180] S. Oksuz, B. Halfon, B. Term. **(1988)**. *Planta. Med.*, 54 (1); 89.

- [181] M. Jay, J-Z. Naturforsch, **(1983)**. 38; 413.
- [182] A. Sutter, J. Arch. **(1975)**. Biochem. Biophys, 1975. 170; 847.
- [183] Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Regerat F. **(1996)**. Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Méd. Nut.* 32 : 17-27.
- [184] Bruneton J. **(1993)**. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème Ed Tec&Doc. Paris.
- [185] Bronner W.E., Beecher G. R. **(1995)**. Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. *Journal of chromatography A*, 705 : 247-256.
- [186] Wagner, H., Rüger, R. and Farkas, L. **(1977)** *Chem. Ber.* 110, 737-743
- [187] Agnese, A. M., Chiale, C. A., Cabrera, J. L. and Juliani, H. R. **(1986)** *.J. Nat. Prod.*; 49(3) : 528-529.
- [188] Mashimo, K. and Sato, Y **(1970)**, 26(3): 803-812.
- [189] Di Carlo, G.,Mascolo, N.; Izzo, A. A.; Capasso, F.**(1999)**. "Flavonoids: Old and new aspects of class of natural therapeutic drugs". *Life Sci.*, 65(4): 337-353.*Life Sciences*, 65 : 337-353.
- [190] Fargeix, D. **(2000)**.Etude des mécanismes d'oxydation des flavonoïdes en relation avec leur activité antioxydante. Effets anti- et pro-oxydants dans l'inhibition de la peroxydation lipidique par les flavonoïdes. Université Claude Bernard- Lyon 1, Lyon,
- [191] Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G. **(1996)**. *Free Radical Biology and Medicine*, 20: (7), 933-956.
- [192] Hollman, P. C. H.; Katan, M. B., **(1999)**. *Food and Chemical Toxicology*, 37: (9-10), 937-942.
- [193] Sampson, L.; Rimm, E.; Hollman, P. C. H.; De Vries, J. H. M.; Katan, M. B., **(2002)**. *Journal of the American Dietetic Association* **102**: (10), 1414-1420.
- [194] Lahoual M. **(2005)**. Interaction flavonoïdes-mitochondrie et role de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat, université de Constantine.
- [195] Markham K.R. **(1982)**. Techniques of flavonoids identification. Edition Academic Press, London.
- [196] Harborne J.B. and Smith D.M. **(1978)**. Correlation between anthocyanins chemistry and pollinisation ecology in the *Polemoniaceae*. *Biochemitry Systematic and*

- Ecology, **6**: 127–130.
- [197] Peggy E Pollak, Thomas V, Yinyuan M. and Loveline P.T. **(1993)**. Chalcone synthase and flavonol accumulation in stigmas and anthers of *Petunia hybrida*. Plant Physiology, 102: 925–932.
- [198] Morel S. **(2011)**. Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Thèse de doctorat, Université d'Angers, France.
- [199] Figen M.T. **(2002)**. Phytoalexins: Defence or just a response to stress. Journal of Cell and Molecular Biology, **1**: 1–6.
- [200] Jeandet P., Hébrard C., Deville M.A., Cordelier S., Dorey S., Aziz A. and Crouzet J. **(2014)**. Deciphering the Role of Phytoalexins in Plant-Microorganism Interactions and Human Health. Molecules, 19(11): 18033-18056.
- [201] Schmelzer E., Jahnen W. and Halbrock K. **(1988)**. *In situ* localization of high-induced chalcone synthase and flavonoid en products in epidermal cells of parsley leaves. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 85: 2989–2993.
- [202] Shirley B.W. **(1996)**. Flavonoid biosynthesis: "new" functions for an "old" pathway. Trends in Plant Science, 1: 377–382.
- [203] Stapleton, A.E. **(1992)**. Ultraviolet radiation and plants: Burning questions. The Plant Cell, 105: 881–889.
- [204] Liyana-Pathirana C.M. and Shahidi F. **(2006)**. Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(3): 477–485.
- [205] Wang Q., Wang H. and Xie M. **(2010)**. Antibacterial mechanism of soybean isoflavone on *Staphylococcus aureus*. Archives of Microbiology, 192: 893–898.
- [206] Soo Cheon C., Jai-Heon L. and Sang U.P. **(2013)**. Recent studies on flavonoids and their antioxidant activities. Experimental and Clinical Sciences, 12: 225–230.
- [207] Amic D., Davidovic-Amic D., Bešlo D. et Trinajstić N. **(2003)**. "Structure Radical scavenging activity relationships of flavonoids". *Croatica Chemica*, 76: 55-61.
- [208] Tiqwari A. K. **(2001)**. "Imbalance in antioxidant defence and human diseases : Multiple approach of natural antioxidants therapy". *Current science*, 81 (9): 1179-1181.
- [209] Malesev D. et Kuntic V. **(2007)**. "Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions". *Journal of the Serbian chemical society*, 72 (10): 921-939.

