

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE 1  
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES  
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre :  
Série :

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat de troisième cycle  
(LMD)

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Option : Analyses physicochimiques, contrôle de la qualité et synthèse de  
substances bioactives

Par

**BENSAID Sara Ouissem Ep MAZOUZI**

**Étude phytochimique et biologique des plantes  
médicinales algériennes *Retama sphaerocarpa* L.,  
*Lepidium draba* L. et *Cedrus atlantica***

**Sous la direction du professeur:**

M<sup>me</sup> BICHA Sabrina

**Devant le jury :**

Pr. MEKKIOU Ratiba	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Présidente
Pr. LEGSEIR Belgacem	Université Badji Mokhtar, Annaba	Examinateur
Pr. SEGHIRI Ramdane	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Examinateur
Pr. BOUMAZA Ouahiba	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Examinatrice
MCA. BAALI Nacera	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Examinatrice

**02 Juin 2021**

# Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout-puissant, pour m'avoir donné la force et la patience de mener à bien ce modeste travail.

Mes vifs remerciements vont au Professeur **SEGHIRI Ramdane** pour m'avoir accueilli au sein de l'Unité de Recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyse Physicochimiques et Biologiques (VARENBIOMOL) de la faculté des sciences exactes, université des Frères Mentouri Constantine 1, pour sa disponibilité, ses conseils, son soutien et sa gentillesse en acceptant d'être partie du jury de ma thèse.

Ma spéciale gratitude et mes grands remerciements sont adressés à ma directrice de thèse, Madame **BICHA Sabrina**, Professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine 1, pour avoir encadré et dirigé ce travail de thèse avec une grande rigueur scientifique. Je la remercie également pour sa disponibilité, sa patience, sa gentillesse, sa générosité, ses conseils précieux, ses critiques constructives, ses encouragements, son soutien moral et pour toute l'attention qu'elle m'a portée. Recevez ici mon profond attachement et ma sincère reconnaissance & Merci pour tout...

Je remercie vivement le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Algérien qui m'a fait bénéficier d'une bourse de type PNE. Grâce à cette opportunité, j'ai eu la chance d'effectuer une grande partie de ce travail de recherche dans le laboratoire de chimie à « Instituto di chimica Biomolecolari » au CNR (Napolie-Italie), sous la direction de Madame **Dr. Maria Letizia CIAVATTA**.

J'exprime toute ma reconnaissance et ma gratitude au Professeur **Margherita GAVAGNIN** pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire durant mes séjours de stage, pour m'avoir fait confiance et m'avoir permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Je remercie sincèrement le Docteur **Maria Letizia CIAVATTA**, pour m'avoir constamment guidée et aidée surtout dans la partie phytochimique, pour les discussions enrichissantes et fructueuses entretenues durant ma présence dans son laboratoire, pour sa gentillesse et ses qualités humaines.

Je n'oublie pas de remercier le Docteur **Marianna CARBONE** pour ses conseils et son soutien en m'offrant tous les moyens et les équipements nécessaires pour la réalisation de ce travail.

J'exprime mes vifs remerciements au Professeur **Ratiba MEKKIOU** de l'Université des frères Mentouri, Constantine 1, pour le grand honneur qu'elle me fait, en acceptant de présider le jury désigné pour ma thèse.

Je tiens également à remercier Madame **Nacera BAALI**, Maître de conférences à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université des Frères Mentouri, Constantine 1, pour la réalisation des essais biologiques des huiles essentielles et pour sa gentillesse en acceptant d'être partie du jury de ma thèse.

Mes remerciements vont également à Madame **BOUMAZA Ouahiba**, Professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine 1 et à Monsieur **LEGSEIR Belgacem**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui m'honorent en acceptant de faire partie du jury de ma thèse.

Mes vifs remerciements vont également à Madame **BENAYACHE Fadila** professeur à l'université des frères Mentouri, Constantine 1, pour sa gentillesse et pour toute l'aide qu'elle m'a accordée en réalisant une partie des spectres RMN.

Je tiens particulièrement à remercier Monsieur **BENSOUICI Chaouki**, Docteur au Centre de Recherche en Biotechnologie CRBT (Constantine), pour l'analyse des huiles essentielles extraites de la plante *Cedrus atlantica*, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et pour sa contribution efficace dans la recherche des activités biologiques.

Je remercie sincèrement Monsieur le Professeur **REBBAS khellaf** de l'université de M'sila pour la récolte et l'identification du matériel végétal et je n'oublie pas de remercier le Professeur **BENTHAMEN Ali** et le Docteur **FADEL Hamza** de l'Université des frères Mentouri Constantine 1, pour leur aide précieuse.

Je remercie également le Professeur **BENMEKHBI Lotfi**, pour sa gentillesse et son aide en réalisant une partie des spectres RMN et l'analyse HPLC-TOF-MS.

Je tiens à remercier également tous les membres de notre unité de recherche VARENBIOMOL et particulièrement Monsieur **Hicham HAZMOUNE** et Madame **TEBBOUB Naouel** pour leur disponibilité, leur gentillesse et leur aide précieuse.

Je remercie infiniment: **Hanane, Selma, Fatine, Sara, Maroua** et **Maria** pour l'amitié que vous m'avez témoignées tout au long de la période passée ensemble en Italie.

Mes remerciements les plus forts reviennent également à ma famille et mon mari qui m'ont soutenu et qui ont toujours été présents.

Enfin, j'adresse mes remerciements pour toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



# Dédicaces

*Je dédie ce travail aux personnes les plus chères à mon cœur:*

- ♥ *À la mémoire de ma chère maman, Mme DJEKRIF Fouzia qui nous a quitté trop tôt,  
j'avais tellement besoin que tu sois là, dans ma vie et en particulier dans ce jour  
Tu es toujours présente dans mon âme et mon cœur*
- ♥ *À mon cher papa, Mr BENS Aid Abdelhamid, qui était toujours présent par son  
soutien, son amour et ses conseils  
Merci pour tout et que Dieu te garde pour nous*
- ♥ *À ma deuxième chère maman, Mme BOULAARES Zohra, qui m'a soutenu dans ma vie  
et en particulier pendant ces années de recherche  
Je te souhaite une longue et heureuse vie*
- ♥ *À mon cher mari, MAZOUZI Salim, qui m'a encouragé durant toute la période de  
recherche, sans ses sacrifices je n'en serais pas là aujourd'hui*
  - ♥ *À mon cher fils Mohamed Iyad*
  - ♥ *À mon cher frère Anis*
  - ♥ *À mes chères sœurs Nour El Houda, Khalida, Moufida et Dounia*
- ♥ *À toute la famille BENS Aid, la famille DJEKRIF et la famille BOULAARES*
  - ♥ *À ma belle-famille*
  - ♥ *À toutes mes amies et mes collègues*
  - ♥ *Et à tous ceux qui me connaissent*

**Ouissem**

## Abréviations

### Détermination structurale

**DEPT:** Augmentation sans déformation par transfert de polarisation (*Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer*)

**Rha:** rhamnose

**Sin:** sinapoyl

**Suc:** sucrosecoside

[  $\alpha$  ]<sub>D</sub>: Pouvoir rotatoire spécifique

### Activités biologiques

**A<sub>0,5</sub>:** la concentration indiquant 0,5 d'absorbance

**ABTS :** 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

**BHA :** ButylHydroxyAnisole

**BHT :** ButylHydroxyToluene

**CI<sub>50</sub> :** Concentration inhibitrice à 50%

**CMI:** la concentration minimale inhibitrice

**CUPRAC:** Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity

**DPPH :** 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyle

**EDTA:** Éthylènediaminetétraacétique

**EQ :** équivalent quercétine

**EAG :** équivalent acide gallique

**FRAP:** Ferric reducing antioxidant power

## *Table des matières*

Introduction générale.....	1
Références bibliographiques .....	3

### **Chapitre I : Aperçu bibliographique**

I.1. Famille des Fabacées .....	5
I.1.1. Caractéristiques botaniques des Fabacées .....	5
I.1.2. Répartition géographique des Fabacées .....	6
I.1.3. Classification des Fabacées .....	6
I.1.4. Le genre <i>Retama</i> .....	7
I.1.4.1. Généralités sur le genre <i>Retama</i> .....	7
I.1.4.2. Description botanique du genre <i>Retama</i> .....	8
I.1.4.3. Utilisations des espèces du genre <i>Retama</i> en médecine traditionnelle .....	8
I.1.4.4. Activités biologiques reconnues .....	9
I.1.4.5. Études phytochimiques antérieures .....	12
I.2. Famille des Brassicacées.....	25
I.2.1. Caractéristiques botaniques des Brassicacées.....	25
I.2.2. Répartition géographique des Brassicacées .....	26
I.2.3. Classification des Brassicacées .....	26
I.2.4. Le genre <i>Lepidium</i> .....	26
I.2.4.1. Généralités sur le genre <i>Lepidium</i> .....	26
I.2.4.2 Description botanique du genre <i>Lepidium</i> .....	27
I.2.4.3 Utilisations traditionnelles des espèces du genre <i>Lepidium</i> .....	27
I.2.4.4. Activités biologiques reconnues .....	28
I.2.4.5. Études phytochimiques antérieures.....	28
I.3. Famille des Pinacées .....	54
I.3.1. Caractéristiques botaniques des Pinacées .....	55
I.3.2. Répartition géographique des Pinacées.....	55
I.3.4. Classification des Pinacées .....	55
I.3.5. Le genre <i>Cedrus</i> .....	55
I.3.5.1. Généralités sur le genre <i>Cedrus</i> .....	55
I.3.5.2 Description botanique du genre <i>Cedrus</i> .....	56
I.3.5.3 Utilisations traditionnelles des espèces du genre <i>Cedrus</i> .....	56

I.3.5.3 Activités biologiques reconnues .....	57
I.3.5.4. Travaux antérieurs sur les huiles essentielles du <i>Cedrus</i> .....	57
Conclusion .....	60
Références bibliographiques .....	61

## **Chapitre II : Travaux personnels**

### **Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique de l'espèce**

#### ***R. sphaerocarpa* (L.) Boiss**

II.1. Étude phytochimique de l'espèce <i>R.sphaerocarpa</i> (L.) Boiss .....	78
II.1.1 Choix du matériel végétal .....	78
II.1.2 Classification dans la systématique botanique .....	78
II.1.3 Nom vernaculaire .....	79
II.1.4 Synonyme .....	79
II.1.5 Description botanique.....	79
II.1.6. Récolte du matériel végétal .....	80
II.1.7. Protocole expérimental d'extraction .....	80
II.1.8. Étude des extraits.....	81
II.1.8.1. Fractionnement de l'extrait chloroforme.....	81
II.1.8.2. Séparation et purification des fractions issues de l'extrait chloroforme .....	84
II.1.8.3. Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle .....	90
II.1.8.4. Séparation et purification des fractions issues de l'extrait acétate d'éthyle .....	92
II.2. Analyses quantitatives des extraits de <i>Retama sphaerocarpa</i> (L.) Bois .....	100
II.2. 1. Dosage des polyphénols totaux .....	100
II.2. 2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	100
II.3. Évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce <i>R. sphaerocarpa</i> .....	101
II.3.1. Matériel végétal .....	101
II.3.2. Matériel et méthode .....	101
II.3.2.1. Test de l'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH.....	102
II.3.2.2. Test de l'activité antiradicalaire à l'ABTS .....	103
II.3.2.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) .....	104
II.3.3. Analyses statistiques.....	104

## Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique de l'espèce

### *Lepidium draba* (L.)

II.4. Étude phytochimique de l'espèce <i>Lepidium draba</i> (L.).....	105
II.4.1. Choix du matériel végétal .....	105
II.4.2. Classification dans la systématique botanique .....	105
II.4.3. Nom vernaculaire .....	105
II.4.4. Synonymes .....	105
II.4.5. Description botanique.....	106
II.4.6. Récolte du matériel végétal .....	106
II.4.7. Protocole expérimental d'extraction .....	107
II.4.8. Analyse qualitative et quantitative de l'extrait acétate d'éthyle .....	107
II.4.8.1. Préparation des échantillons Pour l'analyse HPLC-TOF/MS.....	107
II.4.8.2. Conditions opératoires .....	107
II.5. Évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce <i>Lepidium draba</i> (L.).....	108
II.5.1. Matériel végétal .....	108
II.5.2. Matériel et méthode .....	108
II.5.2.1. Test de chélation de fer .....	108
II.5.2.2. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) .....	109
II.5.3. Analyses statistiques.....	109

## Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique de l'espèce

### *Cedrus atlantica*

II.6. Étude phytochimique de l'espèce <i>Cedrus. atlantica</i> .....	110
II.6.1. Choix du matériel végétal.....	110
II.6.2. Classification dans la systématique botanique .....	110
II.6.3. Nom vernaculaire .....	110
II.6.4. Description botanique.....	110
II.6.5. Récolte du matériel végétal .....	111
II.6.6. Extraction des huiles essentielles .....	111
II.6.7. Analyse GC-GC/MS des huiles essentielles.....	111
II.7.Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'espèce <i>C. atlantica</i> .....	112
II.7.1. Matériel Végétal .....	112

II.7.2. Matériel et méthode .....	112
II.7.2.1. Piégeage du radical DPPH.....	112
II.7.2.2. Piégeage du radical hydroxyle.....	113
II.7.3. Analyses statistiques.....	113
Conclusion .....	113
Références bibliographiques .....	114

## **Chapitre III : Résultats et discussions**

### **Résultats de l'étude phytochimique de l'espèce *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss**

III.1. Résultats de l'étude phytochimique .....	121
III.1.1. Éluclation structurale des produits isolés de l'extrait chloroforme .....	121
III.1.1.1. Éluclation structurale du composé Rs1 .....	121
III.1.1.2. Éluclation structurale du composé Rs2 (Rsc5-5-4).....	128
III.1.1.3. Éluclation structurale du composé Rs3 (Rsc 5-5-5).....	136
III.1.1.4. Éluclation structurale du composé Rs4 .....	142
III.1.5. Éluclation structurale du composé Rs5 .....	149
III.1.2. Éluclation structurale des produits isolés de l'extrait acétate d'éthyle .....	155
III.1.2.1. Éluclation structurale du composé Rs 6 (Rsa 8-1) .....	155
III.1.2.2. Éluclation structurale du composé Rs 7 .....	160
III.1.2.3. Éluclation structurale du composé Rs 8 (Rsa11-6-4-5) .....	165
III.1.2.4. Éluclation structurale du composé Rs 9 .....	171
III.1.2.5. Éluclation structurale du composé Rs 10 .....	177
III.1.2.6. Éluclation structurale du composé Rs 11 .....	184
III.1.2.7. Éluclation structurale du composé Rs 12 (Rsa 17-2) .....	189
III.1.2.8. Éluclation structurale du composé Rs 13 .....	196
III.1.2.9. Éluclation structurale du composé Rs 14 .....	205
III.1.2.10. Éluclation structurale du composé Rs 15 (Rsa31-3) .....	217
III.1.2.11. Éluclation structurale du composé Rs 16 .....	225
III.2. Analyses quantitatives des extraits de <i>R.sphaerocarpa</i> .....	234
III.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	234
III.2.2. Dosages des flavonoïdes totaux .....	234
III.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>R.sphaerocarpa</i> ....	236
III.3.1. Test de l'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH .....	236

III.3.2. Test de l'activité antiradicalaire à l'ABTS .....	237
III.3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	237
III.4. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des composés isolés à partir de <i>R.sphaerocarpa</i> .....	239
III.4.1. Test de l'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH .....	239
III.4.2. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	240
Conclusion .....	242

### **Résultats de l'étude phytochimique et de l'activité biologique de l'espèce**

#### ***L. draba* (L.)**

III.5. Résultat de l'analyse par HPLC-TOF/MS .....	242
III.6. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>L.draba</i> .....	246
III.6.1. Test de l'activité antiradicalaire par DPPH.....	246
III.6.2. Test de l'activité antiradicalaire à l'ABTS .....	246
III.6.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	247
III.6.4. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) .....	247
III.6.5. Test de chélation du fer .....	247
Conclusion.....	248

### **Résultats de l'étude phytochimique et de l'activité biologique de l'espèce**

#### ***C. atlantica***

III.7. Résultats de l'étude phytochimique .....	249
III.8. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'espèce <i>C. atlantica</i> .....	254
III.8.1. Piégeage du radical DPPH .....	254
III.8.2. Piégeage du radical hydroxyle .....	255
Conclusion.....	255
Références bibliographique.....	257
Conclusion générale .....	268

- 
- **Introduction  
générale**



## Introduction générale

La phytothérapie est une branche de la médecine qui repose essentiellement sur l'emploi thérapeutique de plantes dites "médicinales". Elles font partie de l'histoire de tous les continents et à travers les siècles. Le savoir concernant les plantes médicinales s'est organisé, documenté et a été transmis de génération en génération.

En Afrique, des millions de personnes utilisent avant tout et parfois exclusivement la médecine traditionnelle, parce qu'elle demeure la moins coûteuse et qu'elle semble efficace. Plusieurs études ethnobotaniques ont été réalisées afin de révéler l'importance de la phytothérapie en Afrique et dans le monde. On estime que presque 80% des populations étudiées en Afrique y recourt pour ses premiers soins de santé [1].

Aujourd'hui, La médecine moderne reconnaît la valeur et l'efficacité des traitements par les plantes pour traiter les déséquilibres entraînés par la vie moderne. Il est donc très important qu'elle collabore avec la médecine traditionnelle afin de permettre la validation et l'amélioration des remèdes traditionnels et de pouvoir se compléter.

Un grand nombre d'étude révèle que les plantes médicinales possèdent des propriétés biologiques très intéressantes et trouvent des applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et dans l'agriculture, mais il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action pharmacologique. D'autres études ont réussi de définir les métabolites secondaires responsables des activités biologiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les quinine, les stéroïdes et les terpenoïdes et qui ont intégré dans une application commerciale dans diverses domaines pharmaceutiques et biomédicaux et font partie des drogues, colorants, arômes, parfums et des insecticides [2].

Cependant l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques et l'investigation phytochimique des plantes médicinales restent très intéressantes pour la recherche de nouveaux composés bioactifs.

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et une flore paléotropicale. L'identification de cette flore a été décrite par plusieurs botanistes à titre d'exemple celle de Quezel et Santa [3-4] et Ozenda [5-7]. La flore d'Algérie compte 4125 plantes vasculaire inventoriées, réparties en 123 familles botaniques [8]. La richesse de la flore algérienne est donc variée et incontestable.

## Introduction générale

Le présent travail, rentrant dans le cadre du programme de recherche de notre unité VARENBIOMOL est destiné à la valorisation de la flore locale, par la recherche de nouveaux métabolites secondaires dotés d'activités biologiques. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'investigation phytochimique et l'évaluation de l'activité biologique de trois espèces algériennes. La sélection de ces trois espèces s'est basée essentiellement sur la grande utilisation en médecine traditionnelle des plantes appartenant aux familles Fabaceae, Brassicaceae et Pinaceae.

En l'occurrence, trois espèces m'ont été confiées en vue d'une investigation phytochimique et biologique, il s'agit de :

- **L'espèce *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss** appartenant à la famille des Légumineuse (Fabaceae), Les diverses investigations phytochimiques menées sur cette famille et plus particulièrement sur le genre *Retama* ont montré une richesse remarquable en métabolites secondaires comme les isoflavonoïdes et les polyphénols [9-14].
- **L'espèce *Lepidium draba* (L.)** Appartenant à la famille Brassicaceae. La recherche bibliographique exhaustive effectuée sur cette espèce a montré que jusqu'à ce jour, elle n'a fait l'objet que d'une seule étude phytochimique et biologique en Algérie [15].
- **L'espèce *Cedrus atlantica*** appartenant à la famille Pinaceae, cette plante est très riche en huiles essentielles [16-20] et très utilisée en médecine traditionnelle [21].

Notre travail sera divisé en trois chapitres:

**Le premier chapitre** renferme l'étude bibliographique des plantes étudiées et en particulier les genres *Retama*, *Lepidium* et *Cedrus* portant sur l'aspect botanique, l'utilisation en médecine traditionnelle, les activités biologiques et les différentes classes de métabolites antérieurement isolés.

**Le second chapitre** apporte tous les détails expérimentaux entrepris tout au long de ce travail de recherche. Il comprend l'étude phytochimique et biologique des trois espèces *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Lepidium draba* (L.) et *Cedrus atlantica*.

Nous présenterons les étapes d'extraction, les séparations et les purifications des métabolites secondaires.

**Le troisième chapitre** sera consacré à la discussion des résultats phytochimiques, la détermination des structures et des tests biologiques effectués sur les extraits et les composés isolés.

## Introduction générale

### Références bibliographiques

- [1] Yasser, K., Abdallah, M., Abdelmadjid, B. (2018). Étude ethnobotanique de quelques plantes médicinales dans une région hyper aride du Sud-ouest Algérien «Cas du Touat dans la wilaya d'Adrar». *Journal of Animal & Plant Sciences*, 36(2), 5844-5857.
- [2] da Silva, J. A. T. (2004). Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of biotechnology*, 3(12), 706-720.
- [3] Quézel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, *Ed CNRS*.
- [4] Quézel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, *Ed CNRS*.
- [5] Ozenda, P. (1977). Flore et végétation du Sahara. 1ère édition. *Ed. CNRS Paris*.
- [6] Ozenda, P. (1992). Flore et végétation du Sahara. 2ème édition. *Ed. CNRS Paris*.
- [7] Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. 3ème édition. *Ed. CNRS Paris*.
- [8] Kaabèche, M. (20-21 October 2013). La flore d'Algérie : ressource de développement durable ou source de biopiraterie ? In 1<sup>st</sup> International Seminar on Medicinal Plants, Health and Environment (SI-PMSE'13), University of M'sila, Faculty of Sciences, Department of Nature and life Sciences in collaboration with Arab Federation of Medicinal and Aromatic Plants.
- [9] Djeddi, S., Karioti, A., Yannakopoulou, E., Papadopoulos, K., Chatter, R., Skaltsa, H. (2013). Analgesic and antioxidant activities of Algerian *Retama raetam* (Forssk.) Webb & Berthel extracts. *Records of Natural Products*, 7(3), 169-176.
- [10] Tlili, N., Mejri, H., Lajnef, H. B., Feriani, A., Khaldi, A., Nasri, N. (2015). Unexploited *Thapsia garganica*, *Orlaya maritima*, and *Retama raetam* seeds: potential sources of unsaturated fatty acid and natural antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(8), 1175-1181.
- [11] Xu, W. H., Al-Rehaily, A. J., Yousaf, M., Ahmad, M. S., Khan, S. I., Khan, I. A. (2015). Two new flavonoids from *Retama raetam*. *Helvetica Chimica Acta*, 98(4), 561-568.
- [12] Touati, R., Santos, S. A., Rocha, S. M., Belhamel, K., Silvestre, A. J. (2017). Phenolic composition and biological prospecting of grains and stems of *Retama sphaerocarpa*. *Industrial crops and products*, 95, 244-255.
- [13] Akkal, S., Louaar, S., Benahmed, M., Laouer, H., Duddeck, H. (2010). A new isoflavone glycoside from the aerial parts of *Retama sphaerocarpa*. *Chemistry of natural compounds*, 46(5), 719-721.

## Introduction générale

- [14] Louaar, S., Akkal, S., Bousetla, A., Medjroubi, K., Djarri, L., Seguin, E. (2005). Phytochemical study of *Retama sphaerocarpa*. *Chemistry of natural compounds*, 41(1), 107-108.
- [15] Bicha, S., Benmekhebi, L., Boubekri, N., Khellaf, R., Brouard, I., Zama, D., Benayache, F. (2016). Compositional study, antibacterial and antioxidant potential of *Lepidium draba* L.(Brassicaceae). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 283-287.
- [16] Skanderi, I., Chouitah, O. (2020). Chemical Characterization and Antioxidant Activity of *Cedrus atlantica* Manetti Tar (Atlas Cedar Tar). *French-Ukrainian Journal of Chemistry*, 8(2), 244-255.
- [17] Jaouadi, I., Cherrad, S., Tiskar, M., Tabyaoui, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Chaouch, A. (2020). Wood tar essential oil from *Cedrus Atlantica* of Morocco (Middle atlas) as a green corrosion inhibitor for mild steel in 1 M hydrochloric acid solution. *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition*, 9(1), 265-283.
- [18] Benouaklil, F., Hamaidi-Chergui, F., Hamaidi, M. S., Saidi, F. (2017). Chemical composition and antimicrobial properties of Algerian *Cedrus atlantica* M. essential oils. *AgroBiologia*, 7(1), 355-362.
- [19] Boudarene, L., Rahim, L., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y. (2004). Analysis of Algerian essential oils from twigs, needles and wood of *Cedrus atlantica* G. Manetti by GC/MS. *Journal of essential oil research*, 16(6), 531-534.
- [20] Boudarene, L., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y., Scharff, C. (2004). Composition of the seed oils from Algerian *Cedrus atlantica* G. Manetti. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 61-63.
- [21] Martins, D. F., Emer, A. A., Batisti, A. P., Donatello, N., Carlesso, M. G., Mazzardo-Martins, L., dos Santos, A. R. S. (2015). Inhalation of *Cedrus atlantica* essential oil alleviates pain behavior through activation of descending pain modulation pathways in a mouse model of postoperative pain. *Journal of ethnopharmacology*, 175, 30-38.

# Chapitre I

- **Aperçu  
bibliographique**

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

Dans le but de valoriser les plantes algériennes utilisées en médecine traditionnelle, notre travail a été réalisé sur trois espèces: *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Lepidium draba* (L.) et *Cedrus atlantica*.

Ce chapitre renferme une étude bibliographique des trois familles des espèces étudiées : Fabaceae, Brassicaceae et Pinaceae et leurs genres *Retama*, *Lepidium* et *Cedrus* respectivement.

### I.1. Famille des Fabacées

Les fabacées constituent une des plus grandes familles des plantes à fleurs, avec plus de 730 genres et 19 400 espèces, réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical [1]. Leur métabolisme, dépendant de l'azote, est considérée comme une adaptation aux variations climatiques et imprévisibles de l'habitat. En effet, la fixation de l'azote via la symbiose légumineuses-rhizobium permet aux plantes de cette famille d'obtenir des taux élevés en azote ammoniacal au niveau de leurs racines en fonction de la demande de leur métabolisme.

Cette famille est composée de variétés horticoles et beaucoup d'espèces sont récoltées dans un but alimentaire, tant pour l'alimentation humaine (haricot, pois, fève, soja) qu'animale (trèfle, luzerne, sainfoin), pour leur huile (arachide, soja), leurs fibres, comme combustible, pour leur bois, leur utilisation en médecine (spartéine extraite du genêt à balais, réglisse) ou en chimie [1].

#### I.1.1. Caractéristiques botaniques des Fabacées

Cette famille, l'une des plus importantes du règne végétal est caractérisée par un ovaire formé d'un seul carpelle qui se transforme en un fruit d'un type particulier, appelé autrefois légume et que l'on désigne plutôt actuellement sous le nom de gousse. C'est un fruit sec, déhiscent par deux fentes longitudinales dont l'une suit le bord ventral (le long duquel sont insérées les graines) et l'autre la nervure dorsale. En général, la gousse est allongée, longuement saillante hors du calice qui persiste à sa base, un peu aplatie dans le plan dorso-ventral et présente l'aspect bien connu du Haricot. Sa forme peut toutefois s'écarter notablement de la précédente: chez de nombreux genres la gousse est ovoïde, parfois plus courte que le calice et peut ne contenir qu'une seule graine; d'autres fois elle se déforme considérablement au cours de la maturation et chez la Luzerne par exemple elle s'enroule en tire-bouchon; souvent aussi des cloisons la recoupent transversalement en articles monospermes qui peuvent se séparer à maturité comme chez *Hippocrepis*. Les graines sont toujours dépourvues d'albumen.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

Les caractères floraux permettent de distinguer trois sous-familles assez différentes entre elles, mais dont chacune est relativement homogène. Chez les Papilionacées, la corolle est plus nettement irrégulière encore; les deux pétales inférieurs sont soudés en une pièce unique dite carène qui enveloppe les étamines et le pistil, cette carène est en partie recouverte par les pétales latéraux appelés ailes, eux-mêmes surmontés par le pétale supérieur beaucoup plus grand que les autres et qui porte le nom d'étendard; l'ensemble de cette corolle présente souvent un aspect rappelant un peu celui d'un papillon, d'où le nom de Papilionacées. Les étamines sont au nombre de 10 et sont soudées par leurs filets en une bandelette qui entoure l'ovaire; suivant les genres elles sont soudées toutes les dix, ou bien l'étamine supérieure reste libre.

L'appareil végétatif est encore plus variable. Les Mimosées et les Césalpiniées sont le plus souvent des arbres, tandis que chez les Papilionacées le port arborescent est relativement exceptionnel.

Les feuilles sont rarement simples, presque toujours formées de plusieurs folioles (généralement au nombre de trois) [2].

### I.1.2. Répartition géographique des Fabacées

La famille Fabaceae est cosmopolite. Elle est particulièrement concentrée dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes comme en Afrique du Sud ou le pourtour méditerranéen. Les régions tropicales abritent essentiellement des espèces ligneuses, tandis que les régions tempérées sont riches en espèces herbacées (figure I.1) [3].



**Figure I.1.** Carte de répartition géographique des Fabacées [3]

### I.1.3. Classification des Fabacées

Selon la classification réalisée en 2009, les Fabacées comportent trois sous-familles: Faboideae (Papilionoideae), Caesalpinioideae et Mimosoideae [4]. Après de longues

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

discussions dans la communauté phylogénétique des légumineuses, les Fabaceae ont été subdivisés en six sous-familles au lieu de trois: Cercidoideae avec 12 genres et 335 espèces, Detarioideae avec 84 genres et 760 espèces, Duparquetioideae avec 1 genre et 1 espèce, Dialioideae avec 17 genres et 85 espèces, Caesalpinioideae avec 148 genres et 4400 espèces et Papilionoidea avec 503 genres et 14000 espèces [5].

**Tableau I.1.** Classification systématique des Fabaceae

	Classification réalisée en 2009	Classification réalisée en 2017
<b>Règne</b>	Plantae	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermatophyta	Spermatophyta
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermae	Angiospermae
<b>Classe</b>	Eudicotyledonae	Eudicotyledonae
<b>Sous-classe</b>	Rosidae	Rosidae
<b>Ordre</b>	Eurosidae I	Eurosidae I
<b>Sous-ordre</b>	Fabales	Fabales
<b>Famille</b>	Fabaceae (Leguminosae)	Fabaceae (Leguminosae)
<b>Sous-famille</b>	Faboideae Mimosoideae Caesalpinioideae	Duparquetioideae Cercidoideae Detarioideae Dialioideae Caesalpinioideae Papilionoideae

### I.1.4. Le genre *Retama*

#### I.1.4.1. Généralités sur le genre *Retama*

Les Légumineuses du genre *Retama* comptant quatre espèces *R. monosperma* (L.) Boiss., *R. raetam* Webb et Berthel, *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss. et *R. dasycarpa* (Cosson.) [6]. Ce sont des plantes pérennes arbustives appartenant à la sous-famille des Papilionoideae et à la tribu des *Genisteae* et sont caractérisés par une large distribution géographique dans le sud de l'Europe, sur les pourtours du bassin méditerranéen (Algérie, Égypte, Maroc, Iles canaries) et le long de la cote de l'Espagne (Andalousie), Portugal, Italie, et dans le désert sud asiatique [6-7].

En Algérie, trois espèces appartenant au genre *Retama* sont signalées : *Retma monosperma*, *Retama retam* et *Retama sphaerocarpa*. La carte de répartition géographique a été établie par Benmiloud et al (2011) (figure I.2) [6].



## Chapitre I. Aperçu bibliographique

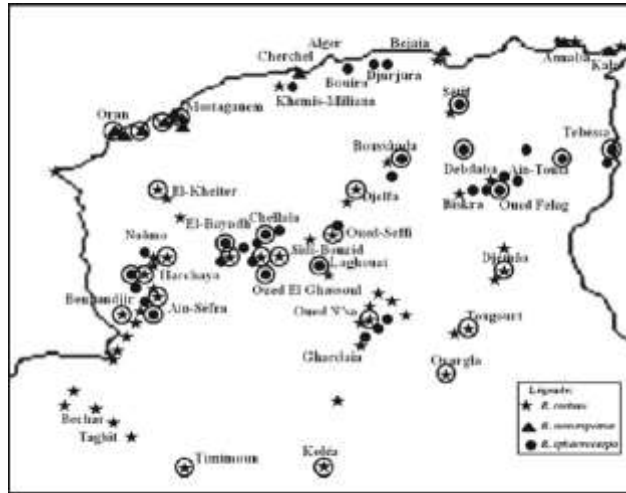


Figure I.2. La répartition géographique des espèces de *Retama* en Algérie [6].

### I.1.4.2 Description botanique du genre *Retama*

D'après Quézel et Santa (1962) [8], les *Retamas* sont des arbrisseaux portant de longs rameaux jonciformes et soyeux, caractérisés par :

- des feuilles très caduques, les inférieurs sont trifoliolés, alors que les supérieurs sont simples et unifoliées.
- des fleurs, unisexuées en petites grappes latérales, réparties sur de courts racèmes, avec petite calice bilabié, à lèvres supérieurs profondément bidentées, pétales à onglets plus ou moins soudés au tube staminal, étendard dressé avec 10 étamines monadelphes. Elles sont de deux couleurs selon l'espèce :
- blanches pour *Retama monosperma* et *Retama raetam*.
- jaunes pour *Retama sphaerocarpa*.
- le fruit est une étroite gousse indéhissante de moins de 2cm, acuminées, avec une extrémité aigue, portant une à deux graines.

### I.1.4.3. Utilisations des espèces du genre *Retama* en médecine traditionnelle

Les espèces du genre *Retama* sont utilisées en phytothérapie. Ainsi *R. sphaerocarpa* est connue depuis longtemps pour l'effet bénéfique sur le lavage rectal. Les tiges et les feuilles pilées avec du miel, sont préconisées par voie orale comme vomitif. La décoction des feuilles est administrée comme purgatif et vermifuge. Les racines sont très utilisées partout en fumigations ou en lavements vaginaux et comme abortif [7]. On les emploie aussi pour traiter le diabète [9].

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

Cette espèce est utilisée en Espagne pour diminuer les douleurs articulaires, le rhumatisme, la guérison des plaies [10]. Elle est utilisée pour lutter contre les maladies du foie [10-11]. En Algérie, *R. sphaerocarpa* constitue un remède de la rage [12].

- *R. raetam* est une espèce connue dans la médecine traditionnelle marocaine pour traiter les maladies de la peau, la cicatrisation des plaies, le rhumatisme et elle est utilisée dans les soins en cas de morsures de scorpion [13]. La poudre des feuilles et des fleurs séchées de *R. raetam* est utilisée comme un cicatrisant dans les circoncisions, un antiseptique et sédatif dans les soins locaux des plaies, blessures, ulcérations de la peau et boutons purulents. Elle est donnée comme vomitif, purgatif et vermifuge. Les racines sont utilisées comme abortif et elles sont utilisées aussi comme un traitement de la gale [7,14].

En Algérie, elle est utilisée pour combattre les maladies de rhumatisme, les piqûres de scorpion [15] et le diabète [16]. Les feuilles préparées en infusion, sont préconisées pour combattre les douleurs abdominales. Les tiges font aussi l'objet d'une utilisation thérapeutique. En effet, le mélange de la poudre des tiges avec l'huile d'olive est très efficace dans le traitement des plaies et des douleurs de dos. La partie végétative de la plante est cicatrisante. Elle est conseillée également pour traiter les irritations des yeux, ainsi que pour traiter la diarrhée et les maladies fiévreuses [17].

*R. raetam* est utilisée dans d'autres pays tels que: la Libye: contre la sinusite et le diabète [18], en Jordanie: pour les fractures et la désinfection des brûlures [19], en Liban: pour diminuer les douleurs des articulations [20] et en Palestine pour ses propriétés anti-inflammatoire, antirhumatismeux, analgésique, pour traiter les yeux enflammés et les maux de gorge, l'infertilité, la paralysie et les maux d'estomac [21].

- *R. monosperma*: au Maroc, les feuilles de cette plante sont utilisées, en décoction, comme purgatif et vermifuge. Les tiges et les feuilles apprêtées avec du miel, s'emploient comme émétique [7].

- *R. dasycarpa*: les graines sont utilisées en médecine populaire marocaine pour traiter les maladies urologique et néphrologique [22].

### I.1.4.4. Activités biologiques reconnues

Les plantes du genre *Retama* soumises à des études biologiques ont montré des activités antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antidiabétiques et anticancéreuses.

Pour l'activité antimicrobienne, les tests sont portés sur les extraits et les métabolites secondaires isolés. *Retama sphaerocarpa* a présenté une activité antimicrobienne significative vis-à-vis les souches *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* [23-34]. *R. raetam* a

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

révélé une sensibilité importante vis-à-vis de quelques souches Gram positif et négatif [25-27]. Notamment les deux flavonoïdes licoflavone C (71) et la derrone (95) isolés de cette espèce ont révélé une bonne activité antibactérienne contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et une activité antifongique importante contre les espèces de *Candida* [28]. En outre, Ces résultats sont également soutenus par Mariem et al. (2014) [29] qui ont observé que l'extrait acétate d'éthyle de *R. raetam* exerçait une forte activité antibactérienne, en particulier vis-à-vis *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*.

Les extraits obtenus à partir des feuilles et des tiges de *R. monosperma* testés contre *Aspergillus niger*, *Candida albicans* et *Candida tropicalis* présentaient une activité antifongique qui était liée à leur teneur élevée en spartéine (2), ammodendrine (23) et anagyrene (16), tandis que l'extrait riche en cytosine (17) et ses dérivés ne présente aucune activité vis-à-vis des souches testées [30-31].

Deux études ont été réalisées sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles obtenues à partir des fleurs de *R. raetam* collectées respectivement en Tunisie et en Libye. L'huile essentielle tunisienne était riche en monoterpènes oxygénés (59,73%) et en hydrocarbures sesquiterpéniques (32,39%), cette huile exerçait une activité antibactérienne et antifongique modérée avec des CMI comprises entre 0,625 et 5 mg.mL<sup>-1</sup> [32]. L'huile essentielle libyenne présente une composition similaire dans les monoterpènes oxygénés (62,0%) et une CMI de 3 à 6 mg.mL<sup>-1</sup> contre *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* respectivement [33].

Dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels, plusieurs études ont été effectuées sur les espèces du genre *Retama*. L'activité antioxydante des extraits étudiés de *R. sphaerocarpa* a été évaluée par trois méthodes différentes: DPPH, ABTS et le pouvoir réducteur. L'extrait hydro-alcoolique des tiges de cette plante a montré la capacité antioxydante la plus élevée, cela est lié à sa teneur la plus élevée en composants phénoliques mais également à la présence des acides phénoliques tels que l'acide quinique (124) et l'acide piscidique (34) [24].

Une autre étude réalisée par Boussahel et al. (2017) [34] a rapporté les propriétés antioxydantes des extraits méthanoliques et aqueux des fruits de *R. sphaerocarpa*. L'extrait méthanol présentait une teneur la plus élevée en flavonoïdes. Cet extrait a exercé une activité antioxydante notable dans les tests effectués et en particulier dans le test de capacité d'absorption des radicaux (ORAC), ce qui suggère que les antioxydants des fruits de *R. sphaerocarpa* sont plus solubles dans les solvants organiques que dans l'eau.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

Plusieurs études ont porté sur l'activité antioxydante de l'espèce *R. raetam*, prouvent son pouvoir antioxydant [26-27, 32, 35-40]. Les résultats obtenus par Meriem et al., (2014) [29] ont montré que l'extrait acétate d'éthyle présente une activité antioxydante importante par rapport aux autres extraits dans les tests : DPPH, ABTS et pouvoir réducteur. Cet extrait présentait des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes les plus élevées. Ce résultat confirme la dépendance de l'activité antioxydante et la teneur totale des composés phénoliques des extraits.

En outre, un autre travail sur l'espèce *R. monosperma* a confirmé la relation entre l'activité antioxydante et la teneur totale en polyphénols. Une analyse de régression linéaire a montré un coefficient de corrélation "Pearson" significatif entre la capacité antioxydante totale et la teneur en flavonoïdes et en composés phénoliques ce qui suggère que ces composés sont des contributeurs majeurs aux activités antioxydantes [41].

L'investigation biologique du genre *Retama* a montré que les trois espèces *R. sphaerocarpa*, *R. raetam* et *R. monosperma* possèdent un effet anti-inflammatoire. Cette activité a été prouvée *in vitro*, la pré-incubation de monocytes humains avec de différents extraits de *R. sphaerocarpa* pendant 30 min avant la stimulation avec du lipopolysaccharides (LPS) ( $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) a empêché de manière significative la sécrétion du facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ) [42].

Miguel et al. (2014) [35] ont étudié la capacité de diverses plantes médicinales à inhiber la lipoxigénase. Les résultats montrent que l'extrait de *R. raetam* inhibait cette enzyme avec une  $\text{CI}_{50} = 0,421 \text{ mg. mL}^{-1}$ . L'activité anti-inflammatoire de *R. monosperma* a été évaluée *in vivo* par administration intra-colique d'acide trinitrobenzène sulfonique (TNBS) chez le rat comme un modèle de la maladie de Crohn. L'administration orale de cet extrait a empêché de manière significative les dommages intestinaux induits par le TNBS et a augmenté la production de mucus colique [43].

Les recherches effectuées sur l'espèce *R. raetam* ont montré que l'extrait aqueux avait un effet hypoglycémique, en effet l'administration orale d'une dose de 20mg/kg de l'extrait aqueux des feuilles de *R. raetam*, réduisait de façon significative le taux de glucose dans le sang des rats normaux, ainsi que des rats diabétiques dont le diabète a été induit par streptozotocine [44]. Ces résultats ont été validés par des études récentes effectuées sur des phytoconstituants isolés de *R. raetam*, ces derniers possèdent une activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase et donc ils peuvent ouvrir de nouvelles voies au développement de médicaments prometteurs du diabète [45-46].

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

Même si aucune espèce du genre *Retama* n'est traditionnellement utilisée pour traiter le cancer, l'extrait dichlorométhane des parties aériennes de *R. monosperma* a été examiné pour évaluer leur activité antiproliférative. Les résultats de l'étude du cancer du col de l'utérus humain indiquent que cet extrait semble avoir une réponse positive avec une  $CI_{50}$  égale à  $14.57 \pm 4.15 \mu\text{g/ml}$  et  $21.33 \pm 7.88 \mu\text{g/ml}$  contre les lignées cellulaires SiHa et HeLa respectivement [47]. La fraction de dichlorométhane a également exercé une activité significative contre les cellules Jurkat et JeKo- [48]. Une autre étude de la même plante a été effectuée sur quelques cellules cancéreuses, une diminution considérable de la viabilité cellulaire des cellules Jurkat a été observé avec presque aucun effet pour les autres lignées cellulaires testées [49].

Les études de López-Lázaro et al., (2000) [50] ont démontré que les flavonoïdes isolés à partir des parties aériennes de *R. sphaerocarpa* possèdent une activité cytotoxique contre trois lignées cellulaires cancéreuses humaines.

Autres diverses activités effectuées sur les extraits de l'espèce *R. raetam* ont été également signalées, y compris : l'activité analgésique [36], diurétique [51], antiulcérogène [52], antivirale [26] et hépatoprotective [53].

### I.1.4.5. Études phytochimiques antérieures

Les espèces du genre *Retama* ont été largement étudiées. Il ressort de ces études que les principaux métabolites secondaires de ce genre sont constitués d'alcaloïdes, d'acides phénoliques, des flavonoïdes et plus précisément des isoflavonoïdes.

Les tableaux qui suivent (tableau I.1, I.2, I.3, I.4, I.5, I.6, I.7 et I.8) tracent un aperçu des différents composés rencontrés dans le genre *Retama*.

#### ➤ Les alcaloïdes

Des études effectuées sur les parties aériennes des trois espèces du genre *Retama*: *R. monosperma*, *R. sphaerocarpa* et *R. raetam* ont permis l'isolement de quelques alcaloïdes de noyau quinolizidiniques (1-22) et des dérivés de la bipyperidine (23-25). Les quinolizidines, sont les plus répandus et les plus caractéristiques de ce genre.

Les structures des alcaloïdes isolés de 1 à 25 des espèces du genre *Retama* sont citées dans le tableau I.2 et les figures I.3 et I.4.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.2.** Les alcaloïdes isolés du genre *Retama*

Alcaloïdes	Structures	Espèces	Références
Epilupinine	<b>1</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[54]
Spartéine	<b>2</b>	<i>R. monosperma</i>	[54-57]
$\alpha$ -Isospartéine	<b>3</b>	<i>R. sphaerocarpa</i> <i>R. raetam</i>	[54-55]
$\beta$ -Isospartéine	<b>4</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. raetam</i>	[54]
11,12-Déhydrospartéine	<b>5</b>	<i>R. monosperma</i>	[54-55]
17-Oxospartéine	<b>6</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	
(-)-Lupanine	<b>7</b>	<i>R. raetam</i>	
$\alpha$ -Isolupanine	<b>8</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. sphaerocarpa</i>	[54]
5,6-Déhydrolupanine	<b>9</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. sphaerocarpa</i> <i>R. raetam</i>	[54-55]
Rhombifoline	<b>10</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. raetam</i>	[54]
(+)-12 $\alpha$ -hydroxy lupanine	<b>11</b>	<i>R. sphaerocarpa</i> <i>R. raetam</i>	[54,56]
(-)-6 $\alpha$ -hydroxy lupanine	<b>12</b>	<i>R. raetam</i>	[56]
Aphylline	<b>13</b>	<i>R. monosperma</i>	[54]
Retamine	<b>14</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. sphaerocarpa</i> <i>R. raetam</i>	[54-57]
17-oxoretamine	<b>15</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[54]
Anagryne	<b>16</b>	<i>R. monosperma</i>	[54, 56]
Cytisine	<b>17</b>		[54,56-57]
<i>N</i> -méthyl cytisine	<b>18</b>	<i>R. sphaerocarpa</i> <i>R. raetam</i>	[54,56]
<i>N</i> -formyl cytisine	<b>19</b>		[54]
<i>N</i> -acetyl Cytisine	<b>20</b>	<i>R. monosperma</i>	
11-allyl Cytisine	<b>21</b>	<i>R. monosperma</i>	
Baptifoline	<b>22</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[54-55]
Ammodendrine	<b>23</b>		
<i>N</i> -Formylammodendrine	<b>24</b>	<i>R. monosperma</i>	[54]
Déhydroammodendrine	<b>25</b>		

# Chapitre I. Aperçu bibliographique

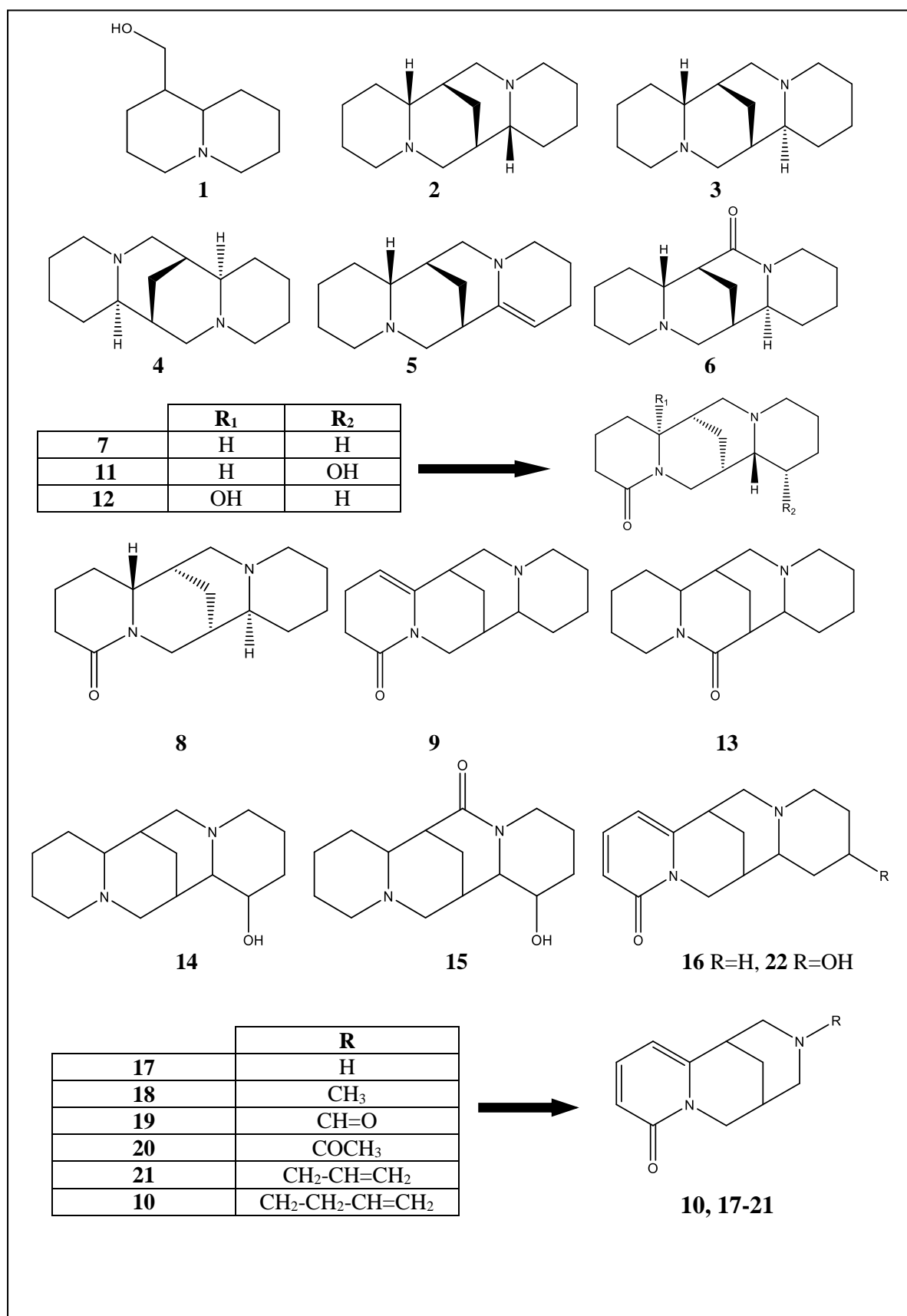
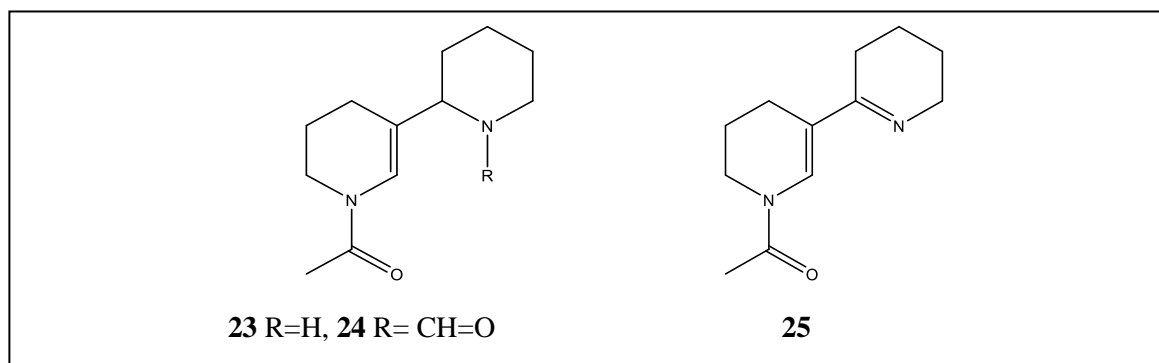


Figure I.3. Structures des alcaloïdes de 1 à 22 isolés des espèces du genre *Retama*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.4.** Structures des alcaloïdes de **23** à **25** isolés des espèces du genre *Retama*

### ➤ Les acides phénoliques

Selon cette recherche bibliographique, les acides phénols répertoriés dans le genre *Retama* sont isolés uniquement à partir des deux espèces *R. raetam* et *R. sphaerocarpa* et sont représentés soit sous forme de dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (**26-34**), soit de l'acide hydroxycinnamique (**35-41**).

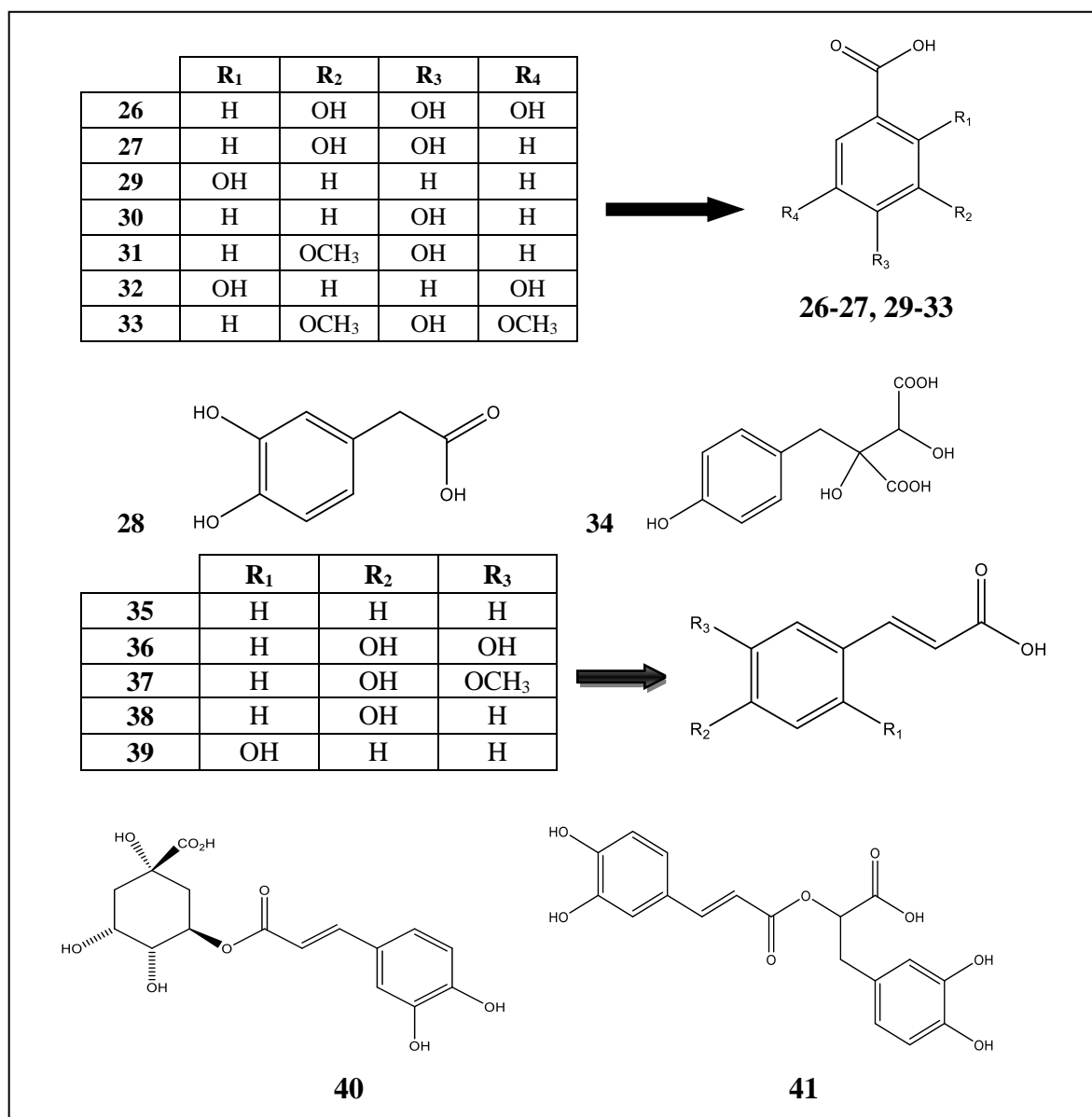
Les structures des acides phénoliques isolés des espèces du genre *Retama* sont citées dans le tableau I.3 et la figure I.5

**Tableau I.3.** Les acides phénoliques isolés du genre *Retama*

Acides phénoliques	Structures	Espèces	Références
Acide gallique	<b>26</b>	<i>R. raetam</i>	[29]
Acide protocatéchique	<b>27</b>		
Acide (3,4-dihydroxyphényl) acétique	<b>28</b>		
Acide salicylique	<b>29</b>		
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	<b>30</b>		
Acide vanillique	<b>31</b>		
Acide gentisique	<b>32</b>		
Acide syringique	<b>33</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[24]
Acide Piscidique	<b>34</b>	<i>R. raetam</i>	[29]
<i>trans</i> - acide cinnamique	<b>35</b>		
Acide caféique	<b>36</b>	<i>R. raetam</i>	[29, 57]
Acide férulique	<b>37</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[24, 29, 36]
Acide <i>paracoumarique</i>	<b>38</b>	<i>R. raetam</i>	[29]
Acide <i>orthocoumarique</i>	<b>39</b>		
Acide chlorogénique	<b>40</b>		
Acide rosmarinique	<b>41</b>		



## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.5.** Structures des acides phénoliques de **26** à **41** isolés des espèces du genre *Retama*

### ➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques très répandus dans le genre *Retama*. L'étude bibliographique de ce genre a montré que ce dernier est caractérisé par la richesse et la diversité des métabolites flavonoïdique, plus précisément les flavonols (**42-53**), flavones (**57-68**), flavones prenylés (**70-78**) et rarement sous forme de flavanols (**54-56**) et flavanones (**69**).

Les structures des flavonoïdes isolés sont regroupées dans le tableau I.4 et les figures I.6, I.7 et I.8

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

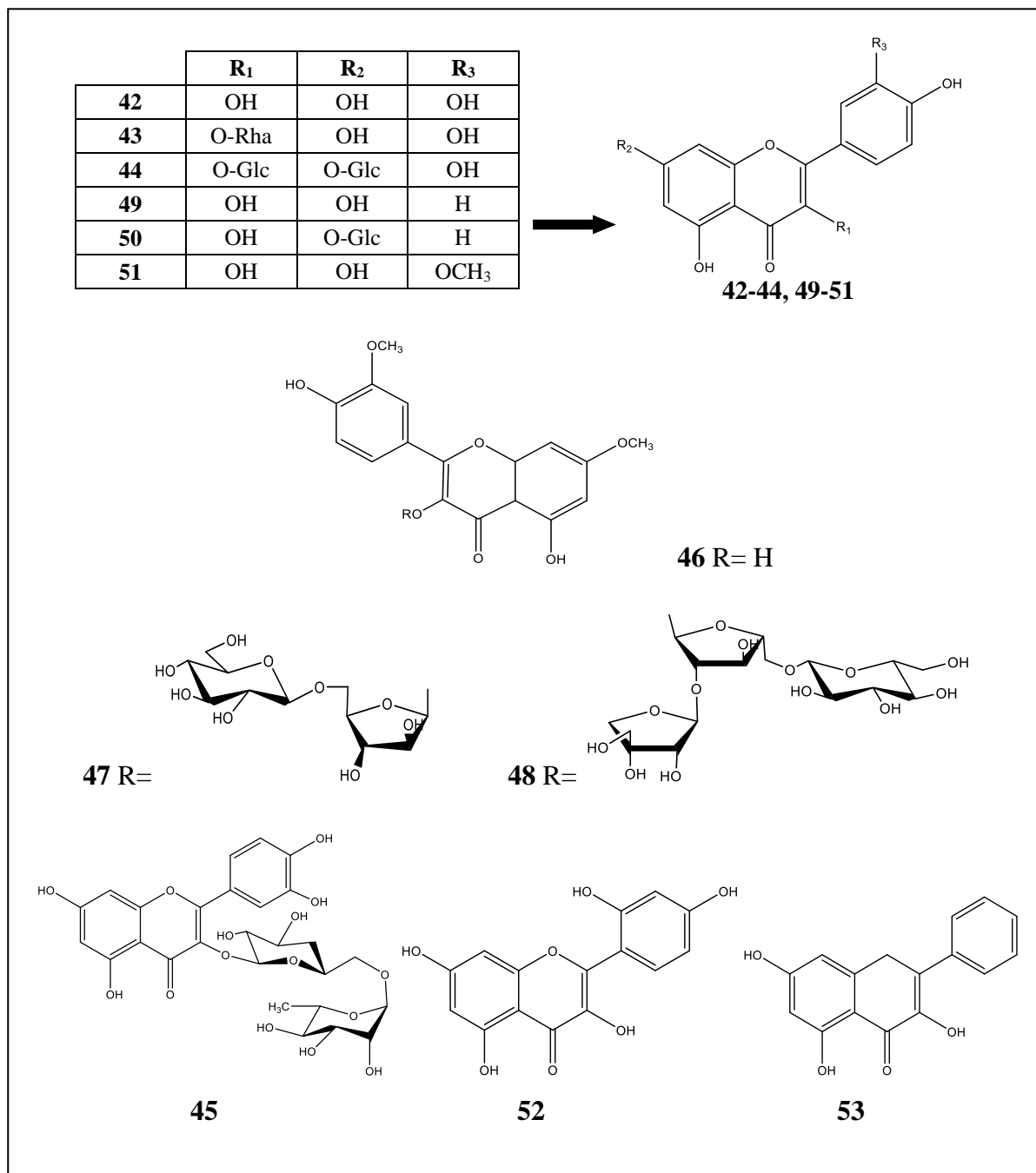
**Tableau I.4.** Les flavonoïdes isolés du genre *Retama*

Flavonoïdes	Structures	Espèces	Références
Quercétine	42	<i>R. raetam</i> <i>R. sphaerocarpa</i>	[24, 58]
Quercétine 3-rhamnoside	43	<i>R. raetam</i>	[29, 40]
Quercétine 3,7-di-O-β-glucoside	44	<i>R. sphaerocarpa</i>	[12]
Rutine	45	<i>R. raetam</i>	[40]
Rhamnazine	46	<i>R. sphaerocarpa</i>	[59]
Rhamnazine 3-O-β-glucopyranosyl-(1→5)-α-arabinofuranoside	47		[60]
Retamatrioside	48		[61]
Kaempférol	49	<i>R. raetam</i>	[29, 36, 40, 58]
Kaempférol 7-glucoside	50		[58]
Isorhamnétine	51	<i>R. sphaerocarpa</i>	[24]
Morine	52		
Galangine	53		
Taxifoline	54	<i>R. sphaerocarpa</i> <i>R. raetam</i>	[24, 39]
Catéchine	55	<i>R. raetam</i>	[40]
Epicatéchine	56		
Lutéoline	57	<i>R. raetam</i> <i>R. sphaerocarpa</i>	[24, 29, 36-37]
Luteolin 7-O-glucoside	58	<i>R. raetam</i>	[62]
Luteolin 4'-O-neohesperidoside	59		[63]
Orientine	60	<i>R. raetam</i> <i>R. sphaerocarpa</i>	[24, 59, 62]
Orientin-4'-glucoside	61	<i>R. raetam</i>	[62]
Apigénine	62	<i>R. raetam</i> <i>R. sphaerocarpa</i>	[24, 29, 37, 58]
Vitexine	63	<i>R. sphaerocarpa</i>	[12]
Apigénine 7-glucoside	64	<i>R. raetam</i>	[39, 40, 62]
Apigénine 6,8-di-C-glucoside	65	<i>R. raetam</i> <i>R. sphaerocarpa</i>	[12, 58, 62]
Chrysoériol 7- glucoside	66	<i>R. raetam</i>	[62]
Scutellaréine	67	<i>R. raetam</i>	[36]
Cirsilineol	68		[40]
Naringinine	69		[29, 37, 40, 58]
Licoflavone C	70		[28, 46, 64]
Ephedroidin	71		[63-64]
Retamasins A	72		[64]
Retamasins B	73		[46]
Retamasine C	74		
Retamasine D	75		
Retamasine E	76		[64]
Atalantoflavone	77		

# Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.4.** Les flavonoïdes isolés du genre *Retama* (suite)

Flavonoïdes	Structures	Espèces	Références
5,4'-dihydroxy-(3'',4''-dihydro-3'',4''-dihydroxy)-2'',2''-dimethylpyrano-(5'',6'':7,8)-flavone	<b>78</b>	<i>R. raetam</i>	[63]



**Figure I.6.** Structures des flavonoïdes de **42** à **53** isolés des espèces du genre *Retama*

# Chapitre I. Aperçu bibliographique

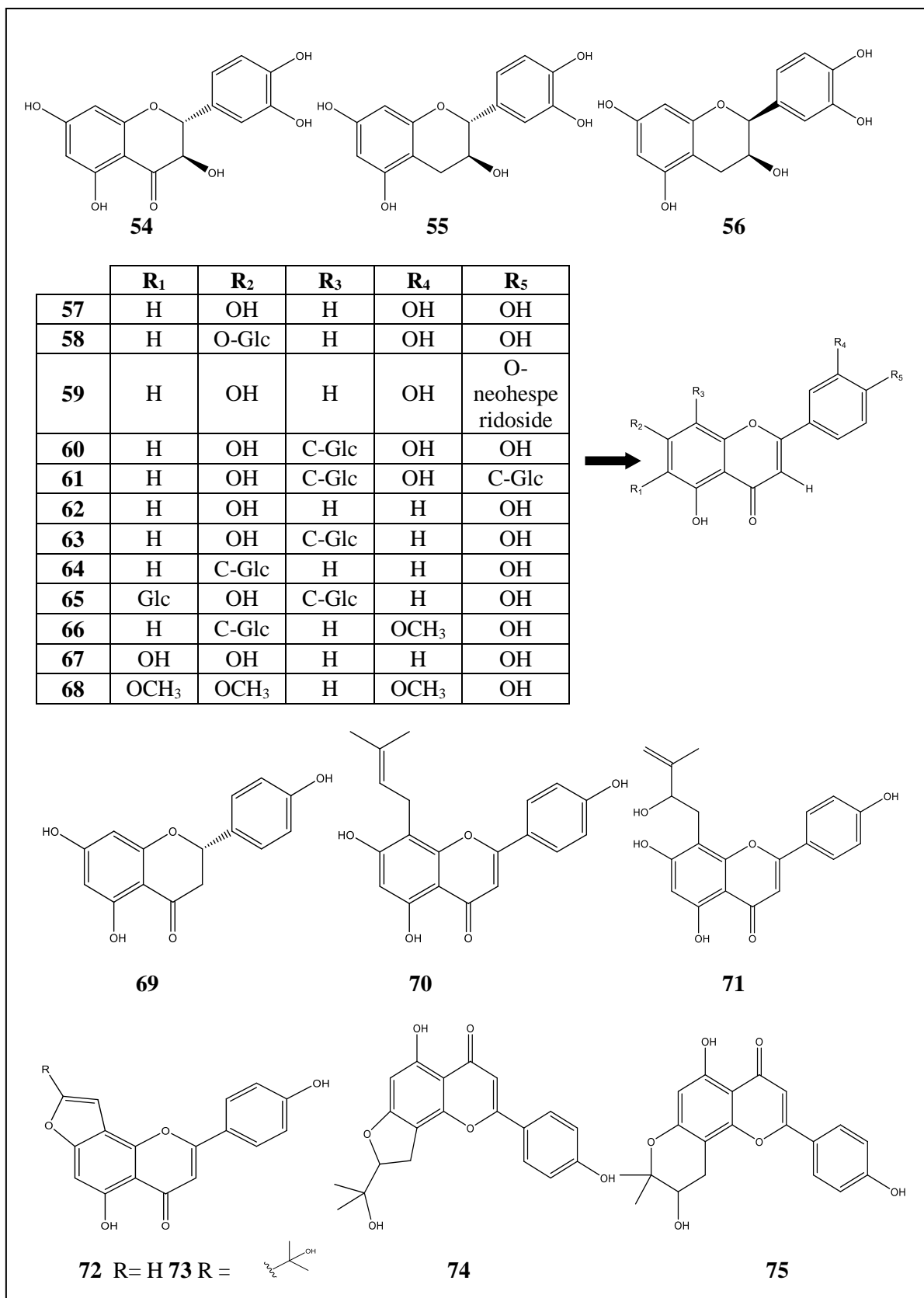
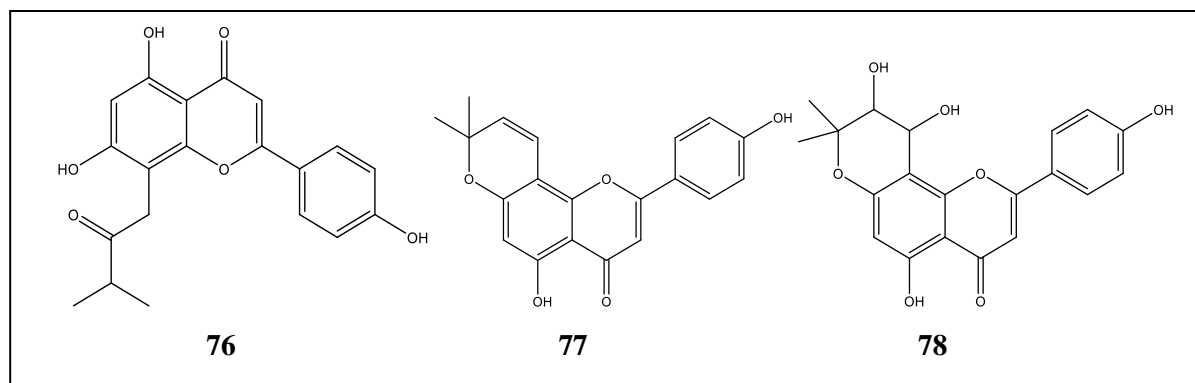


Figure I.7. Structures des flavonoïdes de 54 à 75 isolés des espèces du genre *Retama*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.8.** Structures des flavonoïdes de **76** à **78** isolés des espèces du genre *Retama*

### ➤ Isoflavonoïdes

Les isoflavonoïdes constituent un groupe important de substance dans la famille des Fabacées. Ils sont présents dans les racines, les rhizomes, le bois, l'écorce et les graines, quelquefois dans les feuilles et les fleurs [65].

Les espèces du genre *Retama* sont riches en isoflavonoïde, fréquemment les aglycones, elles ont permis l'isolement d'un bon nombre d'entre eux. Les isoflavonoïdes prénylés sont rencontrés dans *R.sphaerocarpa* et *R. raetam*.

Les structures des différents isoflavonoïdes isolés des espèces du genre *Retama* (**79-101**) sont citées dans le tableau I.5 et les figures I.9 et I.10

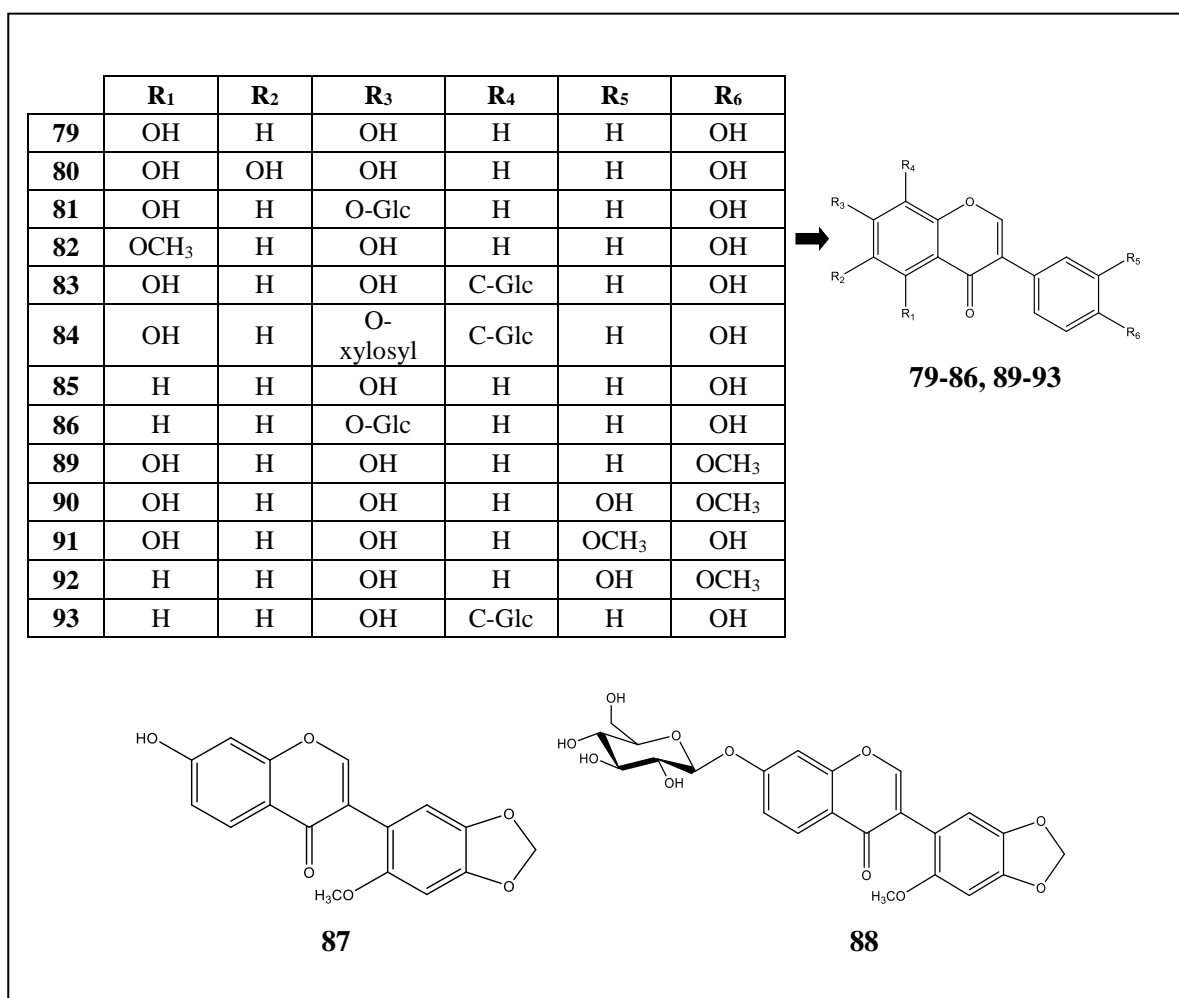
**Tableau I.5.** Les isoflavonoïdes isolés du genre *Retama*

Isoflavonoïdes	Structures	Espèces	Références
Génistéine	<b>79</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. raetam</i>	[36, 39, 58, 66]
6-hydroxy génistéine	<b>80</b>	<i>R. raetam</i>	[36]
Génistine	<b>81</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[12, 39, 67]
5-methoxy Génistéine	<b>82</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. raetam</i>	[58, 66]
Génistéine 8-C-glucoside	<b>83</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[23]
Génistéine 7-O-xylosyl-8-C-glucoside	<b>84</b>		[68]
Daidzéine	<b>85</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. raetam</i>	[58, 62, 66]
Daidzine	<b>86</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[67]
7-hydroxy-6'-methoxy-3',4'-methylénedioxy isoflavone	<b>87</b>		[23]
7-hydroxy-6'-methoxy-3',4'-methylénedioxy isoflavone 7-O-βglucoside	<b>88</b>		[67]
Biochanine A	<b>89</b>	<i>R. raetam</i>	[36]
3'-hydroxy Biochanine A	<b>90</b>		

# Chapitre I. Aperçu bibliographique

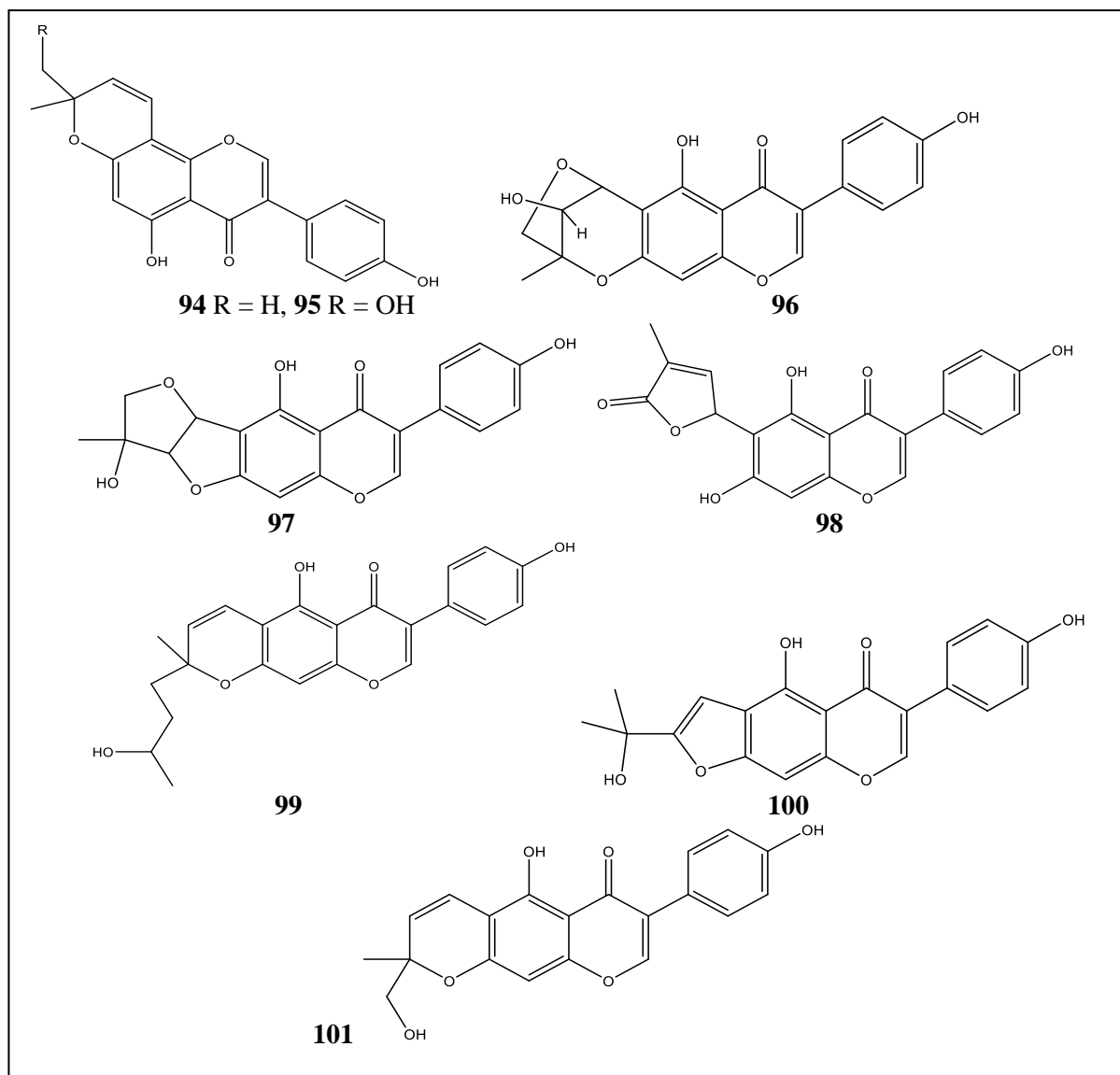
**Tableau I.5.** Les isoflavonoïdes isolés du genre *Retama* (suite)

Isoflavonoïdes	Structures	Espèces	Références
3'-O-methyl Orobol	<b>91</b>	<i>R. raetam</i>	[36]
Calycosine	<b>92</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[24]
Puerarine	<b>93</b>		
Derrone	<b>94</b>	<i>R. raetam</i>	[28, 64]
5"-hydroxy Derrone	<b>95</b>		[64]
Retamasine F	<b>96</b>		[46]
Retamasine G	<b>97</b>		
Retamasine H	<b>98</b>		
Retamasine I	<b>99</b>		
Erysubine A	<b>100</b>		
Erysubine B	<b>101</b>		



**Figure I.9.** Structures des isoflavonoïdes de **79** à **93** isolés des espèces du genre *Retama*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.10.** Structures des isoflavonoïdes de **94** à **101** isolés des espèces du genre *Retama*

### ➤ Autres composés

Ces composés sont moins répandus que les précédents et appartiennent aux différentes classes tels que les alcools (**102-108**), les acides gras (**109-121**) et une dihydrochalcone (**124**) particulièrement dans *R. sphaerocarpa* [24, 57]. Deux aurones (**125-126**) et un diterpène (**128**) dans *R. raetam* [29, 58], trois stérols (**129-131**) et deux Cyclitols (**122-123**) dans les espèces du genre *Retama* [24, 49, 57-58, 69].

Les tableaux I.6, I.7, I.8 et la figure I.11 regroupent les différents composés cités auparavant dans le genre *Retama*.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.6.** Les alcools isolés du *R. sphaerocarpa*

Alcools	Structure	Formule semi-développée	Références
Hexadécanol	<b>102</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CH <sub>2</sub> OH	[57]
<i>cis</i> -9-octadécène-1-ol	<b>103</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> OH	
Octadécan-1-ol	<b>104</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CH <sub>2</sub> OH	
Eicosan-1-ol	<b>105</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> CH <sub>2</sub> OH	
Docosanol	<b>106</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> CH <sub>2</sub> OH	
1-tétracosanol	<b>107</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> CH <sub>2</sub> OH	
1-Octacosanol	<b>108</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>21</sub> OH	

**Tableau I.7.** Les acides gras isolés du *R. sphaerocarpa*

Acides gras	Structures	Formule semi-développée	Référence
Acide laurique	<b>109</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> -COOH	[57]
Acide myristique	<b>110</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> -COOH	
Acide pentadécanoïque	<b>111</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> COOH	
Acide margarique	<b>112</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> COOH	
Acide stéarique	<b>113</b>	CH <sub>3</sub> -[CH <sub>2</sub> ] <sub>16</sub> -COOH	
Acide arachidique	<b>114</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH	
Acide hénéicosanoïque	<b>115</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>19</sub> COOH	
Acide béhénique	<b>116</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> -COOH	
Acide tricosanoïque	<b>117</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>21</sub> -COOH.	
Acide lignocérique	<b>118</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> -COOH.	
Acide palmitoléique (oméga7)	<b>119</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH	
Acide oléique (oméga9)	<b>120</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH	
Acide linolélaïdique (oméga6)	<b>121</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -CH = CH- CH <sub>2</sub> -CH = CH- (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH	

**Tableau I.8.** Autres composés isolés du genre *Retama*

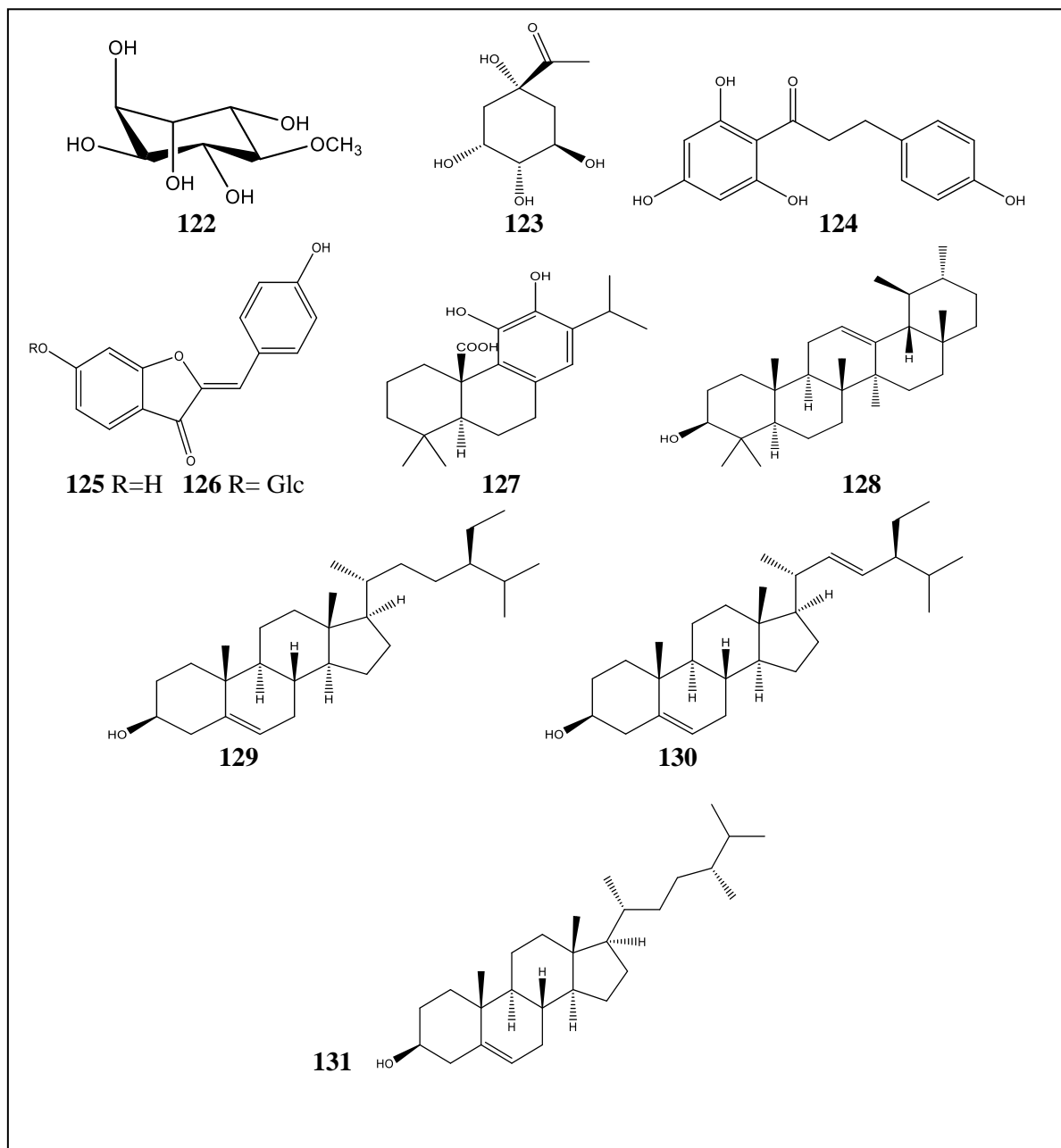
Composés	Structures	Espèces	Références
Pinnitol	<b>122</b>	<i>R. monosperma</i> <i>R. sphaerocarpa</i> <i>R. raetam</i>	[69]
Acide quinique	<b>123</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[24]
Phlorétine	<b>124</b>		
Hispidol	<b>125</b>	<i>R. raetam</i>	[58]
Hispidol-6-glucoside	<b>126</b>		[29]
Acide carnosique	<b>127</b>		
β-amyrine	<b>128</b>	<i>R. sphaerocarpa</i>	[57]
b-Sitostérol	<b>129</b>	<i>R. monosperma</i> , <i>R. sphaerocarpa</i> , <i>R. raetam</i>	[49, 57-58]



## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.8.** Autres composés isolés du genre *Retama* (suite)

Composés	Structures	Espèces	Références
Stigmastérol	<b>130</b>	<i>R. monosperma</i> , <i>R. sphaerocarpa</i>	<b>[49, 57]</b>
Campestérol	<b>131</b>		



**Figure I.11.** Structures des composés de 122 à 131 isolés des espèces du genre *Retama*

### ➤ Les huiles essentielles

Quelques travaux phytochimiques antérieurs réalisés sur les huiles essentielles des deux espèces *R. monosperma* et *R. raetam* ont montré la présence des alcanes, des aldéhydes, des

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

acides gras saturés et insaturés, des monoterpènes, des sesquiterpènes et des norisoprenoides [30, 32-33, 70].

### I.2. Famille des Brassicacées

La famille des Brassicaceae, anciennement nommée Crucifères, compte 338 genres et environ 3700 espèces distribués largement à travers le monde [71]. C'est l'une des plus importantes familles de plantes qui sont couramment utilisées en alimentation humaine et animale, mais aussi dans des applications pharmaceutiques, cosmétiques et tinctoriales [72]. Elle comprend plusieurs espèces de culture, des plantes ornementales et adventices, ainsi que des espèces utilisées comme *modèle* pour la recherche génétique dans le monde végétal [73].

#### I.2.1. Caractéristiques botaniques des Brassicacées

La famille est très homogène et les fleurs sont toujours constituées sur le même plan d'ensemble, comprenant de l'extérieur vers l'intérieur : 4 sépales, dont deux sont ordinairement dilatés en une bosse à la base; 4 pétales; 6 étamines, dont 2 plus petites opposées aux sépales bossus et portant à leur base une glande nectarifère, les 4 autres étant plus grandes, disposées par groupe de deux en face des sépales non bossus; enfin un ovaire à deux loges séparées par une cloison membraneuse. Du fait de cette unité florale, la classification de ces plantes est difficile : elle repose sur la forme et la structure du fruit, sur l'embryon qui est replié sur lui-même dans la graine suivant des modes différents, sur la forme des stigmates et sur la pilosité de la plante.

Le fruit est appelé *silique* et possède un mode d'ouverture particulier: les deux parois des carpelles se détachent à maturité et tombent, laissant en place la cloison membraneuse, entourée d'un cadre rigide formé par les nervures placentaires auxquelles sont reliées les graines. Dans une partie de la famille le fruit est court, de contour elliptique ou arrondi et porte le nom de *silicule*. Chez quelques genres, le fruit est indéhiscent ou se découpe à maturité en articles successifs, contenant chacun une ou quelques graines.

Les Crucifères sont tantôt glabres, tantôt revêtues de poils généralement ramifiés, par exemple en forme de navette et fixés par leur milieu ou bien en forme d'étoile [74].

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

### I.2.2. Répartition géographique des Brassicacées

La famille Brassicaceae se trouve principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord, elle est également localisée dans l'hémisphère sud et très rare dans les tropiques sauf dans les zones montagnardes ou alpines.

Les centres de diversification les plus importantes sont la région irano-turaniennne (environ 150 genres et environ 900 espèces, 530 endémiques) et la région méditerranéenne (environ 113 genres et environ 630 espèces, 290 endémique). Ensuite l'Amérique du Nord (99 genres et 778 espèces, environ 600 endémiques) et la région saharo-sindienne (65 genres et 180 espèces, 62 endémiques). Dans l'hémisphère sud (environ 40 genres, 28 endémiques) avec 340 espèces sont considérées comme originaires d'Amérique du Sud, 15 genres et plus de 100 espèces sont originaires d'Afrique australe et 19 genres comprenant 114 espèces en Australie et en Nouvelle-Zélande [75].

### I.2.3. Classification des Brassicacées

Les Brassicacées appartiennent à l'ordre des Brassicales, elles sont classées actuellement, selon la classification réalisée en 2016, à la classe des Eudicots (Rosidae) [76].

**Tableau I.9.** Position systématique des Brassicacées

	<b>Classification</b>
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermatophyta
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermae
<b>Classe</b>	Eudicotyledonae
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Eurosidae II
<b>Sous-ordre</b>	Brassicales
<b>Famille</b>	Brassicaceae

### I.2.4. Le genre *Lepidium*

#### I.2.4.1. Généralités sur le genre *Lepidium*

Le genre *Lepidium* est l'un des genres les plus représentés de la famille des Brassicacées, il est constitué d'environ 175 espèces, largement distribuées à travers le monde, sur tous les continents. Elles ont la plus grande diversité dans la région méditerranéenne; où la plupart des espèces diploïdes ont été trouvées; en Asie Occidentale et dans certaines parties de l'Amérique du Nord [77-78].

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

### I.2.4.2 Description botanique du genre *Lepidium*

Pétales et étamines parfois avortés en partie. Silicule ailée ou aptère, angustiseptée, à valves carénées, déhiscente et à loges monospermes. Fleurs nombreuses, blanches [79].

### I.2.4.3 Utilisations traditionnelles des espèces du genre *Lepidium*

Le genre *Lepidium* comporte plusieurs espèces utilisées en médecine traditionnelle populaire pour guérir un bon nombre de maladies.

- ***L. sativum***: les graines de cette plante sont riches en minéraux et en vitamines, en particulier les vitamines C, A, B et E. elles sont utilisées pour soigner les maladies de la gorge, l'asthme et les maux de tête. Une pâte de farine préparée à partir des graines de cette plante est utilisée sur les lèvres gercées, contre les coups de soleil et autres troubles cutanés [80].

En Éthiopie, *L. sativum* a été utilisé pour traiter les coliques, les douleurs abdominales et la dysenterie [80].

En Inde, cette espèce a été traditionnellement introduite dans l'alimentation des femmes allaitantes. Elle est également recommandée pour la diarrhée [81].

Les graines sont une panacée de la médecine marocaine. On retrouve, partout au Maroc avec les mêmes indications. On les administre généralement par voie orale, triturées dans du miel, ou en infusion dans du lait chaud. Elles sont indiquées également au Maroc et en Asie du Sud dans le traitement de la toux, de l'asthme, de la tuberculose, de toutes les affections pulmonaires, des refroidissements, du rachitisme, de l'impuissance, de la stérilité et de la syphilis et pour activer l'accouchement des femmes enceintes. Les graines sont aussi utilisées en Asie du Sud pour traiter la bronchite, l'asthme et la toux. Cette plante est utilisée comme diurétique, expectorante, aphrodisiaque, antibactérienne, stimulante gastro-intestinale, gastro-protectrice, et laxative [82-83].

En usage externe, la farine de graines entre dans la composition de cataplasmes révulsifs contre les bronchites ou d'onguents maturatifs et cicatrisants contre les abcès et les furoncles [83].

- ***L. meyenii***: les racines séchées sont consommées après ébullition dans de l'eau ou du lait, et sont parfois mélangées avec du miel et des fruits pour la préparation de jus ou des confitures. Cette plante a été recommandée pour améliorer la fertilité. Les femmes indiennes en mangent quand elles veulent devenir enceintes [77].

- ***L. apetalum***: est employée pour traiter la toux et le rhume, elle est utilisée en cas de blessure et pour la faiblesse et l'étourdissement [84].

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

***L.draba***: elle pourrait être cuite avec le riz, l'infusion de ses feuilles et graines possède un effet purgatif et expectorant [85], ainsi que l'infusion des parties aériennes a été utilisée en cas de rhume ou fièvre [86].

### I.2.4.4. Activités biologiques reconnues

De nombreuses espèces appartenant au genre *Lepidium* possèdent des propriétés thérapeutiques. Dans ce qui suit, on citera les propriétés pharmacologiques de quelques espèces du genre étudié:

***L. sativum***: des études toxicologiques ont révélé que les graines de cette plante ne sont pas toxiques. Elles présentent de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antidiabétique, hypocholestérolémique, antihypertensive, antidiarrhéique, antispasmodique et laxative. Cette plante a également un potentiel antimicrobien, antioxydant, anti-obésité, hépatoprotecteur, diurétique, néphrocuratif, anti-inflammatoire, antipyrétique et analgésique, elle est également efficace pour la guérison des fractures [81,87-88].

***L. meyenii*** : les études expérimentales indiquent les effets de cette plante sur la fertilité. En 2001, il a été publié qu'elle améliore le comportement sexuel des rongeurs et en 2002 une étude a montré l'augmentation du nombre de spermatozoïdes chez les hommes [89].

D'autres recherches montrent une activité sur la réduction de la taille de la prostate, le traitement de l'ostéoporose, contre les effets délétères d'une exposition aux rayons UV, comme antistress et antidépresseur [77].

***L.draba***: les études effectuées sur cette plante ont démontré que *L. draba* avait un effet anticancéreux, analgésique, anti-inflammatoire, laxatif, antibactérien, antifongique, antioxydant, purgatif, expectorant [90-96] et un effet allélopathique [97].

***L.latifolium***: possède une activité antitumorale et par conséquent cette plante pourrait présenter un intérêt dans le traitement du cancer [98].

### I.2.4.5. Études phytochimiques antérieures

Peu d'études phytochimiques ont été effectuées sur le genre *Lepidium*, les glucosinolates sont les principaux métabolites secondaires rencontrés dans ce genre. Ainsi la présence des isothiocyanates, des acides phénoliques, des flavonoïdes, isoflavonoïdes, des alcaloïdes principalement de type imidazole, macamides et de quelques composés de différentes classes: coumarines, cinnamate esters, acides gras, stérols, lignanes et autres.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

### ➤ Glucosinolates et isothiocyanates

Le genre *Lepidium* appartenant à la famille végétale «Brassicacée» qui est caractérisée par des produits naturels soufrés appelés glucosinolates (GLs). La structure générale (132) possède une unité  $\beta$ -D-glucopyrano connectée à une fonction Z-thiohydroximate anomérique dont l'oxygène est sulfaté et a une chaîne latérale R qui est la seule variable structurale.

Lorsque les cellules de ces plantes sont endommagées, les glucosinolates sont dégradés par la myrosinase, une enzyme présente dans des compartiments cellulaires séparés, libérant ainsi de nombreuses molécules. Des isothiocyanates (ITCs) sont majoritairement formés, mais aussi des nitriles, thiocyanates et oxazolidinethiones, selon la structure du glucosinolate (GL) de départ et les conditions physicochimiques de l'hydrolyse [72].

Le tableau I.10 et les figures I.12 et I.13 représentent les glucosinolates (133-161) et les isothiocyanates (162-167) isolés de quelques espèces du genre *Lepidium*.

**Tableau I.10.** Les glucosinolates et les isothiocyanates isolés du genre *Lepidium*

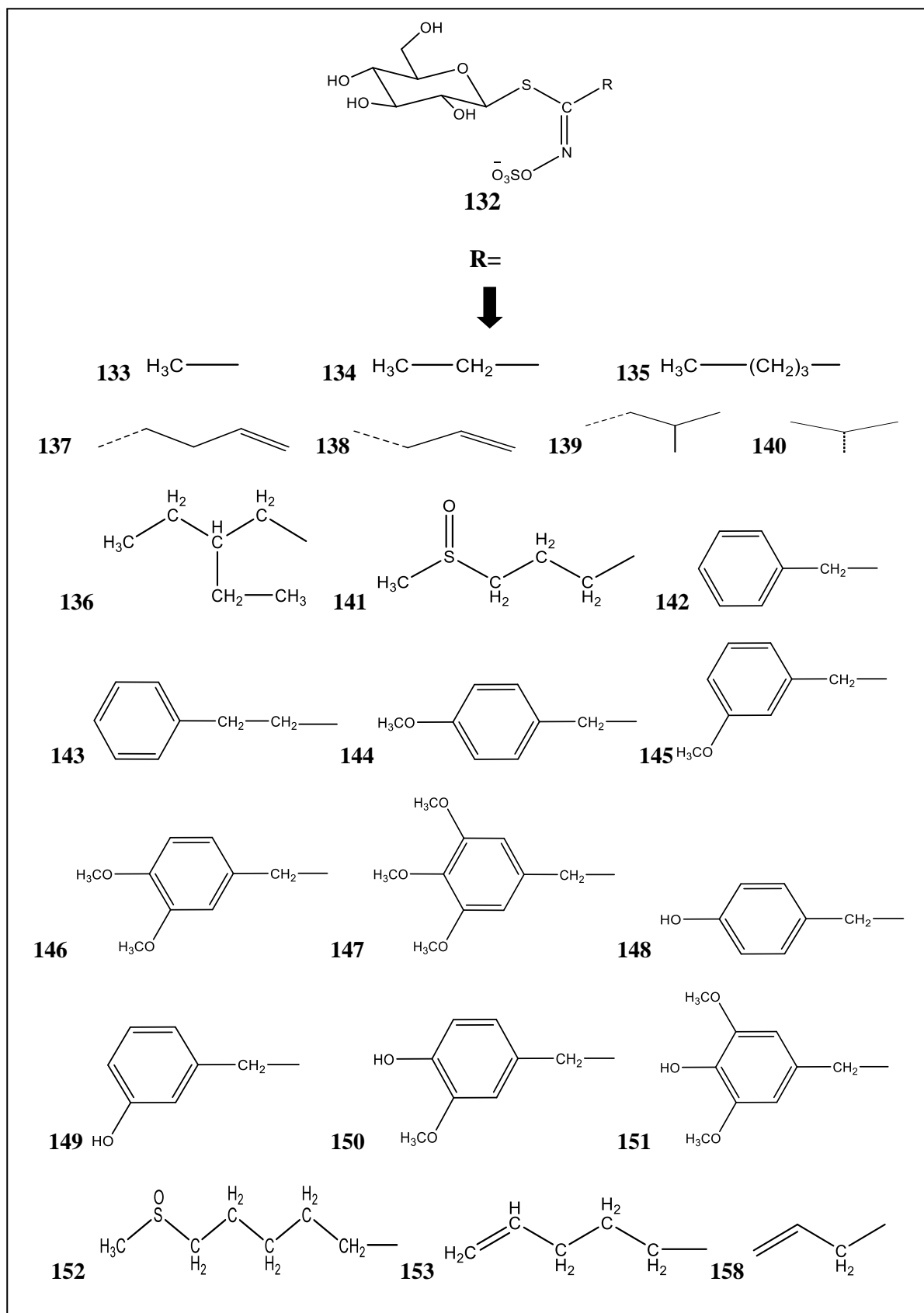
Glucosinolates et isothiocyanates	Structures	Espèces	Références
Glucocapparine	133	<i>L. sativum</i>	[99]
Glucolepidiine	134	<i>L. virginicum</i>	[100]
Glucobenzosisymbriine	135	<i>L. sativum</i>	[99]
Éthyl butyl Glucosinolates	136		
Gluconapine	137	<i>L. oleraceum</i>	[101]
Sinigrine	138		
Glucocochlearine	139		
Glucoputranjivine	140		
Glucoiberine	141	<i>L. heterophylla</i>	[99]
Glucotropaeoline	142	<i>L. meyenii</i> <i>L. sativum</i> <i>L. hyssopifolium</i> <i>L. sordidum</i> <i>L. virginicum</i> <i>L. bonariense</i> <i>L. oleraceum</i>	[77, 99, 101-106]
Phényl Éthyl Glucosinolate	143	<i>L. sativum</i>	[99]
Glucoaubrietine	144	<i>L. meyenii</i> <i>L. bonariense</i>	[77, 99, 105]
Glucolimnanthine	145	<i>L. densiflorum</i> <i>L. meyenii</i> <i>L. oleraceum</i>	[77, 101, 106-107]
3,4-diméthoxy benzylglucosinolate	146	<i>L. densiflorum</i>	[107]
3,4,5-triméthoxybenzylglucosinolate	147	<i>L. sordidum</i> <i>L. hyssopifolium</i> <i>L. densiflorum</i>	[99-100, 105, 107]

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.10.** Les glucosinolates et les isothiocyanates isolés du genre *Lepidium* (suite)

Glucosinolates et isothiocyanates	Structures	Espèces	Références
glucosinalbine	<b>148</b>	<i>L. meyenii</i> <i>L. draba</i> <i>L. bonariense</i> <i>L. densiflorum</i> <i>L. oleraceum</i>	[77, 99, 101, 105- 108]
Glucolepigramine	<b>149</b>	<i>L. densiflorum</i> <i>L. graminifolium</i>	[100, 107]
3-méthoxy sinalbine	<b>150</b>	<i>L. densiflorum</i>	
3,5- diméthoxy sinalbine	<b>151</b>		
Glucoalyssine	<b>152</b>	<i>L. meyenii</i>	[106]
Glucobrassicinapine	<b>153</b>		[77]
Glucobrassicine	<b>154</b>	<i>L. meyenii</i> <i>L. graminifolium</i>	[77, 109]
4-Méthoxy-glucobrassicine	<b>155</b>		<i>L. sativum</i>
4-hydroxy glucobrassicine	<b>156</b>	<i>L. meyenii</i>	[106]
Neoglucobrassicine	<b>157</b>	<i>L. graminifolium</i> <i>L. sativum</i>	[109]
Singrine	<b>158</b>	<i>L. bonariense</i>	[99]
Glucoraphanine	<b>159</b>	<i>L. draba</i>	[100]
L-prolinium 4-(méthylsulfinyl) - butyl GL	<b>160</b>		[110]
Desulfoglucotropaeoline	<b>161</b>	<i>L. meyenii</i> <i>L. apetalum</i>	[104, 111- 112]
Benzyl isothiocyanate	<b>162</b>	<i>L. meyenii</i> <i>L. sativum</i>	[77, 113- 114]
4-méthoxybenzyl isothiocyanate	<b>163</b>	<i>L. meyenii</i> <i>L. bonariense</i>	[115]
3-méthoxybenzyl isothiocyanate	<b>164</b>	<i>L. meyenii</i>	[77]
3,4,5 triméthoxybenzyl isothiocyanate	<b>165</b>	<i>L. hyssopifolium</i> <i>L. sordidum</i>	[105]
3-hydroxybenzyl isothiocyanate	<b>166</b>	<i>L. meyenii</i>	[104]
4-(méthylsulfanyl)butyl isothiocyanate	<b>167</b>	<i>L. draba</i>	[116]

# Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.12.** Structures des composés de **133** à **153** et **158** isolés des espèces du genre *Lepidium*



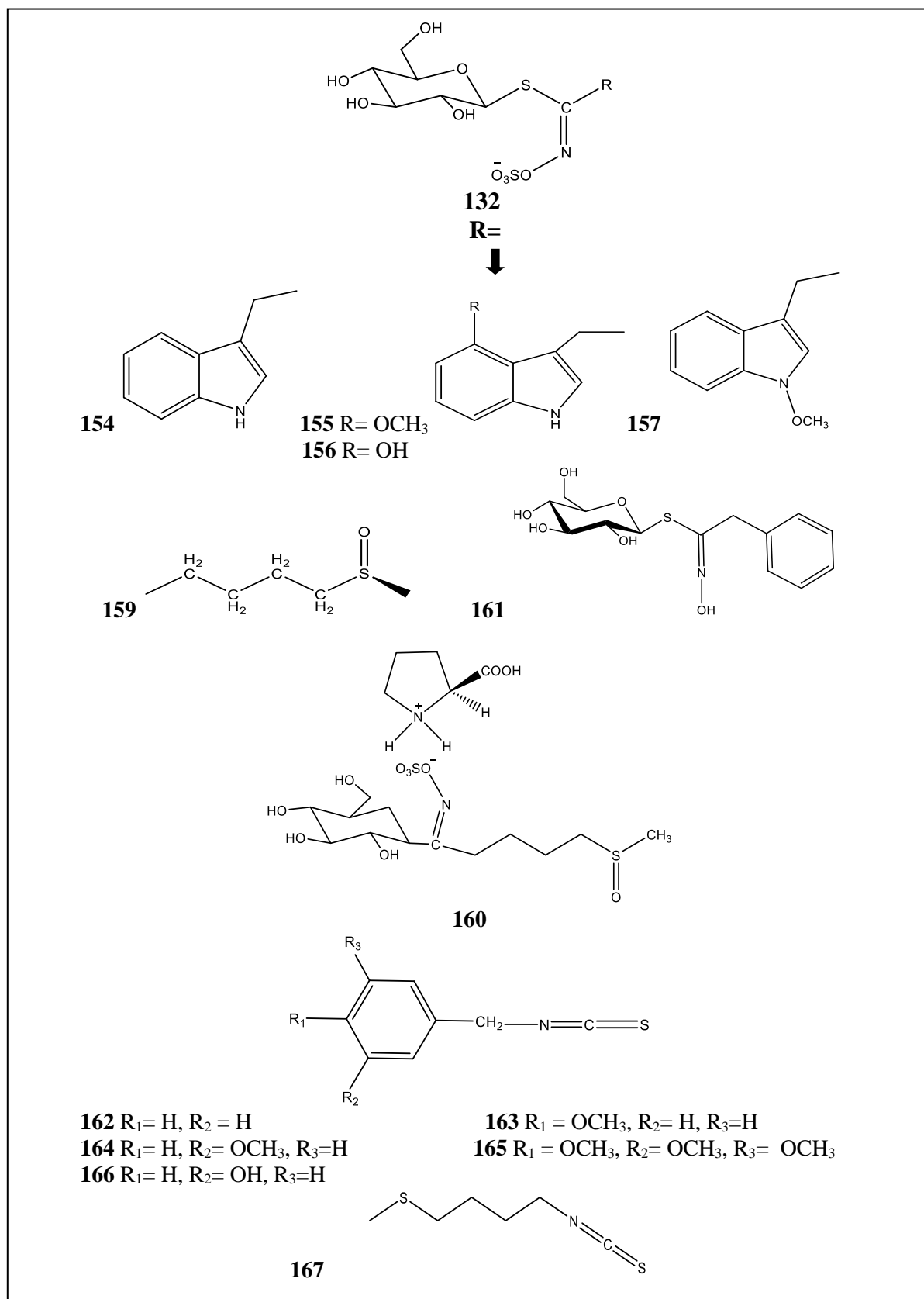


Figure I.13. Structures des composés de **154** à **157**, de **159** à **167** isolés des espèces du genre *Lepidium*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

### ➤ Les alcaloïdes

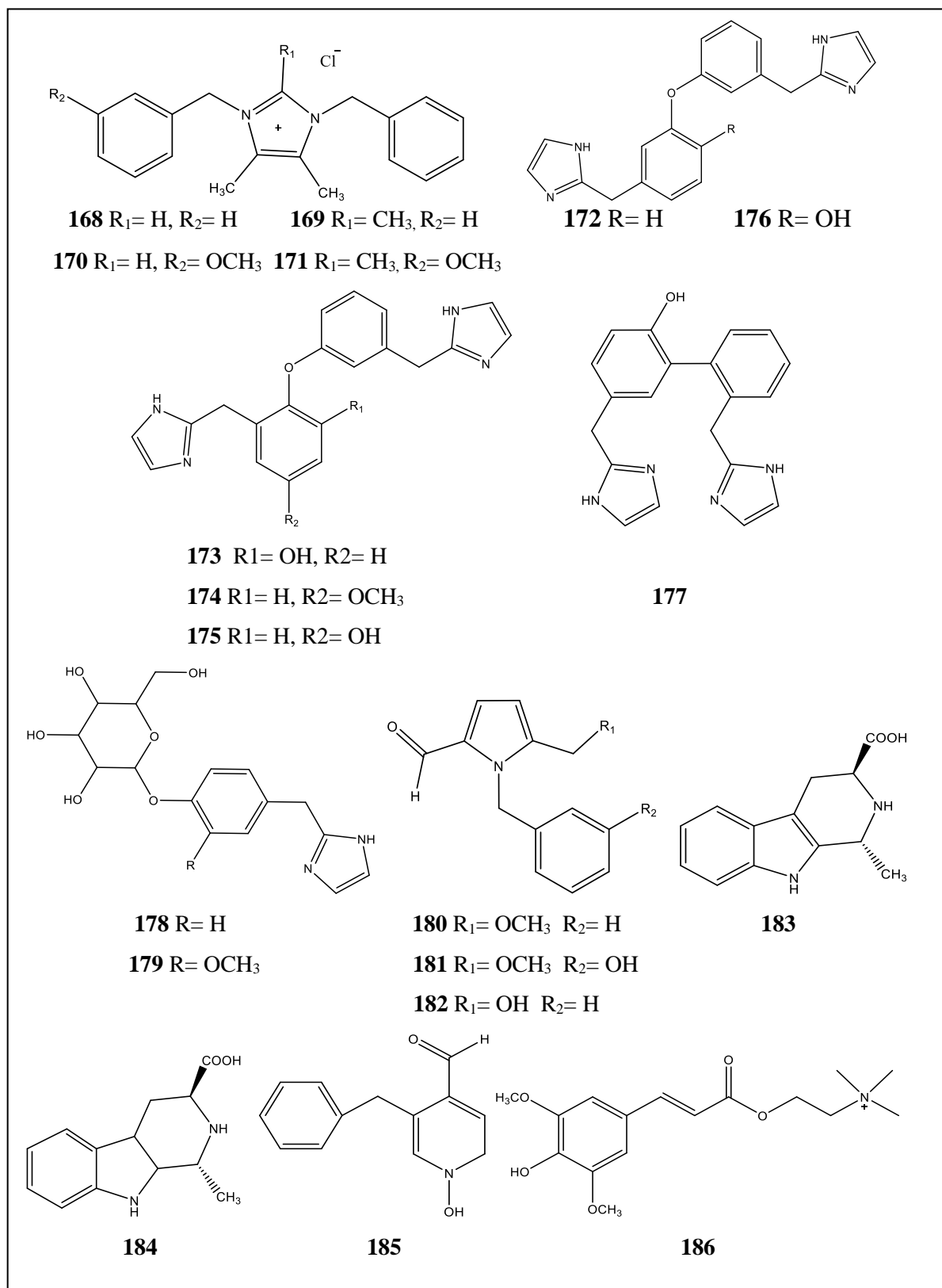
Les alcaloïdes ont été mis en évidence dans deux espèces du genre *Lepidium*: *L. meyenii* et *L. sativum*. Les travaux effectués sur ces deux espèces ont permis d'isoler principalement des dérivés de type imidazole.