- [210] Skibola C.F. and Smith M.T. (2000). Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radical Biology and medicine*, 29(3-4): 375–383.
- [211] Matsuo M., Sasaki N., Saga K. and Kaneko T. (2005). Cytotoxicity of flavonoids toward cultured normal human cells. *Biological and pharmaceutical bulletin*, 28(2): 253–262.
- [212] Yadava R.N., Tiwari L. (2005). "A potential antiviral flavone glycoside from the seeds of *Butea monosperma*. O. Kuntze". *J. Asian. Nat. Prod. Res.* 7 (2): 185-188.
- [213] Hamilton-Miller J. M. T., Shah S. (2000). "Activity of the tea component epicatechin gallate and analogues against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". *J. Antimicrob. Chemother.* 46 : 852-853.
- [214] Bouhadjera K. (2005). "Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L." These de doctorat, université de Tlemcen.
- [215] Harikrishna D., Appa Rao A. V. N., Prabhakar M. C. (2004). "Pharmacological investigation of a flavonoid glycoside". *Indian. J. Pharmacol.* 36 : 244-250.
- [216] Okigbo RN., Mbajinka CS., Njoku CO. (2005). "antimicrobial potentials of (UDA) *Xylopia aethopica* and *Occinum gratissimum* L. some pathogenous of man.
- [217] Ulanowska K. (2006). "Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains". *Arch. Microbial.* 184 (5): 271-8.
- [218] Cushnie T.P.T. and Lamb A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343–356.
- [219] Jimenez-Gonzalez L., Alvarez-Corral M., Munoz-Dorado M. and Rodriguez-Garcia I. (2008). Pterocarpan: interesting natural products with antifungal activity and other biological properties. *Phytochemistry Reviews*, 7: 125-154.
- [220] Chen Y.H., Yang Z.S., Wen C.C., Chang Y.S., Wang B.C., Hsiao C.A. and Shih T.L. (2012). Evaluation of the structure-activity relationship of flavonoids as antioxidants and toxicants of zebrafish larvae. *Food chemistry*, 134(2): 717–724.
- [221] Wu T., Zang X., He M., Pan S. and Xu X. (2013). Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase. *Journal of food chemistry*, 61(34): 8185-8190.
- [222] Khan M.T.H., Ather A., Thompson K.D. and Gambari R. (2005). Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses. *Antiviral Research*,

- 67:107–119.
- [223] Orturno A., Baidez A., Gomey P., Arenas MC. (2005). "*Citrus perasidi* and *Citrus sinensis* flavonoïds : Their influence in the defense mechanism against *Penicillium digitatum*"
- [224] Guanon D., Nitriema JB., Sourabié S., Traoré LK., I, Guisson I.P., Kondogbo B. (2003). "Etude in vitro de l'activité antifongique d'extraits des inflorescences mâles de *Borassus aethiopum* (Mart.) Arecaceae".
- [225] Batawita K., Kokon K., Akpagona K., Koumaglo K., Bouchet P. 2002. "Activité antifongique d'une espèce en voie de disparition de la flore togalaise : *Conyza aegyptiaca* L. Ait. Var. *lineariloba* (DC) O. Hoffum (Asteraceae)".
- [226] Benavente-Garcia O., Castillo J., Marin F.R., Ortuno A. and Del Rio J.A. (1997). Uses and properties of Citrus flavonoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45: 4505–4515.
- [227] Conforti F., Silvio S., Mariangela M., Federica M., Giancarlo A.S., Dimitar U., Aurelia T., Francesco M. and Roberto D.L. (2008). *In vivo* anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. Journal of Ethnopharmacology, 116: 144–151.
- [228] De Medina F., Sanchez F., Posadas O., Lopez R., Romero-Calvo C., Mascaraque G., addaoua A., Perez R., Gonzalez Herrera M.M., Gonzalez G.H., Martinez-Plata E., Ortega M., Suarez Zarzuelo A. and Martinez-Augustin O. (2009). The intestinal anti-inflammatory activity of the flavonoid rutin requires oral administration and may involve effects on mucosal lymphocytes. Clinical Nutrition Supplements: 49.
- [229] Soro T.Y., Néné-bi A.S., Zahoui O.S., Yapi A. and Traoré F. (2015). Activité antiinflammatoire de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). Journal of Animal and Plant Sciences, 24(3): 3802– 3813.
- [230] González-Gallego J., Sánchez-Campos S. and Tuñón M. J. (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. Nutricion hospitalaria, 22 (3): 287–293.
- [231] Park H.H., Lee S., Son H.Y., Park S.B., Choi E.J., Singh T.S., Ha J.H., Lee M.G., kim J.E., Hyun M.C., Kwon T.K., Kim Y.H. and Kim S.H. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. Archives of pharmacal research, 31(10):1303-11.
- [232] Renaud J. and Martinoli M.G. (2011). Propriétés neuroprotectrices, antioxydantes et

- antiinflammatoires du resvératrol dans les neurones dopaminergiques. *Médecine Sciences Amérique*, 1(1): 1–14.
- [233] Gonzalez-Paramas A.M., Santos-Buelga C., Duenas M. and Gonzalez-Manzano S. (2011). Analysis of flavonoids in foods and biological samples. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 11: 1239–55.
- [234] Galleano M., Calabro V., Prince P.D., Litterio M.C., Piotrkowski B., Vazquez-Prieto M.A., Miatello R.M., Oteiza and Fraga P.I. (2012). Flavonoids and metabolic syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1259: 87–94.
- [235] Ames B.N., Gold L.S. and Willett W.C. (1995). The causes and prevention of cancer. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 92: 5258–5265.
- [236] Pincemail J., Meurisse M., Imet R. L. et Defraigne J. O. (1999). "Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer". *Medi-Sphere*.97:29-33.
- [237] Hertog M. G. (1996). "Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids". *Proceeding of the nutrition society*, 55 (1B): 385-397.
- [238] Brusselmans K., Vrolix R., Verhoeven G. et Swinnen J. V. 2005. "Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity". *Journal of biological chemistry*, 280 (7): 5636-5645.
- [239] Boersma P.D., Kareiva P., Fagan W.F., Clark J.A. and Hoekstra J.M. (2001). How good are endangered species recovery plans? *BioScience*, 51: 643–649.
- [240] Depeint F., Gee J. M., Williamson G. et Johson I. T. (2002). "Evidence for consistent patterns between flavonoid structures and cellular activities". *Proceeding of the Nutrition Society*, 61: 97-103.
- [241] Caltagirone S., Rossi C., Poggi A., Ranelletti F.O., Natali P. G., Brunetti M, Aiello F.B and Piantelli M. (2000). "Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential" *International Journal of Cancer*. 87 (4) 595–600.
- [242] Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhu L. et Zhang L. (2003). "Flavonoids: Promising anticancer agents". *Medicinal research reviews*, 23 (4): 519-539.
- [243] Izzo A.A. (1996). PAF and the digestive tract. A review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 48(11): 1103-1111.
- [244] Ramadan M. and Safwat N. (2009). Antihelicobacter Activity of Flavonoid Compound isolated from *Desmostachya bipinnata*. *Australian Journal Basic and Applied Sciences*. 3, 2270–2277.
- [245] Duchnowicz P., Broncel M., Podsędek A. and Koter-Michalak M. (2012).

- Hypolipidemic and antioxidant effects of hydroxycinnamic acids, quercetin, and cyanidin 3-glucoside in hypercholesterolemic erythrocytes (*in vitro* study). *European Journal of Nutrition*, 51: 435–43.
- [246] Mladinka P., Zatloukalova L., Filipisky T. and Hrdina R. (2010). Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 49: 963–975.
- [247] Liu H., Zhang L. and Lu S. (2012). Evaluation of antioxidant and immunity activities of quercetin in isoproterenol-treated rats. *Molecules*, 17: 4281–4291.
- [248] Botta B., Menendez P., Zappia G., Lima R.A.D., Torge R. and Monache G.D. (2009). Prenylated isoflavonoids: botanical distribution, structures, biological activities and biotechnological studies. An update (1995-2006). *Current Medicinal Chemistry*, 16: 3414–3468.
- [249] Vrijssen R., Van Hoof L. M., Vlietinck A. J., Vanden Berghe D. A., Boeye A., (1987). "The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3- methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis". *Antivir. Res.* 7(1): 35-42.
- [250] Mucsi I., Pragai B. M., (1985). "Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids". *Experientia* 41(7) :930-1.
- [251] Spedding G., Ratty A., Middleton E. J., (1989). "Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids". *Antivir. Res.* 12(2) : 99-110.
- [252] Mahmood N., Pizza C., Aquino R., De Tommasi N., Piacente S., Colman S., Burke A., Hay A. J., (1993). "Inhibition of HIV infection by flavanoids". *Antivir. Res.* 46(7): 1257-71.
- [253] Bylka W., Mathawska I. et Pilewski N. A. (2004). "Natural flavonoid as antimicrobial agents". *Journal of the American Nutraceutical Association.*, 7 (2): 24-26.
- [254] Marfek A. (2003). "Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation des depsides". Thèse de doctorat de l'université de Limoges.
- [255] Lin J. K. et Weng M. S. (2006). "The science of flavonoïds : Flavonoïds as nutraceuticals". Ed Springer. p 213.
- [256] Hollman P. C. H. 2001. "Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects". *Journal of the science of food and agriculture*, 81: 825-842.

- [257] Bietrix J. (2004). "Utilisation des nutraceutiques dans la gestion de l'arthrose du cheval". Thèse de docteur vétérinaire de l'université Claude-Bernard de Lyon. p51.
- [258] Teissedre P. L., Vizzini M. I., Di Mago D., La Neve I., Giammanco S., La Guardia M. et Ginmanco M. (2007). "Composition de vins rouges siliciens et leurs propriétés nutraceutiques". 8th international enology symposium. June 25, 26 and 27. Bordeaux
- [259] Ong K.C., Khoo H.E. (2000). "Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats". *Life Sci.* 67: 1695-1705.
- [260] Arnold Brossi, (1989). *The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology*, Academic Press,.
- [261] Hesse, M. (2002),. *Alkaloids. Nature's Curse or Blessing ?* Wiley-VHC, Zürich, 413 p., ISBN 3-906390-24-1.
- [262] Meissner, W. *J. Chem. Phys.* (1919), 25, 379.
- [263] Guareshi, I. (1896). *Einführung in das Stadium der Alkaloide mit besonderer Berücksichtigung der vegetabilischen Alkaloide und der Ptomaine*, Gaertners Verlagsbuchhandlung, Berlin,.
- [264] Pelletier, S. W. (1983). *Alkaloids, Chemical and Biological Perspectives*, Ed. S. W. Pelletier, John Wiley and Sons, New York,.
- [265] Bruneton J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4ème edition. Ed. 73 Lavoisier Tec & Doc., Paris, 1.270 pp.
- [266] Bhat, S. V. ; Nagasampagi, B. A. ; Sivakumar, M. (2005). *Chemistry of Natural Products*. Narosa, New Delhi, India., Ch. 4, 237.
- [267] Tadeusz Aniszewski, (2007). *Alkaloids - Secrets of Life, Alkaloid Chemistry, Biological significance, Applications and Ecological Role*, Elsevier,.
- [268] Lobstein A.L. (2010). Cours Master Science du Médicament : Les alcaloïdes. Faculté de Pharmacie Strasbourg.
- [269] Krief S., (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.. Thèse de doctorat "Ecologie et chimie des substances naturelles". Muséum national d'histoire naturelle. pp. 31-32.
- [270] ZIEGLER J., FACCHINI P.J., (2008) - Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* Vol (59): 735 – 769.
- [271] Vercauteren J.(2011) Cours DCEP1.Pharmacognosie Générale. Université

Montpellier I.