Les structures des différents alcaloïdes isolés (**168-186**) des espèces du genre *Lepidium* sont cités dans le tableau I.11 et la figure I.14

**Tableau I.11.** Les alcaloïdes isolés du genre *Lepidium*

Alcaloïdes	Structures	Espèces	Références
<b>Imidazole</b>			
Lepidiline A	<b>168</b>	<i>L. meyenii</i>	[117]
Lepidiline B	<b>169</b>	<i>L. meyenii</i> <i>L. sativum</i>	[78, 117]
Lepidiline C	<b>170</b>	<i>L. meyenii</i>	[118]
Lepidiline D	<b>171</b>		
Lepidine	<b>172</b>	<i>L. sativum</i>	[77, 119]
Lepidine B	<b>173</b>		[78]
Lepidine C	<b>174</b>		
Lepidine D	<b>175</b>		
lepidine E	<b>176</b>		
lepidine F	<b>177</b>		
semilepidinoside A	<b>178</b>		
semilepidinoside B	<b>179</b>		
<b>pyrrole</b>			
Macapyrroline A	<b>180</b>	<i>L. meyenii</i>	[120]
Macapyrroline B	<b>181</b>		
Macapyrroline C	<b>182</b>		
<b>Indole</b>			
Acide (1R,3S)-1-méthyl tétrahydro- $\alpha$ -carboline-3-carboxylique	<b>183</b>	<i>L. meyenii</i>	[121]
Acide (1R,3S)-1-méthyl tétrahydro- $\beta$ -carboline-3-oïque	<b>184</b>		[77]
<b>Autres</b>			
Macaridine	<b>185</b>	<i>L. meyenii</i>	[77, 122]
Sinapine	<b>186</b>	<i>L. sativum</i>	[78, 102]

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.14.** Structures des composés de **168** à **186** isolés des espèces du genre *Lepidium*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

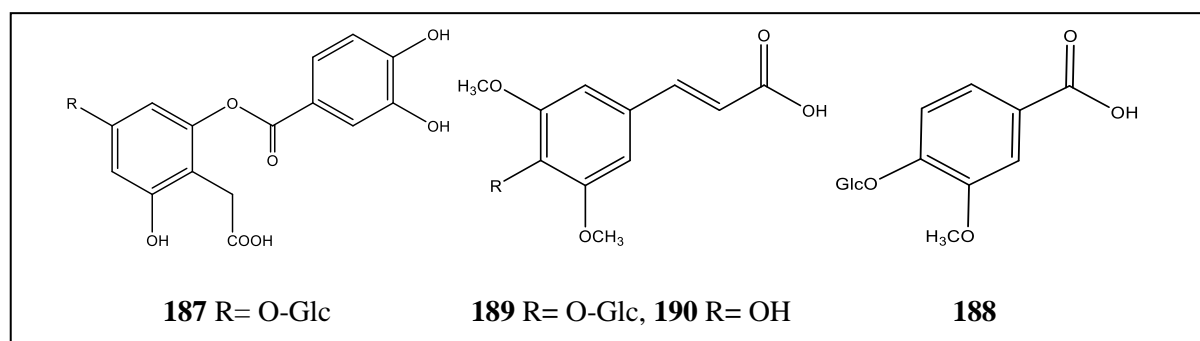
### ➤ Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont rarement trouvés dans les espèces du genre *Lepidium*. Une enquête phytochimique nous a permis de citer quelques composés identifiés.

Les structures des acides phénoliques de type acide phénylacétique (**187**), de type acide hydroxybenzoïque (**26-31**, **33**, **188**) de type acide hydroxycinnamique (**36-38**, **40-41**, **189-190**) sont regroupées dans le tableau I.12 et la figure I.15

**Tableau I.12.** Les acides phénoliques isolés du genre *Lepidium*

Acides phénoliques	Structures	Espèce	Références
Acide 2-O-(3,4-dihydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxy phénylacétique 4-O-β-D-glucopyranoside	<b>187</b>	<i>L. apetalum</i>	[123]
Acide gallique	<b>26</b>	<i>L. sativum</i>	[81, 124-125]
Acide protocatéchique	<b>27</b>	<i>L. draba</i>	[81, 125-126]
Acide (3,4-dihydroxyphényl) acétique	<b>28</b>	<i>L. draba</i>	[125]
Acide salicylique	<b>29</b>	<i>L. sativum</i>	[127]
Acide 4-hydroxybenzoïque	<b>30</b>	<i>L. draba</i>	[125]
Acide vanillique	<b>31</b>		
Acide syringique	<b>33</b>		
Acide vanillique 4-O-β-D-glucopyranoside	<b>188</b>	<i>L. meyenii</i>	[104]
Acide caféique	<b>36</b>	<i>L. sativum</i>	[81, 125]
Acide férulique	<b>37</b>	<i>L. draba</i>	[102, 124-125]
Acide 4- hydroxycinnamique	<b>38</b>	<i>L. sativum</i> <i>L. draba</i> <i>L. meyenii</i>	[81, 104, 125]
Acide chlorogénique	<b>40</b>	<i>L. sativum</i>	[124-125]
Acide Rosmarinique	<b>41</b>	<i>L. draba</i>	[125, 127]
Acide 3',5'-dimethoxy-4-O-β-D-glucopyranosyl cinnamique	<b>189</b>	<i>L. apetalum</i>	[123]
Acide sinapique	<b>190</b>	<i>L. sativum</i>	[78, 102, 128]



**Figure I.15.** Structures des composés de **187** à **190** isolés des espèces du genre *Lepidium*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

### ➤ Les flavonoïdes

Le tableau I.13 et les figures I.16, I.17 et I.18 regroupent les structures des flavonoïdes identifiés dans le genre *Lepidium* qui sont de type flavonol (**42, 45, 49, 191-234**), flavanol (**54-55**), flavone (**58, 64, 235-236**) et flavonolignanes (**237-238**).

**Tableau I.13.** Les flavonoïdes isolés du genre *Lepidium*

Flavonoïdes	Structure	Espèces	Références
Rutine	<b>45</b>	<i>L. syvaschicum</i> <i>L. latifolium</i>	[129-130]
Kaempférol	<b>191</b>	<i>L. campestre</i>	[131]
Kaempférol-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranoside-7-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<b>192</b>		
Nicotiflorin (Kaempférol-3-O-rutinoside)	<b>193</b>	<i>L. syvaschicum</i>	[129]
Kaempférol	<b>49</b>	<i>L. sativum</i>	[126]
Kaempférol-3-b-D-glucofuranosyl-6-b-L-rhamnopyranoside	<b>194</b>	<i>L. latifolium</i>	[130]
Kaempférol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-7-O- $\beta$ -D-gentiobioside	<b>195</b>	<i>L. apetalum</i>	[123]
Kaempférol-3-O-(2-O-sinapoyl)- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside-7-O- $\alpha$ -L rhamnopyranoside	<b>196</b>	<i>L. sativum</i>	[126]
Kaempférol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-glucopyranoside-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<b>197</b>	<i>L. latifolium</i>	[132]
Kaempférol-7-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<b>198</b>		
Kaempférol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside-7-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<b>199</b>		
Kaempférol-3-O (2-O-feruloyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-glucopyranoside)-7-O-glucopyranoside	<b>200</b>		
Kaempférol-3-O- $\beta$ -Dsophoroside-7-O- $\alpha$ -L-rhamnoside	<b>201</b>		
Kaempférol-3-O-robinoside-7-O-(2'''-(E)-feruloyl)-sophoroside	<b>202</b>		
Quercétine	<b>42</b>	<i>L. sativum</i>	[124, 126]
Quercétine- 3-O- $\beta$ -glucosyl (1 $\rightarrow$ 6) - $\beta$ - galactoside	<b>203</b>		[133]
Quercétine- 3 - O - $\beta$ - glucosyl (1 $\rightarrow$ 6) - $\beta$ - glucoside	<b>204</b>		

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.13.** Les flavonoïdes isolés du genre *Lepidium* (suite)

Flavonoïdes	Structure	Espèces	Références
Quercétine 3-O-β-D-glucopyranosyl-7-O-β-D-gentiobioside	205	<i>L. apetalum</i>	[123]
Quercétine 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranoside	206		
Quercétine-3-O-(6-O-benzoyl)-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-β-D-galactopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside	207	<i>L. sativum</i>	[126]
quercétine 3-O-(2,6-di-O-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside	208	<i>L. apetalum</i>	[134]
Quercétine-3-O-(2,6-di-O-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside	209	<i>L. latifolium</i>	[132]
Quercétine-3-O-β-D-sophoroside-7-O-α-L-rhamnoside	210		
Isoquercitrine (Quercétine 3-glucoside)	211	<i>L. draba</i>	[130]
Complanatuside	212		[93]
Rhamnocitrine- 3-O- D glucoside	213		
Astragaline	214	<i>L. apetalum</i>	[123]
Drabanemoside (kaempferol 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranose)	215		
Isorhamnétine	51	<i>L. sativum</i>	[126]
Isorhamnetine 3-O-β-D-glucopyranoside	216	<i>L. apetalum</i>	[123]
Isorhamnétine 3,4'-O-β-D-diglucoside	217		
Isorhamnétine 3-O-β-D-glucopyranosyl-7-O-β-D-gentiobioside	218		
Apetalumosides A	219		
Apetalumoside B1	220	<i>L. apetalum</i>	[134]
Apetalumoside B2	221		
Apetalumoside B3	222		
Apetalumoside B4	223		
Apetalumoside B5	224		
Apetalumoside B6	225	<i>L. apetalum</i> <i>L. latifolium</i>	[132, 134]
Apetalumoside B7	226	<i>L. apetalum</i>	[134]
Apetalumoside C	227		
Apetalumoside A1	228	<i>L. apetalum</i>	[135]
Apetalumoside B8	229		
Apetalumoside B9	230		

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

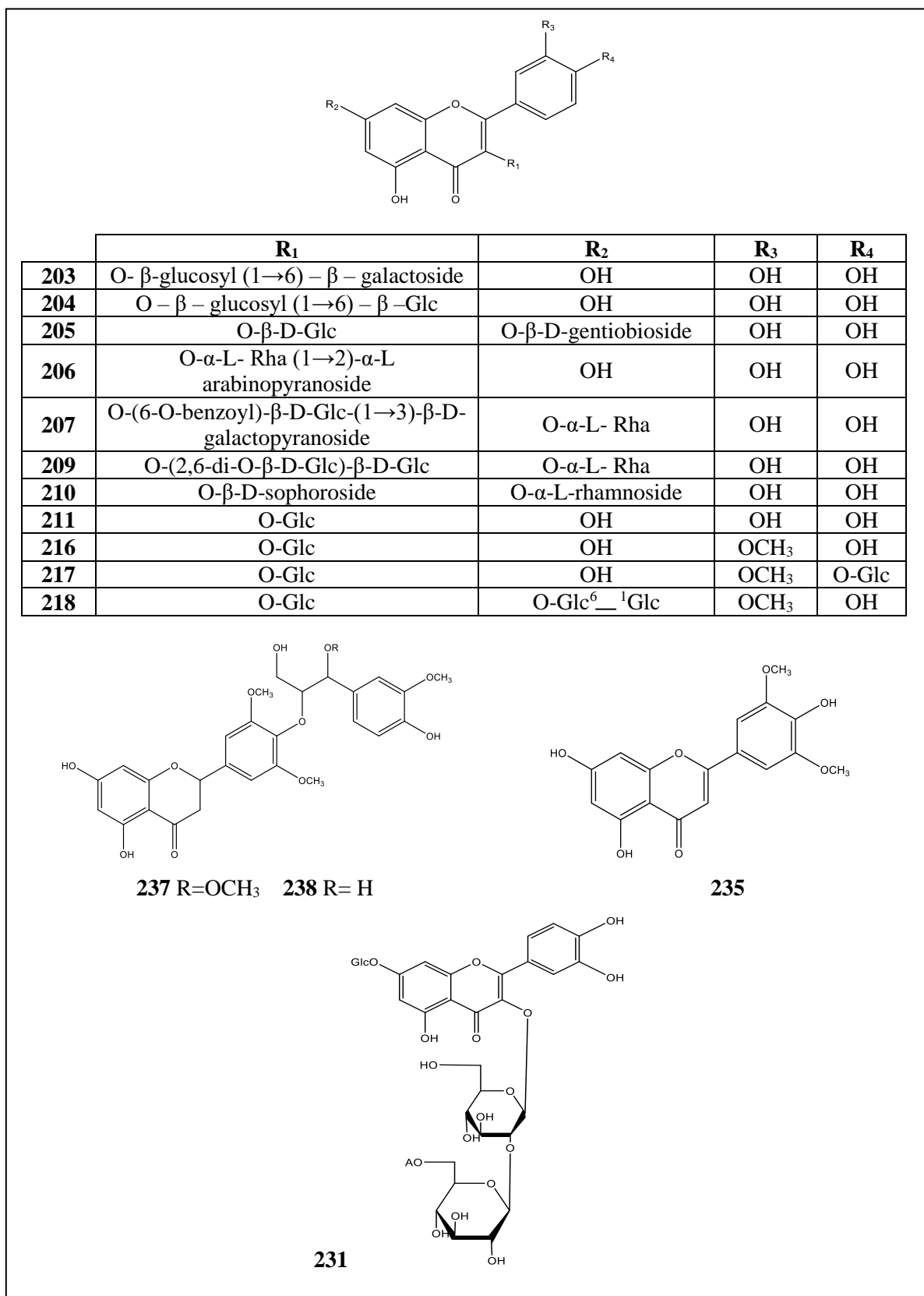
**Tableau I.13.** Les flavonoïdes isolés du genre *Lepidium* (suite)

Flavonoïdes	Structures	Espèces	Références
Apetalumoside B10	231	<i>L. apetalum</i>	[135]
Apetalumoside B11	232		
Apetalumoside B12	233		
Apetalumosides C1	234		
Catéchine	55	<i>L. meyenii</i>	[77]
Dihydroquercetine	54	<i>L. sativum</i>	[124]
Tricine	235	<i>L. meyenii</i>	[104]
Genkwanin- 4'-O-D glucoside	236	<i>L. draba</i>	[93]
Luteoline 7-O-glucoside	58	<i>L. sativum</i>	[124]
Apigénine-7-glucoside	64	<i>L. draba</i>	[125]
tricine 4'-O-(threo-β-guaiacyl-(7''-O-méthyl)-glyceryl) éther	237	<i>L. meyenii</i>	[104]
Tricine 4'-O-(erythro-β-guaiacyl-glyceryl) éther	238		

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
193	O-rutinoside	H	OH	OH
194	-O-β-D-glucofuranosyl	β-L- Rha	OH	OH
195	O-β-D-Glc	H	O-β-D-gentiobioside	OH
196	O-(2-O-sinapoyl)-β-D-galactopyranosyl-(1→2)-β-D-Glc	H	O-α-L-Rha	OH
197	O-β-D-Glc-(1-2)-β-D-Glc	H	O-β-D-Glc	OH
198	OH	H	O-α-L- Rha	OH
199	O-β-D-Glc	H	O-α-L- Rha	OH
200	O (2-O-feruloyl-β-D-Glc-(1-2)-β-D-Glc	H	O-Glc	OH
201	O-β-D-sophoroside-	H	O-α-L-rha	OH
202	O-robinoside-	H	O-(2'''-(E)-feruloyl)-sophoroside	OH
212	O-Glc	H	OCH <sub>3</sub>	O-Glc
213	O-Glc	H	OCH <sub>3</sub>	OH
214	O-Glc	H	OH	OH
215	O-α-L- Rha -(1→2)-α-L-arabinopyranose	H	OH	OH
236	H	H	OCH <sub>3</sub>	O-Glc

**Figure I.16.** Structures des composés de 193 à 202, 212 à 215 et 236 isolés du genre *Lepidium*

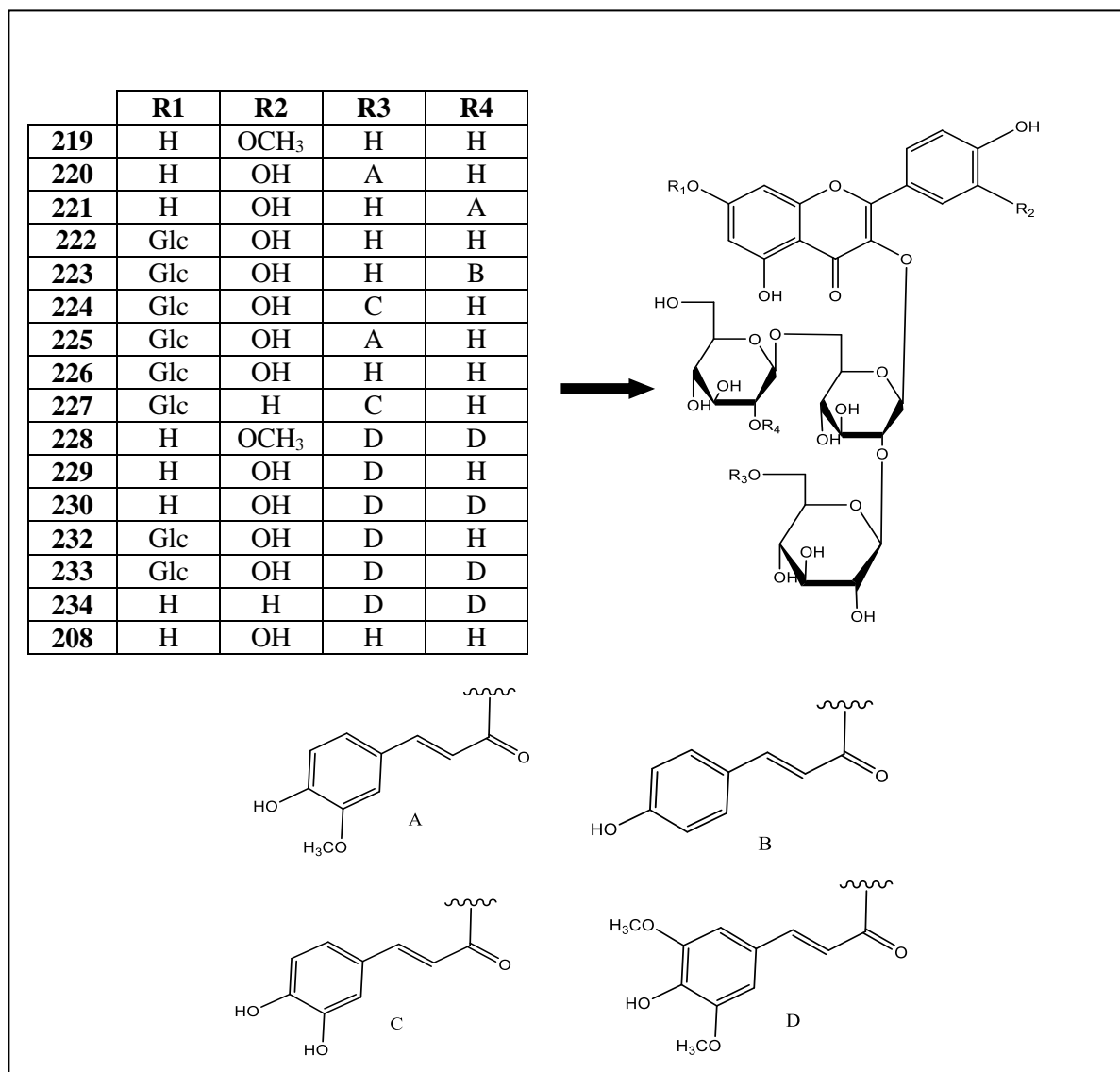
## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.17.** Structures des composés de **203** à **207**, de **209** à **211**, de **216** à **218**, **231**, **235** et de **237** à **238** isolés des espèces du genre *Lepidium*



## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.18.** Structures des composés **208**, de **219** à **230**, de **232** à **234** isolés des espèces du genre *Lepidium*

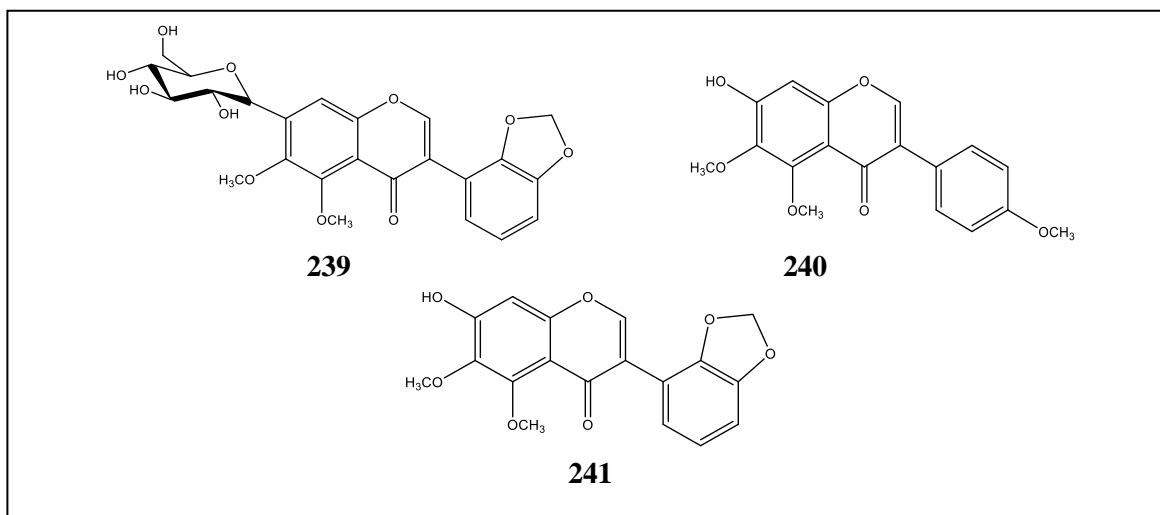
### ➤ Les isoflavonoïdes

Les structures des isoflavonoïdes isolés (**239-241**) de l'espèce *L. sativum* sont représentées dans le tableau I.14 et la figure I.19.

**Tableau I.14.** Les isoflavonoïdes isolés de l'espèce *L. sativum*

Isoflavonoïdes	Structures	Références
5,6-diméthoxy-2',3'-méthylène dioxy-7-C-β-d-gluco-pyranosyl isoflavone	<b>239</b>	<b>[136]</b>
7-hydroxy-4',5,6-triméthoxy isoflavone	<b>240</b>	
7-hydroxy-5,6-diméthoxy-2',3'-méthylenedioxyisoflavone	<b>241</b>	

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.19.** Structures des composés de **239** à **241** isolés de l'espèce *L. sativum*

### ➤ Les macamides

Les macamides sont des composés bioactifs qui n'ont été trouvés que dans l'espèce *L. meyenii* connu par la maca. Elles sont constituées d'une partie benzylamide liée à une longue chaîne d'acide gras. Elles ont suscité l'intérêt de nombreux domaines de recherche en raison de ses multiples activités [137-139].

Les structures des différents macamides isolés de l'espèce *L. meyenii* (**242-262**) sont citées dans le tableau I.15 et les figures I.20, I.21 et I.22.

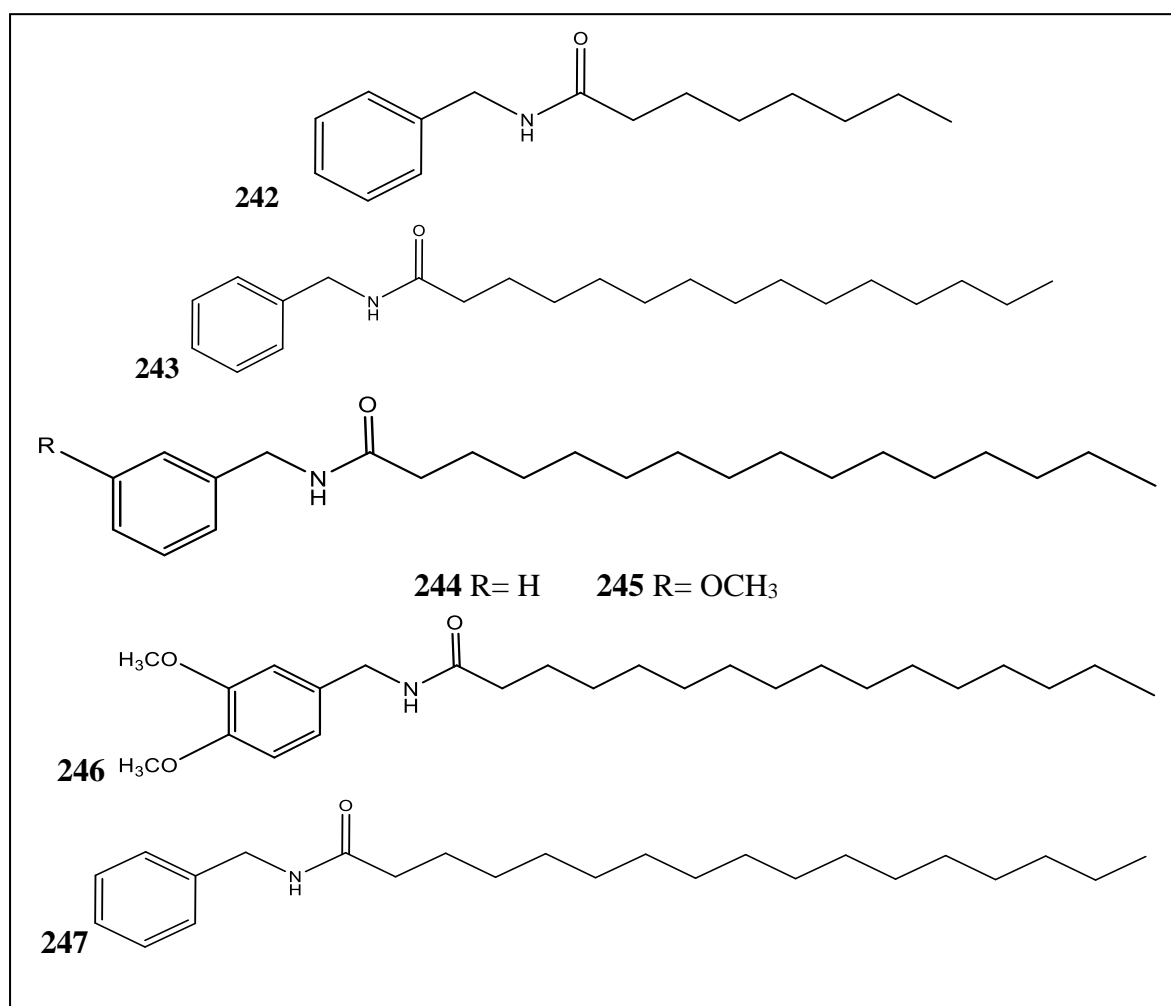
**Tableau I.15.** Les macamides isolés de l'espèce *L. meyenii*

Macamides	Structures	Références
<i>N</i> -benzyl octanamide	<b>242</b>	[114]
<i>N</i> -benzyl pentadecanamide	<b>243</b>	[140]
<i>N</i> -benzyl hexadecanamide	<b>244</b>	[77, 106, 122, 140-141]
<i>N</i> -( <i>m</i> -méthoxybenzyl) hexadecanamide	<b>245</b>	[106, 140,142]
<i>N</i> -(3,4-diméthoxybenzyl)-hexadecanamide	<b>246</b>	[140]
<i>N</i> -benzylheptadecanamide	<b>247</b>	
<i>N</i> -benzyloctadecanamide	<b>248</b>	[140-141]
<i>N</i> -benzyl-9 <i>Z</i> -octadecenamide ( <i>N</i> -benzyl oleamide)	<b>249</b>	[106, 140-141]
<i>N</i> -(3-méthoxybenzyl) -9 <i>Z</i> -octadecanamide	<b>250</b>	[143]
<i>N</i> -benzyl-(9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> )-octadecadienamide ( <i>N</i> -benzylinoleamide)	<b>251</b>	[140-141, 143]
<i>N</i> -(3-méthoxybenzyl)-(9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> )-octadecadienamide	<b>252</b>	[140, 143]
<i>N</i> -benzyl-(9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> ,15 <i>Z</i> )-octadecatrienamide	<b>253</b>	[140-141]

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.15.** Les macamides isolés de l'espèce *L.meyenii* (suite)

Composés identifiés	Structures	Références
N-(3-méthoxybenzyl)-(9Z,12Z,15Z)-octadécatriénamide	<b>254</b>	[140, 143]
N-benzyl-5-oxo-6E,8E-octadécadiénamide	<b>255</b>	[77, 122]
N-benzyl-9-oxo-12Z,15Z-octadécadiénamide	<b>256</b>	[142]
N-benzyl-13-oxo-9E,11E-octadécadiénamide	<b>257</b>	
N-benzyl-9-oxo-12Z-octadécénamide	<b>258</b>	
N-benzyl-16-hydroxy-9-oxo-10E, 12E,14E-octadécatriénamide	<b>259</b>	[114]
N-benzyl-9,16-dioxo-10E,12E,14E-octadécatriénamide	<b>260</b>	
N-benzyltétracosanamide	<b>261</b>	[140]
N-benzyl-15Z-tétracosénamide	<b>262</b>	[140, 142]



**Figure I.20.** Structures des composés de 242 à 247 isolés de l'espèce *L.meyenii*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

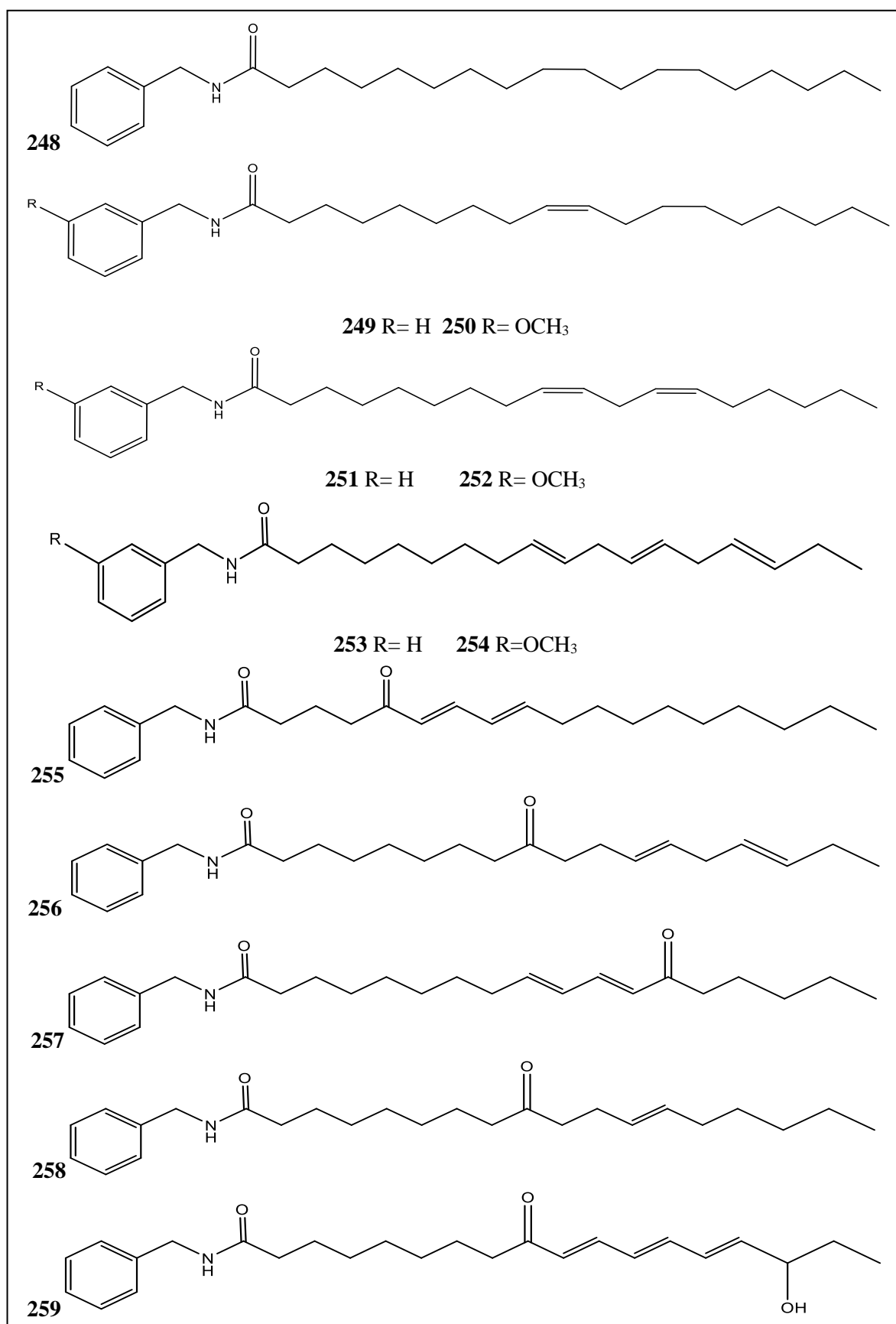
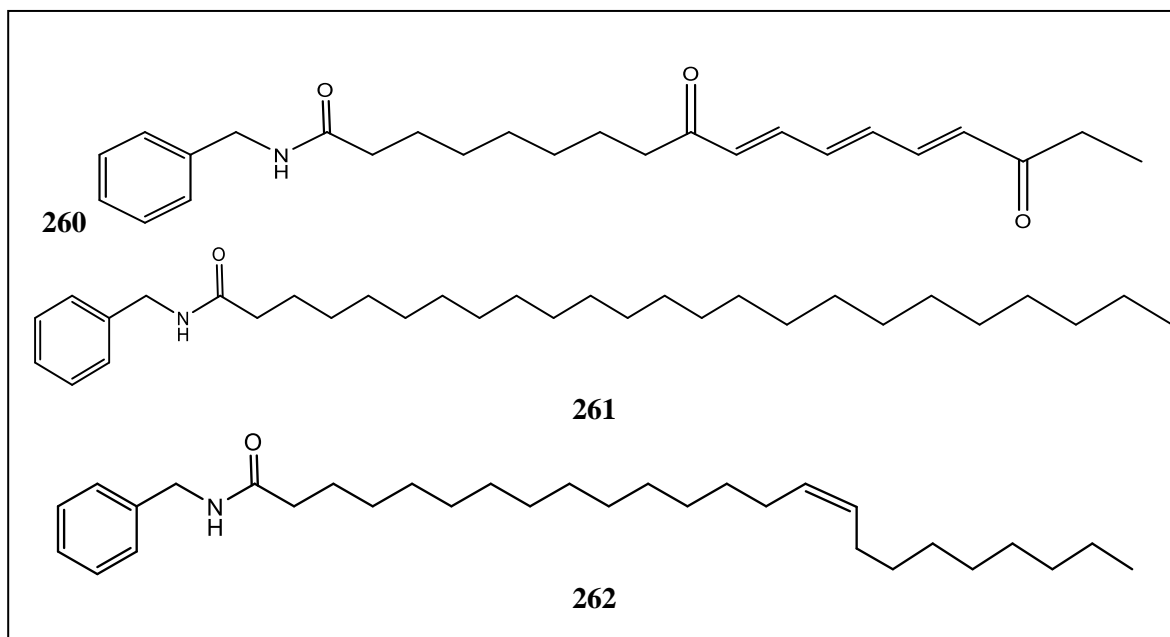


Figure I.21. Structures des composés de 248 à 259 isolés de l'espèce *L. meyenii*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.22.** Structures des composés de **260** à **262** isolés de l'espèce *L. meyenii*

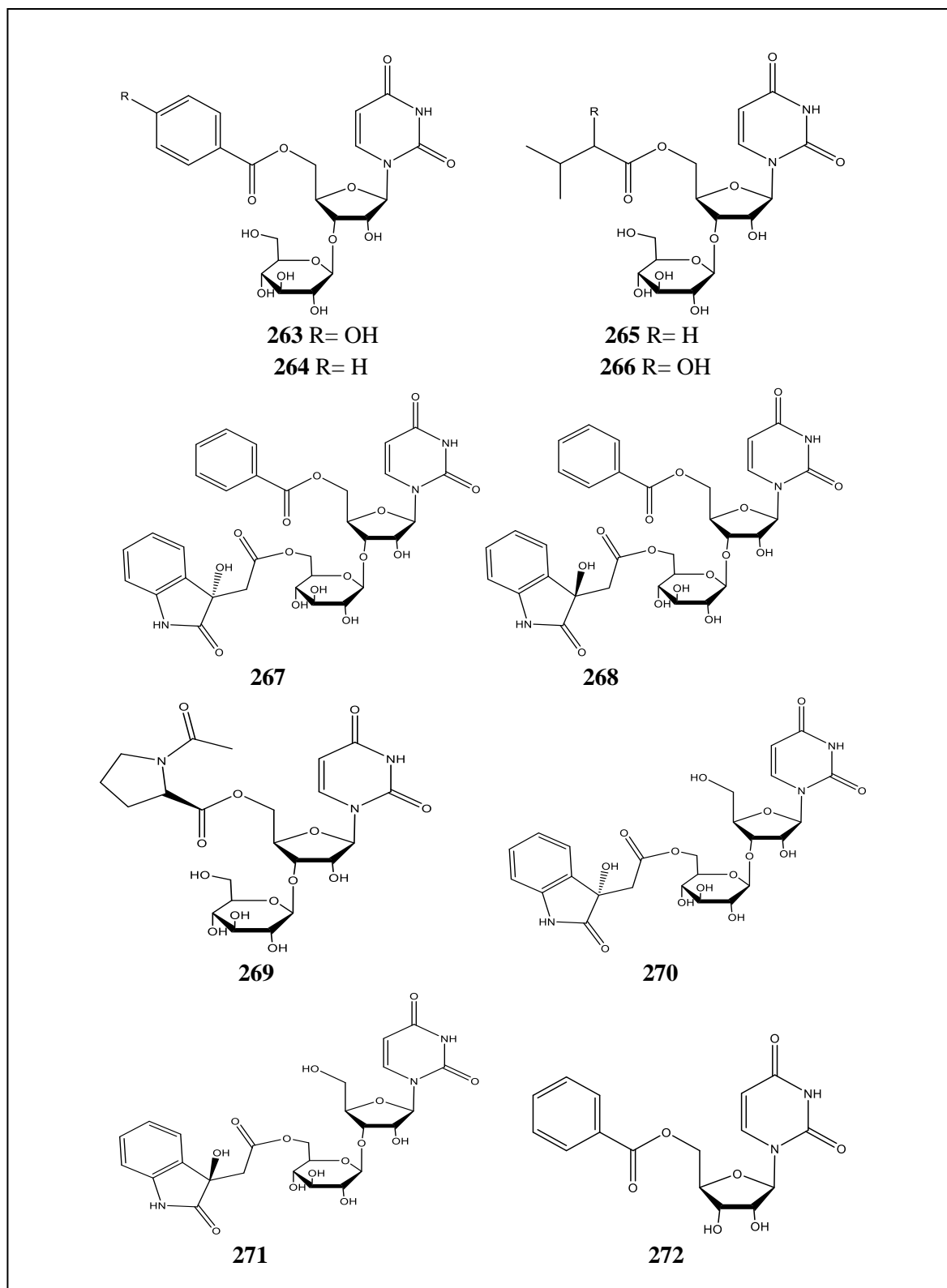
D'autres composés, cités dans les tableaux et les figures ci-dessous, ont été isolés à partir des différentes espèces du genre *Lepidium*.

Les structures des dérivés de l'uridine (**263-272**) sont citées dans le tableau I.16 et la figure I.23

**Tableau I.16.** Les dérivés de l'uridine isolés de l'espèce *L. apetalum*

Dérivés de l'uridine	Structures	Référence
Lepidiumuridine B	<b>263</b>	[144]
Lepidiumuridine C	<b>264</b>	
Lepidiumuridine D	<b>265</b>	
Lepidiumuridine E	<b>266</b>	
Lepidiumuridine F	<b>267</b>	
Lepidiumuridine G	<b>268</b>	
Lepidiumuridine H	<b>269</b>	
Lepidiumuridine I	<b>270</b>	
Lepidiumuridine J	<b>271</b>	
Lepidiumuridine K	<b>272</b>	

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



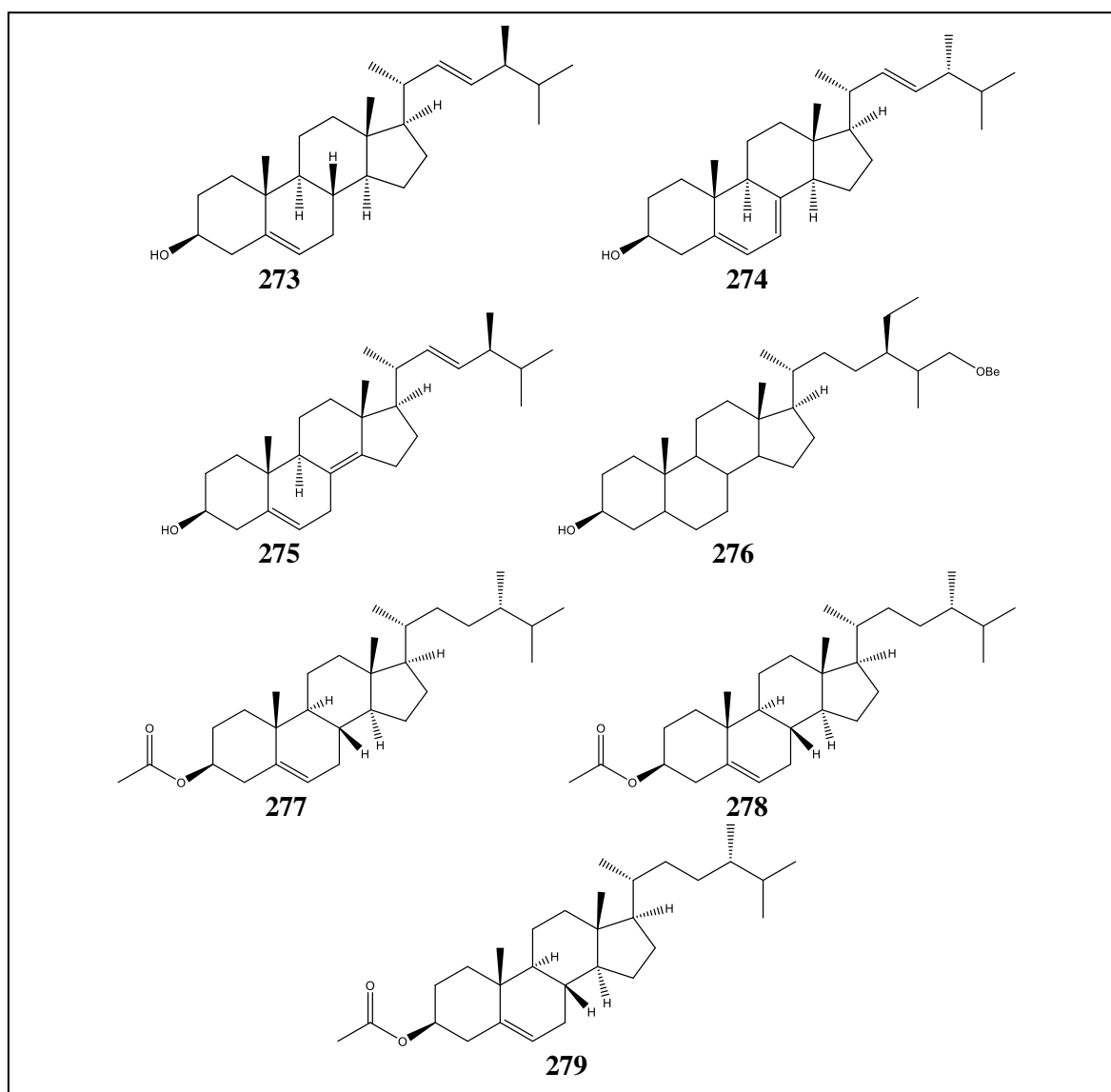
**Figure I.23.** Structures des composés de **263** à **272** isolés de l'espèce *L. apetalum*

Le tableau et la figure ci-dessous regroupent les structures des stérols (**130-132** et **273-279**) isolés du genre *Lepidium*.

# Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.17.** Les stérols isolés du genre *Lepidium*

Stérols	Structures	Espèces	Références
$\beta$ -sitostérol	<b>130</b>	<i>L. sativum</i> <i>L. meyenii</i>	[77-78, 114]
Stigmastérol	<b>131</b>		[114, 145]
Brassicastérol	<b>273</b>	<i>L. meyenii</i>	[77]
Ergostérol	<b>274</b>		
Ergostadienol	<b>275</b>		
Campesterol	<b>132</b>		
Stigmast-5-en-3, $\beta$ 27-diol 27-benzoate	<b>276</b>	<i>L. sativum</i>	[146]
Campesteryl acétate	<b>277</b>	<i>L. meyenii</i>	[106]
Ergosteryl acétate	<b>278</b>		
Ergosta-5,22,-dien-3-ol, acétate, (3 $\beta$ ,22E)	<b>279</b>	<i>L. sativum</i>	[145]



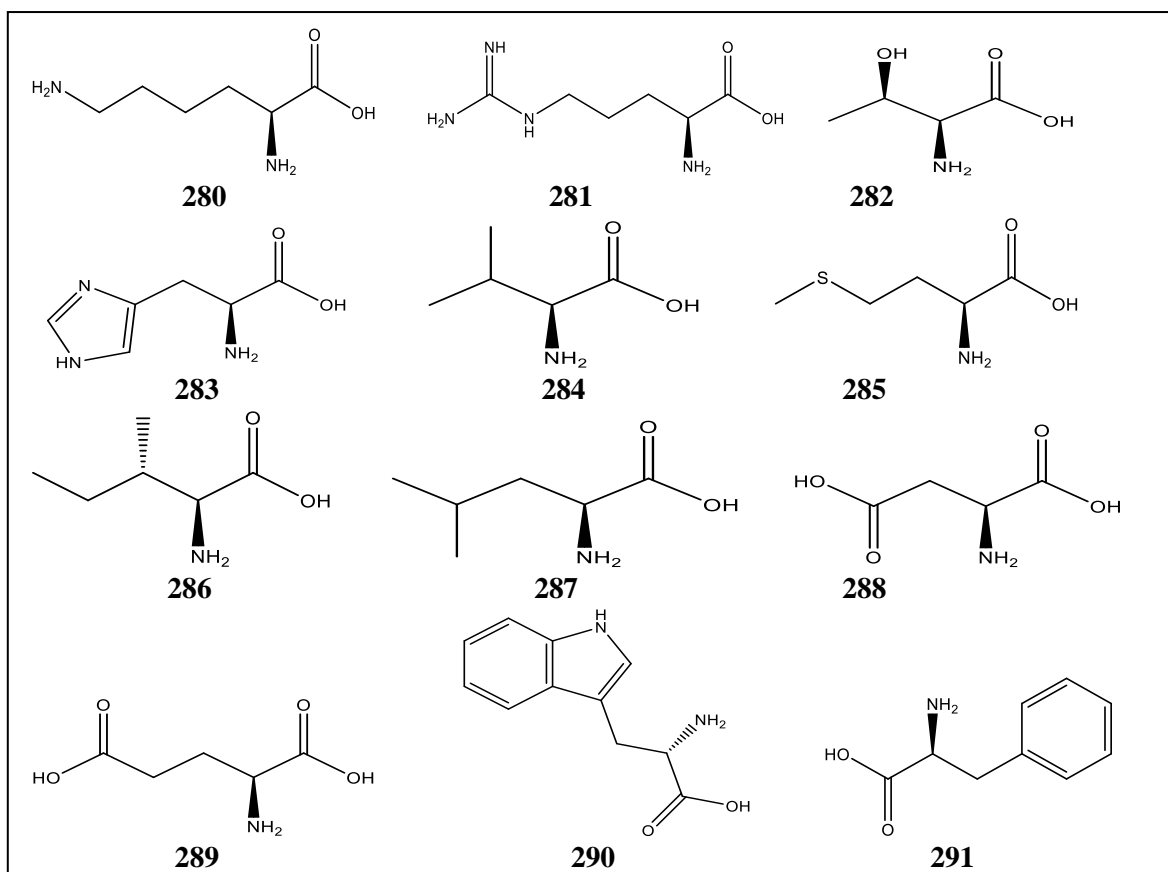
**Figure I.24.** Structures des composés de 273 à 279 isolés du genre *Lepidium*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

Les structures des acides aminés identifiés dans le genre *Lepidium* (280-291) sont citées dans le tableau I.18 et la figure I.25

**Tableau I.18.** Les acides aminés isolés du genre *Lepidium*

Acides aminés	Structures	Espèces	Réf
Lysine	280	<i>L. meyenii</i>	[77, 81]
Arginine	281	<i>L. sativum</i>	
Thréonine	282	<i>L. sativum</i>	[81]
Histidine	283		
Valine	284		
Méthionine	285		
Isoleucine	286		
Leucine	287		
Acide aspartique	288		
Acide glutamique	289		
L-tryptophane	290		
Phényl alanine	291	<i>L. sativum</i> <i>L. meyenii</i>	[81, 104]



**Figure I.25.** Structures des composés de 280 à 291 isolés des espèces du genre *Lepidium*

Les acides gras saturés (110-115, 117, 119, 292-296) et insaturés (120-122, 297-304) identifiés dans le genre *Lepidium* sont cités dans le tableau I.19



## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.19.** Les acides gras identifiés dans le genre *Lepidium*

Acides gras	Structure	Formule semi-développée	Espèces	Références
Acide octanoïque	<b>292</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -COOH	<i>L. meyenii</i>	[114]
Acide caprique	<b>293</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> -COOH		
Acide laurique	<b>110</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> -COOH		[106, 114, 147]
Acide tridécanoïque	<b>294</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> -COOH		[106]
Acide myristique	<b>111</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> -COOH		[106, 114]
Acide pentadécanoïque	<b>112</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> COOH		[106]
Acide palmitique	<b>295</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH	<i>L. meyenii</i> <i>L. draba</i>	[77, 106, 114, 116]
Acide margarique	<b>113</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> COOH	<i>L. meyenii</i>	[106]
Acide stéarique	<b>114</b>	CH <sub>3</sub> -[CH <sub>2</sub> ] <sub>16</sub> -COOH.	<i>L. meyenii</i> <i>L. sativum</i>	[114, 145]
Acide nonadécanoïque	<b>296</b>	CH <sub>3</sub> -[CH <sub>2</sub> ] <sub>17</sub> -COOH.	<i>L. meyenii</i>	[106]
Acide arachidique	<b>115</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH		
Acide béhénique	<b>117</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> -COOH		
Acide lignocérique	<b>119</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> -COOH.		
Acide palmitoléique (oméga7)	<b>120</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH		
Acide oléique (oméga9)	<b>121</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH		[77, 106, 114]
acide linoléique (oméga6)	<b>122</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -CH = CH-CH <sub>2</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH		
Acide α-linolénique	<b>297</b>	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH = CH-CH <sub>2</sub> -CH = CH-CH <sub>2</sub> -CH=CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH		[114]
Acide 7-tridécanoïque	<b>298</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOH		[106]
Acide 7-pentadécanoïque	<b>299</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOH		[77, 122]
Acide 5-oxo-6E,8 Eoctadécadiénoïque	<b>300</b>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> -CH=CH-CH=CH-C=O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -COOH		
Acide 9-heptadécénoïque	<b>301</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH		[106]
Acide 11-nonadécénoïque	<b>302</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> COOH		
Acide 15-eicosénoïque	<b>303</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> COOH		
Acide nervonique	<b>304</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH = CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> COOH		

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.20.** Autres composés de différentes classes isolés du genre *Lepidium*

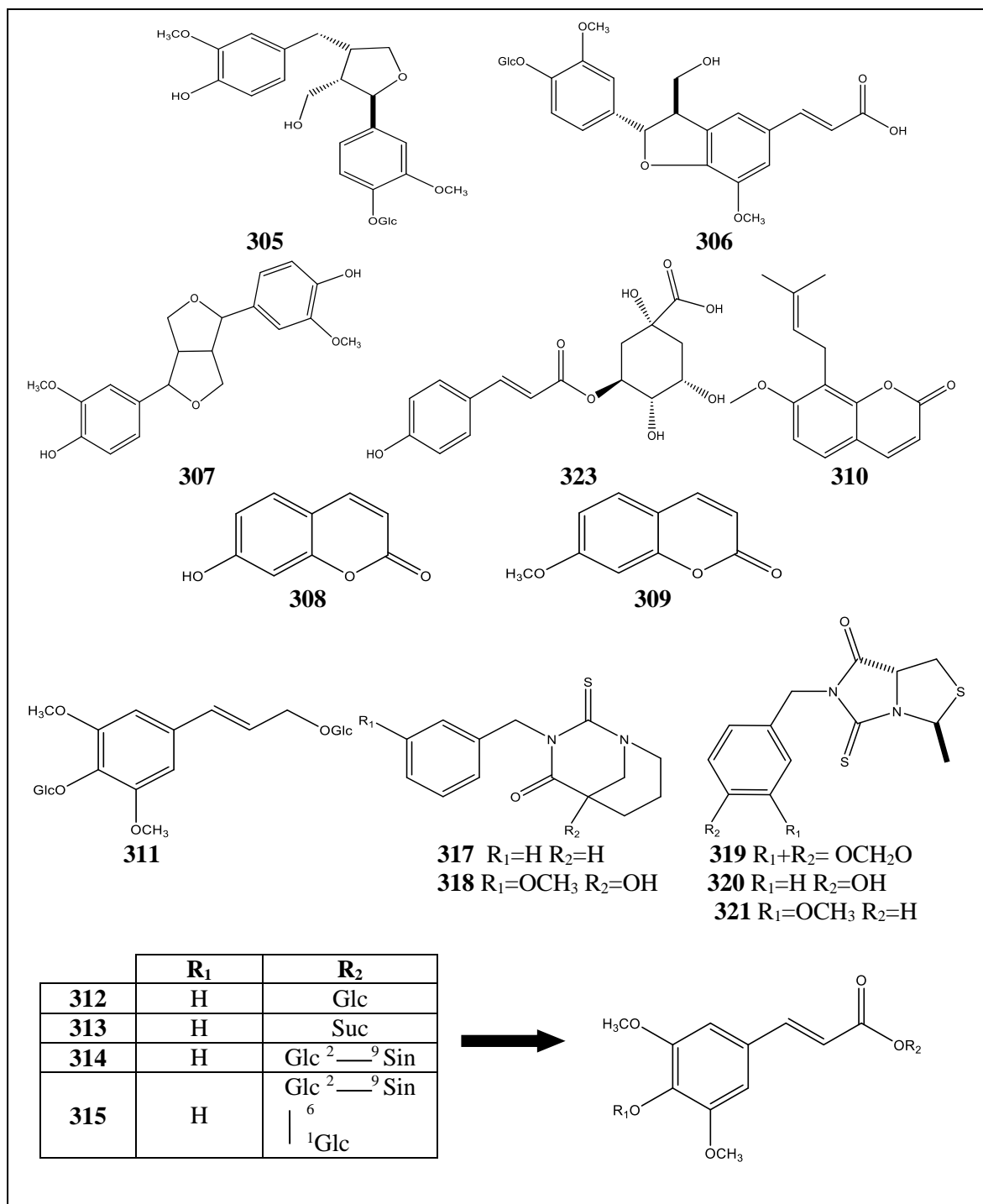
Composés identifiés	Structures	Espèces	Références
<b>Lignane</b>			
Lariciresinol 4'-O-β-D-glucopyranoside	305	<i>L. apetalum</i>	[123]
(7S,8R)- aegineoside	306		
Pinorésinol	307	<i>L. meyenii</i>	[104]
<b>Coumarines</b>			
Umbelliféronne	308	<i>L. ruderale</i>	[99]
Herniarine	309		
Osthol	310	<i>L. sativum</i>	[126]
<b>Cinnamate esters</b>			
4,9-di-O-β-D-glucosyl sinapoyl alcohol	311	<i>L. apetalum</i>	[123]
Sinapoylglucose	312		
sinapoyl-9-sucroseoside	313		
1(E),2(E)-di-O-sinapoyl-β-D-glucopyranoside	314		
1,2-disinapoylgentiobiose	315		
Sinapoyl malate	316	<i>L. sativum</i>	[102]
<b>Thiohydantoine</b>			
Macahydantoine A	317	<i>L. meyenii</i>	[148]
Macahydantoine B	318		
<b>Autres</b>			
(+)-Meyeniine A	319	<i>L. meyenii</i>	[149]
(+)-Meyeniine B	320		
(+)-Meyeniine C	321		
staphylionosides A	322	<i>L. sativum</i>	[126]
Acide coumaroyl quinique	323		[149]
Acide <i>p</i> -coumaroyl glycolique	324		[145]
6-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-3-one	325		
9-Oxabicyclo[3.3.1]nonane-2,6-diol	326		
glycyl-dl-serine	327		
2-hydroxy-1,1,10-triméthyl-6,9-epidioxydecaline	328		
4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-méthyl-,	329		
Acide thiocyanique, octyl ester	330		
2,3-dihydro benzofurane	331		
2-méthoxy-4-vinylphénol (cp phénolique)	332		
Ascaridole epoxide	333		
Phénol, 2-méthoxy-5-(1-propényl)-, (E),	334		
2H-Indeno[1,2-b]furan-2-one,3,3a,4,5,6,7,8,8b-octahydro-8,8-dim	335		
Limonen-6-ol, pivalate	336		
(5β) Pregnane-3,20β-diol, 14α, 18α-[4-méthyl-3-oxo-(1-oxa-4-azabule	337		
Acide cinnamique, 4-hydroxy-3-méthoxy-, {5-hydroxy-2-hydroxyméthyle	338		

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.20.** Autres composés de différentes classes isolés du genre *Lepidium* (suite)

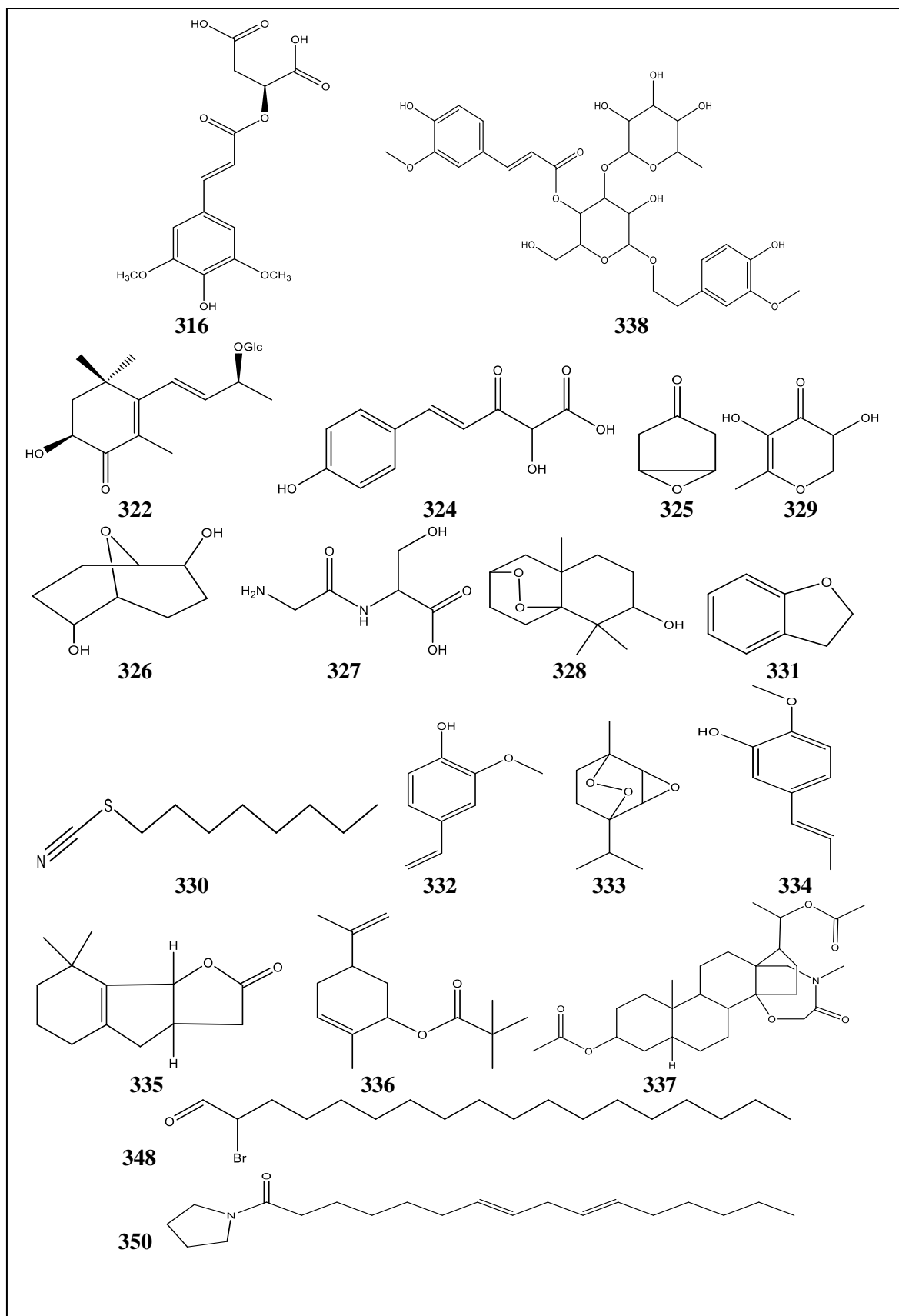
Composés identifiés	Structures	Espèces	Réf
9-oximino-2,7-diethoxy fluorene	339	<i>L. sativum</i>	[145]
Phorbol	340		
Streptovitacine A	341		
4,25-Secoobscurinervan-4-ol,6,7-didehydro-22-éthyl 15,16-diméthyle	342		
Desulphosinigrine	343		
Desulphosinigrine	343		
Méthyl (1-O-retinyl-2,3,4-triacétyl - $\beta$ -D-glucopyrane) urate	344		
Tétra acétyl -d-xylonique nitrile	345		
Dasycarpidan-1-méthanol, acétate	346		
1H-cyclopropa[3,4]benz[1,2-e]azulene-5,7b,9,9a- tetrol,1a,1b,4,4a	347		
2-Bromo octa décanal	348		
Tributyl acétyl citrate	349		
Pyrrolidine, 1-(1-oxo-7,10-hexa decadienyl)	350		
8H-Azecino[5,4-b] indol-8-one, 5-éthyl idene- 1,2,3,4,5,6,7,9-octahy	351		
16-Nitrobicyclo[10.4.0]hexadecane-1-ol-13-one	352		
2H-benzo[f]oxireno[2,3-E]benzofuran-8(9H)-one, 9-[2- (diméthylan)	353		
Pregn-5-ene-3,8,11,12,14,20-hexol, (3 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,12 $\beta$ ,14 $\beta$ ,20R),	354		
Tocopherol	355		
9,19-Cyclolanostane-3,7-diol	356		
Deoxyspergualine	357		
2-Furan, 5-méthyl carboxaldéhyde	358		
5-(Hydroxyméthyl)-furfural	359	<i>L. sativum</i> <i>L. meyenii</i>	[104, 145]
Nicotinate de méthyle	360	<i>L. sativum</i>	[145]
Acide thiocyanique	361		[150]
Alcool benzylique	362		[113]
Benzaldéhyde	363		
Phényle acétonitrile	364		
3-Phényl propionitrile(7-phenethyl cya	365		
2-Phényl acétamide	366	<i>L. apetalum</i>	[151]
5-(méthylsulfanyl) pentanenitrile	367	<i>L. draba</i>	[116]
Phytol	368		

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.26.** Structures des composés de **305** à **315**, de **317** à **321** et **323** isolés des espèces du genre *Lepidium*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.27.** Structures des composés 316, 322, de 324 à 337, 348 et 350 isolés des espèces du genre *Lepidium*

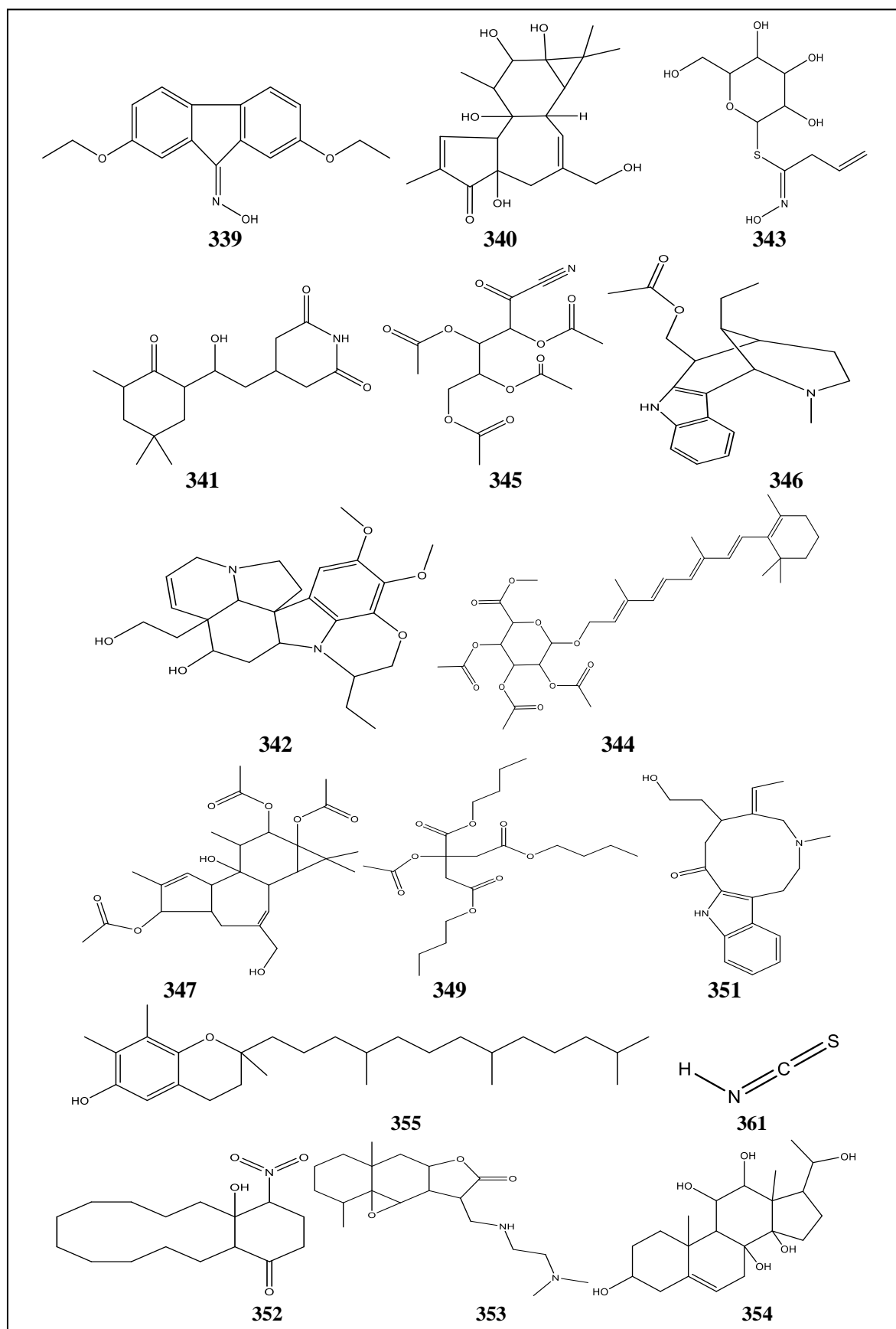
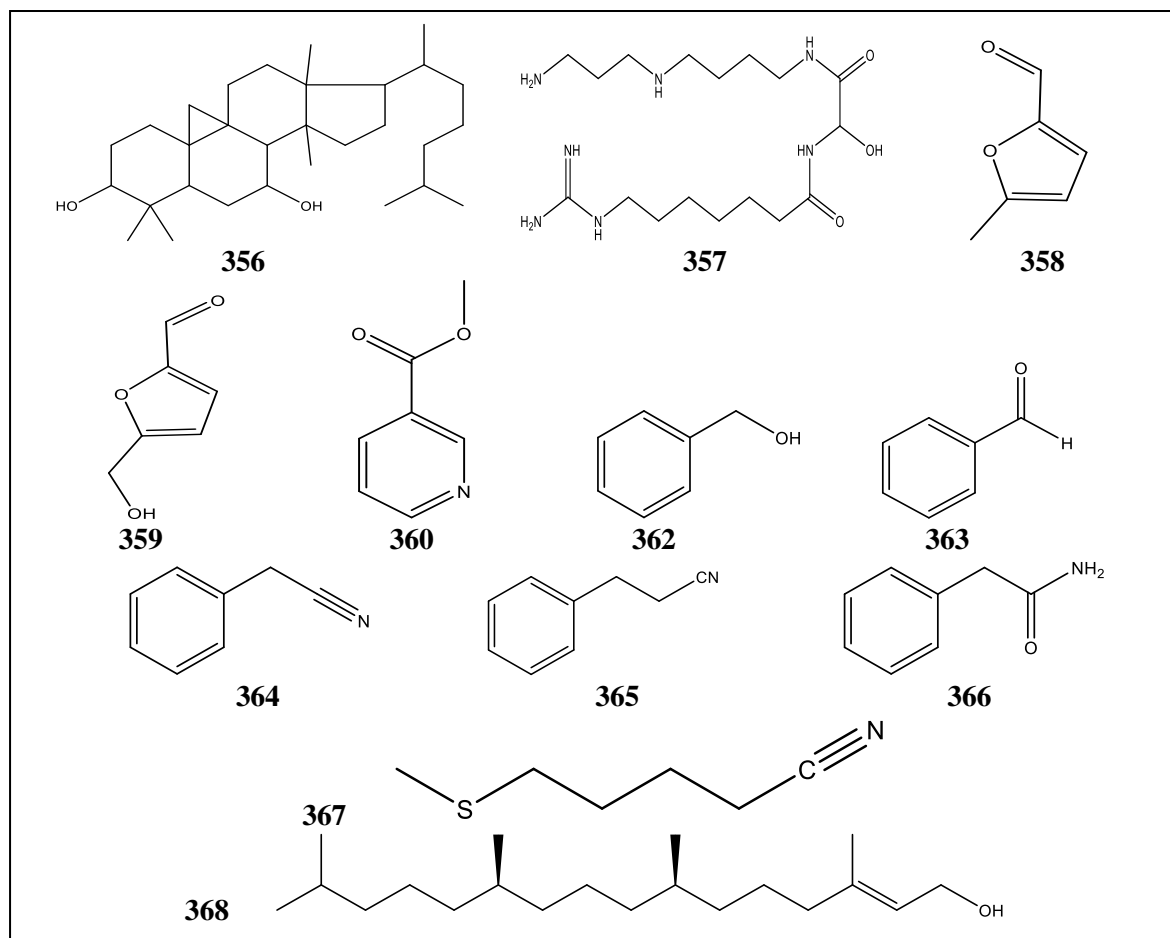


Figure I.28. Structures des composés de 339 à 347, 349, de 351 à 355 et 361 isolés des espèces du genre *Lepidium*

## Chapitre I. Aperçu bibliographique



**Figure I.29.** Structures des composés **356** à **360** et de **362** à **368** isolés des espèces du genre *Lepidium*

### I.3. Famille des Pinacées

La famille des Pinacées ou Abiétacées appartient à un grand groupe d'arbres à feuilles appelé conifères. Il compte 225 espèces réparties en 12 genres (*Abies*, *Hesperopeuce*, *Cedrus*, *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudolarix*, *Pseudotsuga*, *Tsuga*, *Cathaya*, *Ketelaria* et *Nothotsuga*) [152]. En Algérie, on rencontre trois genres qui sont : *Abies* (le Sapin), *Cedrus* (le Cèdre), *Pinus* (le Pins) [153].

Cette famille est considérée comme une source naturelle d'une grande importance économique, certaines espèces sont très exploitées pour leur bois (utilisé pour la production des poteaux électriques et téléphoniques et couramment utilisé dans la menuiserie, la pâte de bois est destinée à la fabrication du papier), leurs huiles essentielles sont des matières premières utilisées dans les cosmétiques, les aliments et une variété de produits ménagers. [152, 154].

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

### I.3.1. Caractéristiques botaniques des Pinacées

Les pinacées sont des arbres ou des arbustes, soit à feuilles linéaires ou en aiguille, généralement persistantes. Les inflorescences femelles en cônes est ligneux à maturité, les écailles du cône portent deux ovules [155]. Ils contiennent de la résine et ont souvent une odeur particulière due à des carbures monoterpéniques, les pinènes qui jouent un rôle dans la défense des arbres contre les herbivores [156].

### I.3.2. Répartition géographique des Pinacées

Cette famille est exclusivement distribuée dans l'hémisphère nord à l'exception d'une espèce équatoriale de *Pinus* à Sumatra. Les espèces rares se rencontrent dans les habitats de montagne, en particulier dans les forêts de conifères des régions tempérées à froides ; moins fréquemment, ils se produisent dans les régions semi-arides et sous les latitudes tropicales et subtropicales [157].

### I.3.4. Classification des Pinacées

Les Pinacées appartiennent à l'ordre des Pinales, elles sont classées actuellement, selon la classification réalisée en 2009, à la classe Pinopsida [158-159].

**Tableau I.21.** Position systématique des Pinacées

	<b>Classification</b>
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermatophytina
<b>Sous embranchement</b>	Gymnospermae
<b>Division</b>	Pinophyta
<b>Classe</b>	Pinopsida
<b>Ordre</b>	Pinales
<b>Famille</b>	Pinaceae

### I.3.5. Le genre *Cedrus*

#### I.3.5.1. Généralités sur le genre *Cedrus*

Le genre *Cedrus* compte quatre espèces végétales: *Cedrus libani* naturellement présent au Liban, en Syrie et en Turquie, *Cedrus atlantica* originaires d'Afrique du nord au Maroc et en Algérie, *Cedrus brevifolia* sur l'île de Chypre et *Cedrus deodara* qui est distribué dans les montagnes de l'Himalaya [160]. Les forêts de cèdres couvrent une superficie de plus de 130 000 ha distribués au Maroc (Rif, Moyen Atlas et nord-est du Haut Atlas) et en Algérie (Aurès, Belezma, Hodna, DjbelBabor, Djurdjura, Blida et Ouarsenis) [161].



## Chapitre I. Aperçu bibliographique

Le bois des cèdres a de diverses utilisations: c'est un excellent bois d'œuvre très apprécié depuis l'Antiquité (utilisé en charpente, menuiserie, ébénisterie et sculpture).

Le nom de cèdre a été utilisé pour désigner le bois de nombreuses autres essences, telles que les Genévriers et les Cyprès, d'où des confusions possibles [155].

### I.3.5.2 Description botanique du genre *Cedrus*

Selon Rameau et al. (2008) [155], le genre *Cedrus* possède les caractères suivants:

- aiguilles assez raides; rameaux non, ou à peine, marqués par le prolongement (décurrence) des bases foliaires,
- feuilles en aiguilles courtes, persistantes, raides, insérées isolément sur des rameaux longs (alors décurrentes sur le rameau) ou rassemblées par bouquets sur des rameaux courts,
- inflorescences mâles et femelles solitaires, à l'extrémité de rameaux courts,
- gros cônes, ovoïdes, dressés, à écailles membraneuses, se désarticulant à maturité (2 à 3 ans après la floraison).
- bois aux cernes bien apparents, avec une zone finale de bois d'été dense et colorée, absence de canaux résinifères normaux, mais présence assez fréquente de canaux sécréteurs traumatiques longitudinaux, rayons ligneux à tendance bisériée fréquente, duramen distinct, de couleur ocre à brun clair ou brun orangé
- odeur très marquée quand le bois est frais, due aux oléorésines contenues dans le parenchyme longitudinal subsistant dans le bois sec.

### I.3.5.3 Utilisations traditionnelles des espèces du genre *Cedrus*

Les huiles essentielles obtenues à partir de différentes espèces de cèdres, telles que *C.atlantica*, *C.deodora* et *C.libani* ont été rapportées par leur utilisation en médecine traditionnelle pour traiter les maladies génito-urinaires, cutanées et pour le traitement des troubles musculo-squelettiques. L'huile essentielle de *Cedrus atlantica* présente des propriétés sédatives, analgésiques et anti-inflammatoires [162]. Au Maroc, l'unique utilisation médicinale des productions du cèdre est celle qui est faite du goudron [163].

Le bois de la plante *C. deodara* est utilisé pour améliorer la fonction cérébrale et renforcer le cerveau. Il a été rapporté qu'il a été utilisé comme un neuroleptique [164]. Il est également utilisé comme diaphorétique, utile pour traiter les troubles pulmonaires et urinaires, le rhumatisme, les hémorroïdes, les calculs rénaux et aussi l'antidote contre les morsures de serpent. L'écorce est utilisée pour baisser la fièvre, traiter la diarrhée et la dysenterie. L'huile extraite de la racine est utilisée pour les maladies de la peau des chèvres et des chameaux.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

L'oléorésine de *C. deodara* de couleur foncée est appliquée sur les ulcères et les maladies de la peau [165-166].

L'huile de bois de *C. libani* est utilisée pour soigner la lèpre. En Turquie, une sorte de goudron obtenu à partir de sa racine est utilisé pour traiter les maladies de la peau chez les animaux et pour tuer les parasites [167].

### I.3.5.3 Activités biologiques reconnues

Les huiles essentielles isolées des espèces du genre *Cedrus* sont des sources naturelles importantes car elles possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques:

L'huile essentielle du bois de *C. deodara* est utilisée comme insectifuge, elle a un effet inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase, anti-ulcéreux [154, 168], ainsi qu'une activité anti-inflammatoire, analgésique, antitumorales et immunomodulatrices, elle influence sur le système nerveux, elle a un effet cytotoxique, neuroleptique et antioxydant [164, 169-170].

L'espèce *C. atlantica* distribué uniquement dans les montagnes du Maroc et de l'Algérie possède une activité antimicrobienne intéressante. L'huile essentielle de cette plante a été déjà étudiée, elle a montré des propriétés antiseptiques, diurétiques, anti-inflammatoires, antifongiques et antivirales. Elle est également utilisée dans le traitement de la chute des cheveux [171-174].

Diverses études ont indiqué que l'huile essentielle de *C. libani* possède de nombreuses propriétés pharmacologiques, y compris l'activité anti-inflammatoire, antivirale, ainsi qu'un effet inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase et une activité biologique contre le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) [160, 167, 175-176].

L'espèce *C. brevifolia* possède également des propriétés antioxydantes [177] et antivirales [160].

### I.3.5.4. Travaux antérieurs sur les huiles essentielles du *Cedrus*

De nombreux travaux ont été effectués sur les huiles essentielles des espèces du genre *Cedrus*. Le tableau I.22 renferme les composants majoritaires de quelques études.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.22.** Composants majoritaires des huiles essentielles du genre *Cedrus*

Espèce	Partie de la plante	Composants majoritaire	Pourcentage (%)	Origine	Références
<i>Cedrus atlantica</i>	parties aériennes	$\alpha$ -pinène $\beta$ -pinène Myrcene Limonene	34,1 31,7 17,2 5,1	Maroc	[178]
	Aiguilles	$\alpha$ -pinène $\beta$ -pinène $\beta$ -mycène	34,1 31,7 17,2	Maroc (Rabat)	[179]
	tiges, feuilles et fleurs	$\beta$ -himachalène $\alpha$ -himachalène $\gamma$ -himachalène	31,24 15,63 14,46	Maroc	[180]
	Bois	E- $\alpha$ -atlantone $\beta$ -himachalène Himachalol $\alpha$ -himachalène	28,75 14,62 7,11 5,72	Maroc (Azrou)	[181]
	Feuilles	$\alpha$ -pinène Himachalène $\beta$ -himachalène $\sigma$ -himachalène	14,85 10,14 9,89 7,62	Maroc (Tichoukt)	[182]
	Brindille	$\alpha$ -pinène $\beta$ -caryophyllène Caryophyllène $\alpha$ -humulène	23,4 11,4 5,5 2,3	Algérie (Alger)	[183]
	Aiguilles	$\alpha$ -pinène Caryophyllène $\beta$ -caryophyllène $\alpha$ -terpineol $\alpha$ -humulène	17,7 10,3 9,1 6,7 2,0		
	Bois	$\beta$ -caryophyllène $\alpha$ -pinène $\alpha$ -humulène	6,0 5,6 1,3		
	Graines	$\alpha$ -pinène $\beta$ -pinène Manool (E)- $\beta$ -farnesène Mycène	37,1 8,6 8,3 6,8 3,6	Algérie (Aurès)	[184]
	Graines	Manool $\alpha$ -pinène $\beta$ -pinène (E)- $\beta$ -farnésène	20,7 5,5 1,9 1,9	Algérie (Djurdjura)	

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.22.** Composants majoritaires des huiles essentielles du genre *Cedrus* (suite)

Espèce	Partie de la plante	Composants majoritaire	Pourcentage (%)	Origine	Références
<i>Cedrus atlantica</i>	Bois	$\alpha$ -(E)-atlantone $\beta$ -himachalène 8-Cedren-13-ol $\alpha$ -himachalène Cédroxyde déodarone	19,3 15,1 13,1 5,1 4,6	Maroc (Azrou)	[185]
	Bois	$\alpha$ -(E)-atlantone $\beta$ -himachalène Himachalol $\alpha$ -himachalène deodarone $\gamma$ -himachalène	30,75 14,62 6,50 5,32 4,42 3,82	Maroc (Khenifra)	[186]
	Bois	$\beta$ -Himachalène (E) - $\alpha$ -atlantone (z) - $\alpha$ -atlantone $\alpha$ -Himachalène $\gamma$ -Himachalène $\alpha$ -Calacorène ar-Turmérone (z) nuciferol Occidentalol	14,51 5,15 4,96 4,35 4,07 3,53 3,35 2,61 2,51	Algerie (setif)	[187]
	Bois	$\beta$ -himachalène $\alpha$ -himachalène $\gamma$ -himachalène (E)- $\alpha$ -atlantone	23.4-40.4 7.4-16.4 5.1-8.6 5.2-29.5	Maroc (Ras El Ma)	[188]
	Bois	$\beta$ -himachalène $\alpha$ -himachalène méthyl-1,4-cyclohexadiene <i>trans</i> -cadina-1(6),4-diène 6-camphénol Sabinène hydrate	24,25 13,76 9,06 7,65 7,44 6,17	Maroc (forêt d'Itzer)	[189]
	Bois	$\beta$ -himachalène $\alpha$ -himachalène Longifolène $\delta$ -cadinène	31,55 15,00 11,22 4,08	Algérie (les montagnes de Chréa- Blida)	[190]
	Feuilles	$\beta$ -himachalène $\alpha$ -himachalène Longifolène $\delta$ -cadinène	30,08 16,38 14,46 4,55		
<i>Cedrus deodara</i>	Aiguilles	$\alpha$ -terpineol Linalool Limonène Anéthol Caryophyllène	30,2 24,47 17,01 14,57 3,14	Chine	[191]

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

**Tableau I.22.** Composants majoritaires des huiles essentielles du genre *Cedrus* (suite)

Espèce		Composants majoritaire	Pourcentage (%)	Origine	Références
<i>Cedrus brevifolia</i>	Aiguilles	$\alpha$ -pinène	56,8	Chypre	[192]
		Limonène	7,8		
		Manoyl oxide	7,6		
		$\beta$ -pinène	4,2		
	Bois	$\beta$ -himachalène	22,2	Chypre	[154]
Aubier	$\beta$ -himachalène	25,0			
Résine	$\alpha$ -pinène	37,8			
Bois	Himachalol	22,50			
	$\beta$ -himachalène	21,90			
	$\alpha$ -himachalène	10,50			
<i>Cedrus libani</i>	Cônes	$\alpha$ -pinène	51,00	Liban	[175]
		$\beta$ -mycène	13,00		
		7,13-abietadiene	3,20		
		Terpinolène	3,10		
		Limonène	2,25		
	Feuilles	Germacrène D	29,40		
		1-epi-cubenol	6,30		
		<i>trans</i> -a-bisabolène	5,90		
		$\beta$ -caryophylène	5,60		
		$\delta$ -cadinène	5,60		
Bois	$\gamma$ -muurolene	4,83			
	Himachalol	22,50			
	$\beta$ -himachalène	21,90			
	$\alpha$ -himachalène	10,50			

### Conclusion

L'étude bibliographique effectuée sur les trois familles : Fabaceae, Brassicaceae et Pinaceae ainsi que les genres *Retama*, *Lepidium* et *Cedrus* révèle l'importance de ces genres en médecine traditionnelle.

Cette recherche bibliographique confirme bien la richesse de ces genres en métabolites secondaires de différentes classes. Les activités biologiques reconnues pour les espèces de ces genres sont probablement dues à ces composants très diversifiés.

C'est la richesse de ces genres en métabolites secondaires et leurs utilisations traditionnelles qui nous ont encouragées à sélectionner les trois espèces: *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Lepidium draba* (L.) et *Cedrus atlantica* pour objectif de réaliser une investigation phytochimique et une évaluation biologique.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

### Références bibliographiques

- [1] Wojciechowski, M. F., Lavin, M., Sanderson, M. J. (2004). A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American journal of botany*, 91(11), 1846-1862.
- [2] Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. 3ème édition. Ed. CNRS Paris, 279-281.
- [3] Heywood, V.H. (1996). Flowering Plants of the World. 3th edition, *Oxford University Press, Oxford*, 141-145, 149-152.
- [4] Haston, E., Richardson, J. E., Stevens, P. F., Chase, M. W., Harris, D. J. (2009). The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 128-131.
- [5] Azani, N., Babineau, M., Bailey, C. D., Banks, H., Barbosa, A. R., Pinto, R. B., Candido, E. (2017). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *Taxon*, 66(1), 44-77.
- [6] Benmiloud-Mahieddine, R., Abirached-Darmency, M., Brown, S. C., Kaid-Harche, M., Siljak-Yakovlev, S. (2011). Genome size and cytogenetic characterization of three Algerian *Retama* species. *Tree genetics & genomes*, 7(5), 987.
- [7] Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, Éd. Ibis Press, 418-419.
- [8] Quézel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, Ed CNRS, 306.
- [9] Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z. H., Lyoussi, B. (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of ethnopharmacology*, 110(1), 105-117.
- [10] Benítez, G. (2007). El uso de las plantas a través de la cultura tradicional lojeña. *Investigación etnobotànica del municipio de Loja. Fundación Ibn al-Jatíf de Estudios y Cooperación Cultural, Loja*.
- [11] Benítez, G., González-Tejero, M. R., Molero-Mesa, J. (2010). Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology*, 129(1), 87-105.
- [12] Louaar, S., Akkal, S., Bousetla, A., Medjroubi, K., Djarri, L., Seguin, E. (2005). Phytochemical study of *Retama sphaerocarpa*. *Chemistry of natural compounds*, 41(1), 107-108.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [13] Abouri, M., El Mousadik, A., Msanda, F., Boubaker, H., Saadi, B., Cherifi, K. (2012). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Tata Province, Morocco. *International Journal of Medicinal Plants Research*, 1(7), 99-123.
- [14] Viegli, L., Ghedira, K. (2014). Preliminary study of plants used in ethnoveterinary medicine in Tunisia and in Italy. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(3), 189-199.
- [15] Ould, E. H. M., Hadj-Mahammed, M., Zabeirou, H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du savoir vol3*, 47-51.
- [16] Telli, A., Esnault, M. A., Khelil, A. O. E. H. (2016). An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of arid environments*, 127, 82-92.
- [17] Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, Y., Alatou, D. (2012). Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie). *Phytothérapie*, 10(2), 131-142.
- [18] El-Mokasabi, F. M. (2014). Floristic composition and traditional uses of plant species at Wadi Alkuf, Al-Jabal Al-Akhder, Libya. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 14(8), 685-697.
- [19] Hudaib, M., Mohammad, M., Bustanji, Y., Tayyem, R., Yousef, M., Abuirjeie, M., Aburjai, T. (2008). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Jordan, Mujib Nature Reserve and surrounding area. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(1), 63-71.
- [20] Marc, E. B., Nelly, A., Annick, D.-D., Frederic, D. (2008). Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *Journal of ethnopharmacology*, 120, 315-334.
- [21] Ali-Shtayeh, M. S., Yaghmour, R. M. R., Faidi, Y. R., Salem, K., Al-Nuri, M. A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(3), 265-271.
- [22] Teixidor-Toneu, I., Martin, G. J., Ouhammou, A., Puri, R. K., Hawkins, J. A. (2016). An ethnomedicinal survey of a Tashelhit-speaking community in the High Atlas, Morocco. *Journal of ethnopharmacology*, 188, 96-110.
- [23] Louaar, S., Akkal, S., Laouer, H., Guilet, D. (2007). Flavonoids of *Retama sphaerocarpa* leaves and their antimicrobial activities. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(5), 616-617.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [24] Touati, R., Santos, S. A., Rocha, S. M., Belhamel, K., Silvestre, A. J. (2017). Phenolic composition and biological prospecting of grains and stems of *Retama sphaerocarpa*. *Industrial crops and products*, 95, 244-255.
- [25] Hayet, E., Samia, A., Patrick, G., Ali, M. M., Maha, M., Laurent, G., Mahjoub, L. (2007). Antimicrobial and cytotoxic activity of Marrubium alysson and *Retama raetam* grown in Tunisia. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 10(10), 1759-1762.
- [26] Hayet, E., Maha, M., Samia, A., Mata, M., Gros, P., Raida, H., Mahjoub, A. (2008). Antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of *Retama raetam* (Forssk.) Webb flowers growing in Tunisia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(12), 2933-2940.
- [27] Alghazeer, R., El-Saltani, H., Saleh, N., Al-Najjar, A., Hebail, F. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Natural science*, 4(5), 324-335.
- [28] Edziri, H., Mastouri, M., Mahjoub, M. A., Mighri, Z., Mahjoub, A., Verschaeve, L. (2012). Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of two flavonoids from *Retama raetam* flowers. *Molecules*, 17(6), 7284-7293.
- [29] Mariem, S., Hanen, F., Inès, J., Mejdj, S., Riadh, K. (2014). Phenolic profile, biological activities and fraction analysis of the medicinal halophyte *Retama raetam*. *South African Journal of Botany*, 94, 114-121.
- [30] León-González, A. J., Navarro, I., Acero, N., Mingarro, D. M., Martín-Cordero, C. (2018). Genus *Retama*: a review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities. *Phytochemistry Reviews*, 17(4), 701-731.
- [31] El Hamdani, N., Filali-Ansari, N., Fdil, R., El Abbouyi, A., El Khyari, S. (2016). Antifungal activity of the alkaloids extracts from aerial parts of *Retama monosperma*. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 965-971.
- [32] Edziri, H., Mastouri, M., Cheraif, I., Aouni, M. (2010). Chemical composition and antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the flower oil of *Retama raetam* (Forssk.) Webb from Tunisia. *Natural product research*, 24(9), 789-796.
- [33] Awen, B. Z. S., Unnithan, C. R., Ravi, S., Kermagy, A., Sasikumar, J. M., Khrbash, A. S., Ekreem, W. L. (2011). Essential oils of *Retama raetam* from Libya: chemical composition and antimicrobial activity. *Natural product research*, 25(9), 927-933.
- [34] Boussahel, S., Cacciola, F., Dahamna, S., Mondello, L., Saija, A., Cimino, F., Cristani, M. (2018). Flavonoid profile, antioxidant and antiglycation properties of *Retama sphaerocarpa* fruits extracts. *Natural product research*, 32(16), 1911-1919.



## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [35] Miguel, M., Bouchamaa, N., Aazza, S., Gaamoussi, F., Lyoussi, B. (2014). Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholinesterase activities of eleven extracts of Moroccan plants. *Fresenius Environ Bull*, 23(6), 1-14.
- [36] Djeddi, S., Karioti, A., Yannakopoulou, E., Papadopoulos, K., Chatter, R., Skaltsa, H. (2013). Analgesic and antioxidant activities of Algerian *Retama raetam* (Forssk.) Webb & Berthel extracts. *Records of Natural Products*, 7(3), 169-176.
- [37] Tlili, N., Mejri, H., Lajnef, H. B., Feriani, A., Khaldi, A., Nasri, N. (2015). Unexploited *Thapsia garganica*, *Orlaya maritima*, and *Retama raetam* seeds: potential sources of unsaturated fatty acid and natural antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(8), 1175-1181.
- [38] Conforti, F., Statti, G., Tundis, R., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Menichini, F., Houghton, P. J. (2004). Antioxidant and cytotoxic activities of *Retama raetam* subsp. *Gussonei*. *Phytotherapy Research*, 18, 585-587.
- [39] Saada, M., Falleh, H., Catarino, M. D., Cardoso, S. M., Ksouri, R. (2018). Plant growth modulates metabolites and biological activities in *Retama raetam* (Forssk.) Webb. *Molecules*, 23(9), 2177.
- [40] Benabderrahim, M. A., Yahia, Y., Bettaieb, I., Elfalleh, W., Nagaz, K. (2019). Antioxidant activity and phenolic profile of a collection of medicinal plants from Tunisian arid and Saharan regions. *Industrial Crops and Products*, 138, 111427.
- [41] Belmokhtar, Z., Harche, M. K. (2014). In vitro antioxidant activity of *Retama monosperma* (L.) Boiss. *Natural product research*, 28(24), 2324-2329.
- [42] Bremner, P., Rivera, D., Calzado, M. A., Obón, C., Inocencio, C., Beckwith, C., Heinrich, M. (2009). Assessing medicinal plants from South-Eastern Spain for potential anti-inflammatory effects targeting nuclear factor-Kappa B and other pro-inflammatory mediators. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 295-305.
- [43] González-Mauraza, H., Martín-Cordero, C., Alarcón-de-la-Lastra, C., Rosillo, M. A., León-González, A. J., Sánchez-Hidalgo, M. (2014). Anti-inflammatory effects of *Retama monosperma* in acute ulcerative colitis in rats. *Journal of physiology and biochemistry*, 70, 163-172.
- [44] Maghrani, M., Lemhadri, A., Jouad, H., Michel, J. B., Eddouks, M. (2003). Effect of the desert plant *Retama raetam* on glycaemia in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 87(1), 21-25.
- [45] Ghani, U., Nur-e-Alam, M., Yousaf, M., Ul-Haq, Z., Noman, O. M., Al-Rehaily, A. J. (2019). Natural flavonoid  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Retama raetam*: Enzyme inhibition

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

and molecular docking reveal important interactions with the enzyme active site. *Bioorganic chemistry*, 87, 736-742.

[46] Nur-e-Alam, M., Yousaf, M., Parveen, I., Hafizur, R. M., Ghani, U., Ahmed, S., Al-Rehaily, A. J. (2019). New flavonoids from the Saudi Arabian plant *Retama raetam* which stimulates secretion of insulin and inhibits  $\alpha$ -glucosidase. *Organic & biomolecular chemistry*, 17(5), 1266-1276.

[47] Merghoub, N., Benbacer, L., El Btaouri, H., AitBenhassou, H., Terryn, C., Attaleb, M., Amzazi, S. (2011). *In vitro* antiproliferative effect and induction of apoptosis by *Retama monosperma* L. extract in human cervical cancer cells. *Cell Mol Biol* 57(Suppl), 1581–1591.

[48] Belayachi, L., Aceves-Luquero, C., Merghoub, N., Bakri, Y., de Mattos, S. F., Amzazi, S., Villalonga, P. (2013). Screening of North African medicinal plant extracts for cytotoxic activity against tumor cell lines. *European Journal of Medicinal Plants*, 310-332.

[49] Belayachi, L., Aceves-Luquero, C., Merghoub, N., Bakri, Y., de Mattos, S. F., Amzazi, S., Villalonga, P. (2014). *Retama monosperma* n-hexane extract induces cell cycle arrest and extrinsic pathway-dependent apoptosis in Jurkat cells. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 38.

[50] López-Lázaro, M., Martín-Cordero, C., Cortés, F., Piñero, J., Ayuso, M. J. (2000). Cytotoxic activity of flavonoids and extracts from *Retama sphaerocarpa* Boissier. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(1-2), 40-43.

[51] Eddouks, M., Maghrani, M., Louedec, L., Haloui, M., Michel, J. B. (2008). Antihypertensive activity of the aqueous extract of *Retama raetam* Forssk. leaves in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 7(2), 65-77.

[52] El-Toumy SA, Farrag AH, Ellithey MM et al (2011) Effect of plant derived-phenolic extracts on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Journal of Pharmaceutical Research*, 4(1):189–192.

[53] Omara, E. A., Nada, S. A., El-Toumy, S. A. (2009). Evaluation of hepatoprotective activity of the *Retama raetam* seeds on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *Planta Medica*, 75(09), PH29.

[54] El-Shazly, A., Ateya, A. M., Witte, L., Wink, M. (1996). Quinolizidine alkaloid profiles of *Retama raetam*, *R. sphaerocarpa* and *R. monosperma*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 51(5-6), 301-308.

[55] Martín Cordero, C., Gil Serrano, A. M., Ayuso Gonzalez, M. J. (1991). Variations des alcaloides de *Retama sphaerocarpa* Boissier. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 25(2-3), 157-160.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [56] Abdel-Halim, O. B., Sekine, T., Saito, K., Halim, A. F., Abdel-Fattah, H., Murakoshi, I. (1992). (+)-12 -hydroxylupanine, a lupin alkaloid from *Lygos raetam*. *Phytochemistry*, *31*(9), 3251-3253.
- [57] Touati, R., Santos, S. A., Rocha, S. M., Belhamel, K., Silvestre, A. J. (2015). *Retama sphaerocarpa*: An unexploited and rich source of alkaloids, unsaturated fatty acids and other valuable phytochemicals. *Industrial Crops and Products*, *69*, 238-243.
- [58] El Sherbeiny, A. E. A., El Sissi, H. I., Nawwar, M. A. M., El Ansari, M. A. (1978). The Flavonoids of the Seeds of *Lygos raetam*. *Planta Medica*, *34*, 335-336.
- [59] López-Lázaro, M., Martín-Cordero, C., Ayuso, M. J. (1999). Flavonoids of *Retama sphaerocarpa*. *Planta medica*, *65*, 777-778.
- [60] Martín-Cordero, C., Lazaro, M. L., Gil-Serrano, A., Carvajal, M. R., González, M. A. (1999). Novel flavonol glycoside from *Retama sphaerocarpa* Boissier. *Phytochemistry*, *51*(8), 1129-1131.
- [61] Martín-Cordero, C., López-Lázaro, M., Espartero, J. L., Ayuso, M. J. (2000). Retamatrioside, a New Flavonol Triglycoside from *Retama sphaerocarpa*. *Journal of natural products*, *63*(2), 248-250.
- [62] Abdalla, M. F., Saleh, N. A. M. (1983). Flavonoids of *Retama raetam*. *Journal of natural products*, *46*(5), 755-756.
- [63] Kassem, M., Mosharrafa, S. A., Saleh, N. A. M., Abdel-Wahab, S. M. (2000). Two new flavonoids from *Retama raetam*. *Fitoterapia*, *71*(6), 649-654.
- [64] Xu, W. H., Al-Rehaily, A. J., Yousaf, M., Ahmad, M. S., Khan, S. I., Khan, I. A. (2015). Two new flavonoids from *Retama raetam*. *Helvetica Chimica Acta*, *98*(4), 561-568.
- [65] Iwashina, T. (2000). The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, *113*(3), 287-299.
- [66] Harborne, J. B. (1969). Chemosystematics of the Leguminosae. Flavonoid and isoflavonoid patterns in the tribe Genisteeae. *Phytochemistry*, *8*(8), 1449-1456.
- [67] López-Lázaro, M., Martín-Cordero, C., Iglesias-Guerra, F., González, M. A. (1998). An isoflavone glucoside from *Retama sphaerocarpa* boissier. *Phytochemistry*, *48*(2), 401-402.
- [68] Akkal, S., Louaar, S., Benahmed, M., Laouer, H., Duddeck, H. (2010). A new isoflavone glycoside from the aerial parts of *Retama sphaerocarpa*. *Chemistry of natural compounds*, *46*(5), 719-721.
- [69] González-Mauraza, N. H., León-González, A. J., Espartero, J. L., Gallego-Fernández, J. B., Sánchez-Hidalgo, M., Martín-Cordero, C. (2016). Isolation and Quantification of Pinitol, a Bioactive Cyclitol, in *Retama* spp. *Natural Product Communications*, *11*(3), 405-406.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [70] El Hamdani, N., Fdil, R. (2015). Evaluation of fatty acids profile and mineral content of *Retama monosperma* (L.) Boiss. of Morocco. *J Mater Environ Sci*, 6(2), 538-545.
- [71] Šamec, D., Pavlović, I., Salopek-Sondi, B. (2017). White cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata f. alba): botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry reviews*, 16(1), 117-135.
- [72] Montaut, S., Rollin, P., De Nicola, G. R., Iori, R., Tatibouët, A. (2012). Composés bioactifs des Crucifères: un apport bénéfique dans notre quotidien. *Phytothérapie*, 10(6), 342-349.
- [73] Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A., Kellogg, E. A. (2006). Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259(2), 89-120.
- [74] Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. 3ème édition. Ed. CNRS Paris, 250.
- [75] Appel, O., Al-Shehbaz, I. A. (2003). Cruciferae. In *Flowering Plants: Dicotyledons* (pp. 75-174). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [76] James, W. B., Mark, W.C., Maarten, J. M.C., Michael, F. F., Walter, S. J., David, J. M., Alexander, N. S., Douglas, E. S. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181, 1-20.
- [77] Valentová, K., Ulrichová, J. (2003). *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*-prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomedical Papers*, 147(2), 119-130.
- [78] Prajapati, V. D., Maheriya, P. M., Jani, G. K., Patil, P. D., Patel, B. N. (2014). *Lepidium sativum* Linn.: A current addition to the family of mucilage and its applications. *International journal of biological macromolecules*, 65, 72-80.
- [79] Quézel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, Ed CNRS, 104.
- [80] Berehe, S. G., Boru, A. D. (2014). Phytochemical screening and antimicrobial activities of crude extract of *Lepidium sativum* seeds grown in Ethiopia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(10), 4182.
- [81] Mathews, S., Singhal, R. S., Kulkarni, P. R. (1993). Some physicochemical characteristics of *Lepidium sativum* (haliv) seeds. *Food/Nahrung*, 37(1), 69-71.
- [82] Doke, S., Guha, M. (2014). Garden cress (*Lepidium sativum* L.) seed-an important medicinal source: A. *Journal of Natural Products of Plant Resources*, 4, 69-80.
- [83] Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, Éd. Ibis Press, 263-264.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [84] Chang, N., Luo, Z., Li, D., Song, H. (2017). Indigenous uses and pharmacological activity of traditional medicinal plants in Mount Taibai, China. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- [85] Haghghi, M., Mozafariyan, M. (2011). The introduction of extinct endemic vegetables of Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(33), 7085-7107.
- [86] Mosaddegh, M., Esmaeili, S., Naghibi, F., Hamzeloo Moghadam, M., Haeri, A., Pirani, A., Moazzeni, H. (2012). Ethnomedical survey and cytotoxic activity of medicinal plant extracts used in Kohgiluyeh and Boyerahmad Province in Iran. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 18(3), 211-221.
- [87] Chatoui, K., Talbaoui, A., Aneb, M., Bakri, Y., Harhar, H., Tabyaoui, M. (2016). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of *Lepidium sativum* seeds from Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(8), 2938-46.
- [88] Ibrahim, I. A., Shalaby, A. A., Abdallah, H. M. L., El-Zohairy, N. F., Bahr, H. I. (2020). Ameliorative effect of garden cress (*Lepidium sativum* L.) seeds ethanolic extract on high fat diet-prompted non-alcoholic fatty liver disease in the rat model: Impact on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase and vascular endothelial growth factor. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 8(1), 1-10.
- [89] Gonzales, G. F., Gonzales, C., Gonzales-Castaneda, C. (2009). *Lepidium meyenii* (Maca): a plant from the highlands of Peru—from tradition to science. *Complementary Medicine Research*, 16(6), 373-380.
- [90] Chyad, A. H. (2017). Evaluation of anticancer, analgesic and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract of *Lepidium draba* Linn. leaves. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 5(1), 7-13.
- [91] Sharifi-Rad, J., Hoseini-Alfatemi, S. M., Sharifi-Rad, M., da Silva, J. A. T., Rokni, M., Sharifi-Rad, M. (2015). Evaluation of biological activity and phenolic compounds of *Cardaria draba* (L.) extracts. *Journal of Biology and Today's World*, 4(9), 180-189.
- [92] Karan, T., Cadirci, B. H. (2018). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Lepidium draba* L. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 13(7), 1123-1131.
- [93] Bicha, S., Benmekhebi, L., Boubekri, N., Khellaf, R., Brouard, I., Zama, D., Benayache, F. (2016). Compositional study, antibacterial and antioxidant potential of *Lepidium draba* L.(Brassicaceae). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 283-287.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [94] Al-Marzoqi, A. H., Al-Khafaji, K. R., Kadhim, R. (2015). Influence of the crude Phenolic, Alkaloid and Terpenoid compounds extracts of *Cardaria draba* (*Lepidium draba* L.) on Human Pathogenic Bacteria. *World J Pharm Res*, 4(6), 456-460.
- [95] Yaghooti, F., Sani, A. M. (2015). Antibacterial activity of methanolic extracts from *Cotoneaster nummularioides*, *Cynodon dactylon* and *Cardaria draba* on typical food-borne pathogens. *International Journal of Biosciences*, 6(2), 349-356.
- [96] Ali, Q., Khalil, R., Nadeem, M., Azhar, M. M., Hafeez, M. M., Malik, A. (2020). Antibacterial, antioxidant activities and association among plant growth related traits of *Lepidium draba*. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 11.
- [97] Miri, A., Rad, J. S., Rad, M. S., Silva, J. S. (2013). Allelopathic activity of medical plant, *Cardaria draba* (*Lepidium draba* L.). *Annals of Biological Research*, 4(6), 76-79.
- [98] Conde-Rioll, M., Gajate, C., Fernández, J. J., Villa-Pulgarin, J. A., Napolitano, J. G., Norte, M., Mollinedo, F. (2018). Antitumor activity of *Lepidium latifolium* and identification of the epithionitrile 1-cyano-2, 3-epithiopropene as its major active component. *Molecular Carcinogenesis*, 57(3), 347-360.
- [99] Radwan, H. M., El-Missiry, M. M., Al-Said, W. M., Ismail, A. S., Abdel Shafeek, K. A., Seif-El-Nasr, M. M. (2007). Investigation of the glucosinolates of *Lepidium sativum* growing in Egypt and their biological activity. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(2), 127-132.
- [100] Blažević, I., Montaut, S., Burul, F., Olsen, C. E., Burow, M., Rollin, P., Agerbirk, N. (2020). Glucosinolate structural diversity, identification, chemical synthesis and metabolism in plants. *Phytochemistry*, 169, 112100.
- [101] Sansom, C. E., Jones, V. S., Joyce, N. I., Smallfield, B. M., Perry, N. B., van Klink, J. W. (2015). Flavor, glucosinolates, and isothiocyanates of Nau (Cook's scurvy grass, *Lepidium oleraceum*) and other rare New Zealand *Lepidium* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(6), 1833-1838.
- [102] Ait-Yahia, O., Perreau, F., Bouzroua, S. A., Benmalek, Y., Dob, T., Belkebir, A. (2018). Chemical composition and biological activities of n-butanol extract of *Lepidium sativum* L (Brassicaceae) seed. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(5), 891-896.
- [103] Calzada, F., Barbosa, E., Cedillo-Rivera, R. (2003). Antiamoebic activity of benzyl glucosinolate from *Lepidium virginicum*. *Phytotherapy Research*, 17(6), 618-619.
- [104] Bai, N., He, K., Roller, M., Lai, C. S., Bai, L., Pan, M. H. (2015). Flavonolignans and other constituents from *Lepidium meyenii* with activities in anti-inflammation and human cancer cell lines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(9), 2458-2463.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [105] Kjær, A., Wagnières, M. (1971). 3, 4, 5-Trimethoxybenzylglucosinolate: A constituent of *Lepidium sordidum*. *Phytochemistry*, 10(9), 2195-2198.
- [106] Wang, S., Zhu, F. (2019). Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). *Food chemistry*, 288, 422-443.
- [107] Pagnotta, E., Agerbirk, N., Olsen, C. E., Ugolini, L., Cinti, S., Lazzeri, L. (2017). Hydroxyl and methoxyl derivatives of benzylglucosinolate in *Lepidium densiflorum* with hydrolysis to isothiocyanates and non-isothiocyanate products: substitution governs product type and mass spectral fragmentation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(15), 3167-3178.
- [108] Senatore, F., Rigano, D., Grassia, A., Randazzo, A. (2003). 4-hydroxybenzyl glucosinolate from *Cardaria draba* (Cruciferae). *Biochemical systematics and ecology*.
- [109] Bäuerle, R., Wagner, H., Schraudolf, H. (1986). Distribution of 4-methoxy-3-indolylmethyl-glucosinolate (4-methoxy-glucobrassicin) in Brassicaceae. *Experientia*, 42(1), 86-86.
- [110] Fréchar, A., Fabre, N., Hannedouche, S., Fourasté, I. (2002). Glucosinolates from *Cardaria draba*. *Fitoterapia*, 73(2), 177-178.
- [111] Meng, L., Zheng, X., Zhang, Z., Zhang, J., Zhao, X., Yang, Y., Feng, W. (2016). A new phenylacetamide from the seeds of *Lepidium apetalum* Willd. *Yao xue xue bao = Acta pharmaceutica Sinica*, 51(12), 1881-1884.
- [112] Yuan, P., Zheng, X., Li, M., Ke, Y., Fu, Y., Zhang, Q., Feng, W. (2017). Two Sulfur Glycoside Compounds Isolated from *Lepidium apetalum* Willd Protect NRK52e Cells against Hypertonic-Induced Adhesion and Inflammation by Suppressing the MAPK Signaling Pathway and RAAS. *Molecules*, 22(11), 1956.
- [113] Gil, V., Macleod, A. J. (1980). Glucosinolates of *Lepidium sativum* and 'garden cress'. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 31(7), 739-741.
- [114] Zheng, B. L., He, K., Kim, C. H., Rogers, L., Shao, Y., Huang, Z. Y., Zheng, Q. Y. (2000). Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. *Urology*, 55(4), 598-602.
- [115] Swart, H., Van Dyk, S., Malan, S. F. (2002). The activity of p-methoxybenzylisothiocyanate against *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus ducreyi*, and other microorganisms. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 12(17), 2435-2437.
- [116] Radoni, A., Blažević, I., Masteli, J., Zeki, M., Skoibušić, M., Maravić, A. (2011). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Cardaria draba* (L.) Desv. volatiles. *Chemistry & biodiversity*, 8(6), 1170-1181.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [117] Cui, B., Zheng, B. L., He, K., Zheng, Q. Y. (2003). Imidazole alkaloids from *lepidium meyenii*. *Journal of natural products*, 66(8), 1101-1103.
- [118] Jin, W., Chen, X., Dai, P., Yu, L. (2016). Lepidiline C and D: Two new imidazole alkaloids from *Lepidium meyenii* Walpers (Brassicaceae) roots. *Phytochemistry Letters*, 17, 158-161.
- [119] Maier, U. H., Gundlach, H., Zenk, M. H. (1998). Seven imidazole alkaloids from *Lepidium sativum*. *Phytochemistry*, 49(6), 1791-1795.
- [120] Zhou, M., Zhang, R. Q., Chen, Y. J., Liao, L. M., Sun, Y. Q., Ma, Z. H., Hu, Q. F. (2018). Three new pyrrole alkaloids from the roots of *Lepidium meyenii*. *Phytochemistry Letters*, 23, 137-140.
- [121] Piacente, S., Carbone, V., Plaza, A., Zampelli, A., Pizza, C. (2002). Investigation of the tuber constituents of maca (*Lepidium meyenii* Walp.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(20), 5621-5625.
- [122] Muhammad, I., Zhao, J., Dunbar, D. C., Khan, I. A. (2002). Constituents of *Lepidium meyenii* 'maca'. *Phytochemistry*, 59(1), 105-110.
- [123] Wang, S., Shi, P., Qu, L., Ruan, J., Yang, S., Yu, H., Wang, T. (2017). Bioactive constituents obtained from the seeds of *Lepidium apetalum* Willd. *Molecules*, 22(4), 540.
- [124] Orlovskaya, T. V., Chelombit'ko, V. A. (2007). Phenolic compounds from *Lepidium sativum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 3(43), 323-323.
- [125] Mahomoodally, M. F., Zengin, G., Aumeeruddy, M. Z., Sezgin, M., Aktumsek, A. (2018). Phytochemical profile and antioxidant properties of two Brassicaceae species: *Cardaria draba* subsp. *draba* and *Descurainia sophia*. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 16, 453-458.
- [126] Fan, Q. L., Zhu, Y. D., Huang, W. H., Qi, Y., Guo, B. L. (2014). Two new acylated flavonol glycosides from the seeds of *Lepidium sativum*. *Molecules*, 19(8), 11341-11349.
- [127] Ibrahim, I. A., Shalaby, A. A., Abdallah, H. M. L., El-Zohairy, N. F., Bahr, H. I. (2020). Ameliorative effect of garden cress (*Lepidium sativum* L.) seeds ethanolic extract on high fat diet-prompted non-alcoholic fatty liver disease in the rat model: Impact on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase and vascular endothelial growth factor. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 8(1), 1-10.
- [128] Nayak, P. S., Upadhyaya, S. D., Upadhyaya, A. (2009). A HPTLC densitometer determination of sinapic acid in chandrasur (*Lepidium sativum*). *Journal of scientific research*, 1(1), 121-127.



## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [129] Zaitsev, V. G., Fursa, N. S. (1984). Flavonol 3, 7-diglycosides of *Lepidium syvaschicum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 20(5), 628-629.
- [130] Fursa, N. S., Litvinenko, V. I., Krivencuk, P. E. (1970). Flavonol glycosides in *Lepidium latifolium* and *L. draba*. *Rastitel'nye Resursy*, 6, 567-71.
- [131] Yusifova, D. Y., Movsumov, I. S., Garaev, E. A., Mahiou-Leddet, V., Mabrouki, F., Herbette, G., Ollivier, E. (2015). Biologically active compounds from *Lepidium campestre* and pulp from lemon-juice production. *Chemistry of Natural Compounds*, 51(5), 964-965.
- [132] Xiang, Y., Haixia, W., Lijuan, M., Yanduo, T. (2018). Isolation, purification and identification of antioxidants from *Lepidium latifolium* extracts. *Medicinal Chemistry Research*, 27(1), 37-45.
- [133] Agarwal, J., Verma, D. L. (2011). Antioxidative activity and flavonoid composition from *Lepidium sativum*. *Nature and Science*, 9(7), 21-25.
- [134] Shi, P., Chao, L., Wang, T., Liu, E., Han, L., Zong, Q., Wang, T. (2015). New bioactive flavonoid glycosides isolated from the seeds of *Lepidium apetalum* Willd. *Fitoterapia*, 103, 197-205.
- [135] Han, L., Shi, P., Dong, Y., Wang, T., Li, X., Hao, J., Wang, T. (2015). New rare sinapoyl acylated flavonoid glycosides obtained from the seeds of *Lepidium apetalum* Willd. *Molecules*, 20(8), 13982-13996.
- [136] Sakran, M., Selim, Y., Zidan, N. (2014). A new isoflavonoid from seeds of *Lepidium sativum* L. and its protective effect on hepatotoxicity induced by paracetamol in male rats. *Molecules*, 19(10), 15440-15451.
- [137] Gugnani, K. S., Vu, N., Rondón-Ortiz, A. N., Böhlke, M., Maher, T. J., Pino-Figueroa, A. J. (2018). Neuroprotective activity of macamides on manganese-induced mitochondrial disruption in U-87 MG glioblastoma cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 340, 67-76.
- [138] Chen, J. J., Zhao, Q. S., Liu, Y. L., Gong, P. F., Cao, L. L., Wang, X. D., Zhao, B. (2017). Macamides present in the commercial maca (*Lepidium meyenii*) products and the macamide biosynthesis affected by postharvest conditions. *International journal of food properties*, 20(12), 3112-3123.
- [139] Zhang, S. Z., Yang, F., Shao, J. L., Pu, H. M., Ruan, Z. Y., Yang, W. L., Li, H. (2020). The metabolic formation profiles of macamides accompanied by the conversion of glucosinolates in maca (*Lepidium meyenii*) during natural air drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(6), 2428-2440.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [140] Chain, F. E., Grau, A., Martins, J. C., Catalán, C. A. (2014). Macamides from wild 'maca', *Lepidium meyenii* Walpers (Brassicaceae). *Phytochemistry Letters*, 8, 145-148.
- [141] McCollom, M. M., Villinski, J. R., McPhail, K. L., Craker, L. E., Gafner, S. (2005). Analysis of macamides in samples of Maca (*Lepidium meyenii*) by HPLC-UV-MS/MS. *Phytochemical Analysis : An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 16(6), 463-469.
- [142] Zhao, J., Muhammad, I., Dunbar, D. C., Mustafa, J., Khan, I. A. (2005). New alkamides from maca (*Lepidium meyenii*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3), 690-693.
- [143] Wang, Y., Wang, Y., McNeil, B., Harvey, L. M. (2007). Maca: An Andean crop with multi-pharmacological functions. *Food Research International*, 40(7), 783-792.
- [144] Li, M., Zeng, M., Zhang, Z., Zhang, J., Zhang, B., Zhao, X., Feng, W. (2018). Uridine derivatives from the seeds of *Lepidium apetalum* Willd. and their estrogenic effects. *Phytochemistry*, 155, 45-52.
- [145] Hussein, H. M. (2016). Analysis of trace heavy metals and volatile chemical compounds of *Lepidium sativum* using atomic absorption spectroscopy, gas chromatography-mass spectrometric and fourier-transform infrared spectroscopy. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 7(4), 2529-2555.
- [146] Mali, R. G., Mahajan, S. G., Mehta, A. A. (2007). *Lepidium sativum* (Garden cress): a review of contemporary literature and medicinal properties. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 7(4), 331-335.
- [147] Ganzera, M., Zhao, J., Muhammad, I., Khan, I. A. (2002). Chemical profiling and standardization of *Lepidium meyenii* (Maca) by reversed phase high performance liquid chromatography. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50(7), 988-991.
- [148] Yu, M. Y., Qin, X. J., Shao, L. D., Peng, X. R., Li, L., Yang, H., Qiu, M. H. (2017). Macahydantoins A and B, two new thiohydantoin derivatives from Maca (*Lepidium meyenii*): Structural elucidation and concise synthesis of macahydantoin A. *Tetrahedron Letters*, 58(17), 1684-1686.
- [149] Zhou, M., Ma, H. Y., Liu, Z. H., Yang, G. Y., Du, G., Ye, Y. Q., Hu, Q. F. (2017). (+)-Meyeniins A–C, novel hexahydroimidazo [1, 5-c] thiazole derivatives from the tubers of *Lepidium meyenii*: complete structural elucidation by biomimetic synthesis and racemic crystallization. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(9), 1887-1892.
- [150] Al-snafi, A. E. (2019). Chemical constituents and pharmacological effects of *Lepidium sativum*-A. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 11(6), 1-10.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [151] Zeng, M., Li, M., Li, M., Zhang, B., Li, B., Zhang, L., Zheng, X. (2018). 2-Phenylacetamide isolated from the seeds of *Lepidium apetalum* and its estrogen-like effects in vitro and in vivo. *Molecules*, 23(9), 2293.
- [152] Simpson, M. G. (2019). *Plant systematics*. Academic press.
- [153] Quezel, P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. C.N.R.S., Paris, 860.
- [154] Douros, A., Christopoulou, A., Kikionis, S., Nikolaou, K., Skaltsa, H. (2019). Volatile Components of Heartwood, Sapwood, and Resin From a Dated *Cedrus brevifolia*. *Natural Product Communications*, 14(6), 1934578X19859125.
- [155] Rameau, J. C., Mansion, D., Dumé, G. (2008). *Flore forestière française: guide écologique illustré. Région méditerranéenne* (Vol. 3). Forêt privée française, 287.
- [156] Renaud Paulian, *Biologie des coléoptères*, Editions Lechevalier, 1988, 260.
- [157] Ramos-Dorantes, D. B., Villaseñor, J. L., Ortiz, E., Gernandt, D. S. (2017). Biodiversity, distribution, and conservation status of Pinaceae in Puebla, Mexico. *Revista mexicana de biodiversidad*, 88(1), 215-223.
- [158] Urgamal, M., Sanchir, C. (2016). An update of the family-Level taxonomy of vascular plants in Mongolia. *Erforschung biologischer Ressourcen der Mongolei*, 13, 75-81.
- [159] Ran, J. H., Shen, T. T., Wu, H., Gong, X., Wang, X. Q. (2018). Phylogeny and evolutionary history of Pinaceae updated by transcriptomic analysis. *Molecular phylogenetics and evolution*, 129, 106-116.
- [160] Saab, A. M., Lampronti, I., Borgatti, M., Finotti, A., Harb, F., Safi, S., Gambari, R. (2012). In vitro evaluation of the anti-proliferative activities of the wood essential oils of three *Cedrus* species against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells. *Natural product research*, 26(23), 2227-2231.
- [161] Cheddadi, R., Fady, B., François, L., Hajar, L., Suc, J. P., Huang, K., Ortu, E. (2009). Putative glacial refugia of *Cedrus atlantica* deduced from Quaternary pollen records and modern genetic diversity. *Journal of Biogeography*, 36(7), 1361-1371.
- [162] Martins, D. F., Emer, A. A., Batisti, A. P., Donatello, N., Carlesso, M. G., Mazzardo-Martins, L., dos Santos, A. R. S. (2015). Inhalation of *Cedrus atlantica* essential oil alleviates pain behavior through activation of descending pain modulation pathways in a mouse model of postoperative pain. *Journal of ethnopharmacology*, 175, 30-38.
- [163] Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, Éd. Ibis Press, 574.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [164] Gupta, S., Walia, A., Malan, R. (2011). Phytochemistry and pharmacology of: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(8), 2010.
- [165] Hussain, M., Shah, G. M., Khan, M. A. (2006). Traditional medicinal and economic uses of Gymnosperms of Kaghan valley, Pakistan. *Ethnobotanical Leaflets*, 2006(1), 7.
- [166] Nadeem, F., Khalid, T., Jilani, M. I., Rahman, S. (2019). A Review on Ethnobotanical, Phytochemical and Pharmacological Potentials of *Cedrus deodara*. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 15, 28-34.
- [167] Loizzo, M. R., Saab, A. M., Statti, G. A., Menichini, F. (2007). Composition and  $\alpha$ -amylase inhibitory effect of essential oils from *Cedrus libani*. *Fitoterapia*, 78(4), 323-326.
- [168] Kumar, A., Singh, V., Chaudhary, A. K. (2011). Gastric antisecretory and antiulcer activities of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. in Wistar rats. *Journal of ethnopharmacology*, 134(2), 294-297.
- [169] Buner, I. D., Yousuf, M., Attaullah, M., Afridi, S., Anjum, S. I., Rana, H., Ansari, M. J. (2019). A comparative toxic effect of *Cedrus deodara* oil on larval protein contents and its behavioral effect on larvae of mealworm beetle (*Tenebrio molitor*) (Coleoptera : Tenebrionidae). *Saudi journal of biological sciences*, 26(2), 281-285.
- [170] Xu, F., Gu, D., Wang, M., Zhu, L., Chu, T., Cui, Y., Yang, Y. (2017). Screening of the potential  $\alpha$ -amylase inhibitor in essential oil from *Cedrus deodara* cones. *Industrial Crops and Products*, 103, 251-256.
- [171] Maya, B. M., Abedini, A., Gangloff, S. C., Kabouche, A., Kabouche, Z., Voutquenne-Nazabadioko, L. (2017). A new  $\gamma$ -tocotrienolic acid derivative and other constituents from the cones of *Cedrus atlantica* and their in vitro antimicrobial activity. *Phytochemistry letters*, 20, 252-258.
- [172] Paun, G., Zrira, S., Boutakiout, A., Ungureanu, O., Simion, D., Chelaru, C., Radu, G. L. (2013). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential oils from moroccan aromatic herbs. *Revue Roumaine de Chimie*, 58(11-12), 891-7.
- [173] Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990.
- [174] Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC complementary and alternative medicine*, 6(1), 1-8.
- Benouaklil, F., Hamaidi-cherghi, F., Hamaidi, M. S., Saidi, F. (2017). Chemical composition and antimicrobial properties of algerian *Cedrus atlantica* M. essential oils. *AgroBiologia*, 7(1), 355-362.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

- [175] Loizzo, M. R., Saab, A., Tundis, R., Statti, G. A., Lampronti, I., Menichini, F., Doerr, H. W. (2008). Phytochemical analysis and in vitro evaluation of the biological activity against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) of *Cedrus libani* A. Rich. *Phytomedicine*, 15(1-2), 79-83.
- [176] Tumen, I., Akkol, E. K., Süntar, I., Kele, H. (2011). Wound repair and anti-inflammatory potential of essential oils from cones of Pinaceae: Preclinical experimental research in animal models. *Journal of ethnopharmacology*, 137(3), 1215-1220.
- [177] Cretu, E., Salminen, J. P., Karonen, M., Miron, A., Charalambous, C., Constantinou, A. I., Aprotosoia, A. C. (2014). In vitro antioxidant activity and phenolic content of *Cedrus brevifolia* bark. *Natural product communications*, 9(4), 1934578X1400900412.
- [178] Bouchra, C., Mohamed, A., Mina, I. H., Hmamouchi, M. (2003). Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four postharvest citrus pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 42(3), 251-256.
- [179] Lahlou, M. (2003). Composition and molluscicidal properties of essential oils of five Moroccan Pinaceae. *Pharmaceutical biology*, 41(3), 207-210.
- [180] Ainane, A., Benhima, R., Khammour, F., Elkouali, M. H., Talbi, M., Abba, E. H., Ainane, T. (2018). Composition chimique et activité insecticide de cinq huiles essentielles : *Cedrus atlantica*, *Citrus limonum*, Eucalyptus globules, Rosmarinus officinalis et Syzygium aromaticum. *Proceedings BIOSUNE*, 67-79.
- [181] Satrani, B., Aberchane, M., Farah, A., Chaouch, A., Talbi, M. (2006). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. *Acta botanica gallica*, 153(1), 97-104.
- [182] Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A. (2010). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 12(3), 381-385.
- [183] Boudarene, L., Rahim, L., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y. (2004). Analysis of Algerian essential oils from twigs, needles and wood of *Cedrus atlantica* G. Manetti by GC/MS. *Journal of essential oil research*, 16(6), 531-534.
- [184] Boudarene, L., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y., Scharff, C. (2004). Composition of the seed oils from Algerian *Cedrus atlantica* G. Manetti. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 61-63.
- [185] Zrira, S., Ghanmi, M. (2016). Chemical composition and antibacterial activity of the essential of *Cedrus atlantica* (Cedarwood oil). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(5), 1267-1272.

## Chapitre I. Aperçu bibliographique

[186] Aberchane, M., Satrani, B., Fechtal, M., Chaouch, A. (2003). Effet de l'infection du bois de Cèdre de l'Atlas par *Trametes pini* et *Ungulina officinalis* sur la composition chimique et l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles. *Acta botanica gallica*, 150(2), 223-229.

[187] Skanderi, I., Chouitah, O. (2020). Chemical Characterization and Antioxidant Activity of *Cedrus atlantica* Manetti Tar (Atlas Cedar Tar). *French-Ukrainian Journal of Chemistry*, 8(2), 244-255.

[188] Aberchane, M., Fechtal, M., Chaouch, A. (2004). Analysis of Moroccan atlas cedarwood oil (*Cedrus atlantica* Manetti). *Journal of Essential Oil Research*, 16(6), 542-547.

[189] Jaouadi, I., Cherrad, S., Tiskar, M., Tabyaoui, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Chaouch, A. (2020). Wood tar essential oil from *Cedrus Atlantica* of Morocco (Middle atlas) as a green corrosion inhibitor for mild steel in 1 M hydrochloric acid solution. *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition*, 9(1), 265-283.

[190] Benouaklil, F., Hamaidi-Chergui, F., Hamaidi, M. S., Saidi, F. (2017). Chemical composition and antimicrobial properties of Algerian *Cedrus atlantica* M. essential oils. *AgroBiologia*, 7(1), 355-362.

[191] Zeng, W. C., Zhang, Z., Gao, H., Jia, L. R., He, Q. (2012). Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of essential oil from pine needle (*Cedrus deodara*). *Journal of food science*, 77(7), C824-C829.

[192] Boutos, S., Tomou, E. M., Rancic, A., Socovi, M., Hadjipavlou-Litina, D., Nikolaou, K., Skaltsa, H. (2020). Composition of the essential oil of *Cedrus brevifolia* needles Evaluation of its antimicrobial and antioxidant activities. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 8(2), 01-05.

## Chapitre II

- **Travaux  
personnels**

## Chapitre II. Travaux personnels

Ce chapitre est divisé en trois parties, la première comporte la description de nos travaux d'extraction, d'isolement et de purification des métabolites secondaires des extraits chloroforme et acétate d'éthyle de l'espèce *R. sphaerocarpa* Boiss (Fabaceae), ainsi que la partie expérimentale concernant la quantification des polyphénols et des flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante des trois extraits (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) et des trois composés isolés à partir de cette plante.

La deuxième partie est consacrée à la description des travaux effectués sur l'espèce *L. draba* (L.) (Brassicaceae) en commençant par une étude phytochimique qui est basée essentiellement sur l'analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques de l'extrait acétate d'éthyle par HPLC-TOF/MS et ensuite une évaluation de l'activité antioxydante des trois extraits (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) obtenus à partir de cette plante.

La troisième partie résume le protocole suivi pour l'extraction des huiles essentielles de l'espèce *C. atlantica* (Pinaceae), la description de la méthode d'analyse des huiles essentielles effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC-GC/MS et les protocoles d'évaluation de l'activité antioxydante de ces huiles.

### **Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique de l'espèce *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss**

#### **II.1. Étude phytochimique de l'espèce *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss**

##### **II.1.1 Choix du matériel végétal**

Le choix de l'espèce présentée dans cette partie, à savoir *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss repose essentiellement sur le fait:

– qu'elle appartient au genre *Retama*, connu par son utilisation en médecine traditionnelle. Les diverses investigations biologiques menées sur ce genre ont montré qu'il possède plusieurs activités telles que l'activité anti-inflammatoire [1-2], antimicrobienne [3-4] antidiabétique [5-7] et d'autres activités intéressantes [8-11].

- ce genre est un excellent accumulateur de molécules douées d'activités biologiques intéressantes telles que les isoflavones et les alcaloïdes [12-15].

##### **II.1.2 Classification dans la systématique botanique**

Selon la classification réalisée en 2009 [16], l'espèce *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss suit le taxon suivant:



## Chapitre II. Travaux personnels

Tableau II.1. Classification de l'espèce *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss

	Classification
Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Eudi-cotylédones
Ordre	Fabales
Famille	Fabacées (Légumineuses)
Sous famille	Papilionacées
Tribu	Genisteae
Genre	<i>Retama</i>
Espèce	<i>sphaerocarpa</i> (L.) Boiss.

### II.1.3 Nom vernaculaire

Les noms communs de cette plante sont : en arabe « Rtem [17] », en berbère « Tillugwît, îllugwî, allugû, talggût » [18].

### II.1.4 Synonyme

*Lygos sphaerocarpa* (L.) Heywood [13].

### II.1.5 Description botanique

Arbrisseaux de 1 à 2 m à rameaux pubescents plus au moins dressés, caractérisés par de très petites fleurs jaunes (5-6 mm), situées en grappes latérales sur les rameaux âgés, feuilles très petites, gousse globuleuse, jaune-brun de 7-13× 5-7 mm. Ces plantes préfèrent les pâturages rocaillieux [17].



Figure II.1. Images de l'espèce *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss

## Chapitre II. Travaux personnels

### II.1.6. Récolte du matériel végétal

L'espèce sélectionnée a été récoltée dans la région de M'sila (centre de l'Algérie) durant le mois de Mai 2015 et a été authentifiée par Dr. Khellaf Rebbas (département de biologie, Université de M'sila, Algérie).

Les parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) ont été séchées à l'abri de la lumière, coupées en petits morceaux, broyées et pesées (4,5 Kg).

### II.1.7. Protocole expérimental d'extraction

La poudre du matériel végétal est mise à macérer à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (méthanol/eau ; 70/30 ; v/v). Cette macération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant et dure dans chaque cas de 24 à 48 heures.

Après concentration à une température de 35 °C, l'extrait méthanolique est dilué avec de l'eau distillée (400 ml pour 1kg de matière végétale sèche) et laissé au repos pendant une nuit. Après filtration, la solution a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. Les trois phases organiques ainsi obtenues (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) sont filtrées, concentrées à sec sous pression réduite et pesées. Les rendements sont donnés dans le tableau II.2

La figure II.2 résume les différentes étapes de l'extraction jusqu'à l'obtention des extraits bruts.

**Tableau II.2.** Masses et rendements des extraits de l'espèce *R. sphaerocarpa*

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
4,5 Kg	Chloroforme	14,44	0,320
	Acétate d'éthyle	15,78	0,350
	<i>n</i> -butanol	116,74	2,594

## Chapitre II. Travaux personnels

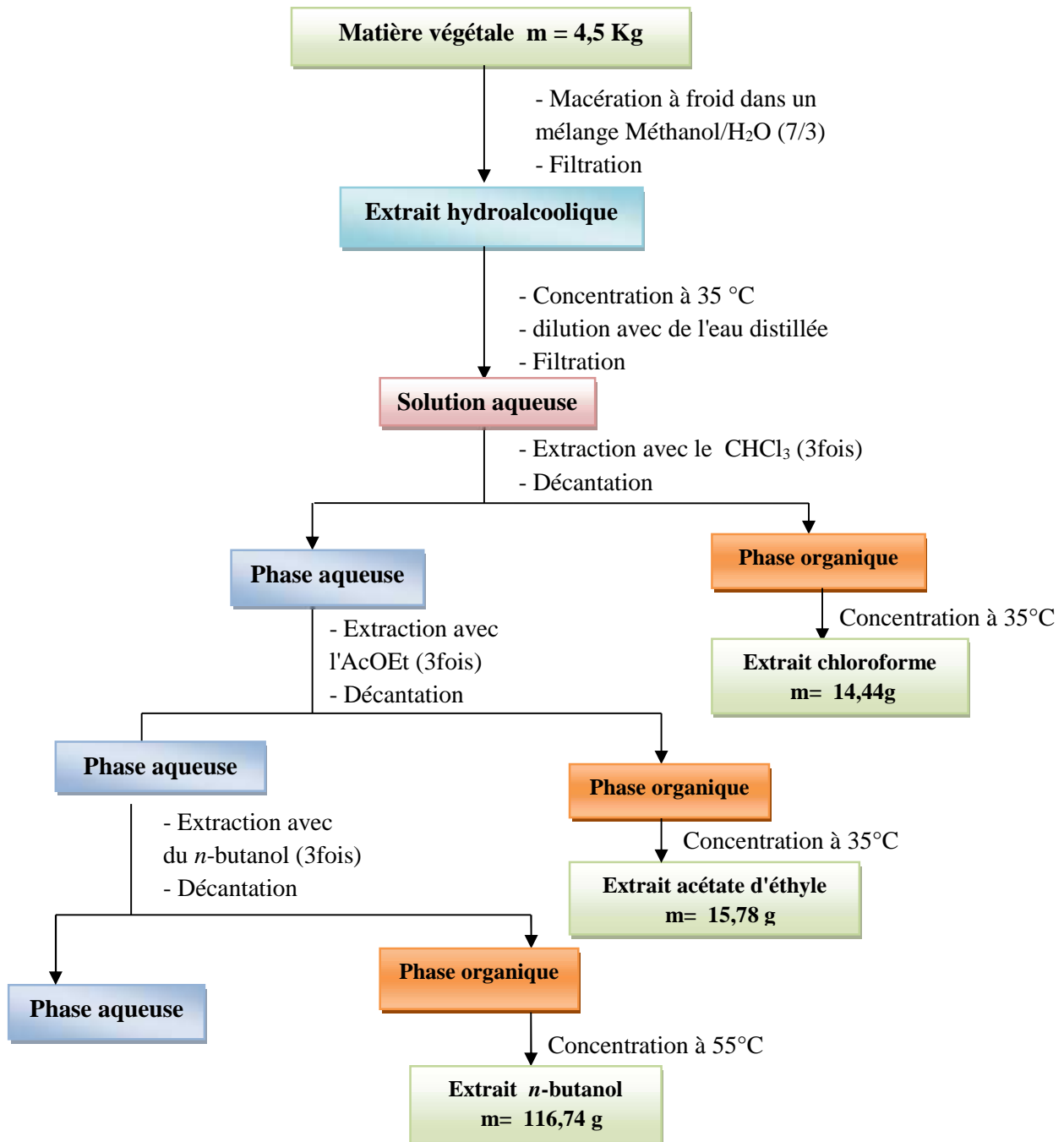


Figure II.2. Organigramme de l'extraction de *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss

### II.1.8. Étude des extraits

#### II.1.8.1. Fractionnement de l'extrait chloroforme

L'extrait chloroforme a été testé sur des plaques de chromatographie sur couche mince de gel de silice déposée sur une feuille d'Aluminium. Les résultats nous ont conduit à commencer tout d'abord par le système hexane/ dichlorométhane avec un pourcentage 50/50,

## Chapitre II. Travaux personnels

cela nous a permis de collecter la première fraction Rsc1. Ensuite nous avons utilisé un autre système qui est le dichlorométhane / acétone en gradient de polarité.

Une masse d'environ 9,7 g d'extrait chloroforme est déposée sur une colonne de gel de silice (type 60, 230-400 mesh, Fluka) éluée par les systèmes cités ci-dessus. 600 lots de 50 ml ont été obtenus et regroupés en 53 fractions. Le suivi de ces fractions est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support d'aluminium. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm) puis révélées avec de l'anisaldéhyde et chauffées à 100°C.

Le tableau II.3. Représente les résultats de cette séparation.

**Tableau II.3.** Résultats de la séparation sur colonne de gel de silice de l'extrait chloroforme de l'espèce *R. sphaerocarpa*

N° de la fraction	Lots	Système d'éluion (%)		Masse de fraction (mg)	observations
		Hexane	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>		
<b>Rsc 1</b>	<b>1-43</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>239,8</b>	<b>Mélange + précipité</b>
/	/	<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>	<b>Acétone</b>	/	/
Rsc 2	44-78	100	0	126,3	Mélange complexe
Rsc 3	79-81	98	2	115,3	Mélange complexe
Rsc 4	82-83			91,2	Mélange complexe
<b>Rsc 5</b>	84-86			106,9	<b>Mélange séparable</b>
<b>Rsc 6</b>	87-90			217,8	<b>Mélange + précipité</b>
Rsc 7	91-96	96	4	59,5	Mélange complexe
Rsc 8	97-100			97,5	Mélange complexe
Rsc 9	101-104			128,2	Mélange complexe
Rsc10	105-107			286,1	Mélange complexe
<b>Rsc11</b>	108-115			158,9	<b>Mélange + précipité</b>
Rsc12	116-119			139,2	Mélange complexe
Rsc13	120-126			124,6	Mélange complexe
<b>Rsc14</b>	127-130	91	9	131,5	<b>Mélange séparable</b>
Rsc15	131-138			64,2	Mélange complexe
Rsc16	139-141			56,6	Mélange complexe
Rsc17	142-147			88,4	Mélange complexe
Rsc18	148-160			186,2	Mélange complexe
Rsc19	161-188	85	15	115,3	Mélange complexe
Rsc20	189-196			68,1	Mélange complexe
Rsc21	197-201			76,8	Mélange complexe
Rsc22	202-208			91,5	Mélange complexe
Rsc23	209-215	80	20	68,2	Mélange complexe
Rsc24	216-223			112,7	Mélange complexe
Rsc25	224-233			177,7	Mélange complexe
Rsc26	234-239	75	25	64,8	Mélange complexe

## Chapitre II. Travaux personnels

**Tableau II.3.** Résultats de la séparation sur colonne de gel de silice de l'extrait chloroforme de l'espèce *R. sphaerocarpa* (suite)

N° de la fraction	Lots	Système d'élution (%)		Masse de fraction (mg)	Observations
		CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Acétone		
Rsc27	240-249	75	25	273,9	Mélange complexe
Rsc28	250-256			97,6	Mélange complexe
Rsc29	257-273	70	30	142,9	Mélange complexe
Rsc30	274-306			283,3	Mélange complexe
Rsc31	307-318	65	35	262,3	Mélange complexe
Rsc32	319-324			208,9	Mélange complexe
Rsc33	325-332			105,1	Mélange complexe
Rsc34	333-338			112,0	Mélange complexe
Rsc35	339-347			183,6	Mélange complexe
Rsc36	348-364			55	45
Rsc37	365-373	85,8	Mélange complexe		
Rsc38	374-380	218,5	Mélange complexe		
Rsc39	381-395	45	55	249,9	Mélange complexe
Rsc40	396-414			198,9	Mélange complexe
Rsc41	415-420			122,7	Mélange complexe
Rsc42	421-451	35	65	316	Mélange complexe
Rsc43	452-458	25	75	94,2	Mélange complexe
Rsc44	459-465			85,3	Mélange complexe
Rsc45	466-470			103,9	Mélange complexe
Rsc46	471-481			91,5	Mélange complexe
<b>Rsc47</b>	482-496			199,7	<b>Mélange séparable</b>
Rsc48	497-549			20	80
<b>Rsc49</b>	550-565	10	90	201,8	<b>Mélange séparable</b>
Rsc50	566-570			112,3	Mélange complexe
Rsc51	571-575			184,8	Mélange complexe
Rsc52	576-579			136,8	Mélange complexe
Rsc53	580-600			0	100

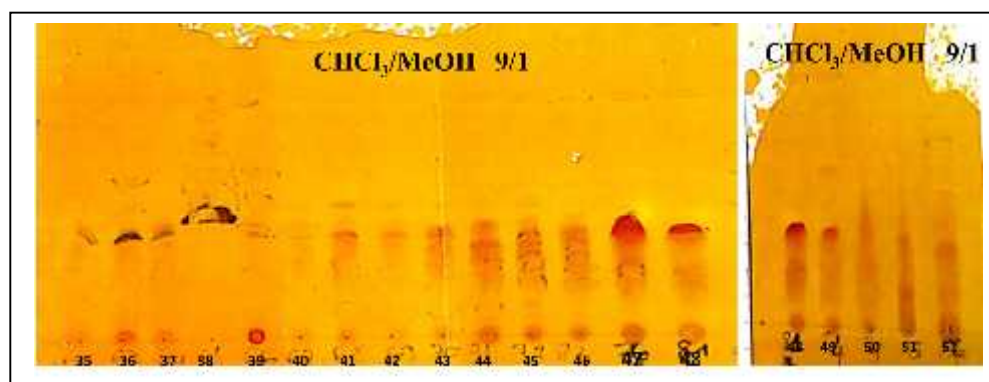
Avant d'entamer la séparation des fractions de l'extrait chloroforme de l'espèce *R. sphaerocarpa*, des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice déposée sur feuille d'aluminium ont été effectués afin de sélectionner les fractions à étudier. En raison de la simplicité et la richesse en métabolites secondaires, nous avons choisi les fractions: **Rsc 1**, **Rsc 5**, **Rsc 6**, **Rsc 11** et **Rsc 14**.

D'après les études phytochimiques antérieures réalisées sur cette espèce qui prouvent que notre plante comporte des métabolites secondaires de type alcaloïde, nous avons ciblés les fractions suivantes: **Rsc 47** et **Rsc 49**.

Le réactif de Dragendorff nous a permis de révéler la présence des alcaloïdes.

## Chapitre II. Travaux personnels

La figure II.3 représente deux plaques CCM de quelques fractions de l'extrait chloroforme révélées avec le réactif Dragendorff.



**Figure II.3.** Plaques CCM des fractions de l'extrait chloroforme révélées avec le réactif Dragendorff

### II.1.8.2. Séparation et purification des fractions issues de l'extrait chloroforme

#### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsc 1

La fraction Rsc1 contient un précipité majoritaire, cette fraction a été lavée avec le chloroforme et ensuite l'acétone. Le précipité blanc obtenu est dissous dans le mélange  $\text{CHCl}_3$ /méthanol et testé sur plaque analytique de gel de silice, éluée par le système chloroforme / méthanol (9,5/ 0,5), ce précipité donne un spot unique sous lumière UV à  $\lambda = 254$  et  $365$  nm et une seule tache jaune après révélation à l'anisaldéhyde. Ce composé de masse  $m=110,6$  mg présente le produit majoritaire de cette plante noté **Rs1**.

#### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsc5

Une masse de  $26,9$  mg de la fraction Rsc5 est soumise à un fractionnement par chromatographie d'adsorption sur gel de silice (type 60, 70-230 mesh, ASTM) éluée par le système : éther de pétrole /éther diéthylique en gradient de polarité.

Les fractions ont été suivies par CCM sur gel de silice en utilisant le même système éther de pétrole /éther diéthylique avec le pourcentage (1 /1). Les plaques sont visualisées sous lumière UV  $254$  nm puis révélées avec de l'acide sulfurique et chauffées pendant trois minutes à  $100^\circ\text{C}$ . Les sous-fractions similaires sont rassemblées, évaporées et pesées donnant 11 sous-fractions (tableau II.4), parmi lesquelles la sous fraction **Rsc 5-5** a subi une purification.

La figure II.4 représente la plaque CCM des sous-fractions de Rsc5 révélée à l'acide sulfurique.

## Chapitre II. Travaux personnels

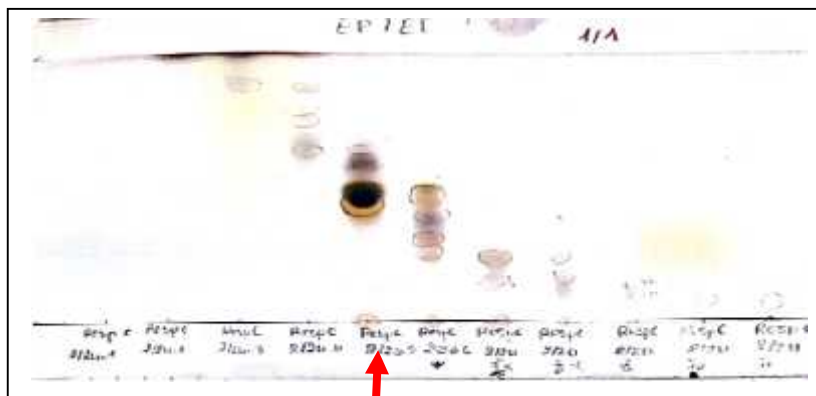


Figure II.4. Plaque CCM des sous-fractions de Rsc5 révélée à l'acide sulfurique

Tableau II.4. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction Rsc5

N° de la sous-fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous-fraction (mg)
	Éther de pétrole	Éther diéthylique	
Rsc5-1	100	0	0,2
Rsc5-2	90	10	0,5
Rsc5-3	80	20	0,3
Rsc5-4	70	30	1,1
<b>Rsc5-5</b>	<b>60</b>	<b>40</b>	<b>10,0</b>
Rsc5-6	50	50	2,1
Rsc5-7	40	60	5,3
Rsc5-8	30	70	0,9
Rsc5-9	20	80	0,4
Rsc5-10	10	90	0,5
Rsc5-11	0	100	0,3

Une masse de 5,5 mg de la sous fraction Rsc5-5 a été rechromatographiée sur une plaque préparative de gel de silice (Silica gel 60 F254 (20 x 20 cm, 0,2 mm) éluée par le système chloroforme (100%) avec deux éluations successives pour donner deux produits **Rsc5-5-4** et **Rsc5-5-5**. Ces deux produits ont subi une autre purification chacun sur une plaque préparative de gel de silice pour obtenir les deux composés à l'état purs nommés **Rs2** de masse m=1,8 mg et **Rs3** de masse m=1,2 mg Respectivement.

### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsc6

La fraction Rsc6 comporte un précipité jaune qui a été lavé avec du chloroforme et ensuite avec du méthanol. Le poids de ce précipité est 4,2 mg. Un test chromatographique sur CCM prouve que ce produit nommé **Rs4** est monotache.

## Chapitre II. Travaux personnels

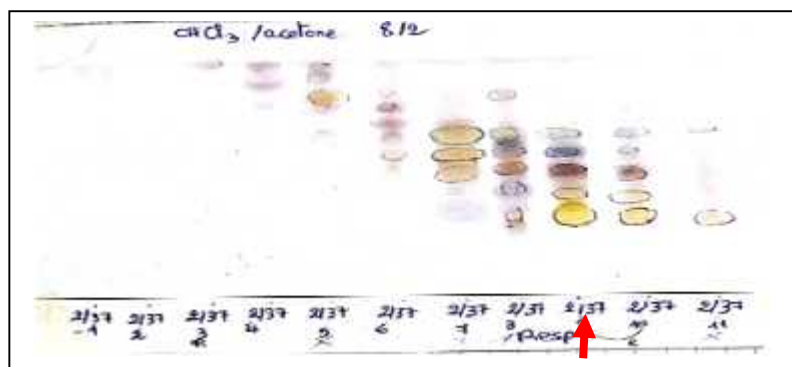
### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsc11

La fraction Rsc11 renferme un précipité qui apparaît sous forme d'une poudre jaune. Plusieurs lavages successifs avec le chloroforme et du méthanol ont permis l'obtention d'un produit pur de masse  $m = 3,3$  mg nommé **Rs5**.

### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsc14

Une masse de 60 mg de la fraction Rsc14 a subi une séparation sur colonne de gel de silice avec le système d'éluant hexane/ éther diéthylique. Les sous-fractions récupérées du même pourcentage sont rassemblées et évaporées.

La figure II.5 représente la plaque CCM des sous-fractions de Rsc14 révélée à l'acide sulfurique.



**Figure II.5.** Plaque CCM des sous-fractions de Rsc14 révélée à l'acide sulfurique

**Tableau II.5.** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction Rsc14

N° de la sous-fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous-fraction (mg)
	Hexane	Éther diéthylique	
Rsc14-1	100	0	7,0
Rsc14-2	90	10	0,5
Rsc14-3	80	20	10,8
Rsc14-4	70	30	1,0
Rsc14-5	60	40	1,0
Rsc14-6	50	50	4,6
Rsc14-7	40	60	4,6
Rsc14-8	30	70	3,2
<b>Rsc14-9</b>	<b>20</b>	<b>80</b>	<b>7,7</b>
Rsc14-10	10	90	2,0
Rsc14-11	0	100	8,9

Notre choix s'est porté sur la sous-fraction Rsc14-9 à cause de sa richesse et sa quantité  $m = 7,7$  mg.



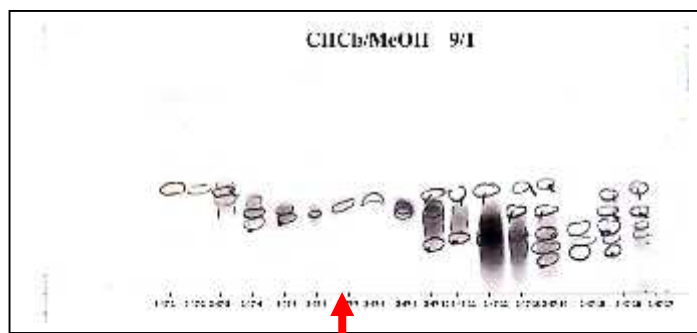
## Chapitre II. Travaux personnels

Cette sous-fraction a été traitée sur une plaque préparative de gel de silice éluée avec le système chloroforme/ acétone (8/2) donnant deux produits à l'état pur **Rsc14-9-3** de masse  $m=1,4$  mg et **Rsc14-9-5** de masse  $m=0,7$  mg.

### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsc47

Une masse de 100,3 mg de la fraction Rsc47 a été soumise à un fractionnement par chromatographie d'adsorption sur colonne de gel de silice éluée par le système chloroforme /méthanol en gradient de polarité. Les fractions ont été suivi par CCM sur gel de silice en utilisant le système  $\text{CHCl}_3$  / méthanol (9/1) pour donner 17 sous-fractions.

La figure II.6 représente la plaque CCM des sous-fractions de Rsc47 révélée à l'acide sulfurique.



**Figure II.6.** Plaque CCM des sous-fractions de Rsc47 révélée à l'acide sulfurique

**Tableau II.6.** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction Rsc47

N° de la sous fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous fraction (mg)
	Chloroforme	Méthanol	
Rsc47-1	100	0	17,2
Rsc47-2	98	2	0,6
Rsc47-3			1,8
Rsc47-4			1,3
Rsc47-5			0,5
Rsc47-6			0,8
<b>Rsc47-7</b>			<b>98</b>
Rsc47-8	96	4	2,7
Rsc47-9			0,2
Rsc47-10			4,9
Rsc47-11			11,0
Rsc47-12			3,4
Rsc47-13			2,1

## Chapitre II. Travaux personnels

**Tableau II.6.** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction Rsc47 (suite)

N° de la sous fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous fraction (mg)
	Chloroforme	Méthanol	
Rsc47-14	94	6	1,5
Rsc47-15	90	10	3,1
Rsc47-16	80	20	7,6
Rsc47-17	0	100	12,6

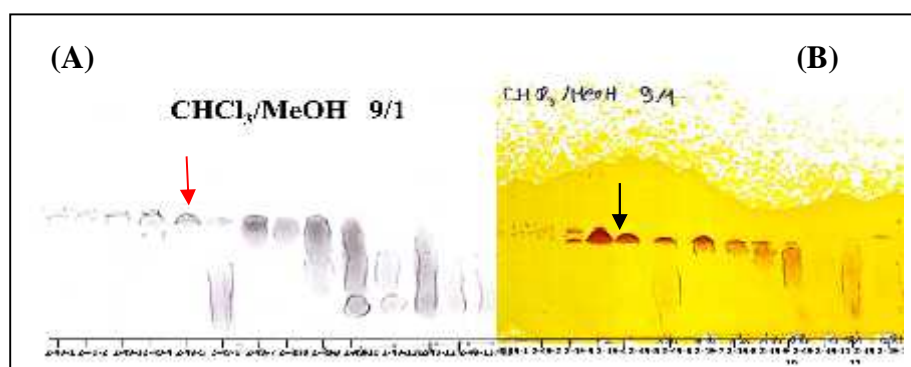
La sous fraction **Rsc47-7** montre une seule tache sous UV ( $\lambda = 254$  nm) et après révélation avec l'acide sulfurique et le réactif Dragendorff donnant le produit **Rsc47-7** de masse 1,1 mg à l'état pur.

### ➤ Séparation de la fraction Rsc49

La fraction Rsc49 (environ 200 mg) a subi une séparation, également sur une colonne sur gel de silice et éluee par le système  $\text{CHCl}_3$ /méthanol en gradient de polarité. Les fractions obtenues ont été soumises à une analyse sur plaques CCM, visualisées sous lumière UV ( $\lambda = 254$  nm) puis révélées à l'acide sulfurique et le réactif Dragendorff.

Le test chromatographique sur plaque CCM de la sous fraction Rsc49-5 révèle sa pureté. Après évaporation à sec, la masse du produit **Rsc49-5** est de 2,3 mg.

La figure II.7 représente les deux plaques CCM des sous-fractions de Rsc49 révélées à l'acide sulfurique et le réactif Dragendorff.



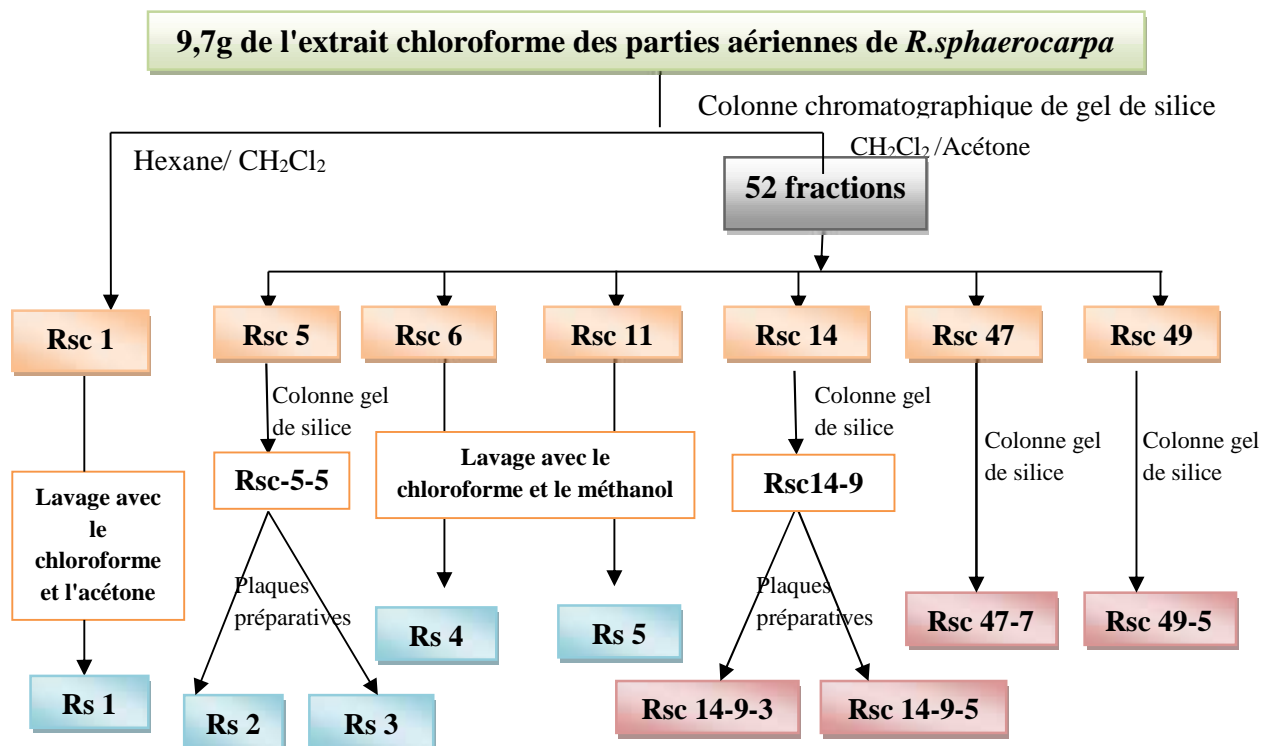
**Figure II.7.** Plaques CCM des sous-fractions de Rsc49 révélées à l'acide sulfurique (A) et le réactif Dragendorff (B)

## Chapitre II. Travaux personnels

**Tableau II.7.** Résultats de la séparation de la fraction Rsc49

N° de la sous fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous fraction (mg)
	Chloroforme	Méthanol	
Rsc49-1	100	0	16,9
Rsc49-2	98	2	1,2
Rsc49-3			1,6
Rsc49-4	96	4	10,2
<b>Rsc49-5</b>	<b>94</b>	<b>6</b>	<b>2,3</b>
Rsc49-6	94	6	11,3
Rsc49-7			5,6
Rsc49-8			3,9
Rsc49-9	92	8	7,4
Rsc49-10			13,2
Rsc49-11			8,8
Rsc49-12	90	10	3,4
Rsc49-13	0	100	13,4

L'étude phytochimique de l'extrait chloroforme nous a permis d'isoler 9 produits purs dont les quatre composés **Rsc14-9-3**, **Rsc14-9-5**, **Rsc47-7** et **Rsc49-5** sont en cours d'identification. Le protocole présenté dans la figure II.8 résume les travaux de fractionnement, séparation et purification des produits issus de cet extrait de l'espèce *R. sphaerocarpa*.



**Figure II.8.** Organigramme récapitulatif des étapes de séparation et de purification des produits issus de l'extrait chloroforme de l'espèce *R. sphaerocarpa*

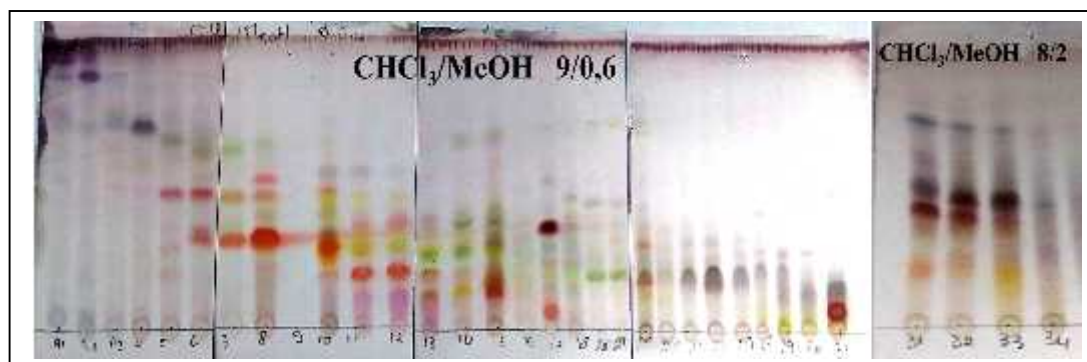
## Chapitre II. Travaux personnels

### II.1.8.3. Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle

Avant d'entamer la séparation par chromatographie sur colonne de cet extrait, nous avons procédé à des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice déposée sur une feuille d'aluminium, la meilleure séparation obtenue était avec le système de solvant hexane/acétate d'éthyle (4/1).

Une colonne a été utilisée pour le fractionnement de la phase acétate d'éthyle (7g) en utilisant comme phase stationnaire le gel de silice (type 60, 230-400 mesh, Fluka). L'extrait acétate d'éthyle dissout dans le méthanol est mélangé à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché à une température de 35 °C, puis pulvérisé jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette poudre est déposée sur une colonne de gel de silice, préparée dans l'hexane.

L'élution a été réalisée par le système hexane/ acétate d'éthyle en augmentant la polarité de façon graduelle. 279 lots de 100 ml ont été obtenus et regroupés selon leur profil chromatographique en 34 fractions (figure II.9). Le tableau II.8 représente les résultats de cette séparation.



**Figure II.9.** Plaques CCM des fractions de l'extrait acétate d'éthyle révélées à l'anisaldéhyde

**Tableau II.8.** Résultats de la séparation sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *R. sphaerocarpa*

Fractions	Lots	Système d'élution (%)		Masse de la fraction (mg)	Observations
		Hexane	AcOEt		
Rsa1	1-4	100	0	22,9	Mélange complexe
Rsa2	5-8	80	20	40,2	Mélange complexe
Rsa3	9-24			57,1	Mélange complexe
Rsa4	25-29	75	25	60,5	Mélange complexe
Rsa5	30-34			25,5	Mélange complexe
Rsa6	35-43			65,5	Mélange complexe
<b>Rsa7</b>	<b>44-46</b>	<b>70</b>	<b>30</b>	<b>106,5</b>	<b>Mélange séparable</b>

## Chapitre II. Travaux personnels

**Tableau II.8.** Résultats de la séparation sur colonne de gel de silice de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *R. sphaerocarpa* (suite)

Fractions	Lots	Système d'élution (%)		Masse de la fraction (mg)	Observations
		Hexane	AcOEt		
<b>Rsa8</b>	<b>47-49</b>	<b>70</b>	<b>30</b>	<b>168,7</b>	<b>Mélange séparable</b>
<b>Rsa9</b>	<b>50-62</b>			<b>517,4</b>	<b>Mélange+précipité</b>
Rsa10	63-69	65	35	353,6	Mélange complexe
<b>Rsa11</b>	<b>70-71</b>	<b>65</b>	<b>35</b>	<b>176,7</b>	<b>Mélange séparable</b>
Rsa12	72-80	65	35	197,3	Mélange complexe
Rsa13	81-85	60	40	174,0	Mélange complexe
<b>Rsa14</b>	<b>86-91</b>	<b>60</b>	<b>40</b>	<b>414,4</b>	<b>Mélange+précipité</b>
<b>Rsa15</b>	<b>92-105</b>			<b>293,0</b>	<b>Mélange+précipité</b>
<b>Rsa16</b>	<b>106-114</b>	<b>55</b>	<b>45</b>	<b>200,7</b>	<b>Mélange+précipité</b>
<b>Rsa17</b>	<b>115-126</b>			<b>144,8</b>	<b>Mélange séparable +précipité</b>
<b>Rsa18</b>	<b>127-130</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>291,2</b>	<b>Mélange+précipité</b>
<b>Rsa19</b>	<b>131-135</b>			<b>94,0</b>	<b>Mélange+précipité</b>
Rsa20	136	50	50	57,0	Mélange complexe
<b>Rsa21</b>	<b>137-147</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>129,8</b>	<b>Mélange séparable +précipité</b>
Rsa22	148-156	45	55	86,3	Mélange complexe
Rsa23	157-161	40	60	109,5	Mélange complexe
Rsa24	162-168			105,9	Mélange complexe
Rsa25	169-187	35	65	177,1	Mélange complexe
Rsa26	188-196			104,1	Mélange complexe
Rsa27	197-207	30	70	94,8	Mélange complexe
Rsa28	208-223	25	75	88,5	Mélange complexe
Rsa29	224-239	20	80	114,6	Mélange complexe
<b>Rsa30</b>	<b>240-251</b>	10	90	128,3	<b>Mélange+précipité</b>
<b>Rsa31</b>	<b>252-257</b>	<b>5</b>	<b>95</b>	<b>95,3</b>	<b>Mélange séparable</b>
<b>Rsa32</b>	<b>258-264</b>			<b>154,7</b>	<b>Mélange séparable</b>
<b>Rsa33</b>	<b>265-276</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>211,4</b>	<b>Mélange+précipité</b>
Rsa34	277-279			574,2	Mélange complexe

Parmi les 34 fractions obtenues, les fractions **Rsa7, Rsa8, Rsa9, Rsa11, Rsa14, Rsa15, Rsa16, Rsa17, Rsa18, Rsa19, Rsa21, Rsa30, Rsa31, Rsa32** et **Rsa33** ont été sélectionnées en raison soit de leur simplicité, soit de leur poids relativement important, soit de leur contenance de composé majoritaire.

## Chapitre II. Travaux personnels

### II.1.8.4. Séparation et purification des fractions issues de l'extrait acétate d'éthyle

#### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsa7

Une masse de 20,6 mg de la fraction Rsa7 a subi une séparation sur une plaque préparative de gel de silice (Silica gel 60 F254 (20 x 20 cm, 0,2 mm), en utilisant comme système d'éluion  $\text{CHCl}_3$ / méthanol (9/1) pour donner un produit pur **Rsa7-1** (m= 1,9mg) qui est en cours d'identification.

#### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsa8

Le traitement de la fraction Rsa8 (m= 15 mg) sur des plaques préparatives de gel de silice dans le système  $\text{CHCl}_3$ /méthanol (9/1) a conduit à la séparation d'un produit **Rsa8-1** de masse m= 5 mg nommé **Rs6**.

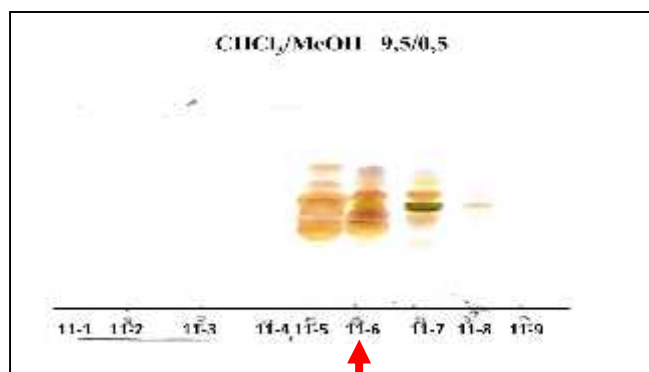
#### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsa9

La fraction Rsa9 renferme un précipité blanc. Après filtration, ce précipité a été purifié par un lavage au méthanol et a permis l'obtention d'un produit pur de masse m= 15,9 mg nommé **Rs7**.

#### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsa11

Nous avons procédé à un premier fractionnement par volume sur colonne de gel de silice (type 60, 70-230 mesh, ASTM) de la fraction Rsa11 (164,9 mg) et nous avons utilisé un système d'éluion éther de pétrole/ éther diéthylique en gradient de polarité, 9 sous-fractions ont été récupérées et l'ensemble des résultats est reporté dans le tableau II.9.

La figure II.10 représente la plaque CCM des sous-fractions de Rsa11 révélée à l'acide sulfurique.



**Figure II.10.** Plaque CCM des sous-fractions de Rsa11 révélée à l'acide sulfurique

## Chapitre II. Travaux personnels

**Tableau II.9.** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction Rsa11

N° de sous-fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous - fraction (mg)
	Éther de pétrole	Éther diéthylique	
Rsa11-1	100	0	0,1
Rsa11-2	80	20	5,6
Rsa11-3	60	40	3,9
Rsa11-4	50	50	0,6
Rsa11-5	40	60	25,8
<b>Rsa11-6</b>	<b>30</b>	<b>70</b>	<b>60,7</b>
Rsa11-7	20	80	30,2
Rsa11-8	10	90	2,4
Rsa11-9	0	100	2,1

Une deuxième séparation de la sous fraction Rsa11-6 de masse  $m = 60,7\text{mg}$  a été effectuée sur une colonne gel de silice éluee par le système éther de pétrole / éther diéthylique (50/50; 30/70 et 20/80). Le tableau II.10 montre les résultats de cette séparation après regroupement des sous-fractions selon les tests chromatographiques sur couche mince CCM.

**Tableau II.10** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la sous-fraction Rsa11-6

N° de sous-fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous - fraction (mg)
	Éther de pétrole	Éther diéthylique	
Rsa11-6-1	50	50	0,3
Rsa11-6-2	30	70	0,1
Rsa11-6-3			4,4
<b>Rsa11-6-4</b>	<b>30</b>	<b>70</b>	<b>7,3</b>
Rsa11-6-5	30	70	7,9
Rsa11-6-6			11,9
Rsa11-6-7			3,4
Rsa11-6-8			1,5
Rsa11-6-9	20	80	0,7
Rsa11-6-10	0	100	6,2

Les sous fractions Rsa11-6-4, Rsa11-6-5 et Rsa11-6-6 renferment le même composé majoritaire avec le même  $R_f$ . Notre choix a été porté sur la sous fraction Rsa11-6-4 en raison de sa simplicité par rapport aux autres sous-fractions.

Cette dernière (Rsa11-6-4) de masse 7,3mg a subi une chromatographie sur des plaques préparatives de gel de silice éluees avec le système  $\text{CHCl}_3$ /méthanol (9,5/0,5), conduisant à

## Chapitre II. Travaux personnels

deux produits purs **Rsa11-6-4-5** (2,1 mg) nommé **Rs8** et **Rsa11-6-4-6** (4,4 mg) qui est en cours d'identification.

### ➤ Séparation et purification de la fraction **Rsa14**

La fraction **Rsa14** contient un précipité majoritaire de couleur jaune issu directement de la colonne, ce précipité est purifié par lavage avec le méthanol ensuite séché puis pesé et testé sur plaque analytique de gel de silice élué par le système  $\text{CHCl}_3$ / méthanol (9/1) avec 2 éluions. La plaque a montré une seule tache sous UV ( $\lambda = 254$  et  $365\text{nm}$ ) même après révélation à l'anisaldehyde, ce produit de masse  $m = 55,9$  mg est nommé **Rs9**.

### ➤ Séparation et purification de la fraction **Rsa15**

Cette fraction contient un précipité sous forme des aiguilles de couleur blanche insoluble dans le méthanol. Il a été séparé du surnageant par une simple filtration. Ce précipité a été purifié par plusieurs lavages au méthanol pour obtenir un produit pur de masse  $m = 15,6$  mg. Ce composé est nommé **Rs10**.

### ➤ Séparation et purification des fractions **Rsa16, Rsa17, Rsa18 et Rsa19**

Les fractions **Rsa16, Rsa17, Rsa18 et Rsa19** contenant des précipités blancs, chaque fraction a subi une filtration suivi d'une purification par plusieurs lavages au méthanol pour donner des précipités de masse  $m = 16,5; 21,8; 13,5$  et  $4,5$  mg respectivement.

Un test de vérification de la pureté de ces quatre produits a été entrepris sur plaques CCM dans le système  $\text{CHCl}_3$ / méthanol (9/ 1) a montré qu'il s'agit du même produit. Cela est confirmé par l'enregistrement des spectres RMN  $^1\text{H}$  et masse (TOF-MS) des quatre précipités nommés **Rs 11** dont la masse totale est  $m = 56,3$  mg.

Après récupération du précipité de la fraction **Rsa17**, le surnageant a subi une séparation sur des plaques préparatives de gel de silice éluée deux fois avec le système  $\text{CHCl}_3$ / méthanol (9/1), qui nous a conduit au produit pur **Rsa17-2** nommé **Rs12** ( $m = 3,7$  mg).

### ➤ Séparation et purification de la fraction **Rsa21**

La fraction **Rsa21** renferme un produit sous forme d'une poudre jaune soluble dans l'acétone et le DMSO. Ce produit est purifié par lavages successifs à l'aide du  $\text{CHCl}_3$  et du méthanol, le produit obtenu est nommé **Rs13** ( $m = 7,2$  mg).

Une masse de  $86,9$  mg du surnageant de la fraction **Rsa21**, obtenu après récupération du précipité, a subi une séparation sur une colonne de gel de silice élué par le système éther de



## Chapitre II. Travaux personnels

pétrole/  $\text{CHCl}_3$  ensuite  $\text{CHCl}_3$ /méthanol en gradient de polarité pour obtenir 15 sous fractions regroupées selon leur profil chromatographique sur plaque CCM (tableau II.11).

Deux produits purs ont été récupérés directement de la colonne à partir des sous fractions **Rsa21-4** et **Rsa21-5** d'une masse 1,4 mg et 5,0 mg respectivement.

Ces deux produits sont en cours d'identification.

**Tableau II.11.** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction Rsa21

N° de sous-fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous-fraction (mg)
	Éther de pétrole	$\text{CHCl}_3$	
Rsa21-1	20	80	1,8
Rsa21-2	10	90	0,8
Rsa21-3			1,1
<b>Rsa21-4</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>1,5</b>
/	<b><math>\text{CHCl}_3</math></b>	<b>Méthanol</b>	/
<b>Rsa21-5</b>	98	2	<b>5,0</b>
Rsa21-6	98	2	0,4
Rsa21-7			0,8
Rsa21-8			0,1
Rsa21-9			2,0
Rsa21-10			3,7
Rsa21-11			2,4
Rsa21-12	96	4	10,8
Rsa21-13			8,6
Rsa21-14	90	10	4,5
Rsa21-15	0	100	5,5

### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsa30

Dans la fraction Rsa30, on a observé la formation d'une poudre jaune insoluble dans le méthanol, après filtration et plusieurs lavages au méthanol, nous avons pu obtenir 3,7 mg du produit nommé **Rs14**.

### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsa31

Une masse de 30 mg de la fraction Rsa31 est purifiée sur plaques préparatives de gel de silice (Silica gel 60 F254 (20 x 20 cm, 0,2 mm) éluées dans le système chloroforme/ méthanol (8/2) a mené à l'obtention de trois produits **Rsa31-1** (0,9 mg), **Rsa31-3** (1 mg) nommé **Rs15** et **Rsa31-5** (0,6 mg). Les deux produits **Rsa31-1** et **Rsa31-5** sont en cours d'identification.

La figure II.11 représente la plaque CCM des composés séparés à partir de la fraction Rsa31 révélée à l'acide sulfurique.

## Chapitre II. Travaux personnels



**Figure II.11.** Plaque CCM de la séparation de la fraction Rsa31 révélée à l'acide sulfurique

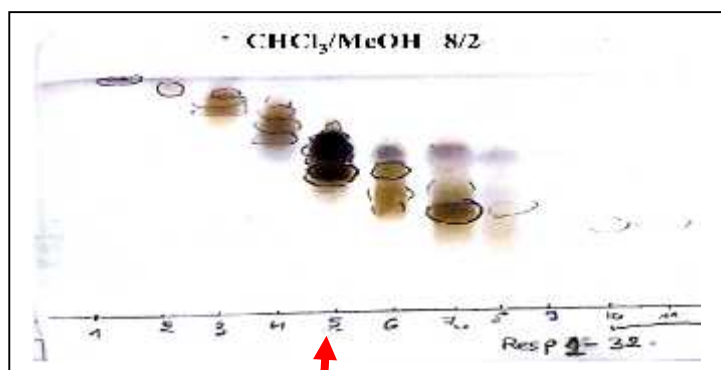
### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsa32

Une masse de 98,7 mg de la fraction Rsa32 a subi une chromatographie préliminaire sur colonne de gel de silice avec un système d'élution chloroforme/méthanol avec une polarité croissante de 1/0 à 1/9.

Les sous-fractions ont été recueillies et réunies par volume pour donner 11 sous fractions.

La progression de cette colonne est résumée dans le tableau II.12.

La figure II.12 représente la plaque CCM des sous-fractions de Rsa32 révélée à l'acide sulfurique.



**Figure II.12.** Plaque CCM des sous-fractions de Rsa32 révélée à l'acide sulfurique.

**Tableau II.12.** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction Rsa32

N° de sous-fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous-fraction (mg)
	CHCl <sub>3</sub>	Méthanol	
Rsa32-1	100	0	1,6
Rsa32-2	97,5	2,5	1,4
Rsa32-3	95	5	6,1

## Chapitre II. Travaux personnels

**Tableau II.12.** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la fraction Rsa32 (suite)

N° de sous-fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous-fraction (mg)
	CHCl <sub>3</sub>	Méthanol	
Rsa32-4	92,5	7,5	9,1
<b>Rsa32-5</b>	<b>90</b>	<b>10</b>	<b>37,2</b>
Rsa32-6	87,5	12,5	11,3
Rsa32-7	85	15	6,3
Rsa32-8	82,5	17,5	1,8
Rsa32-9	80	20	5,0
Rsa32-10	10	90	2,0
Rsa32-11	0	100	4,5

La sous-fraction Rsa32-5 (37,2mg) a été soumise à une deuxième chromatographie sur colonne de gel de silice avec le même système d'éluant chloroforme/méthanol en gradient de polarité.

Les sous fractions sont réunies selon leur profil chromatographique sur plaques CCM pour donner 13 sous fractions (tableau II.13).

**Tableau II.13.** Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de la sous-fraction Rsa32-5

N° de sous-fraction	Système éluant (%)		Masse de la sous-fraction (mg)
	CHCl <sub>3</sub>	Méthanol	
Rsa32-5-1	100	0	0,3
Rsa32-5-2	97,5	2,5	0,7
Rsa32-5-3	95	5	0,2
Rsa32-5-4	92,5	7,5	0,2
<b>Rsa32-5-5</b>	<b>90</b>	<b>10</b>	<b>1,8</b>
<b>Rsa32-5-6</b>			<b>10,7</b>
Rsa32-5-7	90	10	10,1
Rsa32-5-8			0,1
Rsa32-5-9			0,4
Rsa32-5-10			0,8
Rsa32-5-11	85	15	0,4
Rsa32-5-12	75	25	0,5
Rsa32-5-13	0	100	0,7

Le test chromatographique sur plaque CCM de la sous fraction Rsa32-5-5 (1,8 mg) présente une seule tache sous UV ( $\lambda = 254$  nm) et après révélation à l'acide sulfurique.

Une masse de 8mg de la sous-fraction Rsa32-5-6 est soumise à une purification sur une plaque préparative dans le système d'éluant CHCl<sub>3</sub>/méthanol (8,5/1,5) donnant ainsi deux composés purs **Rsa32-5-6-1**(0,6mg) et **Rsa32-5-6-2** (0,9mg).

## Chapitre II. Travaux personnels

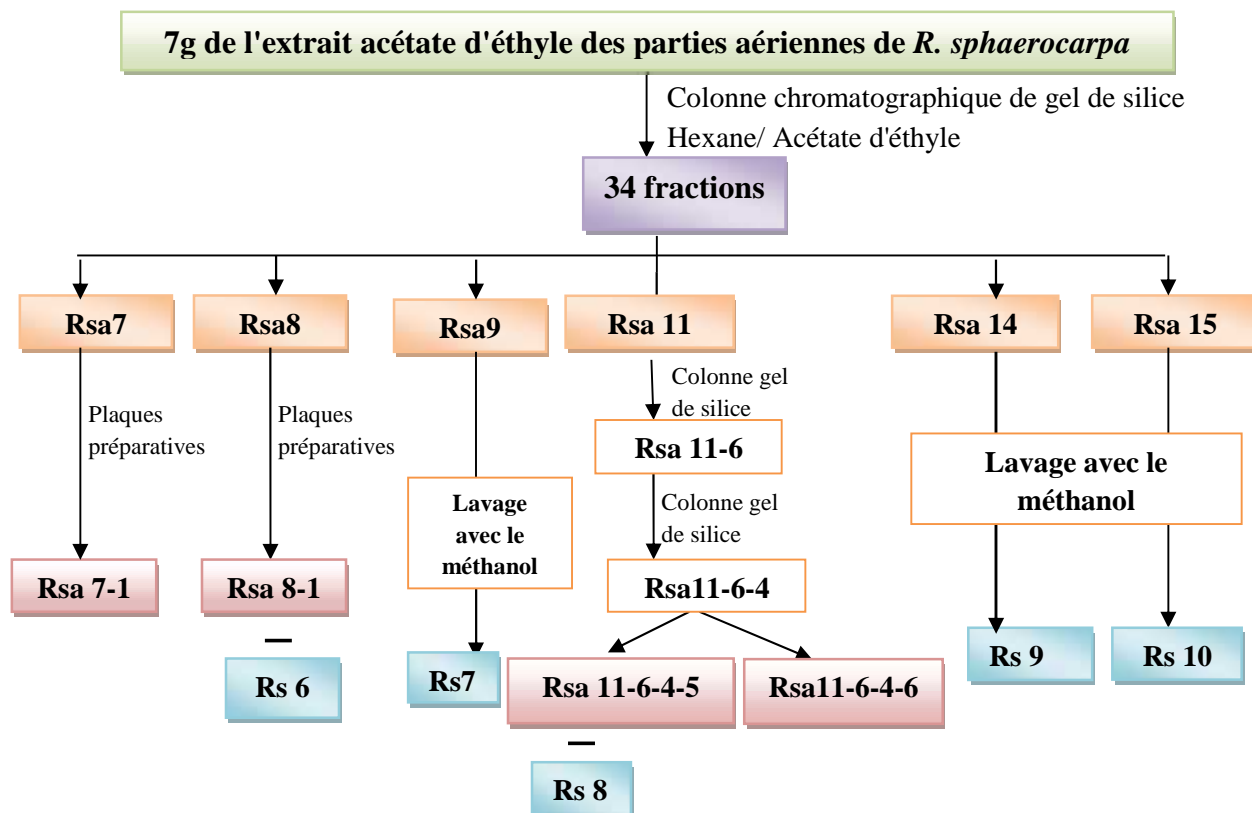
Une analyse chromatographique comparative effectuée sur CCM a montré que les deux composés **Rsa32-5-5** et **Rsa32-5-6-1** sont similaires. L'enregistrement des spectres RMN confirme la similitude de ces deux produits nommés **Rsa32-5-5**.

Les deux composés **Rsa31-1** et **Rsa32-5-6-2** ont le même profil chromatographique sur CCM, cela est prouvé également par l'enregistrement des spectres RMN. Ce produit est nommé **Rsa31-1**. Ces deux composés sont en cours d'identification.

### ➤ Séparation et purification de la fraction Rsa33

La fraction Rsa33 contient un produit majoritaire blanc jaunâtre qui a précipité dans le méthanol. Ce précipité a été lavé au méthanol plusieurs fois pour donner le composé **Rs16** avec un poids de masse  $m = 36,8$  mg, il a été testé sur plaque CCM pour donner un spot unique sous UV ( $\lambda = 254$  nm) et après révélation à l'acide sulfurique.

L'étude phytochimique de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *R. sphaerocarpa* nous a permis d'isoler 18 produits purs dont les six composés **Rsa7-1**, **Rsa11-6-4-6**, **Rsa21-4**, **Rsa21-5**, **Rsa31-1**, **Rsa31-5**, **Rsa32-5-5** sont en cours d'identification. L'organigramme ci-après résume les étapes de fractionnement, séparation et purification des produits issus de cet extrait.



**Figure II.13.** Organigramme récapitulatif des étapes de séparation et purification de l'extrait acétate d'éthyle de *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss

## Chapitre II. Travaux personnels

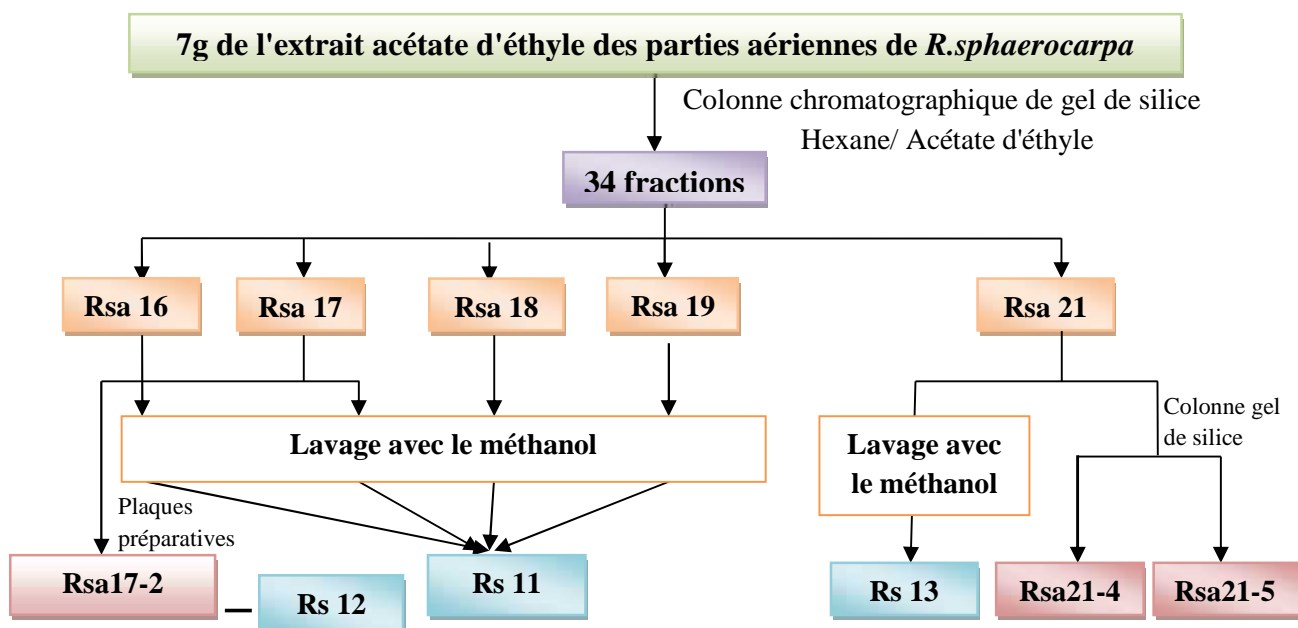


Figure II.13. Organigramme récapitulatif des étapes de séparation et purification de l'extrait acétate d'éthyle de *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss (suite)

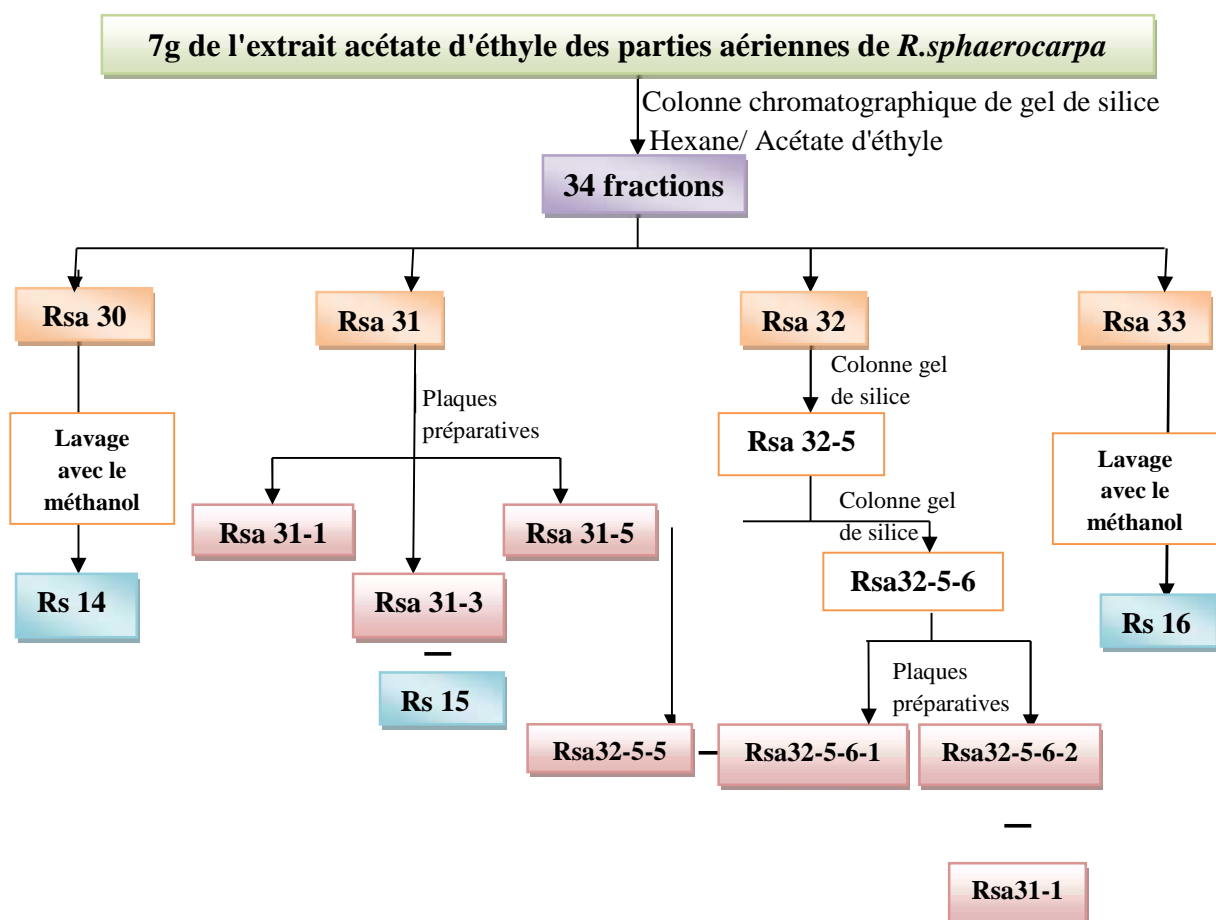


Figure II.13. Organigramme récapitulatif des étapes de séparation et purification de l'extrait acétate d'éthyle de *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss (suite)

## Chapitre II. Travaux personnels

### II.2. Analyses quantitatives des extraits de *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss

Des déterminations quantitatives des principaux composés phénoliques ont été effectuées sur les trois extraits de l'espèce *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss.

#### II.2. 1. Dosage des polyphénols totaux

##### ➤ Principe

Le dosage des polyphénols totaux des extraits de l'espèce *R. sphaerocarpa* a été effectué par une méthode adaptée par Singleton avec le réactif de Folin-Ciocalteu [19].

Le réactif de Folin-Ciocalteu, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolibdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum à 760 nm [19].

##### ➤ Procédure expérimentale

Un volume de 125  $\mu$ l de chaque extrait préparé dans le méthanol (1 mg/ml), ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essais, suivis de l'addition de 500  $\mu$ l d'eau distillée et 125  $\mu$ l de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) à 10%.

Après incubation pendant 3 minutes, 1250  $\mu$ l de carbonate de sodium (2%) et 1 ml d'eau distillée ont été ajoutés respectivement au milieu réactionnel.

Ensuite, le mélange a été incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 90 minutes. L'absorbance de toutes les solutions a été mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm contre le blanc sans extrait. Toutes les mesures ont été réalisées en triple.

##### ➤ Expression des résultats

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon de l'acide gallique (50-500  $\mu$ g/ml) et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par 1g d'extrait.

#### II.2. 2. Dosage des flavonoïdes totaux

##### ➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé en utilisant le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), ce réactif forme avec les groupements hydroxyles du flavonoïde un complexe très stable, de couleur jaune et absorbe à une longueur d'onde de 430 nm [20].

## Chapitre II. Travaux personnels

### ➤ Procédure expérimentale

Un volume de 1ml de chaque extrait préparé dans le méthanol (1 mg /ml) est mélangé à 1ml de  $AlCl_3$  à 2%. Après une incubation pendant 15 min à température ambiante, l'absorbance du mélange obtenu est directement mesurée au spectrophotomètre UV- visible à 430 nm contre le blanc sans extrait. Toutes les mesures ont été réalisées en triple.

### ➤ Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, réalisée par un standard étalon (la quercétine) à différentes concentrations (10-80  $\mu g/ml$ ) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine (EQ) par 1g d'extrait.

### II.3. Évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *R. sphaerocarpa*

Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnel, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits serait plus instructif et même nécessaire [21].

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydantes font intervenir généralement la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agent antioxydant. Ces méthodes peuvent être classées en deux groupes selon leurs mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron [22].

#### II.3.1. Matériel végétal

Nous avons étudié l'activité anti-radicalaire des trois extraits de l'espèce *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss ainsi que de trois isoflavonoides qui ont été isolés à partir de l'extrait chloroforme et acétate d'éthyle de cette plante.

#### II.3.2. Matériel et méthode

Au cours de cette étude, notre choix s'est porté sur l'utilisation de plusieurs tests chimiques, à savoir: l'effet scavenger d'un antioxydant sur le radical 2,2diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le radical 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) et enfin le test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) qui mesure les pouvoir de réduction des ions de cuivre.

## Chapitre II. Travaux personnels

### II.3.2.1. Test de l'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH

#### ➤ Principe

Le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés purs ou de mélange complexe. La méthodologie est basée sur la décroissance de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH suite à l'addition de l'antioxydant visualisé également par un changement de coloration de la solution qui vire du violet au jaune [23].

La première étape est la capture d'un atome d'hydrogène du composé phénolique par le radical DPPH pour donner du diphénylhydrazine et un radical phénoxy (figure II.14). Cette étape est la première d'une série de réactions telles que des fragmentations, additions, ou autres qui peuvent éventuellement influencer les résultats, notamment les cinétiques de la capture du DPPH par le composé testé [24].

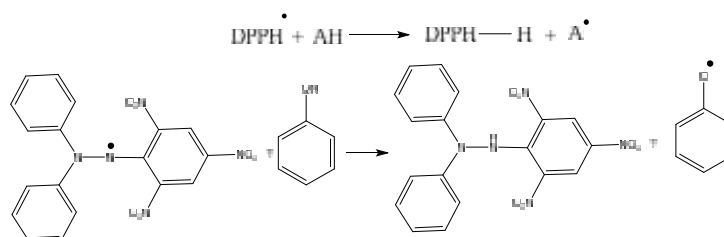


Figure II.14. Réaction du radical DPPH avec un phénol [23]

#### ➤ Procédure expérimentale

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Blois, M.S. (1958) [25]. Dans un lecteur de microplaque à 96 puits on introduit 40 µl des différents extraits aux concentrations allant de 12,5-800 µg/ml, on ajoute 160 µl de la solution méthanolique de DPPH préparée à une concentration de (0,1mM). Après agitation, le mélange est incubé à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible contre un contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH et le méthanol. Le BHT et le BHA ont été utilisés comme contrôles positifs.

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre DPPH est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = \left[ \frac{(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}})}{A_{\text{contrôle}}} \times 100 \right]$$

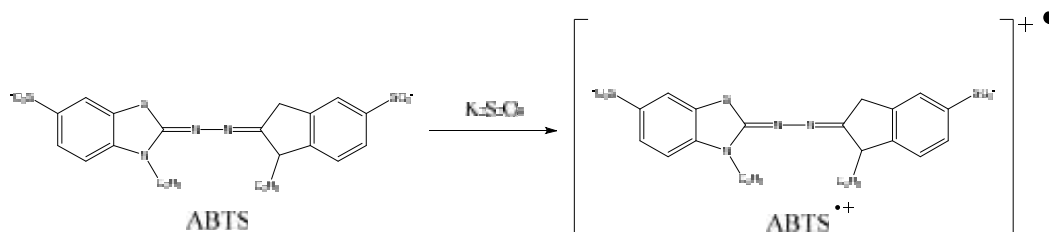


## Chapitre II. Travaux personnels

### II.3.2.2. Test de l'activité antiradicalaire à l'ABTS

#### ➤ Principe

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ). L'ajout d'un antioxydant de type phénol, thiol, ou tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants [26,27].



**Figure II.15.** Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de  $ABTS^{+\bullet}$  [27]

#### ➤ Procédure expérimentale

L'analyse spectrophotométrique de l'activité de piégeage de l'ABTS a été déterminée selon la méthode de Re, R. et al (1999) [28], avec une légère modification. Une solution d'ABTS à 7 mM dans l'eau a été ajoutée à une solution de persulfate de potassium à 2,45 mM. Le mélange est agité puis placé à l'abri de la lumière pendant 12h pour former le radical cation  $ABTS^{+\bullet}$ . Avant utilisation, la solution est diluée dans l'éthanol pour obtenir une absorbance de  $0,708 \pm 0,025$  à 734 nm. La solution obtenue est stable lorsqu'elle est conservée à l'abri de la lumière et à température ambiante. Ensuite, un volume de 160  $\mu$ l de la solution diluée du radical  $ABTS^{+\bullet}$  est ajoutée à 40  $\mu$ l des différents extraits aux concentrations allant de 12,5 à 800  $\mu$ g/ml. Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible contre un contrôle négatif contenant uniquement la solution ABTS et le méthanol. Le BHT et le BHA ont été utilisés comme contrôles positifs.

Le pourcentage de réduction du radical  $ABTS^{+\bullet}$  est calculé selon la formule ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité anti - radicalaire ABTS} = \left[ \frac{(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}})}{A_{\text{contrôle}}} \times 100 \right]$$

## Chapitre II. Travaux personnels

### II.3.2.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

#### ➤ Principe

La méthode CUPRAC est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproéne (NC), cuivre ( $\text{Cu}^{+2}$ )  $\text{Nc}2\text{-Cu}^{+2}$ . En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproéne est réduit en complexe chélate de cuivre coloré (I)-neocuproïne. Cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450 nm [29].

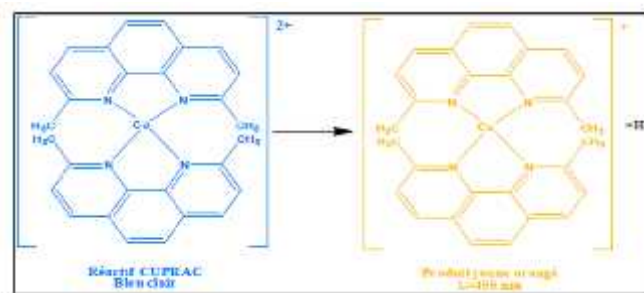


Figure II.16. La réduction du complexe  $\text{Cu}^{+2}$ -Nc

#### ➤ Procédure expérimentale

La réduction du cuivre (CUPRAC) a été déterminée par la méthode décrite par Apak, R. et al (2004) avec quelques modifications [29]. La capacité de réduction des extraits a été comparée à celles du BHA et du BHT utilisés comme contrôles positifs.

Dans une microplaque à 96 puits, on introduit un volume de 60  $\mu\text{l}$  d'une solution tampon d'acétate d'ammonium ( $\text{AcNH}_4$ ) à  $\text{pH}=7,0$ , un volume de 50  $\mu\text{l}$  d'une solution de chlorure de cuivre (II) ( $\text{CuCl}_2$ ) et 50  $\mu\text{l}$  d'une solution alcoolique de néocuprine. 40  $\mu\text{l}$  des extraits testés à différentes concentrations (12,5-800  $\mu\text{g/ml}$ ) ont été ajoutés pour atteindre un volume final de 200  $\mu\text{l}$ . Les microplaques de 96 puits ont été ensuite incubées pendant 1h à l'abri de la lumière. Enfin l'absorbance est mesurée à 450 nm contre un blanc sans extrait.

### II.3.3. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD (écart type) d'analyses en trois essais.

Les valeurs de  $\text{CI}_{50}$  (la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical) et de  $\text{A}_{0,50}$  (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir des deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)] pour la  $\text{CI}_{50}$  et [Absorbance= f (concentrations)] pour la valeur  $\text{A}_{0,50}$ .

## Chapitre II. Travaux personnels

### Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique de l'espèce

#### *Lepidium draba* (L.)

#### II.4. Étude phytochimique de l'espèce *Lepidium draba* (L.)

##### II.4.1. Choix du matériel végétal

La sélection de cette plante a été basée sur les critères cités ci-dessous:

- peu d'études phytochimiques abordée sur *L. draba* jusqu'à ce jour.
- plusieurs études sur leur effets thérapeutiques comme: effet anticancéreux, anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, antioxydant [30-36] et effet allélopathique [37].
- compléter une étude réalisée auparavant dans notre laboratoire [33].

##### II.4.2. Classification dans la systématique botanique

L'espèce *Lepidium draba* (L.) suit le taxon suivant [16]:

**Tableau II.14.** Classification de l'espèce *Lepidium draba* (L.)

	<b>Classification</b>
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Eudi-cotylédones
<b>Ordre</b>	Brassicales
<b>Famille</b>	Brassicaceae
<b>Tribu</b>	Lepidieae
<b>Genre</b>	<i>Lepidium</i>
<b>Espèce</b>	<i>draba</i> (L.)

##### II.4.3. Nom vernaculaire

Les noms communs de cette plante sont :

- en arabe « Hourf Mecherfi [38] »,
- en français : Cardaire drave, Pain-blanc, Passerage drave, Passerage à grosses graines [39].
- dans la région de l'Orient: Echataba, Chhiba lbeida, Bassila almorra [39].

##### II.4.4 Synonymes

*Lepidium madritense* Pau, *Lepidium diversifolium* Freyn & Sint. Ex Freyn, *Lepidium arvense* Mill., *Cardaria draba* var. *dunense* Rouy & Foucaud, *Cardaria brachysepala* Opiz, *Jundzillia draba* (L.) Andrz., *Cardaria draba* (L.) Desv., *Nasturtium draba* (L.) Crantz, *Draba ruderalis*

## Chapitre II. Travaux personnels

Baumg., *Crucifera cardaria* E.H.L.Krause, *Cochlearia draba* (L.) L., *Cardiolepis dentata* Wallr., *Cardaria draba* subsp. *Draba* [39].

### II.4.5. Description botanique

*Lepidium draba* est une herbe vivace, pubescente-blanchâtre, à souche courte grêle, rameuse, émettant de longs stolons souterrains qui produisent des tiges stériles et des tiges florifères. La tige gris-verdâtre est droite ou couchée de 20 à 50cm. La plante est feuillue en bas et forme des ramifications en haut. Les plantes sont glabres ou presque au sommet et densément poilues à la base. Les plantules se distinguent par leur hypocotyle terne, marron-vert mais vert à la base. Les feuilles des plantules de 2.5x7-9mm, pâles, sombre marron vert, avec un goût piquant. Les jeunes feuilles sont plus ou moins opposées à la base mais alternées au sommet et cachent la tige. Les Fleurs sont de couleur blanche, assez grandes, nombreuses, en panicule corymbiforme aplatie de racèmes [39].



**Figure II.17.** Images de l'espèce *Lepidium draba* (L.)

### II.4.6. Récolte du matériel végétal

Les parties aériennes de l'espèce *Lepidium draba* ont été récoltées au mois de Mai 2014 dans la wilaya de M'sila (Nord-Est de l'Algérie) et a été authentifiée par Dr. Khellaf Rebbas (département de biologie, Université de M'sila, Algérie). Un spécimen a été déposé dans l'herbier du département de biologie, Université de M'sila, sous le code SB/KR, 002.

Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été coupées en petits morceaux et pesées (m= 1,2 Kg).

## Chapitre II. Travaux personnels

### II.4.7. Protocole expérimental d'extraction

La poudre du matériel végétal de *Lepidium draba* est mise à macérer dans un système hydro-alcoolique (méthanol/eau; v/v : 70/30) à température ambiante. Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant et dure dans chaque cas de 24 à 48 heures. Les solutions récupérées ont été évaporées à sec sous pression réduite à une température de 35 °C, une quantité de l'eau distillée (400 ml pour 1kg de matière végétale sèche) a été ajoutée. Après une nuit de repos, la solution aqueuse a été filtrée puis soumise à une extraction liquide-liquide avec différents solvants, en commençant par le chloroforme, l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol.

La concentration des phases organiques à sec a permis l'obtention des trois extraits (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol). Les masses et les rendements des extraits obtenus sont donnés dans le tableau II.15.

La figure précédente (figure II.2) résume les différentes étapes de l'extraction jusqu'à l'obtention des extraits bruts.

**Tableau II.15.** Masses et rendements des extraits de l'espèce *L. draba*

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
1,2 Kg	Chloroforme	1,96	0,163
	Acétate d'éthyle	8,46	0,705
	<i>n</i> -butanol	3,18	0,265

### II.4.8. Analyse qualitative et quantitative de l'extrait acétate d'éthyle

L'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *Lepidium draba* a été analysé par la chromatographie liquide à haute performance couplé à la spectrométrie de masse munie d'un analyseur à temps de vol (HPLC-TOF/MS) afin d'identifier et quantifier les composés phénoliques présents dans cet extrait.

#### II.4.8.1. Préparation des échantillons Pour l'analyse HPLC-TOF/MS

L'extrait acétate d'éthyle (200 ppm) a été dissous dans le méthanol à température ambiante, puis filtrés à travers un filtre à membrane en polytétrafluoroéthylène (0,45 µm) [40].

#### II.4.8.2. Conditions opératoires

L'analyse HPLC-TOF/MS a été effectuée en utilisant l'instrument Agilent Technologie 1260 Infinity LC, 6210 TOF-MS. La colonne utilisée pour la séparation chromatographique est de type ZORBAX SB-C18 (4,6x100mm, 3,5 µm) à une température

## Chapitre II. Travaux personnels

de 35 °C, le débit était 0,6 ml.min<sup>-1</sup>. L'ionisation est Dual-ESI, la température de l'azote est 325 °C, le débit du gaz est 10 ml / min et la tension de fragmenteur est 175 V.

Les phases mobiles utilisées sont l'eau ultra pure mélangée avec de l'acide formique à 0,1% (éluant A) et l'acétonitrile (éluant B). Le gradient linéaire appliqué est de : 0-1 min, 10% de B ; 1-20 min, 50% de B ; 20-23 min, 80 % de B et enfin 23-30 min, 10% de B et. Le volume d'injection dans le système HPLC est de 10 µL.

Le tableau II.2 résume le programme d'élution de la colonne.

**Tableau II.16.** Programme de la phase mobile A et B.

	Temps (min)	H <sub>2</sub> O avec 0,1 % d'acide formique (A)	acétonitrile % (B)
1	0-1	90	10
2	1-20	50	50
3	20-23	20	80
4	23-30	90	10

### II.5. Évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *Lepidium draba* (L.)

#### II.5.1. Matériel végétal

Les trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *L. draba* (L.) ont été testés pour évaluer leur activité antioxydante.