- [272] Facchini, P.J. **(2001)**. Alkaloid biosynthesis in plants : biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications ; Annu. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol., 52,29-66 ;
- [273] Harborne, J. B., and Herbert B. **(1995)**. *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Bristol: Taylor & Francis.
- [274] Kutchan, T. M. **(1995)**. *Plant Cell.*, 7, 1059.
- [275] Wink, M., **(1999)**. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. Sheffield, UK, and Boca Raton, FL: Sheffield Academic Press and CRC Press.
- [276] Mann, J. ; Davidson, R. S. ; Hobbs, J. B. ; Banthorpe, D. V. ; Harborne, J. B. **(1994)**. *Natural Products*. Longman., Ch. 7, 389.
- [277] Walton N.J. et Brown D.E. **(1999)**." Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products"; Ed: World Scientific; p: 1-14.
- [278] Ouattara Y J, Simporé BJ, SakandéIP, Guissou IZ, Kaboré L, Sawadogo. **(2002)**. Activité hépato protectrice de plantes de la pharmacopée africaine vis-a-vis d'une hépatopathie expérimentale provoquée chez la souris NMRI Rev Sci Tech Santé, 25.
- [279] Hartmann, T. ; Witte, L. **(1995)**. *Alkaloids : Chemical and biological perspectives*, Ed. S. W. Pelletier, vol.9, Ch. 4, 155.
- [280] Rizk, A.-F. M. **(1991)**., *Naturally Occuring Pyrrolizidine Alkaloids*, Ed. CRC Press : Boston, Ch. 1, 1.
- [281] Roeder, E. **(1999)**. *Current Organic Chemistry*, 3, 557.
- [282] Dewick, P. M. ; **(2001)**. *Medicinal Natural Products*. Wiley., Ch. 6, 291.
- [283] Dwoskin, L. P. ; Crooks, P. A. **(2002)**. *Biochem. Pharmacol.*, 63, 89.
- [284] Raj, H. ; Bakshi, G. S. ; Tiwari, R. R. ; Anand, A. ; Paintal, A. S. **(2005)**. *Respir. Physiol. Neurobiol.*, 145, 79.
- [285] Pugsley, M. K. ; Saint, D. A. ; Hayes, E. ; Berlin, K. D. ; Walker, M. J. A. **(1995)**. *Eur. J. Pharmacol.*, 294, 319.
- [286] Dipont, M. *Ginekolo Pol.* **(1971)**, 42, 5, 657.
- [287] Garg, K. W. ; Sharma, S. ; Bala, S. *Jpn .(1973)*. *J. Pharmacol.*, , 2, 195.
- [288] De Clercq, E. *Med. Res. Rev.* **(2000)**, 20, 323.
- [289] Kupeli, E. ; Kosar, M. ; Yesilada, E. ; Husnu, K. ; Baser, **(2002)**. *C. Life Sci.*, 72, 645.
- [290] Rabbani, G. H. ; Butler, T. ; Knight, J. *J. Infectious Dis.* **(1987)**, 155, 979.
- [291] Wani,M C.; Ronman,P. E.; Lindley,J. T. L.; Wall,M. E.**(1980)**.*J.Med.Chem.*, 23, 554.

- [292] Muggia, F. M. ; Dimery, I. ; Arbuck, S. G. **(1996)**. *Ann N Y Acad. Sci.*, 803, 213.
- [293] Jiang, S. ; Zeng, Q. ; Gettayacamin, M. ; Tungtaeng, A. ; Wannaying S. ; Lim, A. ; Hansukjariya, P. ; Okunji, C. O. ; Zhu, S. ; Fang, D. **(2005)**. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49, 1169.
- [294] Katoh, M. ; Matsune, R. ; Nagase, H. ; Honda, T. *Tetrahedron Lett.* **(2004)**, 45, 6221.
- [295] Guilbaud, N. ; Kraus-Berthier, L. ; Meyer-Losic, F. ; Malivet, V. ; Chacun, C. ; Jan, M. ; Tillequin, F. ; Michel, S. ; Koch, M. ; Pfeiffer, B. ; Atassi, G. ; Hickman, J. ; Pierre, A. **(2001)**. *Clinical Cancer Research.*, 7, 2573.
- [296] Guilbaud, N. ; Leonce, S. ; Tillequin, F. ; Koch, M. ; Hickman, J. ; John, A. ; Pierre, A. **(2002)**. *Anti-Cancer Drugs*, 13, 445.
- [297] Esteves-Souza, A. ; Silva, T. M. S. ; Alves, C. C. F. ; Carvalho, M. G. ; Braz-Filho, R. ; Echevarria, A. J. **(2002)**. *Braz. Chem. Soc.*, 13, 838.
- [298] Ye, M. ; Qu, G. ; Guo, H. ; Guo, D. J. **(2004)**. *Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 91, 87.
- [299] Laura M. Levy, Gabriela M. Cabrera, Jorge E. Wright, Alicia M. Seldes. **(2000)**. Indole alkaloids from a culture of the fungus *Aporpium caryae*. *Phytochem.* 54, 941-943.
- [300] Pei-Lin WU. Fu-Wen LIN. Tian-Shung WU, a Chang-Sheng KUOH. Kuo-Hsiung LEE and Shiow-Ju LEE. **(2004)**. Cytotoxic and Anti-HIV Principles from the Rhizomes of *Begonia nantoensis*. *Chem. Pharm. Bull.* 52(3) 345—349.
- [301] Jens Hagemeyer, Bernd Schneider, Neil J. Oldham, and Klaus Hahlbrock. **(2001)**. Accumulation of soluble and wall-bound indolic metabolites in *Arabidopsis thaliana* leaves infected with virulent or avirulent *Pseudomonas syringae* pathovar tomato strains. vol. 98, 753–758.
- [302] CHAMEL NASR, MICHELINE HAAG-BERRURIER, ANNELOISE LOBSTEIN-GUTH and ROBERT ANTON. **(1986)** KAEMPFEROL COUMAROYL GLUCORHAMNOSIDE FROM GINKGO *BILOBA*. *Phytochemistry*, Vol. 25. No. 3, pp. 770-771.
- [303] Jiamei Le, Wenquan Lu, Xiaojuan Xiong, Zhijun Wu and Wansheng Chen. **(2015)**. Anti-Inflammatory Constituents from *Bidens frondosa*. *J. Molecules*, 20, 18496-18510
- [304] N.Saewan ; S.Koysomboon ; K.Chantrapomma. **(2011)**. Anti-tyrosinase and anti-cancer activities of flavonoids from *Blimea balsamifera* DC. *J of Medicinal Plants Research* Vol.5(6), pp. 1018-1025.