#### II.5.2. Matériel et méthode

L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée en utilisant cinq méthodes: l'effet scavenger d'un antioxydant sur le radical DPPH et le radical ABTS, le test CUPRAC qui mesure les pouvoir de réduction des ions de cuivre, le test de la chélation du fer et enfin le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP).

La détermination du pouvoir antioxydant *in vitro* des trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *Lepidium draba* a été effectuée selon les mêmes protocoles utilisés pour l'espèce *Retama sphaerocarpa* concernant les tests DPPH, ABTS et CUPRAC [25,28-29].

##### II.5.2.1. Test de chélation de fer

###### ➤ Principe

Le principe de ce test est la complexation des ions ferreux avec un composé ligand: ferène. Le complexe ferène-fer II présente un maximum d'absorption à 593 nm.

## Chapitre II. Travaux personnels

### ➤ Procédure expérimentale

L'activité de chélation des métaux a été déterminée par la méthode décrite par Decker et Welch (1990) avec une légère modification [41]. Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 80 µl de chaque extrait à différentes concentrations allant de 12,5-800 µg/ml est mélangé avec 40 µl de FeCl<sub>2</sub> (0,2 mM) et 80 µl de ferène (0,5 mM). Le mélange a été secoué vigoureusement et laissé à température ambiante pendant 10 minutes. Après que le mélange a atteint l'équilibre, l'absorbance a été mesurée à 593 nm contre un contrôle négatif contenant uniquement les réactifs et le méthanol. L'EDTA a été utilisé comme standard. Le pourcentage de l'activité de chélation du métal a été calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\% \text{ Effet du chélation du fer} = \left[ \frac{(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}})}{A_{\text{contrôle}}} \times 100 \right]$$

### II.5.2.2. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP)

#### ➤ Principe

La présence d'un composé réducteur dans les échantillons entraîne la réduction du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) du complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) de couleur bleu-vert [42]. Cette réduction se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers la couleur bleue verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur.

#### ➤ Procédure expérimentale

Le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé selon la méthode d'Oyaizu (1986) [42]. 10 µl de chaque solution d'extrait en différentes concentrations allant de 3,12-200 µg/ml ont été mélangés avec 40 µl d'un tampon de phosphate 0,2 M (pH= 6,6) et 50 µl de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation du mélange à 50 ° C pendant 20 minutes, 50 µl d'acide trichloracétique TCA (10%) ont été ajoutés. Les solutions obtenues ont été mélangées avec de l'eau distillée (40 µl) et 10 µl de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) (0,1%). L'absorbance a été mesurée à 700 nm. Les acides ascorbique et tannique ont été utilisés comme standards.

### II.5.3. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne ± SD (écart type) d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI<sub>50</sub> et de A<sub>0,50</sub> sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir des deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)] pour la CI<sub>50</sub> et [Absorbance= f (concentrations)] pour la valeur A<sub>0,50</sub>.

## Chapitre II. Travaux personnels

### Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique de l'espèce

#### *Cedrus atlantica*

## II.6. Étude phytochimique de l'espèce *Cedrus atlantica*

### II.6.1. Choix du matériel végétal

Les critères de choix de cette espèce reposent sur le fait que :

- elle est très utilisée en médecine traditionnelle [43]
- cette plante est très riche en huiles essentielles [44-48]
- l'huile essentielle de cette plante possède des propriétés biologiques intéressantes: antiseptiques, diurétiques, anti-inflammatoires, antifongiques et antivirales [49-52].

### II.6.2. Classification dans la systématique botanique

La classification de l'espèce *Cedrus atlantica* suit le taxon suivant [53,54]:

Tableau II.17. Classification de l'espèce *Cedrus atlantica*

	Classification
<b>Embranchement</b>	Spermaphytina
<b>Sous embranchement</b>	Gymnospermae
<b>Classe</b>	Pinopsida
<b>Ordre</b>	Pinales
<b>Famille</b>	Pinaceae
<b>Sous famille</b>	Abietoideae
<b>Genre</b>	<i>Cedrus</i>
<b>Espèce</b>	<i>atlantica</i>

### II.6.3. Nom vernaculaire

Les noms communs de cette plante sont :

- en arabe: I-ârz [55], Meddad [56]
- nom berbère: îddil [55], Begoun [56]
- en français : le Cèdre de l'Atlas [55,57]

### II.6.4. Description botanique

Le cèdre de l'Atlas est caractérisé par des feuilles en aiguilles isolées sur les jeunes rameaux longs fasciculés et en rosettes sur les rameaux courts latéraux. Elles sont persistantes [58] et vivent trois ans [59,60]. Les aiguilles sont toutes semblables, aciculaires, tétragones souvent un peu incurvées, aigues, portant les stomates sur les trois faces [58]. La maturité des cônes dure 2 ans après la floraison. Les fruits de couleur brune violacée, ont 5-8 cm de dimension et atteignent au plus 10cm [56]. La graine est triangulaire, grosse, de 10-15 mm,



## Chapitre II. Travaux personnels

marron roux se termine par une large aile, elle est enveloppée dans une pellicule résineuse protectrice. La longévité dépasse certainement 600 à 700 ans, il peut donner des graines fertiles jusqu'à un âge avancé [59].



**Figure II.18.** Image de l'espèce *Cedrus atlantica*

### II.6.5. Récolte du matériel végétal

Les parties aériennes branches, aiguille et cônes de *C. atlantica* ont été collectées en Décembre 2018 dans la région des Aurès, à Yabous (El Kantina) près de Khenchla (61 km au Sud-Ouest de Khenchla, 35 ° 24'29" nord, 6 ° 38'31" Est, Altitude: 1167 m) et a été authentifiée par Pr. Mohamed Kaabeche, Université Sétif 1, Algérie. Un spécimen a été déposé dans l'herbier de l'unité de recherche VARENBIOMOL, université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie sous le code (CA / 114 / VAR / 12-18).

### II.6.6. Extraction des huiles essentielles

Les branches et les aiguilles fraîches des parties aériennes (963 g) et les cônes (719g) de *C. atlantica* ont été soumis à une distillation par entrainement à la vapeur pendant trois heures dans un appareil Clevenger. Chaque huile obtenue a été collectée et conservée à +4 ° C jusqu'à l'analyse. Les rendements des huiles ont été calculés par rapport au poids de la plante fraîche.

### II.6.7. Analyse GC-GC/MS des huiles essentielles

L'analyse par GC-GC/MS a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse GC 17A Agilent technologies, équipé d'une colonne HP 5MS à liaison brute (30 m X 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm).

La température du four a été programmée comme isotherme à 60 ° C pendant 8 minutes, de l'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 0,5 ml / minute. La GC-GC/MS a été réalisée à l'aide d'un détecteur HP Agilent technologies 6800 plus à sélection de masse. Les

## Chapitre II. Travaux personnels

conditions de fonctionnement sont les mêmes que pour la GC analytique. Les paramètres de fonctionnement de la SM sont les suivants : potentiel d'ionisation, 70 eV ; courant d'ionisation, 2 A ; température de la source d'ions, 280 ° C ; résolution, temps 1000.can, 5s ; plage de masse de balayage, 34-450 u ; rapport de rotation, 50 : 1 ; volume injecté, 1,0 µL.

Les constituants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse et leur indices de rétention (RI) avec ceux des composés de référence des banques de données telles que NIST et Wiley [61].

Les constituants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse et leur indices de rétention (RI) avec ceux des composés de référence des banques de données telles que

### II.7. Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'espèce *Cedrus atlantica*

#### II.7.1. Matériel Végétal

Les huiles essentielles extraites des branches/aiguilles et des cônes de l'espèce *C. atlantica* ont été testées pour évaluer leur activité antioxydante.

#### II.7.2. Matériel et méthode

Deux méthodes ont été mises au point pour l'estimation du pouvoir antioxydant des huiles essentielles extraites de *C. atlantica* : la méthode du piégeage du radical DPPH et du radical hydroxyle.

##### II.7.2.1. Piégeage du radical DPPH

La capacité de piégeage le radical DPPH est mesurée selon la méthode décrite par Okoh, S. O. et al (2014) [62]. Brièvement, 1ml de différentes dilutions des huiles essentielles extraites des branches/aiguilles et des cônes de la plante *C. atlantica* ont été ajoutés à 1ml DPPH (0,135mM) préparée dans du méthanol. Après 30min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, le colorimétrique change (de violet intense au jaune clair), quand le DPPH est réduit, dont l'absorbance a été mesurée à 517nm. Le contrôle négatif est composé de 1ml de méthanol et de 1ml de la solution de DPPH. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; la vitamine C dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

Le pourcentage de piégeage du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante:

## Chapitre II. Travaux personnels

$$\% \text{ d'activité anti - radicalaire} = \left[ \frac{(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}})}{A_{\text{contrôle}}} \times 100 \right]$$

### II.7.2.2. Piégeage du radical hydroxyle

La capacité de piégeage du radical hydroxyle est mesurée selon la méthode décrite par Smirnof, N., et al (1989) [63]. Le principe de cette technique est basé sur la production du radical hydroxyle (HO°) dans le milieu réactionnel à travers la réaction de Fenton. Le radical (HO°) ainsi produit réagit avec le sodium salicylate pour produire le salicylate hydroxylé. Pour cela, 1ml des solutions d'huiles essentielles des branches/aiguilles et des cônes de la plante *C. atlantica* ou du standard (vitamine C) à différentes concentrations sont additionnées à 300µl de FeSO<sub>4</sub> (8mM), 250 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (20mM) et 250 µl de l'acide salicylique (3mM) pour lancer la réaction. Après 30min d'incubation à 30°C, 450µl de H<sub>2</sub>O sont ajoutés et le mélange est centrifugé. L'absorbance du complexe salicylate hydroxylé est mesurée à 510 nm. Le pourcentage de piégeage du radical hydroxyle est calculé en se basant sur l'équation du test précédant.

### II.7.3. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne ± SD (écart type) d'analyses en trois essais (n=3).

## Conclusion

D'après tout ces travaux réalisés au laboratoire et sur les trois espèces: *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Lepidium draba* (L.) et *Cedrus atlantica*, nous avons pu séparer 27 produits purs de *Retama sphaerocarpa* et identifier 16 composés. Nous avons pu mettre en évidence la composition de l'extrait acétate d'éthyle de *Lepidium draba* (L.). Ainsi que la composition des huiles essentielles de *Cedrus atlantica*.

Concernant les activités biologiques, les trois espèces ont fait l'objet de différents tests d'activité antioxydante.

## Chapitre II. Travaux personnels

### Références bibliographiques

- [1] Bremner, P., Rivera, D., Calzado, M. A., Obón, C., Inocencio, C., Beckwith, C., Heinrich, M. (2009). Assessing medicinal plants from South-Eastern Spain for potential anti-inflammatory effects targeting nuclear factor-Kappa B and other pro-inflammatory mediators. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 295-305.
- [2] Miguel, M., Bouchamaa, N., Aazza, S., Gaamoussi, F., Lyoussi, B. (2014). Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholinesterase activities of eleven extracts of Moroccan plants. *Fresenius Environ Bull*, 23(6), 1-14.
- [3] Louaar, S., Akkal, S., Laouer, H., Guilet, D. (2007). Flavonoids of *Retama sphaerocarpa* leaves and their antimicrobial activities. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(5), 616-617.
- [4] Touati, R., Santos, S. A., Rocha, S. M., Belhamel, K., Silvestre, A. J. (2017). Phenolic composition and biological prospecting of grains and stems of *Retama sphaerocarpa*. *Industrial crops and products*, 95, 244-255.
- [5] Maghrani, M., Lemhadri, A., Jouad, H., Michel, J. B., Eddouks, M. (2003). Effect of the desert plant *Retama raetam* on glycaemia in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 87(1), 21-25.
- [6] Ghani, U., Nur-e-Alam, M., Yousaf, M., Ul-Haq, Z., Noman, O. M., Al-Rehaily, A. J. (2019). Natural flavonoid  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Retama raetam*: Enzyme inhibition and molecular docking reveal important interactions with the enzyme active site. *Bioorganic chemistry*, 87, 736-742.
- [7] Nur-e-Alam, M., Yousaf, M., Parveen, I., Hafizur, R. M., Ghani, U., Ahmed, S., Al-Rehaily, A. J. (2019). New flavonoids from the Saudi Arabian plant *Retama raetam* which stimulates secretion of insulin and inhibits  $\alpha$ -glucosidase. *Organic & biomolecular chemistry*, 17(5), 1266-1276.
- [8] Hayet, E., Maha, M., Samia, A., Mata, M., Gros, P., Raida, H., Mahjoub, A. (2008). Antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of *Retama raetam* (Forssk.) Webb flowers growing in Tunisia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(12), 2933-2940.
- [9] Merghoub, N., Benbacer, L., El Btaouri, H., AitBenhassou, H., Terryn, C., Attaleb, M., Amzazi, S. (2011). In vitro antiproliferative effect and induction of apoptosis by *Retama monosperma* L. extract in human cervical cancer cells. *Cell Mol Biol* 57(Suppl), 1581–1591.
- [10] Belayachi, L., Aceves-Luquero, C., Merghoub, N., Bakri, Y., de Mattos, S. F., Amzazi, S., Villalonga, P. (2013). Screening of North African medicinal plant extracts for cytotoxic activity against tumor cell lines. *European Journal of Medicinal Plants*, 310-332.

## Chapitre II. Travaux personnels

- [11] Belayachi, L., Aceves-Luquero, C., Merghoub, N., Bakri, Y., de Mattos, S. F., Amzazi, S., Villalonga, P. (2014). *Retama monosperma* n-hexane extract induces cell cycle arrest and extrinsic pathway-dependent apoptosis in Jurkat cells. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 38.
- [12] Touati, R., Santos, S. A., Rocha, S. M., Belhamel, K., Silvestre, A. J. (2015). *Retama sphaerocarpa*: An unexploited and rich source of alkaloids, unsaturated fatty acids and other valuable phytochemicals. *Industrial Crops and Products*, 69, 238-243.
- [13] León-González, A. J., Navarro, I., Acero, N., Mingarro, D. M., Martín-Cordero, C. (2018). Genus *Retama*: a review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities. *Phytochemistry Reviews*, 17(4), 701-731.
- [14] Murkies, A. L., Wilcox, G., Davis, S. R. (1998). Phytoestrogens-review. *J Clin Endocrinol Metab*, 83(2), 297-303.
- [15] Tham, D. M., Gardner, C. D., Haskell, W. L. (1998). Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 83(7), 2223-2235.
- [16] Haston, E., Richardson, J. E., Stevens, P. F., Chase, M. W., Harris, D. J. (2009). The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 128-131.
- [17] Quézel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, *Ed CNRS*, 306.
- [18] Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, Éd. Ibis Press, 418.
- [19] Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
- [20] Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- [21] Öztürk, M., Aydo mu -Öztürk, F., Duru, M. E., Topçu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food chemistry*, 103(2), 623-630.
- [22] Leopoldini, M., Pitarch, I. P., Russo, N., Toscano, M. (2004). Structure, conformation, and electronic properties of apigenin, luteolin, and taxifolin antioxidants. A first principle theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108(1), 92-96.

## Chapitre II. Travaux personnels

- [23] Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P., Groot, A. D., Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(1), 8-17.
- [24] Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., Lima, J. L. (2006). Automatic method for determination of total antioxidant capacity using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay. *Analytica Chimica Acta*, 558(1-2), 310-318.
- [25] Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- [26] Rice-Evans, C., Miller, N. J. (1994). [241 Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in enzymology*, 234, 279-293.
- [27] Gülçin, ., Elmasta , M., Aboul-Enein, H. Y. (2012). Antioxidant activity of clove oil—A powerful antioxidant source. *Arabian Journal of chemistry*, 5(4), 489-499.
- [28] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [29] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- [30] Chyad, A. H. (2017). Evaluation of anticancer, analgesic and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract of *Lepidium draba* Linn. leaves. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 5(1), 7-13.
- [31] Sharifi-Rad, J., Hoseini-Alfatemi, S. M., Sharifi-Rad, M., da Silva, J. A. T., Rokni, M., Sharifi-Rad, M. (2015). Evaluation of biological activity and phenolic compounds of *Cardaria draba* (L.) extracts. *J. Biol. Today's World*, 4(9), 180-189.
- [32] Karan, T., Cadirci, B. H. (2018). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Lepidium draba* L. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 13(7), 1123-1131.
- [33] Bicha, S., Benmekhebi, L., Boubekri, N., Khellaf, R., Brouard, I., Zama, D., Benayache, F. (2016). Compositional study, antibacterial and antioxidant potential of *Lepidium draba* L.(Brassicaceae). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 283-287.
- [34] Al-Marzoqi, A. H., Al-Khafaji, K. R., Kadhim, R. (2015). Influence of the crude Phenolic, Alkaloid and Terpenoid compounds extracts of *Cardaria draba* (*Lepidium draba* L.) on Human Pathogenic Bacteria. *World J Pharm Res*, 4(6), 456-460.

## Chapitre II. Travaux personnels

- [35] Ali, Q., Khalil, R., Nadeem, M., Azhar, M. M., Hafeez, M. M., Malik, A. (2020). Antibacterial, antioxidant activities and association among plant growth related traits of *Lepidium draba*. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 11.
- [36] Yaghooti, F., Sani, A. M. (2015). Antibacterial activity of methanolic extracts from *Cotoneaster nummularioides*, *Cynodon dactylon* and *Cardaria draba* on typical food-borne pathogens. *International Journal of Biosciences*, 6(2), 349-356.
- [37] Miri, A., Rad, J. S., Rad, M. S., Silva, J. S. (2013). Allelopathic activity of medical plant, *Cardaria draba* (*Lepidium draba* L.). *Annals of Biological Research*, 4(6), 76-79.
- [38] Quézel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, *Ed CNRS*, 258.
- [39] Chafik, Z., Bouhache, M., Taleb, A., Berrichi, A. (2013). La passeraie drave *Cardaria Draba* (L.) Desv., un adventice envahissant des agro-écosystèmes dans l'Orient marocain. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, (4).
- [40] Kolda, S., Demirtas, I., Ozen, T., Demirci, M. A., Behçet, L. (2015). Phytochemical screening, anticancer and antioxidant activities of *Origanum vulgare* L. ssp. *viride* (Boiss.) Hayek, a plant of traditional usage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(4), 786-798.
- [41] Decker, E. A., Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 674-677.
- [42] Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- [43] Martins, D. F., Emer, A. A., Batisti, A. P., Donatello, N., Carlesso, M. G., Mazzardo-Martins, L., dos Santos, A. R. S. (2015). Inhalation of *Cedrus atlantica* essential oil alleviates pain behavior through activation of descending pain modulation pathways in a mouse model of postoperative pain. *Journal of ethnopharmacology*, 175, 30-38.
- [44] Skanderi, I., Chouitah, O. (2020). Chemical Characterization and Antioxidant Activity of *Cedrus atlantica* Manetti Tar (Atlas Cedar Tar). *French-Ukrainian Journal of Chemistry*, 8(2), 244-255.
- [45] Jaouadi, I., Cherrad, S., Tiskar, M., Tabyaoui, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Chaouch, A. (2020). Wood tar essential oil from *Cedrus Atlantica* of Morocco (Middle atlas) as a green corrosion inhibitor for mild steel in 1 M hydrochloric acid solution. *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition*, 9(1), 265-283.

## Chapitre II. Travaux personnels

- [46] Benouaklil, F., Hamaidi-Chergui, F., Hamaidi, M. S., Saidi, F. (2017). CHEMICAL composition and antimicrobial properties of Algerian *Cedrus atlantica* M. essential oils. *AgroBiologia*, 7(1), 355-362.
- [47] Boudarene, L., Rahim, L., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y. (2004). Analysis of Algerian essential oils from twigs, needles and wood of *Cedrus atlantica* G. Manetti by GC/MS. *Journal of essential oil research*, 16(6), 531-534.
- [48] Boudarene, L., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y., Scharff, C. (2004). Composition of the seed oils from Algerian *Cedrus atlantica* G. Manetti. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 61-63.
- [49] Maya, B. M., Abedini, A., Gangloff, S. C., Kabouche, A., Kabouche, Z., Voutquenne-Nazabadioko, L. (2017). A new -tocotrienolic acid derivative and other constituents from the cones of *Cedrus atlantica* and their in vitro antimicrobial activity. *Phytochemistry letters*, 20, 252-258.
- [50] Paun, G., Zrira, S., Boutakiout, A., Ungureanu, O., Simion, D., Chelaru, C., Radu, G. L. (2013). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential oils from moroccan aromatic herbs. *Revue Roumaine de Chimie*, 58(11-12), 891-7.
- [51] Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990.
- [52] Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC complementary and alternative medicine*, 6(1), 1-8.
- Benouaklil, F., Hamaidi-chergui, F., Hamaidi, M. S., Saidi, F. (2017). chemical composition and antimicrobial properties of algerian *cedrus atlanticam* essential oils. *AgroBiologia*, 7(1), 355-362.
- [53] Urgamal, M., Sanchir, C. (2016). An update of the family-Level taxonomy of vascular plants in Mongolia. *Erforschung biologischer Ressourcen der Mongolei*, 13, 75-81.
- [54] Ran, J. H., Shen, T. T., Wu, H., Gong, X., Wang, X. Q. (2018). Phylogeny and evolutionary history of Pinaceae updated by transcriptomic analysis. *Molecular phylogenetics and evolution*, 129, 106-116.
- [55] Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, Éd. Ibis Press, 573.
- [56] Quézel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, *Ed CNRS*, 17.



## Chapitre II. Travaux personnels

- [57] Gupta, S., Walia, A., Malan, R. (2011). Phytochemistry and pharmacology of *Cedrus deodera*: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(8), 2010.
- [58] Maire, R. (1952). Flore de l'Afrique du Nord, Vol. 1. *Edition le chevalier*. Paris.
- [59] Boudy, P. (1952). Guide du forestier en Afrique du Nord. *Ed. La Maison Rustique*, 505.
- [60] Derridj, A. (1990). Étude de la population de *Cedrus atlantica* Manetti en Algérie. Th. de Doct. De Toulouse, 258.
- [61] Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, Vol. 456. *Carol Stream, IL: Allured publishing corporation*.
- [62] Okoh, S. O., Asekun, O. T., Familoni, O. B., Afolayan, A. J. (2014). Antioxidant and free radical scavenging capacity of seed and shell essential oils extracted from *Abrus precatorius* (L). *Antioxidants*, 3(2), 278-287.
- [63] Smirnoff, N., Cumbes, Q. J. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28(4), 1057-1060.

## Chapitre III

- **Résultats et discussions**

### Chapitre III. Résultats et discussions

Cette partie renferme la discussion des résultats des travaux phytochimiques et biologiques effectués sur les trois espèces : *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Lepidium draba* (L.) et *Cedrus atlantica*.

La 1<sup>ère</sup> partie renferme la discussion des résultats des travaux effectués sur l'espèce *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss:

- la détermination structurale des métabolites secondaires isolés à partir des deux extraits chloroforme et acétate d'éthyle en utilisant la spectrométrie de masse TOF/MS, la RMN 1D du proton et du carbone 13, RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC) et par la spectroscopie UV.
- l'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes présents dans les trois extraits de *R. sphaerocarpa*.
- l'évaluation de l'activité antioxydante des trois extraits de *R. sphaerocarpa* par les méthodes : DPPH, ABTS et la méthode du CUPRAC.
- l'évaluation de l'activité antioxydante de trois composés isolés de types isoflavonoïdes par la méthode DPPH et CUPRAC.

La 2<sup>ème</sup> partie renferme la discussion des résultats des travaux effectués sur l'espèce *Lepidium draba* (L.):

- La qualification et la quantification des composés phénoliques présents dans l'extrait acétate d'éthyle en utilisant HPLC-TOF/MS.
- l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *L.draba* par cinq méthodes: DPPH, ABTS, CUPRAC, et la méthode de la chélation des métaux et enfin le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP).

La 3<sup>ème</sup> partie est réservé à:

- la discussion des résultats de l'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles extraites de *Cedrus atlantica* en utilisant la techniques d'analyse GC-GC/MS.
- l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles extraites des branches/aiguilles et des cônes de *Cedrus atlantica* réalisée par deux méthodes: piégeage du radical DPPH et du radical hydroxyle.

## Chapitre III. Résultats et discussions

### Résultats de l'étude phytochimique et de l'activité biologique de l'espèce

#### *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss

### III.1. Résultats de l'étude phytochimique

Les produits obtenus de l'espèce étudiée sont soumis à des analyses spectrales RMN 1D du proton et du carbone 13, RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC), la spectrométrie de masse TOF/MS et la spectroscopie UV et les résultats obtenus ont été comparés aux données de la littérature pour identifier et déterminer leur structure chimique.

#### III.1.1. Élucidation structurale des produits isolés de l'extrait chloroforme

##### III.1.1.1. Élucidation structurale du composé Rs1

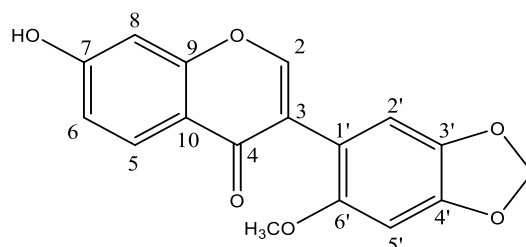
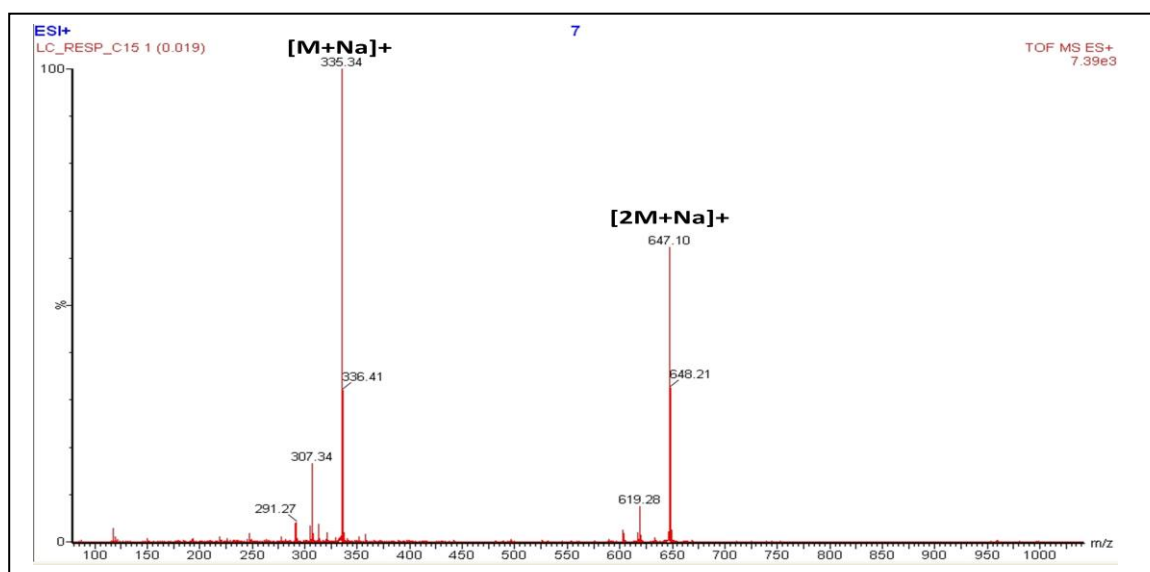


Figure III.1. Structure du composé Rs1

Le composé **Rs1** se présente sous forme d'une poudre blanche, soluble dans le DMSO.

Le spectre de masse réalisé en mode Electrospray positif TOF-MS-ESI(+) (spectre III.1) présente respectivement deux pics d'ions quasi moléculaires à  $m/z = 335,34$  Da  $[M+Na]^+$  et  $m/z = 647,10$  Da  $[2M+Na]^+$ , soit une masse moléculaire égale à 312 Da.

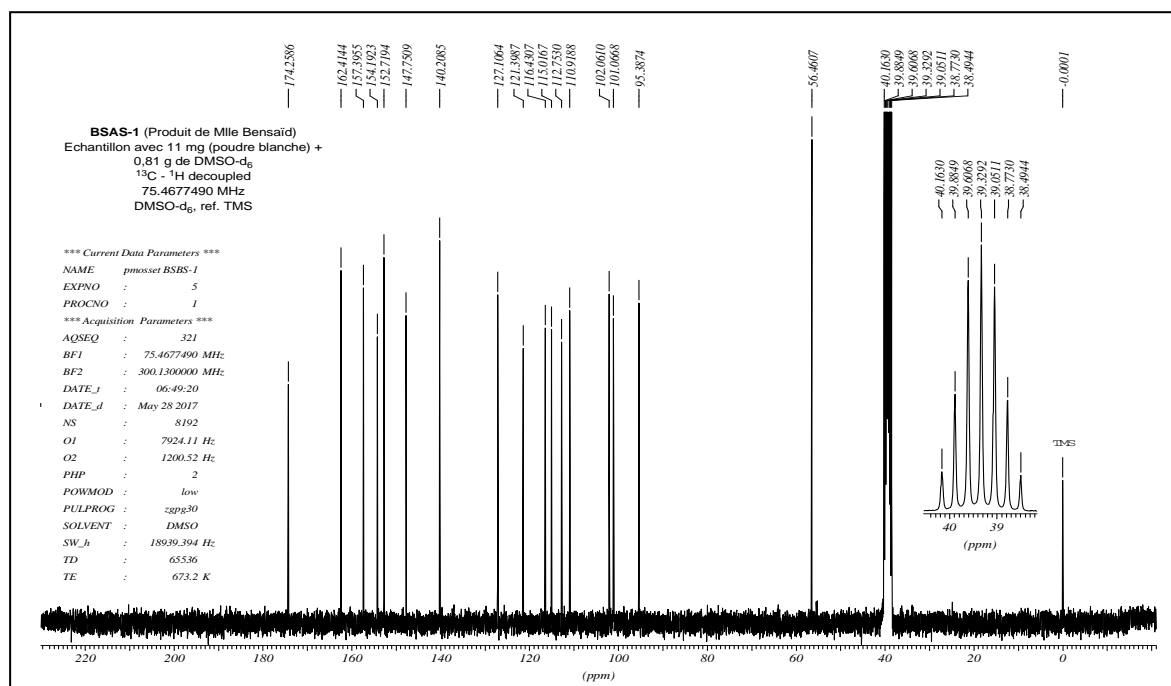


Spectre III.1. TOF/MS en mode positif du composé Rs1

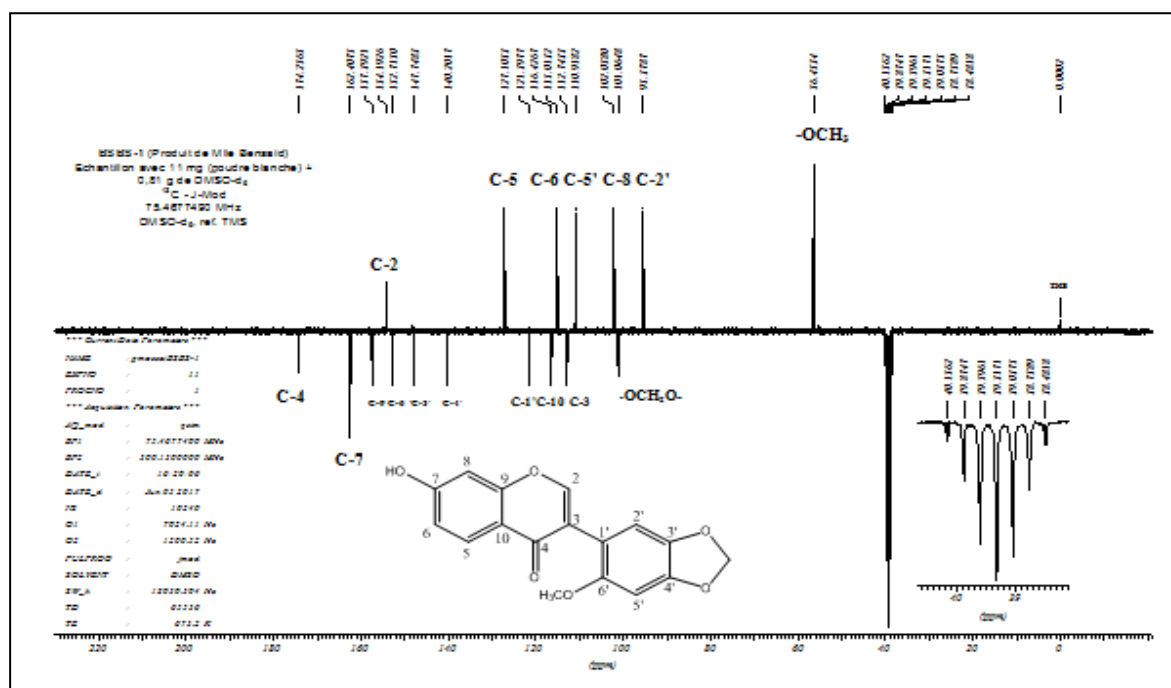
## Chapitre III. Résultats et discussions

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (spectre III.2) et ses séquences Jmod (spectre III.3), DEPT 135 et DEPT 90 (spectre III.4 et III.5) révèlent la présence de 17 atomes de carbone :

- 1  $\text{CH}_3$  oxygéné à  $\delta_{\text{C}} = 56,4$  ppm.
- 6 groupements CH aromatiques.
- 1 groupement  $\text{CH}_2$  oxygéné à  $\delta_{\text{C}} = 101,0$  ppm.
- 9 carbones quaternaires dont un carbonyle à  $\delta_{\text{C}} = 174,2$  ppm

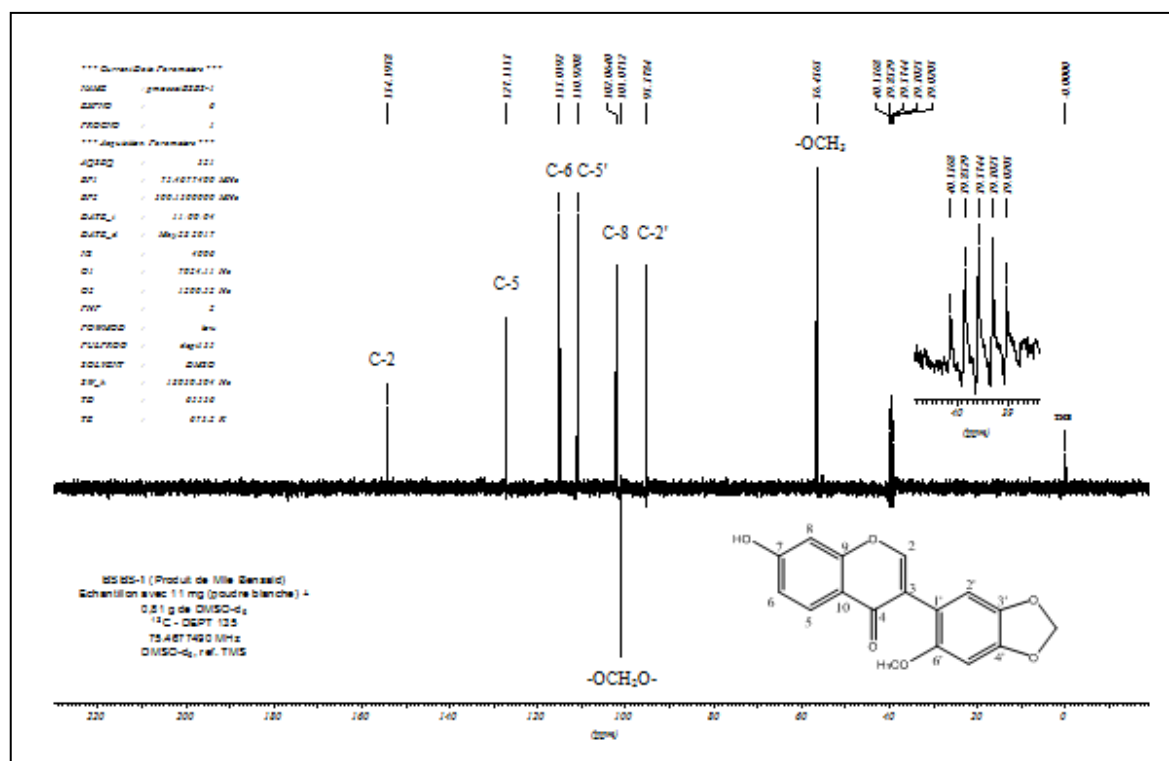


Spectre III.2. RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ; 75MHz) du composé Rs1

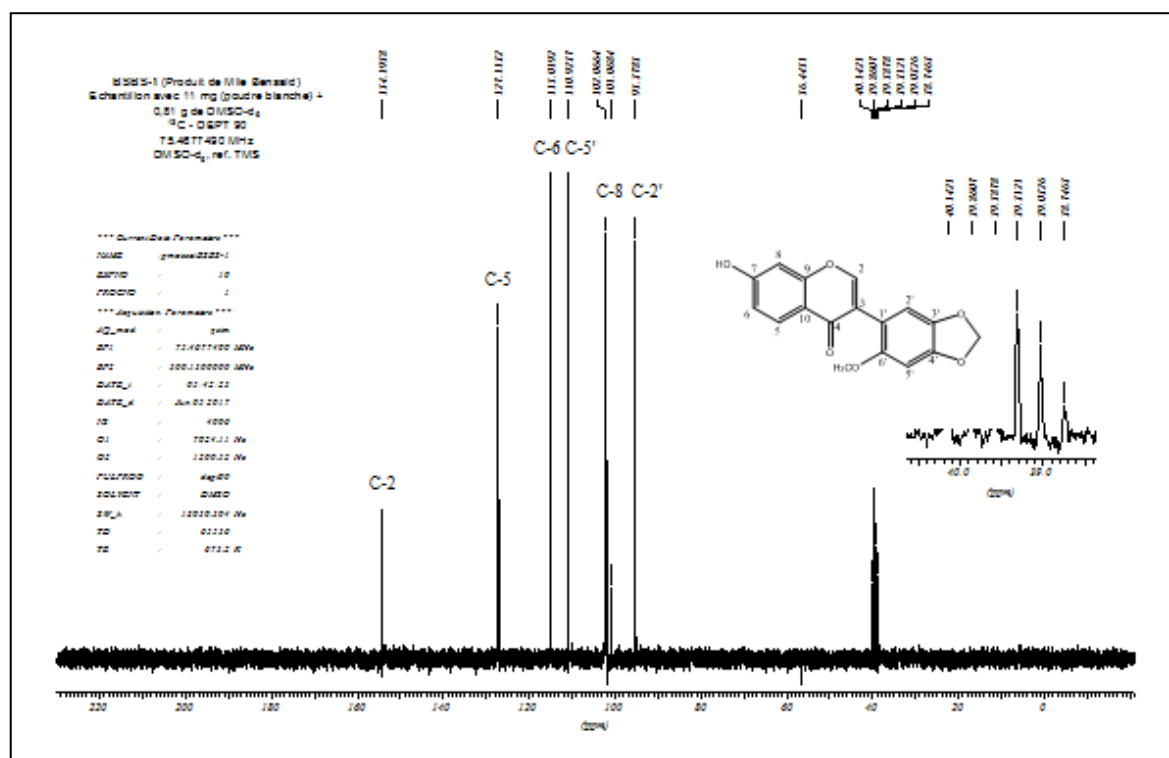


Spectre III.3. RMN  $^{13}\text{C}$  - Jmod ( $\text{DMSO-d}_6$ ; 75MHz) du composé Rs1

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.4. RMN <sup>13</sup>C - DEPT 135 (DMSO-d<sub>6</sub>; 75MHz) du composé Rs1



Spectre III.5. RMN <sup>13</sup>C - DEPT 90 (DMSO-d<sub>6</sub>; 75MHz) du composé Rs1

## Chapitre III. Résultats et discussions

L'examen du spectre RMN  $^1\text{H}$  (spectre III.6) et son étalement (spectre III.7) enregistré dans le DMSO- $d_6$  montre la présence d'un ensemble de signaux caractérisant un squelette flavonique de type isoflavone, on peut le reconnaître par :

- un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 8,12$  ppm caractéristique d'un H-2 d'une isoflavone

- un doublet à  $\delta_{\text{H}} = 7,92$  ppm ( $J = 8,7$  Hz) d'intégration 1H attribuable à H-5

- un doublet de doublet à  $\delta_{\text{H}} = 6,93$  ppm ( $J = 8,7 ; 2,2$  Hz) d'intégration 1H attribuable à H-6

- un doublet à  $\delta_{\text{H}} = 6,86$  ppm ( $J = 2,2$  Hz) d'intégration 1H attribuable à H-8

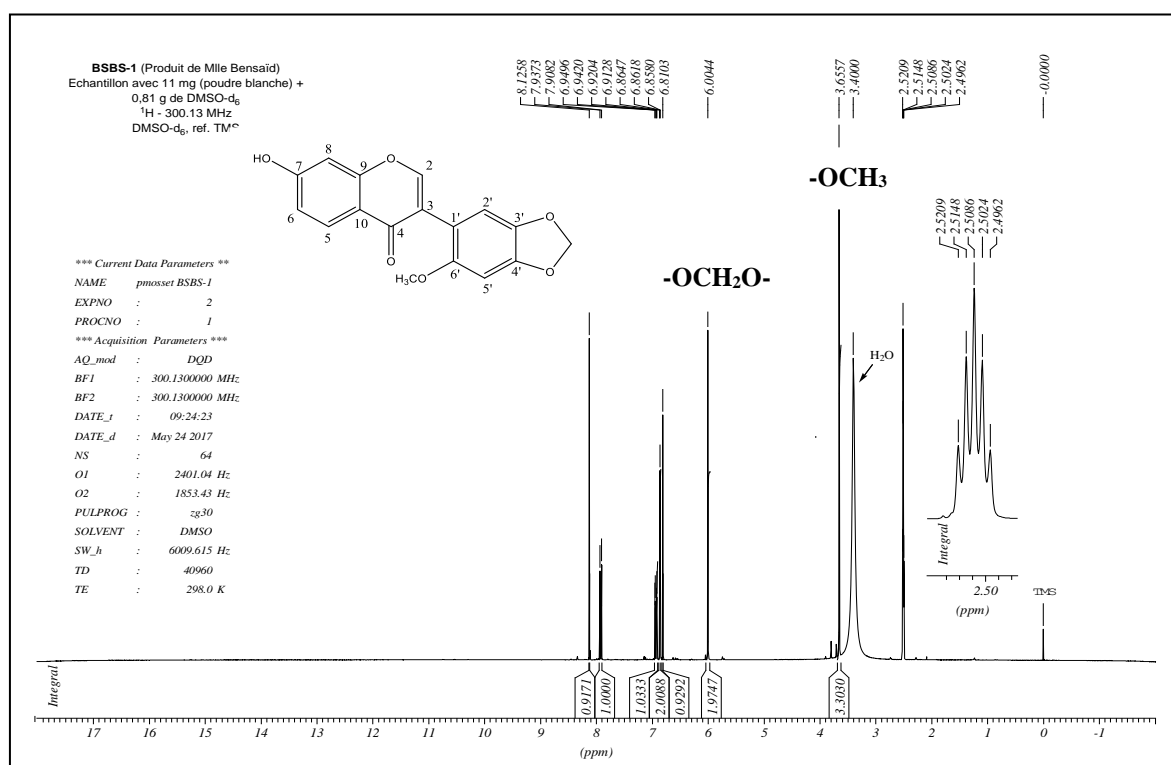
Ainsi ces trois signaux indiquant que le cycle A est substitué en position 7

- un singulet à  $\delta_{\text{H}} = 6,86$  ppm d'intégration 1H attribuable à H-2'

- un singulet à  $\delta_{\text{H}} = 6,81$  ppm d'intégration 1H attribuable à H-5'

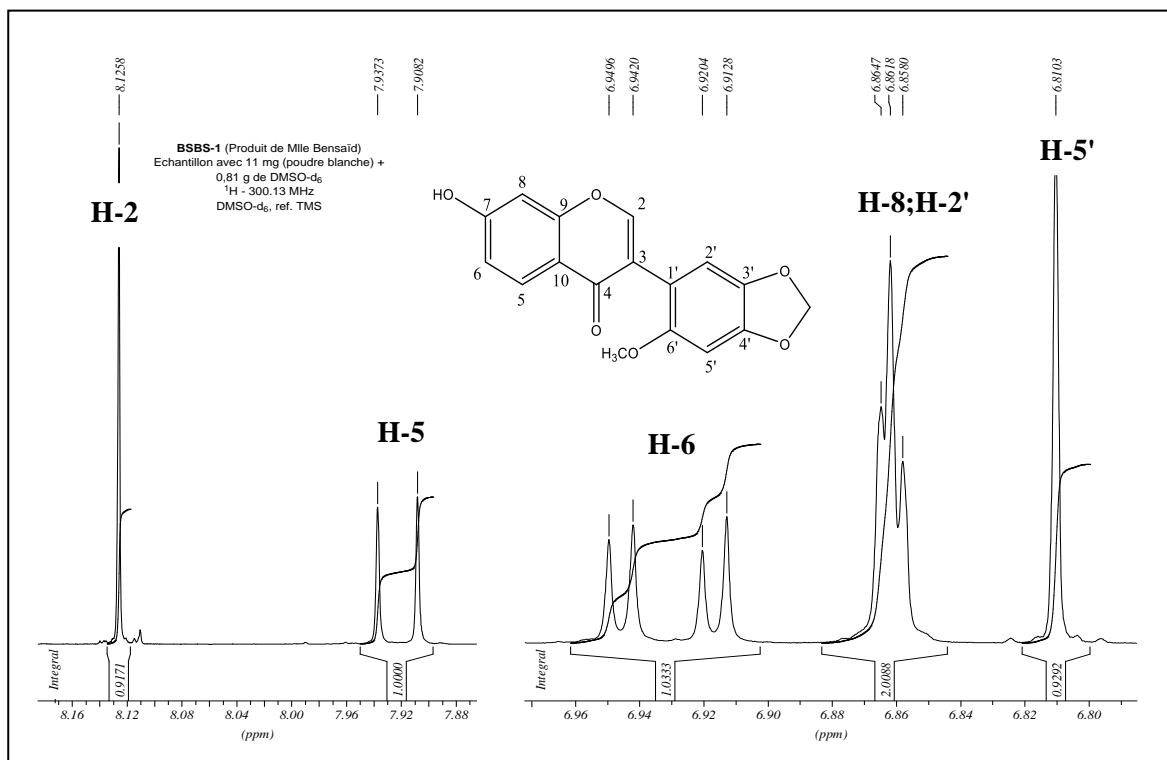
- un singulet à  $\delta_{\text{H}} = 6,00$  ppm d'intégration 2H attribuable au groupement  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$

- un singulet à  $\delta_{\text{H}} = 3,65$  ppm d'intégration 3H attribuable au groupement méthoxyle.



Spectre III.6. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 300MHz) du composé **Rs1**

## Chapitre III. Résultats et discussions



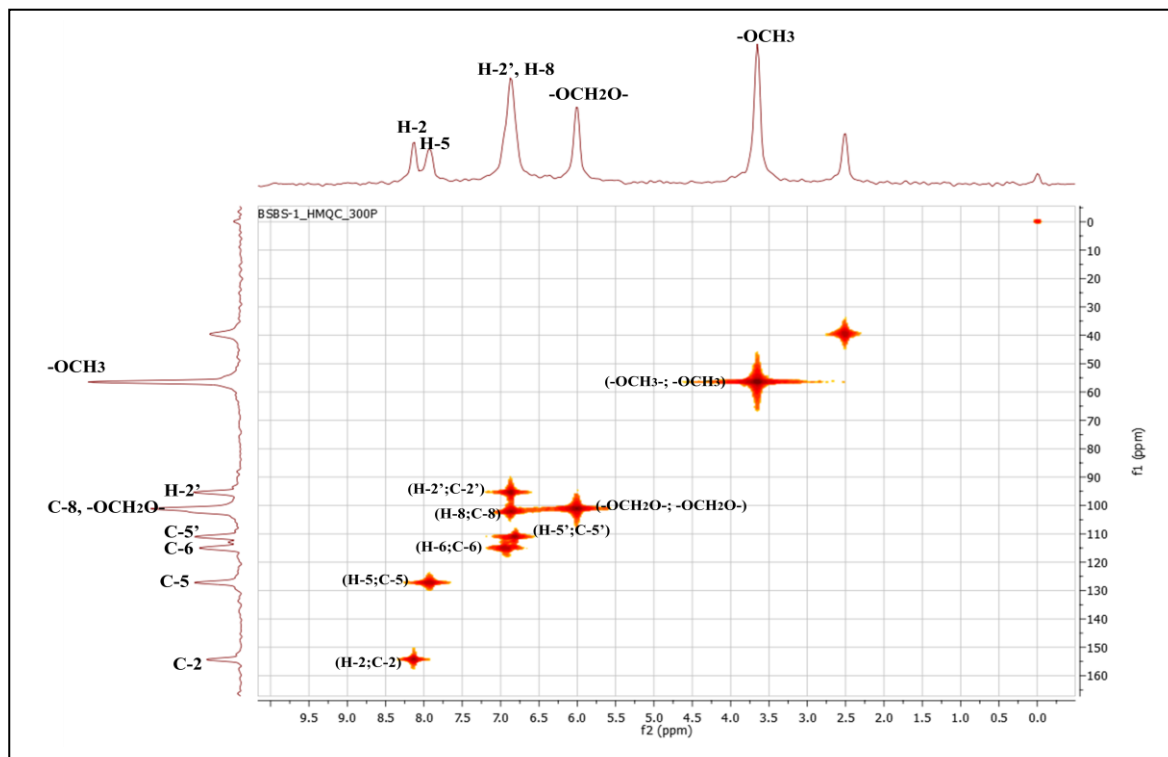
**Spectre III.7.** Étalement du spectre RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 300MHz) du composé **Rs1**

L'étude du spectre de corrélation HMQC (spectre III.8) permet d'effectuer les attributions suivantes :

- une tache de corrélation entre H-2 et un atome de carbone qui ne peut être que C-2 à  $\delta_{\text{C}} = 154,1$  ppm
- une tache de corrélation entre H-5 et un atome de carbone qui ne peut être que C-5 à  $\delta_{\text{C}} = 127,1$  ppm.
- on remarque également une tache de corrélation entre H-6 et un carbone à  $\delta_{\text{C}} = 115,0$  ppm qui ne peut être que le C-6.
- deux taches de corrélation entre le H-8 et le H-2' et deux atomes de carbones qui ne peuvent être que le C-8 et le C-2' à  $\delta_{\text{C}} = 102,0$  ppm et  $\delta_{\text{C}} = 95,3$  ppm respectivement.
- une tache de corrélation entre H-5' et un carbone qui apparaît à  $\delta_{\text{C}} = 110,9$  ppm, c'est le C-5'.
- une tache de corrélation entre les protons du groupement  $-\text{OCH}_2\text{O}-$  et le carbone qui apparaît à  $\delta_{\text{C}} = 101,0$  ppm.
- une tache de corrélation entre les protons du groupement méthoxyle et le carbone qui apparaît à  $\delta_{\text{C}} = 56,4$  ppm.



## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.8.** HMQC (DMSO- $d_6$ ; 300MHz) du composé **Rs1**

Sur le spectre HMBC (spectre III.9) et son étalement (spectre III.10) on remarque que :

- le proton H-2 ( $\delta_H = 8,12$  ppm) corrèle avec quatre carbones à  $\delta_C = 112,7$ ;  $121,3$ ;  $157,3$  et  $174,2$  ppm. Ces déplacements sont attribués aux carbones C-3, C-1', C-9 et C-4 respectivement.

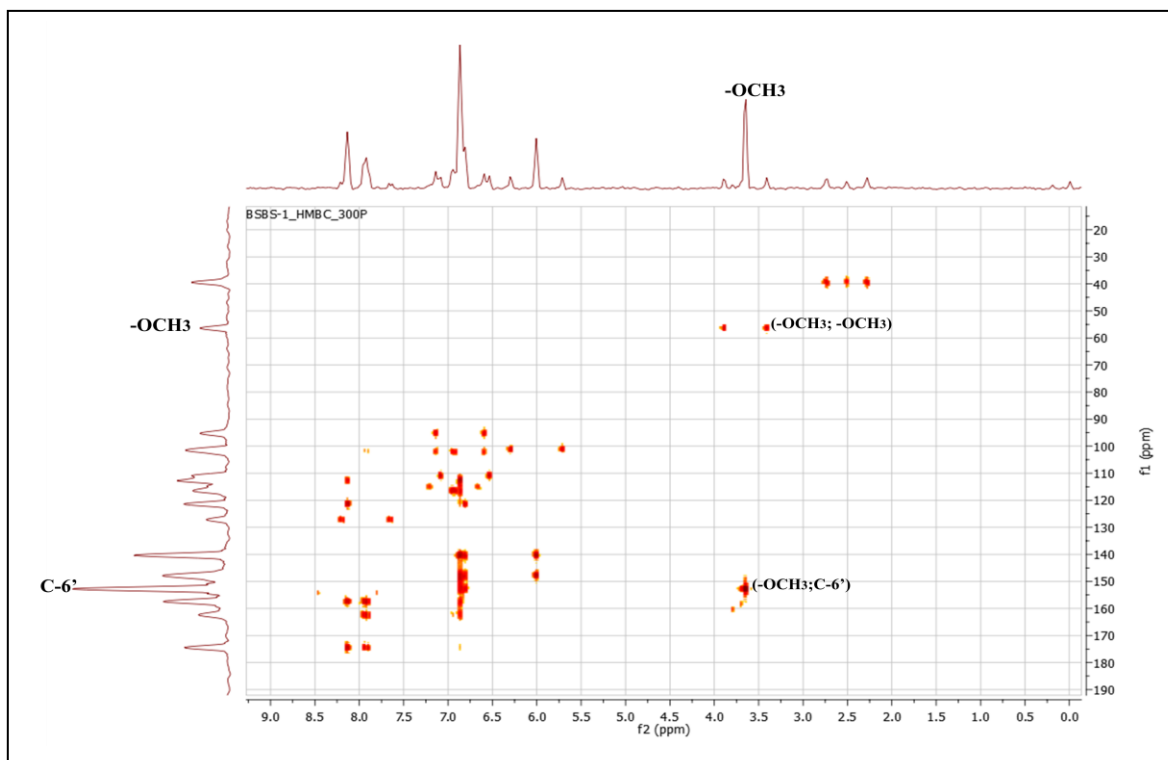
On remarque également que le proton H-8 à  $\delta_H = 6,86$  ppm et le proton H-5 à  $\delta_H = 7,92$  ppm donnent deux taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 162,4$  ppm attribué à C-7.

Les protons H-6 et H-8 mènent à la localisation du carbone C-10 à  $\delta_C = 116,4$  ppm.

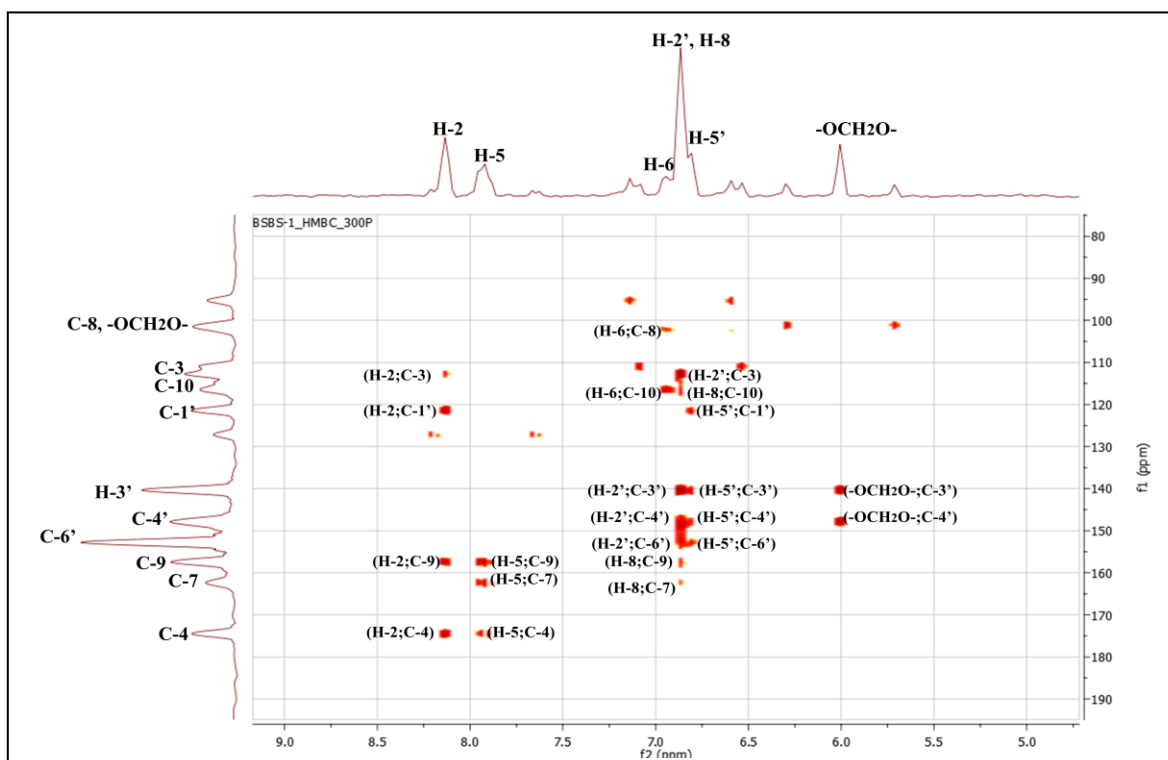
Par ailleurs, les protons du groupement  $-OCH_2O-$  à  $\delta_H = 6,00$  ppm donne deux taches de corrélation avec deux atomes de carbones oxygénés à  $\delta_C = 140,2$  ppm et à  $\delta_C = 147,7$  ppm attribuables à C3'- et C-4' respectivement.

Le groupement méthoxyle à  $\delta_H = 3,65$  ppm corrèle avec le carbone à  $\delta_C = 152,7$  ppm qui ne peut être que le carbone C-6'.

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.9. HMBC (DMSO- $d_6$ ; 300MHz) du composé **Rs1**



Spectre III.10. Étalement du spectre HMBC (DMSO- $d_6$ ; 300MHz) du composé **Rs1**

## Chapitre III. Résultats et discussions

Cette analyse spectrale a permis l'attribution de tous les protons et les carbones constituant cette molécule. Leurs déplacements chimiques sont identiques à ceux d'une isoflavone connue sous le nom **maximaisoflavone G** [1] déjà isolée du genre *Retama* [2].

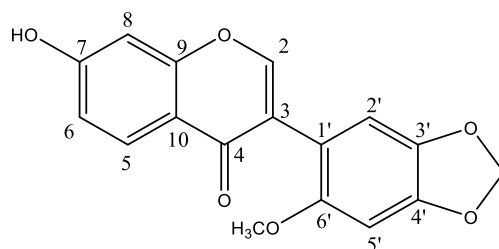


Figure III.2. maximaisoflavone G

Les données relatives à la RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  sont regroupées dans le tableau III.1

**Tableau III.1.** Données spectroscopiques RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 300MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ; 75MHz) du composé **Rs1**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	8,12	1H	s	154,1
3	-	-	-	112,7
4	-	-	-	174,2
5	7,92	1H	d; 8,7 Hz	127,1
6	6,93	1H	dd; $J=8,7; 2,2$ Hz	115,0
7	-	-	-	162,4
8	6,86	1H	d; $J=2,2$ Hz	102,0
9	-	-	-	157,3
10	-	-	-	116,4
1'	-	-	-	121,3
2'	6,86	1H	s	95,3
3'	-	-	-	140,2
4'	-	-	-	147,7
5'	6,81	1H	s	110,9
6'	-	-	-	152,7
-OCH <sub>3</sub>	3,65	3H	s	56,4
-OCH <sub>2</sub> O-	6,00	2H	s	101,0

### III.1.1.2. Élucidation structurale du composé Rs2 (Rsc 5-5-4)

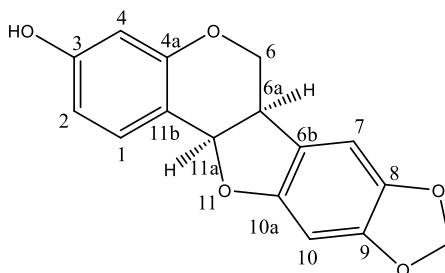
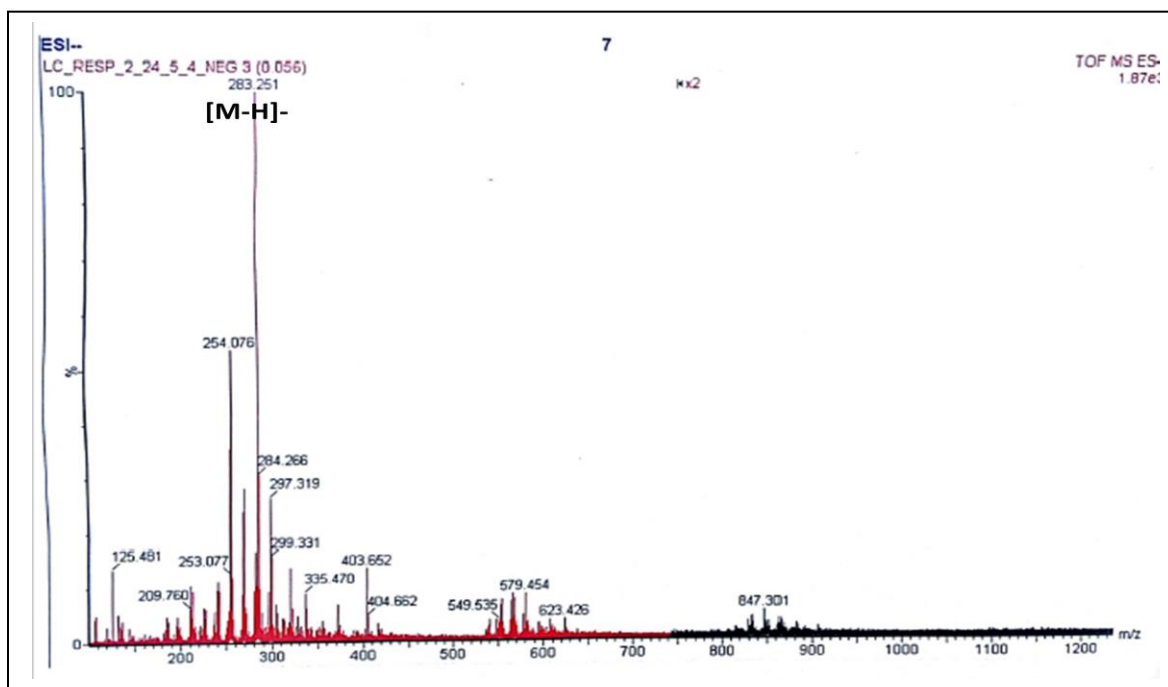


Figure III.3. Structure du composé **Rs2**

## Chapitre III. Résultats et discussions

Le composé **Rs2** se présente sous forme d'une poudre incolore, soluble dans le chloroforme.

Le spectre de masse enregistré en mode électronébulisation négatif TOF-MS-ESI(-) (spectre III.11) montre un pic quasi moléculaire à  $m/z = 283,251$  Da  $[M-H]^-$ , soit une masse moléculaire  $M=284$  Da.

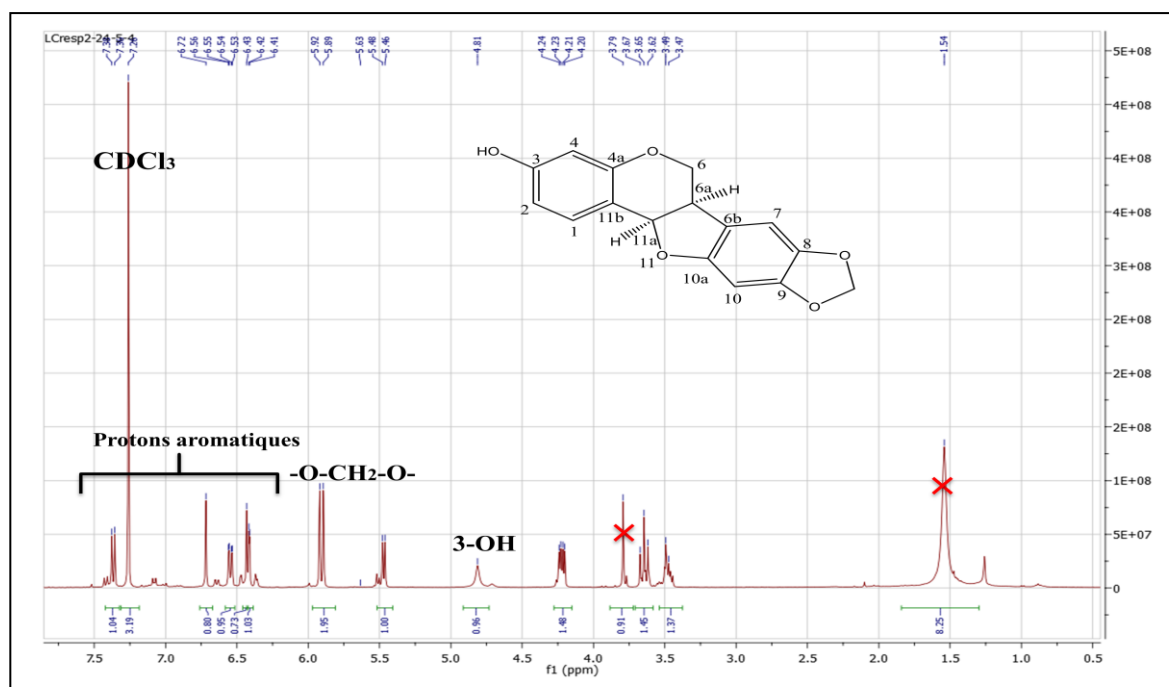


**Spectre III.11.** TOF/MS en mode négatif du composé **Rs2**

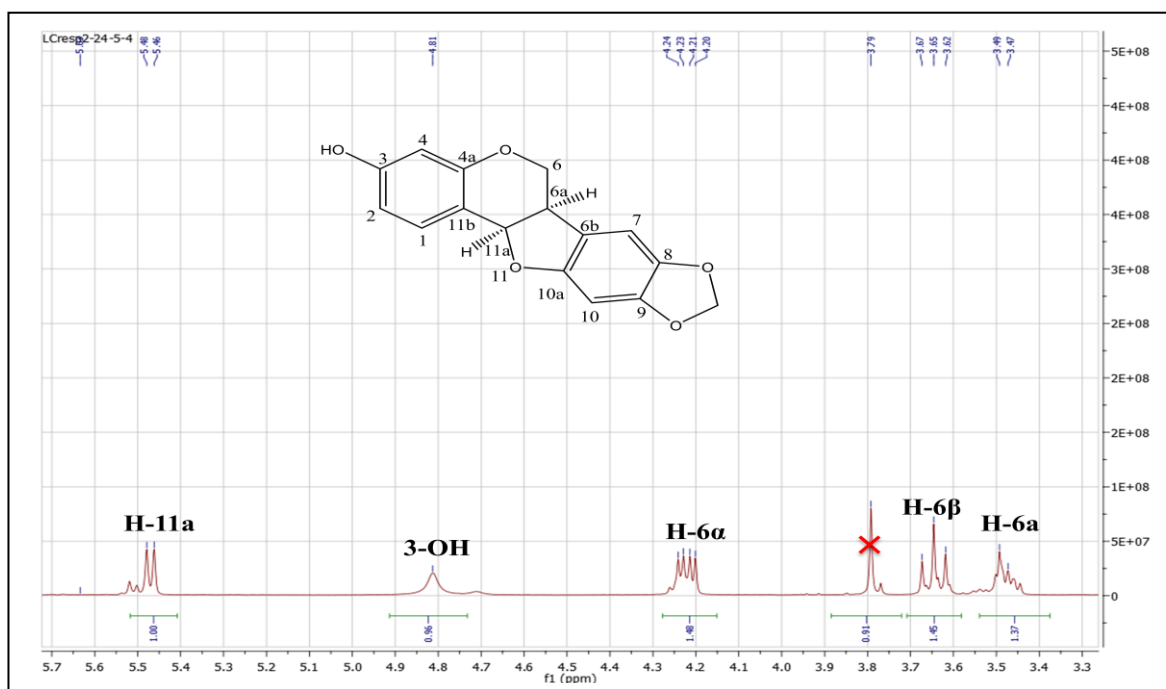
L'observation du spectre RMN  $^1H$  du composé **Rs2** et son étalement (spectre III.12 et III.13) enregistrés dans le  $CDCl_3$ , permet de confirmer sa nature ptéocarpanique par la présence de certains signaux caractéristiques [3]. En effet, on observe :

- un signal sous forme d'un doublet de doublet d'intégration 1H à 4,22 ppm ( $J = 10,9 ; 4,9$  Hz) caractéristique d'un proton méthylène saturé H-6 $\alpha$
- un signal sous forme d'un doublet de doublet d'intégration 1H à 3,64 ppm ( $J = 10,9 ; 4,9$  Hz) attribuable à H-6 $\beta$
- un signal résonant sous forme d'un doublet d'intégration 1H à 5,47 ppm ( $J = 7,1$  Hz) attribuable à H-11a
- un autre signal sous forme d'un multiplet à  $\delta_H = 3,47$  ppm d'intégration 1H attribuable à H-6a.

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.12. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) du composé **Rs2**



Spectre III.13. Étalement du spectre RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 400MHz) du composé **Rs2**

- L'expérience de corrélation homonucléaire (spectre III.14) montre des corrélations entre :
- le proton H-6 $\alpha$  ( $\delta_H$  = 4,22 ppm) et les protons H-6a ( $\delta_H$  = 3,47 ppm) et H-6 $\beta$  ( $\delta_H$  = 3,65 ppm)
  - le proton H-11a ( $\delta_H$  = 3,43 ppm) et le proton H-6a ( $\delta_H$  = 3,47 ppm).

## Chapitre III. Résultats et discussions

Les corrélations COSY observées sont reportées dans la figure III.4

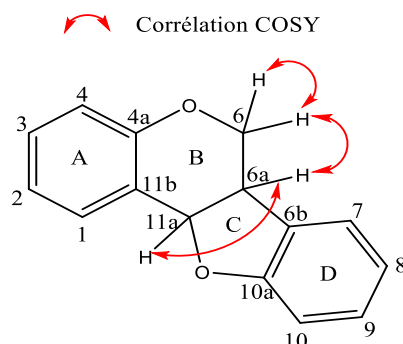
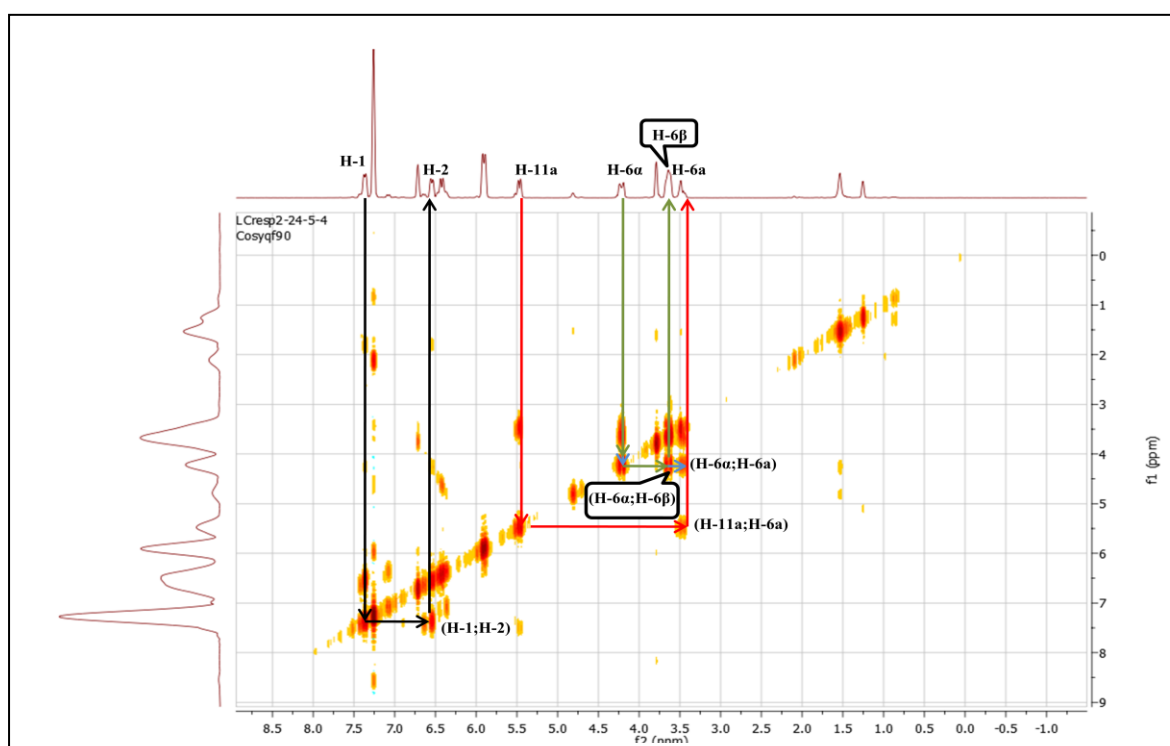


Figure III.4. Corrélations COSY du squelette des ptérocarpanes



Spectre III.14. COSY (CDCl<sub>3</sub>; 400MHz) du composé **Rs2**

Le spectre RMN <sup>1</sup>H et son étalement (spectre III.12 et III.15) laisse observer dans la région des protons aromatiques les signaux suivants :

- un doublet à  $\delta_H = 7,35\text{ppm}$  ( $J = 8,5\text{ Hz}$ ) d'intégration 1H attribuable à H-1.
- un doublet de doublet à  $\delta_H = 6,54\text{ppm}$  ( $J = 8,5 ; 2,4\text{ Hz}$ ) d'intégration 1H attribuable à H-2.
- un doublet à  $\delta_H = 6,41\text{ ppm}$  ( $J = 2,4\text{ Hz}$ ) d'intégration 1H attribuable à H-4.

Ces données indiquent que la position 3 est occupée par un substituant.

Dans la même zone, on observe également deux singulets attribuables à un autre cycle aromatique (cycle D) :

## Chapitre III. Résultats et discussions

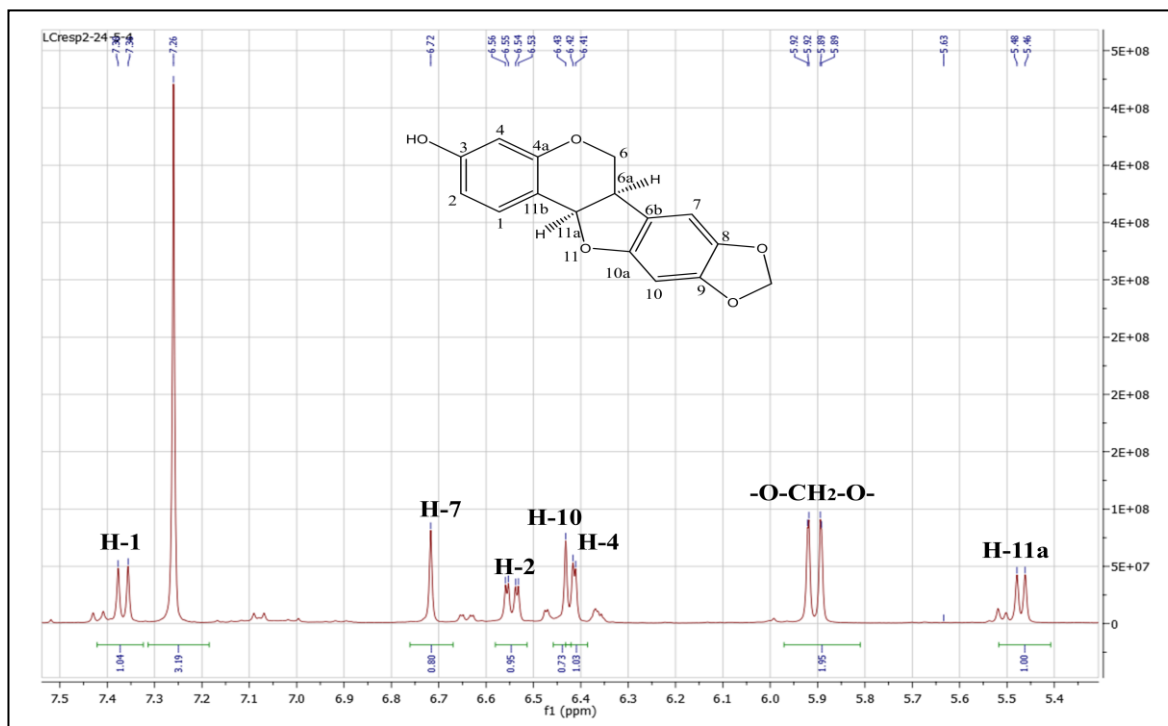
- un singlet d'intégration 1H à  $\delta_H = 6,71$  ppm attribuable à H-7.

- un singlet d'intégration 1H à  $\delta_H = 6,43$  ppm attribuable à H-10.

L'apparition des deux singlets indique que le cycle D est substitué en position 8 et 9.

- le signal d'intégration 2H résonant sous forme de doublet à  $\delta_H = 5,90$  ppm attribuable aux deux protons d'un groupement méthylènedioxy -O-CH<sub>2</sub>-O-

- un singlet large d'intégration 1H à  $\delta_H = 4,81$  ppm attribuable à un proton d'un groupement hydroxyle.



**Spectre III.15.** Étalement du spectre RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 400MHz) du composé **Rs2**

L'expérience de corrélation directe carbone-proton HSQC (spectre III.16) permet d'attribuer les carbones constituant cette molécule :

- le proton H-1 et son carbone C-1 à  $\delta_C = 131,7$  ppm.

- le proton H-2 et son carbone C-2 à  $\delta_C = 109,4$  ppm.

- le proton H-4 et son carbone C-4 à  $\delta_C = 103,3$  ppm.

- les protons H-6 $\alpha$  et H-6 $\beta$  et leurs carbone C-6 à  $\delta_C = 66,4$  ppm.

- le proton H6 $\alpha$  et son carbone C-6 $\alpha$  à  $\delta_C = 39,9$  ppm

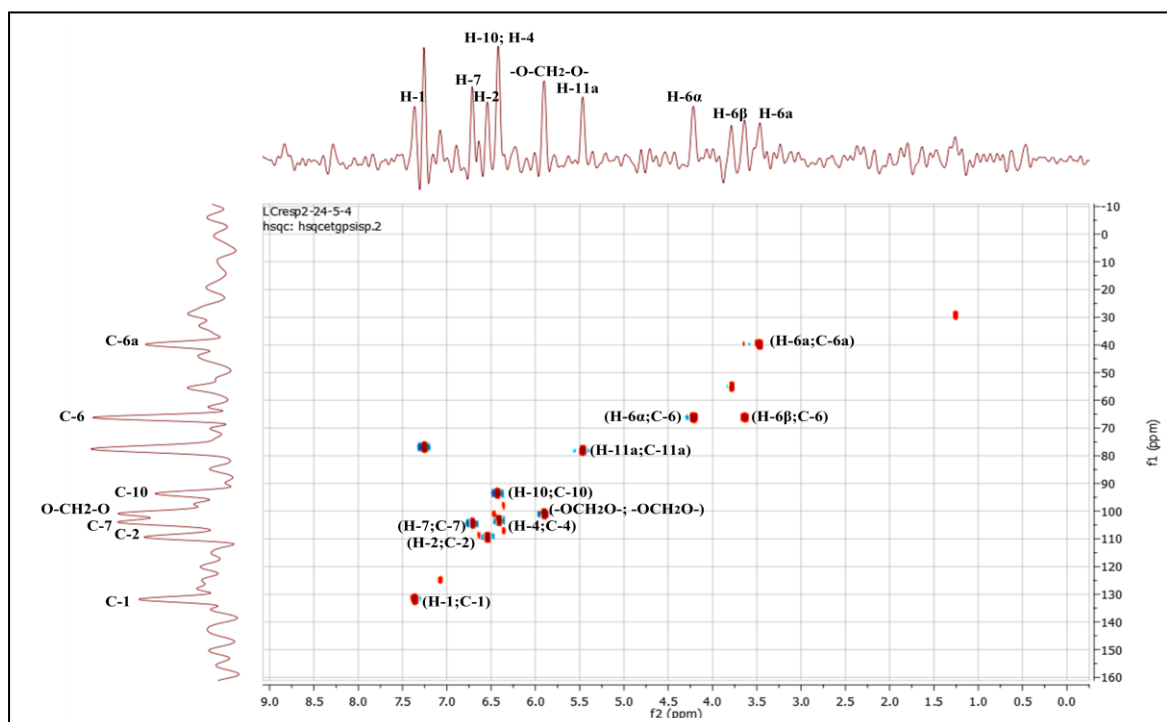
- le proton H-7 et son carbone C-7 à  $\delta_C = 104,4$  ppm.

- le proton H-10 et son carbone C-10 à  $\delta_C = 93,6$  ppm.

- le proton H-11 $\alpha$  et son carbone C-11 $\alpha$  à  $\delta_C = 78,1$  ppm.

- les protons du groupement -O-CH<sub>2</sub>-O- et leur carbone à  $\delta_C = 101,0$  ppm.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.16.** HSQC (CDCl<sub>3</sub>; 400MHz) du composé **Rs2**

Le spectre HMBC (spectre III.17) a également permis l'attribution des autres carbones quaternaires notamment :

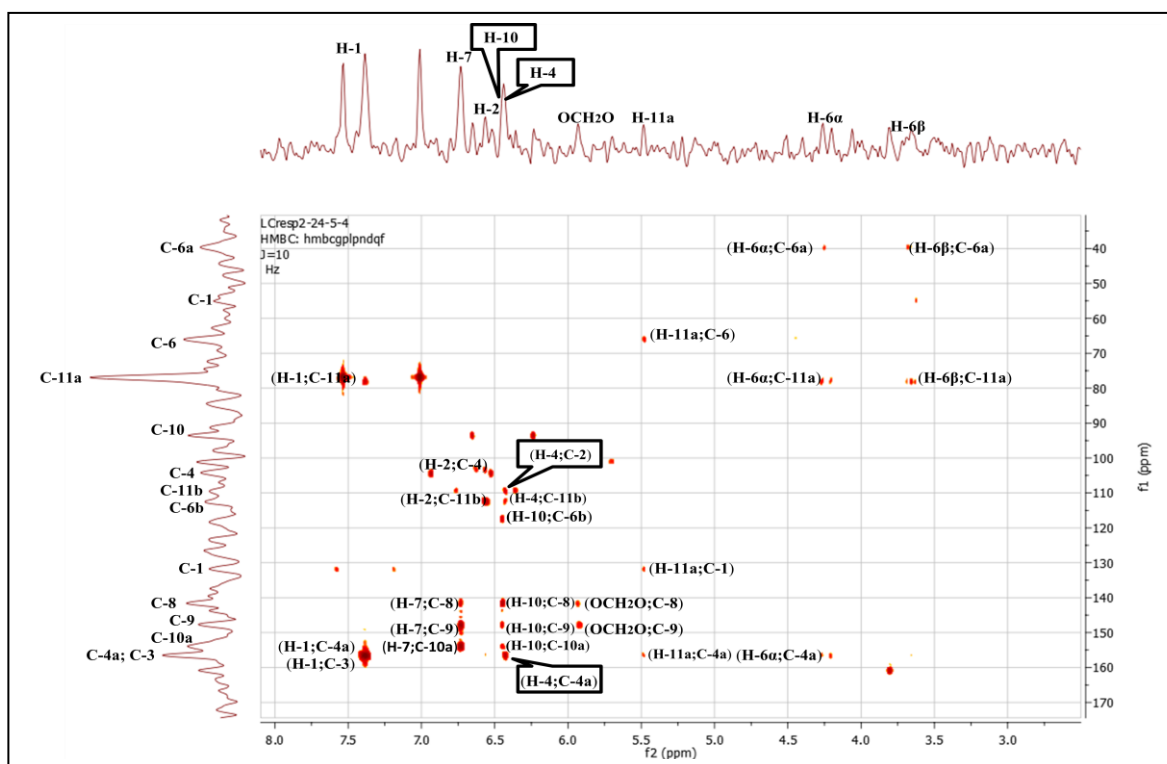
- le proton H-10 ( $\delta_H = 6,43$  ppm) donne une tache de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 117,5$  ppm attribué à C-6b
- les protons H-2 ( $\delta_H = 6,54$  ppm) et H-4 ( $\delta_H = 6,41$  ppm) donnent deux taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 112,5$  ppm attribué à C-11b.
- les protons H-1 ; H-11a, H-4 et H-6 $\alpha$  ( $\delta_H = 7,35$  ; 5,47 ; 6,41 et 4,22ppm respectivement) donnent quatre taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 156,3$  ppm attribué à C-4a.
- le proton H-1 à  $\delta_H = 7,35$ ppm donne une tache de corrélation avec un carbone à  $\delta_C = 158,81$  ppm qui ne peut être qu'oxygéné attribuable au carbone C-3.

Toujours sur le même spectre les protons H-7 et H-10 à  $\delta_H = 6,72$  et 6,43 ppm respectivement montrent deux taches de corrélation avec les carbones quaternaires aromatiques à  $\delta_C = 141,6$  ppm et à  $\delta_C = 147,7$  ppm attribuables aux carbones C-8 et C-9 respectivement, les valeurs de leur déplacement chimique indiquent qu'ils sont oxygénés. Cette oxygénation est claire sur le spectre HMBC car ces carbones montrent deux taches de corrélation avec les deux protons du groupement -OCH<sub>2</sub>O- à  $\delta_H = 5,90$  ppm.



## Chapitre III. Résultats et discussions

On remarque également que les deux protons H-7 et H-10 à  $\delta_H = 6,72$  et  $6,43$  ppm donnent deux taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 153,8$  ppm qui ne peut être que le carbone C-10a.



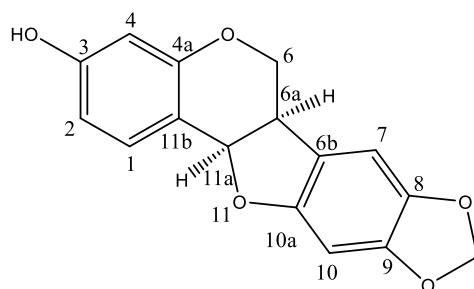
Spectre III.17. HMBC (CDCl<sub>3</sub>; 400MHz) du composé **Rs2**

Selon ces données spectrales qui correspondent aux valeurs lues dans la littérature [4], le composé **Rs2** est **3-hydroxy-8,9-méthylènedioxyptérocarpane** connu sous le nom **maackiaine**.

Le pouvoir rotatoire spécifique du composé **Rs2** a été mesuré avec un polarimètre digitale (Jasco DIP 370), sa valeur négative :  $[\alpha]_D = -46,78$  (C=0,35 g/mL; CHCl<sub>3</sub>) est en accord avec la littérature [5].

De ce fait, nous pouvons définir une configuration (6aR,11aR) pour cette molécule, elle correspond donc au (-) **-(6aR,11aR) -3-hydroxy-8,9-méthylènedioxyptérocarpane** ou **-(6aR,11aR)-maackiaine** (figure III.5).

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Figure III.5. (-)-(6aR,11aR)-maackiaine**

Ce ptérocarpane a été reporté de nombreuses fois dans certains genres de la famille des Fabaceae (*Cicer*, *Lathyrus*, *Ononis*, *Sophora*, *Trifolium*, etc....) [6], alors qu'il est isolé pour la première fois à partir du genre *Retama*.

Cette molécule a été évaluée pour quelques activités biologiques, elle présente une activité hypertensive [7], antiallergique [8] et larvicide [9].

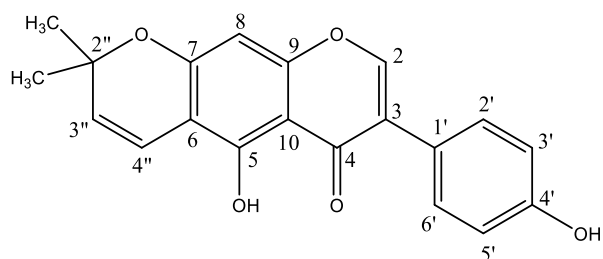
Les données relatives à la RMN  $^1\text{H}$  et la RMN 2D HMBC, HSQC sont regroupées dans le tableau III.2.

**Tableau III.2** Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ -*d*; 400MHz) et la RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs2**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	7,36	1H	d; $J= 8,5$ Hz	131,7
2	6,54	1H	dd; $J=8,5; 2,4$ Hz	109,4
3	-	-	-	158,8
4	6,41	1H	d; $J= 2,4$ Hz	103,3
4a	-	-	-	156,3
6 $\alpha$	4,22	1H	dd; $J=10,9; 4,9$ Hz	66,4
6 $\beta$	3,65	1H	dd; $J=10,9; 4,9$ Hz	
6a	3,47	1H	m	39,9
6b	-	-	-	117,5
7	6,71	1H	s	104,4
8	-	-	-	141,6
9	-	-	-	147,7
10	6,43	1H	s	93,6
10a	-	-	-	153,8
11a	5,47	1H	d; $J= 7,1$ Hz	78,1
11b	-	-	-	112,5
-OCH <sub>2</sub> O-	5,90	1H	d	101,0
3-OH	4,81	1H	sl	-

## Chapitre III. Résultats et discussions

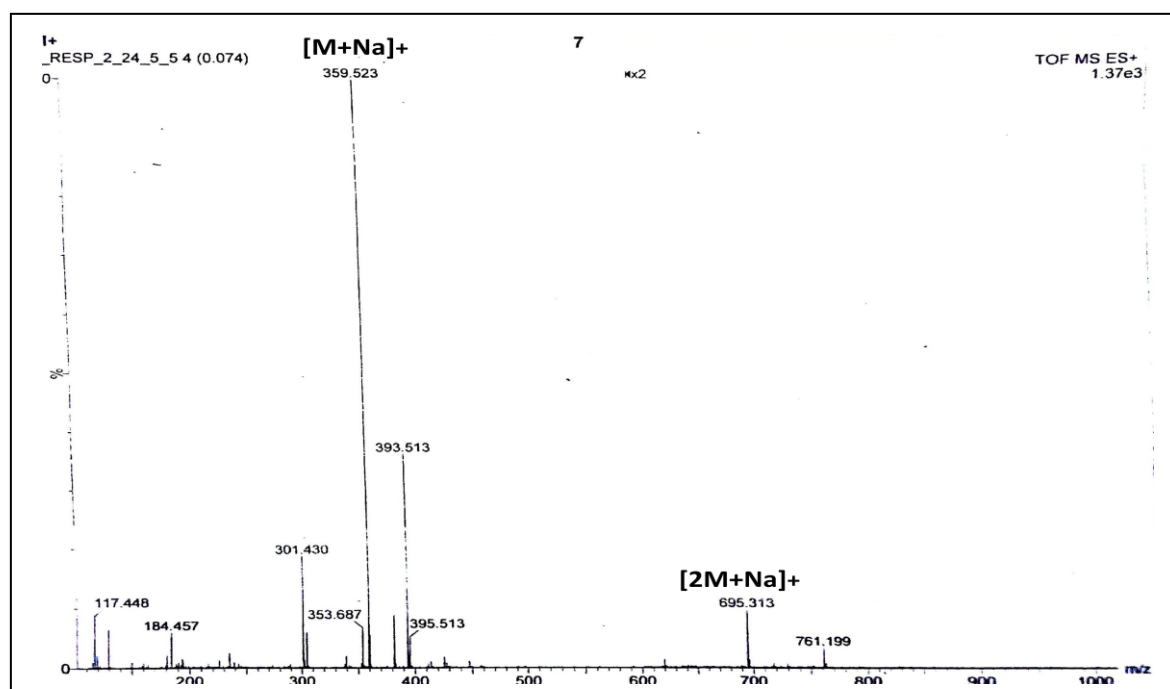
### III.1.1.3. Élucidation structurale du composé **Rs3** (Rsc5-5-5)



**Figure III.6.** Structure du composé **Rs3**

Le composé **Rs3** se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le chloroforme et le méthanol.

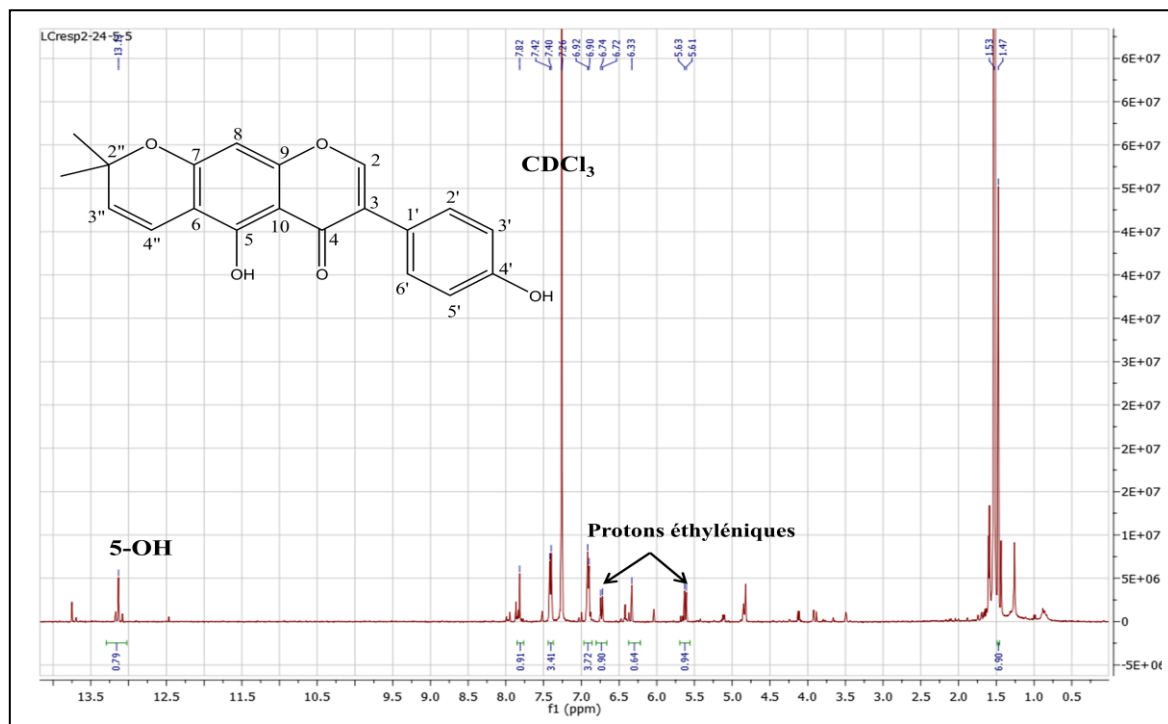
Le spectre III.18 enregistré en mode ESI positif présente des pics d'ions pseudo-moléculaires à  $m/z = 359,523$  Da  $[M+Na]^+$  et  $m/z = 695,313$  Da  $[2M+Na]^+$  correspondant à une masse moléculaire 336 Da.



**Spectre III.18.** TOF/MS en mode positif composé **Rs3**

L'examen du spectre RMN  $^1H$  (spectre III.19) du composé **Rs3** enregistré dans le  $CDCl_3$  montre des signaux caractéristiques des isoflavones substitués. Le singulet résonant à  $\delta_H = 13,13$  ppm est attribuable à un hydroxyle en position C-5.

## Chapitre III. Résultats et discussions



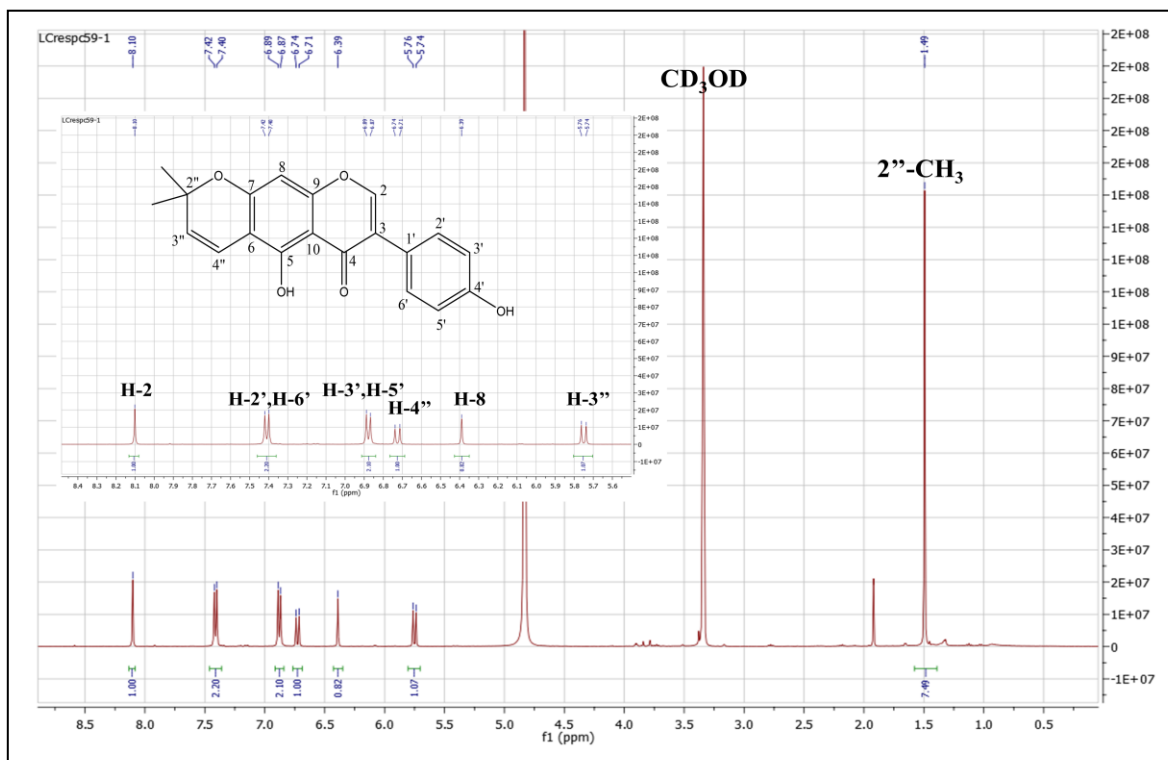
Spectre III.19. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) du composé **Rs3**

Après purification de ce composé, un autre spectre proton a été enregistré dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$ . L'examen de ce spectre (spectre III.20) nous a permis de répartir les autres signaux comme suit :

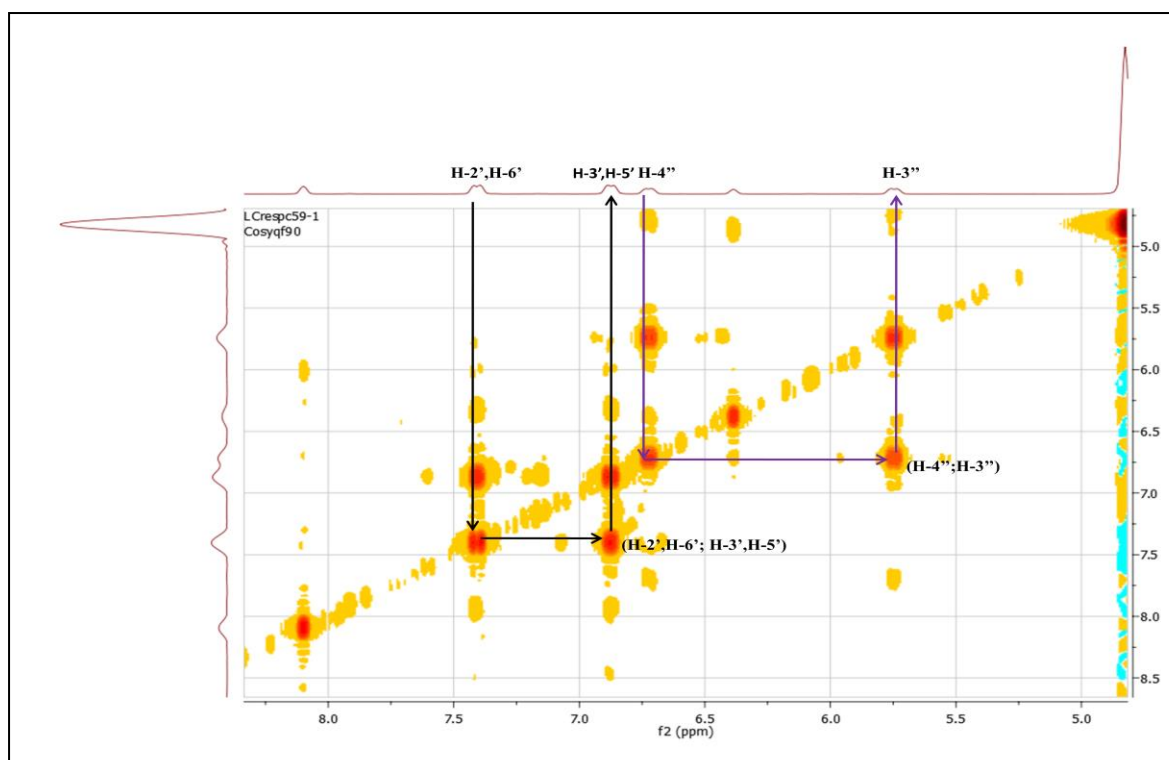
- un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 8,10$  ppm caractéristique du proton en position 2 des isoflavonoïdes.
- deux doublets à  $\delta_{\text{H}} = 7,40$  et  $6,87$  ppm, chacun intégrant pour 2H, avec une constante de couplage ( $J = 8,5\text{Hz}$ ) chacun sont attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement.
- un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 6,39$  ppm attribuable à H-6 ou H-8 indiquant ainsi la substitution du cycle A en position 7 et 8 ou 6 et 7 respectivement.
- deux doublets d'intégration 1H chacun à  $\delta_{\text{H}} = 5,74$  et  $6,72$  ppm couplent entre eux avec un  $J = 10,0\text{Hz}$  caractéristique d'une double liaison *cis* éthylénique. Cela est confirmé par les taches de corrélation observées sur le spectre COSY (spectre III.21).
- deux méthyles isochrones à  $\delta_{\text{H}} = 1,42$  ppm.

Ces informations laissent supposer que l'isoflavone renferme un groupement prényle de type pyrane [10-11].

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.20. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 400MHz) du composé **Rs3**

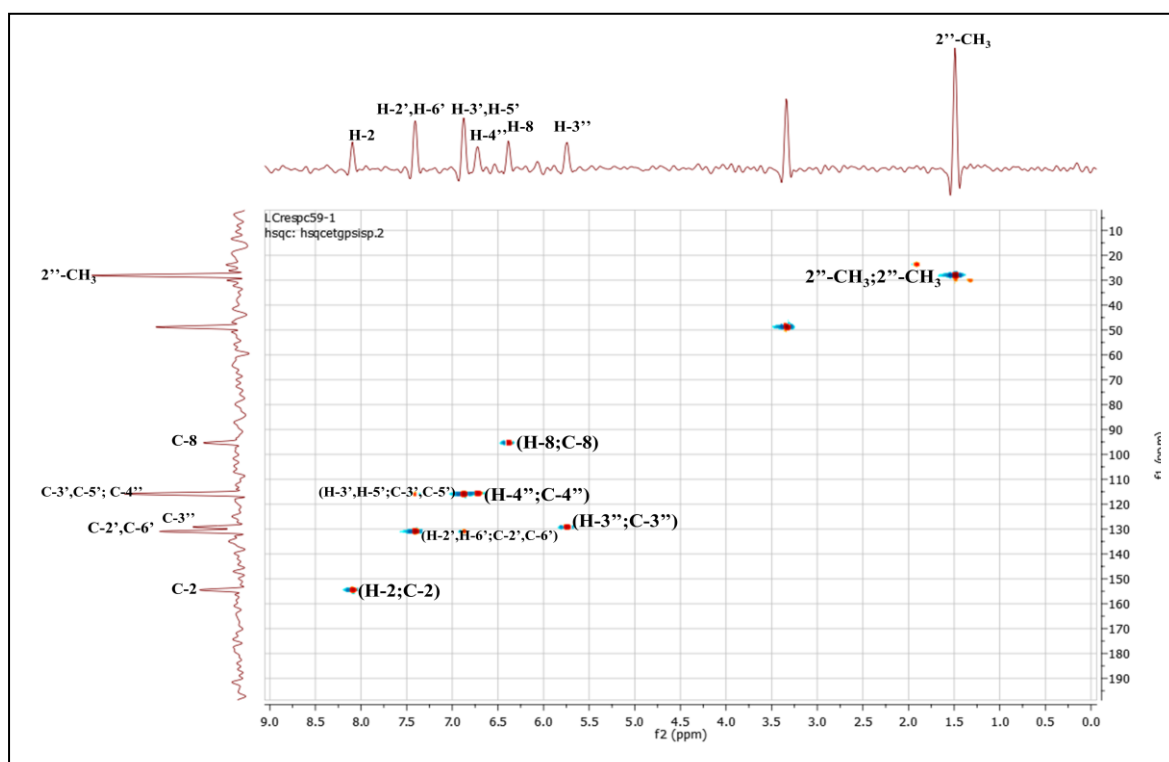


Spectre III.21. COSY ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 400MHz) du composé **Rs3**

## Chapitre III. Résultats et discussions

Par ailleurs, les carbones C-2', C-3', C-5', C-6', C-2, C-6 ou C-8, les carbones des deux groupements -CH<sub>3</sub> et les deux carbones éthyléniques sont attribués sur la base de l'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (spectre III.22) qui montre en effet des corrélations entre:

- le proton H-2', H-6' et le carbone à  $\delta_C = 130,9$  ppm attribuable à C-2', C-6'
- le proton H-3', H-5' le carbone à  $\delta_C = 115,9$  ppm attribuable à C-3', C-5'
- le proton H-2 avec le carbone à  $\delta_C = 154,4$  ppm attribuable à C-2
- le proton résonant à  $\delta_H = 6,39$  ppm et le carbone à  $\delta_C = 95,3$  ppm qui peut être le C-6 ou C-8.
- le proton éthylénique à  $\delta_H = 5,74$  ppm avec le carbone à  $\delta_C = 129,2$  ppm.
- le deuxième proton éthylénique à  $\delta_H = 6,72$  ppm avec le carbone à  $\delta_C = 115,4$  ppm.
- les protons des deux groupements méthyles avec leur carbone -CH<sub>3</sub> à  $\delta_C = 28,0$  ppm.