- [305] J. Hussain, N. Bukhari, H. Hussain, N.Bano1, A. Naeem and I.R Green. (2010). Flavonoids and Terpenoids from *Phlomis cashmeriana* and their Chemotaxonomic significance. *Rec. Nat. Prod.* 4:4 , 242-249.
- [306] Skoula M, Grayer RJ, Kite GC. (2005). Surface flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja spinosa* (Lamiaceae). *Biochem Syst Ecol* 33: 541–4.
- [307] Pan SM, Ding HY, Chang WL, Lin HC. (2006). Phenols from the aerial parts of *Leonurus sibiricus*. *Chin Pharm J*; 58: 35-40.
- [308] Ahmad.R.Gohari.Soodabeh.Saeidnia ,Maryam.Malmir,Abbass.Hadjiakhoondi &Yousef Ajani. (2010). Flavones and rosmarinic acid from *Salvia limbata*. *J. Natural Product Research*. V. 24.
- [309] L.Kraut, B.Scherer, R.Mues and M. Sim-Sim. (1995). Flavonoids from some *Frullania* Species (Hepaticae). *Z. Naturforsch.* 50c, 345-352.
- [310] Romaiana Picada Pereira, Aline Augusti Boligon, André Storti Appel, Roselei Fachinetto, Carla Speroni Ceron, José Eduardo Tanus-Santos, Margareth Linde Athayde, J. Batista Teixeira Rocha. (2014) .Chemical composition, antioxidant and anticholinesterase activity of *Melissa officinalis*. *Industrial Crops and Products* 53 ,34– 45.
- [311] Tiziana Siciliano, Ammar Bader, Antonio Vassallo, Alessandra Braca, Ivano Morellia, Cosimo Pizzac, Nunziatina De Tommasic.(2005). Secondary metabolites from *Ballota undulata* (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 33,341–351.
- [312] Cheng-Ta Li Chen;Chiu-Li Kao;Chi-Ming Liu;Wei-Jen Li;Hsing-Tan Li;Hui-Ming Wu;Cheng-Tsung Huang;Chung-Yi Chen. (2015). Secondary metabolites from the leaves of *Aquilaria agallocha*. *Journal of Advances in Chemistry* 11(3), 3352-3356.
- [313] Ü. SALAN, G. TOPÇU S. ÖKSÜZ. (2001). *Flavonoids of Centaurea Kilaea* and *C.Salonitana*. *J.Fac. Pharm.Istanbul*, 34 (1).
- [314] J. Intekhab and M. aslam. (2011). Flavonoids from *Feronia Limonia*. *J. Natural Product Research*. V. 56 (70)1.
- [315] B. Voirin, M. R. Viricel, J. Favre-Bonvin, C. O. Van Den Broucke, J. Lemli. (1985). 5, 6, 4'-Trihydroxy-7, 3'-dimethoxyflavone and other Methoxylated Flavonoids Isolated from *Thymus satureioides*.*Planta Medica* 51(6):523-5.

- [316] Chris O. Van Den Broucke, Roger A. Dommissie, Eddy L. Esmans and Jozef A. Lemli. **(1982)**. Three methylated flavones from *Thymus vulgaris*. *Phytochemistry*, Vol. 21, N°. 10, PP. 2581-2583.
- [317] Saebyeol J., Keith W. and Rodney W. J. **(2008)**. "Luteolin reduces IL-6 production in microglia by inhibiting JNK phosphorylation and activation of AP-1". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105(21): 7534-7539.
- [318] Ko W.G., Kang T.H., Lee S.J, Kim Y.C. and Lee B.H. **(2002)**. "Effects of luteolin on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human myeloid leukaemia cells". *Phytother Res*. May;16(3):295-8.
- [319] Abdalla S., Abu Zarga M. and Sabri S. **(1994)**. "Effects of the flavone luteolin, isolated from *Colchicum richii*, on guinea-pig isolated smooth muscle and heart and on blood pressure and blood flow. *Phytotherapy Research*, Volume 8, Issue 5, pages 265–270, August.
- [320] Favier A. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique (2003), N°269-270, 108-115
- [321] Yepez B., Espinosa M., López S. and Bolaños G., (2002). Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction, *Fluid Phase Equilibria* 194-197, 879-884.
- [322] Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gray K., Horn E, McAnalley S. et McAnalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition* 4, 7p.
- [323] Morel Y., et Barouki R., (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochemical Journal* 342(3), 481-496.
- [324] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M. and Telser J., (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84.
- [325] Vansant G. Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone, (2004).
- [326] Cano N., Barnoud D., Schneider SM., Vasson MP., Hasselmann M., Leverve X. **(2007)**, Traité de nutrition artificielle de l'adulte 3ème édition, XVII, pp 1189.
- [327] Atawodi S. E. Antioxidant potential of African plants. *African. J. of Biotech.* Vol.4 (2); pp 128-133.

- [328] Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. **(2003)**, Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemilumin escence medhod. *AAPS Pharm Sci.* Vol. 5 (2): pp 5.
- [329] Codoner- Franch P., Pons-Morales S., Boix-Garcia L., Valls-Bellés V.**(2010)**. Oxidant/antioxidant status in obese children compared to pediatric patients with type 1 diabetes. *Pediatric Diabete*, 2010, 11 (4): pp 251-7.
- [330] Mohanty P., Hamouda W., Garg R., et al. **(2000)**. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS° generation by leucocytes. *J Clin Endocrinol Metab*; Vol. 85; pp 2970-3.
- [331] Patel C., Ghanim H., Ravishankar S., et al.**(2007)**. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-Kappa B activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J Clin Endocrinol Metab*, Vol. 92; pp 4476-9.
- [332] Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne JO. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Vol 16, Issue 4, pp 233-239.
- [333] Ribeiro M.A., Bernardo-Gil M.G. and Esquivel M.M., **(2001)**. *Melissa officinalis* L.: study of antioxidant activity in supercritical residues, *Journal of Supercritical Fluids*, 21 51-60.
- [334] Hale AL. **(2003)**. Screening Potato Genotypes for antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis, Office of Graduate Studies of Texas A&M University, Genetics 260p.
- [335] Johnson, D.R., Gu, L.C. *In* Autoxidation and Antioxidants, *John Wiley, New York*, **(1988)**, pp 433-448.
- [336] Marongiu B. , Porcedda S., Piras A., Rosa A., Deiana M. and A. Dessi, **(2004)**. Antioxidant Activity of Supercritical Extract of *Melissa officinalis* Subsp. *Inodora*, *Phytoter. Res.*, 18; 789-792.
- [337] Herodez S. S., Hadolinb M., Skergeta M. and Zeljko Knez, **(2003)**. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, *Food Chemistry*, 80, 275-282.
- [338] Pratt, D.E. **(1980)**. "Natural antioxidants of soybean and other oil seeds." Ed. M.G. Simic, and M. Karel, Plenum, Autoxidation in food and biological systems: 261-282.
- [339] Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M. et Sineiro, J. **(2001)**. "Natural antioxydants from residual sources." *Food Chemistry*, 72: 145-171.