**Spectre III.22.** HSQC (CD<sub>3</sub>OD ; 400MHz) du composé **Rs3**

L'attribution des protons quaternaires a été faite en analysant le spectre HMBC (spectre III.23):

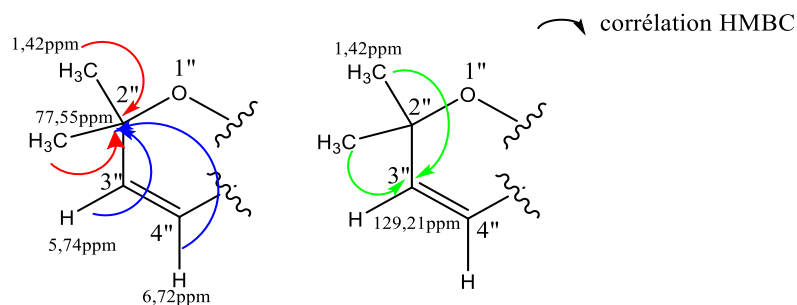
- le proton H-2 corrèle avec quatre carbones à  $\delta_C = 121,7, 123,2, 157,2$  et  $180,7$  ppm. Ces déplacements sont attribués aux carbones C-1', C-3, C-9 et C-4 respectivement.
- les protons H-2', H-6' corrèlent avec le carbone C3 et un carbone à  $\delta_C = 157,5$  ppm qui ne peut être que le C-4'.
- les protons H-3', H-5' corrèlent avec les carbones C-4' et C-1'.

### Chapitre III. Résultats et discussions

Sur le même spectre HMBC (spectre III.23), on remarque la présence d'une tache de corrélation entre le proton résonnant à  $\delta_H = 6,39$  ppm et le carbone C-9 ce qui permet de conclure que ce proton est attribué au H-8 et donc le cycle A est substitué en position 6 et 7. Ce proton H-8 montre également trois taches de corrélation, la première avec un carbone résonnant à  $\delta_C = 104,9$  ppm qui peut être le C-6, la deuxième avec un carbone à  $\delta_C = 105,5$  ppm attribuable à C-10 et la troisième avec un carbone à  $\delta_C = 159,1$  ppm qui ne peut être qu'oxygéné et nous supposons que c'est le C-7.

Les protons des deux groupements méthyles à  $\delta_H = 1,42$  ppm corrélient sur le spectre HMBC avec un atome de carbone quaternaire vu la multiplicité des protons méthyles et oxygéné vu le déplacement chimique du carbone porteur des méthyles  $\delta_C = 77,5$  ppm, nous numérotions l'atome d'oxygène 1'' et le carbone quaternaire C-2''.

- les deux protons éthyléniques ( $\delta_H = 5,74$  et  $6,72$  ppm) montrent deux taches de corrélation avec le carbone C-2'', nous numérotions les carbones CH=CH à  $\delta_C = 129,2$ ;  $115,4$  ppm C-3'' et C-4'' respectivement. Ceci est confirmé également par la présence d'une tache de corrélation entre les protons des groupements méthyles et le carbone éthylénique numérotés C-3'' à  $\delta_C = 129,2$  ppm. Ceci permet de déduire la présence de l'entité 1 reportée dans la figure III.7.



**Figure III.7.** Corrélations HMBC de l'entité 1 présente dans le composé **Rs3**

Les corrélations sur le spectre HMBC (Spectre III.23) permettent de localiser la prénylation:

- les deux protons éthyléniques montrent deux taches de corrélation avec le carbone aromatique quaternaire C-6 à  $\delta_C = 104,9$  ppm. Par ailleurs le proton éthylénique H-4'' à  $\delta_H = 6,72$  ppm montre une tache de corrélation avec le carbone aromatique quaternaire et oxygéné résonnant à  $\delta_C = 159,1$  ppm qui est le carbone C-7. Ces observations confirment que l'entité 1 est liée à l'isoflavone en position 6 et 7 et permettent d'identifier ce groupement qui est le 2'',2''-diméthylpyrane comme reporté sur la figure III.8 [12-14].

## Chapitre III. Résultats et discussions

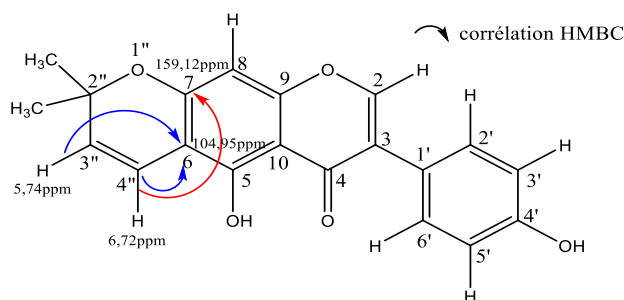
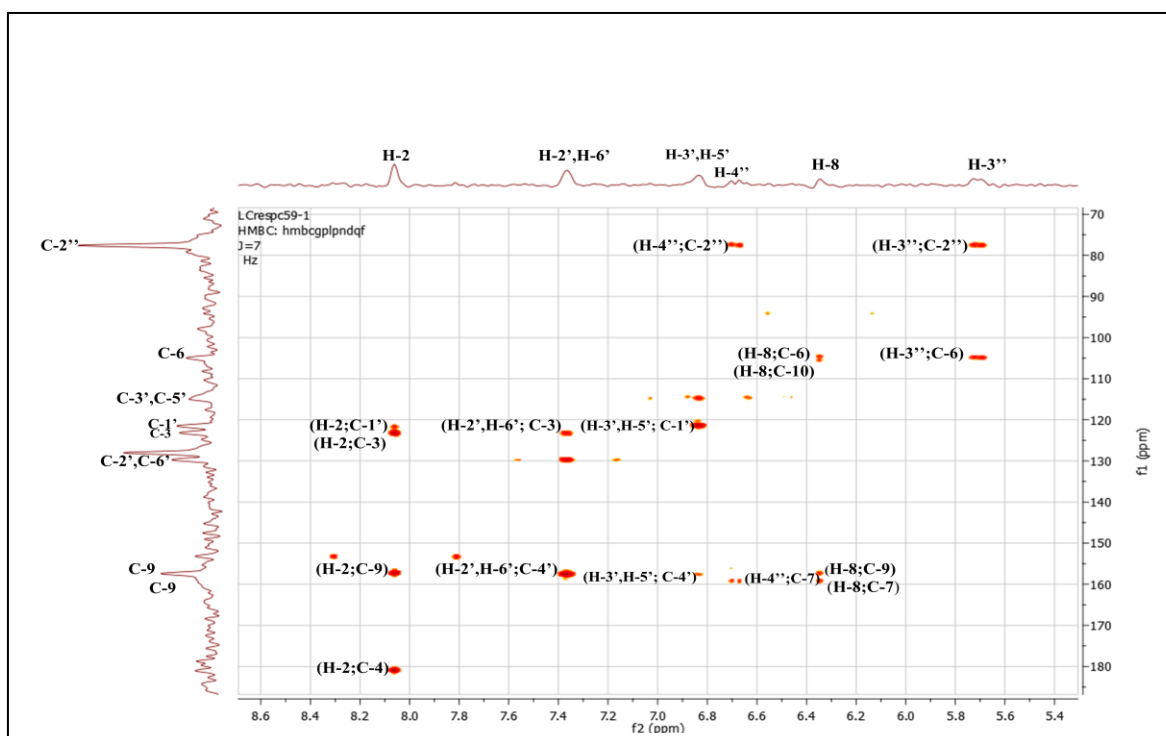


Figure III.8. Corrélations HMBC dans le composé **Rs3**



Spectre III.23. HMBC (CD<sub>3</sub>OD; 400MHz) du composé **Rs3**

La combinaison de l'ensemble des données spectroscopiques et la comparaison avec les données de la littérature mènent au composé **alpinum isoflavone** [15-17], représenté dans la figure III.9. Ce composé est reporté dans quelques genres de la famille fabaceae [18] et pour la première fois dans le genre *Retama*. Il possède des activités biologiques intéressantes telles que l'activité antimalarique [19], anticancéreuse [20] et antidiabétique [16].

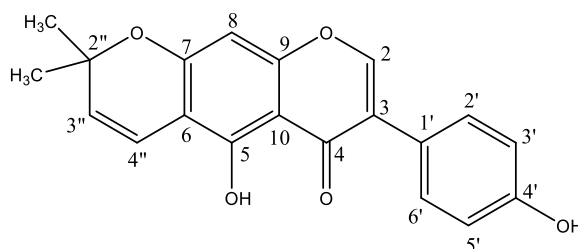


Figure III.9. Alpinum isoflavone



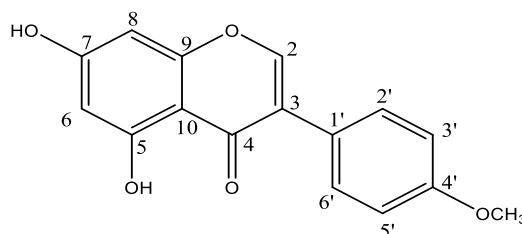
## Chapitre III. Résultats et discussions

Le tableau III.3 regroupe les attributions des différents signaux en RMN  $^1\text{H}$ , HSQC et HMBC.

**Tableau III.3.** Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$  ; 400MHz) et la RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs3**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	8,10	1H	s	154,4
3	-	-	-	123,2
4	-	-	-	180,7
6	-	-	-	104,9
7	-	-	-	159,1
8	6,39	1H	s	95,3
9	-	-	-	157,2
10	-	-	-	105,5
1'	-	-	-	121,7
2',6'	7,40	2H	d; $J= 8,5$ Hz	130,9
3',5'	6,87	2H	d; $J= 8,5$ Hz	115,9
4'	-	-	-	157,5
2''	-	-	-	77,5
3''	5,74	1H	d; $J= 10,0$ Hz	129,2
4''	6,72	1H	d; $J= 10,0$ Hz	115,4
2''-CH <sub>3</sub>	1,42	6H	s	28,0

### III.1.1.4. Élucidation structurale du composé **Rs4**

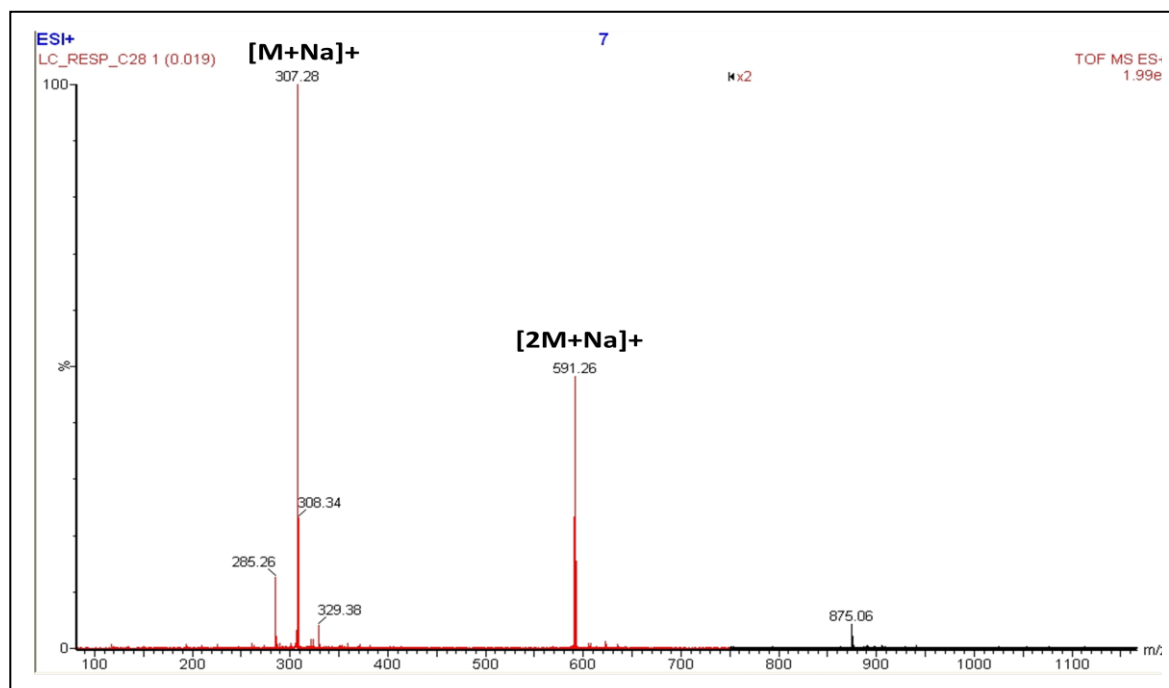


**Figure III.10.** Structure du composé **Rs4**

Le composé **Rs4** se présente sous forme d'une poudre de couleur jaune, soluble dans le DMSO.

Le spectre de masse réalisé en mode électrospray positif TOF-MS-ESI (+) de ce composé (spectre III.24) présente respectivement des pics quasi moléculaire à  $m/z= 307,28$  Da  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  et  $m/z= 591,26$  Da  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$  orientant vers une masse moléculaire de 284 Da.

## Chapitre III. Résultats et discussions

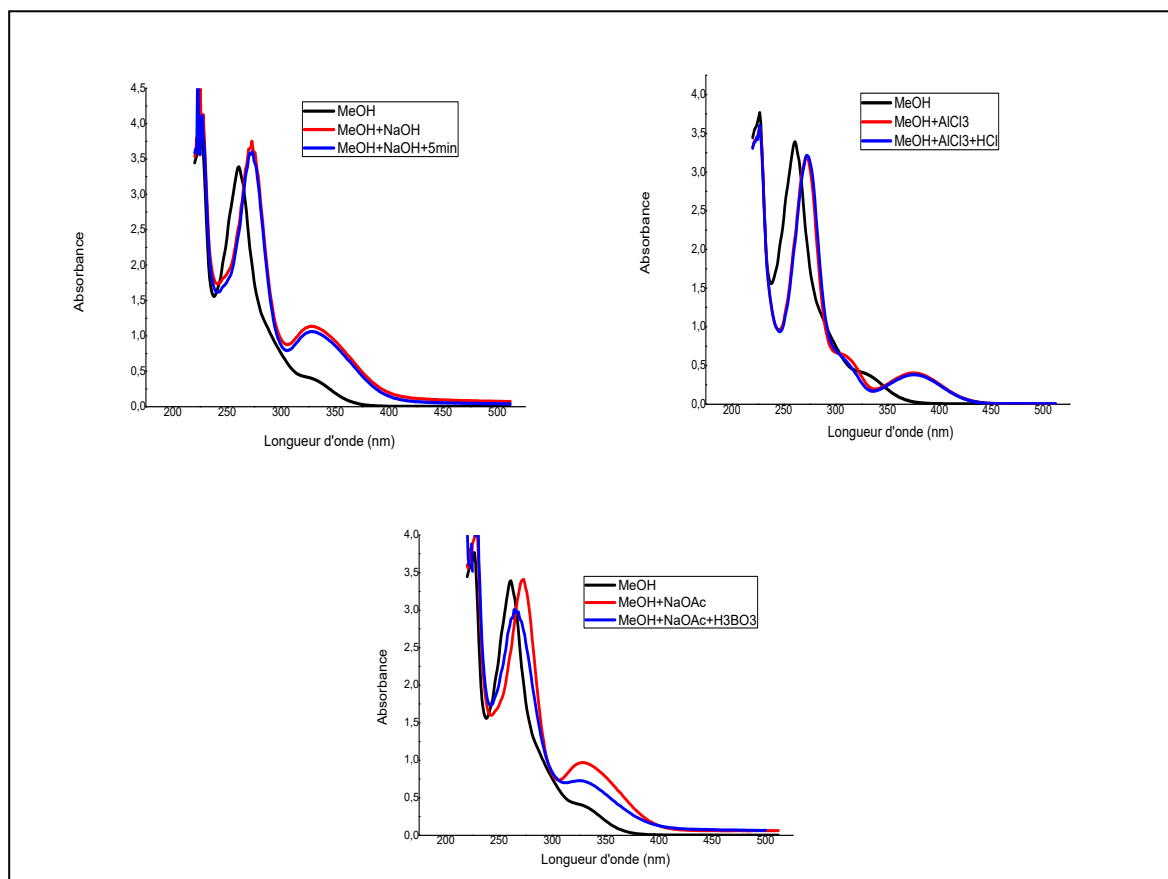


**Spectre III.24.** TOF/MS en mode positif du composé **Rs4**

Les données de la série spectrale UV (tableau III.4, spectre III.25) montrent :

- la bande I sous forme d'un épaulement à environ 329 nm et la bande II à 260 nm nous orientent vers un squelette de type isoflavone.
- le déplacement bathochrome de la bande II après addition de NaOAc ( $\Delta\lambda = +13\text{nm}$ ) comparativement au spectre enregistré dans le méthanol indique la présence d'un OH libre en position 7.
- le déplacement bathochrome de la bande I enregistré après addition de  $\text{AlCl}_3$  comparativement à celui enregistré dans le méthanol montre la présence d'un OH libre en 5 ( $\Delta\lambda = +47\text{ nm}$ ). Cela est confirmé par le déplacement bathochrome de la bande II enregistré après addition de  $\text{AlCl}_3+\text{HCl}$  comparativement à celui enregistré dans le méthanol ( $\Delta\lambda = +12\text{ nm}$ ).
- la stabilité de la bande I après addition de NaOH avec le temps comparativement à celui enregistré dans le MeOH laisse prévoir l'absence de système ortho dihydroxylé sur le cycle B.

## Chapitre III. Résultats et discussions

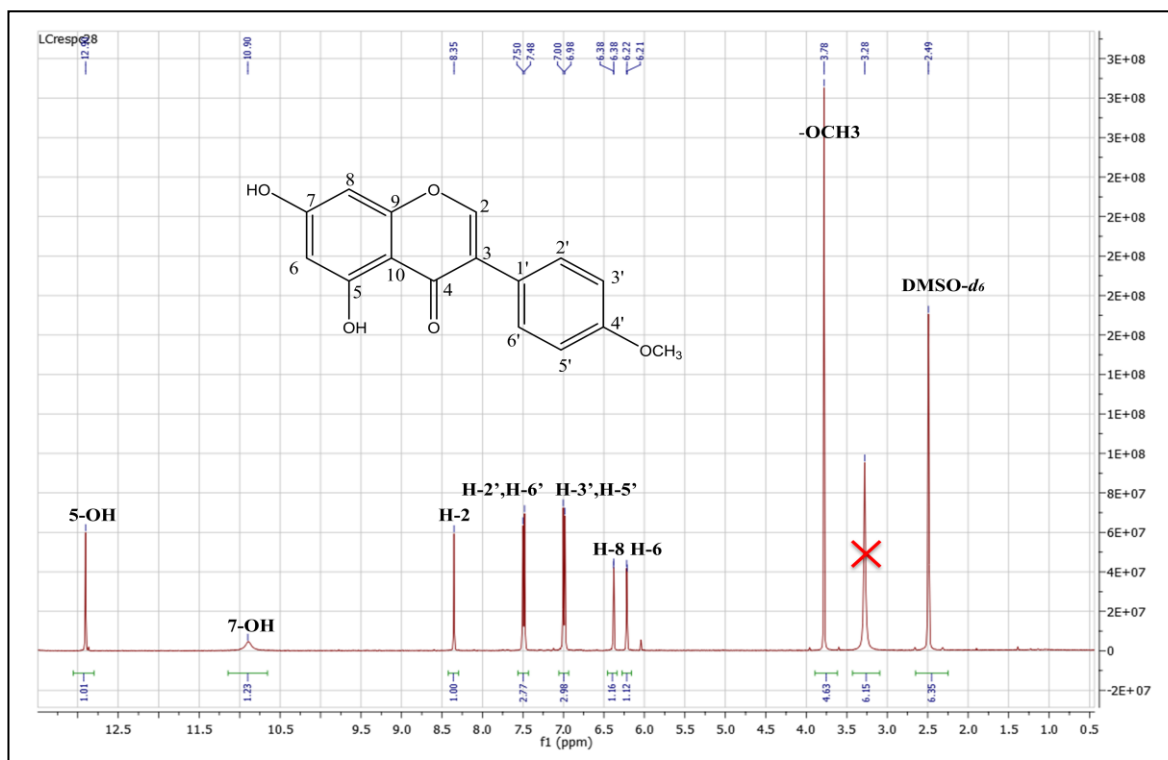


**Spectre III.25.** Série spectrale UV du composé **Rs4**

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  enregistré dans le  $\text{DMSO-}d_6$  (spectre III.26) montre la présence de huit signaux :

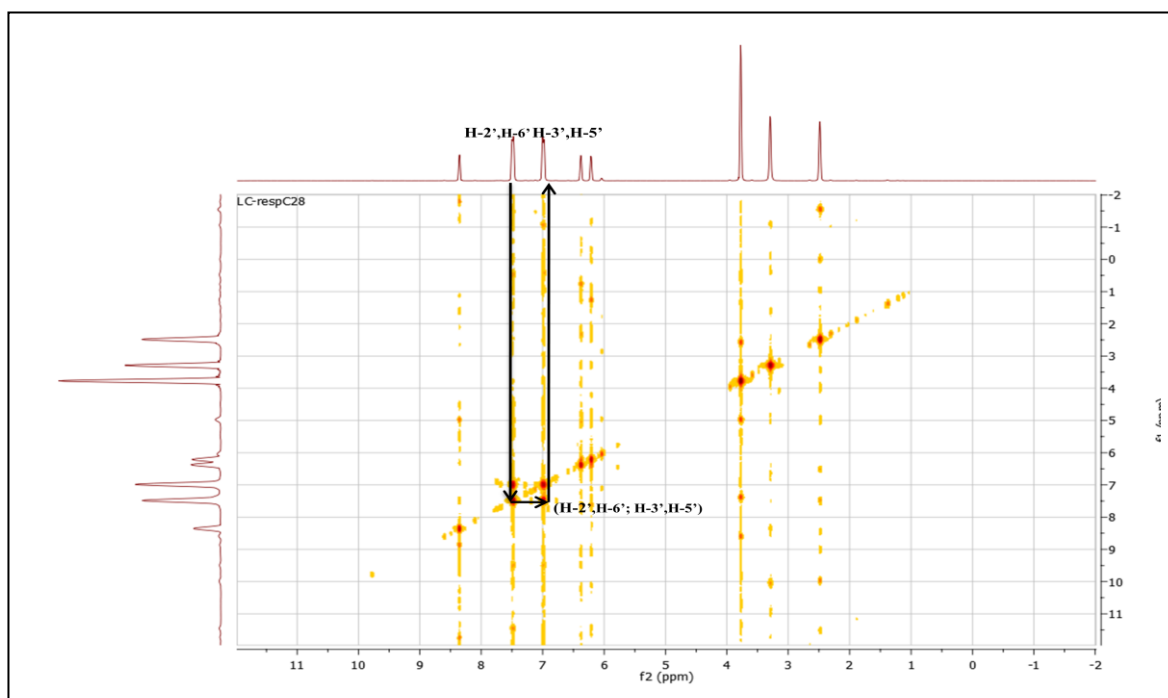
- un singulet présent à  $\delta_{\text{H}} = 8,35$  ppm intégrant pour 1H est caractéristique du proton en position 2 d'une isoflavonoïde.
- deux doublets à  $\delta_{\text{H}} = 7,49$  et  $6,99$  ppm, chacun intégrant pour 2H, avec une constante de couplage ( $J = 8,7$  Hz) chacun sont attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement.
- un singulet à  $\delta_{\text{H}} = 6,38$  ppm intégrant pour 1H et montrant un couplage méta ( $J = 2,0$  Hz) attribuable à H-8.
- un singulet à  $\delta_{\text{H}} = 6,21$  ppm intégrant pour 1H et montrant un couplage méta ( $J = 2,0$  Hz) attribuable à H-6.
- un singulet d'intégration 3H à  $\delta_{\text{H}} = 3,78$  ppm indiquant la présence d'un groupement méthoxyle sur la molécule.
- un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 12,90$  ppm attribuable à 5-OH.
- un singulet large d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 10,90$  ppm attribuable à 7-OH.

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.26. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz) du composé **Rs4**

L'examen du spectre RMN 2D, COSY (spectre III.27) montre une tache de corrélation entre les protons H-3', H-5' et les protons H-2', H-6' ce qui confirme la substitution du noyau B en position 4'.

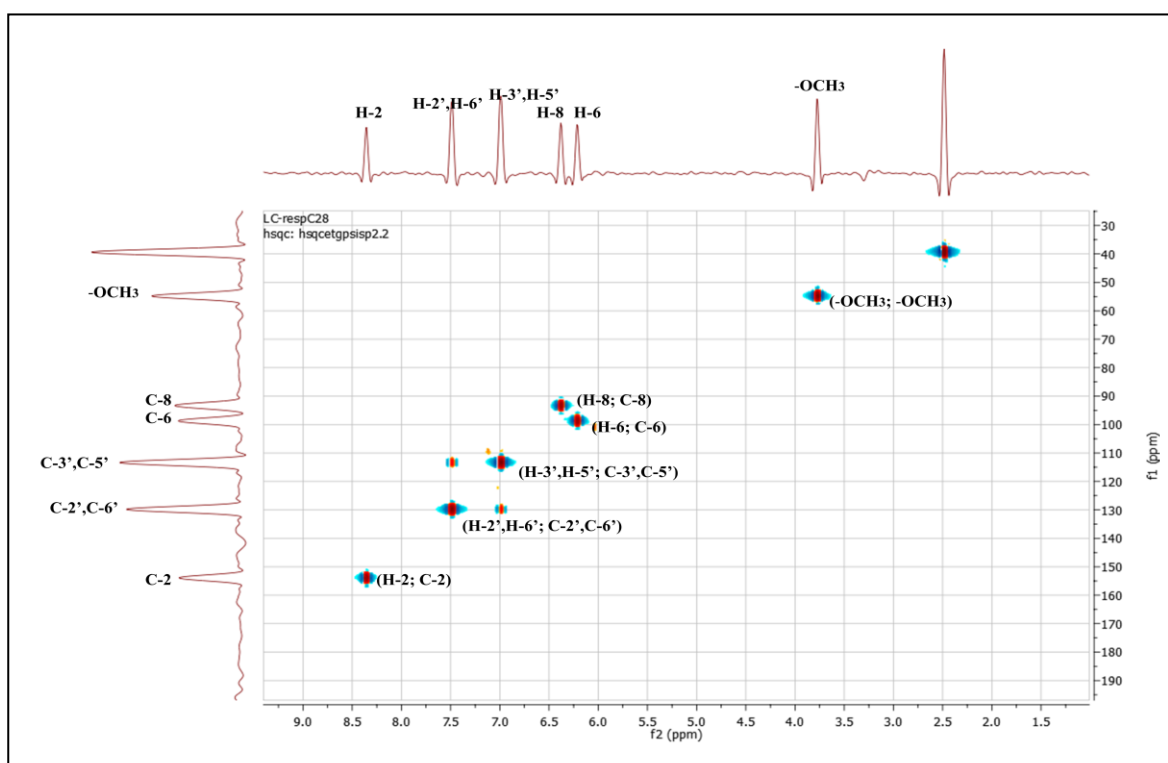


Spectre III.27. COSY ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz) du composé **Rs4**

## Chapitre III. Résultats et discussions

L'étude du spectre de corrélation HSQC (spectre III.28) permet d'effectuer les attributions des carbones suivants :

- une tache de corrélation entre H-2 et un atome de carbone qui ne peut être que C-2 à  $\delta_C=153,9$  ppm
- une tache de corrélation entre H-6 et un carbone à  $\delta_C=98,6$  ppm qui ne peut être que le C-6.
- on remarque également une tache de corrélation entre H-8 et un atome de carbone qui ne peut être que C-8 à  $\delta_C = 93,3$  ppm.
- deux taches de corrélation entre H-2', H-6' et H-3', H-5' et deux atomes de carbone qui ne peuvent être que C-2', C-6' et C-3',C-5' à  $\delta_C = 129,8$  ;  $113,3$  ppm respectivement.
- une tache de corrélation entre le groupement méthoxyle et le carbone qui apparait à  $\delta_C = 54,8$  ppm.



**Spectre III.28.** HSQC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) du composé **Rs4**

Sur le spectre HMBC (spectre III.29) on remarque que :

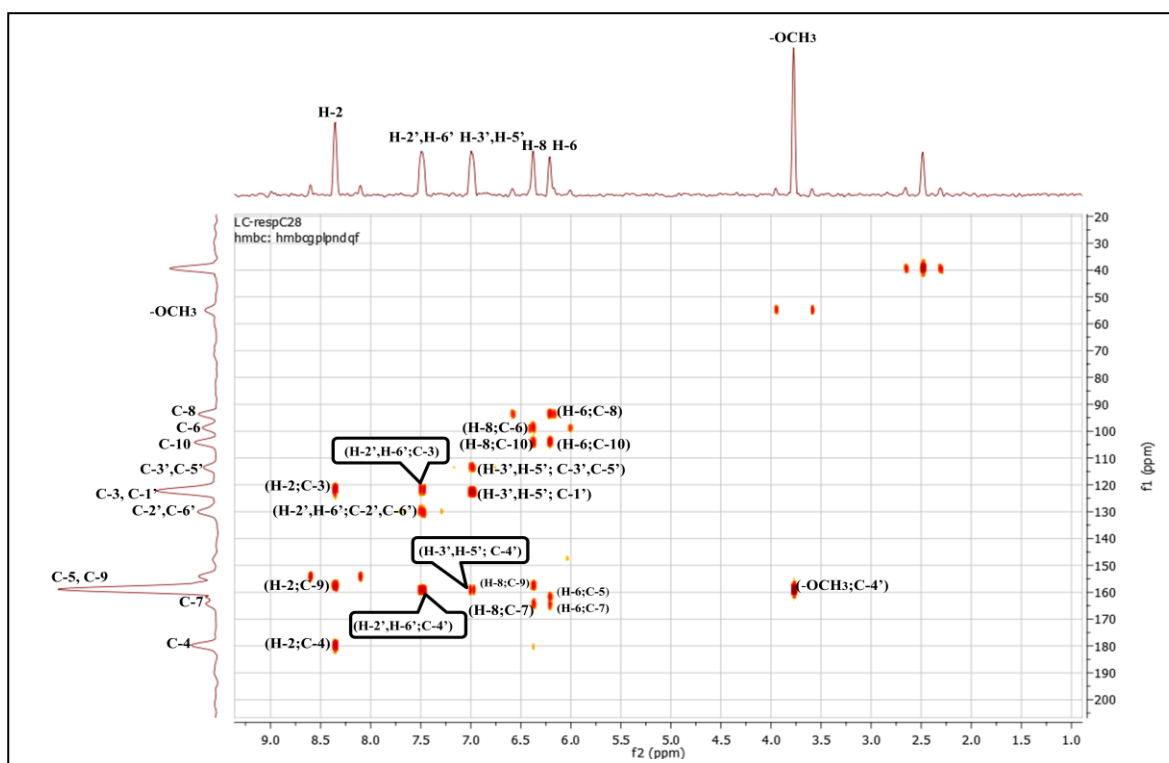
- le proton H-2 ( $\delta_H= 8,35$  ppm) corrèle avec trois carbones à  $\delta_C= 121,4$  ;  $157,4$  et  $179,7$  ppm. Ces déplacements sont attribués aux carbones C-3, C-9 et C-4 respectivement.
- on remarque également que le proton H-8 à  $\delta_H = 6,38$  ppm et le proton H-6 à  $\delta_H= 6,21$  ppm donnent quatre taches de corrélation avec les deux carbones à  $\delta_C=104,2$  et  $\delta_C= 164,3$  ppm attribué aux C-10 et C-7 respectivement.

## Chapitre III. Résultats et discussions

- le proton H-6 corrèle avec le carbone quaternaire oxygéné à  $\delta_C=161,7$  ppm qui ne peut être que le C-5.

- les protons H-3', H-5' corrèlent avec le carbone à  $\delta_C=122,6$  ppm qui ne peut être que le C-1'.

Par ailleurs Les protons H-2', H-6'; H-3', H-5' et les protons du groupement méthoxyle présentent trois taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 159,1$  ppm attribué à C-4'. Ce résultat permet de localiser le groupement méthoxyle en position 4'.



Spectre III.29. HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) du composé **Rs4**

Toutes ces données rassemblées permettent d'écrire la structure finale de la **4'-méthylgenistéine** connue sous le nom de **biochanine A** [21-22]. Cette molécule (figure III.11) a été déjà isolée de l'espèce *Retama raetam* [23]. Elle possède des propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses, neuroprotectrices, antioxydantes, antimicrobiennes et hépatoprotectrices [24].

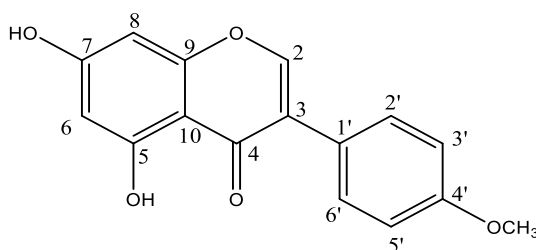


Figure III.11. Biochanine A

## Chapitre III. Résultats et discussions

Les données relatives à la série spectrale UV, la RMN  $^1\text{H}$  et la RMN 2D HSQC, HMBC sont regroupées dans les tableaux III.4 et III.5 respectivement.

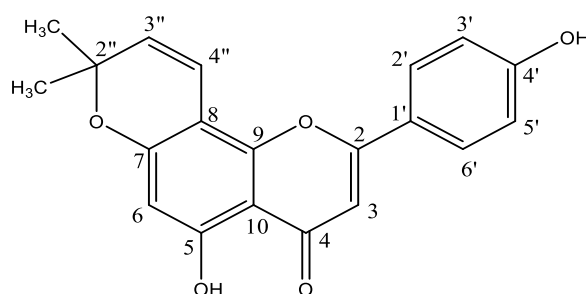
**Tableau III.4.** Données de la série UV du composé **Rs4**

Réactifs	Bande I	Autres bande	Bande II	Commentaires
MeOH	329Ep	/	260	Isovlafone
+NaOH	329Ep	/	273	/
Spectre stable avec NaOH après 5 min				
+AlCl <sub>3</sub>	376Ep	/	272	OH libre en 5
+AlCl <sub>3</sub> /HCl	376Ep	/	272	
+NaOAc	329Ep	/	273	OH libre en 7
+NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	329Ep	/	266	/

**Tableau III.5.** Données relatives à la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs4**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	8,35	1H	s	153,9
3	-	-	-	121,4
4	-	-	-	179,7
5	-	-	-	161,7
6	6,21	1H	d; $J= 2,0$ Hz	98,6
7	-	-	-	164,3
8	6,38	1H	d; $J= 2,0$ Hz	93,3
9	-	-	-	157,4
10	-	-	-	104,2
1'	-	-	-	122,6
2',6'	7,49	2H	d; $J= 8,7$ Hz	129,8
3',5'	6,99	2H	d; $J= 8,7$ Hz	113,3
4'	-	-	-	159,1
4'-OCH <sub>3</sub>	3,78	3H	s	54,81
5-OH	12,90	1H	-	-
7-OH	10,90	1H	-	-

### III.1.1.5. Élucidation structurale du composé **Rs5**



**Figure III.12.** Structure du composé **Rs5**

## Chapitre III. Résultats et discussions

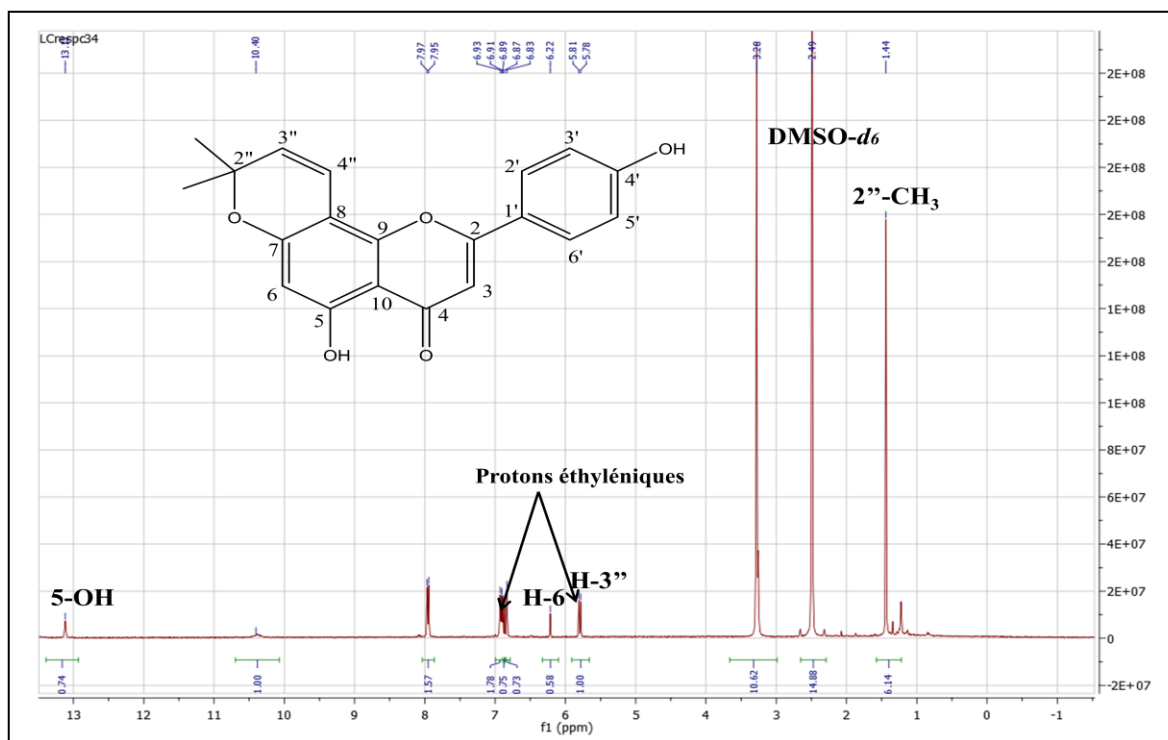
Le composé **Rs5** est sous forme d'une poudre jaune, soluble dans le DMSO et l'acétone. Il donne une fluorescence noir-violette sous la lumière de Wood.

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (spectre III.30) présente de forte similitude avec celui du composé **Rs3**, on identifie ainsi les protons du groupement 2'',2''-diméthylpyrane:

- un doublet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 6,87$  ppm ( $J = 10,0$  Hz) attribué au proton H-4''.
- un doublet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 5,79$  ppm ( $J = 10,0$  Hz) attribué au proton H-3''.
- un singulet d'intégration 6H à  $\delta_{\text{H}} = 1,43$  ppm caractéristique de deux groupements méthyle liés au pyrane en position C-2''.

Par ailleurs, le spectre RMN  $^1\text{H}$  montre également la présence de :

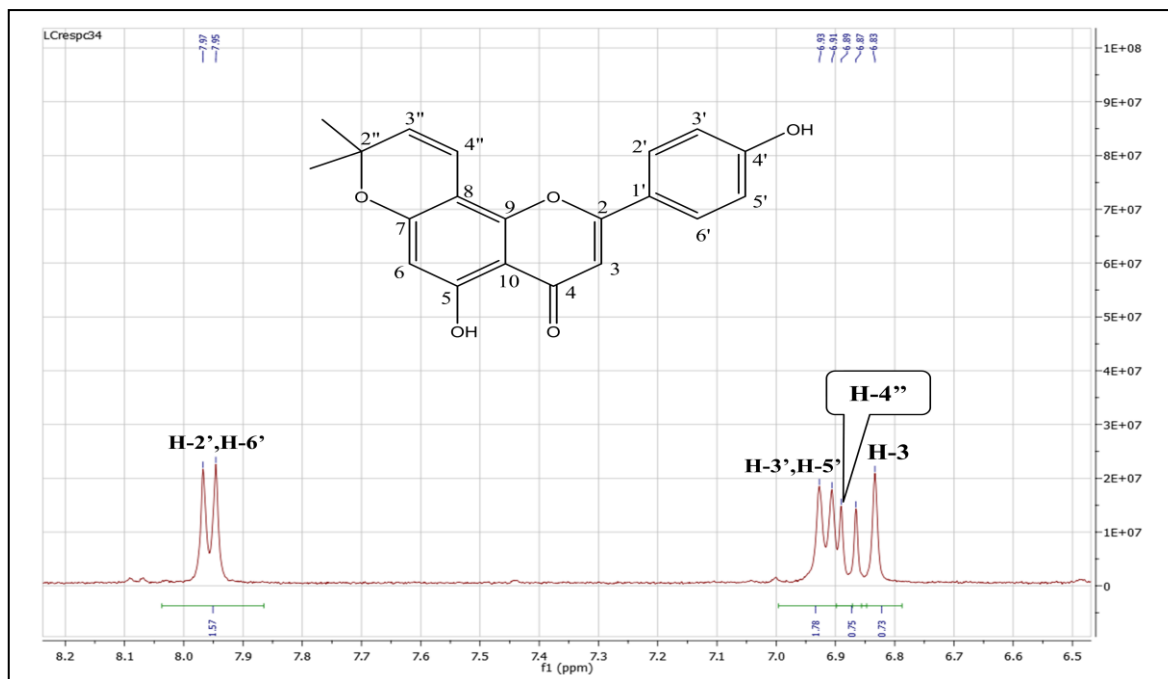
- un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 6,84$  ppm attribuable au proton H-3.
- deux signaux caractéristiques d'un noyau aromatique para-substitué, notamment :
  - un doublet d'intégration 2H, à  $\delta_{\text{H}} = 7,96$  ppm ( $J = 8,7$  Hz) attribuable à H-2', H-6'.
  - un doublet d'intégration 2H, à  $\delta_{\text{H}} = 6,92$  ppm ( $J = 8,7$  Hz) attribuable à H-3', H-5'.
- un autre signal sous forme d'un singulet à  $\delta_{\text{H}} = 6,22$  ppm d'intégration 1H attribuable à H-6 ou H-8.
- un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 13,11$  ppm caractérisant un proton d'un OH en C-5.



Spectre III.30. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) du composé **Rs5**



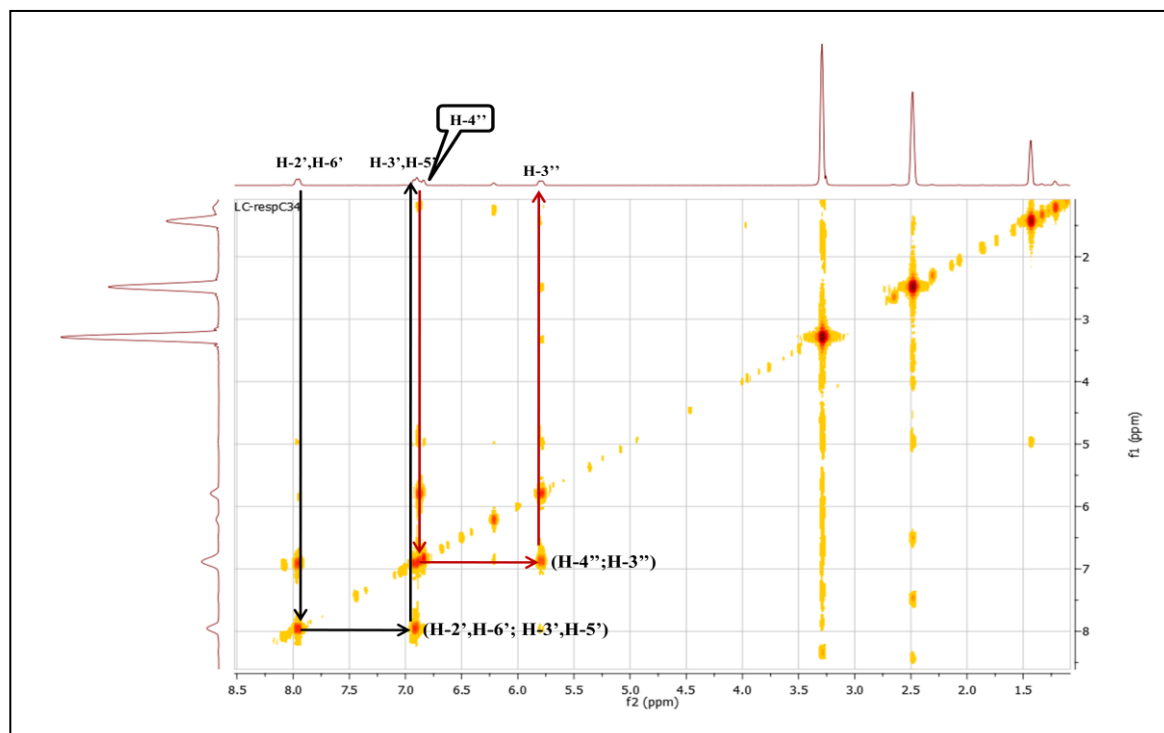
## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.31.** Étalement du spectre RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) du composé **Rs5**

L'analyse du spectre de l'expérience homonucléaire COSY (spectre III.32) permet de repérer les taches de corrélations entre les protons adjacents comme suit :

- entre les protons H-2', H-6' et les protons H-3', H-5'.
- entre le proton H-3'' et le proton H-4''.

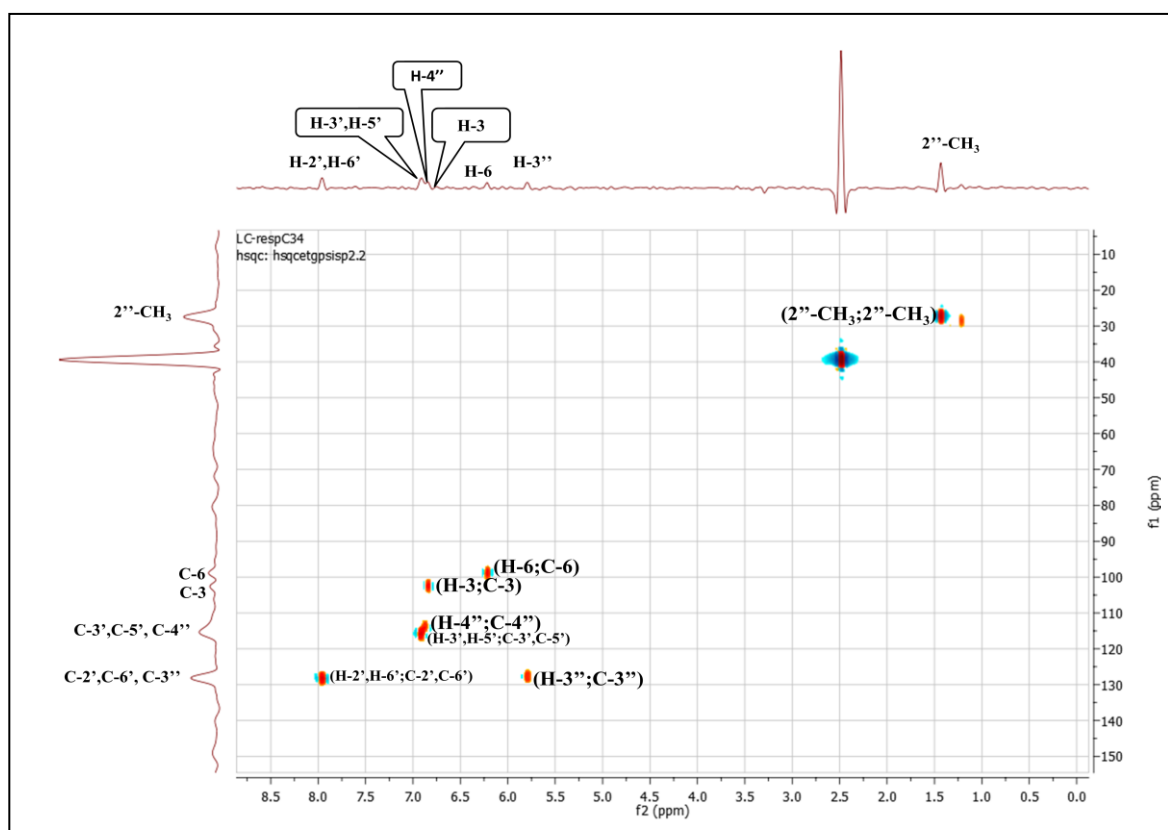


**Spectre III.32.** COSY (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) du composé **Rs5**

## Chapitre III. Résultats et discussions

L'étude du spectre de corrélation HSQC (spectre III.33) permet d'effectuer les attributions des carbones suivants :

- une tache de corrélation entre H-3 et un atome de carbone qui ne peut être que C-3 à  $\delta_C = 102,5$  ppm.
- une tache de corrélation entre H-2', H-6' et les atomes de carbone C-2' et C-6' permettant ainsi leur localisation à  $\delta_C = 128,2$  ppm. De même, une tache de corrélation entre H-3', H-5' et les atomes de carbone C-3' et C-5' permettant leur localisation à  $\delta = 116,0$  ppm.
- une tache de corrélation entre le proton à  $\delta_H = 6,22$  ppm et le carbone à  $\delta_C = 98,9$  ppm.
- une tache de corrélation entre H-3'' et un atome de carbone à  $\delta_C = 127,5$  ppm qui est le C-3''.
- une tache de corrélation entre H-4'' et un atome de carbone à  $\delta_C = 113,7$  ppm qui est le C-4''.
- les protons des deux groupements méthyles apparaissant isochrones avec leur carbone 2''-CH<sub>3</sub> à  $\delta_C = 27,3$  ppm.



**Spectre III.33.** HSQC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) du composé **Rs5**

Sur le spectre HMBC et son étalement (Spectre III.34 et III.35) on remarque :

- une tache de corrélation entre H-3 et les atomes de carbone à  $\delta_C = 181,5$  ppm, à

## Chapitre III. Résultats et discussions

$\delta_C = 163,4$  ppm, à  $\delta_C = 120,8$  ppm et à  $\delta_C = 104,4$  ppm attribuables à C-4, C-2 et C-1' et C-10 respectivement.

- deux taches de corrélation entre le H-2', H-6' et le premier atome de carbone à  $\delta_C = 162,1$  ppm attribuable à C-4' et le deuxième atome de carbone à  $\delta_C = 163,4$  ppm qui est le C-2.

Les corrélations entre H-2', H-6' avec C-2 et H-3 avec C-1' confirment le squelette flavonique.

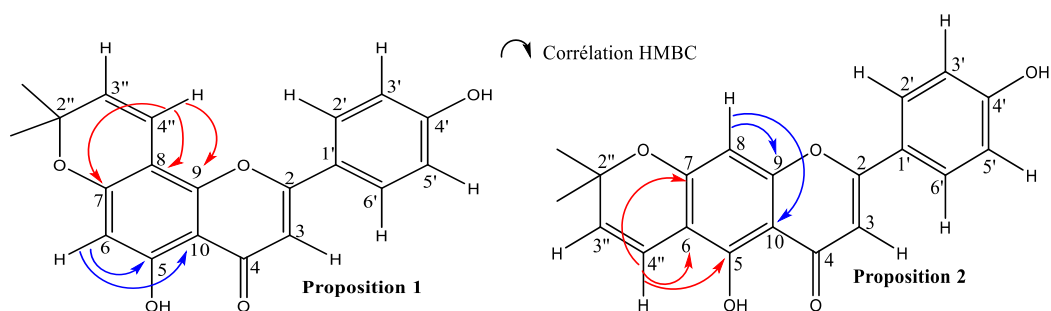
- une tache de corrélation entre le H-3', H-5' avec le carbone à  $\delta_C = 120,87$  ppm qui est attribuable à C-1'.

- deux taches de corrélation entre le proton H-3'' et le premier carbone à  $\delta_C = 77,8$  ppm qui ne peut être que le C-2'' et le deuxième atome qui est le carbone du groupement méthyle à  $\delta_C = 27,3$  ppm.

- quatre taches de corrélation entre le proton H-4'' et le premier carbone à  $\delta_C = 77,8$  ppm qui est attribuable à C-2'', le deuxième atome de carbone à  $\delta_C = 100,69$  ppm qui est le C-8 ou le C-6, le troisième atome à  $\delta_C = 151,3$  ppm attribuable à C-9 ou -C-5 et le quatrième atome de carbone à  $\delta_C = 158,4$  ppm qui est le C-7.

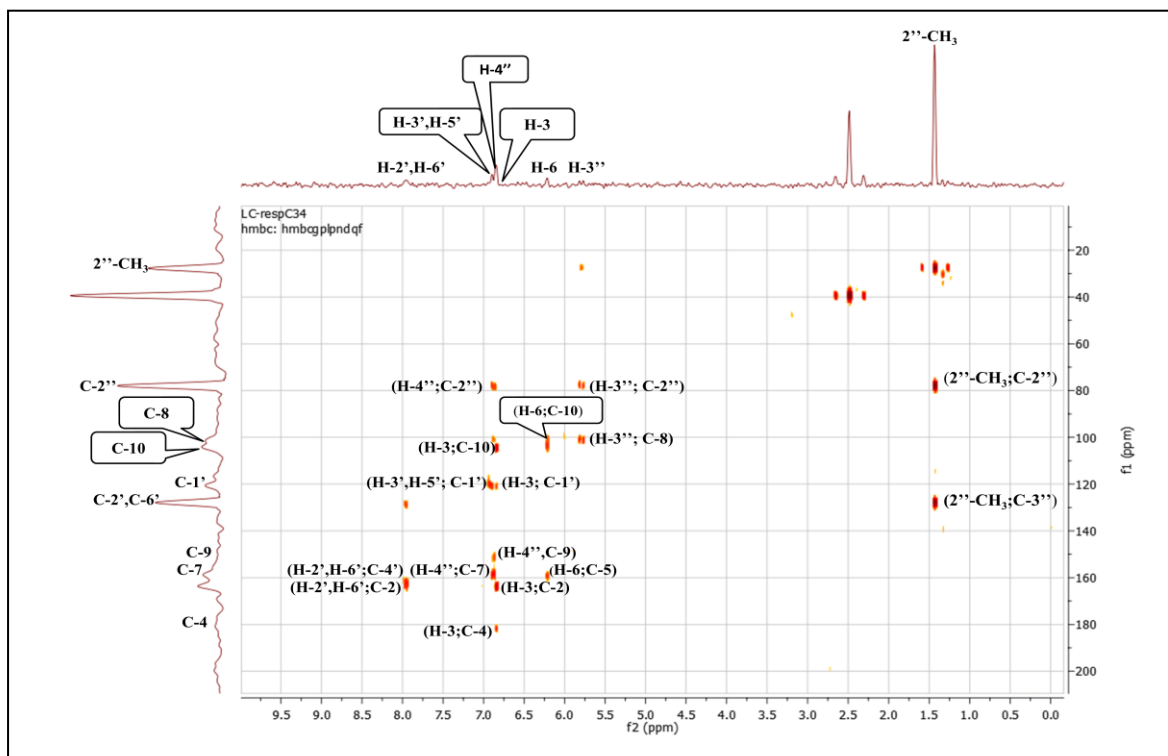
- une tache de corrélation entre le proton à  $\delta_H = 6,22$  ppm et un carbone oxygéné à  $\delta_C = 159,1$  ppm attribuable à C-5 ou C-9. Ce même proton montre également une corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 104,4$  ppm qui est attribuable à C-10.

Ces résultats permettent de proposer deux structures représentées dans la figure III.13

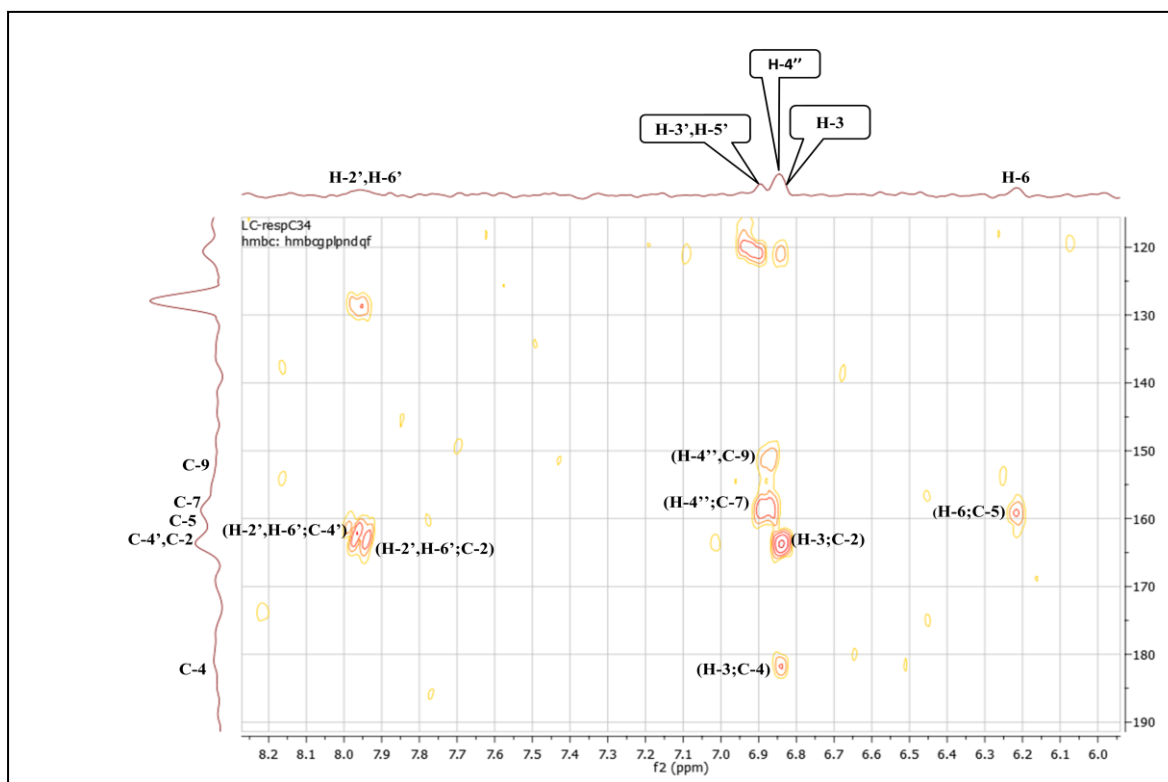


**Figure III.13.** Structures proposées du composé **Rs5**

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.34. HMBC (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) du composé **Rs5**



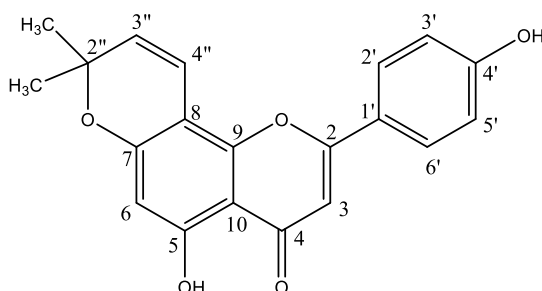
Spectre III.35. Étalement du spectre HMBC (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) du composé **Rs5**

En comparant avec la littérature, les déplacements chimiques des protons et des carbones du composé **Rs5** que nous avons obtenu sont en accord avec les données spectrales de

## Chapitre III. Résultats et discussions

composé de la proposition 1 [25-27], et donc selon les corrélations observées sur le spectre HMBC (spectre III.35), le proton à  $\delta_H = 6,22$  ppm est attribuable à H-6 et les carbones à  $\delta_C = 151,3$  et  $159,1$  ppm sont attribuables aux C-9 et C-5 respectivement, et alors nous pouvons conclure que la position 6 est hydrogénée et le groupement 2'',2''-diméthylpyrane est lié au flavone en position 7 et 8. D'où la structure suivante : **atalantoflavone** isolé déjà à partir de *Retama raetam* [28].

Il a été prouvé que cette molécule possède une activité antiproliférative [29], cytotoxique [30-31] et antivirale anti-VIH-1 (le virus de l'immunodéficience humaine) [32].



**Figure III.14. Atalantoflavone**

Les données de la la RMN 1H et RMN 2D sont rassemblées dans le tableau III.6

**Tableau III.6.** Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 400MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs5**

Position	$\delta_H$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_C$ (ppm)
2	-	-	s	163,4
3	6,84	1H	s	102,5
4	-	-	-	181,5
5	-	-	-	159,1
6	6,22	1H	s	98,9
7	-	-	-	158,4
8	-	-	-	100,6
9	-	-	-	151,3
10	-	-	-	104,4
1'	-	-	-	120,8
2',6'	7,96	2H	d; $J= 8,7$ Hz	128,2
3',5'	6,92	2H	d; $J= 8,7$ Hz	116,0
4'	-	-	-	162,1
2''	-	-	-	77,8
3''	5,79	1H	d; $J=10,0$ Hz	127,5
4''	6,87	1H	d; $J=10,0$ Hz	113,7
2''-CH <sub>3</sub>	1,43	6H	s	27,3
5-OH	13,11	1H	s	-

## Chapitre III. Résultats et discussions

### III.1.2. Élucidation structurale des produits isolés de l'extrait acétate d'éthyle

#### III.1.2.1. Élucidation structurale du composé Rs6 (Rsa8-1)

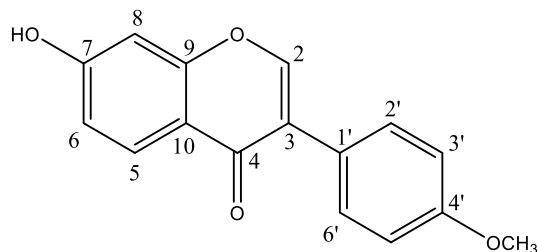
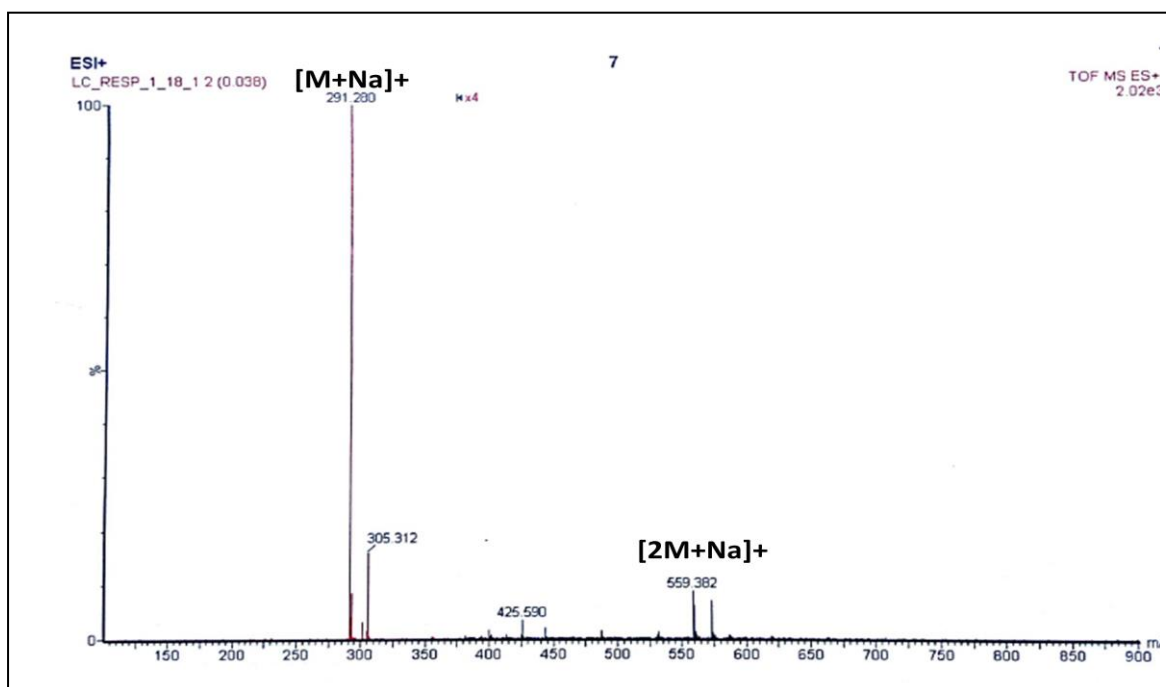


Figure III.15. Structure du composé **Rs6**

Le composé **Rs6** est sous forme d'une poudre jaune, soluble dans le méthanol.

Le spectre de masse réalisé en mode électrospray positif TOF-MS-ESI(+) de ce composé (spectre III.36) présente respectivement des pics quasi moléculaire à  $m/z = 291,280$  Da  $[M+Na]^+$  et  $m/z = 559,382$  Da  $[2M+Na]^+$  orientant vers une masse moléculaire égale à 268 Da.

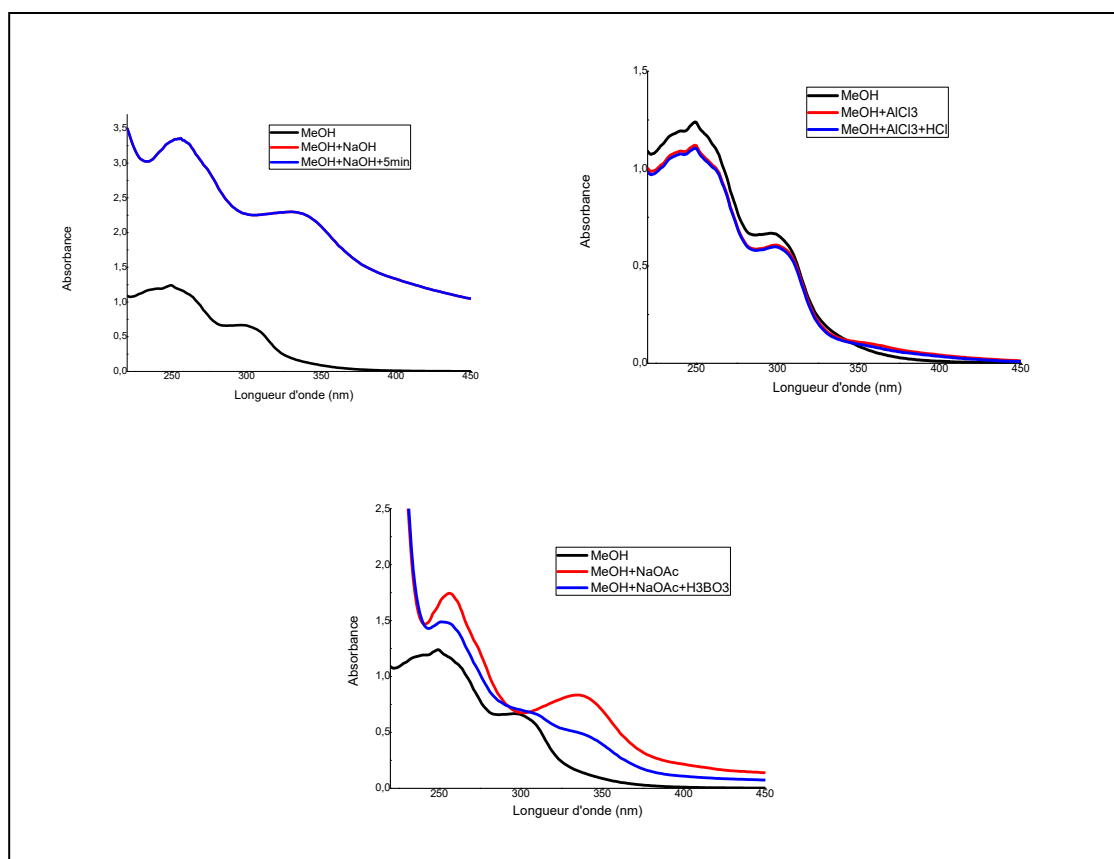


Spectre III.36. TOF/MS en mode positif du composé **Rs6**

Les données de la série spectrale UV (tableau III.7 et spectre III.37) de ce composé enregistrée dans le MeOH montrent deux bandes d'absorption, la bande I à 300 nm est sous forme d'épaule caractéristique d'une isoflavone et une deuxième bande à 249 nm.

## Chapitre III. Résultats et discussions

- L'ajout de NaOAc provoque un déplacement bathochrome de la bande II ( $\Delta\lambda = +8$  nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH indiquant la présence d'un OH libre en position 7.
- La stabilité du spectre enregistré dans le MeOH après addition de  $\text{AlCl}_3$ , montre l'absence de l'effet bathochrome de la bande I et indique l'absence de chélation entre l'hydroxyle en position C-5 et le groupement carbonyle en C-4 et donc l'absence du OH libre en C-5.
- Le spectre enregistré en présence d' $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$  ne montre aucun changement significatif comparativement à celui enregistré dans le MeOH révélant ainsi l'absence d'un groupement -OH libre en position C-5.



**Spectre III.37.** Série spectrale UV du composé **Rs6**

L'examen du spectre RMN  $^1\text{H}$  (spectre III.38) et son étalement (spectres III.39) montre la présence d'un ensemble de signaux caractérisant un squelette flavonique de type isoflavone reconnaissable par :

- un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 8,15$  ppm caractéristique d'un H-2 d'une isoflavone.

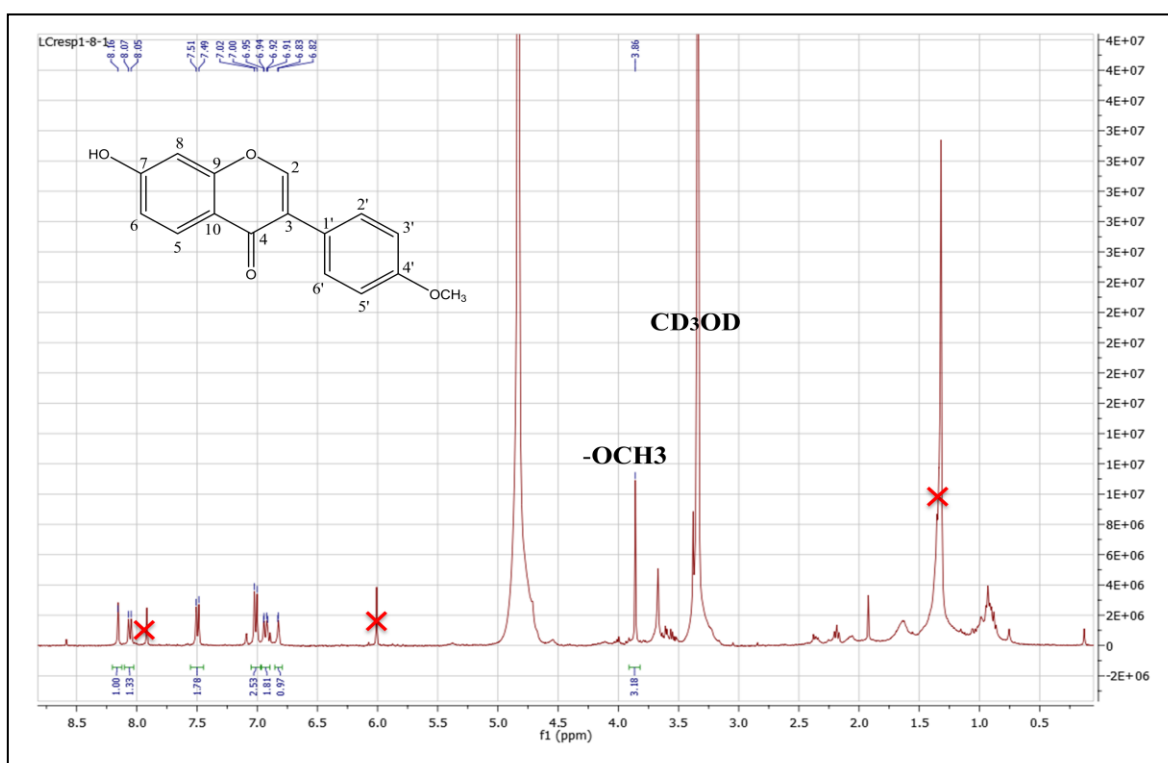
## Chapitre III. Résultats et discussions

Un système AB caractéristique d'une oxygénation en position 4' sur le noyau B, ainsi les doublets ( $J = 8,7$  Hz) d'intégration 2H chacun à  $\delta_H = 7,49$  ppm et à  $\delta_H = 7,01$  ppm sont attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement.

L'étude du cycle A indique la présence des protons aromatiques d'un système ABX résonnant sous forme de :

- un doublet à  $\delta_H = 8,05$  ppm ( $J = 8,9$  Hz) d'intégration 1H attribuable à H-5.
- un doublet de doublet à  $\delta_H = 6,93$  ppm ( $J = 8,9 ; 2,3$  Hz) d'intégration 1H attribuable à H-6.
- un doublet à  $\delta_H = 6,82$  ppm ( $J = 2,3$  Hz) d'intégration 1H attribuable à H-8.

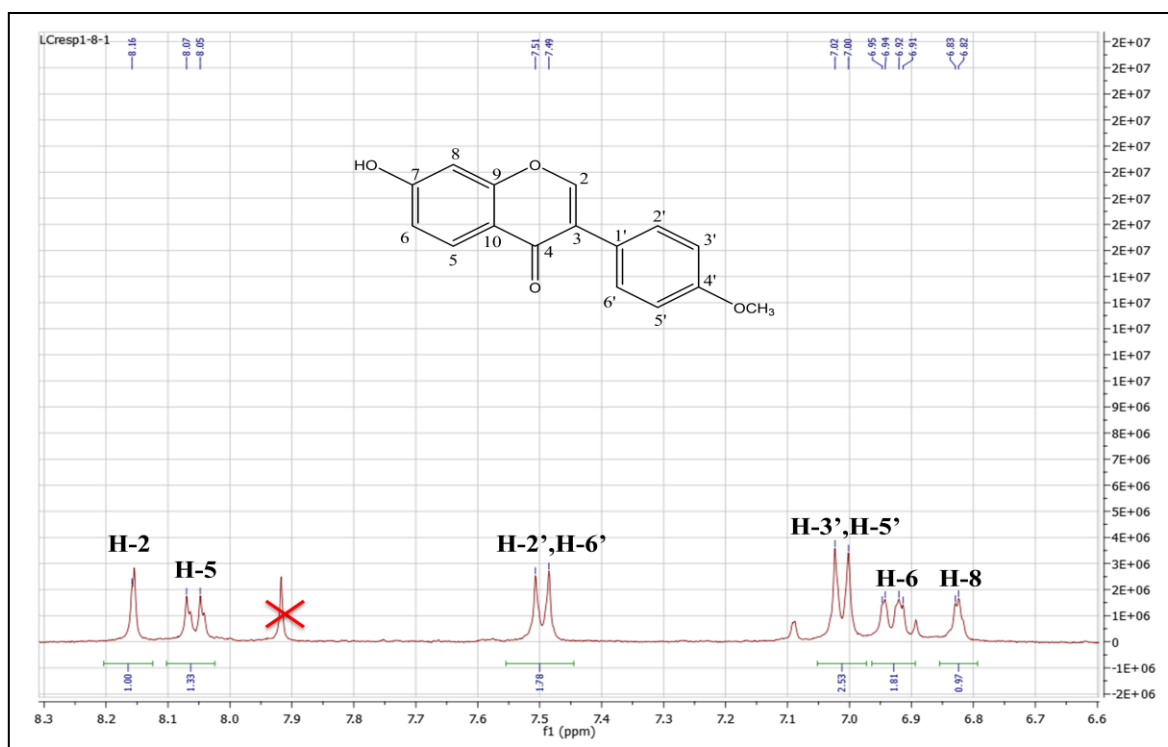
Sur le même spectre on remarque la présence d'un singulet à  $\delta_H = 3,85$  ppm d'intégration 3H attribuable au groupement méthoxyle.



Spectre III.38. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) du composé **Rs6**



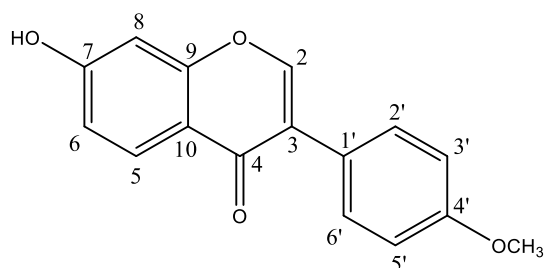
## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.39.** Étalement du spectre RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) du composé **Rs6**

La combinaison de l'ensemble des données de la spectrophotométrie UV et la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et la comparaison avec les données de la littérature mènent au composé : **7-hydroxy-4'-méthoxyisoflavone** connu sous le nom de **Formononétine** [34] représentée dans la figure III.16.

Cette molécule est largement répandue dans de nombreuses plantes appartenant à la famille des fabaceae [34] tandis qu'elle est isolée pour la première fois du genre *Retama*. Elle a été évaluée pour de nombreuses activités biologiques, à savoir: l'activité antidiabétique [35], oestrogénique [36-37], anticancéreuse [38-40], antioxydante [37], antibactériennes et anti-inflammatoire [41-43].



**Figure III.16. Formononétine**

Les données relatives aux spectres de la série UV et de la RMN  $^1\text{H}$  de ce composé sont reportées dans les tableaux III.7 et III.8.

## Chapitre III. Résultats et discussions

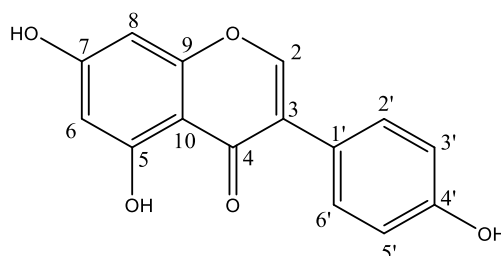
**Tableau III.7.** Données de la série UV du composé **Rs6**

Réactifs	Bande I	Autres bande	Bande II	Commentaires
MeOH	300Ep	/	249	Isoflavone
+NaOH	332Ep	/	255	/
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				
+AlCl <sub>3</sub>	300Ep	/	249	Absence OH en 5
+AlCl <sub>3</sub> /HCl	300Ep	/	249	
+NaOAc	336Ep	/	257	OH libre en 7
+NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	336Ep	338	255	/

**Tableau III.8.** RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD; 400MHz) du composé **Rs6**

Position	δ <sub>H</sub> (ppm)	Intégration	Multiplicité; J (Hz)
2	8,15	1H	s
5	8,05	1H	d; J= 8,9 Hz
6	6,93	1H	dd; J= 8,9; 2,3 Hz
8	6,82	1H	d; J= 2,3 Hz
2', 6'	7,49	2H	d; J= 8,7 Hz
3', 5'	7,01	2H	d; J= 8,7 Hz
-OCH <sub>3</sub>	3,85	3H	s

### III.1.2.2. Élucidation structurale du composé **Rs7**



**Figure III.17.** Structure du composé **Rs7**

Le composé **Rs7** se présente sous forme d'une poudre blanche, soluble dans le DMSO.

L'analyse simultanée du spectre RMN <sup>1</sup>H (spectre III.40) et le spectre de l'expérience hétéronucléaire HSQC (spectre III.41) enregistré dans le DMSO-*d*<sub>6</sub> montre les signaux caractéristiques d'un squelette de type isoflavone reconnaissable par:

- un singulet à δ<sub>H</sub> = 8,30 ppm d'intégration 1H caractéristique du proton H-2 de l'isoflavone, celui-ci corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone résonant à δ<sub>C</sub> = 154,4 ppm.
- un singulet à δ<sub>H</sub> = 12,93 ppm d'intégration 1H caractéristique du H d'un groupement hydroxyle se trouvant sur le carbone C-5.

## Chapitre III. Résultats et discussions

- un doublet à  $\delta_H = 7,35$  ppm ( $J = 8,3$  Hz) d'intégration 2H attribuable aux protons H-2', H-6' du cycle B et corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_C = 130,5$  ppm.

- un doublet à  $\delta_H = 6,79$  ppm ( $J = 8,3$  Hz) d'intégration 2H attribuable aux protons H-3', H-5' du cycle B et corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_C = 115,4$  ppm.

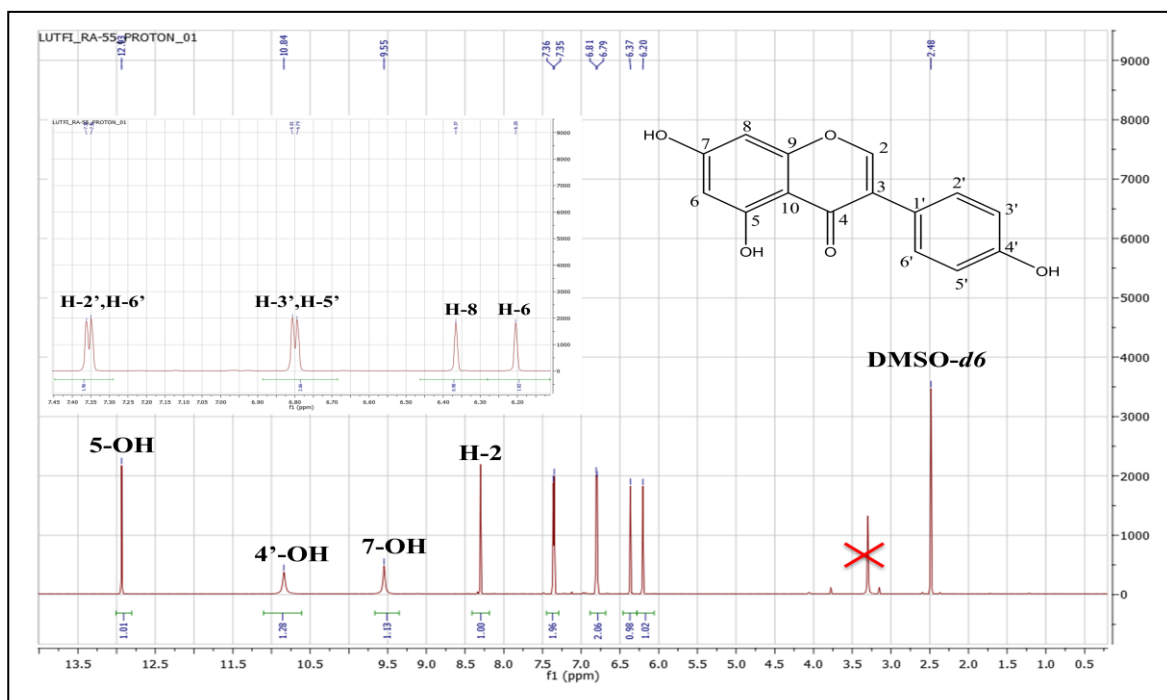
La présence de ces deux signaux avec cette multiplicité oriente vers un cycle B para-substitué.

- un doublet à  $\delta_H = 6,36$  ppm ( $J = 2,2$  Hz) d'intégration 1H attribuable au proton H-8 du cycle A et corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_C = 94,0$  ppm.

- un doublet à  $\delta_H = 6,20$  ppm ( $J = 2,2$  Hz) d'intégration 1H attribuable au proton H-6 du cycle A et corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_C = 99,4$  ppm.

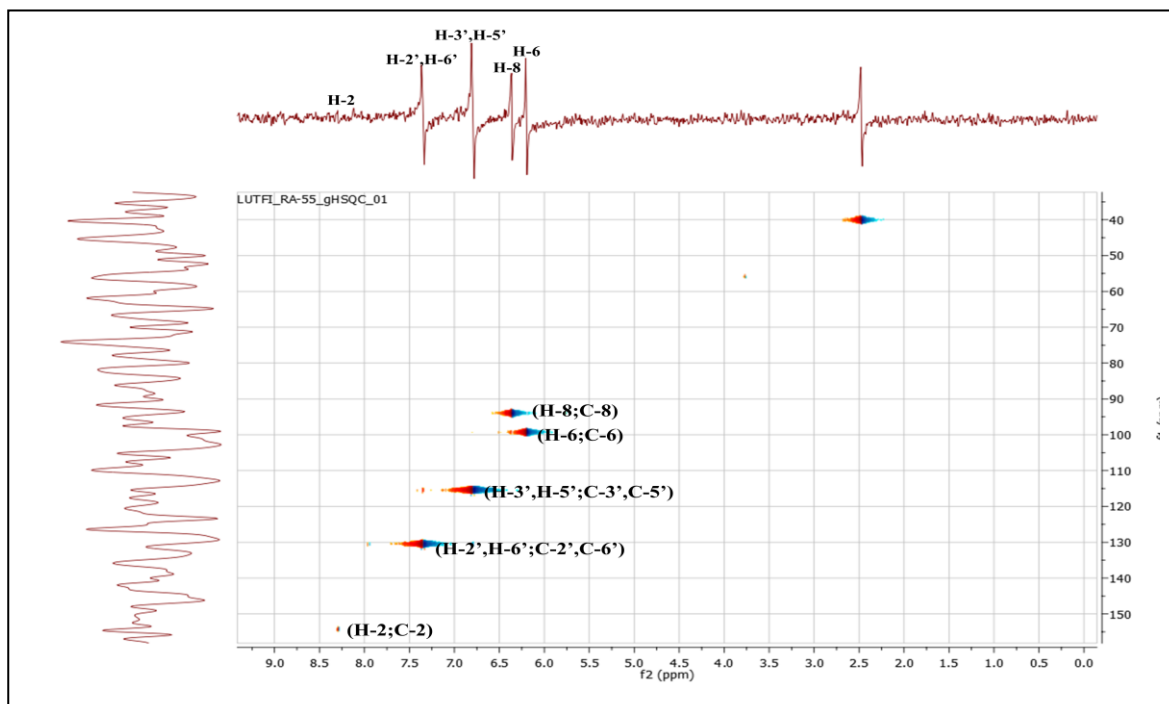
La présence de ces deux signaux indique que le cycle A est substitué en C-5 et C-7.

Par abstraction de l'ensemble de ces signaux, il ne reste que deux protons à  $\delta_H = 10,83$  et  $9,54$  ppm non attribués. Ces derniers ne peuvent être portés que par les atomes d'oxygène des positions C-7 et C-4' respectivement [44].



Spectre III.40. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 600 MHz) du composé **Rs7**

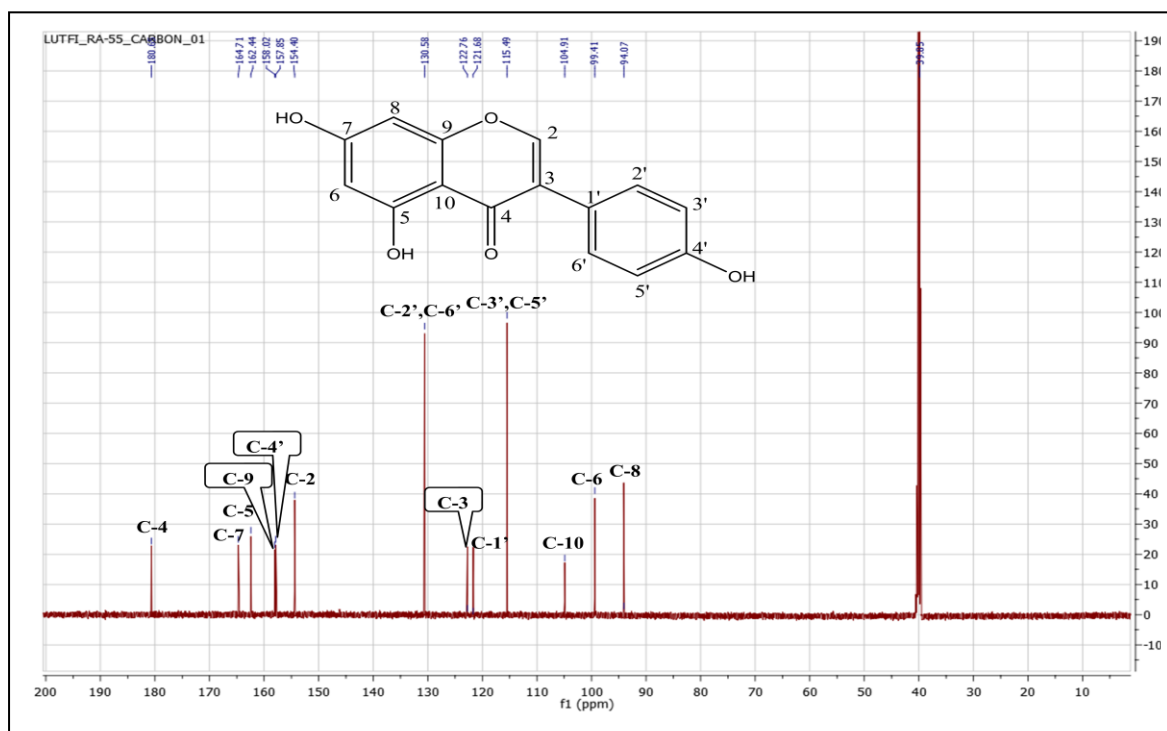
## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.41. HSQC (DMSO- $d_6$ , 600 MHz) du composé **Rs7**

L'étude du spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (spectre III.42) montre la présence de 15 atomes de carbone.

Par abstraction des CH indiqué précédemment, il reste 8 carbones quaternaires. Ces derniers sont déduits sur la base de l'étude du spectre de l'expérience bidimensionnelle HMBC.

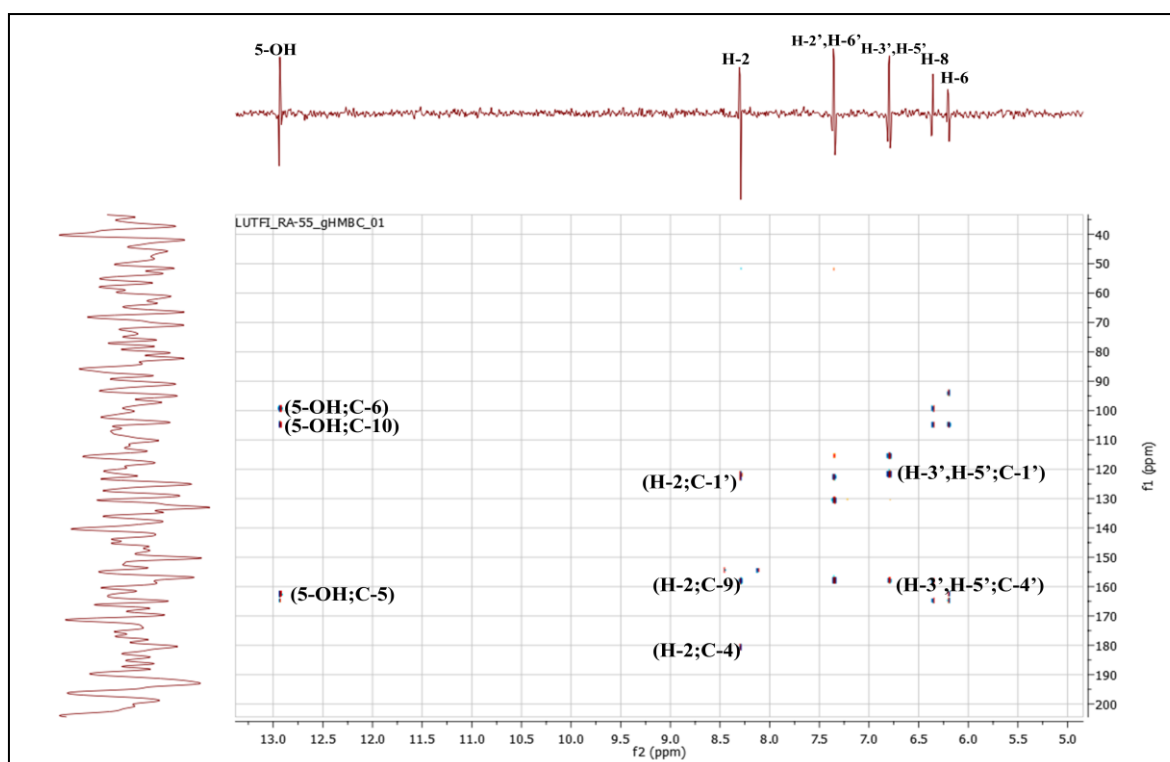


Spectre III.42. RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 150 MHz) du composé **Rs7**

## Chapitre III. Résultats et discussions

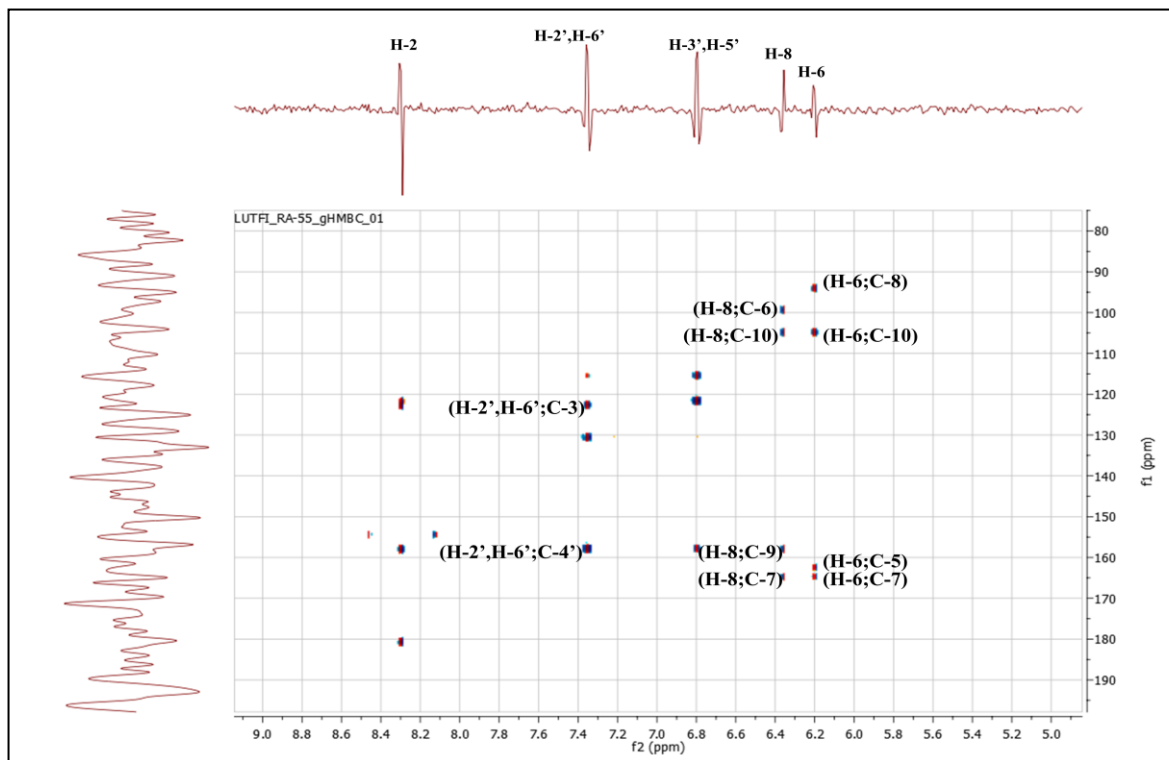
En effet, l'analyse du spectre bidimensionnelle HMBC (spectre III.43) et son étalement (spectre III.44) permet l'attribution des carbones quaternaires à l'aide des taches de corrélation comme suit :

- le proton du groupement hydroxyle se trouvant sur le carbone C-5 corrèle avec le carbone C-6 et les carbones à  $\delta_C = 104,9$  et  $162,4$  ppm attribuables aux C-10 et C-5 respectivement.
- le proton H-2 présente des taches de corrélations avec les carbones à  $\delta_C = 121,6$  ;  $158,0$  et  $180,6$  ppm attribuables aux C-1' ; C-9 et C-4 respectivement.
- les deux protons H-2' , H-6' corrélient avec les carbones à  $\delta_C = 122,7$  et  $157,8$  ppm attribuables aux C-3 et C-4' respectivement.
- les deux protons H-3' et H-5' corrélient avec les deux carbones C-1' et C-4' résonnants à  $\delta_C = 121,6$  et  $157,8$  ppm respectivement.
- le proton H-8 corrélie avec les carbones C-6, C-10, C-9 et un carbone à  $\delta_C = 164,7$  ppm qui ne peut être que le C-7.
- le proton H-6 corrélie avec les carbones C-8, C-10, C-5 et le carbone C-7 à  $\delta_C=164,7$  ppm.



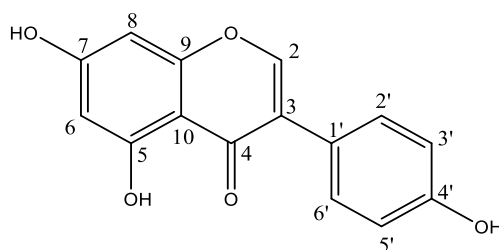
Spectre III.43. HMBC (DMSO- $d_6$ , 600 MHz) du composé **Rs7**

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.44.** Étalement du spectre HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz) du composé **Rs7**

Toutes ces données sont en accord avec celles indiquées dans la littérature et mènent à la structure de la **génistéine** [21, 44-45]. Cette molécule (figure III.18) a été déjà isolé à partir des deux espèces *Retama monosperma* et *Retama raetam* [23, 46-48]. Il a été rapporté que la génistéine présente plusieurs effets biologiques, tels que l'effet anticancéreux [49-52], oestrogénique [53], antidiabétique, réduction des bouffées de chaleur péri-ménopausiques et post-ménopausiques [51]. De plus, elle possède des avantages dans de nombreuses maladies chroniques, telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète et l'ostéoporose [50].



**Figure III.18.** Génistéine

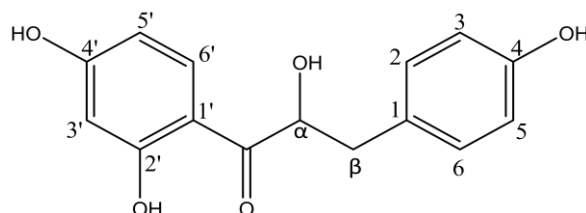
Les données spectroscopiques RMN <sup>1</sup>H et RMN <sup>13</sup>C du composé **Rs7** sont regroupées dans le tableau suivant :

## Chapitre III. Résultats et discussions

**Tableau III.9.** RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 600MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ; 150MHz) du composé **Rs7**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	8,30	1H	s	154,4
3	-	1H	s	122,7
4	-	-	-	180,6
5	-	-	-	162,4
6	6,20	1H	d; $J= 2,2$ Hz	99,4
7	-	-	-	164,7
8	6,36	1H	d; $J= 2,2$ Hz	94,0
9	-	-	-	158,0
10	-	-	-	104,9
1'	-	-	-	121,6
2',6'	7,35	2H	d; $J= 8,3$ Hz	130,5
3',5'	6,79	2H	d; $J= 8,3$ Hz	115,4
4'	-	-	-	157,8
5-OH	12,93	1H	s	-
7-OH	10,83	1H	sl	-
4'-OH	9,54	1H	sl	-

### III.1.2.3. Élucidation structurale du composé **Rs8** (Rsa11-6-4-5)

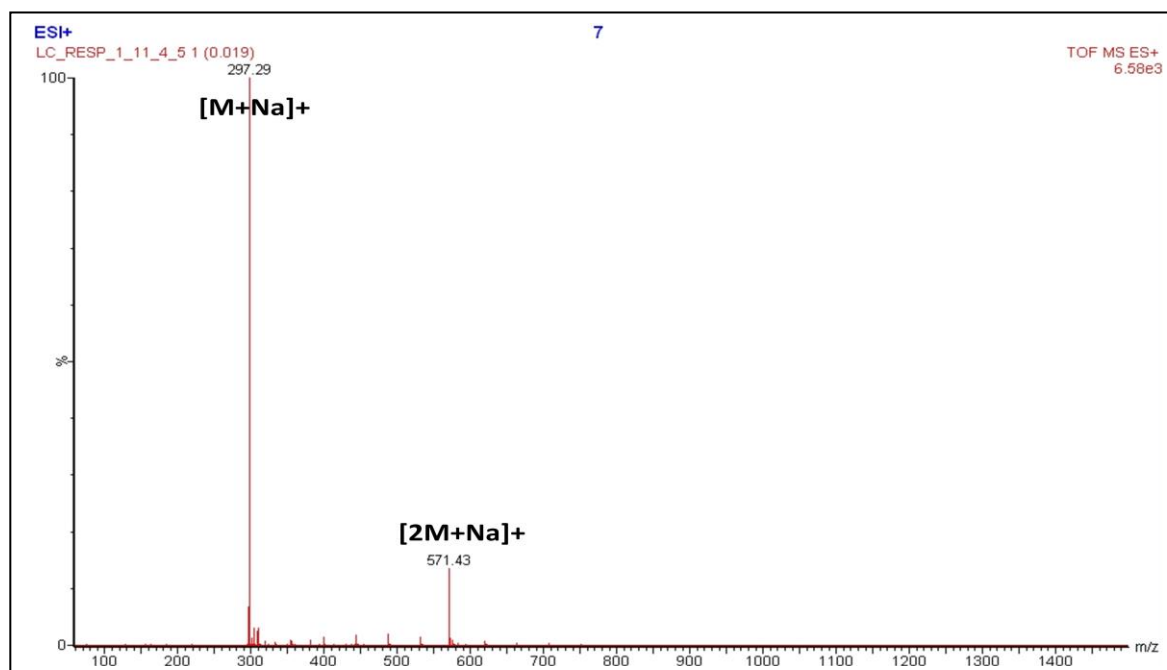


**Figure III.19.** Structure du composé **Rs8**

Le composé **Rs8** est soluble dans l'acétone et le méthanol.

Le spectre de masse réalisé en mode Electrospray positif TOF-MS-ESI (+) (spectre III.45) révèle la présence de deux pics pseudomoléculaire à  $m/z = 297,29$  Da  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  et  $m/z = 571,43$  Da  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ , soit une masse moléculaire égale à 274 Da.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.45.** TOF/MS en mode positif composé **Rs8**

L'examen simultané du spectre RMN  $^1\text{H}$  (spectre III.46) et le spectre HSQC (spectre III.47) enregistrés dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$  permettent de relever dans cette molécule la présence de :

- un signal à  $\delta_{\text{H}} = 7,66$  ppm d'intégration 1H sous forme d'un doublet ( $J = 8,9$  Hz) corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_{\text{C}} = 132,9$  ppm.
- un signal à  $\delta_{\text{H}} = 6,33$  ppm d'intégration 1H sous forme d'un doublet de doublet ( $J = 8,9; 2,1$  Hz) corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_{\text{C}} = 110,1$  ppm.
- un signal à  $\delta_{\text{H}} = 6,24$  ppm d'intégration 1H sous forme d'un doublet ( $J = 2,1$  Hz) corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_{\text{C}} = 103,8$  ppm.

Les valeurs des déplacements chimiques ainsi que celles des constantes de couplage orientent vers la présence d'un système ABX correspondant à un cycle aromatique 1, 2, 4-trisubstitué.

- un signal à  $\delta_{\text{H}} = 7,05$  ppm d'intégration 2H sous forme d'un doublet ( $J = 8,3$  Hz) corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_{\text{C}} = 131,0$  ppm.
- un signal à  $\delta_{\text{H}} = 6,70$  ppm d'intégration 2H sous forme d'un doublet ( $J = 8,3$  Hz) corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_{\text{C}} = 115,6$  ppm.

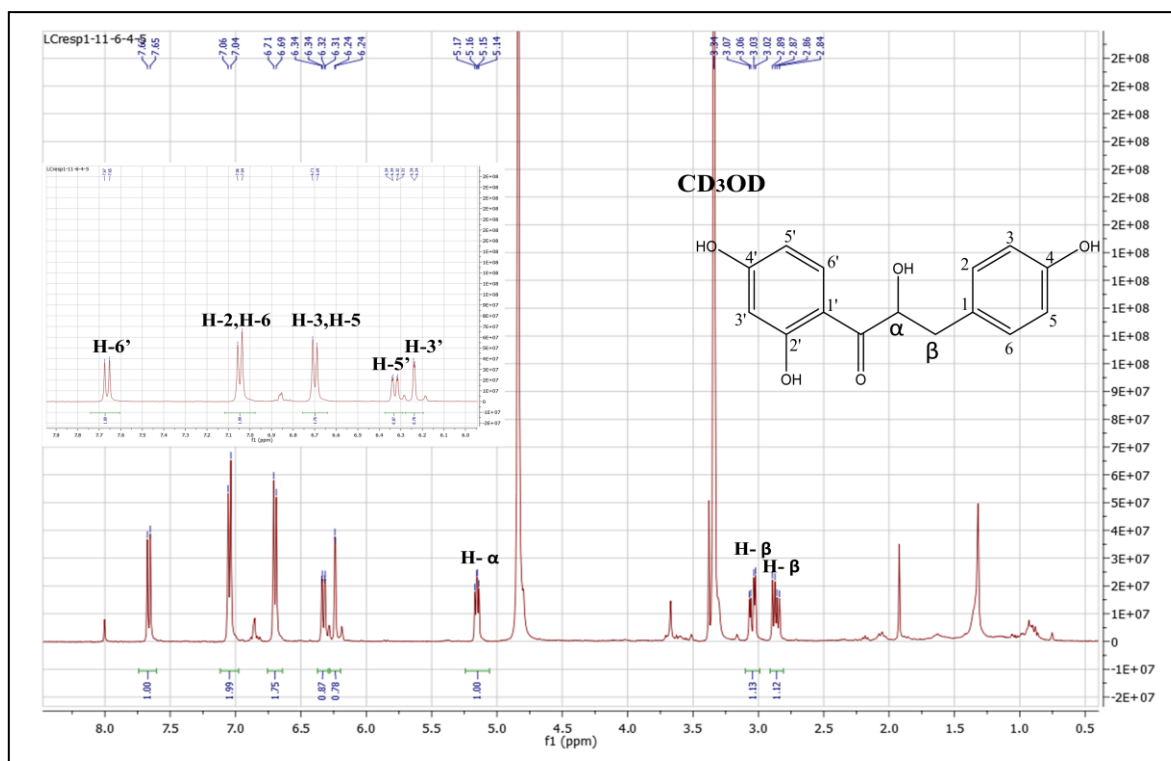
Ces deux signaux orientent vers la présence d'un système AB correspondant à un autre cycle aromatique para-substitué.

- deux signaux d'intégration 1H chacun sous forme d'un doublet de doublet à  $\delta_{\text{H}} = 2,86$  et  $3,04$  ppm ( $J = 13,9 ; 7,5$  Hz) et ( $J = 13,9 ; 4,7$  Hz) respectivement, corrélient sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_{\text{C}} = 41,8$  ppm, ce qui indique qu'ils sont portés par ce même carbone.