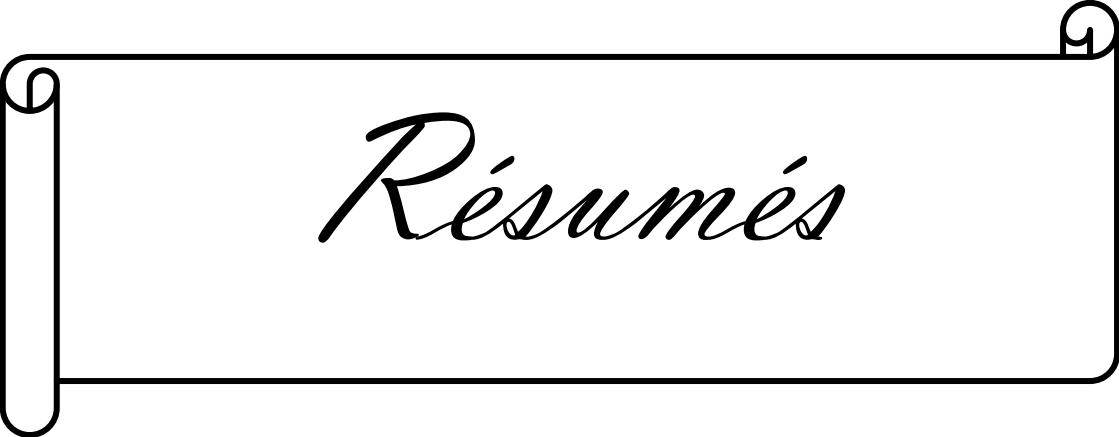
- [340] Potterat, O. (1997). Antioxidants and free radical scavengers of natural origin. *Current organic chemistry* 1, 415-417.
- [341] Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. et Salunkhe, D.K. (1995). "Toxicological aspects of food antioxidants." *Food antioxidants. Technological and Health perspectives*.
- [342] Ghedira K, (2005). Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- [343] Li, Y.; Fbiano-Tixier, A.S.; Chemat, F. (2014). *Essential Oils as Reagents in Green Chemistry. Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability*, New York, P.78.
- [344] Magalhaes, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J. (2008), Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties, *Analytica Chimica Acta*, Vol.613; pp 01–19.
- [345] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Sci Technol*, 1995, 28 (1), pp 25-30.
- [346] Milardovic, S., Ivekovic, D., Grabaric, B.S. A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical, (2006). *Bioelectrochemistry*, Vol.68; pp 175-265.
- [347] Foti, M.C., Daquino, C., Geraci, C. Electron- Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH Radical assay, (2004), *Journal Org Chem*, Vol.69; pp 2309-2461.
- [348] Huang, D.J., Ou, B.X., Prior, R.L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, (2005), *Journal Agric Food Chem*, Vol 53 (6), pp 1841-1856.
- [349] Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., De Groot, A., Evstatieva, L.N. (2001). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochem Anal*, Vol.13; pp 08-17.
- [350] Laguerre, M., López-Giraldo, L.J., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante, *Fondamental, OCL*, Vol.14 (5) ; pp 278-292.
- [351] Prasad MM, Seenayya G. (2000). Effect of spices on the growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt, *Food Research International* 33: 793-798.
- [352] Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, thèse de doctorat, Strasbourg.

- [353] Zhang H, Kong B, Xiong YL, Sun X. **(2009)**. Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C, *Meat Science* 81: 686-692.
- [354] Gangoué J. **(2007)**. Caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales, thèse de doctorat, Liège.
- [355] Garnier Delamare **(1992)**. Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris.
- [356] Berche P, Gaillard J-L, Simonet M, **(1989)**. Bactériologie: bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion.
- [357] Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M., **(1995)**. Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- [358] Namiki M. **(1990)**. Antioxidants antimutagens in food. *Crit. Rev. Food Sci.* 29: 273-300.
- [359] Mitscher LA., Lev RP., Bathala MS., Wu WN., Beal J.L., **(1972)**. Antibacterial agents from higher plants, Introduction rationale and methodology. *Journal of Natural Products* 35, 157-165.
- [360] Matasyoh J.C., Maiyo Z.C., Ngure R.M., Chepkorir R. **(2009)**. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. *Food Chemistry* 113, 526-529
- [361] Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S., **(2009)**. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties an Overview: *Forsch Komplementmed.* 16: 79-90.
- [362] Huang Guangrong., Jiang Jiabin., and Dai Dehui. **(2008)**. Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnol.* 7 (9): 1335-1338.
- [363] Burt, S. **(2004)**. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal Food Microbiology*; 94; 223-253.
- [364] Walsh SE, Maillard JY, Russell AD, Catrenich CE, Charbonneau DL, Bartolo RG. **(2003)**. Antibacterial activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram positive and negative bacteria. *J. Appl. Microbiol*; 94: 240-247.
- [365] Juven B.J., Schved F., Weisslowicz H., **(1994)**. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl.*