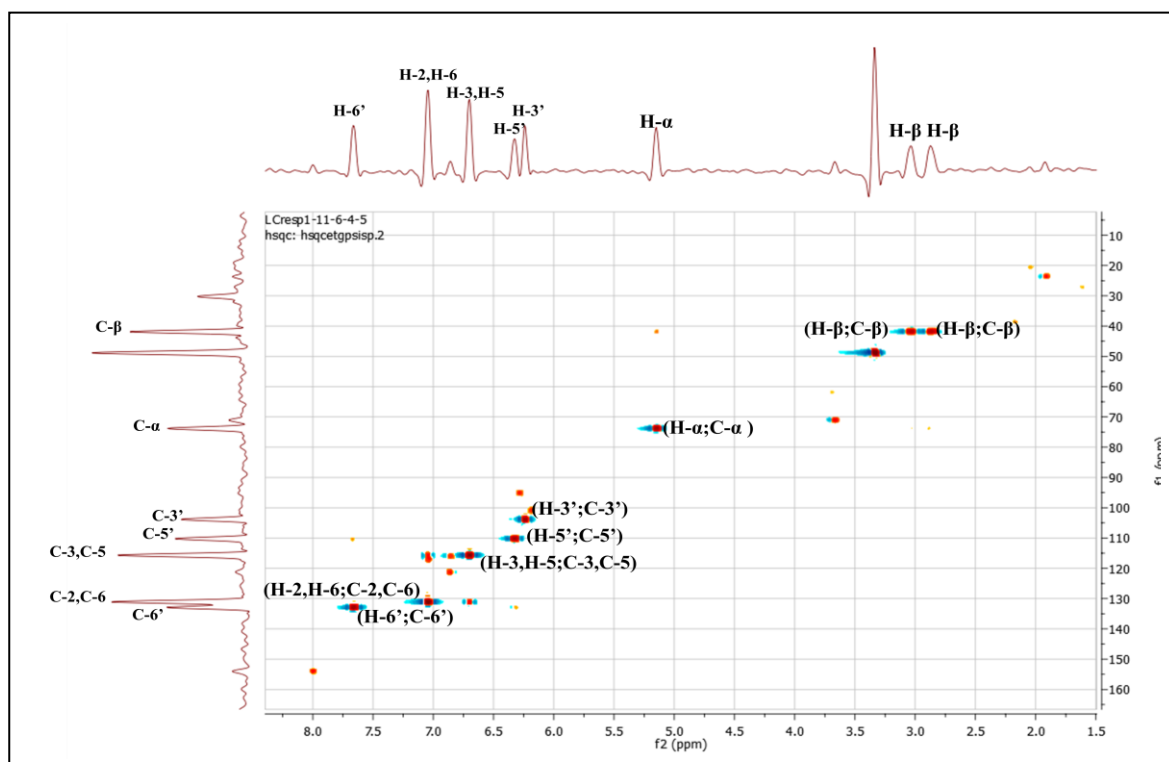


## Chapitre III. Résultats et discussions

- un signal d'intégration 1H sous forme d'un doublet de doublet ( $J = 7,3; 4,9$  Hz) à  $\delta_H = 5,16$  ppm corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_C = 73,7$  ppm. Les valeurs des déplacements chimiques du dernier proton et son carbone indiquent qu'ils sont oxygénés.



Spectre III.46. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) du composé **Rs8**



Spectre III.47. HSQC ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) du composé **Rs8**

## Chapitre III. Résultats et discussions

L'étude du spectre HMBC (spectre III.49) montre :

- des taches de corrélation entre les protons du groupement CH<sub>2</sub> résonant sous forme de doublet de doublet chacun à  $\delta_H = 2,86$  et  $3,04$  ppm et le carbone aromatique relevé à  $\delta_C = 131,0$  ppm porteur des protons résonant à  $\delta_H = 7,05$  ppm.
- une autre tâche de corrélation entre les protons CH<sub>2</sub> ( $\delta_H = 2,86$  et  $3,04$  ppm) et un carbone quaternaire aromatique à  $\delta_C = 129,4$  ppm.

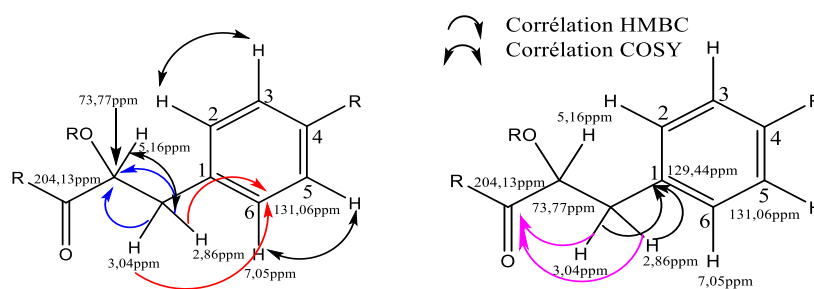
Ces observations permettent de conclure que le noyau aromatique est lié en position para à un groupement CH<sub>2</sub>, ceci est confirmé par la corrélation entre les protons aromatiques résonant sous forme de doublet à  $\delta_H = 7,05$  ppm et le carbone CH<sub>2</sub> résonant à  $\delta_C = 41,8$  ppm porteurs des protons à  $\delta_H = 2,86$  et  $3,04$  ppm.

Nous donnons la numérotation 1 au carbone quaternaire aromatique lié au groupement -CH<sub>2</sub>.

Par ailleurs, les mêmes protons CH<sub>2</sub> corrélient sur le spectre COSY (spectre III.48) avec le proton résonant sous forme de doublet de doublet ( $J = 7,3 ; 4,9$  Hz) à  $\delta_H = 5,16$  ppm, ce qui permet de déduire que le groupement -CH<sub>2</sub> est lié directement au carbone oxygéné -CHOR à  $\delta_C = 73,7$  ppm ( $\delta_H = 5,16$  ppm).

Revenant sur le spectre HMBC, les protons -CH<sub>2</sub> corrélient également avec un carbonyle relevé à  $\delta_C = 204,1$  ppm correspond à une fonction carbonyle, vu le déplacement chimique on peut conclure que c'est une cétone.

Ces observations permettent de proposer la présence dans cette molécule, de l'entité 1, reportée dans la figure III.20.



**Figure III.20.** Corrélations HMBC et COSY de l'entité 1 présente dans le composé **Rs8**

Toujours sur le spectre HMBC (spectre III.50) :

- les protons H-2, H-6 ( $\delta_H = 7,05$  ppm) et H-3, H-5 ( $\delta_H = 6,70$  ppm) corrélient avec un carbone quaternaire oxygéné à  $\delta_C = 157,0$  ppm qui ne peut être que le C-4.
- le proton aromatique à  $\delta_H = 7,66$  ppm corrélie avec le carbonyle à  $\delta_C = 204,1$  ppm ce qui permet de déduire que le deuxième noyau aromatique est relié à l'entité 1 par une liaison.

## Chapitre III. Résultats et discussions

- les trois protons aromatiques à  $\delta_H = 7,66$ ,  $6,33$  et  $6,24$  ppm corrélient avec un carbone à  $\delta_C = 111,1$  ppm qui ne peut être que le carbone quaternaire du noyau aromatique lié à l'entité 1, on le numérote 1'. Les carbones porteurs des protons aromatiques à  $\delta_H = 7,66$  ;  $6,33$  et  $6,24$  ppm précédents seront donc numérotés 6' ; 5' et 3' respectivement, comme le montre la figure III.21.

- le proton H-6' à  $\delta_H = 7,66$  ppm et le proton H-3' à  $\delta_H = 6,24$  ppm corrélient avec deux carbones aromatiques à  $\delta_C = 167,3$  ppm et  $\delta_C = 169,6$  ppm. Vu les déplacements chimiques de ces deux derniers carbones, ils ne peuvent être qu'oxygénés et positionnés en C-2' et C-4' respectivement.

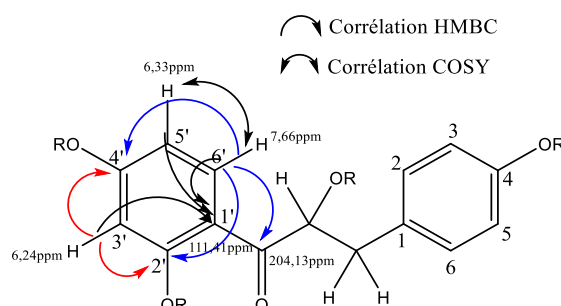
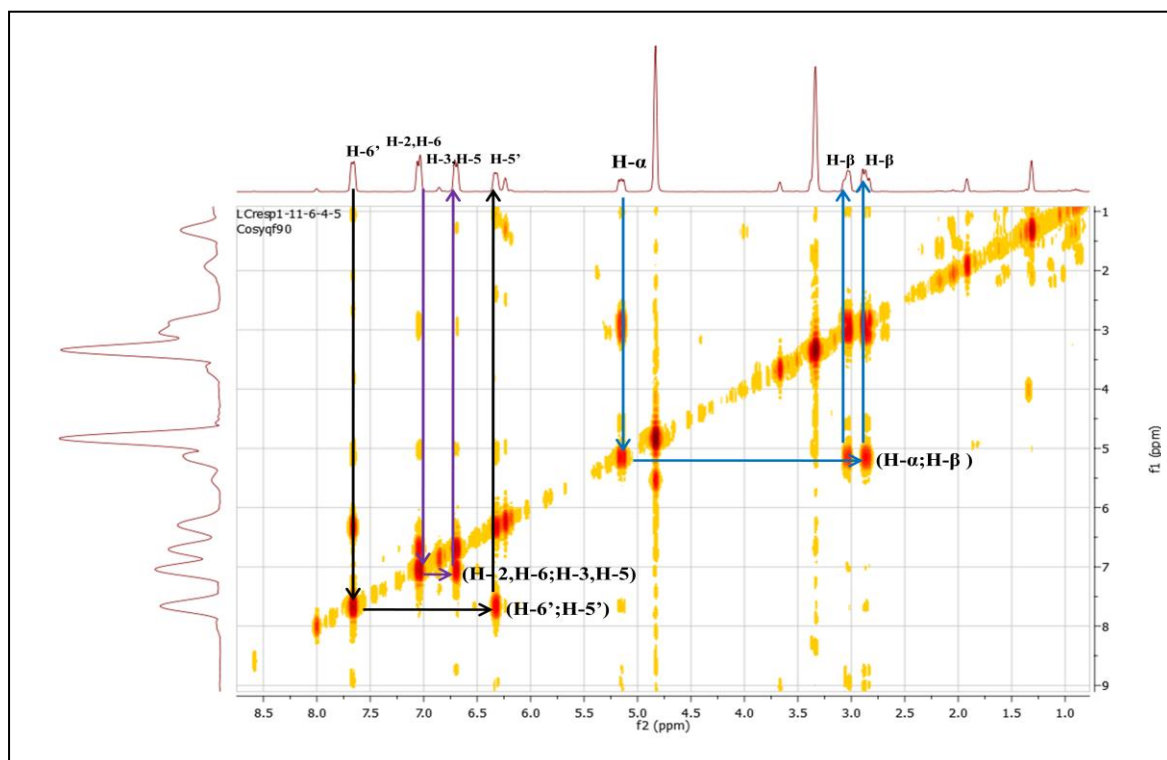
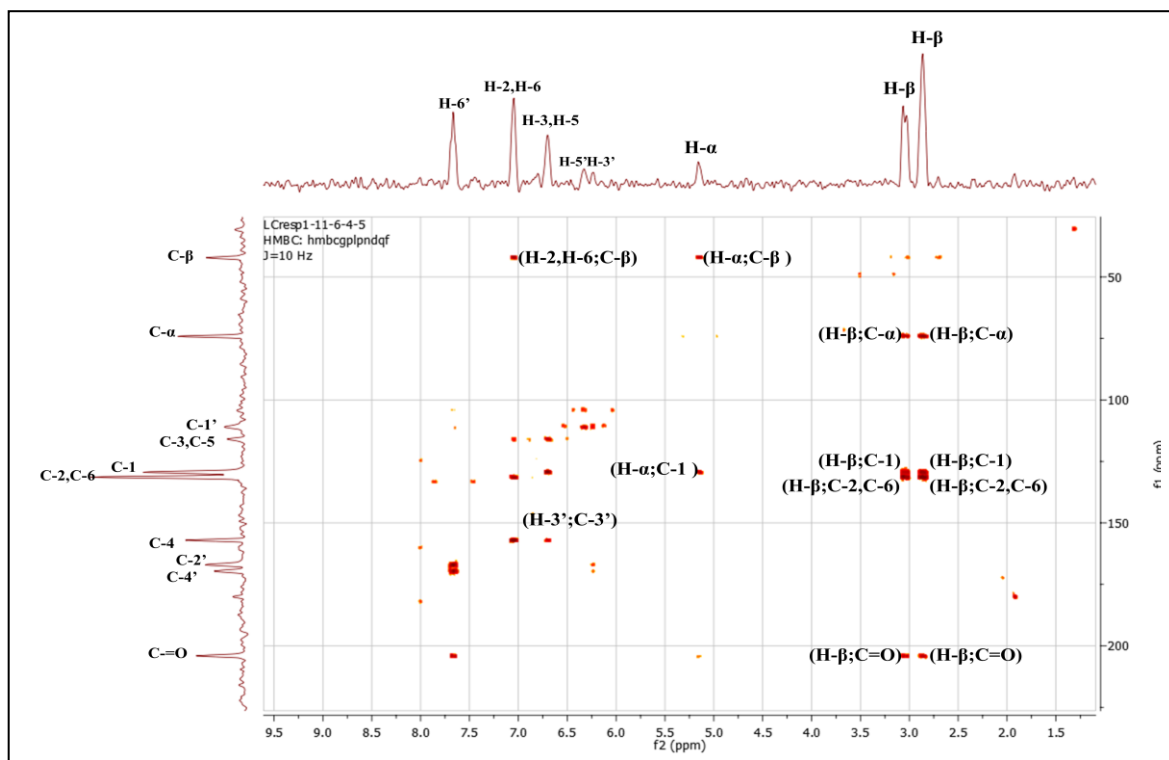


Figure III.21. Corrélations HMBC et COSY de la structure partielle du composé **Rs8**

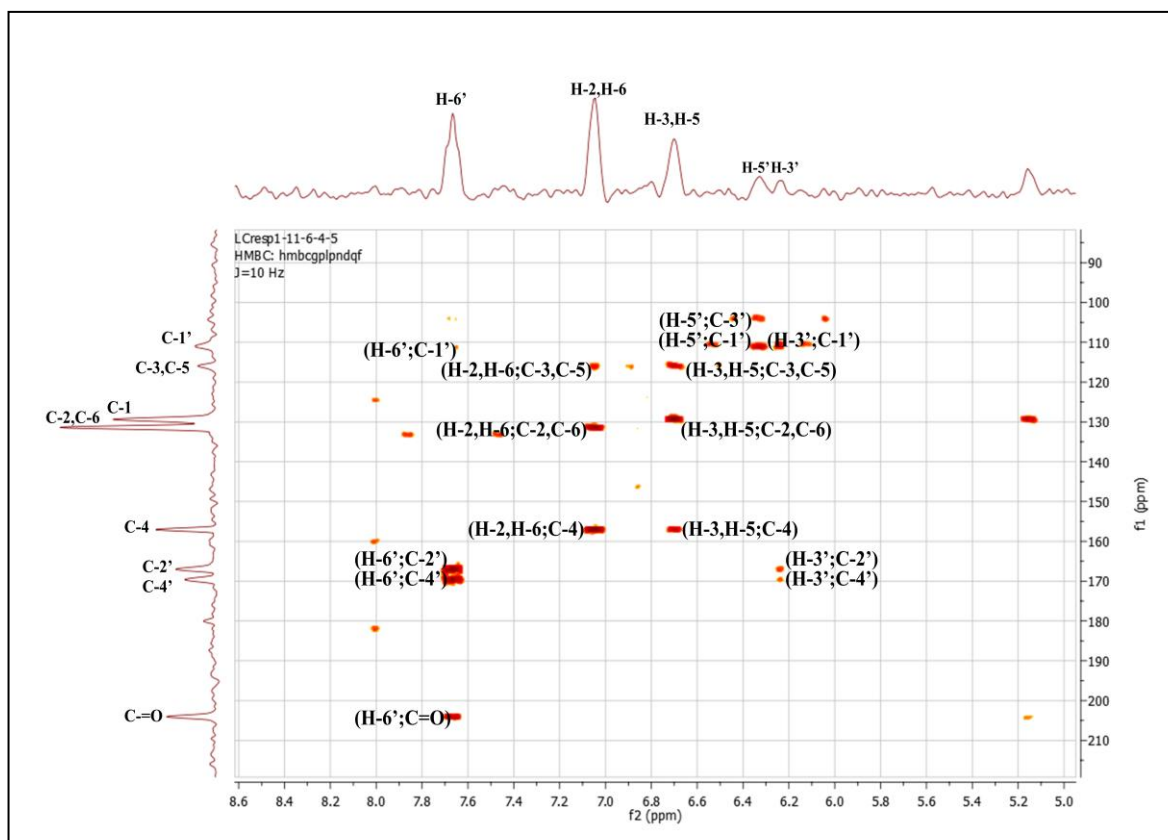


Spectre III.48. COSY (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) du composé **Rs8**

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.49. HMBC (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) du composé **Rs8**



Spectre III.50. Étalement du spectre HMBC (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) du composé **Rs8**

## Chapitre III. Résultats et discussions

Vu l'absence d'autres substituant sur le spectre proton et en calculant la masse exacte du composé **Rs8**, les carbones aromatiques C-4, C-2' et C-4' ainsi que C- $\alpha$  ( $\delta_C = 73,7$  ppm) ne peuvent être que porteurs des groupements hydroxyles comme reporté dans la figure III.22. Il s'agit de  $\alpha,4,2',4'$ -tetrahydroxydihydrochalcone [54] isolé pour la première fois à partir du genre *Retama*. Cette molécule est répertoriée dans la famille Fabaceae et plus précisément isolée des espèces *Zollernia paraensis* [55] et *Maackia amurensis* [54, 56].

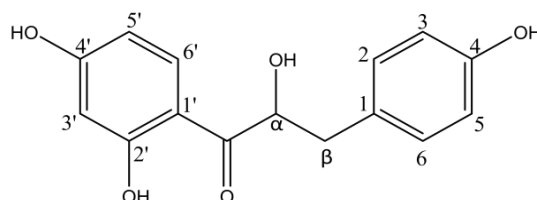


Figure III.22.  $\alpha,4,2',4'$ -tetrahydroxydihydrochalcone

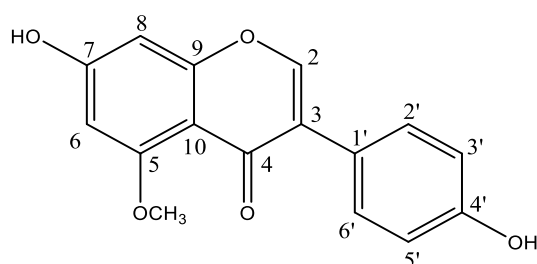
Les données relatives aux spectres de RMN  $^1\text{H}$  et RMN 2D de ce composé sont reportées dans le tableau III.10

Tableau III.10. Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$  ; 400MHz) et la RMN 2D du composé **Rs8**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	-	-	-	129,4
2,6	7,05	2H	d; $J= 8,3$ Hz	131,0
3,5	6,70	2H	d; $J= 8,3$ Hz	115,6
4	-	-	-	157,0
1'	-	-	-	111,1
2'	-	-	-	167,3
3'	6,24	1H	d; $J= 2,1$ Hz	103,8
4'	-	-	-	169,6
5'	6,33	1H	dd; $J= 8,9; 2,1$ Hz	110,1
6'	7,66	1H	d; $J= 8,9$ Hz	132,9
$\alpha$	5,16	1H	dd; $J= 7,3; 4,9$ Hz	73,7
$\beta$	3,04	1H	dd; $J= 13,9; 4,7$ Hz	41,8
	2,86	1H	dd; $J= 13,9; 7,5$ Hz	
-C=O	-	-	-	204,1

## Chapitre III. Résultats et discussions

### III.1.2.4. Élucidation structurale du composé Rs9



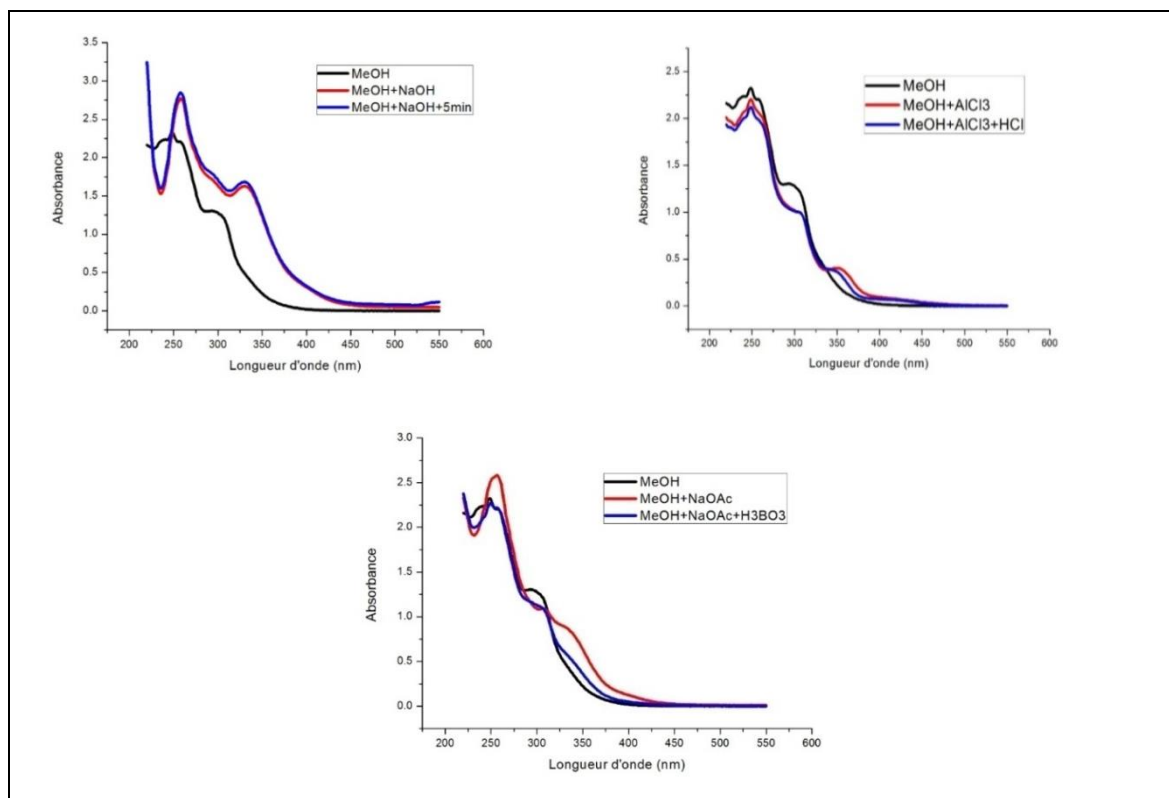
**Figure III.23.** Structure du composé **Rs9**

Le composé **Rs9** se présente sous forme d'une poudre de couleur jaune soluble dans le DMSO.

Le spectre UV enregistré dans le méthanol (spectre III.51) montre deux bandes d'absorption, une bande II à 249 nm et une bande I à 299 nm sous forme d'un épaulement laissant supposer la structure d'une isoflavone.

- l'addition de NaOAc provoque un déplacement bathochrome de la bande II ( $\Delta\lambda=+7\text{nm}$ ) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH indiquant la présence d'un OH libre en position 7.
- La stabilité du spectre enregistré dans le MeOH après addition de  $\text{AlCl}_3$ , montre l'absence de l'effet bathochrome de la bande I et indique l'absence d'un groupement OH en C-5.
- Le spectre enregistré en présence d' $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$  ne montre aucun changement significatif comparativement à celui enregistré dans le MeOH confirmant l'absence d'un OH libre en position C-5.
- la stabilité de la bande I après addition de NaOH avec le temps comparativement à celui enregistré dans le MeOH laisse prévoir l'absence de système ortho dihydroxylé sur le cycle B.

## Chapitre III. Résultats et discussions



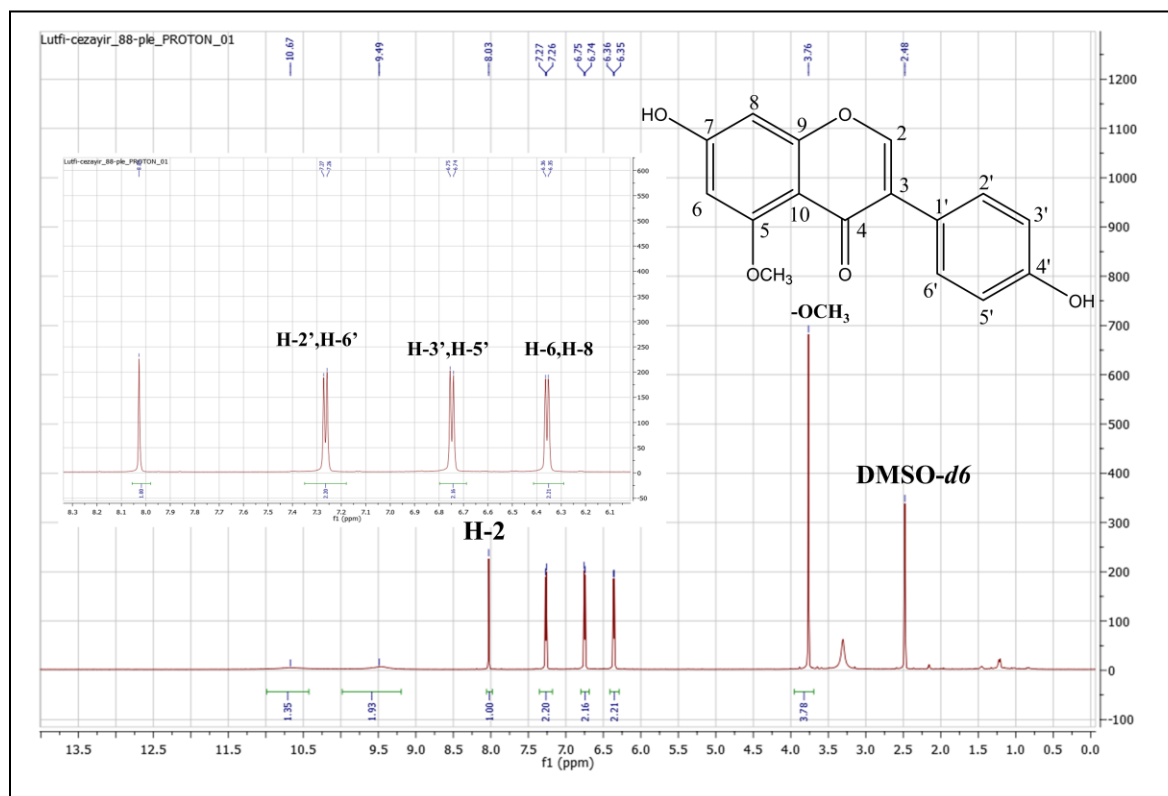
**Spectre III.51.** Série spectrale UV du composé **Rs9**

L'examen du spectre RMN  $^1\text{H}$  (spectre III.52) enregistré dans le  $\text{DMSO-}d_6$  montre la présence d'un ensemble de signaux caractérisant un squelette flavonique de type isoflavone, on peut le reconnaître par le singulet attribuable à H-2 qui résonne à  $\delta_{\text{H}} = 8,02$  ppm.

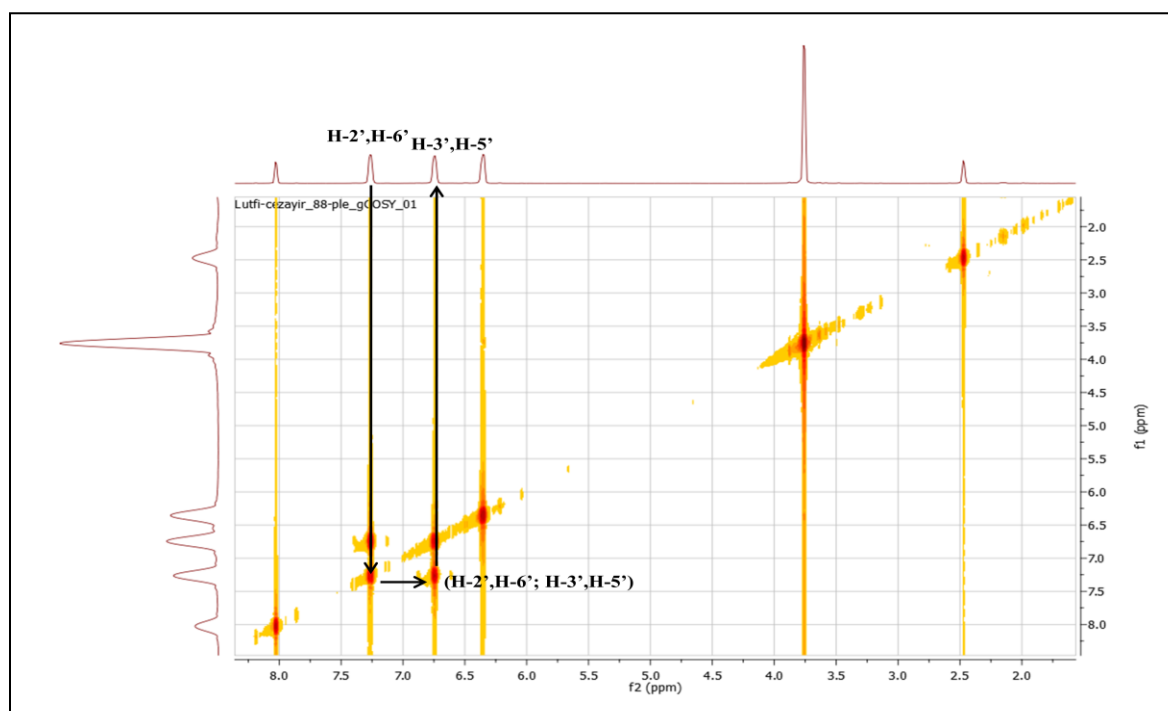
Par ailleurs, ce spectre montre la présence aussi de :

- un système AB caractéristique d'une oxygénation en position 4' sur le noyau B, ainsi deux doublets à  $\delta_{\text{H}} = 7,26$  ppm et à  $\delta_{\text{H}} = 6,74$  ppm ( $J = 8,3\text{Hz}$ ) d'intégration 2H chacun sont attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement. Ceci est confirmé par le spectre COSY (spectre III.53) qui montre une tache de corrélation entre les protons H-2', H-6' et H-3', H-5'.
- deux autres signaux sous forme de singulet large d'intégration 1H chacun à  $\delta_{\text{H}} = 6,35$  et 6,36 ppm attribuables à H-6 et H-8 indiquant ainsi que le noyau A est substitué en position 5 et 7.
- un dernier signal sous forme d'un singulet à  $\delta_{\text{H}} = 3,76$  ppm d'intégration 3H indiquant la présence d'un groupement méthoxyle.

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.52. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 600 MHz) du composé **Rs9**



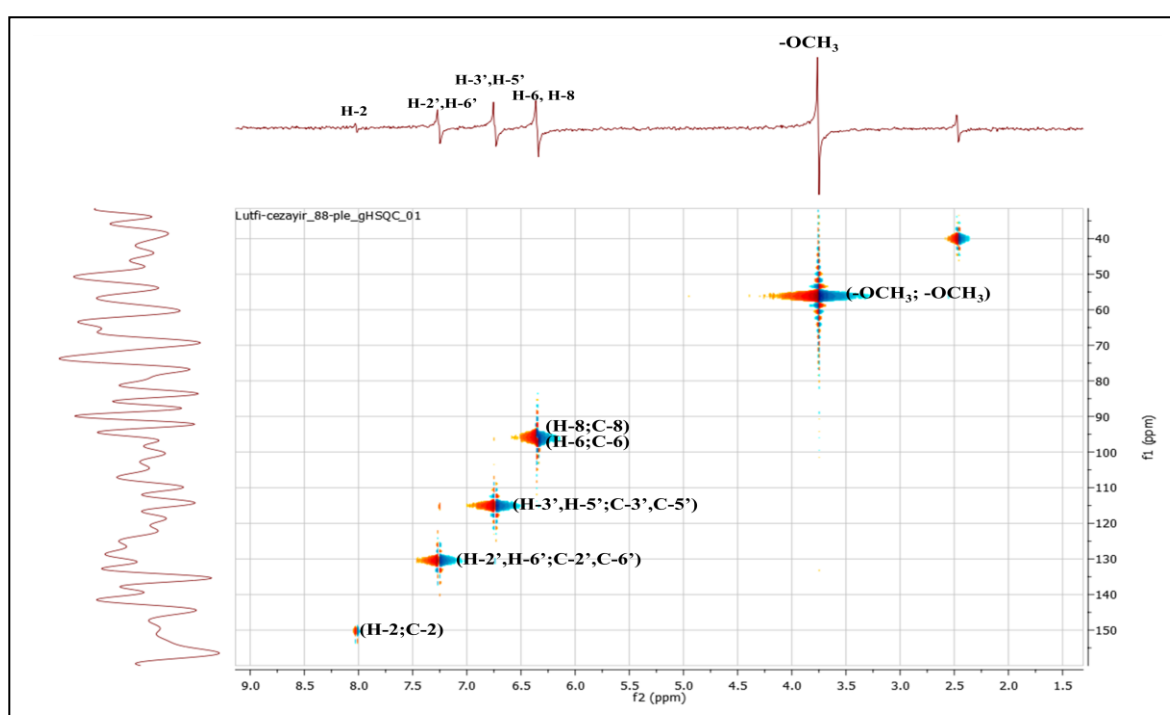
Spectre III.53. COSY ( $\text{DMSO-}d_6$ , 600 MHz) du composé **Rs9**

L'étude du spectre de corrélation HSQC (spectre III.54) permet d'effectuer les attributions suivantes :



### Chapitre III. Résultats et discussions

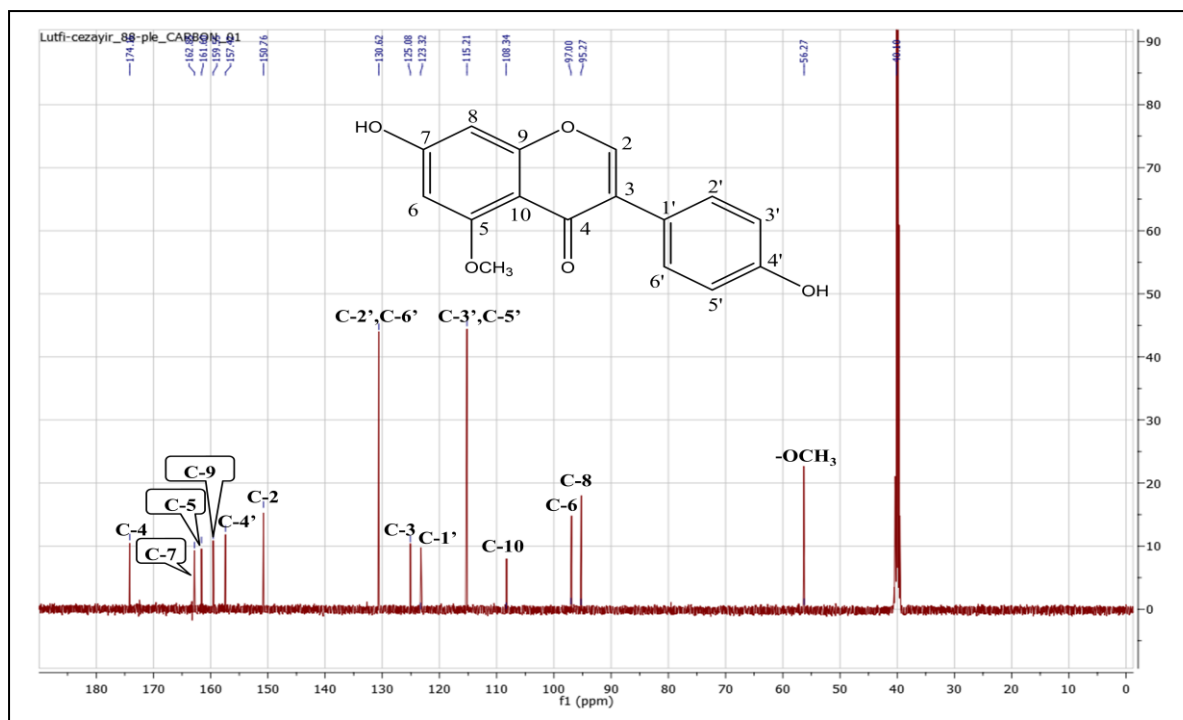
- une tache de corrélation entre H-2 et un atome de carbone qui ne peut être que C-2 à  $\delta_C = 150,7$  ppm.
- une tache de corrélation entre H-2', H-6' et les atomes de carbone C-2' et C-6' permettant ainsi leur localisation à  $\delta_C = 130,6$  ppm. De même, une tache de corrélation entre H-3', H-5' et les atomes de carbone C-3' et C-5' permettant leur localisation à  $\delta_C = 115,2$  ppm. On observe aussi une tache de corrélation entre H-6 et un atome de carbone à  $\delta_C = 97,0$  ppm qui est le C-6 et une tache de corrélation entre H-8 et un atome de carbone à  $\delta_C = 95,2$  ppm qui est le C-8.
- une tache de corrélation entre les protons du méthoxyle et un atome de carbone à  $\delta_C = 56,2$  ppm qui ne peut être que le carbone du méthoxyle.



**Spectre III.54.** HSQC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz) du composé **Rs9**

L'étude du spectre RMN <sup>13</sup>C (spectre III.55) montre la présence de 16 atomes de carbone. Par abstraction des CH indiqué précédemment, il reste 8 carbones quaternaires.

## Chapitre III. Résultats et discussions

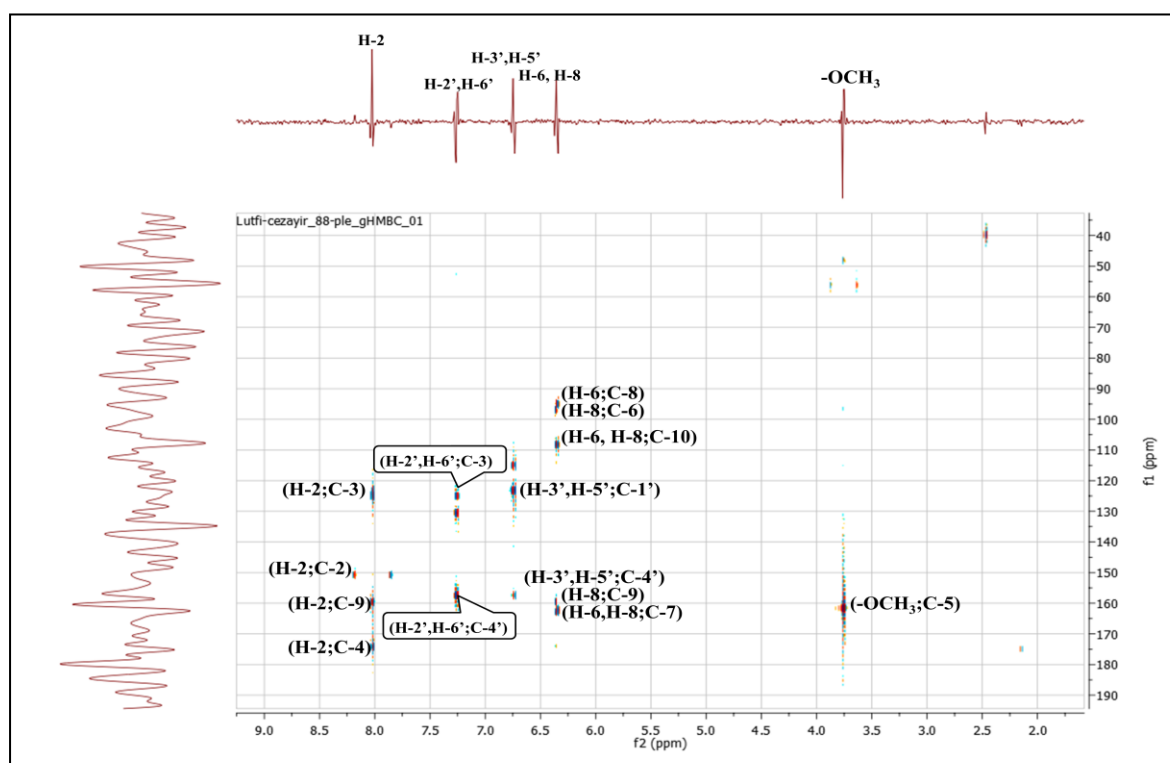


Spectre III.55. RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 150 MHz) du composé **Rs9**

Les attributions des carbones quaternaires restants sont complétées par l'étude du spectre de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC (spectre III.56), sur ce spectre nous avons :

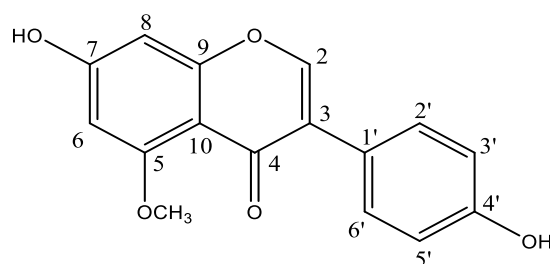
- une tache de corrélation entre le H-2 et les atomes de carbone à  $\delta_{\text{C}} = 123,3$  ppm, et  $\delta_{\text{C}} = 125,0$  ppm et à  $\delta_{\text{C}} = 174,1$  ppm attribuables à C-1', C-3 et C-4 respectivement. Ce même proton montre également une corrélation avec le carbone oxygéné à  $\delta_{\text{C}} = 159,5$  ppm qui ne peut être que le C-9.
- les protons H-3', H-5' et H-2', H-6' mènent à la localisation de C-4' à  $\delta_{\text{C}} = 157,5$  ppm.
- une tache de corrélation entre le H-8 et le carbone oxygéné à  $\delta_{\text{C}} = 159,5$  ppm attribuable à C-9.
- une tache de corrélation entre H-6 et le carbone oxygéné à  $\delta_{\text{C}} = 162,8$  ppm attribuables à C-7. Ce même proton montre également une corrélation avec les carbones à  $\delta_{\text{C}} = 95,2$  ppm et à  $\delta_{\text{C}} = 108,3$  ppm qui ne peuvent être que le C-8 et C-10 respectivement.
- une tache de corrélation entre les protons du méthoxyle et un atome de carbone à  $\delta_{\text{C}} = 161,6$  ppm qui est attribuable à C-5.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.56.** HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz) du composé **Rs9**

Toutes ces données sont en accord avec la littérature et mènent à la structure suivante : **5-O-méthyl génistéine** ou **Isoprunétine** [57]. Cette molécule est isolée de plusieurs espèces de la famille fabaceae [57-58] et pour la première fois du genre *Retama*. Des études antérieures ont montré l'activité oestrogénique [53] et anticancéreuse de ce composé [59].



**Figure III.24.** Isoprunétine

Les données relatives à la série spectrale UV, la RMN <sup>1</sup>H et la RMN <sup>13</sup>C sont regroupées dans les tableaux suivants (tableau III.11 et tableau III.12)

**Tableau III.11.** Données de la série UV du composé **Rs9**

Réactifs	Bande I	Autres bande	Bande II	Commentaires
MeOH	299	/	249	Isovlafone
+NaOH	330	/	258	/
Spectre stable avec NaOH après 5 min				

## Chapitre III. Résultats et discussions

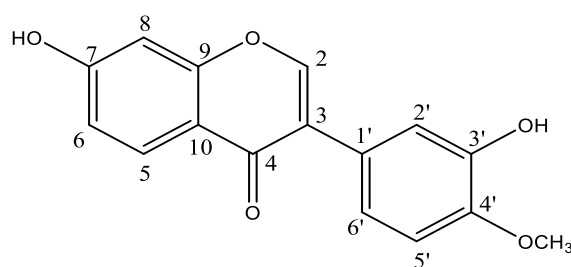
**Tableau III.11.** Données de la série UV du composé **Rs9** (suite)

Réactifs	Bande I	Autres bande	Bande II	Commentaires
+AlCl <sub>3</sub>	347	/	249	Absence OH en 5
+AlCl <sub>3</sub> /HCl	347	/	249	
+NaOAc	301	307	256	OH libre en 7
+NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	301	/	250	

**Tableau III.12.** RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>; 600 MHz) et RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>; 150MHz) du composé **Rs9**

Position	δ <sub>H</sub> (ppm)	Intégration	Multiplicité; <i>J</i> (Hz)	δ <sub>C</sub> (ppm)
2	8,02	1H	s	150,7
3	-	1H	s	125,0
4	-	-	-	174,1
5	-	-	-	161,6
6	6,35	2H	d; <i>J</i> = 2,2 Hz	97,0
7	-	-	-	162,8
8	6,35	2H	d; <i>J</i> = 2,2 Hz	95,2
9	-	-	-	159,5
10	-	-	-	108,3
1'	-	-	-	123,3
2',6'	7,26	2H	d; <i>J</i> = 8,8 Hz	130,6
3',5'	6,74	2H	d; <i>J</i> = 8,8 Hz	115,2
4'	-	-	-	157,5
-OCH <sub>3</sub>	3,76	3H	s	56,2

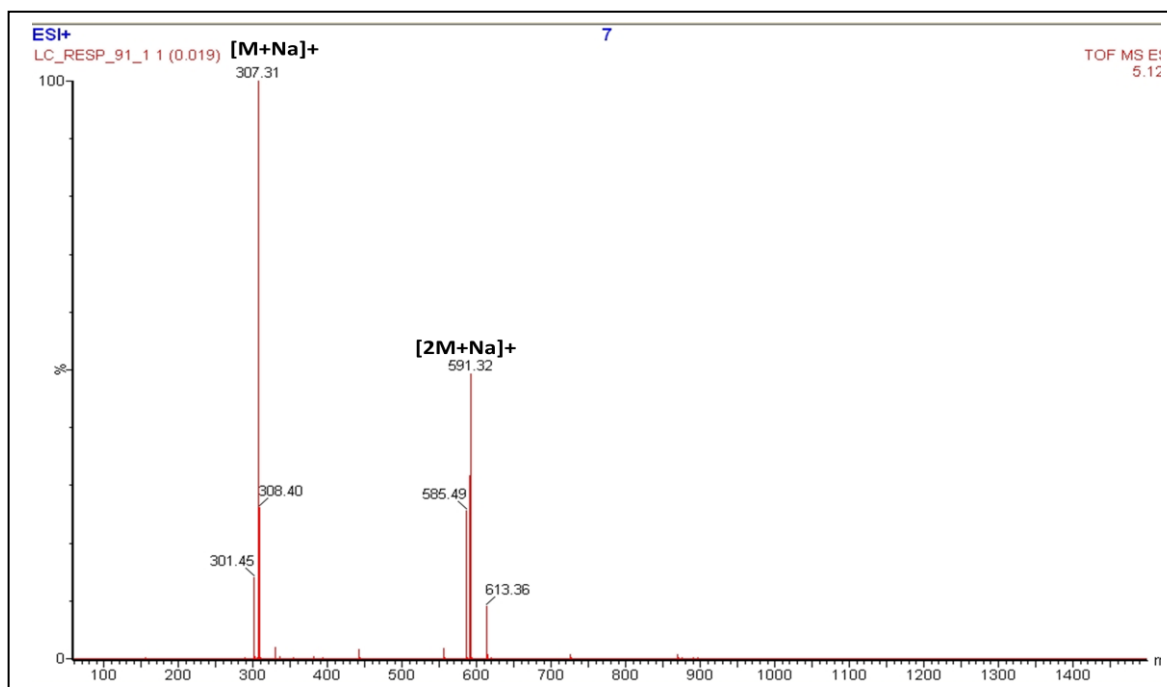
### III.1.2.5. Élucidation structurale du composé **Rs10**



**Figure.25.** Structure du composé **Rs10**

Le composé **Rs10** se présente sous forme des aiguilles de couleur blanche, soluble dans le DMSO. Le spectre de masse ESI enregistré en mode positif (spectre III.57) présente respectivement des pics d'ions pseudo-moléculaires à  $m/z = 307,31$  Da  $[M+Na]^+$ ,  $m/z = 591,32$  Da  $[2M+Na]^+$  correspondant à une masse moléculaire 284 Da.

## Chapitre III. Résultats et discussions

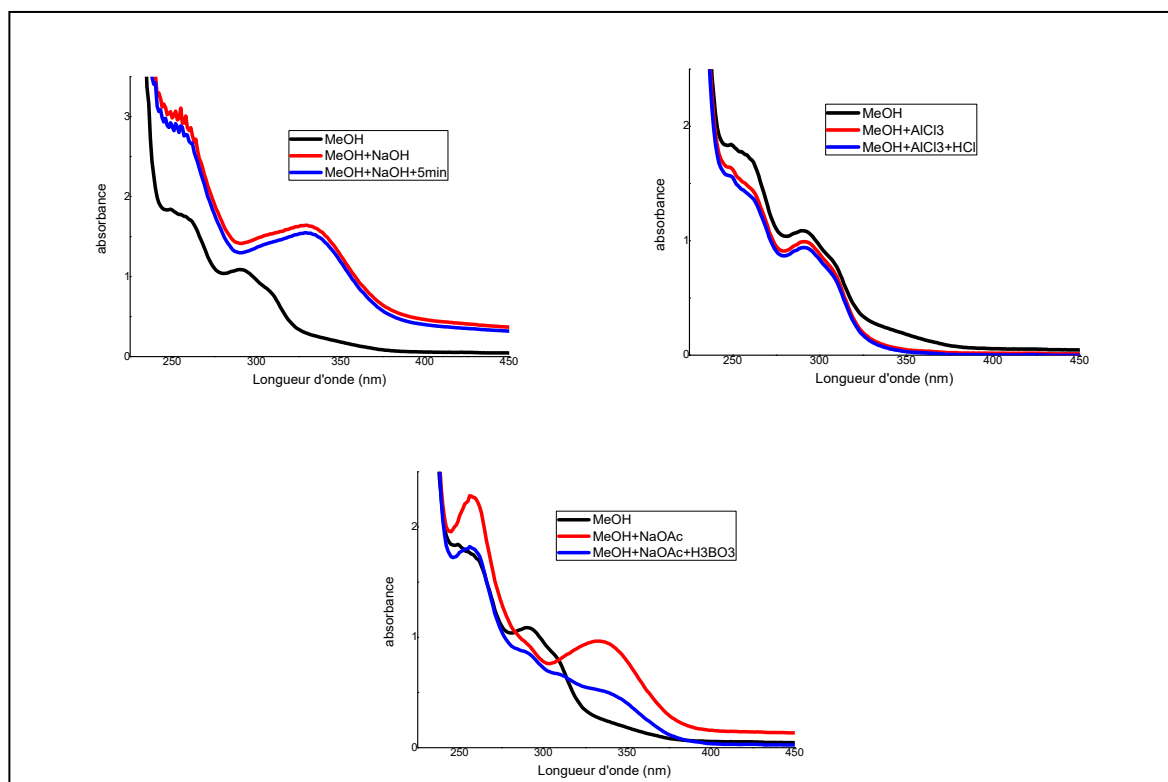


**Spectre III.57.** TOF/MS en mode positif du composé **Rs10**

Les données de la série spectrale UV (tableau III.13, spectre III.58) montrent :

- une bande I sous forme d'un épaulement à environ 306 nm et la bande II à 249 nm ainsi que la fluorescence orange sous lumière de Wood indiquent le squelette de type isoflavone.
- le déplacement bathochrome de la bande II après addition de NaOAc ( $\Delta\lambda = +9$  nm) comparativement au spectre enregistré dans le méthanol indique la présence d'un OH libre en position 7.
- l'absence du déplacement bathochrome de la bande II enregistré après addition de  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$  comparativement à celui enregistré dans le méthanol confirme l'absence d'un OH libre en position 5.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.58.** Série spectrale UV du composé **Rs10**

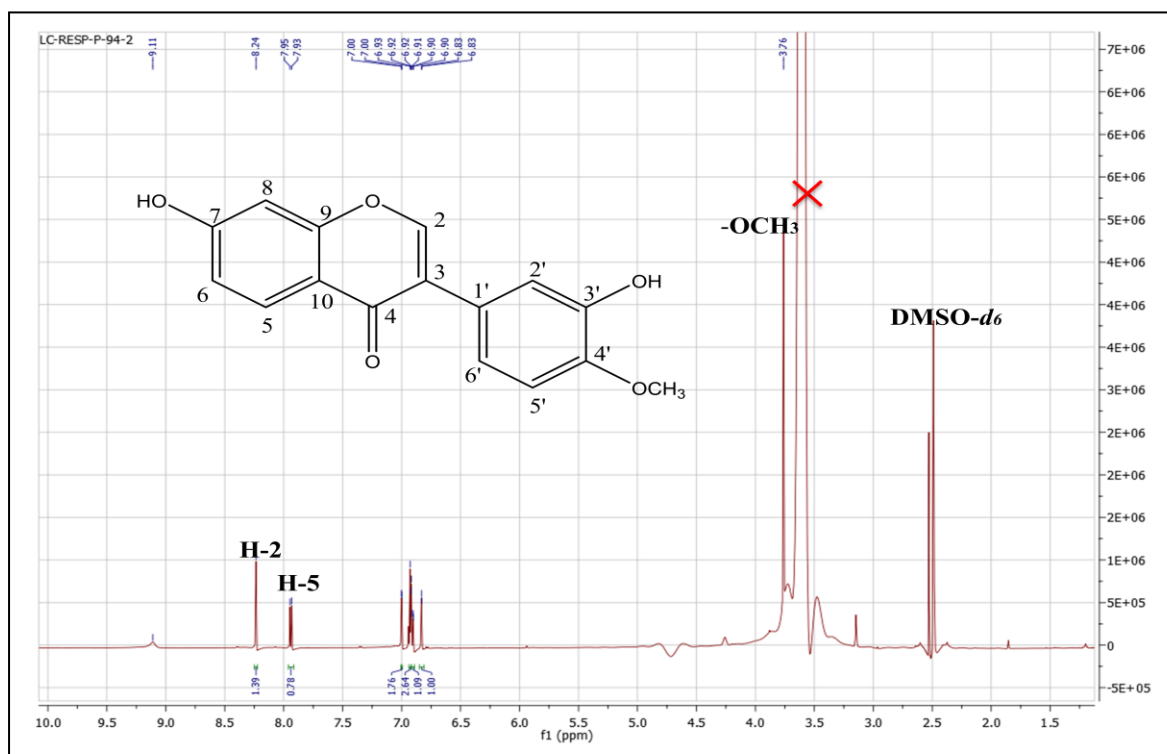
L'examen du spectre RMN  $^1\text{H}$  (spectre III.59) et son étalement (spectre III.60) enregistré dans le  $\text{DMSO}-d_6$  montre :

- un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 8,23$  ppm attribuable à H-2 indiquant ainsi la structure d'une isoflavone.
- un doublet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 6,99$  ppm ( $J = 2,0$  Hz), indicateur d'un couplage méta attribuable à H-2'.
- un doublet de doublet ( $J = 8,7 ; 2,0$  Hz) qui se trouve chevauché avec un autre signal est indicateur d'un couplage méta et ortho à  $\delta_{\text{H}} = 6,90$  ppm attribuable à H-6'.
- un signal d'intégration 2H résonant à  $\delta_{\text{H}} = 6,93$  ppm sous forme d'un doublet large ( $J = 7,2$  Hz) attribuable aux deux protons:
  - H-6 qui révèle un couplage ortho avec le proton H-5 et un couplage méta non observé avec le H-8.
  - H-5' confirmant le couplage ortho avec le H-6'.
- un doublet d'intégration 1H ( $J = 2,2$  Hz) indicateur d'un couplage méta à  $\delta_{\text{H}} = 6,82$  ppm attribuable à H-8.
- un doublet d'intégration 1H ( $J = 7,2$  Hz) indicateur d'un couplage ortho à  $\delta_{\text{H}} = 7,93$  ppm attribuable à H-5.

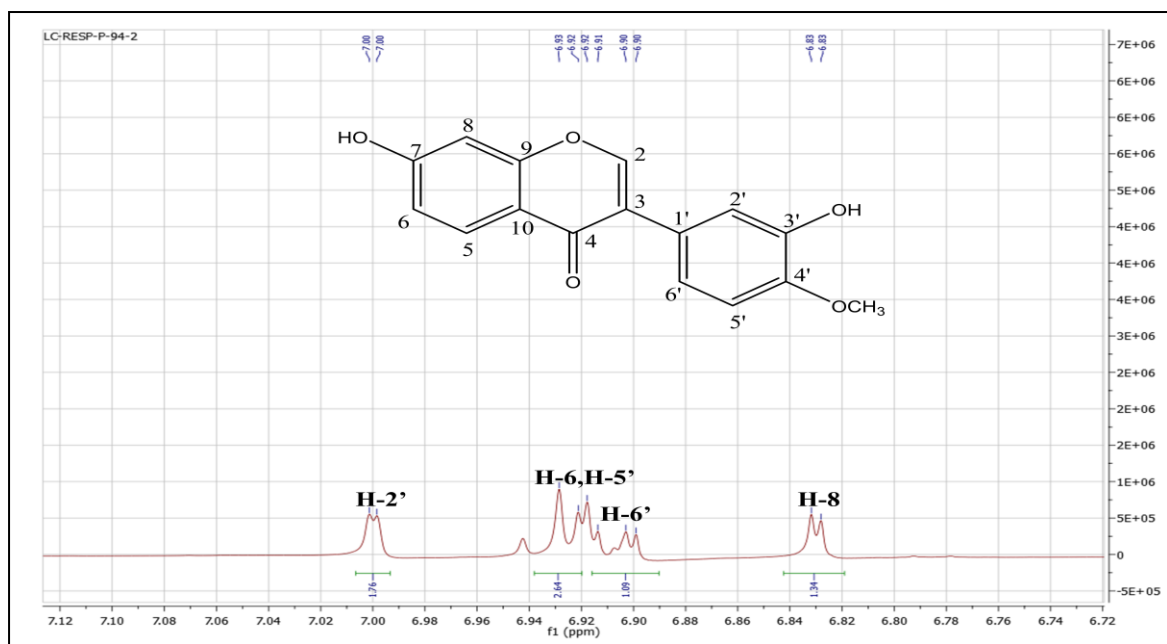
## Chapitre III. Résultats et discussions

La présence des trois signaux attribuables aux H-2', H-5' et H-6' est en faveur d'un cycle B substitué en position 3' et 4'.

- un dernier signal sous forme d'un singulet à  $\delta_H = 3,76$  ppm d'intégration 3H indiquant la présence d'un groupement méthoxyle.



Spectre III.59. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 600 MHz) du composé Rs10

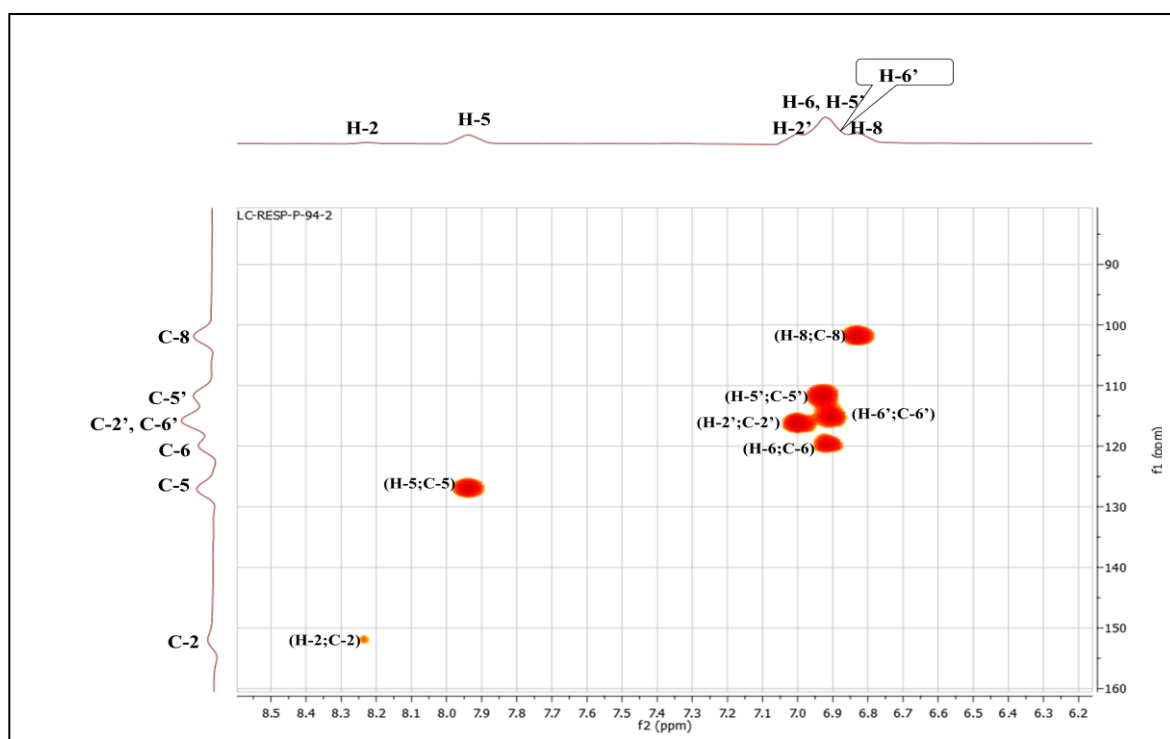


Spectre III.60. Étalement du spectre RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 600 MHz) du composé Rs10

## Chapitre III. Résultats et discussions

L'examen du spectre de l'expérience HSQC (spectre III.61) permet de relier tous les protons du squelette isoflavonique à leurs carbones grâce aux taches de corrélation suivantes :

- le H-2 avec son carbone C-2 à  $\delta_C = 151,9$  ppm
- le H-6 avec son carbone C-6 à  $\delta_C = 115,3$  ppm.
- le H-8 avec son carbone C-8 à  $\delta_C = 101,8$  ppm.
- le H-2' avec son carbone C-2' à  $\delta_C = 116,2$  ppm.
- le H-6' avec son carbone C-6' à  $\delta_C = 119,7$  ppm
- le H-5' avec son carbone C-5' à  $\delta_C = 111,6$  ppm.
- le H-5 avec son carbone C-5 à  $\delta_C = 127,0$  ppm.
- le groupement methoxyyle avec son carbone  $-OCH_3$  à  $\delta_C = 55,4$  ppm.



Spectre III.61. HSQC (DMSO- $d_6$ , 600 MHz) du composé **Rs10**

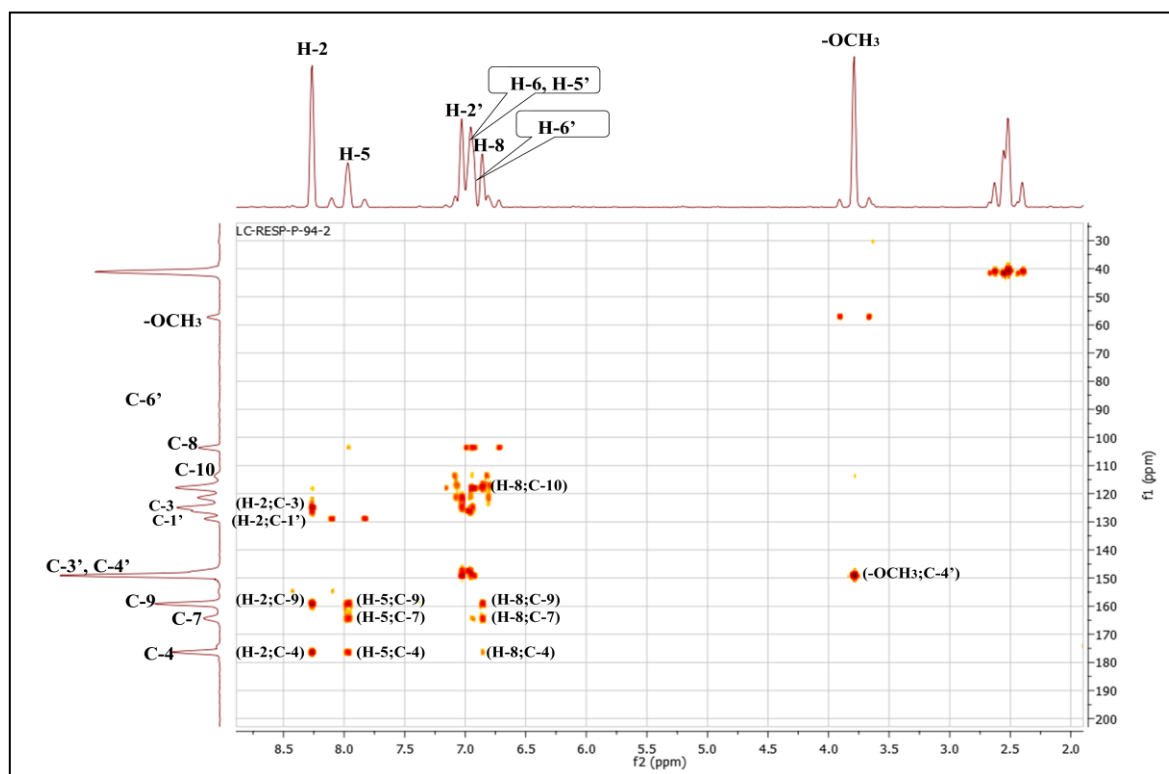
L'analyse du spectre HMBC et son étalement (spectre III.62 et III.63) permet d'attribuer les carbones quaternaires à leurs déplacements chimiques et de positionner le groupement méthoxyyle à l'aide des corrélations carbone-proton :

- le proton H-2 présente des taches de corrélation avec : le carbone à  $\delta_C = 124,9$  ppm attribuable à C-3, le carbone à  $\delta_C = 126,3$  ppm attribuable à C-1', le carbone oxygéné à  $\delta_C = 159,1$  ppm qui ne peut être que le C-9 et avec un carbonyle à  $\delta_C = 176,3$  ppm qui est le C-4.



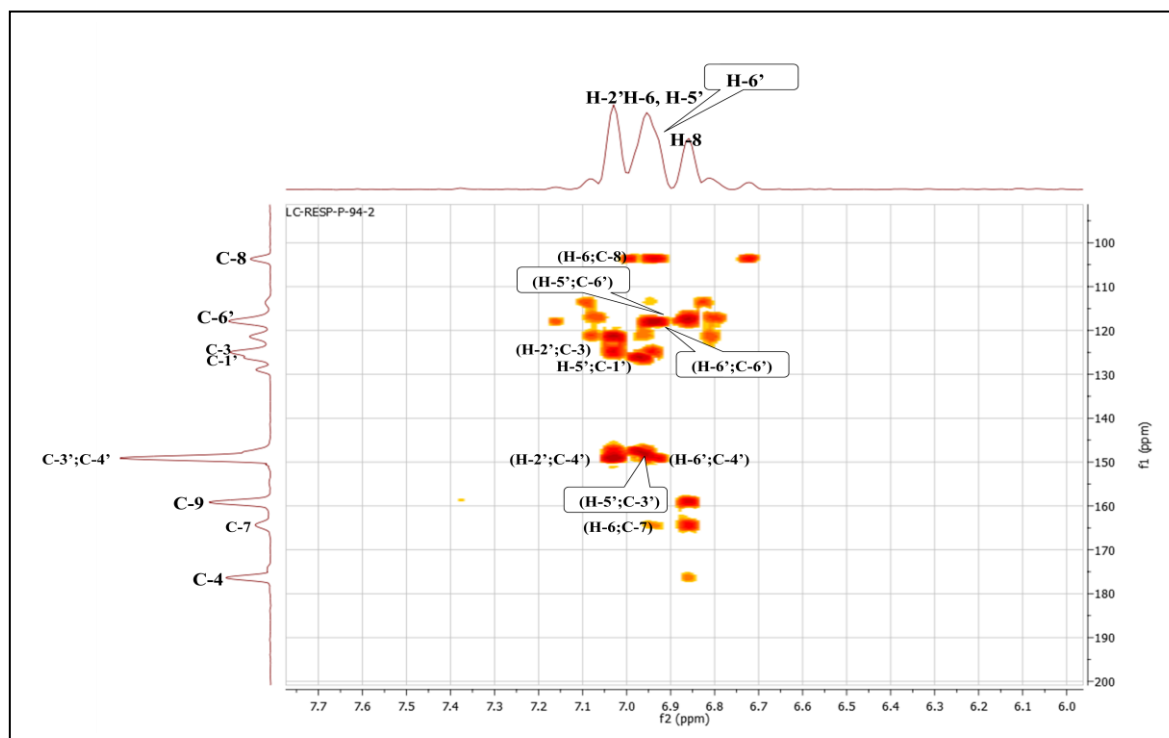
## Chapitre III. Résultats et discussions

- le proton H-6' montre une tache de corrélation avec le carbone  $\delta_C = 149,1$  ppm qui ne peut être attribué qu'au C-4' et cela permet de relier le groupement méthoxyle à ce carbone C-4' grâce à la corrélation de ce dernier avec les protons du groupement méthoxyle  $-OCH_3$ .
- le proton H-5' montre des taches de corrélation avec le C-6', C-1' et avec le carbone à  $\delta_C = 147,7$  ppm attribuable au proton C-3' qui pourrait être hydroxylé.
- le proton H-2' présente deux taches de corrélation avec le C-3 et le C-4'
- le proton H-5 corréle avec le carbone C-9 à  $\delta_C = 159,1$  ppm et un carbone oxygéné à  $\delta_C = 164,2$  ppm attribué à C-7. Ce proton H-5 présente une autre tâche de corrélation avec  $^4J$  avec le carbone C-4 à  $\delta_C = 176,3$  ppm.
- le proton H-6 présente deux taches de corrélation avec le C-7 et le C-8.
- le proton H-8 présente des taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 117,5$  ppm qui ne peut être que le C-10, et avec les carbones attribués aux C-9, C-7 et C-4.



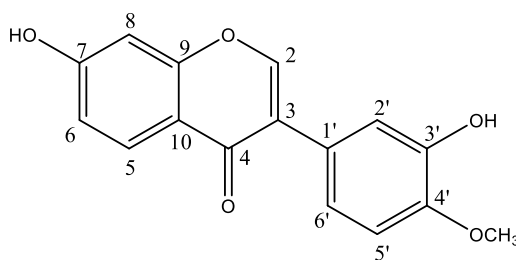
Spectre III.62. HMBC (DMSO- $d_6$ , 600 MHz) du composé **Rs10**

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.63.** Étatement du spectre HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz) du composé **Rs10**

L'ensemble de ces données, nous conduit à la structure de la **3',7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone (3'-hydroxyformononetine)** connue par le nom **Calycosine**. Cette identification est confirmée par comparaison des données spectrales avec celle publiées dans la littérature [60]. La molécule calycosine a été déjà identifiée une fois dans notre plante [61]. Elle possède des activités biologiques intéressantes telles que l'activité anticancéreuse [62], antioxydante, anti-ostéoporotique, immunomodulatrice [63], anti-inflammatoire [64] et elle a une action neuroprotectrice [65].



**Figure III.26.** Calycosine

Les données relatives aux spectres de la série UV et de la RMN <sup>1</sup>H de ce composé sont reportées dans les tableaux III.13 et III.14

## Chapitre III. Résultats et discussions

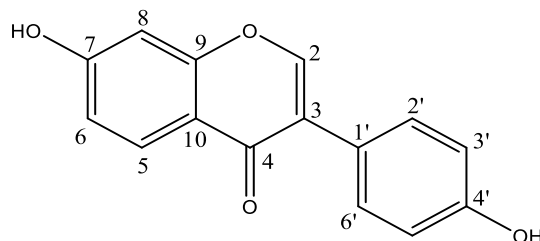
**Tableau III.13.** Données de la série UV du composé **Rs10**

Réactifs	Bande I	Autres bandes	Bande II	Commentaires
MeOH	306Ep	/	249	Isovlafone
+NaOH	331Ep	/	255	/
Spectre stable avec NaOH après 5 min				
+AlCl <sub>3</sub>	306Ep	/	249	Absence OH en 5
+AlCl <sub>3</sub> /HCl	306Ep	/	249	
+NaOAc	334Ep	/	258	OH libre en 7
+NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	334Ep	290	258	/

**Tableau III.14.** RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>; 400MHz) et RMN 2D du composé **Rs10**

Position	δ <sub>H</sub> (ppm)	Intégration	Multiplicité; <i>J</i> (Hz)	δ <sub>C</sub> (ppm)
2	8,23	1H	s	151,9
3	-	1H	s	124,9
4	-	-	-	176,3
5	7,93	1H	d; <i>J</i> = 7,2 Hz	127,0
6	6,93	1H	d; <i>J</i> = 7,2 Hz	115,3
7	-	-	-	164,2
8	6,82	1H	d; <i>J</i> = 2,2 Hz	101,8
9	-	-	-	159,1
10	-	-	-	117,5
1'	-	-	-	126,3
2'	6,99	1H	d; <i>J</i> = 2,0 Hz	116,2
3'	-	-	-	147,7
4'	-	-	-	149,1
5'	6,93	1H	d; <i>J</i> = 7,2 Hz	111,6
6'	6,90	1H	dd; <i>J</i> = 7,2; 2,0 Hz	119,7
-OCH <sub>3</sub>	3,76	3H	s	55,4

### III.1.2.6. Éluclidation structurale du composé **Rs11**

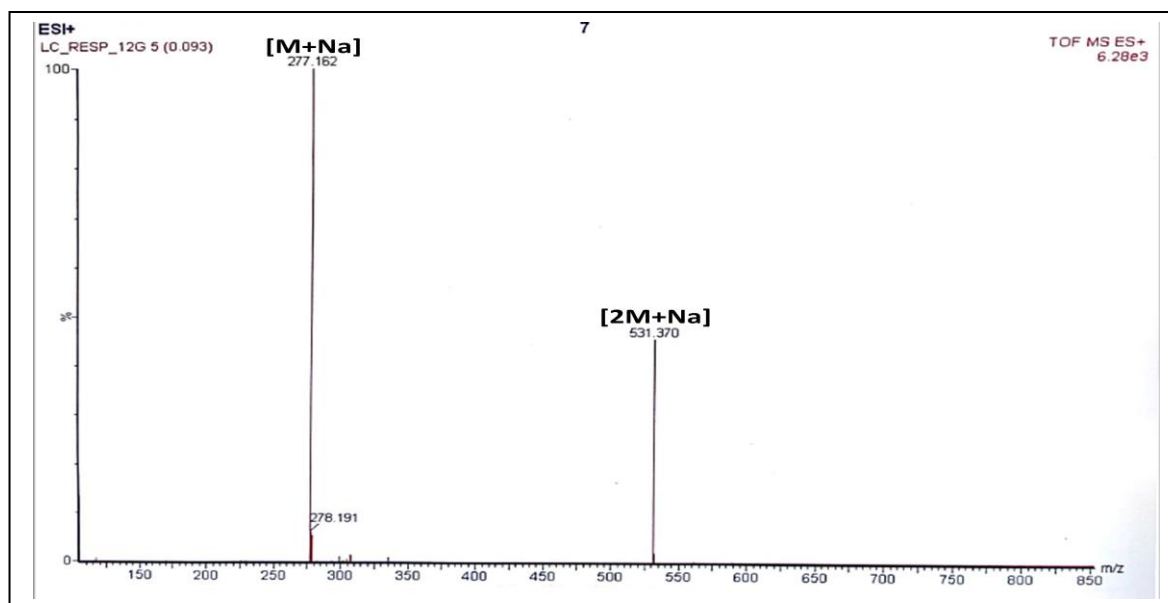


**Figure III.27.** Structure du composé **Rs11**

Le composé **Rs11** se présente sous forme d'une poudre blanche, soluble dans le DMSO.

## Chapitre III. Résultats et discussions

Le spectre de masse réalisé en mode électrospray positif TOF-MS-ESI(+) de ce composé (spectre III.64) présente respectivement des pics quasi moléculaire à  $m/z= 277,162$  Da  $[M+Na]^+$  et  $m/z= 531,370$  Da  $[2M+Na]^+$  orientant vers une masse moléculaire égale à 254Da.

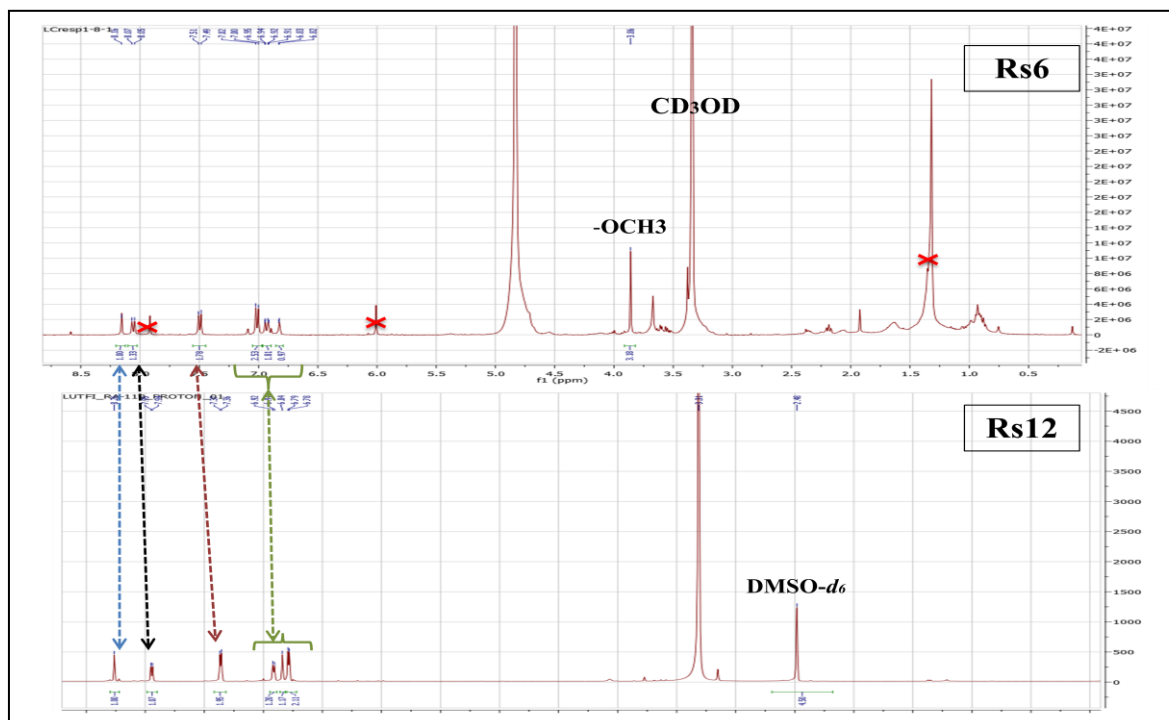


**Spectre III.64.** TOF/MS en mode positif du composé **Rs11**

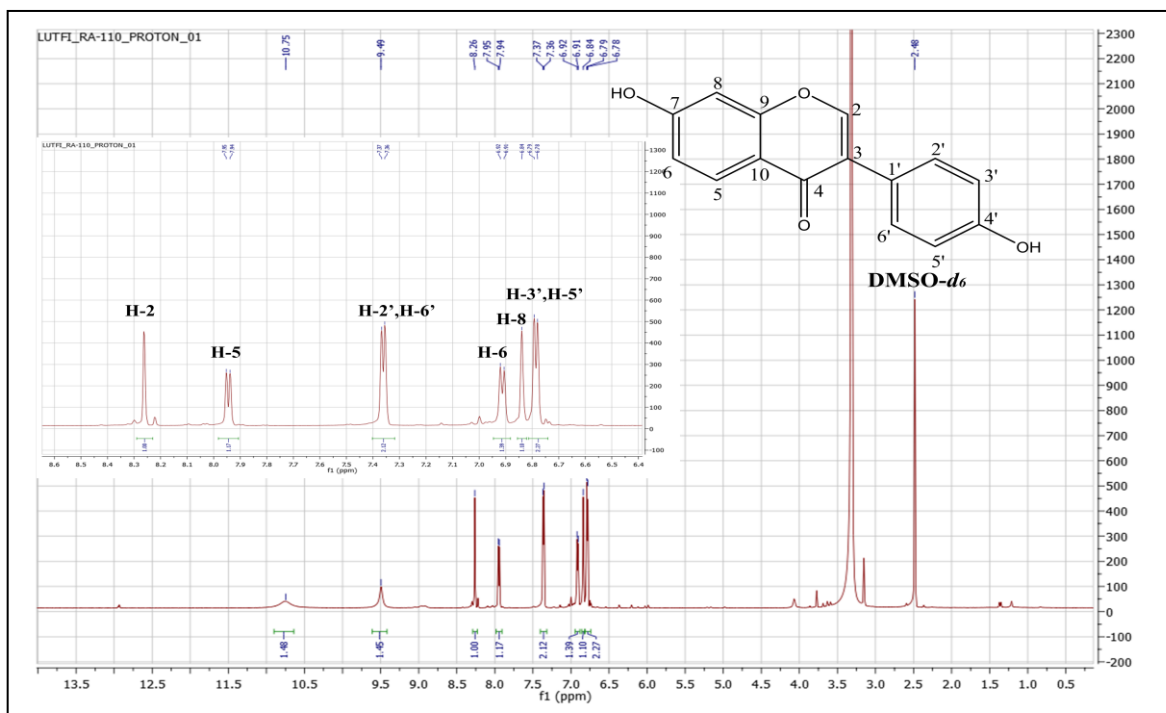
Le spectre RMN  $^1H$  (spectre III.66) montre une forte similitude avec le spectre proton du composé **Rs6 (Formononétine)**, la seule différence est l'absence du groupement méthoxy (spectre III.65). On trouve:

- un singulet d'intégration 1H à  $\delta_H= 8,26$  ppm attribuable à H-2, caractérisant la structure d'une isoflavone.
- deux doublets d'intégration 2H chacun, à  $\delta_H= 7,35$  ppm et à  $\delta_H= 6,78$  ppm, ( $J=7,5$  Hz), attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement indiquant ainsi une substitution du cycle B en position 4'.
- un doublet d'intégration 1H ( $J= 8,2$  Hz) indicateur d'un couplage ortho à  $\delta_H=7,94$  ppm attribuable à H-5.
- un doublet large d'intégration 1H ( $J= 8,2$  ppm) indicateur d'un couplage ortho à  $\delta_H= 6,91$  ppm attribuable à H-6.
- un singulet large d'intégration 1H à  $\delta_H=6,84$  ppm attribuable à H-8.

## Chapitre III. Résultats et discussions



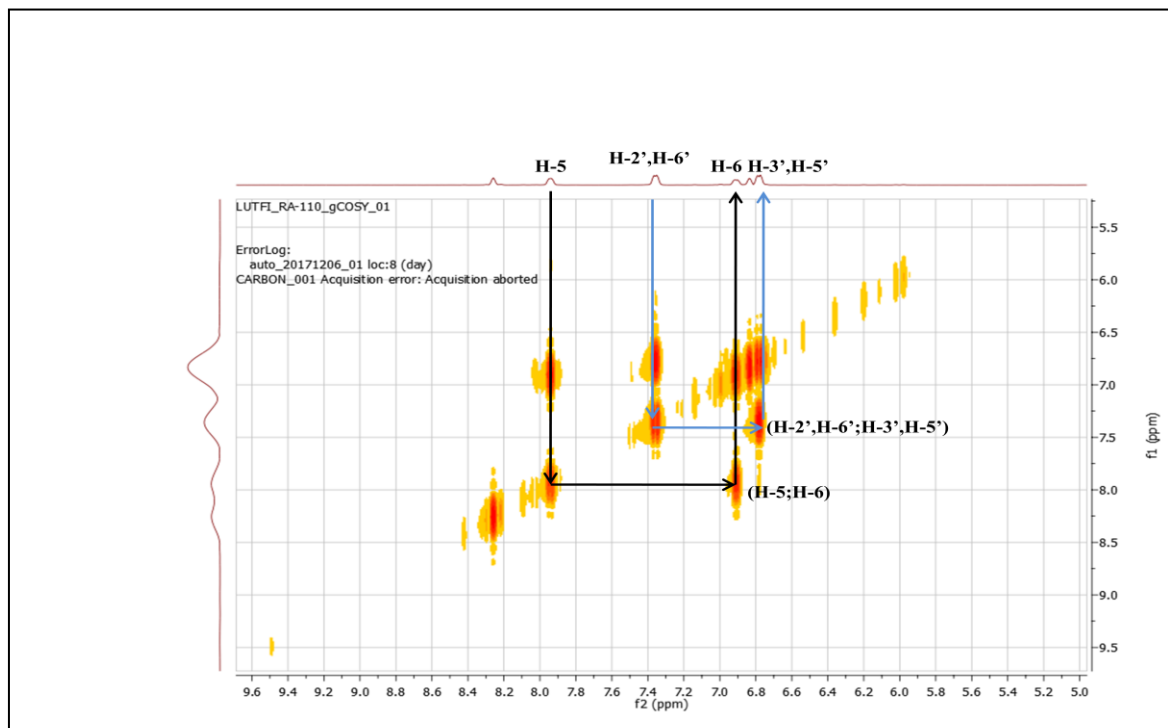
**Spectre III.65.** RMN  $^1\text{H}$  du composé **Rs11** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 600MHz) et composé **Rs6** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400MHz)



**Spectre III.66.** RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 600MHz) du composé **Rs11**

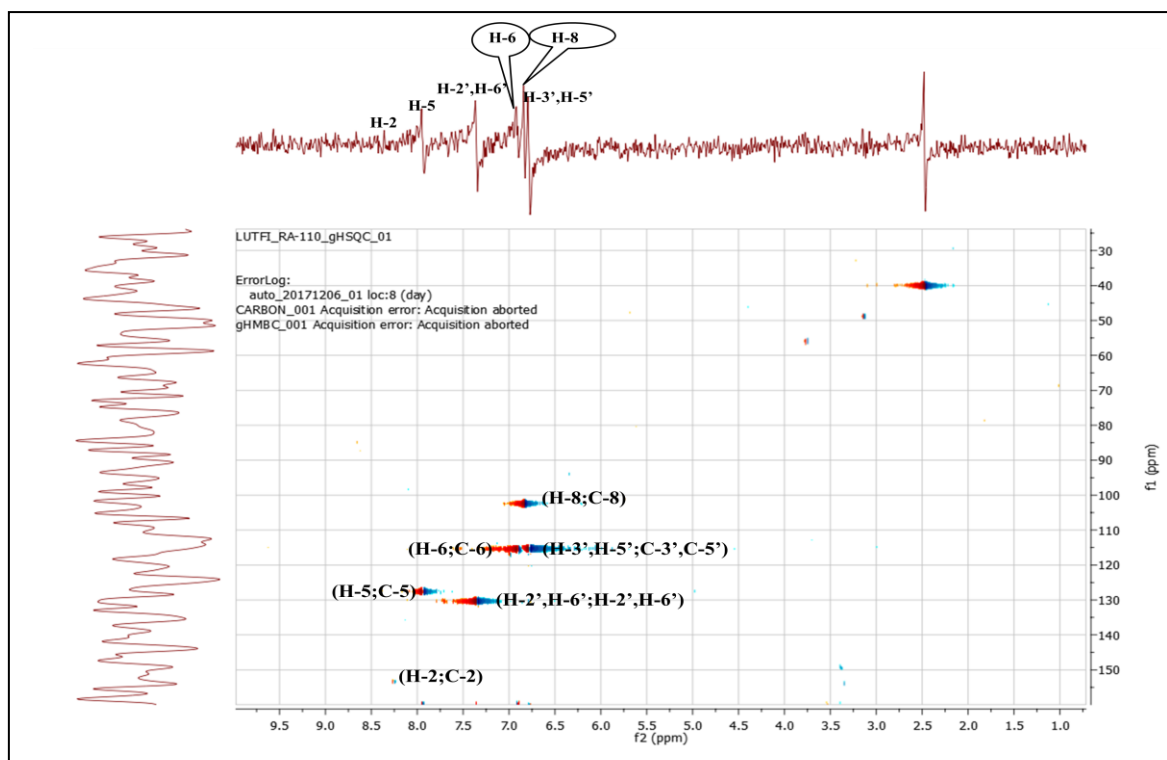
L'examen du spectre COSY (spectre III.67) montre une tache de corrélation entre le noyau H-5 à  $\delta_{\text{H}}=7,94$  ppm et son voisin H-6 à  $\delta_{\text{H}} = 6,91$  ppm et une autre tâche de corrélation entre H-2', H-6' à  $\delta_{\text{H}} = 7,35$  ppm et H-3', H-5' à  $\delta_{\text{H}} = 6,78$  ppm.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.67.** COSY (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600MHz) du composé **Rs11**

L'examen du spectre HSQC (spectre III.68) permet la localisation des carbones suivants : C-2 à  $\delta_c = 153,2$ ppm ; C-2', C-6' à  $\delta_c = 130,4$  ppm ; C-5 à  $\delta_c = 127,6$  ; C-6 à  $\delta_c = 115,48$ ppm, C-3',C-5' à  $\delta_c = 115,3$  ppm et C-8 à  $\delta_c = 102,4$  ppm.



**Spectre III.68.** HSQC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600MHz) du composé **Rs11**

## Chapitre III. Résultats et discussions

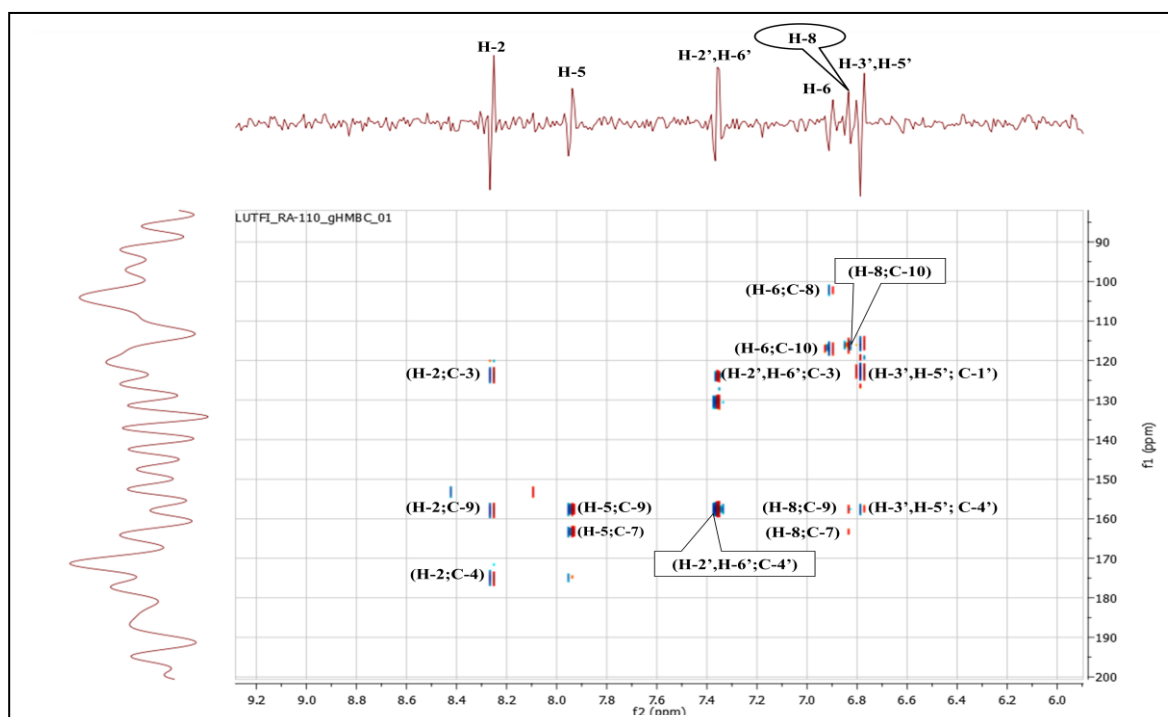
Par ailleurs, l'examen du spectre HMBC (spectre III.69) montre deux taches de corrélation entre les protons H-5 et H-8 et le carbone quaternaire oxygéné à  $\delta_C = 163,4$  ppm, ce qui permet l'attribution de ce dernier au C-7.

Les mêmes protons H-5 et H-8 ainsi que le proton H-2 montrent trois taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 157,5$  ppm qui ne peut être que C-9, ainsi qu'une autre tache de corrélation entre les protons H-6 et H-8 avec le carbone quaternaire à  $\delta_C = 116,2$  ppm attribué à C-10.

Sur le même spectre, le proton H-2 mène à l'attribution de C-4 à  $\delta_C = 174,7$  ppm.

Le proton H-2', H-6' et H-2 mènent à la localisation de C-3 a  $\delta_C = 124,0$  ppm de même le proton H-3', H-5' permet la localisation de C-1' à  $\delta_C = 122,7$  ppm.

Deux taches de corrélation entre les protons H-2', H-6' et H-3', H-5' avec le carbone quaternaire oxygéné à  $\delta_C = 157,5$  ppm permettent l'attribution de ce dernier au C-4'.



**Spectre III.69.** HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600MHz) du composé **Rs11**

L'ensemble de ces données, nous a conduit à la structure de la **4',7-dihydroxyisoflavone** connue sous le nom **Daidzéine**. Cette identification est confirmée par comparaison des données spectrales avec celle publiées dans la littérature [21, 66].

La molécule **daidzéine** est isolée auparavant à partir des deux plantes du genre *Retama*, il s'agit de *R. monosperma* et *R. raetam* [46-47, 67]. Elle joue un rôle important dans la prévention et le traitement de diverses maladies telles que le cancer, les maladies

## Chapitre III. Résultats et discussions

cardiovasculaires, le diabète, l'ostéoporose, les maladies de la peau et les maladies neurodégénératives [68].

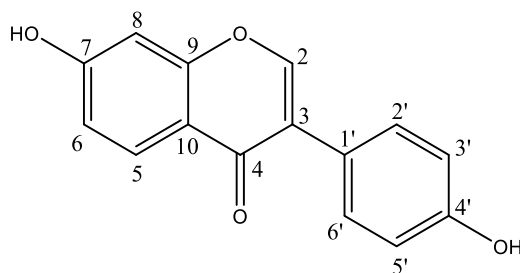


Figure III.28. Daidzéine

Les données relatives à la RMN  $^1\text{H}$  et de la RMN 2D (HSQC et HMBC) de ce composé sont reportées dans le tableau III.15

Tableau III.15. Données relatives aux spectres RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 600MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs11**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	8,26	1H	s	153,2
3	-	1H	s	124,0
4	-	-	-	174,7
5	7,94	1H	d; $J= 8,2$ Hz	127,6
6	6,91	1H	d; $J= 8,2$ Hz	115,4
7	-	-	-	163,4
8	6,84	1H	sl	102,4
9	-	-	-	157,5
10	-	-	-	116,2
1'	-	-	-	122,7
2',6'	7,35	2H	d; $J= 7,5$ Hz	130,4
3',5'	6,78	2H	d; $J= 7,5$ Hz	115,3
4'	-	-	-	157,5

### III.1.2.7. Éluclidation structurale du composé **Rs12** (**Rsa17-2**)

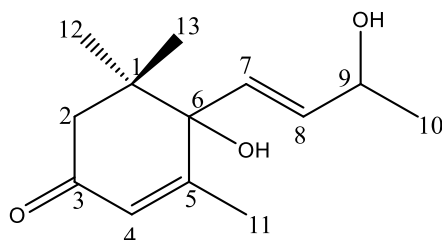


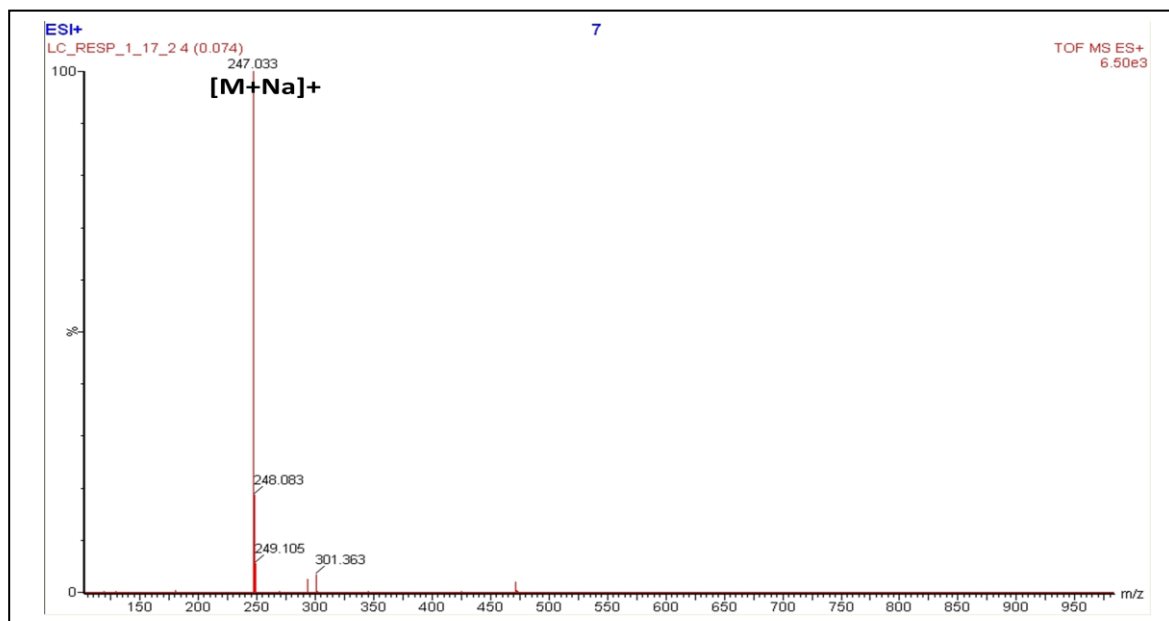
Figure III.29. Structure du composé **Rs12**

Le composé **Rs12** est soluble dans le chloroforme et le méthanol.



## Chapitre III. Résultats et discussions

Le spectre de masse réalisé en mode électrospray positif TOF-MS-ESI (+) de ce composé (spectre III.70) présente un pic quasi moléculaire à  $m/z = 247,033$  Da  $[M+Na]^+$  orientant vers une masse moléculaire égale à 224 Da.



**Spectre III.70.** TOF/MS en mode positif du composé **Rs12**

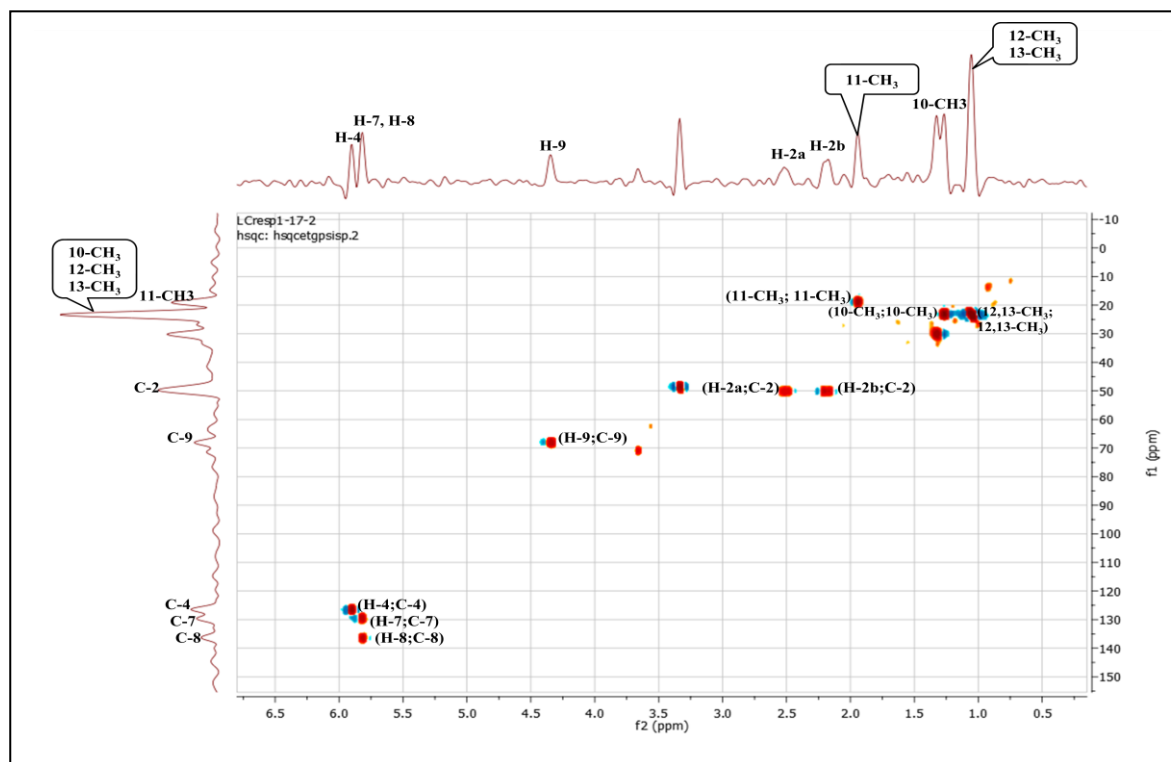
Le spectre RMN  $^1H$  (spectre III.71) du composé **Rs12** montre un ensemble de signaux dans la zone des protons éthyléniques et un ensemble de signaux rappelant des méthyles.

L'étude simultanée du spectre RMN  $^1H$  et son étalement (spectre III.71 et III.72) ainsi que le spectre HSQC (spectre III.73) nous a permis d'attribuer les signaux comme suit :

- un singulet d'intégration 1H à  $\delta_H = 5,91$  ppm corrèle avec un carbone à  $\delta_C = 126,5$  ppm. Les valeurs des déplacements chimiques indiquent qu'il est éthylénique.
- deux signaux sous forme de doublet d'intégration 1H chacun à  $\delta_H = 5,78$  et  $5,83$  ppm ( $J = 15,7$  Hz) présentent deux taches de corrélation sur le spectre HSQC avec des carbones à  $\delta_C = 129,3$  ppm et à  $\delta_C = 136,4$  ppm respectivement. Les valeurs des déplacements chimiques de ces deux derniers signaux ainsi que la valeur de la constante de couplage ( $J = 15,7$  Hz) indiquent clairement la présence d'un groupement  $CH=CH$  de configuration *trans*.
- un quadruplet d'intégration 1H à  $\delta_H = 4,41$  ppm ( $J = 5,4$  Hz) corrèle avec un carbone à  $\delta_C = 68,1$  ppm.
- deux protons résonant sous forme de doublet d'intégration 1H chacun à  $\delta_H = 2,24$  et  $2,44$  ppm ( $J = 16,9$  Hz) corrélient sur le spectre HSQC avec le même carbone résonant à  $\delta_C = 50,2$  ppm. Ceci permet de déduire que ces 2H sont diastéréotopiques.



## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.73.** HSQC (CDCl<sub>3</sub>; 400MHz) du composé **Rs12**

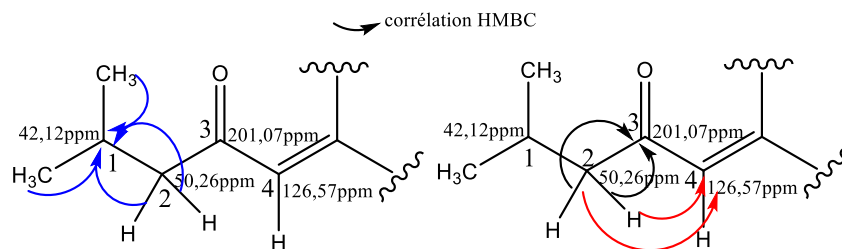
L'analyse du spectre bidimensionnelle HMBC (spectre III.74) permet d'avoir les corrélations carbone-proton à longue distance ( $^2J$ ,  $^3J$  et  $^4J$ ) et d'attribuer les carbones quaternaires à leurs signaux comme suit :

Les protons des deux méthyles à  $\delta_H = 1,09$  et  $1,02$  ppm corrént avec un atome de carbone qui doit être quaternaire vu la multiplicité des signaux de ces deux méthyles. Nous numéroterons ce carbone quaternaire  $Sp^3$  C-1 ( $\delta_C = 42,1$  ppm).

Sur le même spectre HMBC, les protons du groupement CH<sub>2</sub> résonant sous forme de deux doublets chacun à  $\delta_H = 2,24$  ppm et  $\delta_H = 2,44$  ppm corrént avec le carbone C-1, nous numéroterons le carbone du groupement CH<sub>2</sub> C-2.

Toujours sur le spectre HMBC, les protons 2-CH<sub>2</sub> montrent une corrélation en  $^4J$  avec un carbonyle résonant à  $\delta_C = 201,0$  ppm, d'après la valeur du déplacement chimique de ce carbonyle il s'agit d'une cétone probablement conjugué avec une double liaison, ceci est confirmé par la corrélation en  $^3J$  observée entre le proton H-2b du groupement 2-CH<sub>2</sub> à  $\delta_H = 2,24$  ppm et le carbone éthylénique résonant à  $\delta_C = 126,5$  ppm (CH éthylénique à  $\delta_H = 5,91$  ppm). Nous numéroterons alors le carbone du carbonyle C-3 et le carbone du CH éthylénique C-4.+

## Chapitre III. Résultats et discussions

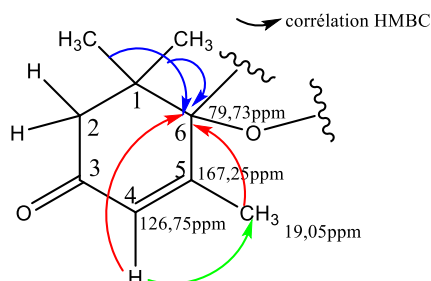


**Figure III.30.** Corrélations HMBC de l'entité 1 présente dans le composé **Rs12**

Toujours sur le spectre HMBC, le proton H-4 montre une tache de corrélation nette avec le carbone du méthyle résonant à  $\delta_C = 19,0$  ppm ( $\delta_H = 1,89$  ppm, singulet) signifiant la substitution de la double liaison par ce groupement méthyle. Ce dernier montre une tache de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 167,2$  ppm qui est le C-5.

Le proton H-4 montre également une corrélation avec un carbone quaternaire à  $\delta_C = 79,7$  ppm, ainsi que les protons du méthyle 5-CH<sub>3</sub> montre une corrélation avec ce carbone ce qui permet alors de le numéroter C-6. Selon le déplacement chimique de C-6 ( $\delta_C = 79,7$  ppm), ce carbone peut être oxygéné.

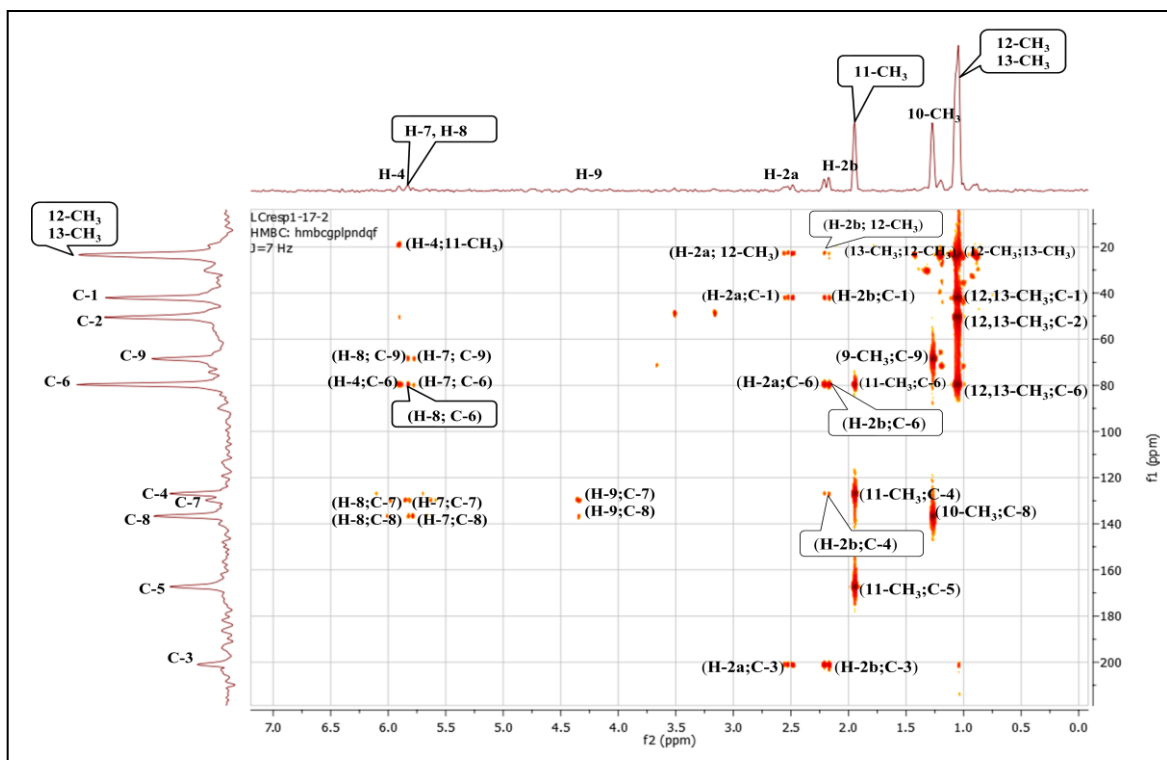
Le spectre HMBC montre par ailleurs une corrélation entre les protons des méthyles portés par C-1 et le carbone C-6. Cette corrélation signifie que le carbone C-6 est lié au carbone C-1 aboutissant donc à un cycle constitué de 6 atomes de carbone.



**Figure III.31.** Corrélations HMBC de l'entité 2 présente dans le composé **Rs12**

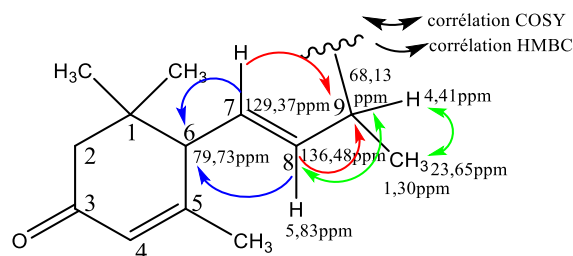
Sur ce même spectre relatif à l'expérience HMBC les protons éthyléniques à  $\delta_H = 5,79$  ppm et  $\delta_H = 5,83$  ppm montrent deux taches de corrélation avec le carbone C-6 signifiant la substitution de ce cycle en C-6 par une double liaison. Nous numéroterons les carbones de la double liaison C-7 et C-8 à  $\delta_C = 129,3$  et  $136,4$  ppm respectivement.

## Chapitre III. Résultats et discussions



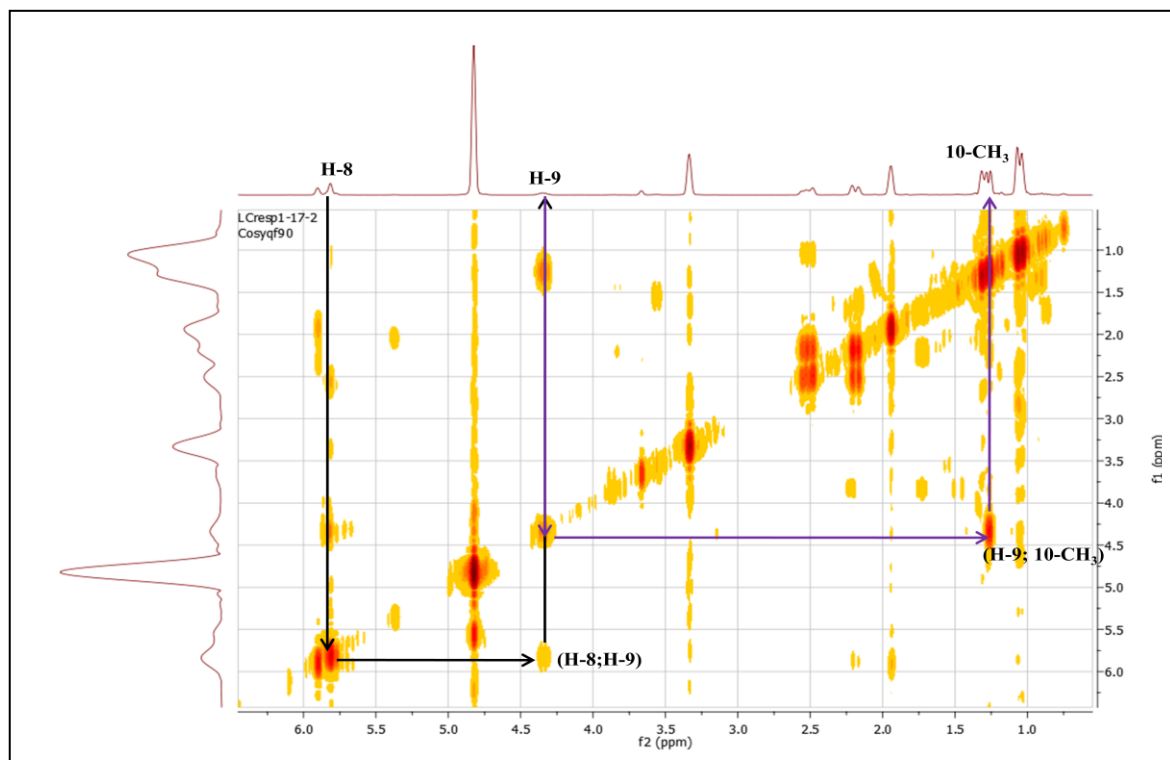
**Spectre III.74.** HMBC (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) du composé **Rs12**

Sur le spectre relatif à l'expérience COSY (spectre III.75) le proton H-8 montre une corrélation avec le proton d'un méthyne résonant sous forme d'un quadruplet à  $\delta_H = 4,41$  ppm ( $\delta_C = 68,1$  ppm) Nous numérotions alors le carbone de ce méthyne C-9. Cette observation est confirmée par les corrélations observées sur le spectre HMBC (spectre III.74) entre les deux protons éthyléniques H-7 et H-8 et ce carbone C-9. Par ailleurs et toujours sur le spectre COSY, le proton H-9 montre une tache de corrélation avec les protons du méthyle résonant sous forme d'un doublet à  $\delta_H = 1,30$  ppm ( $\delta_C = 23,6$  ppm) ( $J = 6,3$  Hz). Nous numérotions alors le carbone de ce méthyle C-10.



**Figure III.32.** Corrélations COSY et HMBC de l'entité 3 présente dans le composé **Rs12**

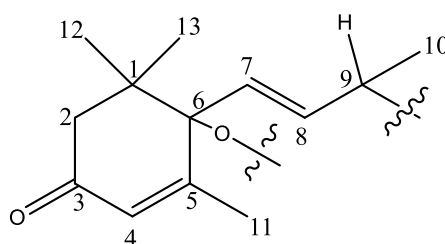
## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.75.** COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) du composé **Rs12**

L'ensemble de cette analyse nous a permis de déduire que ce composé est de type 3-oxo-ionol. De ce fait le méthyle en C-5 sera numéroté C-11 et les méthyles en C-1 seront numérotés C-12 et C-13.

Ces observations mènent à la structure partielle représentée dans la figure III.35



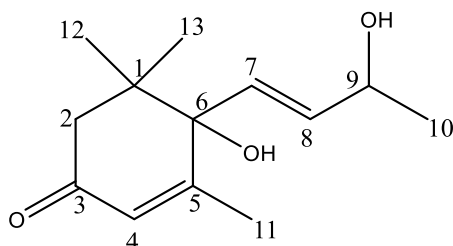
**Figure III.33.** Structure partielle du composé **Rs12**

Revenant au spectre de masse de ce composé, en calculant les groupements qui manquent, ce sont deux groupements hydroxyles qui ne peuvent être placés qu'en position 6 et 9.

L'ensemble de ces données mènent à la structure reportée sur la figure III.36, il s'agit de **6,9-dihydroxy-4,7-megastigmadien-3-one** connu sous le nom **vomifoliol** ou son synonyme **blumenol A** [69]. Cette molécule est nouvelle pour le genre *Retama*. Des études antérieures

## Chapitre III. Résultats et discussions

montrent qu'elle exerce un effet neuroprotecteur [70], anticancereux [71] et antileishmanien [72].



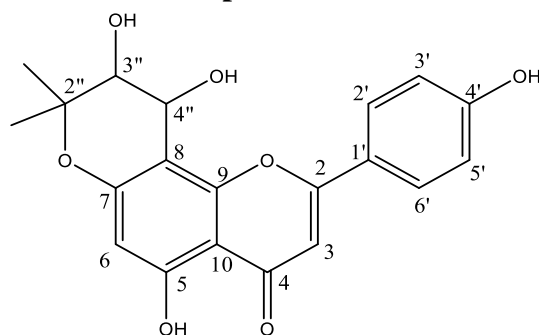
**Figure III.34. Vomifoliol**

Les données relatives aux spectres RMN  $^1\text{H}$  et RMN 2D HSQC, HMBC sont reportées dans le tableau III.16

**Tableau III.16.** Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ -*d*; 400MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs12**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
<b>1</b>	-	-		42,1
<b>2a</b>	2,44	1H	d; $J= 16,9\text{Hz}$	50,2
<b>2b</b>	2,24	1H	d; $J= 16,9\text{Hz}$	
<b>3</b>	-	-	-	201,0
<b>4</b>	5,91	1H	s	126,5
<b>5</b>	-	-	-	167,2
<b>6</b>	-	-	-	79,7
<b>7</b>	5,78	1H	d; $J= 15,7\text{Hz}$	129,3
<b>8</b>	5,83	1H	d; $J= 15,7\text{Hz}$	136,4
<b>9</b>	4,41	1H	q, $J= 5,4\text{Hz}$	68,1
<b>10-CH<sub>3</sub></b>	1,30	3H	d; $J= 6,3\text{Hz}$	23,6
<b>11-CH<sub>3</sub></b>	1,89	3H	S	19,0
<b>12-CH<sub>3</sub></b>	1,09	3H	S	23,6
<b>13-CH<sub>3</sub></b>	1,02	3H	s	23,6

### III.1.2.8. Éluclidation structurale du composé **Rs13**

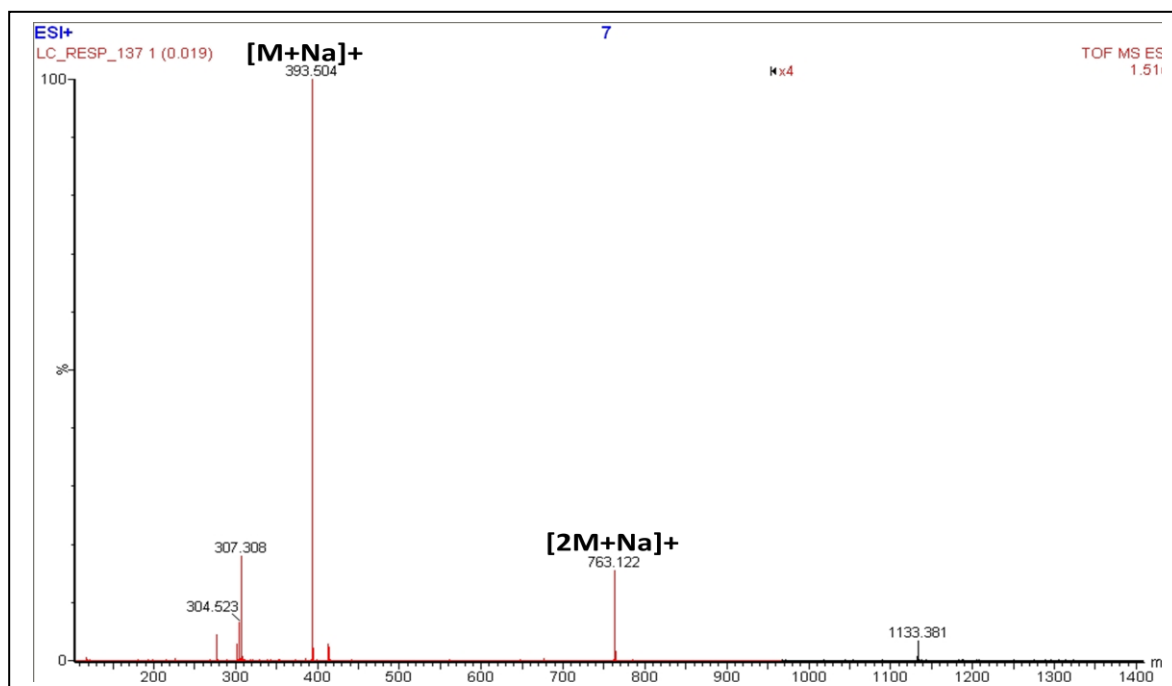


**Figure III.35. Structure du composé **Rs13****

### Chapitre III. Résultats et discussions

Le composé **Rs13** se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans l'acétone et le DMSO.

Le spectre de masse réalisé en mode Electrospray positif TOF-MS-ESI (+) (spectre III.76) révèle la présence de deux pics pseudomoléculaire à  $m/z = 393,504$  Da  $[M+Na]^+$  et  $m/z = 763,122$  Da  $[2M+Na]^+$ , soit une masse moléculaire égale à 370 Da.

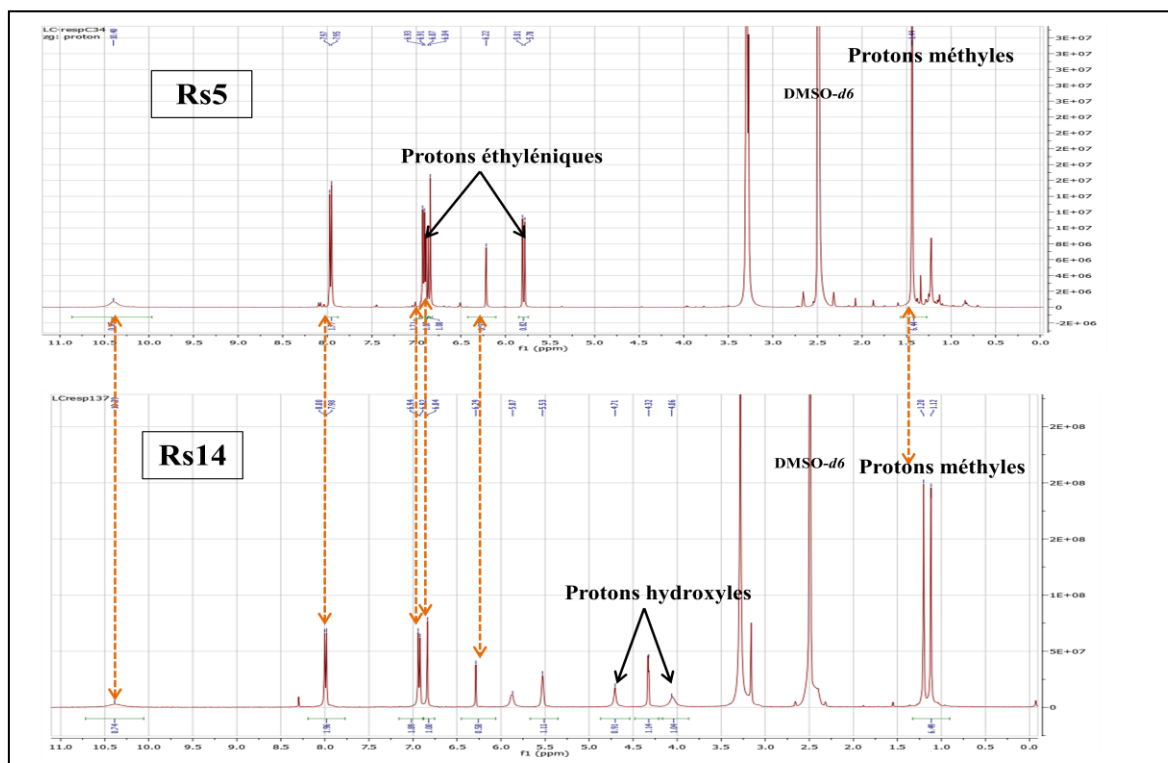


**Spectre III.76.** TOF/MS en mode positif composé **Rs13**

L'examen du spectre III.77 montre la présence de la totalité des signaux attribués au composé précédent **atalantoflavone** et montre d'autres signaux que nous avons attribués au composé **Rs5**. Autrement dit, le composé **Rs13** présente une similarité structurale par rapport au composé **Rs5**.



## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.77.** RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400MHz) des composés **Rs13** et **Rs5**

Par comparaison des deux spectres RMN  $^1\text{H}$  du composé étudié et le composé **Rs5** (spectre III.77, III.78 et III.79), nous constatons que la différence entre les deux composés réside dans la zone éthylénique dont la disparition des deux protons de configuration *cis* du groupement prényle de type pyrane ( $\delta_{\text{H}} = 5,79$  et  $6,87$  ppm). Autres signaux apparaissent sur le spectre du composé :

- un singulet large d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 5,52$  ppm.
- un doublet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 4,32$  ppm ( $J = 3,3$  Hz).
- deux singulets larges d'intégration 1H chacun à  $\delta_{\text{H}} = 4,05$  et  $4,70$  ppm et qui ne présentent aucune corrélation sur le spectre HSQC (spectre III.86) attribués aux deux groupements hydroxyles.

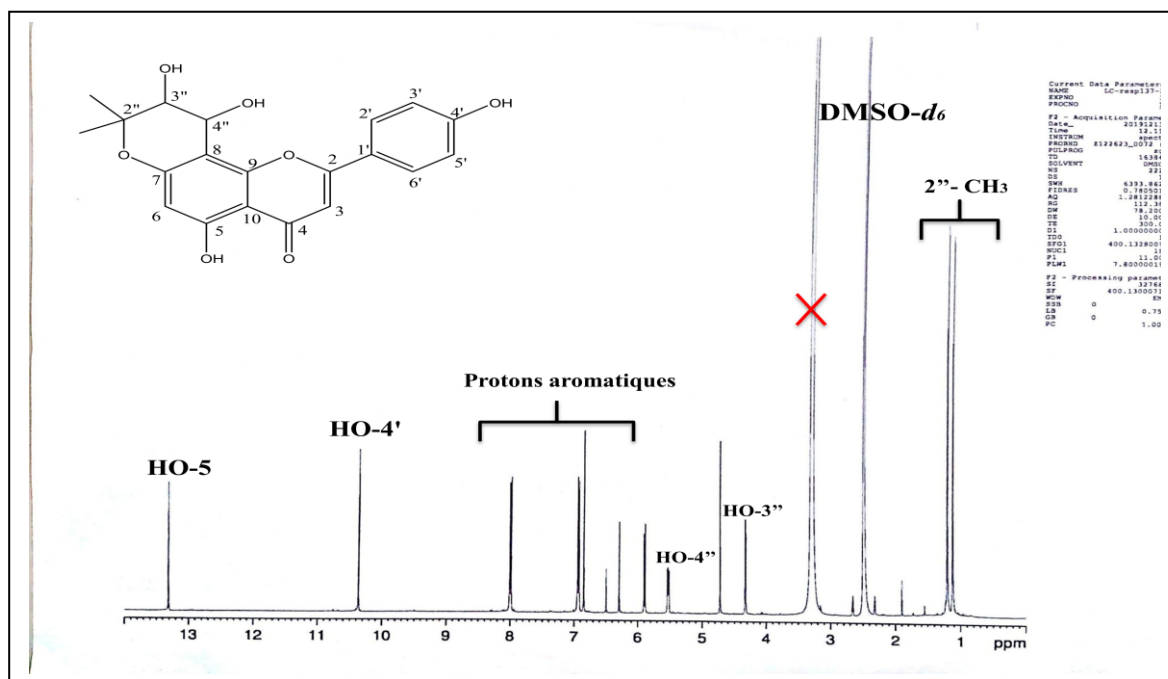
Cette observation prévoit alors une réduction de la double liaison par deux groupements hydroxyles en position 3'' et 4'' à  $\delta_{\text{H}} = 4,05$  et  $4,70$  ppm respectivement.

Les autres signaux restent très similaires à ceux du composé **Rs5** notamment le squelette flavonique où l'on trouve :

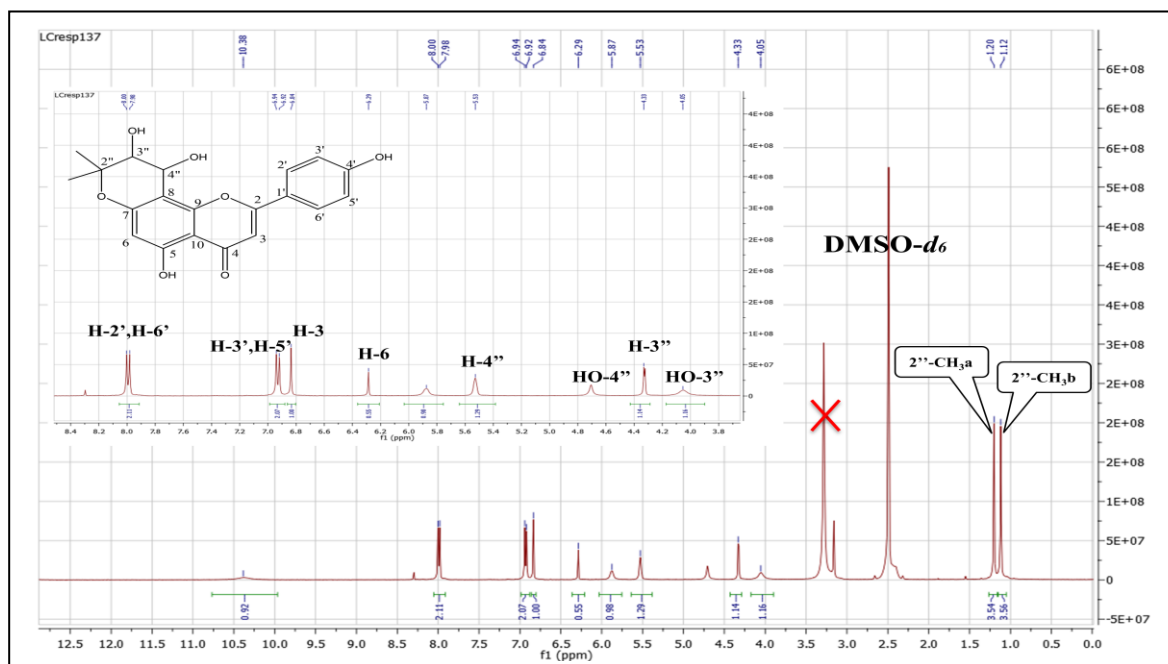
- deux doublets d'intégration 2H chacun à  $\delta_{\text{H}} = 7,99$  et  $6,92$  ppm ( $J = 8,7$  Hz) attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement.
- un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 6,83$  ppm attribuable à H-3.
- un singulet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 6,28$  ppm attribuable à H-6.

## Chapitre III. Résultats et discussions

- un signal résonant à  $\delta_H = 13,30$  ppm d'intégration 1H sous forme d'un singulet large attribuable à 5-OH.
- un autre singulet large à  $\delta_H = 10,35$  ppm d'intégration 1H attribuable à 4'-OH.
- les deux méthyles du groupement 2'',2''-diméthylpyrane apparaissent sous forme de deux singulets à  $\delta_H = 1,20$  ppm et à  $\delta_H = 1,11$  ppm.



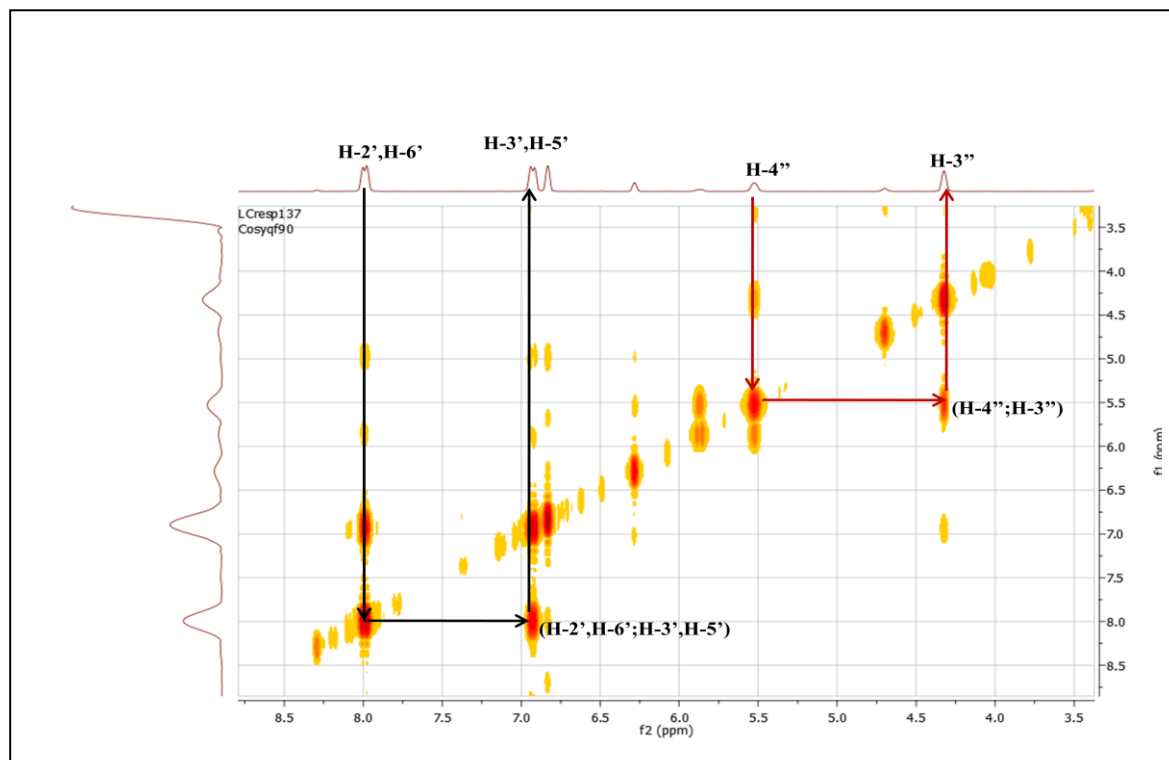
Spectre III.78. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs13**



Spectre III.79. Étalement du spectre RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs13**

## Chapitre III. Résultats et discussions

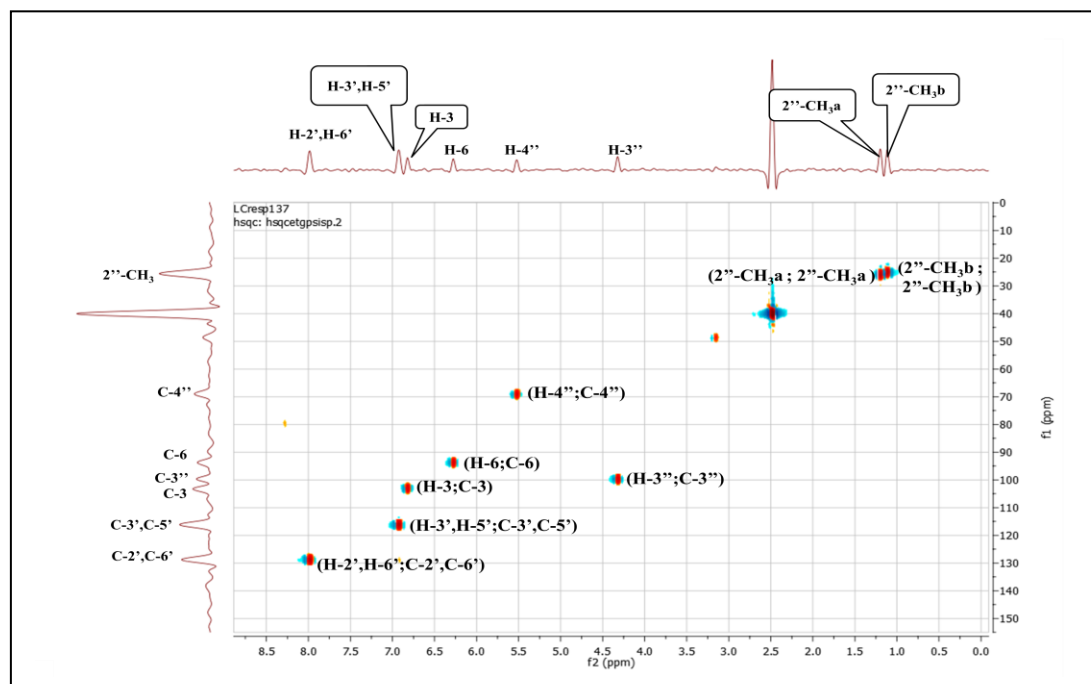
Sur le spectre COSY (spectre III.80) les protons H-2', H-6' montre une tache de corrélation avec les protons H-3', H-5' confirmant le couplage ortho et la substitution para du cycle B ainsi que le proton H-3'' montre une tache de corrélation avec le proton H-4''.



**Spectre III.80.** COSY (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs13**

L'examen du spectre HSQC (spectre III.81) permet aisément d'identifier les carbones suivant: C-3 à  $\delta_C = 103,2$  ppm, C-2' et C-6' à  $\delta_C = 129,0$  ppm, C-3' et C-5' à  $\delta_C = 115,7$  ppm, C-6 à  $\delta = 93,9$  ppm, C-3'' à  $\delta_C = 99,5$  ppm, C-4'' à  $\delta_C = 69,3$  ppm, 2''-CH<sub>3a</sub> à  $\delta_C = 26,2$  ppm et 2''-CH<sub>3b</sub> à  $\delta_C = 25,3$  ppm.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.81.** HSQC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400MHz) du composé **Rs13**

L'examen approfondi du spectre HMBC (spectre III.82) a permis de confirmer la position du groupement 2'',2''-diméthylpyrane dans cette molécule grâce à l'analyse des corrélations relevées sur ce spectre :

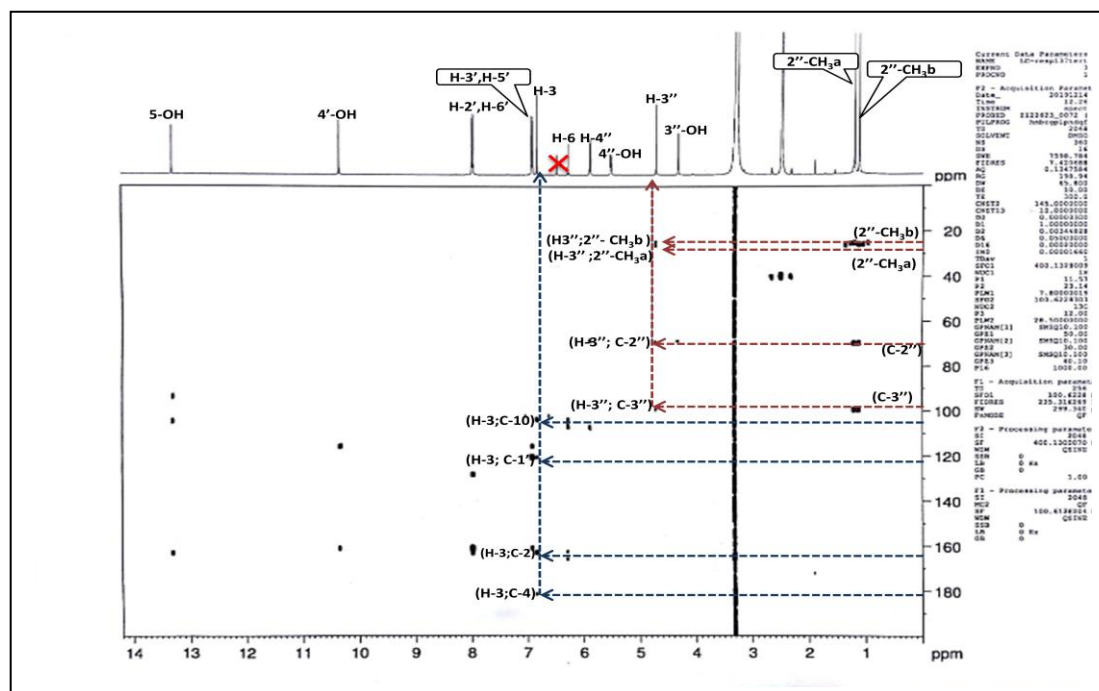
- le proton du groupement hydroxyle 5-OH à  $\delta_H = 13,30$  ppm corrèle avec un carbone à  $\delta_C = 163,1$  ppm qui ne peut être que le C-5 vu la valeur de son déplacement chimique. D'un autre côté, le proton à  $\delta_H = 6,28$  ppm corrèle avec ce dernier carbone ce qui confirme l'hydrogénation de la position 6 et la substitution du flavone en C-7 et C-8.
- une tache de corrélation entre le H-6 à  $\delta_H = 6,28$  ppm et un carbone à  $\delta_C = 106,7$  ppm qui ne peut être que le C-8.

Par ailleurs, le spectre HMBC (spectre III.82) permet également de tirer les indications suivantes :

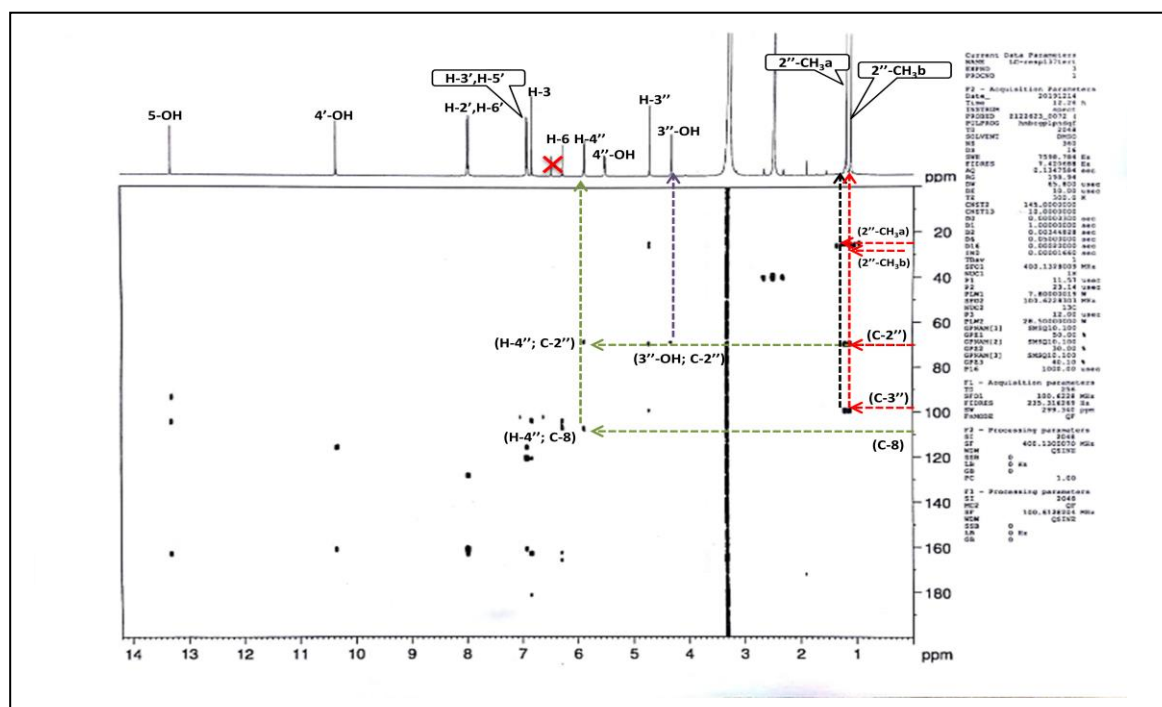
- les corrélations des protons H-2', H-6' et H-3 avec le carbone quaternaire à  $\delta_C = 163,2$  ppm, indiquent que ce carbone est attribuable à C-2.
- les corrélations entre les protons H-2', H-6' et H-3', H-5' et le carbone oxygéné résonant à  $\delta_C = 161,1$  ppm, permettent son attribution à C-4'.
- les protons H-3', H-5' et H-3 corrélient avec le carbone quaternaire à  $\delta_C = 120,6$  ppm attribuable à C-1'.
- le carbone C-4 est localisé à  $\delta_C = 181,7$  ppm grâce à sa corrélation avec H-3.

## Chapitre III. Résultats et discussions

- les protons 5-OH, H-6 et H-3 corrélient avec le carbone quaternaire à  $\delta_C = 104,5$  ppm attribuable à C-10.
- le carbone à  $\delta_C = 165,5$  ppm est attribué à C-7 grâce à sa corrélation avec H-6.
- l'attribution du carbone C-2'' à  $\delta_C = 69,7$  ppm grâce à sa corrélation avec les protons 2''-CH<sub>3a</sub>, 2''-CH<sub>3b</sub>, H-3'', H-4'' et 3''-OH.

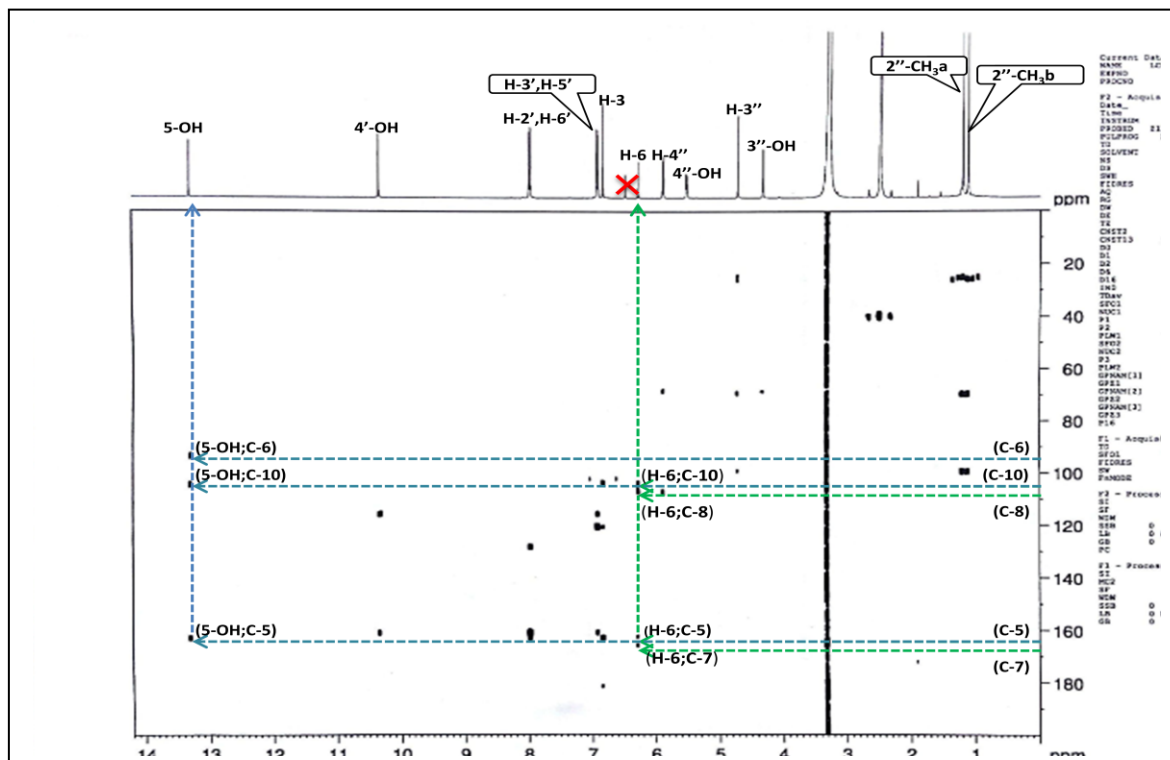


Spectre III.82.1. HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400MHz) du composé Rs13

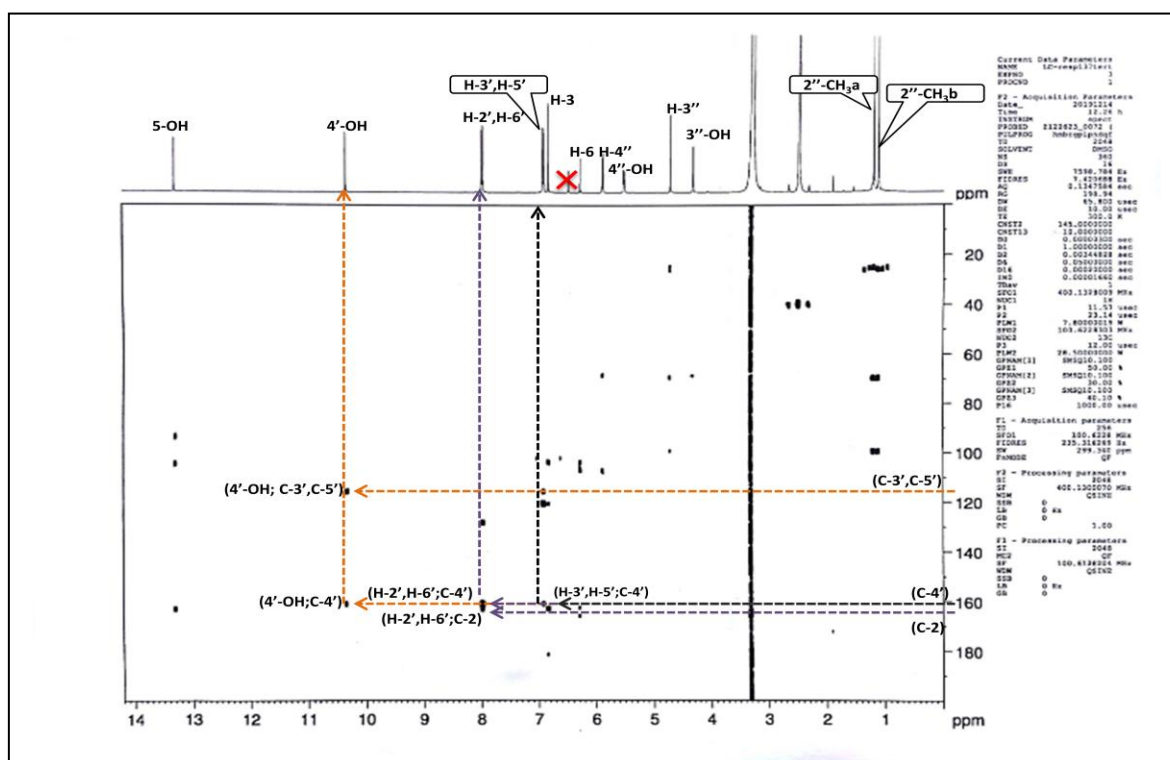


Spectre III.82.2. HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400MHz) du composé Rs13

# Chapitre III. Résultats et discussions



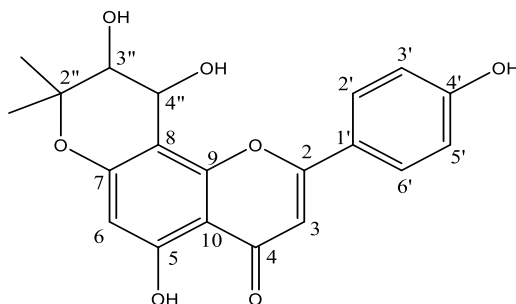
Spectre III.82.3. HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400MHz) du composé Rs13



Spectre III.82.4. HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>; 400MHz) du composé Rs13

## Chapitre III. Résultats et discussions

L'ensemble de ces données spectroscopique de la RMN et la masse, mène à la structure reportée dans la figure III.38, il s'agit de **5,4'-dihydroxy-(3'', 4''-dihydro- 3'', 4''-dihydroxy)-2'', 2''-dimethylpyrano-(5'', 6'' : 7, 8) -flavone [73-74]**. Il a été isolé auparavant de *Retama raetam* [74] et connu pour son activité antivirale anti-VIH-1 (le virus de l'immunodéficience humaine) [73] et anti-alzheimer [75].



**Figure III.36. 5,4'-dihydroxy-(3'', 4''-dihydro- 3'', 4''-dihydroxy)-2'', 2''-dimethylpyrano-(5'', 6'' : 7, 8) -flavone**

Toutes les données relatives aux spectres RMN  $^1\text{H}$  et RMN 2D HSQC, HMBC sont reportées dans les tableaux III.17

**Tableau III.17.** Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 400MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs13**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	-	-	-	163,2
3	6,83	1H	s	103,2
4	-	-	-	181,7
5	-	-	-	163,1
6	6,28	1H	s	93,9
7	-	-	-	165,5
8	-	-	-	106,7
10	-	-	-	104,5
1'	-	-	-	120,6
2',6'	7,99	2H	d; $J= 8,7$ Hz	129,0
3',5'	6,92	2H	d; $J= 8,7$ Hz	115,7
4'	-	-	-	162,1
2''	-	-	-	69,7
3''	4,32	1H	d; $J=3,3\text{Hz}$	99,5
4''	5,52	1H	sl	69,3
2''-CH <sub>3</sub> a	1,20	3H	s	26,2
2''-CH <sub>3</sub> b	1,11	3H	s	25,3
3''-OH	4,05	1H	sl	-
4''-OH	4,70	1H	sl	-
5-OH	13,30	1H	sl	-
4'-OH	10,35	1H	sl	-

## Chapitre III. Résultats et discussions

### III.1.2.9. Éluclidation structurale du composé Rs14

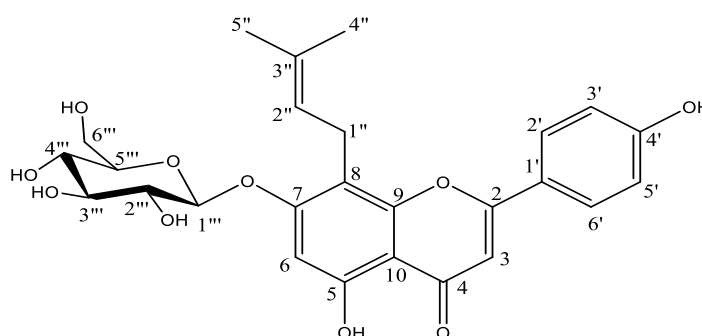
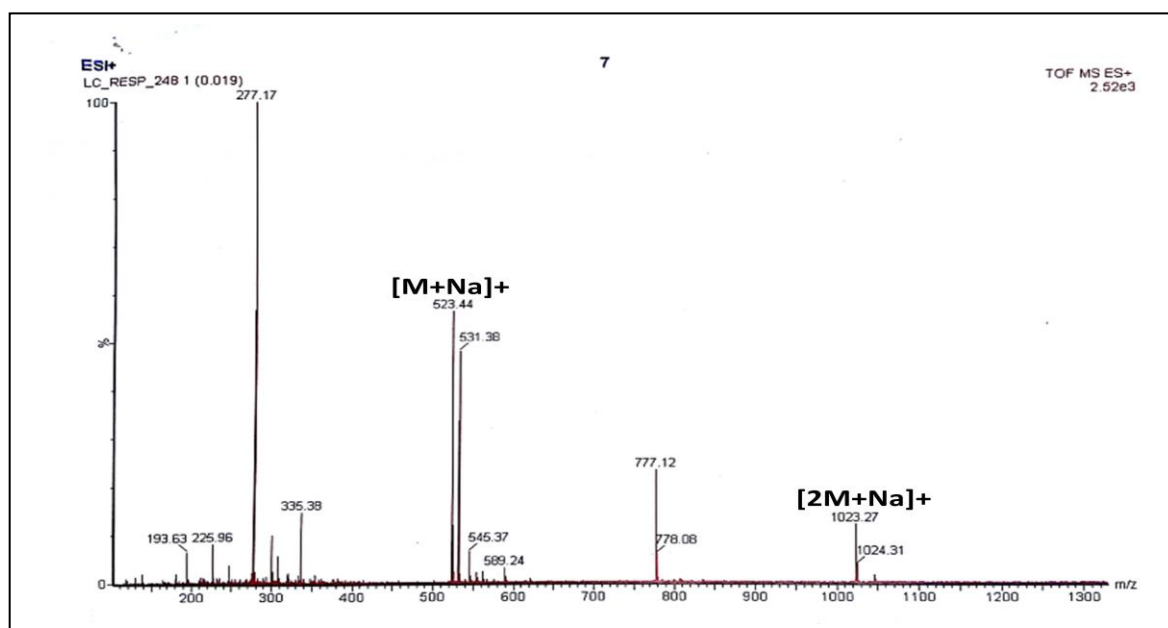


Figure III.37. Structure du composé Rs14

Le composé **Rs14** se présente sous forme d'une poudre jaune, soluble dans le DMSO. Il donne une fluorescence noir-violette sous la lumière de Wood.

Le spectre de masse réalisé en mode Electrospray positif TOF-MS-ESI(+) (spectre III.83) révèle la présence de deux pics pseudomoléculaire à  $m/z = 523,44$  Da  $[M+Na]^+$  et  $m/z = 1023,27$  Da  $[2M+Na]^+$ , soit une masse moléculaire égale à 500 Da.



Spectre III.83. TOF/MS en mode positif composé Rs14

L'examen du spectre RMN  $^1H$  (spectre III.84) enregistré dans le DMSO- $d_6$  montre :

- un singlet d'intégration 1H à  $\delta_H = 6,80$  ppm attribuable à H-3 indiquant le squelette d'une flavone.
- un système AB caractéristique d'une oxygénation en position 4' sur le noyau B, ainsi les doublets ( $J = 8,0$  Hz) à  $\delta_H = 7,91$  ppm et  $\delta_H = 6,91$  ppm d'intégration 2H chacun sont attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement.



### Chapitre III. Résultats et discussions

- un singulet à  $\delta_H = 12,94$  ppm d'intégration 1H et ne présente aucune corrélation sur le spectre HSQC attribuable à 5-OH.

- un autre signal sous forme d'un singulet à  $\delta_H = 6,58$  ppm d'intégration 1H attribuable soit à H-6 ou à H-8 et indiquant que le noyau A est substitué en 7 et 8 ou 6 et 7.

Par ailleurs, le même spectre révèle également la présence de :

- un triplet d'intégration 1H à  $\delta_H = 5,21$  ppm ( $J = 6,8$  Hz) corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_C = 121,8$  ppm

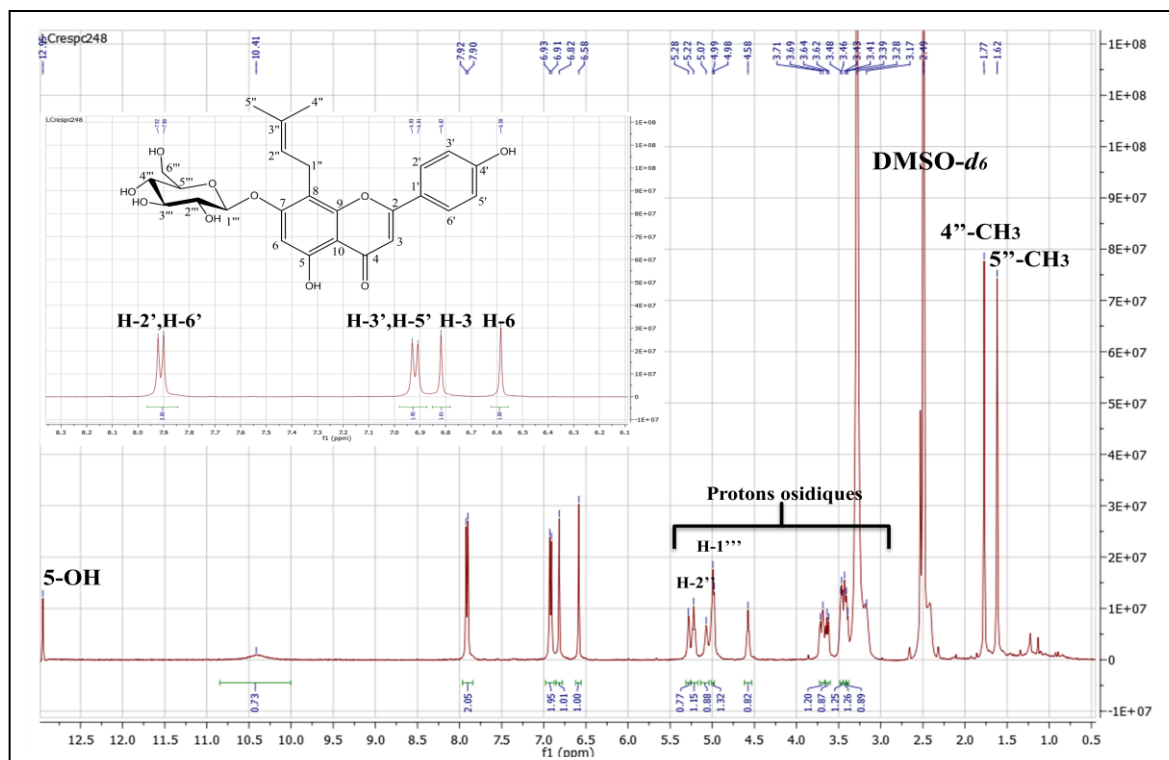
- un multiplet d'intégration 1H à  $\delta_H = 3,63$  ppm corrèle sur le spectre HSQC avec un carbone à  $\delta_C = 21,0$  ppm. Ce même carbone montre une autre tâche de corrélation avec un deuxième proton qui apparaît sur le spectre RMN  $^1H$  sous forme d'un multiplet à  $\delta_H = 3,44$  ppm permettant de déduire que ces 2H sont diastéréotopiques.

- deux singulets d'intégration 3H chacun à  $\delta_H = 1,77$  ppm et  $\delta_H = 1,61$  ppm indiquant la présence de deux groupements méthyle et corrélant sur le spectre HSQC avec les carbones à  $\delta_C = 17,3$  et  $24,9$  ppm respectivement.

Ces signaux sont caractéristiques d'un groupement prényle de type 3,3-DMA (3,3-diméthylallyle) et cela suppose que le squelette flavonique est substitué par cette entité [11, 76].

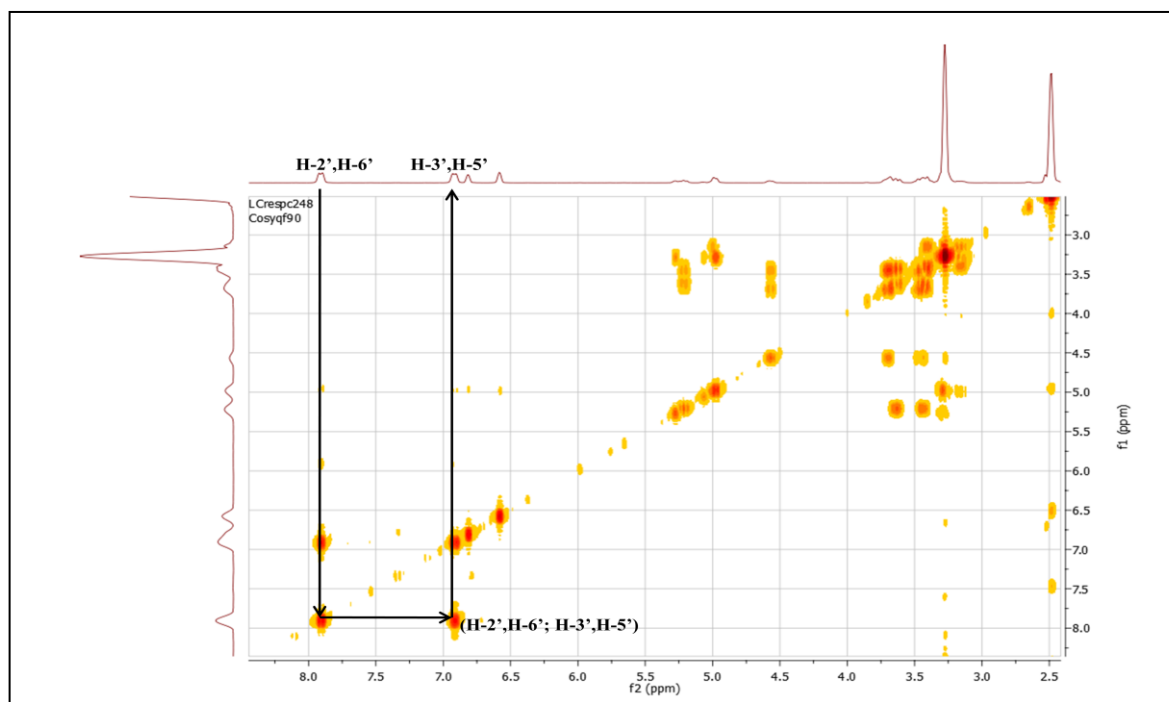
En outre, l'observation d'un ensemble de signaux entre  $\delta_H = 3,10$  et  $5,20$  ppm recouvert partiellement par le signal de contamination : signal du méthanol (lavage du produit avec le méthanol dans le but de purification) et d'un signal sous forme d'un doublet ( $J = 7,4$  Hz) d'intégration 1H localisé à  $\delta_H = 5,12$  ppm suggère l'existence d'une entité osidique dans la molécule.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.84.** RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

Sur le spectre COSY (spectre III.85), les protons H-2', H-6' montre une tache de corrélation avec les protons H-3', H-5'.

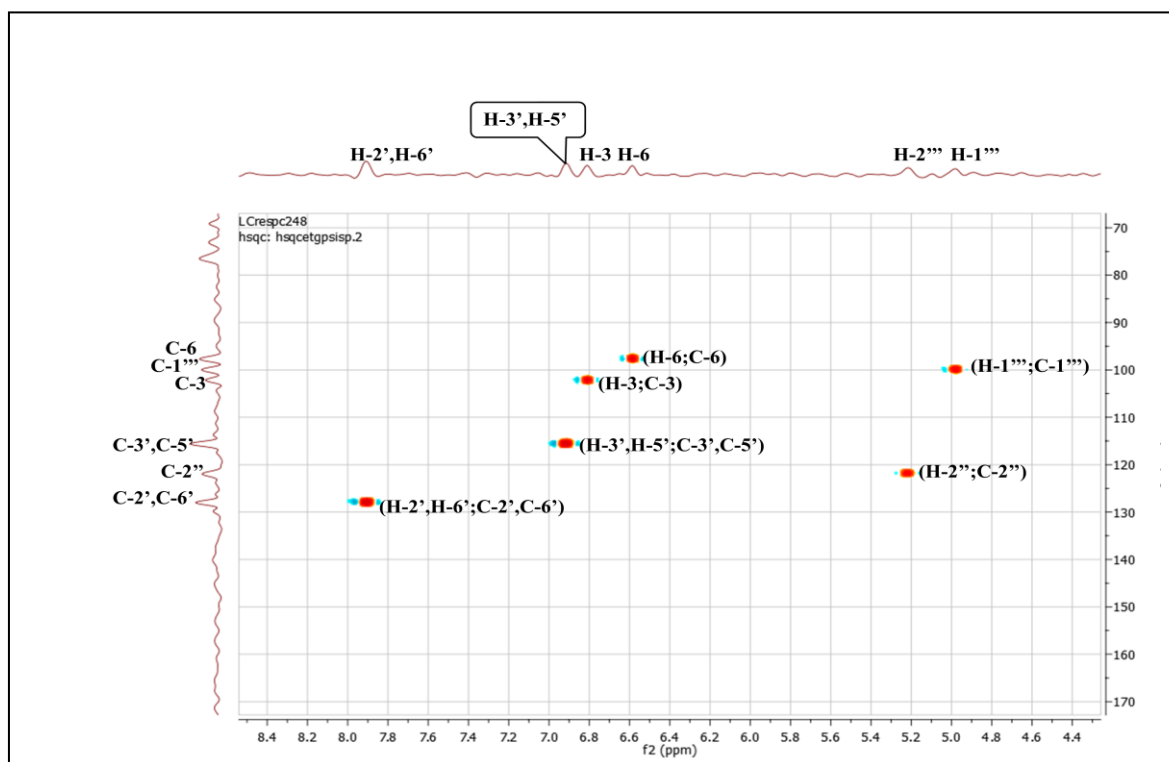


**Spectre III.85.** Spectre COSY ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

## Chapitre III. Résultats et discussions

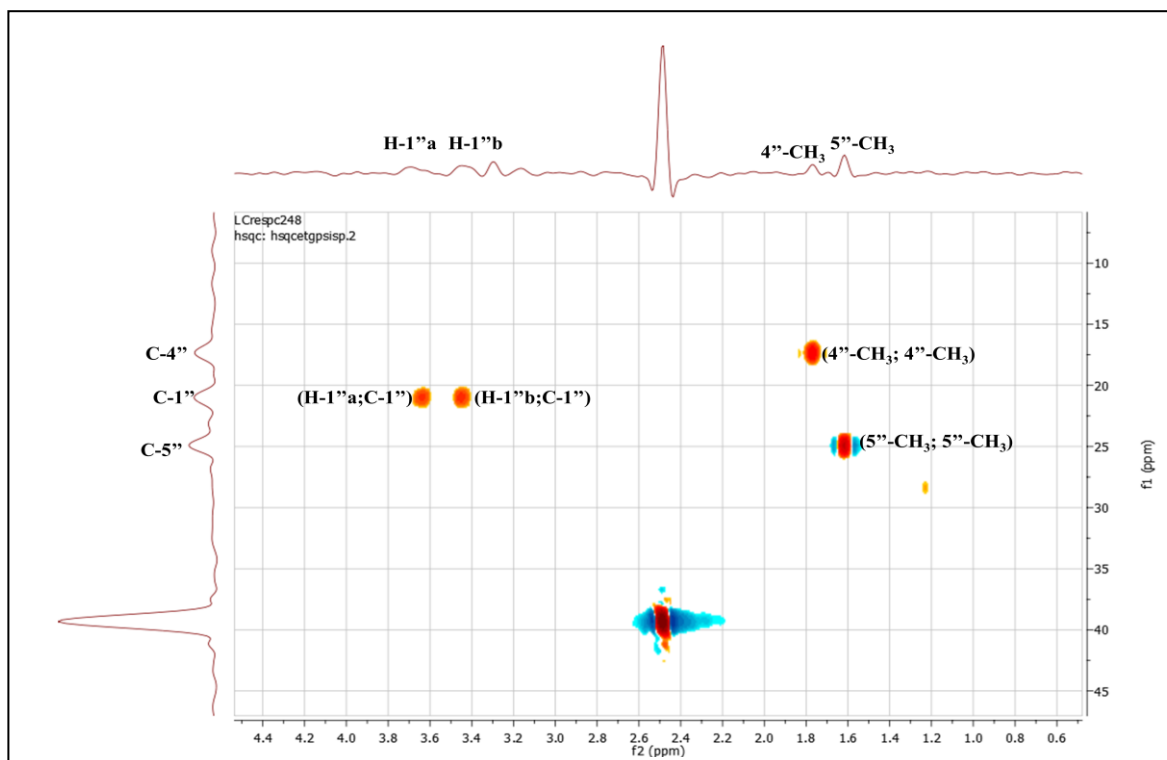
L'étude du spectre de corrélation HSQC (spectre III.86 et III.87) permet d'effectuer les attributions suivantes :

- le proton H-3 avec son carbone C-3 à  $\delta_C = 102,2$  ppm.
- les protons H-2', H-6' et avec leurs carbones C-2', C-6' à  $\delta_C = 127,9$  ppm.
- les protons H-3', H-5' avec leurs carbones C-3', C-5' à  $\delta_C = 115,5$  ppm.
- le proton résonant à  $\delta_H = 6,58$  ppm avec son carbone à  $\delta_C = 97,5$  ppm.



**Spectre III.86.** Étalement du spectre HSQC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

## Chapitre III. Résultats et discussions



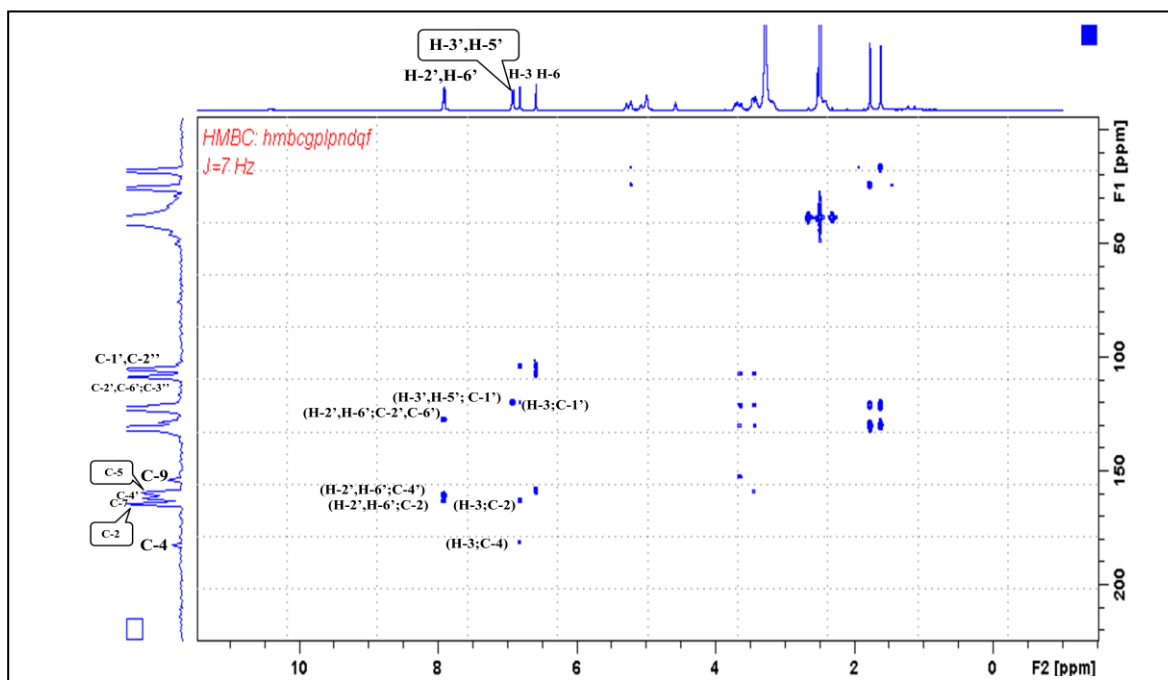
**Spectre III.87.** Étalement du spectre HSQC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

Sur le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre III.88) :

- la corrélation entre H-3', H-5' et le carbone à  $\delta_C = 120,81$  ppm permet son attribution au carbone C-1', ce même carbone corrèle avec H-3.
- la corrélation entre H-2', H-6' et le carbone quaternaire oxygéné à  $\delta_C = 160,9$  ppm permet l'attribution de ce carbone à C-4'.
- les corrélations entre H-3 et H-2', H-6' et le carbone quaternaire à  $\delta_C = 164,0$  ppm permettent son attribution à C-2.

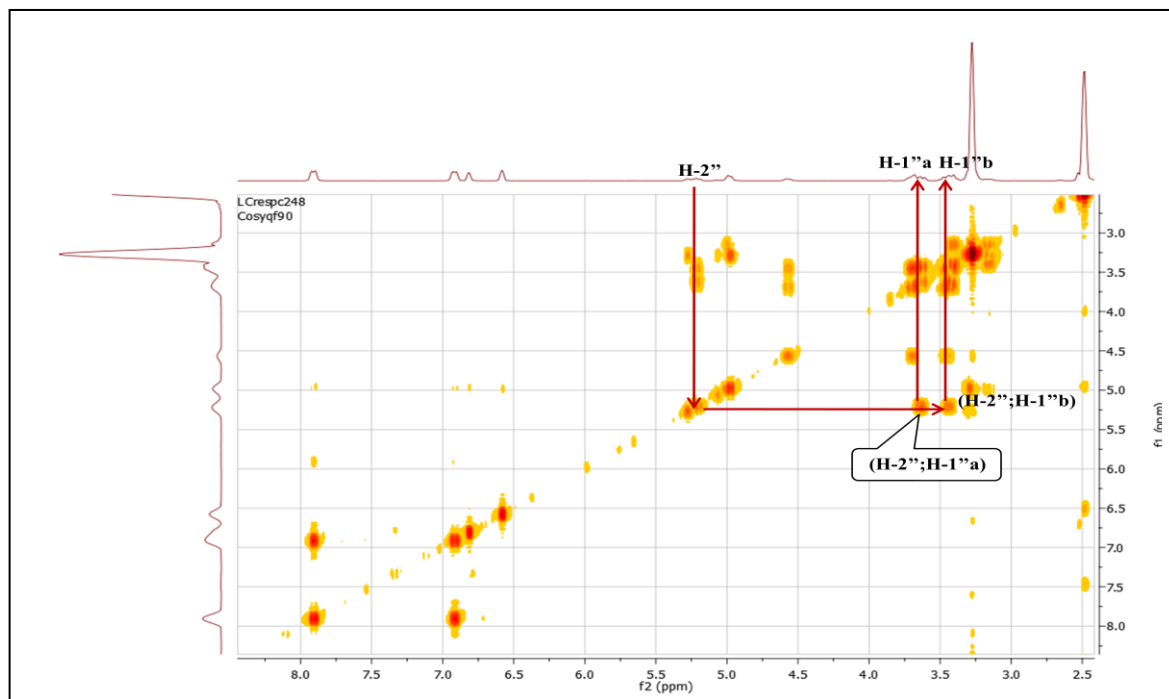
Cette analyse permet ainsi de localiser le C-4 à  $\delta_C = 182,1$  ppm grâce à la corrélation entre ce carbone et le proton H-3.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.88.** Étalement du spectre HMBC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

Sur le spectre COSY (spectre III.89), les deux protons du groupement  $\text{CH}_2$  ( $\delta_{\text{H}} = 3,44$  ;  $3,63$  ppm) montre deux taches de corrélations avec le proton résonant à  $\delta_{\text{H}} = 5,21$  ppm sous forme de triplet. Nous donnerons le numéro 1'' au groupement  $\text{CH}_2$  et 2'' au carbone porteur du proton à  $\delta_{\text{H}} = 5,21$  ppm ( $\delta_{\text{C}} = 121,88$  ppm). Le déplacement chimique de ce dernier C-2'' suppose qu'il est un carbone éthylénique.

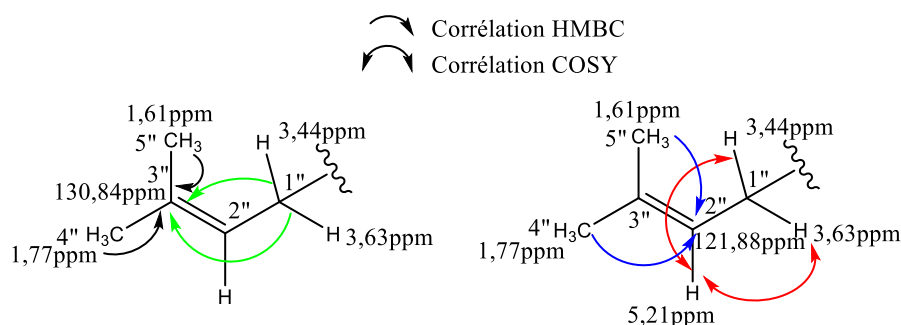


**Spectre III.89.** Spectre COSY (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

## Chapitre III. Résultats et discussions

Revenant aux spectres HMBC (spectre III.90 et III.91), les protons du groupement 1''-CH<sub>2</sub> corrélient avec un carbone quaternaire et éthylénique vu son déplacement chimique  $\delta_C = 130,8$  ppm que nous numérotions 3''. Par ailleurs, les protons des deux groupements méthyles ( $\delta_H = 1,77$  ; 1,61 ppm) montrent deux taches de corrélation avec le carbone quaternaire C-3''. Ces corrélations laissent supposer qu'ils sont tous les deux portés par ce carbone quaternaire vu leur multiplicité. Nous numérotions les méthyles 4'' et 5'' respectivement. Ces deux derniers 4''-CH<sub>3</sub> et 5''-CH<sub>3</sub> montrent également des taches de corrélation avec le carbone attribué à C-2'' à  $\delta_C = 121,8$  ppm.

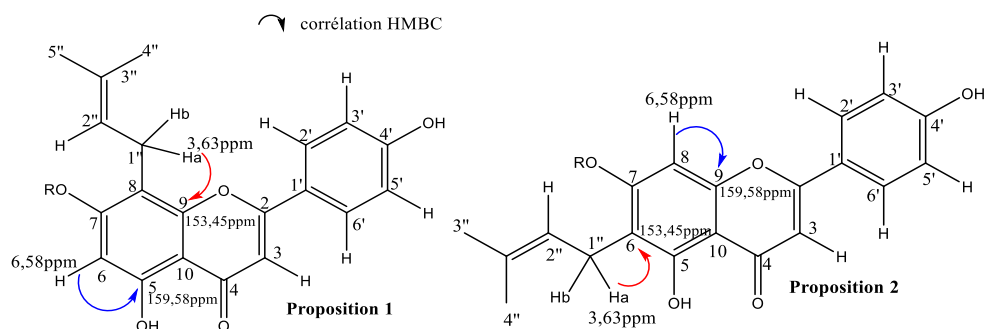
Ces observations permettent de confirmer la présence d'un groupement prényle de type 3,3-DMA dans cette molécule. Les corrélations de cette entité sont reportées dans la figure III.40



**Figure III.38.** Corrélations COSY et HMBC de l'entité 3,3-DMA présente dans le composé **Rs14**

Sur le même spectre HMBC (spectre III.96) le proton H-1''a à  $\delta_H = 3,63$  ppm corrélie avec un carbone oxygéné à  $\delta_C = 153,4$  ppm et ne montre aucune corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 159,5$  ppm alors que le proton à  $\delta_H = 6,58$  ppm corrélie avec ce carbone oxygéné à  $\delta_C = 159,5$  ppm et ne montre aucune corrélation avec l'autre carbone à  $\delta_C = 153,4$  ppm.

L'ensemble de ces analyses permet de proposer deux structures partielles représentées dans la figure III.41

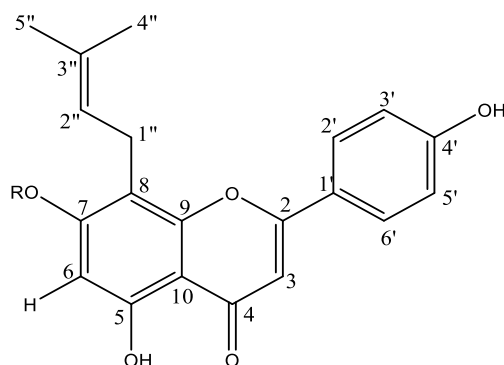


**Figure III.39.** Structures partielles proposées du composé **Rs14**

### Chapitre III. Résultats et discussions

Une recherche bibliographique prouve que quelque soit la proposition de la position du groupement prényle en 6 ou 8, le C-5 soit toujours plus déblindé que le C-9 [58] et donc en basant sur cette information les carbones à  $\delta_C = 153,4$  ppm et  $\delta_C = 159,5$  ppm sont attribués aux C-9 et C-5 respectivement. À partir de cette attribution et les corrélations observées sur le spectre HMBC (spectre III.95), on peut conclure que la position 6 est hydrogénée et la position 8 est substituée par le groupement prényle de type 3,3-DMA.

Ces résultats permettent de confirmer la structure partielle suivante :



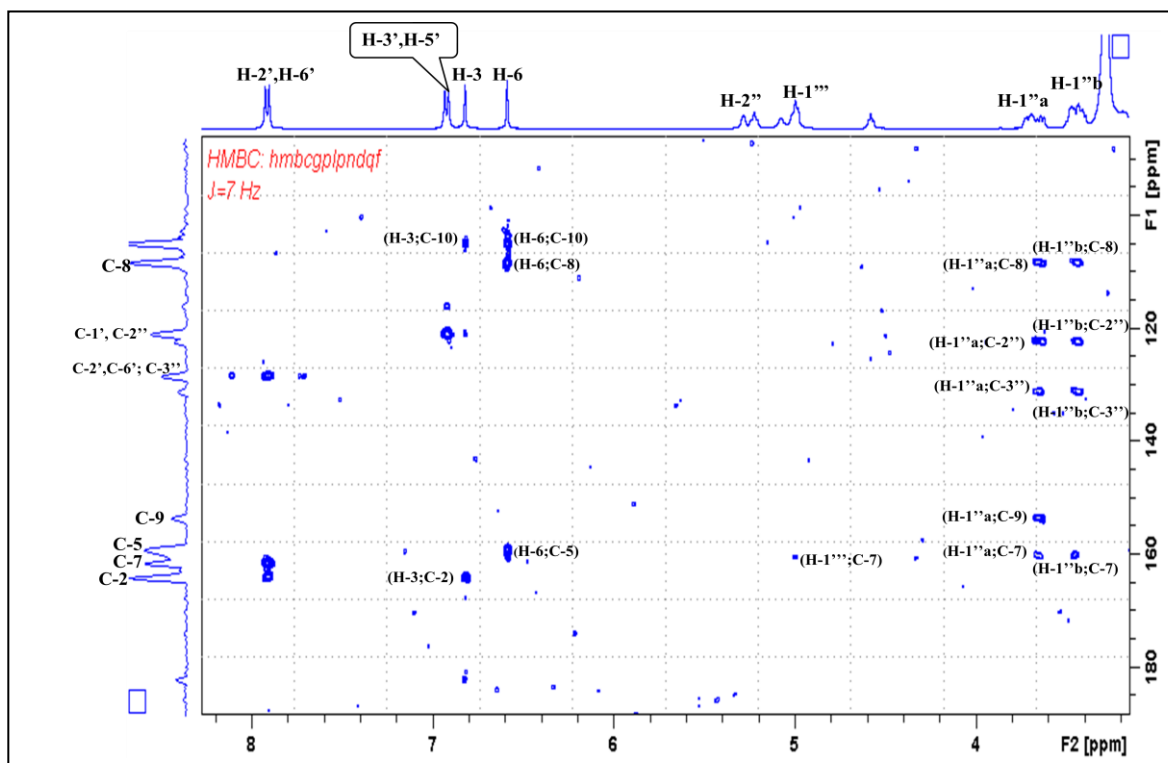
**Figure III.40.** Structure partielle du composé **Rs14**

Par ailleurs, les protons H-6 et H-3 corrélient avec un carbone quaternaire à  $\delta_C = 104,7$  ppm qui est le C-10.

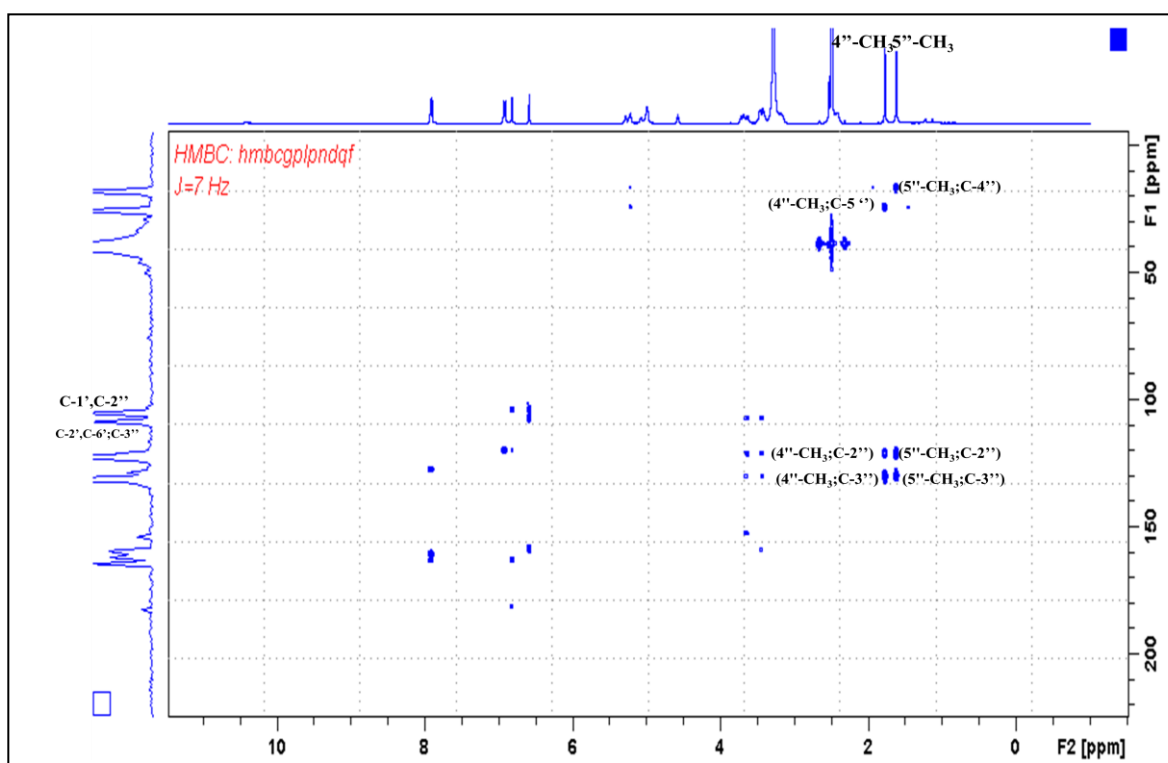
D'autre part les deux protons H-1''a, H-1''b à  $\delta_H = 3,44$  et  $3,63$  ppm présentent deux taches de corrélation avec un carbone à  $\delta_C = 108,4$  ppm qui est le C-8.

Toujours sur le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre III.95) on observe une tache de corrélation entre H-1''b et le carbone à  $\delta_C = 160,0$  ppm attribuable à C-7.

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.90. Étalement du spectre HMBC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

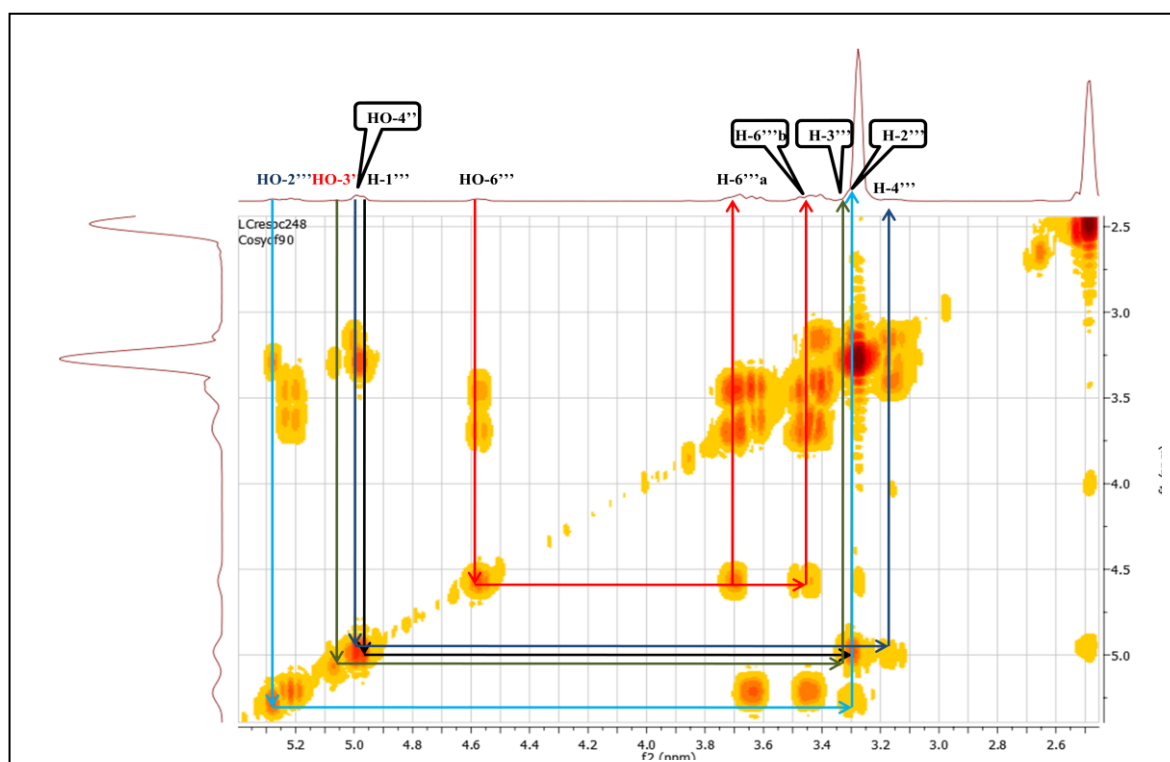


Spectre III.91. Étalement du spectre HMBC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**



## Chapitre III. Résultats et discussions

Revenant sur le spectre relatif à l'expérience COSY (spectre III.92) qui nous permet l'identification de l'unité osidique : le proton anomérique H-1'' à  $\delta_H = 5,12$  montre une tache de corrélation avec le signal d'un proton très proche à  $\delta_H = 3,30$  ppm attribuable au proton H-2'' du sucre. Toujours sur le spectre relatif à l'expérience COSY, ce proton corrèle avec le proton résonant à  $\delta_H=3,29$  ppm attribuable à H-3'' et permet la localisation de OH-2'' à  $\delta_H=5,27$  ppm. Ensuite ce dernier corrèle avec un proton sous forme d'un multiplet à  $\delta_H =3,17$  ppm attribuable à H-4'' et avec le proton du groupement hydroxyle à  $\delta_H = 5,07$  ppm attribué au OH-3''.

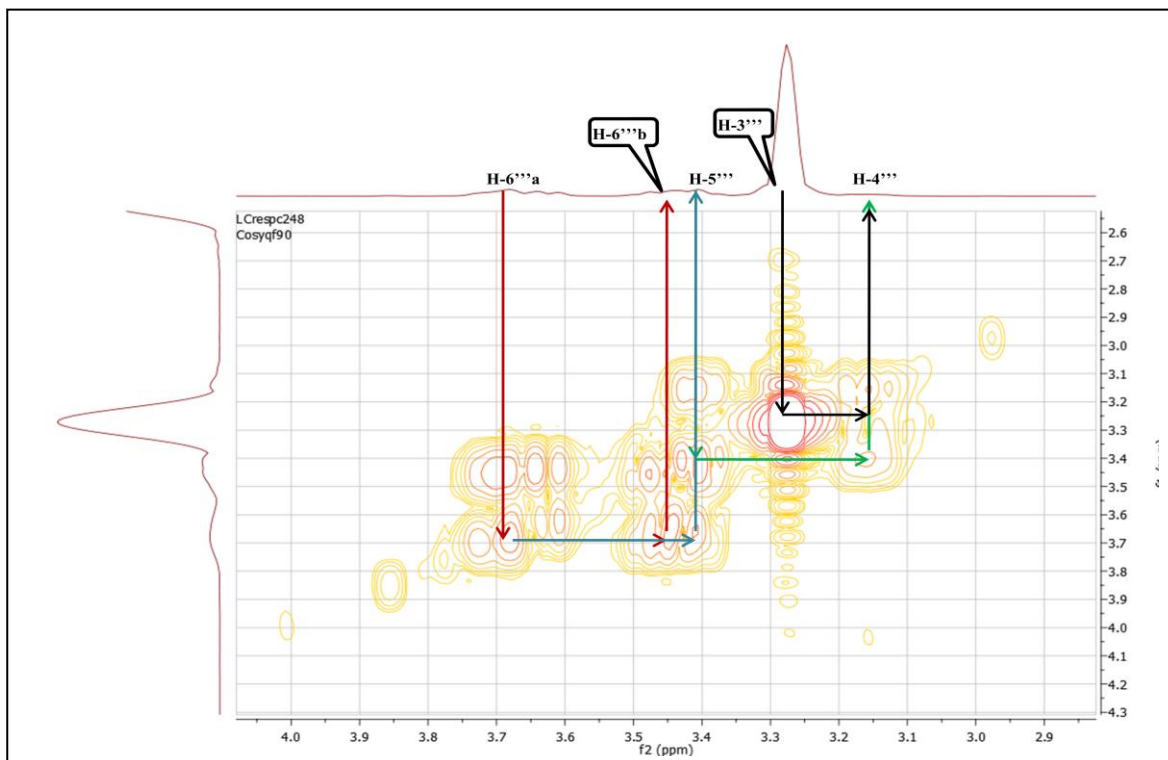


**Spectre III.92.** Étalement du spectre COSY (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

Toujours sur les spectres COSY (spectre III.92 et III.93), le proton H-4'' permet de localiser OH-4'' à  $\delta_H = 5,00$  ppm et H-5'' à  $\delta_H = 3,40$  ppm sous forme d'un multiplet.

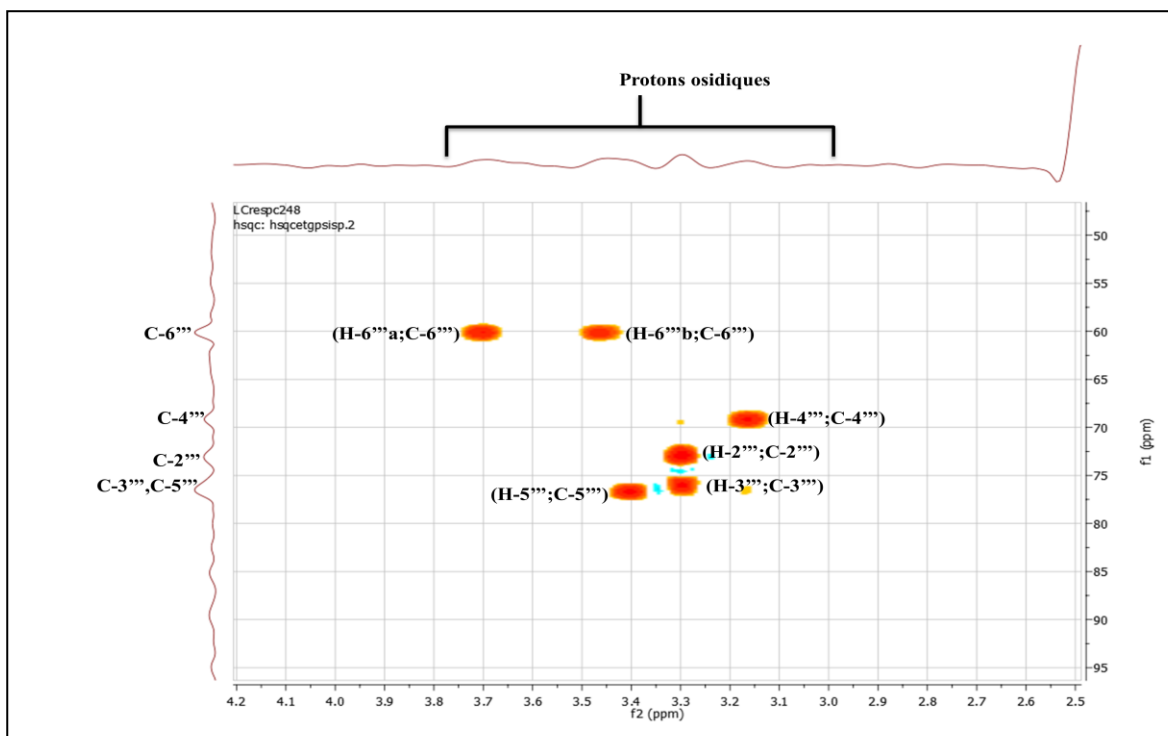
- le proton H-5'' corrèle avec le proton d'intégration 1H à  $\delta_H = 3,70$  ppm ( $J=11,0$  ; 3,8 Hz) sous forme de doublet de doublet attribuable au proton H-6''a. le H-6''a corrèle également avec un proton à  $\delta_H = 3,46$  ppm sous forme de multiplet attribuable au proton H-6''b du sucre. Cette attribution de H-6''a, H-6''b permet la localisation de OH-6'' à  $\delta_H = 4,57$  ppm.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.93.** Étalement du spectre COSY (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

Par ailleurs, les atomes de carbone de la partie glycosidique sont attribués en analysant le spectre HSQC (spectre III.94): C-6''' à  $\delta_C = 60,1$  ppm, C-5''' à  $\delta_C = 76,6$  ppm, C-4''' à  $\delta_C = 69,17$  ppm, C-3''' à  $\delta_C = 76,0$  ppm et C-2''' à  $\delta_C = 73,0$  ppm.



**Spectre III.94.** Étalement du spectre HSQC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs14**

### Chapitre III. Résultats et discussions

La valeur de la constante de couplage du proton anomérique et la valeur du déplacement chimique de son carbone indiquent une jonction -O- $\beta$ -glycosidique. La valeur 7,3 Hz de la constante de couplage, indique également une orientation axiale du proton H-2'' du groupement glycosylé.

D'après la valeur de déplacement chimique des carbones et toutes les données trouvées et par comparaison avec la littérature [58], l'entité osidique est définie comme étant le -O-  $\beta$ -glucose.

Revenant sur le spectre HMBC (spectre III.90), on observe la présence d'une autre tache de corrélation entre le proton anomérique et le carbone C-7 ce qui permet de localiser le glucose en position 7.

L'ensemble des données précédentes nous a permis d'identifier le composé **Rs14**, c'est la **6-prenylapigenin 7-O- $\beta$ -glucopyranoside** connu auparavant comme étant un métabolite synthétisé par une transformation microbienne d'un substrat par une réaction de glycosylation en utilisant le microorganisme *Mucor hiemalis* [77]. Ce composé est donc décrit pour la première fois comme un produit isolé à partir d'une source naturelle et un nouveau produit pour le genre *Retama*.

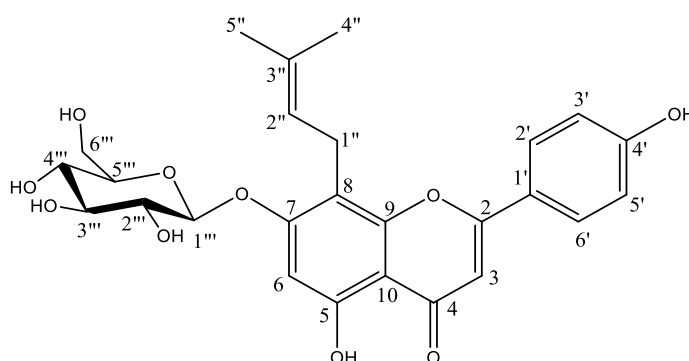


Figure III.41. 6-prenylapigenin 7-O- $\beta$ -glucopyranoside

Les données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et RMN 2D HSQC, HMBC sont reportés dans le tableau III.18

Tableau III.18. Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 400MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  HSQC et HMBC du composé **Rs14**

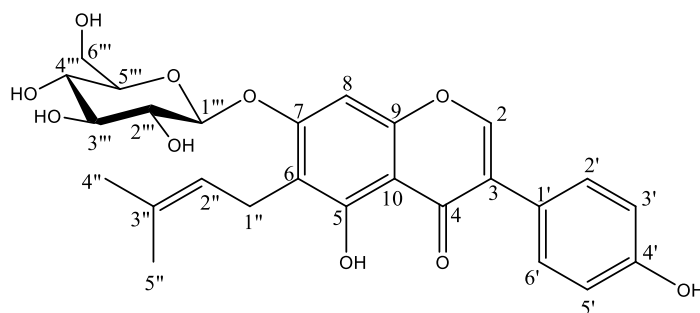
Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	-	-	-	164,0
3	6,80	1H	s	102,8
4	-	-	-	182,1
5	-	-	-	159,5
6	6,58	1H	s	97,5

## Chapitre III. Résultats et discussions

**Tableau III.18.** Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 400MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  HSQC et HMBC du composé **Rs14** (suite)

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
7	-	-	-	160,0
8	-	-	-	108,4
9	-	-	-	153,4
10	-	-	-	104,7
1'	-	-	-	120,8
2',6'	7,91	2H	d; $J= 8,0$ Hz	127,9
3',5'	6,91	2H	d; $J= 8,0$ Hz	115,5
4'	-	-	-	161,4
5-OH	12,94	1H	s	-
1''a	3,63	1H	m	21,0
1''b	3,44	1H	m	
2''	5,21	1H	t; $J= 6,8$ Hz	121,8
3''	-	-	-	130,8
4''-CH <sub>3</sub>	1,77	3H	s	17,3
5''-CH <sub>3</sub>	1,61	3H	s	25,9
<b>Glucose</b>				
1'''	4,99	1H	d; $J= 7,4$ Hz	101,2
2'''	3,30	1H	m	73,0
3'''	3,29	1H	m	76,0
4'''	3,16	1H	m	69,1
5'''	3,40	1H	m	76,6
6'''a	3,70	1H	dd; $J= 11,0; 3,8$ Hz	60,1
6'''b	3,46	1H	m	

### III.1.2.10. Élucidation structurale du composé Rs15 (Rsa 31-3)

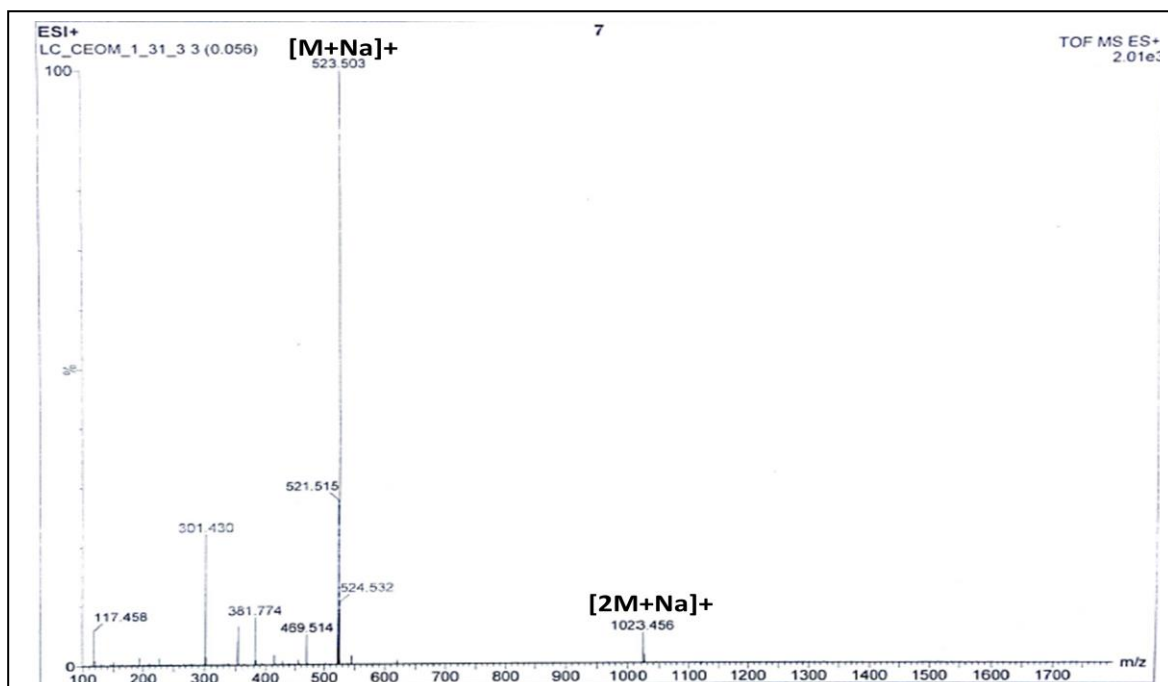


**Figure III.42.** Structure du composé **Rs15**

Le composé **Rs15** est soluble dans le méthanol.

Le spectre de masse réalisé en mode Electrospray positif TOF-MS-ESI(+) (spectre III.95) révèle la présence de deux pics pseudomoléculaire à  $m/z = 523,503$  Da  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  et  $m/z = 1023,456$  Da  $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ , soit une masse moléculaire égale à 500 Da.

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.95.** TOF/MS en mode positif du composé **Rs15**

L'analyse du spectre de RMN  $^1\text{H}$  (spectre III.96) et son étalement (spectre III.97) enregistré dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$  du composé **Rs15** montre la présence des signaux dans la zone des protons aromatiques :

- un singulet à  $\delta_{\text{H}}=8,16$  ppm d'intégration 1H attribuable au proton H-2 caractérisant la structure d'une isoflavone.
- deux doublets d'intégration 2H chacun, à  $\delta_{\text{H}} = 7,41$  ppm et à  $\delta_{\text{H}} = 6,88$ ppm ( $J= 8,5$  Hz), attribuables à H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement indiquant ainsi une substitution du cycle B en position 4'.

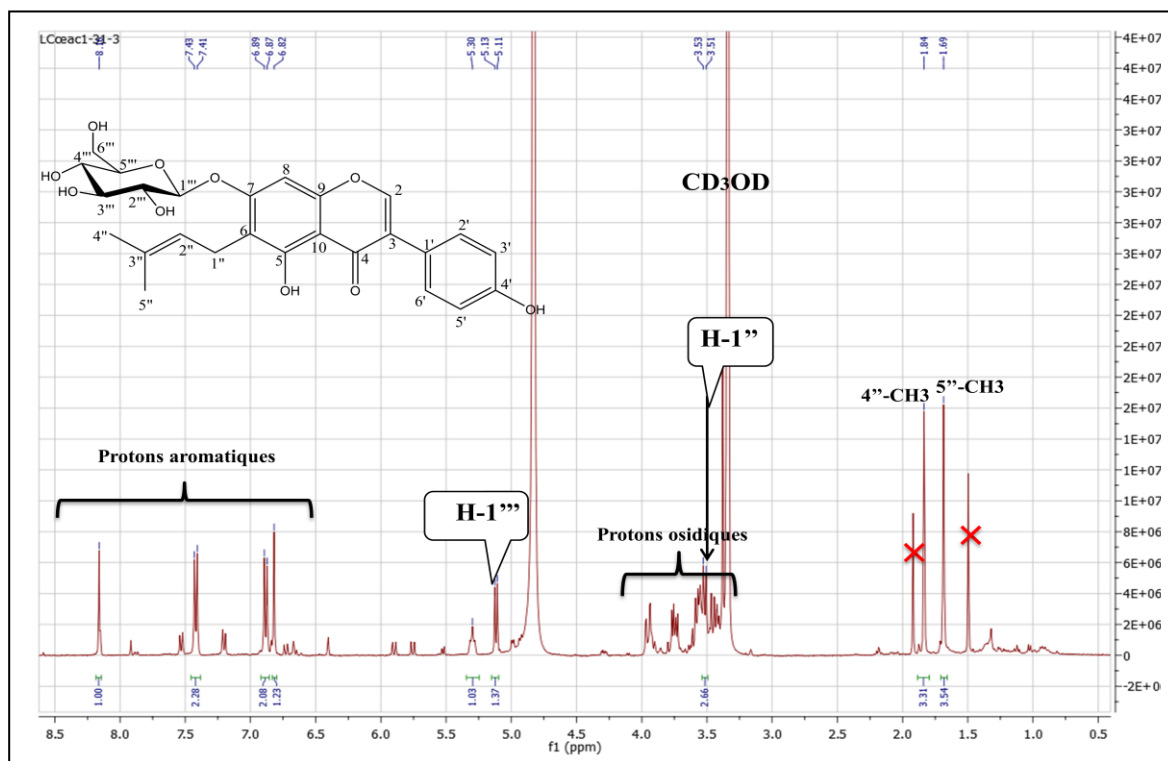
- un singulet à  $\delta_{\text{H}}= 6,81$ ppm d'intégration 1H correspond au proton H-8 ou H-6 du cycle A.

La présence de ce dernier signal sur le spectre, indique une substitution des positions 5,6 et 7 ou des positions 5,7 et 8 du cycle A.

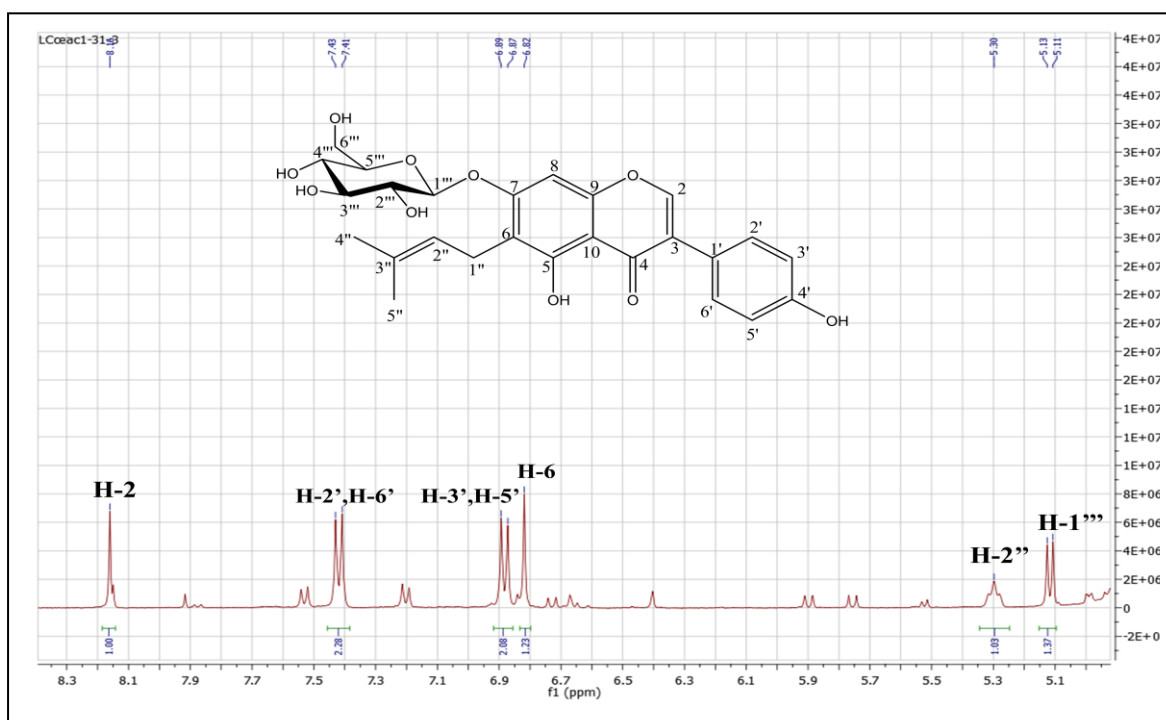
Sur le même spectre, on remarque la présence des signaux qui caractérisent un groupement prényle de type 3,3-DMA :

- un multiplet d'intégration 2H à  $\delta_{\text{H}} = 3,51$  ppm attribuable au proton H-1".
- un triplet d'intégration 1H à  $\delta_{\text{H}} = 5,29$  ppm ( $J = 7,1$  Hz) attribuable au proton H-2".
- deux singulets d'intégration 3H chacun à  $\delta_{\text{H}} = 1,83$  ppm et  $\delta_{\text{H}} = 1,68$  ppm indiquant la présence de deux groupements méthyle en position C-3" numérotés 4"- $\text{CH}_3$  et 5"- $\text{CH}_3$  respectivement.