- Bacteriol. 76: 626-631.
- [366] Wang H., Zhao M., Yang B., Jiang Y., Rao G. (2008), Identification of polyphenols I tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities. *Food Chemistry*; Vol.107; pp1399-1406.
- [367] Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igit, R. (2008), Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*, Vol. 111; pp 925–929.
- [368] Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF. (1997). Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chem.* 60:73–77.
- [369] Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH), for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26 (2): 211–219.
- [370] Laguerre, M., López-Giraldo, L.J., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P.(2007). Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante, *Fondamental, OCL*, Vol.14 (5) ; pp 278-292.
- [371] Pratt DE. (1980). Natural antioxidants of soybean and other oil-seeds in M G Simic & M Karel (Eds). *Antioxidant in food and biological system*. Plenum Press. New Yourk.
- [372] Mallet JF, Cerati C, Ucciani E, Gamisana J, Gruber M. (1994). Antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivares. *Food Chem.* 49:61–65.
- [373] Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., Akev, A. (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts, *Food Chemistry*, Vol. 110; pp571–583.
- [374] Jacob pellecuer, Tomei J, (1979). Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique, *Rivista italiana*. Vol 11, p 125-134.
- [375] Bansod, S., and Rai, M. (2008). Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *World J. Med. Sci.*, 3 (2): 81-88.
- [376] Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*. 39:756-761.
- [377] Bekhechi, C., F. Atik-Bekkara et D. E. Abdelouahid. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie.

Phytothérapie 6 : 153-159.

- [378] Ramzi A.A.M., Salah A.A.A., Sidgi H., Faisal M.N.A., Sama A.Z.A. and Ulrike L. (2010). Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities and phytochemical Screening. Some Yemeni Medicinal Plants. Evidence Complementary and Alternative Medecine, 7(3): 323–330.
- [379] Monika, M., Michal, S., Malgorzt, P., Hanna, C.,(2011). Evaluation of antioxidant potential of flavonoids an *in vitro* study. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 68: 611-615.
- [380] Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. (1998). HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using DPPH. *Biosci Biotechnol Biochem*. 62:1201–1204.
- [381] Pekkarinen SS, Stockmann H, Schwarz K, Heinonen M, Hopia AI. (1999). Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. *J Agric Food Chem*. 47:3036–3043.
- [382] Koleva II, Van Beek TA, Linssen JPH, De Groot A, Evstatieva LN. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal*. 13:8–17.
- [383] Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem*. 85:633–640.
- [384] Kubola, J., Siriamornpun, S. (2008), Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf stem and fruit fraction extracts *in vitro*, *Food Chemistry*, Vol. 110; pp 881-890.
- [385] Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turk M. (1996). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *Am J Clin Pathol*. 44:493–496.



*Résumés*

## Résumé

Ces dernières décennies, les plantes médicinales et leur utilisation en thérapie ont vu leur essor se développer de façon notable et ce pour différentes raisons : économiques, sociales et culturelles. Cependant l'automédication par ces plantes ne reste pas sans risque. Soumettre ces plantes à une étude scientifique rigoureuse est donc primordial pour vérifier leur réputation médicinale et leur innocuité.

La recherche de nouveaux produits naturels avec des propriétés thérapeutiques intéressantes reste, en général, comme l'un des objectifs principaux pour les chercheurs. Dans ce contexte, nous avons entamé l'étude phytochimique et biologique des parties aériennes de l'espèce *Saccocalyx satureioides*, c'est une plante sauvage abondante dans notre région steppique qui appartient à la famille des lamiacées, qui a fait l'objet de peu d'études phytochimiques et pharmacologiques et s'inscrit dans le cadre de la découverte des composés bioactifs nouveaux susceptibles de posséder des activités biologiques intéressantes.

A cet effet, les analyses chromatographiques nous ont poussé à sélectionner l'extrait d'acétate d'éthyle de l'espèce *Saccocalyx satureioides* à cause de sa richesse en produits. Cet extrait a été étudié chimiquement en utilisant les méthodes chromatographiques (VLC, CC, CCM) pour conduire à l'isolement de neuf (09) substances naturelles à l'état pur. Celles-ci ont fait l'objet de diverses analyses spectroscopiques RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) , 2D (HSQC, HMBC) et spectrométrie de masse (ESI-MS). Ceci a permis la caractérisation d'une nouvelle structure avec huit (08) autres déjà connues et appartenant principalement à trois classes de métabolites secondaires : les alcaloïdes, les flavonoïdes et les terpènes dont la plupart sont réputés pour leurs vertus thérapeutiques et activités biologiques intéressantes. Tous ces composés ont été isolés pour la première fois de cette espèce.

Le premier composé nouveau, un dérivé indole, est isolé à partir de l'extrait AcOEt de l'espèce *Saccocalyx satureioides* avec huit autres composés connus se partissant en deux alcaloïdes de type indole, cinq flavonoïdes aglycones et un monoterpène glycosylé.

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits obtenus à partir des parties aériennes de la plante étudiée via les tests DPPH et blanchiment de  $\beta$ -carotène ont montré que les deux extraits AcOEt et  $\text{CHCl}_3$  ont une grande activité.

La détermination de l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé a été faite sur les extraits bruts de l'espèce étudiée selon la disponibilité de huit (08) souches bactériennes. Les résultats nous ont montré que les extraits n-BuOH et AcOEt révèlent une meilleure activité antibactérienne.

Les tests biologiques effectués dans ce travail ont montré que la plante étudiée a un potentiel antioxydant et antibactérien très important et pourrait être exploitée comme une source d'agents antibactériens et antioxydants naturels et leurs études peuvent être approfondies en vue d'applications thérapeutiques.

**Mots clés :** Lamiaceae, *Saccocalyx satureioides*, Flavonoïdes, Alcaloïdes, Terpènes, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, RMN 1D et 2D.

## Abstract

In recent decades, the use of medicinal plants in therapy has significantly increased for many reasons including economic, social and cultural ones. However, self-medication by these plants is not without risk. Submitting these plants to a rigorous scientific study is therefore essential to check their reputation and safety.

The search for new natural products with interesting therapeutic properties remains, in general, as one of the main objectives for researchers. In this context we have begun to study phytochemical and biological of the aerial parts of the species *Saccocalyx satureioides*, it is an abundant wild plant in our steppe region which belongs to the Lamiaceae family, which has been little studied phytochemically and pharmacologically and register within the framework of the discovery of new bioactive compounds which could possess interesting biological activities.

For this purpose, the chromatographic analysis pushed us to select EtOAc extract because of its richness in products.

The EtOAc extract of the species *Saccocalyx satureioides* was chemically studied by using chromatographic methods (VLC, CC, TLC) to lead to the isolation of (09) natural substances. The isolated compounds were submitted to diverse spectroscopic analysis including 1D NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) and 2D NMR (HSQC, HMBC) and mass spectrometry (ESI-MS). This study allowed the characterization of a new structure along with (08) known compounds belonging mainly to three classes of secondary metabolites: alkaloids, flavonoids and terpenes from which several products are famous for their therapeutic virtues and their interesting biological activities. All these compounds were described for the first time for this species.

The new compound an indole derivative, is isolated from the EtOAc extract of species *Saccocalyx satureioides* with eight (08) other known compounds departing into three alkaloids indole type, five flavonoids aglycones and a glycosylated monoterpene.

The evaluation of the antioxidant activity of the various extracts obtained from the aerial parts of the plant studied via DPPH and  $\beta$ -carotene bleaching tests showed that the two extracts EtOAc and  $\text{CHCl}_3$  have a high activity.

The determination of antibacterial activity using the disk diffusion method was made on the crude extracts of the species *Saccocalyx satureioides* according to the availability of eight bacterial strains. The results showed us that the n-BuOH and EtOAc extracts reveal better antibacterial activities.

The biological tests carried out in this work showed that the studied plant has a very important antioxidant and antibacterial potential and could be exploited as a source of natural antibacterial and antioxidant agents and their studies can be deepened for therapeutic applications.

**Keywords:** Lamiaceae, *Saccocalyx satureioides*, Alkaloids, Terpene, Flavonoids, Antioxidant activity, Antibacterial activity, 1D and 2D NMR.

# ملخص

خلال العقود الأخيرة، شهدت النباتات الطبية و استخدامها في التداوي ارتفاعا ملحوظا و ذلك لعدة أسباب : اقتصادية منها و كذا اجتماعية و ثقافية. و مع ذلك، التطبيب الذاتي بهاته النباتات لا يخلو من مخاطر. لذلك، وجب وضع هاته النباتات تحت دراسة علمية صارمة للتحقق من فعاليتها الطبية و سلامتها .

البحث عن المركبات الطبيعية الجديدة ذات الخصائص العلاجية لا تزال بشكل عام واحد من الأهداف الرئيسية للباحثين، لهذا الغرض قمنا بالدراسة الفيتوكيميائية و البيولوجية لنبته زعر الرمال، نبته مستوطنة بمنطقة السهية، تنتمي الى عائلة الشفويات و يدخل العمل في اطار اكتشاف مركبات طبيعية جديدة ذات نشاط بيولوجي فعال .

لهذا الغرض، دفعنا التحليلات الكروماتوغرافية الى اختيار مستخلص اسيتات الأثيل بسبب ثرائها بالمركبات الطبيعية .

تمت دراسة مستخلص اسيتات الأثيل من الناحية الكيميائية و ذلك بالإستعمال الطرق الكروماتوغرافية ( CCM , CC , VLC ) لعزل (09) مركبات طبيعية في حالة نقية. ثم خضع هذه المركبات للتحاليل المطيافية : مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ذات بعد واحد و ذات بعدين و مطيافية الكتلة ESI-MS. سمحت هذه التحاليل من تحديد بنية كيميائية جديدة مع ( 08 ) مركبات طبيعية معروفة و التي تنتمي أساسا الى ثلاثة مجموعات من نواتج الأيض الثانوي : القلويدات ، الفلافونيدات و التربين ، أين الأغلبية منها معروفة بخصائصها العلاجية و نشاطاتها البيولوجية المتميزة .

كل هذه المركبات معزولة لأول مرة من هذا الصنف . تم عزل المركب الجديد و هو مشتق الأندول من مستخلص AcOEt للصف *Saccocalyx satureioides* مع ثمانية مركبات معروفة أخرى ينقسمون الى ( 02 ) قلويديين من نوع أندول، خمسة (05) فلافونويدات أغليكونات و أحادي تربين جليكوزيلي .

تبين تقييم نشاط مضادات الأكسدة من مستخلصات النبته المدروسة من خلال اختبارات DPPH و تبييض  $\beta$ -carotène أن المستخلص AcOEt و  $CHCl_3$  لهما نشاط عالي.

تم اجراء تحديد النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة نشر القرص على مستخلصات النبته المدروسة باستخدام ثمانية أنواع من البكتيريا . أظهرت النتائج أن المستخلصين n-BuOH و AcOEt لديهما نشاط ملحوظا ضد البكتيريا .

أظهرت الاختبارات البيولوجية التي أجريت في هذا العمل أن النبته المدروسة لها قدرة مضادة للأكسدة و مضادة للبكتيريا و يمكن الاستفادة منها كمصدر لعوامل مضادة للجراثيم و مضادة للأكسدة و يمكن تعميق دراساتها للتطبيقات العلاجية .

**الكلمات المفتاحية :** *Saccocalyx satureioides*, Lamiaceae , فلافونويد , قلويدات , تربان , نشاط مضادات الأكسدة , النشاط المضاد للبكتيريا , مطيافية الرنين النووي المغناطيسي .