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.96. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400MHz) du composé **Rs15**



Spectre III.97. Étalement du spectre RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400MHz) du composé **Rs15**

L'étude du spectre de corrélation HSQC (spectre III.98) permet d'effectuer les attributions suivantes :

## Chapitre III. Résultats et discussions

Une tache de corrélation entre H-2 et un atome de carbone qui ne peut être que C-2 à  $\delta_C = 154,7$  ppm.

Une tache de corrélation entre H-2', H-6' et les atomes de carbone C-2' et C-6' permettant ainsi leur localisation à  $\delta_C = 130,9$  ppm.

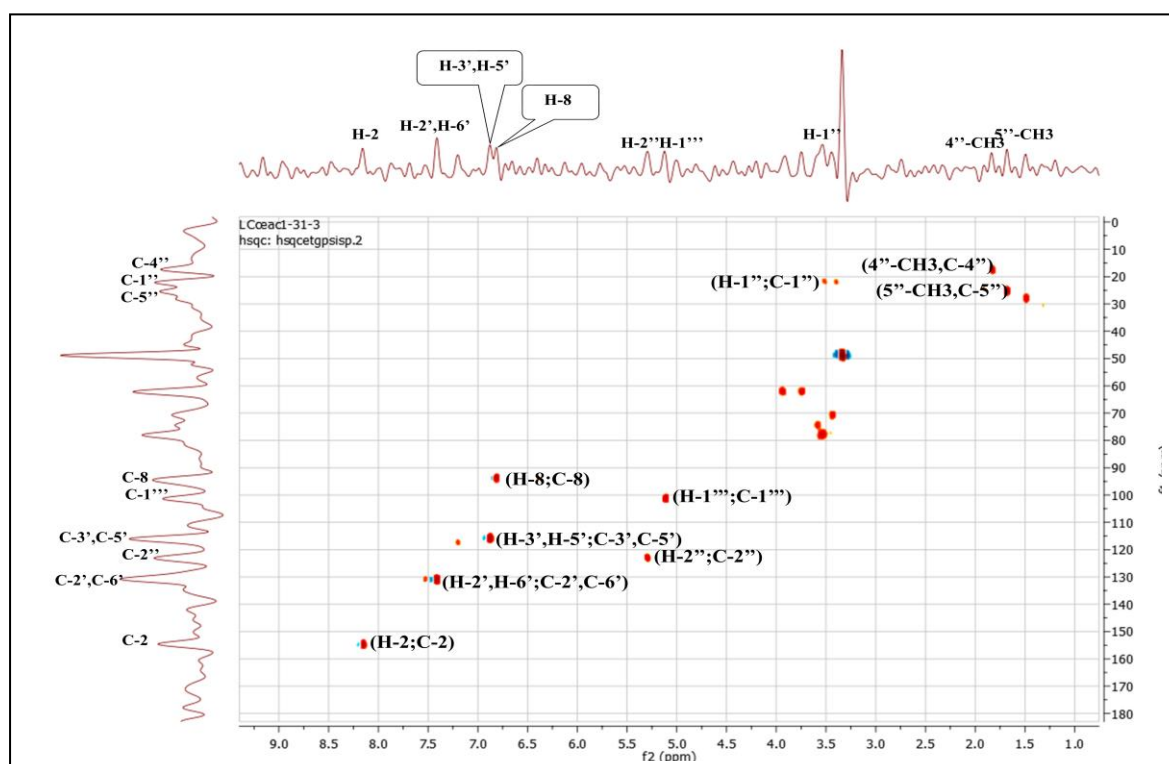
De même, une tache de corrélation entre H-3', H-5' et les atomes de carbones C-3' et C-5' permettant leur localisation à  $\delta_C = 115,8$  ppm.

Une tache de corrélation entre le proton à  $\delta_H = 6,81$  ppm et le carbone à  $\delta_C = 93,8$  ppm, qui permet l'attribution de ce carbone à son proton.

Sur le même spectre, nous avons une tache de corrélation entre les protons H-1'' et l'atome de carbone à  $\delta_C = 21,0$  ppm qui ne peut être que le C-1''.

Une tache de corrélation entre H-2'' et un atome de carbone à  $\delta_C = 123,0$  ppm qui est le C-2''.

Ce même spectre permet l'attribution des carbones des deux méthyles, soient les protons du méthyle à  $\delta_H = 1,83$  ppm et l'atome de carbone à  $\delta_C = 17,6$  ppm qui est le C-4'', et les protons du méthyle à  $\delta_H = 1,68$  ppm et l'atome de carbone à  $\delta_C = 25,3$  ppm qui est le C-5''.



**Spectre III.98.** Étalement du spectre HSQC (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) du composé **Rs15**

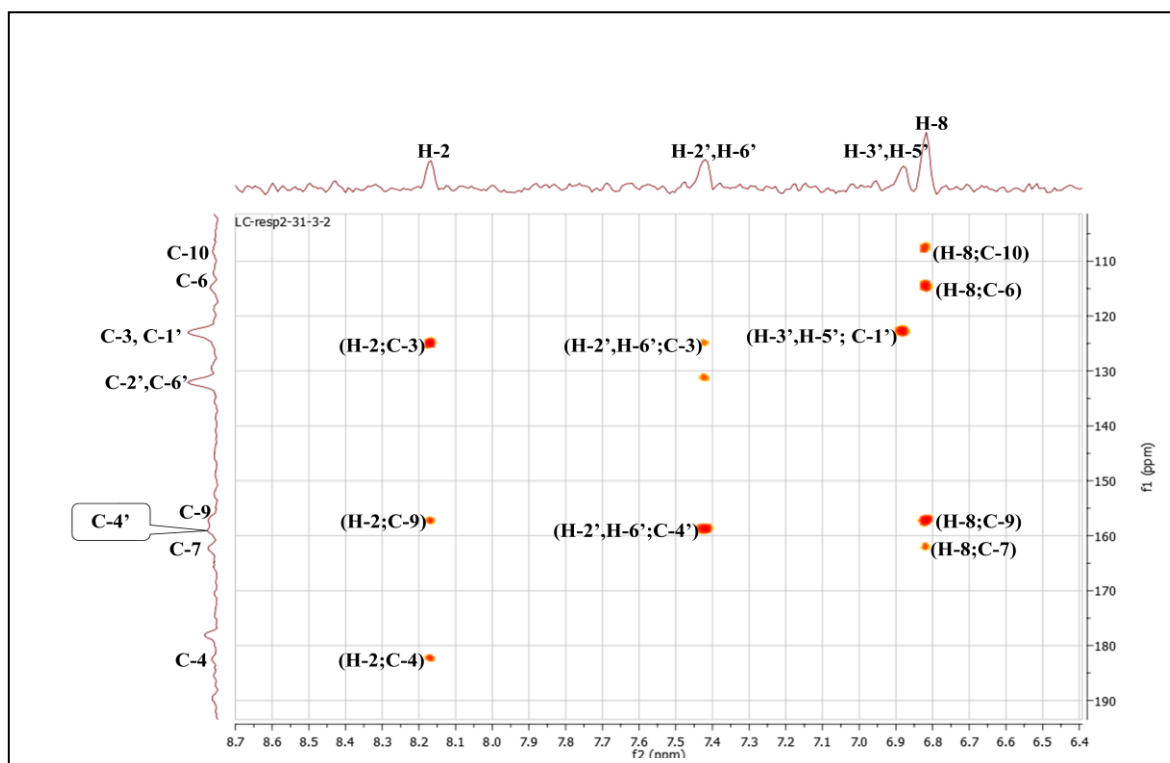
L'étude des spectres HMBC (spectre III.99 et III.100) permet facilement d'attribuer les carbones quaternaires à leurs signaux respectifs : C-4 à  $\delta_C = 182,2$  ppm, C-4' à

### Chapitre III. Résultats et discussions

$\delta_C = 158,7\text{ppm}$ , C-9 à  $\delta_C = 157,2\text{ppm}$ , C-3'' à  $\delta_C = 130,2\text{ ppm}$ , C-1' à  $\delta_C = 122,8\text{ ppm}$ , C-3 à  $\delta_C = 124,9\text{ ppm}$  et C-10 à  $\delta_C = 107,7\text{ ppm}$ .

Sur les mêmes spectres HMBC, le proton du cycle A résonant sous forme de singulet à  $\delta_H = 6,81\text{ ppm}$  donne quatre taches de corrélation, la première avec le carbone C-10 à  $\delta_C = 107,7\text{ ppm}$ , la deuxième avec un carbone oxygéné à  $\delta_C = 162,1\text{ ppm}$  qui ne peut être que le C-7, la troisième avec le carbone substitué par le groupement prényle à  $\delta_C = 114,6\text{ ppm}$  et la quatrième avec le carbone C-9 à  $\delta_C = 157,2\text{ ppm}$  et à partir de cette dernière corrélation on peut déduire que ce proton résonnant à  $\delta_H = 6,81\text{ ppm}$  est positionné en C-8.

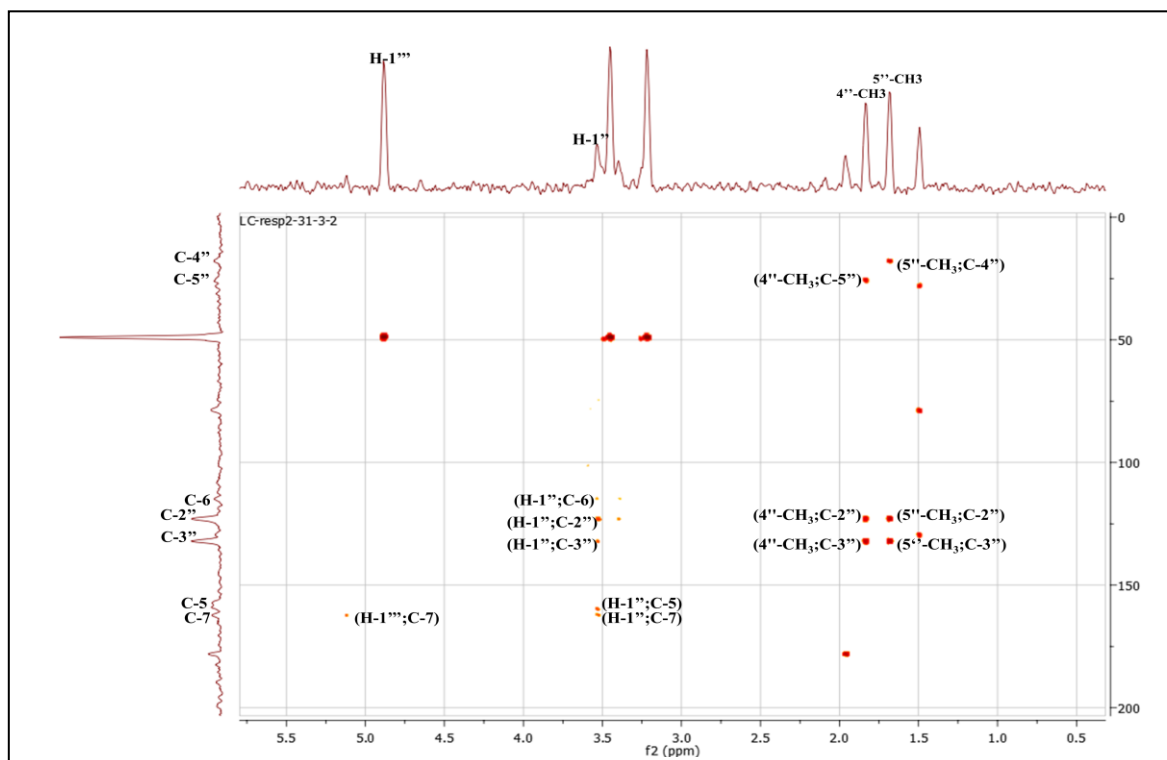
- les deux protons H-1'' donnent cinq taches de corrélation avec les carbones C-2'' à  $\delta_C = 123,0\text{ ppm}$ , avec C-3'' à  $\delta_C = 130,2\text{ ppm}$ , avec C-7 à  $\delta_C = 162,1\text{ ppm}$  et avec deux atomes de carbone à  $\delta_C = 159,83\text{ ppm}$  et  $\delta_C = 114,61\text{ ppm}$  qui ne peuvent être que les carbones C-5 et C-6 respectivement. Ces données confirment que la position 8 est hydrogénée et le groupement prényle est attaché à la génine en position C-6.



**Spectre III.99.** Étalement du spectre HMBC (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) du composé **Rs15**



## Chapitre III. Résultats et discussions



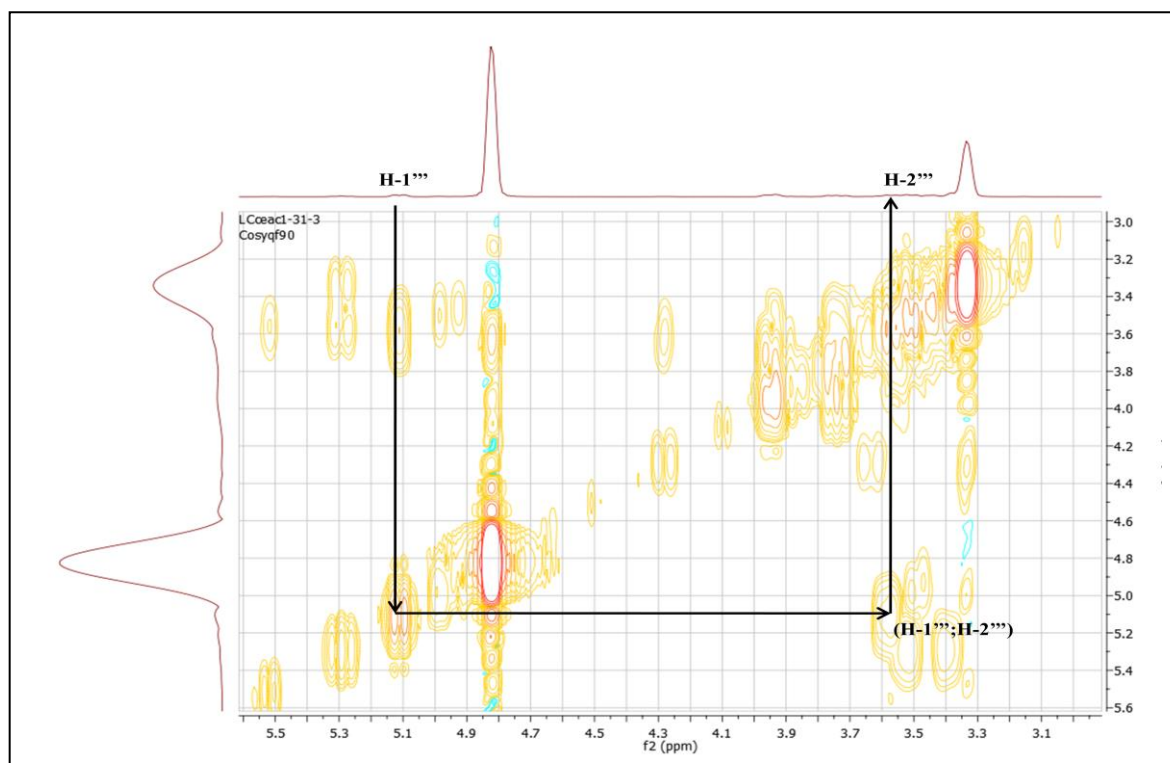
**Spectre III.100.** Étalement du spectre HMBC (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) du composé **Rs15**

Revenant aux spectres RMN <sup>1</sup>H (spectre III.96 et III.97), on remarque la présence d'un doublet à  $\delta_H = 5,12$  ppm d'intégration 1H ( $J = 7,4$  Hz) caractérisant le proton anomérique d'un glucose

Le spectre de l'expérience COSY (spectre III.101) permet l'identification des protons de l'unité osidique. À partir du proton anomère repéré à  $\delta_H = 5,12$  ppm, on relie les sept protons du glucose :

H-2''' à  $\delta_H = 3,58$  ppm (m), H-3''' à  $\delta_H = 3,54$  (m), H-4''' à  $\delta_H = 3,44$  ppm (m), H-5''' à  $\delta_H = 3,52$  ppm (d ;  $J = 9,2$  Hz), H- 6a''' à  $\delta_H = 3,94$  ppm (dd ;  $J = 2,0 ; 12,1$  Hz) et H- 6b''' à  $\delta_H = 3,74$  ppm (dd ;  $J = 5,7 ; 12,0$  Hz).

## Chapitre III. Résultats et discussions

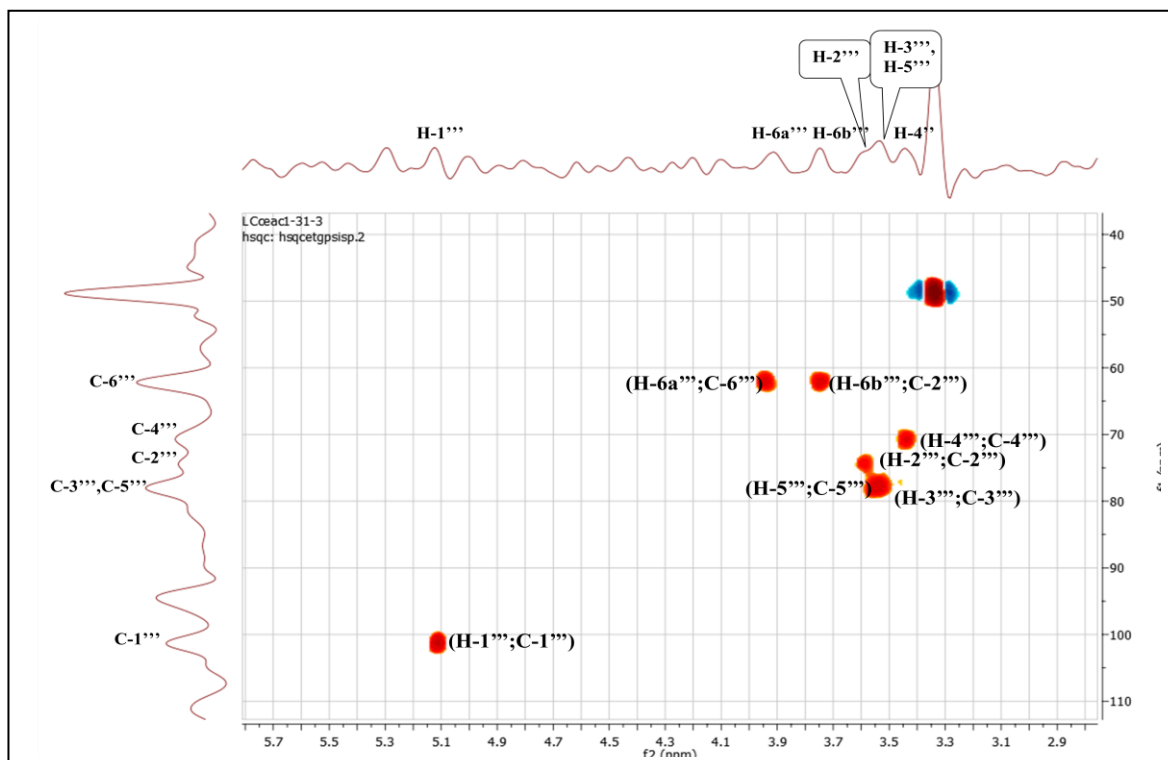


**Spectre III.101.** COSY (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) du composé **Rs15**

L'expérience HSQC (spectre III.102) permet d'attribuer tous les déplacements chimiques des carbones du glucose : C-1''' à  $\delta_C = 101,2\text{ppm}$ , C-2''' à  $\delta_C = 74,4\text{ppm}$ , C-3''' à  $\delta_C = 78,1\text{ppm}$ , C-4''' à  $\delta_C = 70,8\text{ppm}$ , C-5''' à  $\delta_C = 77,6\text{ppm}$ , C-6''' à  $\delta_C = 62,1\text{ppm}$ .

Il s'agit d'un glucose de configuration  $\beta$  et relié à l'aglycone par un pont oxygène comme l'indique la valeur de la constante de couplage  $J_{1'''-2'''} = 7,4\text{ Hz}$  et les valeurs des déplacements chimiques du proton anomère ( $\delta_H = 5,12\text{ ppm}$ ) et son carbone ( $\delta_C = 101,2\text{ppm}$ ) [78].

## Chapitre III. Résultats et discussions



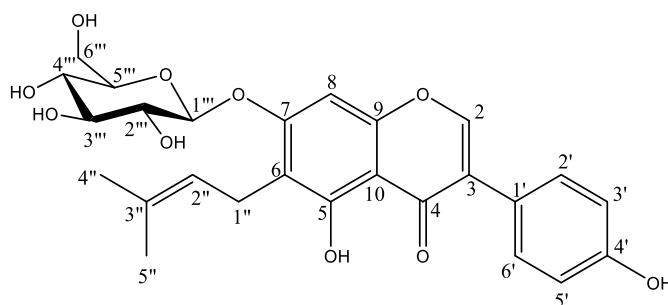
**Spectre III.102.** Étalement du spectre HSQC (CD<sub>3</sub>OD, 400MHz) du composé **Rs15**

La tache de corrélation observée sur le spectre HMBC entre H-1''' ( $\delta_H = 5,12\text{ppm}$ ) et le carbone C-7 ( $\delta_C = 162,1\text{ppm}$ ) permet de positionner ce sucre sur ce carbone.

En calculant la masse du composé **Rs15** et vu la valeur du déplacement chimique du carbone C-5, on peut déduire que la position 5 comporte un hydroxyle.

Tous les déplacements chimiques des protons et des carbones (tableau III.19) déterminés conjointement par les expériences COSY (spectre III.101), HSQC (spectre III.98 et III.102), HMBC (spectre III.99 et III.100) et la comparaison avec les données de la littérature [79], ont permis d'identifier le composé **Rs15** comme étant le **7-O-glucosyl wightone**, connu sous le nom **genistéone** représenté dans la figure III.31.

Une recherche bibliographique a montré que cette molécule est décrite auparavant dans la famille fabacée [79] mais elle n'a jamais été isolée du genre *Retama*.



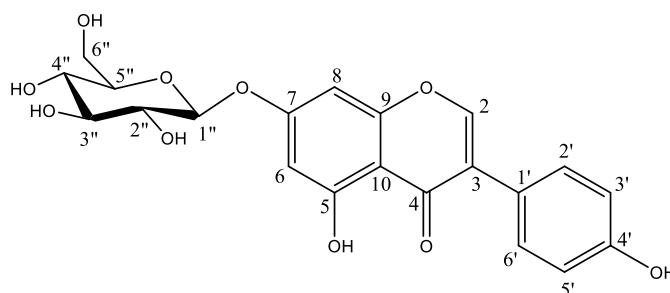
**Figure III.43. Genistéone**

## Chapitre III. Résultats et discussions

**Tableau III.19.** Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 400MHz) et RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs15**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	8,16	1H	s	154,7
3	-	-	-	124,9
4	-	-	-	182,2
5	-	-	-	159,8
6	-	-	-	114,6
7	-	-	-	162,1
8	6,81	1H	s	93,8
9	-	-	-	157,2
10	-	-	-	107,7
1'	-	-	-	122,8
2',6'	7,41	2H	d; $J= 8,5$ Hz	130,9
3',5'	6,88	2H	d; $J= 8,5$ Hz	115,8
4'	-	-	-	158,7
1''	3,51	2H	m	21,0
2''	5,29	1H	t; $J=7,1$ Hz	123,0
3''	-	-	-	132,2
4''-CH <sub>3</sub>	1,83	3H	s	17,6
5''-CH <sub>3</sub>	1,68	3H	s	25,3
<b>Glucose</b>				
1'''	5,12	1H	d; $J= 7,4$ Hz	101,2
2'''	3,58	1H	m	74,4
3'''	3,54	1H	m	78,1
4'''	3,44	1H	m	70,8
5'''	3,52	1H	d; $J= 9,2$ Hz	77,6
6'''a	3,94	1H	dd; $J= 2,0; 12,1$ Hz	62,1
6'''b	3,74	1H	dd; $J= 5,7; 12,0$ Hz	

### III.1.2.11. Éluclidation structurale du composé **Rs16**

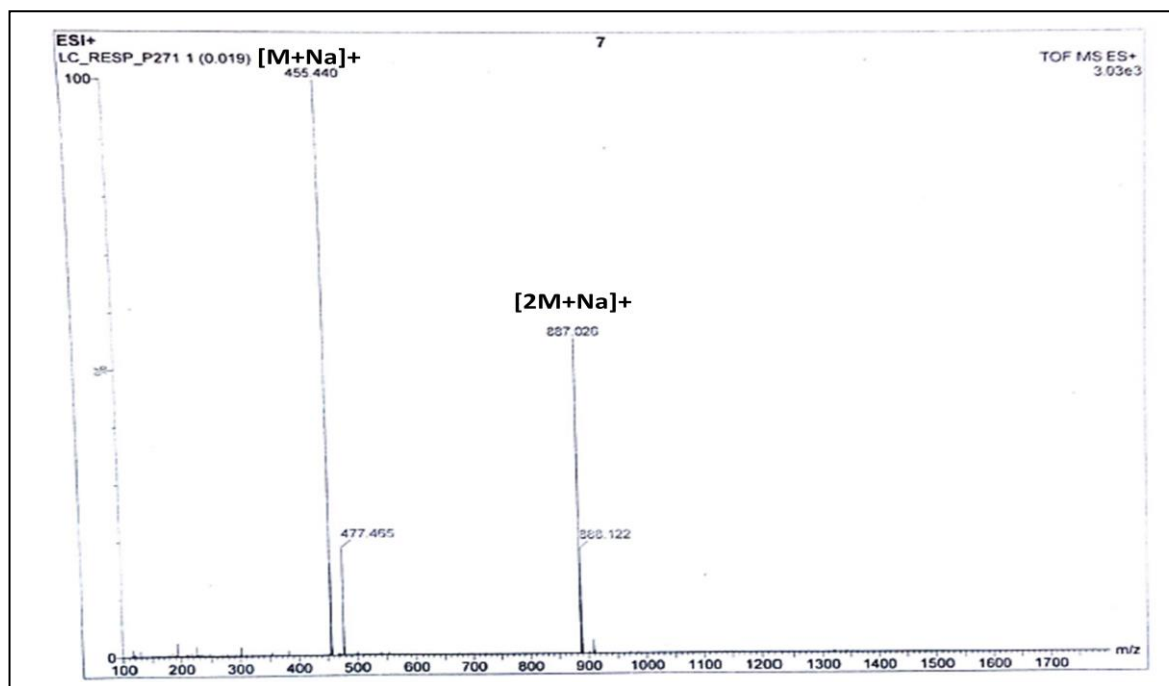


**Figure III.44.** Structure du composé **Rs16**

Le composé **Rs17** a été isolé sous forme d'une poudre blanche soluble dans le DMSO.

## Chapitre III. Résultats et discussions

Le spectre de masse réalisé en mode Electrospray positif TOF-MS-ESI(+) (spectre III.103) révèle la présence de deux pics pseudomoléculaire à  $m/z = 455,440$  Da  $[M+Na]^+$  et  $m/z = 887,026$  Da  $[2M+Na]^+$ , soit une masse moléculaire égale à 432 Da.



**Spectre III.103.** TOF/MS en mode positif composé **Rs16**

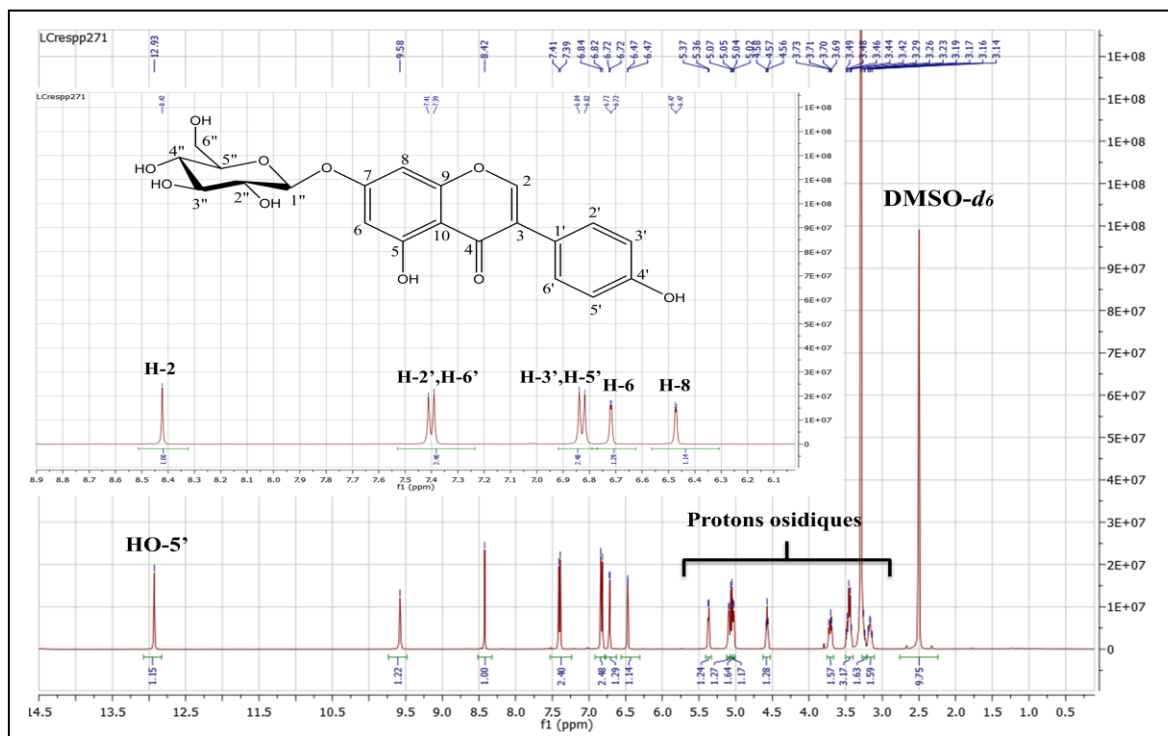
L'examen du spectre RMN  $^1H$  (spectre III.104) et son étalement (spectre III.105) enregistré dans le DMSO- $d_6$  montre la présence d'un ensemble de signaux caractérisant un squelette de type isoflavone glycosylé reconnaissable par :

- un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à  $\delta_H = 8,41$  ppm caractéristique d'un H-2 d'une isoflavone
- un doublet à  $\delta_H = 7,40$  ppm d'intégration 2H ( $J = 8,2$  Hz) caractéristique des protons en couplage ortho H-2' et H-6'.
- un doublet à  $\delta_H = 6,82$  ppm d'intégration 2H ( $J = 8,2$  Hz) caractéristique des protons en couplage ortho H-3' et H-5'.
- un doublet à  $\delta_H = 6,71$  ppm d'intégration 1H ( $J = 1,9$  Hz) caractéristique d'un proton en couplage métra attribuable à H-8.
- un doublet à  $\delta_H = 6,47$  ppm d'intégration 1H ( $J = 1,9$  Hz) caractéristique des protons en couplage métra attribuable à H-6.

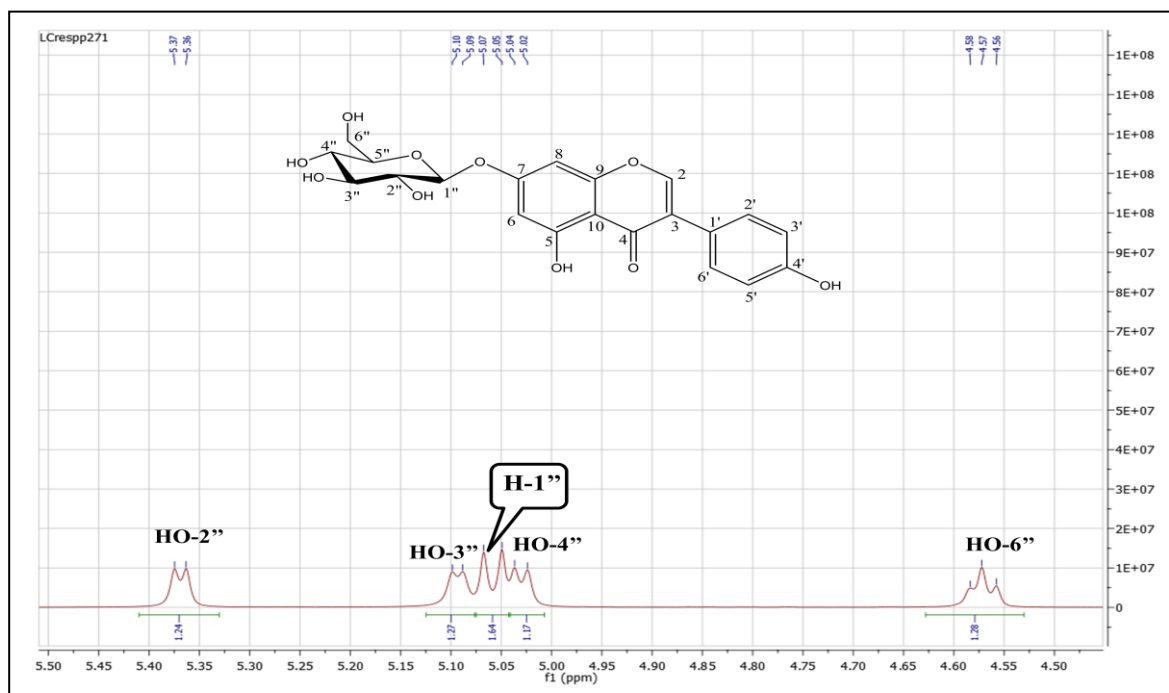
La présence de ces deux derniers signaux sur le spectre, indique une substitution des positions 5 et 7 du cycle A.

- un singulet large à  $\delta_H = 12,92$  ppm caractéristique du H d'un hydroxyle en position C-5.

## Chapitre III. Résultats et discussions



Spectre III.104. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400MHz) du composé **Rs16**



Spectre III.105. Étalement du spectre RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400MHz) du composé **Rs16**

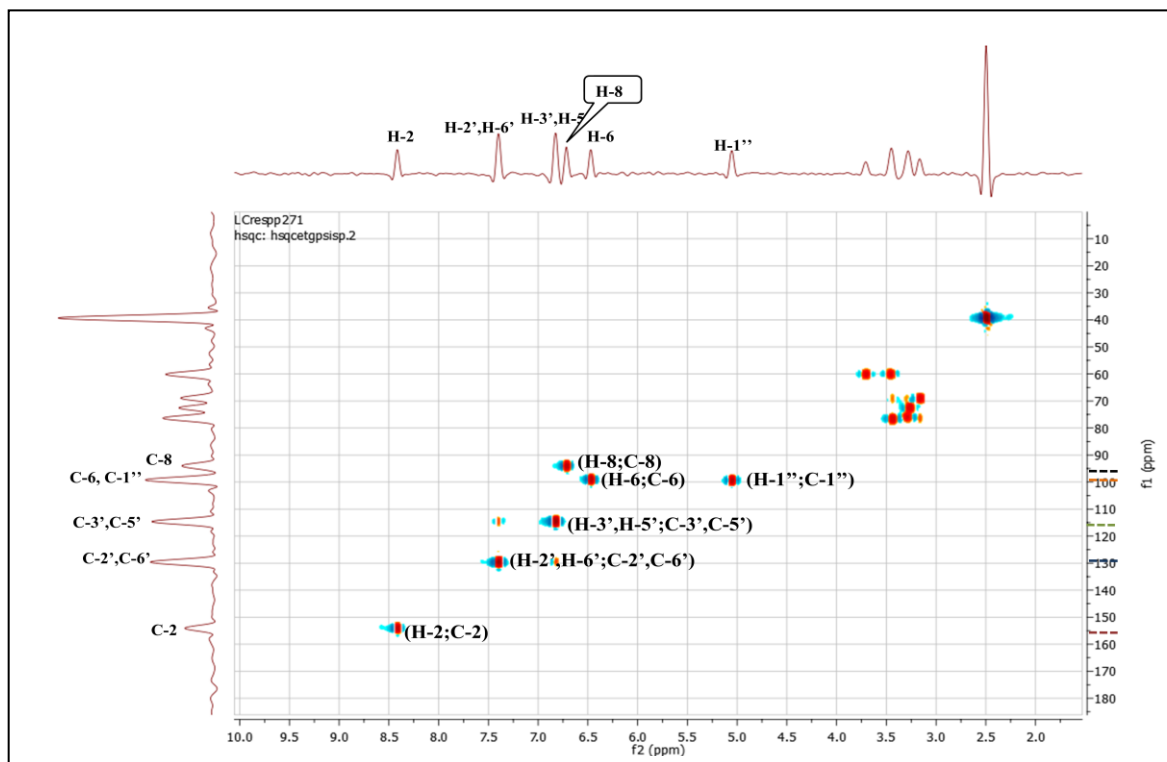
L'étude du spectre de corrélation HSQC (spectre III.106) permet d'effectuer les attributions suivantes :

- une tache de corrélation entre H-2 et un atome de carbone qui ne peut être que C-2 à  $\delta_{\text{C}} = 154,0$  ppm.

## Chapitre III. Résultats et discussions

- une tache de corrélation entre H-2', H-6' et les atomes de carbone C-2' et C-6' permettant ainsi leur localisation à  $\delta_C = 129,7$  ppm. De même une tache de corrélation entre H-3', H-5' et les atomes de carbone C-3' et C-5' permettant leur localisation à  $\delta_C = 114,7$  ppm.

Une tache de corrélation avec H-6 et H-8 permet l'attribution de C-6 et C-8 à  $\delta_C = 99,1$  ppm et  $\delta_C = 94,1$  ppm.



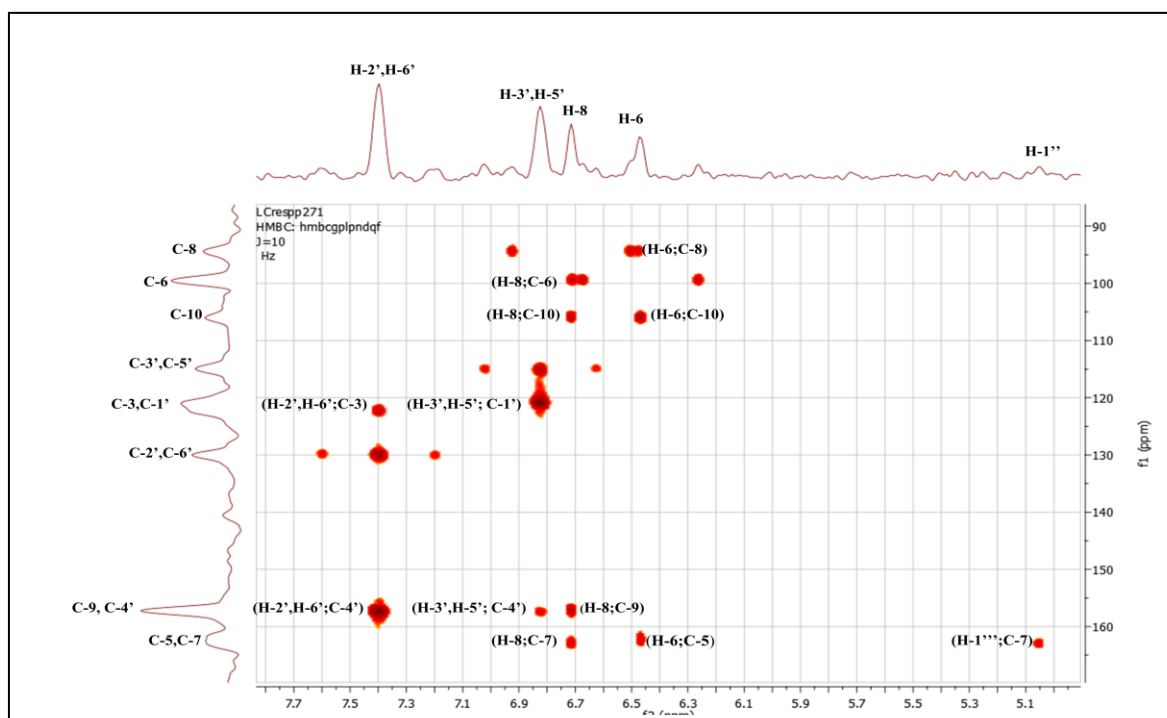
**Spectre III.106.** Étalement du spectre HSQC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs16**

L'étude du spectre relatif à l'expérience HMBC et son étalement (spectre III.107 et III.108) met en évidence les corrélations proton-carbone à longue distance, et permet de tirer les indications suivantes :

- le proton H-2 donne une tache de corrélation avec l'atome de carbone à  $\delta_C = 180,4$  ppm qui ne peut être que le C-4.
- les protons H-2'; H-6' et H-2 donnent deux taches de corrélation avec l'atome de carbone à  $\delta_C = 122,3$  ppm attribuable à C-3.
- les deux protons H-8 et H-2 donnent deux taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 156,9$  ppm attribuable à C-9.
- les deux protons H-8 et H-6 donnent deux taches de corrélation avec le carbone à  $\delta_C = 105,8$  ppm qui ne peut être que C-10.
- le proton H-8 donne une tache de corrélation avec un atome de carbone oxygéné à  $\delta_C = 162,8$  ppm attribuable à C-7.

## Chapitre III. Résultats et discussions

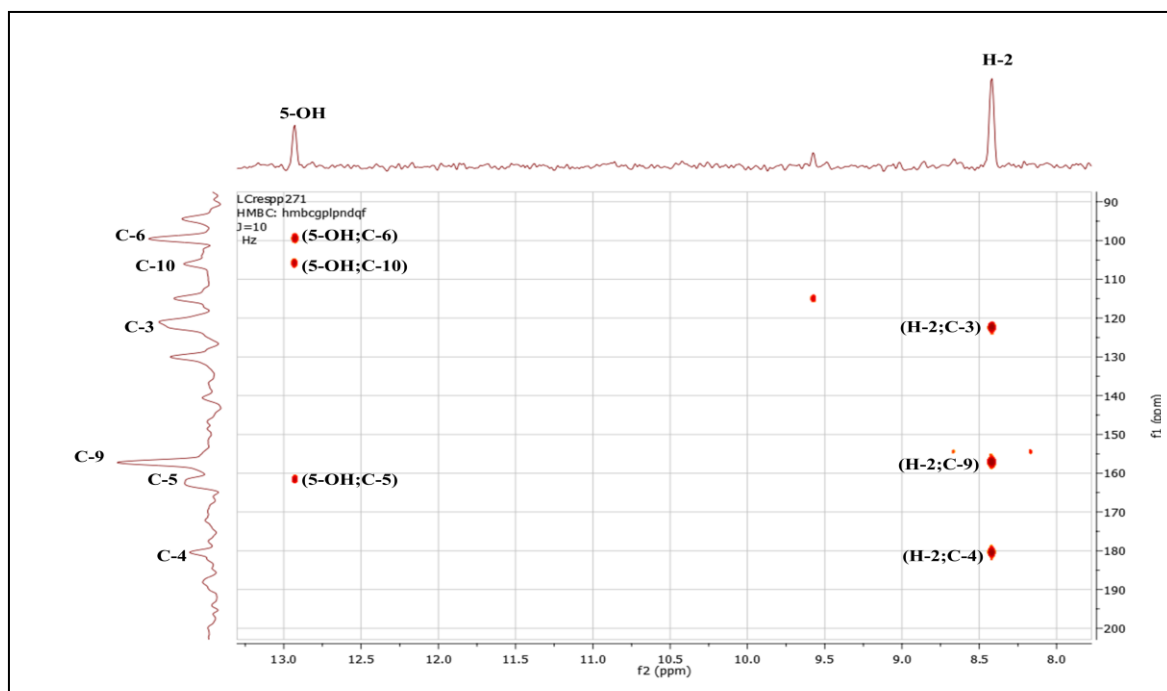
- le proton H-6 donne une tache de corrélation avec un autre atome de carbone oxygéné à  $\delta_C = 162,2$  ppm qui ne peut être que C-5.
- le proton H-3' ; H-5' montre une tache de corrélation avec l'atome de carbone à  $\delta_C = 120,7$  ppm attribuable à C-1'.
- les protons H-2' ; H-6' et H-3' ; H-5' donnent deux taches de corrélation avec l'atome de carbone à  $\delta_C = 157,2$  ppm attribuable à C-4'.
- le proton 5-OH montre trois taches de corrélation qui confirment les carbones C-6, C-10 et C-5 à  $\delta_C = 94,1$  ppm,  $\delta_C = 105,8$  ppm et  $\delta_C = 162,2$  ppm.



**Spectre III.107.** Étalement du spectre HMBC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs16**



## Chapitre III. Résultats et discussions



**Spectre III.108.** Étalement du spectre HMBC (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs16**

Revenant sur le spectre RMN 1H (spectre III.104 et III.105), on observe la présence d'un signal sous forme d'un doublet d'intégration 1H à  $\delta_H = 5,05$  ppm avec une constante de couplage ( $J=7,3$  Hz) caractérisant un proton anomérique H-1" d'une entité glycosidique. La valeur du déplacement chimique du proton ainsi que celle de son carbone  $\delta_C = 99,4$  ppm indique que cette entité est reliée à l'aglycone par un pont oxygène.

On observe également sur le spectre RMN 1H la présence de trois doublets d'intégration 1H chacun à  $\delta_H = 5,36$  ppm ( $J= 4,5$  Hz),  $\delta_H = 5,08$  ppm ( $J= 4,0$  Hz) et  $\delta_H = 5,02$  ppm ( $J= 5,0$  Hz) et un signal sous forme d'un triplet d'intégration 1H à  $\delta_H = 4,5$  ppm ( $J= 5,7$  Hz). Les valeurs des constantes de couplage de ces noyaux sont caractéristiques de couplages vicinaux de protons de groupements hydroxyles avec des groupements CH. Ces observations orientent vers la présence de quatre groupements hydroxyles dans l'entité sucre.

Les corrélations sur le spectre COSY (spectre III.109) permettent la localisation des protons et les groupements hydroxyles de la partie osidique comme suit :

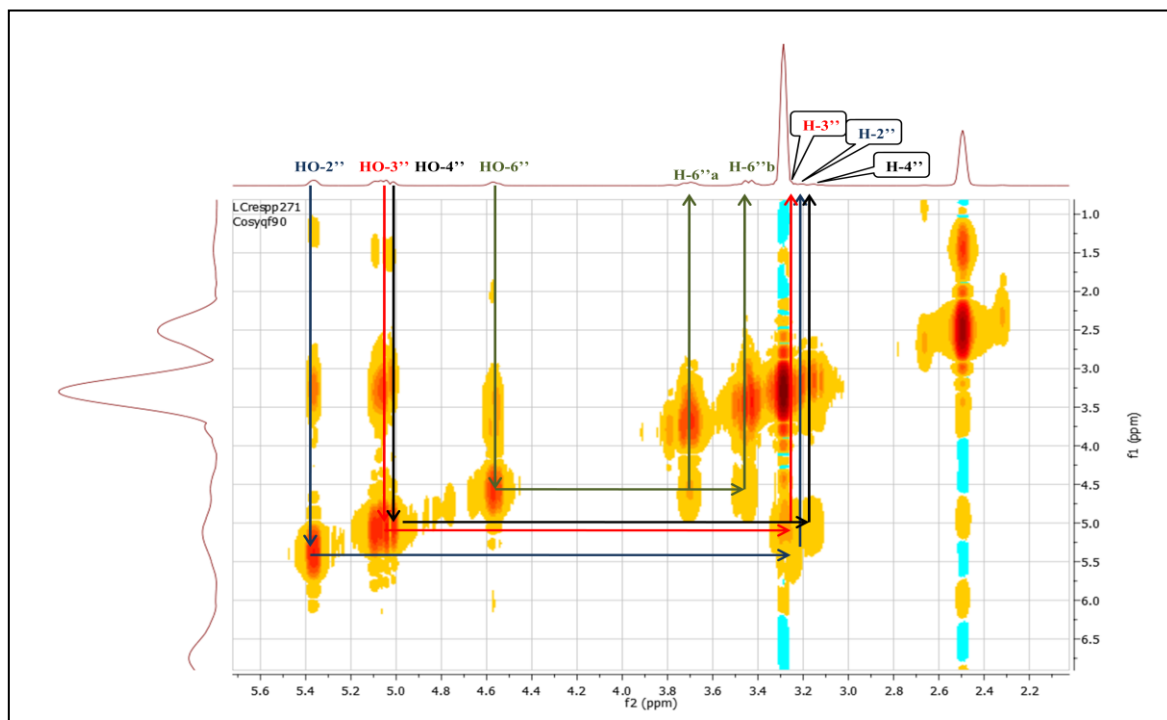
- le proton anomérique corrèle avec le signal à  $\delta_H = 3,24$  ppm sous forme d'un multiplet attribuable au proton H-2" du sucre.

Cette attribution de H-2" permet la localisation de OH-2" à  $\delta_H = 5,36$  ppm et H-3" à  $\delta_H = 3,27$  ppm sous forme d'un multiplet.

- l'attribution du proton H-3" permet la localisation de OH-3" à  $\delta_H = 5,08$  ppm et celle de H-4" à  $\delta_H = 3,15$  ppm sous forme d'un multiplet.

## Chapitre III. Résultats et discussions

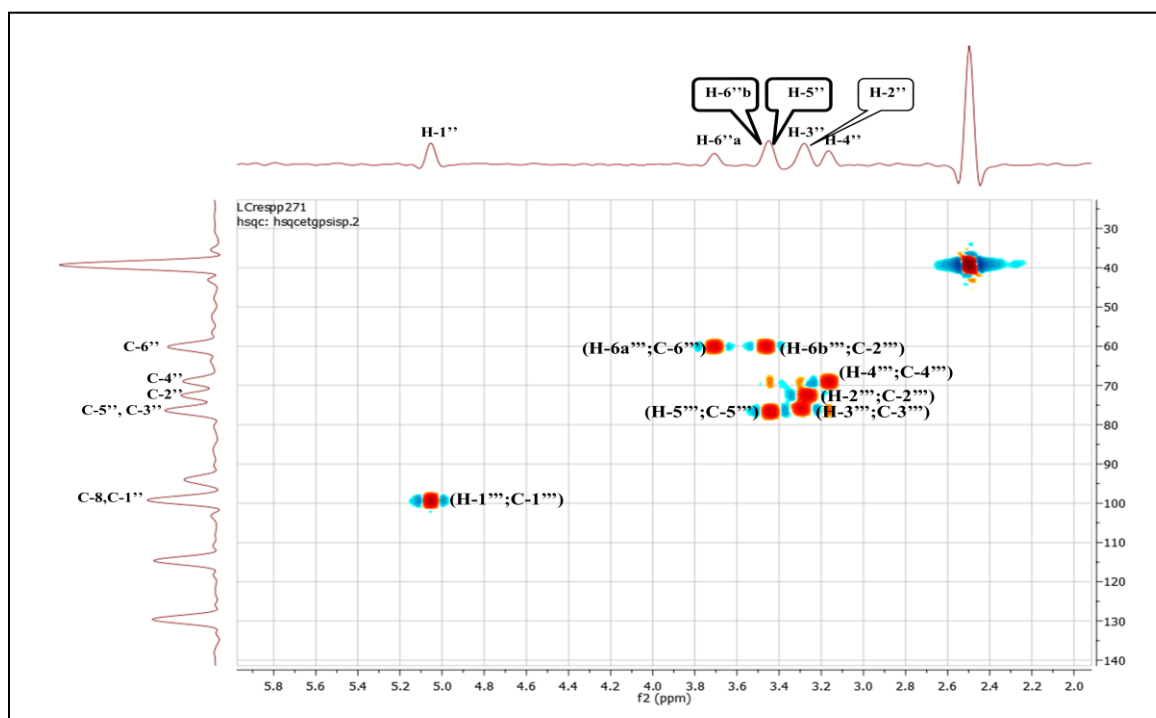
- le proton H-4'' permet de localiser OH-4'' à  $\delta_H = 5,02$  ppm et H-5''  $\delta_H = 3,44$  ppm sous forme d'un multiplet.
- un doublet de doublet d'intégration 1H à  $\delta_H = 3,70$  ppm ( $J=9,9$  ; 5,0 Hz) attribuable au proton H-6''a et un multiplet à  $\delta_H = 3,45$  ppm attribuable au proton H-6''b du sucre. Cette attribution de H-6''a, H-6''b permet la localisation de OH-6'' à  $\delta_H = 4,57$  ppm.



**Spectre III.109.** COSY (DMSO- $d_6$ , 400MHz) du composé **Rs16**

Par ailleurs, l'examen du spectre HSQC (spectre III.110) permet la localisation des carbones de la partie osidique : C-6'' à  $\delta_C = 60,1$  ppm, C-5'' à  $\delta_C = 76,6$  ppm, C-4'' à  $\delta_C = 69,1$  ppm, C-3'' à  $\delta_C = 75,9$  ppm et C-2'' à  $\delta_C = 72,4$  ppm.

## Chapitre III. Résultats et discussions



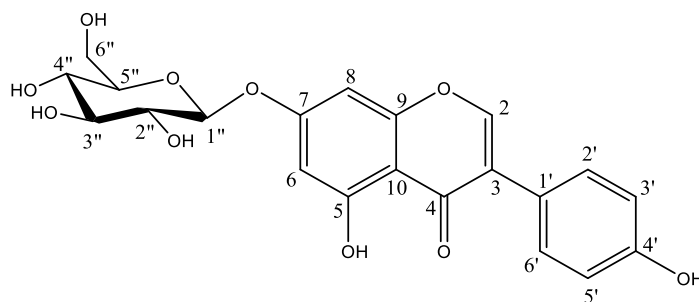
**Spectre III.110.** Étalement du spectre HSQC (DMSO-*d*<sub>6</sub>; 400MHz) du composé **Rs16**

D'après les valeurs de déplacement chimique des carbones et par comparaison avec la littérature [59], l'entité osidique est définie comme étant le glucose.

La grande valeur de constante de couplage du proton anomérique avec son voisin en C-2''  $J_{1''-2''} = 7,3$  Hz indique qu'il s'agit d'un glucose de configuration  $\beta$ .

La corrélation observée sur le spectre HMBC entre le proton anomérique H-1'' et le carbone oxygéné C-7 ( $\delta_C = 162,8$  ppm) confirme bien la substitution du carbone C-7 par le glucose.

Toutes ces données rassemblées permettent d'écrire la structure finale du composé **Rs16** il s'agit : **Génisteine-7-O-  $\beta$ -glucoside** connu sous le nom de **génistine** [23] isolé auparavant à partir de cette plante [80-81].



**Figure III.45.** Génisteine-7-O-  $\beta$ -glucoside

## Chapitre III. Résultats et discussions

Les données relatives à la RMN  $^1\text{H}$  et la RMN 2D HSQC, HMBC sont regroupées dans le tableau III.20

**Tableau III.20.** Données de la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  (DMSO  $d_6$ ; 400MHz) RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **Rs16**

Position	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Intégration	Multiplicité; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
<b>2</b>	8,41	1H	s	154,0
<b>3</b>	-	-	-	122,3
<b>4</b>	-	-	-	180,4
<b>5</b>	-	-	-	162,2
<b>6</b>	6,47	1H	d; $J= 1,9$ Hz	99,1
<b>7</b>	-	-	-	162,8
<b>8</b>	6,71	1H	d; $J= 1,9$ Hz	94,1
<b>9</b>	-	-	-	156,9
<b>10</b>	-	-	-	105,8
<b>1'</b>	-	-	-	120,7
<b>2',6'</b>	7,40	2H	d; $J= 8,2$ Hz	129,7
<b>3',5'</b>	6,82	2H	d; $J= 8,2$ Hz	114,7
<b>4'</b>	-	-	-	157,2
<b>5-OH</b>	12,92	1H	s	-
<b>2''-OH</b>	5,36	1H	d; $J= 4,5$ Hz	-
<b>3''-OH</b>	5,08	1H	d; $J= 4,0$ Hz	-
<b>4''-OH</b>	5,02	1H	d; $J= 5,0$ Hz	-
<b>5''-OH</b>	-	-	-	-
<b>6''-OH</b>	4,57	1H	d; $J= 5,7$ Hz	-
<b>Glucose</b>				
<b>1''</b>	5,05	1H	d; $J= 7,3$ Hz	99,4
<b>2''</b>	3,24	1H	m	72,5
<b>3''</b>	3,27	1H	m	75,9
<b>4''</b>	3,15	1H	m	69,1
<b>5''</b>	3,44	1H	m	76,6
<b>6''a</b>	3,70	1H	dd; $J= 9,9; 5,0$ Hz	60,1
<b>6''b</b>	3,44	1H	m	

## Chapitre III. Résultats et discussions

### III.2. Analyses quantitatives des extraits de *R. sphaerocarpa*

#### III.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Folin-ciocalteu (FCR). La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique ( $y = 0,002x + 0,021$ ) avec  $R^2 = 0,997$  (figure III.46).

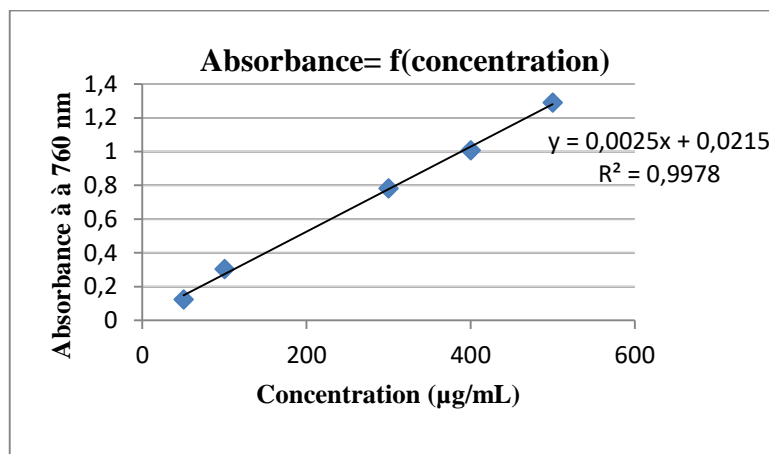


Figure III.46. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

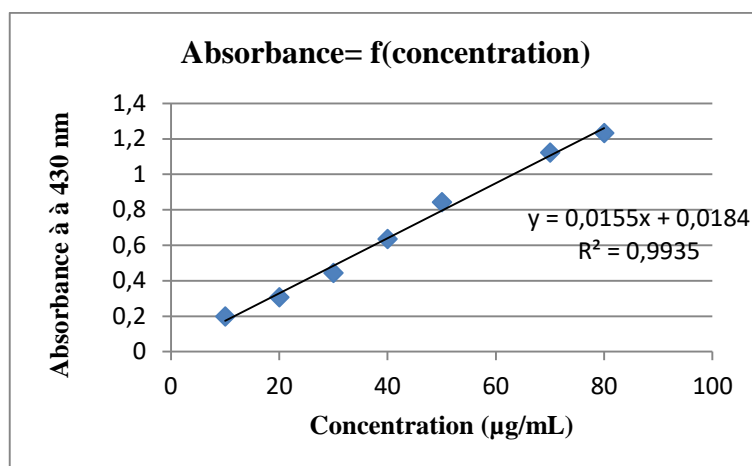
Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats représentés dans le tableau III.21 montrent que l'extrait acétate d'éthyle est l'extrait le plus riche en polyphénols avec une teneur de  $233,00 \pm 1,73$  mg EAG/g d'extrait, suivi par les extraits *n*-butanol et chloroforme ( $87,50 \pm 0,86$  et  $70,33 \pm 1,15$  mg EAG/g d'extrait respectivement).

#### III.2.2. Dosages des flavonoïdes totaux

La détermination quantitative des flavonoïdes est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium, elle est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm.

La quercétine a été utilisée comme étalon. La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en mg équivalent de quercétine par g d'extrait. Les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage ayant l'équation : ( $y = 0,015x + 0,018$ ) avec  $R^2 = 0,993$  (figure III.47).

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Figure III.47.** Courbe d'étalonnage de la quercétine

D'après le tableau III.21, l'extrait acétate d'éthyle est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur  $74,06 \pm 1,77$  mg EQ/g d'extrait sec de la plante, suivi par les extraits *n*-butanol et chloroforme ( $41,62 \pm 1,40$  et  $20,42 \pm 0,73$  mg EQ/g d'extrait respectivement).

**Tableau III.21.** Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de *R. sphaerocarpa*

Extraits	Teneur des polyphénols (mg EGA/g)	Teneur des flavonoïdes (mg EQ/g)
Chloroforme	$70,33 \pm 1,15$	$20,42 \pm 0,73$
Acétate d'éthyle	$233,00 \pm 1,73$	$74,06 \pm 1,77$
<i>n</i> -butanol	$87,50 \pm 0,86$	$41,62 \pm 1,40$

La teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol obtenus lors de cette étude est plus ou moins différente que celle obtenue par d'autre étude (Benaïssa *et al.*, 2009) [82] qui ont trouvé les résultats suivants :

- les teneurs en polyphénols totaux des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol sont :  $121,4 \pm 0,3$  ;  $73,9 \pm 0,3$  ;  $111,7 \pm 0,1$  (mg EGA/g) respectivement.
- les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol sont :  $20,9 \pm 0,2$  ;  $16,5 \pm 0,8$  ;  $15,3 \pm 0,6$  mg EQ/g respectivement.

Cela résulte de l'effet d'un certain nombre de facteurs :

- les facteurs climatiques et environnementaux [83]
- la méthode d'extraction et la méthode de quantification [84]
- la période et la zone de récolte.

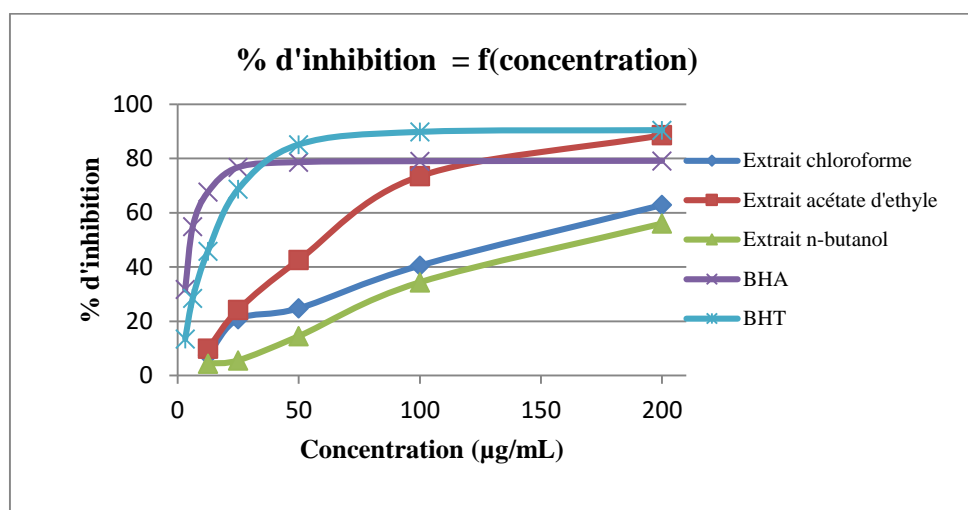
## Chapitre III. Résultats et discussions

### III.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *R. sphaerocarpa*

Dans la présente étude *in vitro*, l'activité antioxydante des trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss a été déterminée par la méthode du DPPH, ABTS et la méthode CUPRAC.

#### III.3.1. Test de l'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH

Le radical DPPH, est l'un des substrats les plus utilisés pour une évaluation directe, rapide et fiable de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité et de la simplicité de l'analyse. Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe présentant le pourcentage d'inhibition des différents extraits ainsi que celle des standards en fonction des concentrations testées (figure III.48). Les valeurs  $CI_{50}$  sont représentées dans le tableau III.22



**Figure III.48.** Courbes représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol et les standards en fonction de la concentration.

L'activité antioxydante exercée sur le radical libre DPPH par les trois extraits (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) est dose-dépendante (figure III.48). Les résultats montrent que les trois extraits présentent un effet inhibiteur modéré. L'extrait acétate d'éthyle présente la meilleure activité par rapport aux autres extraits ( $IC_{50} = 63,30 \pm 1,66 \mu\text{g/mL}$ ) (tableau III.22). Ceci peut être expliqué par sa richesse en polyphénols et en flavonoïdes signalé précédemment. En comparant l'activité de cet extrait par rapport aux standards, la  $CI_{50}$  de l'extrait acétate d'éthyle est quatre fois plus faible que celle du BHT ( $CI_{50} = 15,70 \pm 0,22 \mu\text{g/mL}$ ) et dix fois plus faible que la  $CI_{50}$  du BHA ( $CI_{50} = 6,82 \pm 0,49 \mu\text{g/mL}$ ).

En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, on remarque un écart remarquable. L'activité antioxydante des extraits chloroforme et *n*-butanol des parties aériennes de

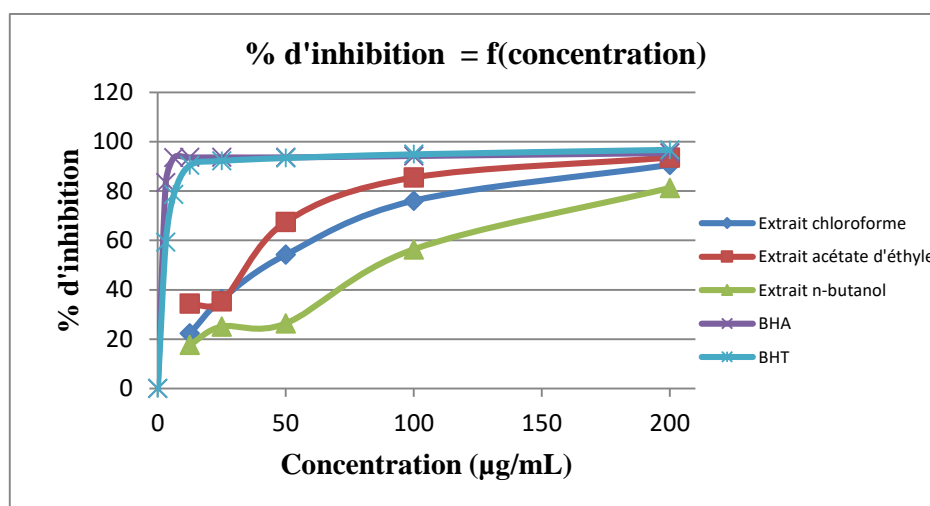
## Chapitre III. Résultats et discussions

*R. sphaerocarpa* obtenue par Benaïssa et ces collaborateurs [82] est meilleure que celle trouvée dans notre étude, alors que les résultats de l'extrait acétate d'éthyle sont assez proches. Cette variation pourrait être en fonction de la zone géographique de récolte de la plante ainsi que les conditions d'extraction et la méthode de quantification.

### III.3.2. Test de l'activité antiradicalaire à l'ABTS

L'ABTS est un composé organique stable utilisé dans l'évaluation de l'activité antiradicalaire. Les résultats des  $CI_{50}$  sont présentés dans le tableau III.22

La figure III.49 représente le graphe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *R. sphaerocarpa* et des standards.



**Figure III.49.** Courbe de pourcentage d'inhibition de l'ABTS par les extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *R. sphaerocarpa*

Le pourcentage d'inhibition de l'ABTS augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les standards ou pour les trois extraits testés. Les pourcentages d'inhibition et les valeurs des  $CI_{50}$  révèlent que les trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol ont une activité antioxydante modérée ( $CI_{50} = 47,80 \pm 1,86 \mu\text{g/ml}$  ;  $37,97 \pm 1,06$  et  $102,87 \pm 1,99$  respectivement), elle est inférieure à celle des deux standards BHA et BHT ( $CI_{50} = 1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$  et  $1,29 \pm 0,30$  respectivement) (tableau III.22).

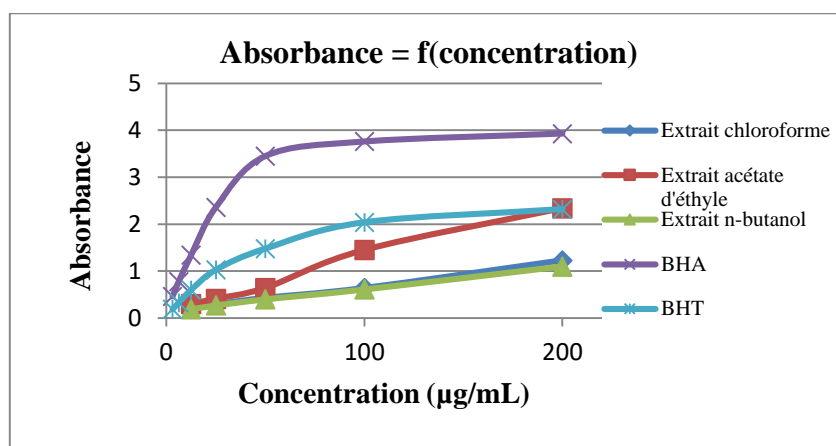
### III.3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

L'activité antioxydante déterminée par la méthode CUPRAC est basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm de la réduction du complexe stable Neocuproinecuivre (II) de couleur bleu en présence d'un antioxydant en complexe stable Neocuproine-cuivre (I) de couleur orange. Les résultats de l'absorbance  $A_{0.50}$  sont résumés dans le tableau III.22



### Chapitre III. Résultats et discussions

Les résultats du test CUPRAC de chaque extrait ainsi que des standards sont représentés par les absorbances pour chaque concentration (figure III.50)



**Figure III.50.** Courbes d'absorbance des différents extraits de *R. sphaerocarpa* et des standards en fonction de leurs concentrations pour le test CUPRAC

D'après la courbe obtenue, l'activité antioxydante exercée dans la méthode CUPRAC est dose-dépendante (figure III.50). Les absorbances  $A_{0,50}$  des trois extraits testés chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol sont :  $79,58 \pm 1,53$ ,  $36,09 \pm 0,94$  et  $82,83 \pm 2,47$  µg/mL respectivement. On constate que l'extrait qui a une activité significative par rapports aux autres extraits est l'extrait acétate d'éthyle tandis que l'extrait chloroforme manifeste une activité presque égale à celui de l'extrait *n*-butanol. Cette activité inhibitrice du CUPRAC de l'extrait acétate d'éthyle est quatre fois inférieure que le BHT ( $A_{0,50} = 9,62 \pm 0,87$  µg/mL) et dix fois plus faible que le standard BHA ( $A_{0,50} = 3,64 \pm 0,19$  µg/mL) (tableau III.23) .

Les résultats de ce test confirment les résultats des deux premiers tests.

**Tableau III.22.** Valeurs  $CI_{50}$  et  $A_{0,50}$  des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *R. sphaerocarpa* par les tests DPPH, ABTS et CUPRAC

	DPPH	ABTS	CUPRAC
	$CI_{50}$ (µg/mL)		$A_{0,50}$ (µg/mL)
Chloroforme	$145,99 \pm 1,71$	$47,80 \pm 1,86$	$79,58 \pm 1,53$
Acétate d'éthyle	$63,30 \pm 1,66$	$37,97 \pm 1,06$	$36,09 \pm 0,94$
<i>n</i> -butanol	$200,06 \pm 1,66$	$102,87 \pm 1,99$	$82,83 \pm 2,47$
BHA	$6,82 \pm 0,49$	$1,81 \pm 0,10$	$3,64 \pm 0,19$
BHT	$15,70 \pm 0,22$	$1,29 \pm 0,30$	$9,62 \pm 0,87$

BHT: butylhydroxytoluène, BHA: Butylhydroxyl anisole.

L'ensemble des résultats obtenus par le test au DPPH, ABTS et la méthode de la capacité antioxydante par réduction de cuivre CUPRAC indique que l'extrait acétate d'éthyle montre

## Chapitre III. Résultats et discussions

un effet antioxydant plus important que les deux autres extraits, il semble que ce résultat corrèle bien avec leur contenu en polyphénols et en flavonoïdes. Il a été reporté que l'activité anti-radicalaire des extraits est dépendante de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes [85-86].

Le pouvoir antioxydant de l'extrait chloroforme est meilleur que celui de l'extrait *n*-butanol. Cela pourrait être dû à la présence d'un ou plusieurs constituants chimiques actives dans l'extrait chloroforme qui agissent de manière synergique.

Une autre étude effectuée par Touati et al (2017) [61] réalisée sur des extraits hydro-alcooliques confirme que *R. sphaerocarpa* possède un effet antioxydant modéré.

### III.4. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des composés isolés à partir de *R. sphaerocarpa*

Certains composés ont fait l'objet d'études concernant leurs activités anti-radicalaire ; le composé **Rs1** (maximaisoflavone G) isolé à partir de l'extrait chloroforme, le composé **Rs7** (génistéine) et le composé **Rs9** (isoprunétine) isolés à partir de l'extrait acétate d'éthyle.

L'activité oxydante de ces composés a été évaluée par la méthode de DPPH et CUPRAC en suivant les mêmes protocoles décrits précédemment [87-88].

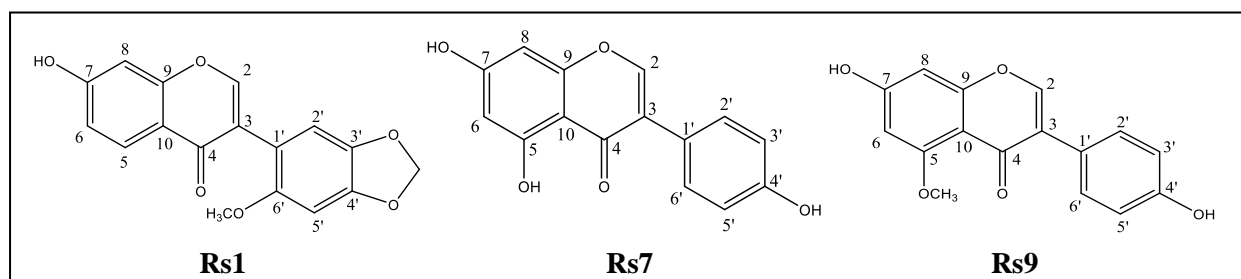
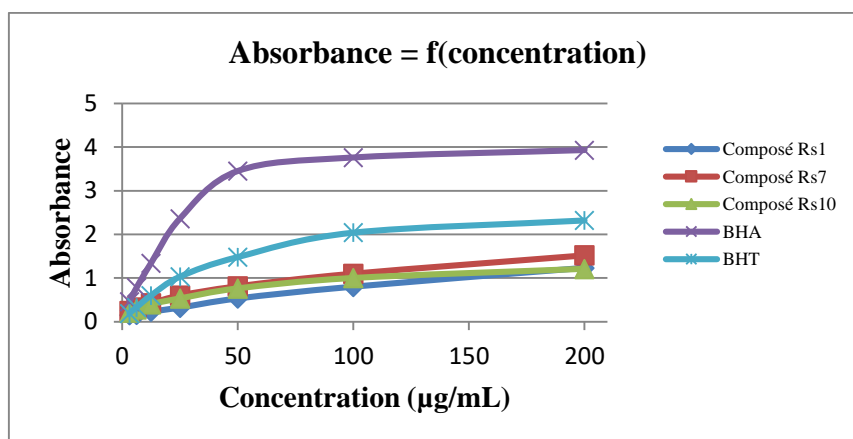


Figure III.51. Structures des composés **Rs1**, **Rs7** et **Rs10** testés par DPPH et CUPRAC

#### III.4.1. Test de l'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH

Les résultats du test DPPH des trois composés isolés à partir de l'espèce *R. sphaerocarpa* ont été illustrés dans la figure III.52 et les valeurs CI<sub>50</sub> sont représentées dans le tableau III.23

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Figure III.52.** Courbes représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH des composés **Rs1**, **Rs7**, **Rs9** et les standards en fonction de la concentration

Selon la figure précédente, les courbes des pourcentages d'inhibition des composés ainsi que les standards ont la même allure : plus la concentration est élevée, plus l'activité anti-radicalaire est élevée jusqu'à atteindre un plateau.

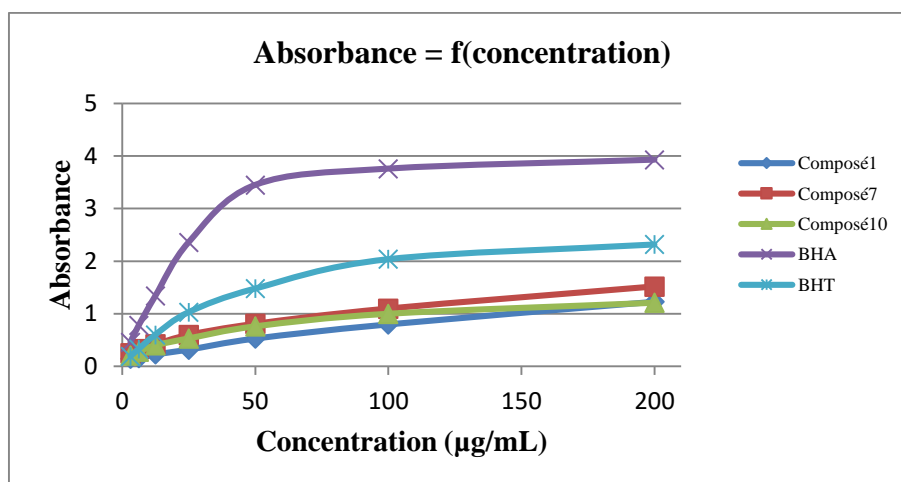
La figure III.52 montre que les trois composés **Rs1**, **Rs7** et **Rs9** présentent presque le même pourcentage d'inhibition de 66,86%, 74,55% et 70,31±0,51% respectivement à la concentration 200 µg/ml, ces pourcentages d'inhibition puissants sont très proches à celui du standard BHA 79,14 % à la concentration 50 µg/ml.

Les résultats des  $CI_{50}$  représentés dans le tableau III.26 montrent que les composés **Rs7** et **Rs9** possèdent un effet antioxydant supérieur ( $CI_{50}$ = 45,86±1,44 et 67,86±1,32µg/mL respectivement) par rapport au composé **Rs1** ( $CI_{50}$ =124,49±1,72 µg/mL). Tandis que les trois composés possèdent un effet modéré par rapport aux standards BHT ( $CI_{50}$ =15,70±0,22 µg/mL) et BHA ( $CI_{50}$ =6,82±0,49 µg/mL).

### III.4.2. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Les résultats du test CUPRAC des trois composés isolés à partir de l'espèce *R. sphaerocarpa* ont été illustrés dans la figure III.53 et les valeurs  $A_{0,50}$  sont représentés dans le tableau III.23

## Chapitre III. Résultats et discussions



**Figure III.53.** Courbes d'absorbance des composés **Rs1**, **Rs7**, **Rs9** et des standards en fonction de leurs concentrations pour le test CUPRAC

Les résultats obtenus dans ce test sont en accord avec les résultats de l'essai précédant DPPH, les deux composés **Rs7** et **Rs9** présentent un bon effet antioxydant ( $A_{0,50} = 18,87 \pm 0,90$  et  $24,06 \pm 0,82$   $\mu\text{g/mL}$  respectivement) par rapport au composé **Rs1** ( $A_{0,50} = 47,38 \pm 0,54 \mu\text{g/mL}$ ). Les deux composés **Rs7** et **Rs9** possèdent un bon effet par rapport aux standards BHA ( $A_{0,50} = 3,64 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ ) et BHT ( $A_{0,50} = 9,62 \pm 0,87$   $\mu\text{g/mL}$ ).

**Tableau III.23.** Valeurs  $CI_{50}$  et  $A_{0,50}$  des composés **Rs1**, **Rs7** et **Rs9** et des standards par les tests DPPH et CUPRAC

	DPPH	CUPRAC
	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$A_{0,50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>Composé 1</b>	$124,49 \pm 1,72$	$47,38 \pm 0,54$
<b>Composé 7</b>	$58,23 \pm 1,64$	$18,87 \pm 0,90$
<b>Composé 10</b>	$67,86 \pm 1,32$	$24,06 \pm 0,82$
<b>BHA</b>	$6,82 \pm 0,49$	$3,64 \pm 0,19$
<b>BHT</b>	$15,70 \pm 0,22$	$9,62 \pm 0,87$

Il est intéressant de noter que pour les deux tests DPPH et CUPRAC, l'effet antioxydant des trois composés décroît dans l'ordre suivant : BHA > BHT > composé **Rs7** > composé **Rs9** > composé **Rs1**.

L'activité anti-radicalaire des trois composés étudiés pourrait être attribuée à la présence des sites hydroxyles donneurs d'atome d'hydrogène à un radical libre actif. En comparant les structures des trois composés, le composé **Rs7** (génistéine) qui est le plus actif par rapport aux deux autres composés, il renferme dans sa structure trois groupements hydroxyles localisés en position 5,7 et 4'. Il a été reporté que l'hydroxyle en position 5 est bénéfique pour l'activité antioxydante des flavonoïdes [89]. Tandis que le composé **Rs9** (isopruneatine) renferme deux

## Chapitre III. Résultats et discussions

groupements hydroxyles en position 7 et 4', le composé **Rs1** (maximaisoflavone G) possède un seul -OH en position 7. Nous pouvons suggérer que le pouvoir antioxydant des isoflavonoïdes est corrélé au nombre de groupement hydroxyle présent dans la molécule et spécifiquement sur le cycle A. Une étude récente a montré que les groupements hydroxyles présents dans le cycle A sont les facteurs majeurs influençant sur l'activité antioxydante des isoflavonoïdes [90]. Tandis qu'une autre étude a montré que cette corrélation du nombre des -OH présent dans une molécule n'est pas convenable pour l'explication de l'effet antioxydant des isoflavonoïdes [91].

On peut conclure que les mécanismes détaillés responsables des propriétés antioxydantes des phytoestrogènes ne sont pas encore entièrement compris.

### Conclusion

Les élucidations structurales de 16 composés obtenus à partir de l'espèce *R. sphaerocarpa* ont été réalisées par diverses méthodes d'analyse à savoir la RMN 1D, la RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC), la spectrométrie de masse TOF/MS et la spectroscopie UV.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode anti-radicalaire DPPH et ABTS et le test par réduction de cuivre CUPRAC des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol a montré que l'extrait acétate d'éthyle possède un pouvoir antioxydant plus important que les autres extraits et un pouvoir modéré comparativement aux standards utilisés. Cependant, les mêmes tests DPPH et CUPRAC ont été effectués sur trois composés : maximaisoflavone G, la génistéine et l'isoprunitine isolés à partir de cette plante. Les deux composés génistéine et isoprunitine possèdent un effet antioxydant significatif dans les tests effectués.

### Résultats de l'étude phytochimique et de l'activité biologique de l'espèce

#### *L. draba*

#### III.5. Résultat de l'analyse par HPLC-TOF/MS

L'extrait acétate d'éthyle de la plante *Lepidium draba* a été analysé par la méthode HPLC-TOF/MS en mode négatif.

L'identification des composés phénoliques a été effectuée sur la base de leurs temps de rétention et par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des standards.

Les résultats de l'analyse d'identification et de quantification par HPLC-TOF/MS sont rassemblés dans le tableau III.24

### Chapitre III. Résultats et discussions

**Tableau III.24.** Résultats qualitative et quantitative des composés phénoliques dans l'extrait acétate d'éthyle de la plante *L. draba* exprimés en (mg composé /kg de matière sèche)

N°	Composés	T <sub>R</sub> (min)	Concentration en (mg composé /kg de matière sèche)
1	Acide gallique	2,40	1,47
2	Acide gentisique	4,50	176,10
3	Acide chlorogénique	5,50	2,50
4	Catéchine	5,80	0,50
5	Acide 4-hydroxybenzoïque	7,00	3880,50
6	Acide protocatéchique	7,10	92,10
7	Acide caféique	7,60	819,90
8	Acide vanillique	7,90	4,20
9	Rutine	9,20	10,80
10	4-hydroxybenzaldéhyde	1,10	9,40
11	Acide férulique	10,60	61,80
12	Hespéridine	10,80	7,11
13	Apigénine-7-glucoside	11,40	130,80
14	Acide rosmarinique	12,00	4040,00
15	Acide p-coumarique	12,10	0,90
16	Acide salicylique	13,10	24,20
17	Quercétine	14,00	1,82
18	Kaempférol	15,70	0,92
19	Acide chicorique	18,00	35,30

Une interprétation des résultats reportés dans le tableau III.24 permet de mettre en évidence dix-neuf composés phénoliques dont douze acides phénoliques à savoir : l'acide gallique, l'acide gentisique, l'acide chlorogénique, l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide protocatéchique, l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide férulique, l'acide rosmarinique, l'acide *p*-coumarique, l'acide salicylique et l'acide chicorique et six flavonoïdes à savoir : la catéchine, la rutine, l'hespéridine, l'apigénine-7-glucoside, la quercétine et le kaempférol.

Dans l'extrait AcOEt de *L. draba* l'acide rosmarinique présente la concentration la plus élevée (4040 mg/kg plante) suivi par l'acide 4-hydroxybenzoïque (3880,50 mg/kg plante) et l'acide caféique (819,90 mg/kg plante). L'apigénine-7-glucoside montre une teneur importante (130,80 mg/kg plante) alors que les autres flavonoïdes ont été identifiés en faible quantité.

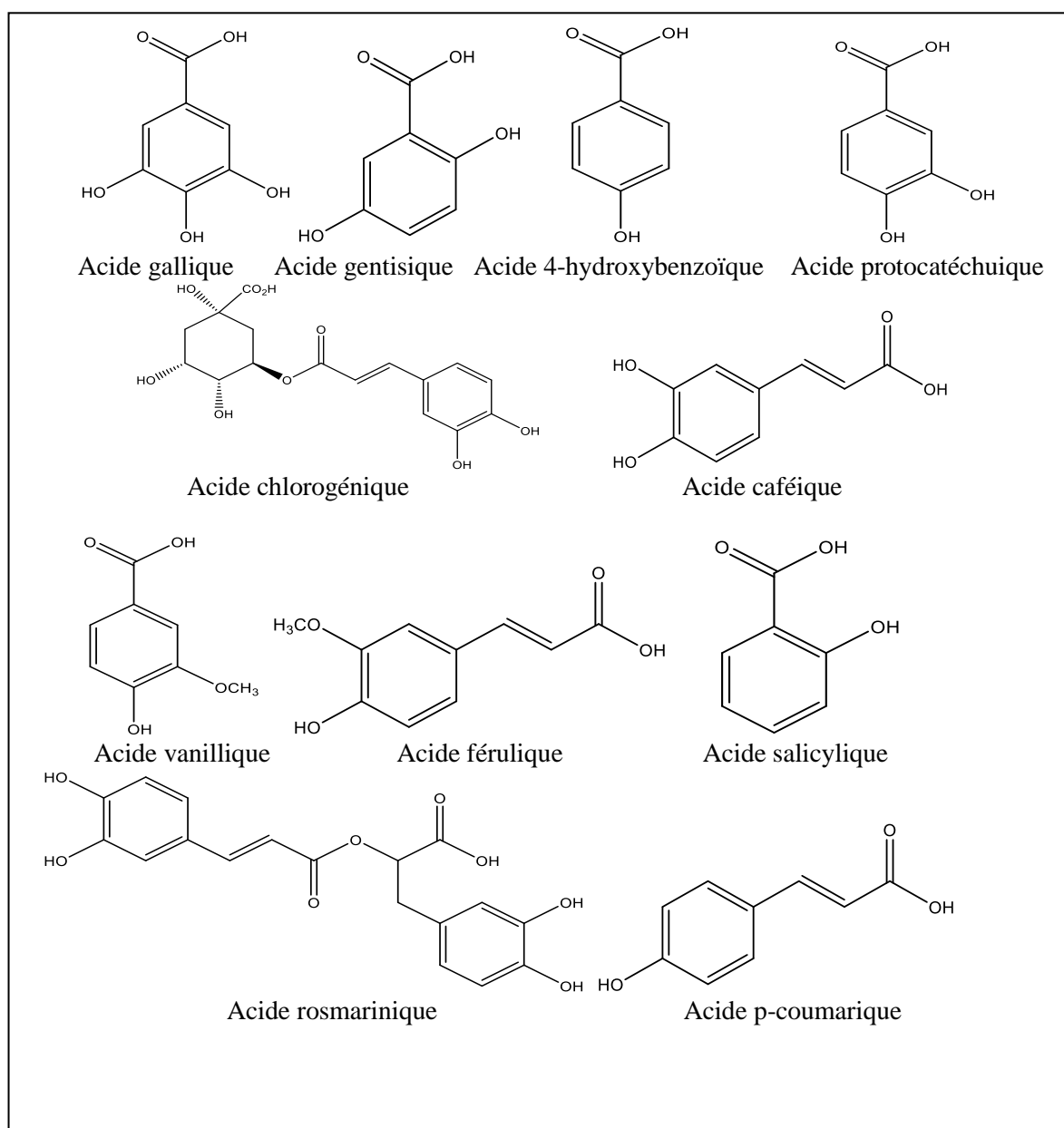
L'acide rosmarinique est connu par ses propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes [92]. L'acide 4-hydroxybenzoïque est rapportés comme un composé ayant des effets antibactériens, antifongiques, antimutagènes, anticoagulants et une activité œstrogénique [93]. L'acide caféique présente un effet cytoprotecteur sur les cellules endothéliales [94], tandis que

## Chapitre III. Résultats et discussions

les flavonoïdes tels que la rutine et d'autres sont connus par leurs activités antioxydantes [95], antimicrobiennes [96], anti-inflammatoires [97] et antivirales [98].

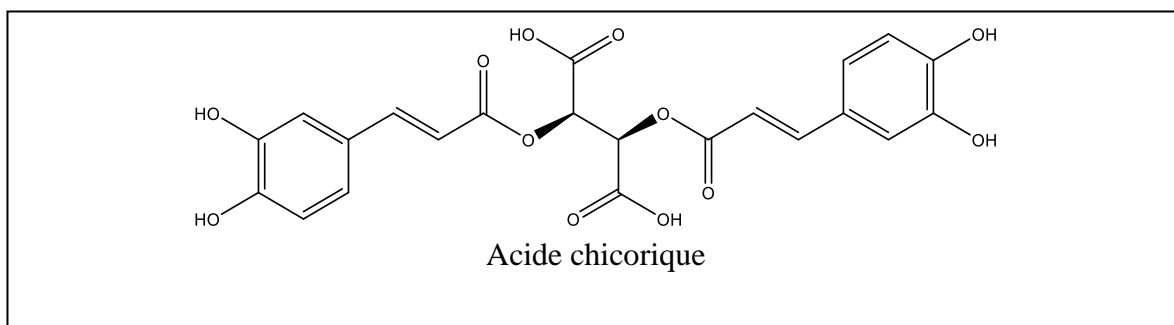
Les acides phénoliques et les flavonoïdes identifiés dans l'extrait acétate d'éthyle de *L. draba* sont reportés auparavant dans le genre *Lepidium* à l'exception de l'acide gentisique et l'acide chicorique qui sont détectés pour la première fois dans ce genre [99-107].

Les structures des acides phénoliques et flavonoïdes sont reportées dans les figures III.54 et III.55 respectivement.

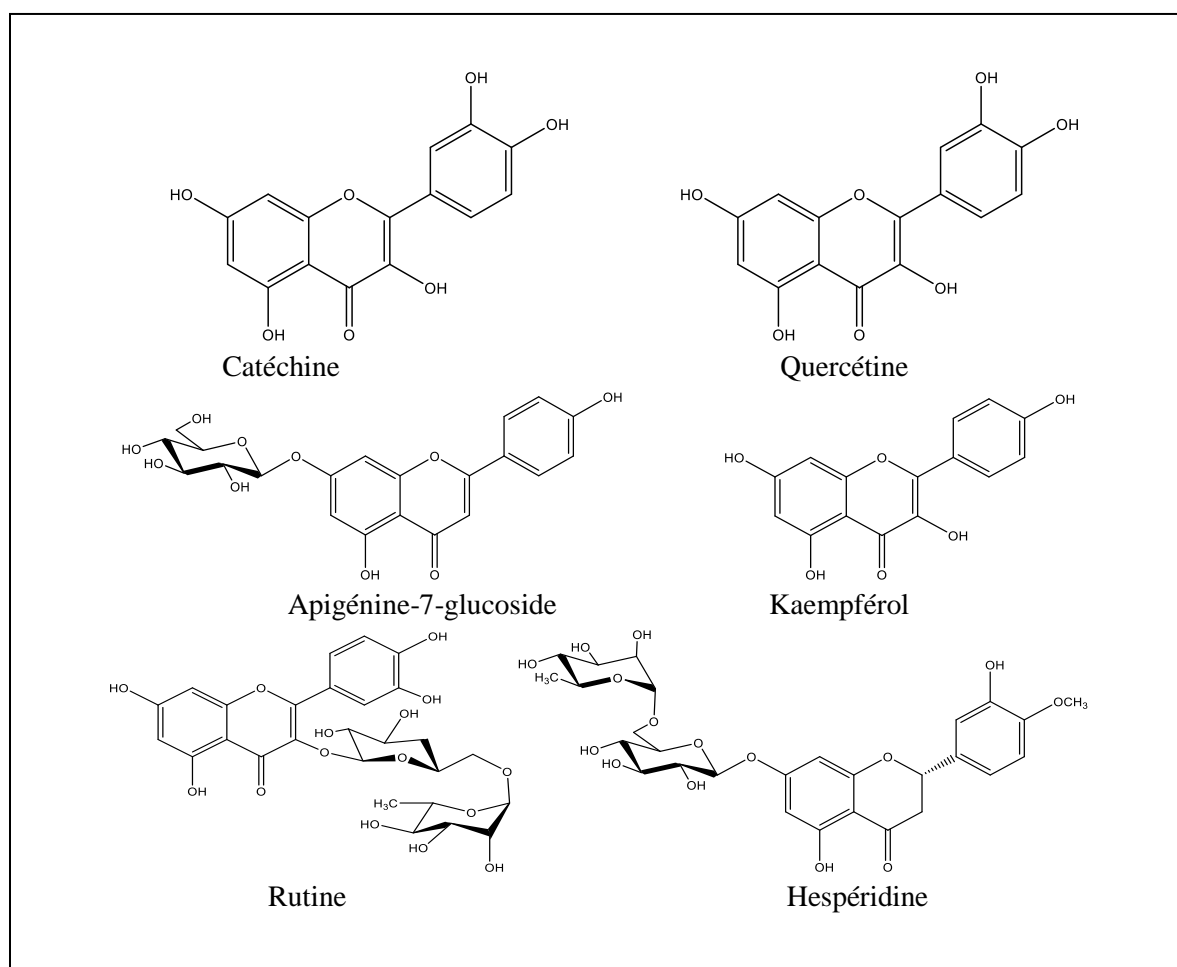


**Figure III.54.** Structures des acides phénoliques identifiés dans l'extrait acétate d'éthyle de *L. draba* par HPLC-TOF/MS

### Chapitre III. Résultats et discussions



**Figure III.54.** Structures des acides phénoliques identifiés dans l'extrait acétate d'éthyle de *L. draba* par HPLC-TOF/MS (suite)



**Figure III.55.** Structures des flavonoïdes identifiés dans l'extrait acétate d'éthyle de *L. draba* par HPLC-TOF/MS



## Chapitre III. Résultats et discussions

### III.6. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de

#### *L. draba*

L'activité antioxydante *in vitro* des trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *L. draba* a été évaluée par cinq méthodes : la méthode DPPH, la méthode d'ABTS, la méthode du CUPRAC, le test de la chélation des métaux et enfin le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP).

#### III.6.1. Test de l'activité antiradicalaire par DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *L. draba* sont représentés dans le tableau III.25

Selon la le tableau III.25, L'extrait *n*-butanol a présenté une activité antioxydante significative par rapport aux autres extraits ( $CI_{50}=68,31\pm 1,22$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) et elle est modérée comparativement aux quatre standards. Cette activité de l'extrait *n*-butanol est cinq fois inférieure que celle des deux standards BHT et l'acide ascorbique ( $CI_{50}= 12,99\pm 0,41$  et  $13,94\pm 2,81$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  respectivement) et dix fois plus faible que BHA et l'acide tannique ( $CI_{50}= 6,14\pm 0,49$  et  $7,74\pm 0,19$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  respectivement). Les deux autres extraits chloroforme et acétate d'éthyle sont très faible comparativement aux standards.

#### III.6.2. Test de l'activité antiradicalaire à l'ABTS

Les résultats de l'activité antiradicalaire à l'ABTS des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *L. draba* sont représentés dans le tableau III.25

Les résultats des  $CI_{50}$  du test ABTS représentés dans le tableau III.25 ont révélé que les trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *L. draba* présentent une activité modérée avec des  $CI_{50}= 24,72\pm 0,66$ ;  $39,42\pm 0,45$  et  $<12,5$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  respectivement. L'activité des standards BHA ( $CI_{50}= 1,81\pm 0,10$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), BHT ( $CI_{50}= 1,29\pm 0,30$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), l'acide ascorbique ( $CI_{50}= 1,74\pm 0,10$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) et l'acide tannique ( $CI_{50}=1,01\pm 0,16$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) est supérieure aux valeurs retrouvées avec tous les extraits testés.

Une différence remarquable entre les  $CI_{50}$  obtenues par les deux tests (DPPH et ABTS), les valeurs sont plus faibles pour le radical ABTS. Cette différence peut être expliquée par la sensibilité et la capacité de ce radical à mesurer l'effet antioxydant des composés de nature lipophile et hydrophile. A l'inverse le radical DPPH mesure l'effet antioxydant des composés hydrophile uniquement [108].

## Chapitre III. Résultats et discussions

### III.6.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Les résultats de l'activité antiradicalaire au CUPRAC des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *L. draba* sont représentés dans le tableau III.25

D'après les résultats obtenus (tableau III.25), l'extrait *n*-butanol exerce une activité inhibitrice significative par rapport aux échantillons étudiés, avec une valeur de  $A_{0,50} = 47,64 \pm 2,29$   $\mu\text{g/ml}$ , suivi par l'extrait chloroforme ( $A_{0,50} = 69,88 \pm 0,18$   $\mu\text{g/ml}$ ) et ensuite l'extrait acétate d'éthyle ( $A_{0,50} = 183,83 \pm 2,4$   $\mu\text{g/ml}$ ) qui a la plus faible activité. L'extrait *n*-butanol est quatre fois plus faible que l'acide ascorbique ( $A_{0,50} = 12,43 \pm 0,09$   $\mu\text{g/ml}$ ), cinq fois plus faible que le BHT ( $A_{0,50} = 9,62 \pm 0,87$   $\mu\text{g/ml}$ ) et douze fois inférieure que les deux standards BHA et l'acide tannique ( $A_{0,50} = 3,64 \pm 0,19$  et  $3,76 \pm 0,73$   $\mu\text{g/mL}$ ).

### III.6.4. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP)

Nous avons étudié l'activité antioxydante des différents extraits de *L. draba* par la méthode de réduction du fer (FRAP). Cette méthode est basée sur l'aptitude des antioxydants présents dans les différents extraits à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) du complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) [109].

Les  $A_{0,50}$  des trois extraits de *L. draba* sont résumées dans le tableau III.25 Les résultats confirment les résultats des trois premiers tests, l'extrait *n*-butanol avec la valeur de ( $A_{0,50} = 99,33 \pm 2,13$   $\mu\text{g/mL}$ ) a montré la meilleure activité par rapport aux autres extraits de cette plante. Cette activité est deux fois inférieure que celle de l'acide tannique ( $A_{0,50} = 41,07 \pm 2,36$   $\mu\text{g/mL}$ ) et presque treize fois plus faibles que les deux standards BHA et l'acide ascorbique ( $A_{0,50} = 7,99 \pm 1,87$  et  $6,77 \pm 1,15$   $\mu\text{g/mL}$  respectivement).

### III.6.5. Test de chélation des métaux

La chélation des ions ferreux a été estimée selon la méthode de Decker et Welch (1990) [110] dont laquelle le ferène peut quantitativement former un complexe avec le fer ( $\text{Fe}^{2+}$  - ferène). La formation de ce complexe est perturbée en présence d'agents chélateurs.

Les résultats obtenus (tableau III.25) montrent que l'extrait acétate d'éthyle présente une activité chélatrice modérée ( $\text{CI}_{50} = 152,27 \pm 0,38$   $\mu\text{g/mL}$ ) par rapport au standard EDTA ( $\text{CI}_{50} = 12,11 \pm 0,32$   $\mu\text{g/mL}$ ), alors que les deux autres extraits chloroforme et *n*-butanol ne présentent aucune activité antioxydante dans ce test.

Ce résultat reflète nature complexe des extraits contenant des composés n'ayant pas des sites chélateurs ou n'ont pas des affinités pour le fer.

## Chapitre III. Résultats et discussions

**Tableau III.25.** Valeurs  $CI_{50}$  et  $A_{0,50}$  des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de *L. draba* par les tests DPPH, ABTS, CUPRAC, chélation du fer et FRAP

	DPPH	ABTS	chélation du fer	CUPRAC	FRAP
	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )			$A_{0,50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	
<b>Chloroforme</b>	292,50±1,18	24,72±0,66	>800	69,88±0,18	144,00±1,41
<b>Acétate d'éthyle</b>	305,69±1,22	39,42±0,45	152,27±0,38	183,83±2,47	>200
<b><i>n</i>-butanol</b>	68,31±1,22	<12,5	-	47,64±2,29	99,33±2,13
<b>BHA</b>	6,14±0,49	1,81±0,10	-	3,64±0,19	7,99±1,87
<b>BHT</b>	12,99±0,41	1,29±0,30	-	9,62±0,87	>800
<b>Acide ascorbique</b>	13,94±2,81	1,74±0,10	-	12,43±0,09	6,77±1,15
<b>Acide tannique</b>	7,74±0,19	1,01±0,16	-	3,76±0,73	41,07±2,36
<b>EDTA</b>	-	-	12,11±0,32	-	-

BHT : butylhydroxytoluène, BHA : Butylhydroxyl anisole, EDTA: Éthylènediaminetétraacétique

Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux réalisés sur les extraits de *L. draba* qui ont montré que l'extrait *n*-butanol possède un pouvoir réducteur assez proche à nos résultats dans les deux essais réalisés DPPH et ABTS ( $CI_{50} = 45,97 \pm 1,91$  et  $15,88 \pm 0,94 \mu\text{g/mL}$  respectivement) [111]. De plus sharifi al (2015) [110] ont montré que les extraits de *L. draba* possèdent un effet inhibiteur significatif.

Les extraits étudiés dans notre travail présente une activité puissante par rapport a celle rapportés par une etude realisée auparavant dans notre laboratoire [113]. Cette différence pourrait être due aux conditions expérimentales suivis lors de l'extraction des extraits ou lors de l'évaluation de l'activité antioxydante.

## Conclusion

La détermination et la quantification des composés phenoliques de l'extrait acetate d'éthyle de l'espèce *Lepidium draba* ont été réalisées par HPLC-TOF/MS. Le résultat de cette analyse a révélé la présence de 12 acides phénoliques et 6 flavonoïdes.

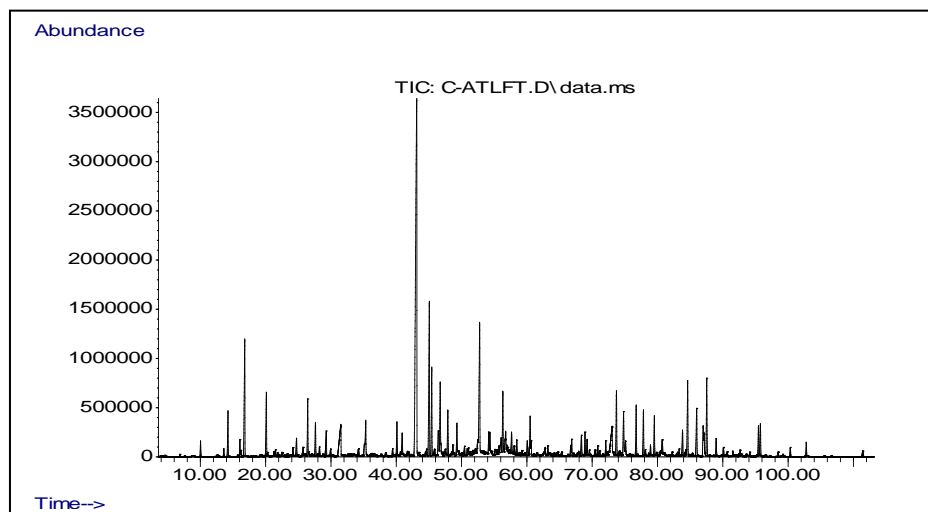
L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol par différentes méthodes : le test DPPH, la méthode d'ABTS, la méthode du CUPRAC, le test de la chélation du fer et enfin le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) a montré que les trois extraits de cette plante possèdent un pouvoir antioxydant modéré comparativement aux standards utilisés.

## Chapitre III. Résultats et discussions

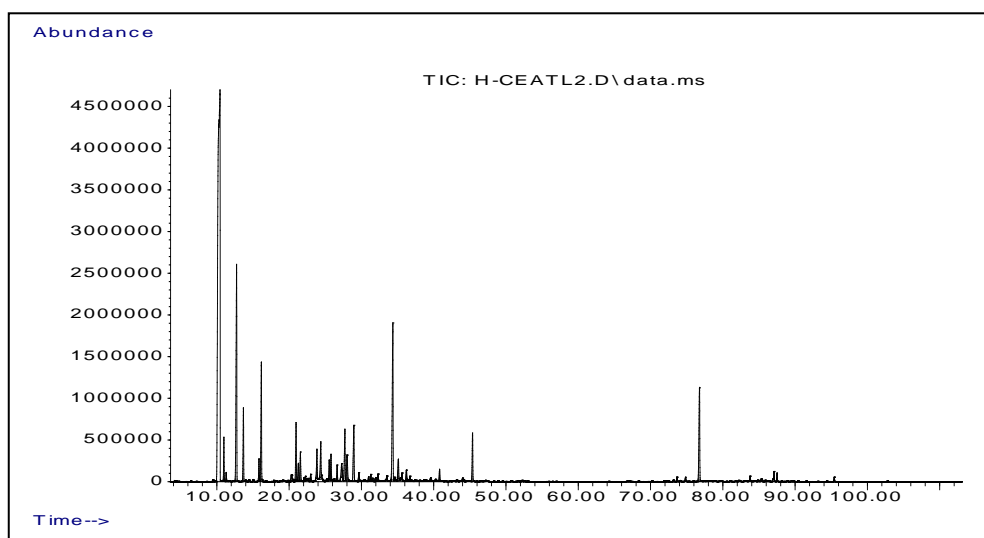
### Résultats de l'étude phytochimique et de l'activité biologique de l'espèce *C. atlantica*

#### III.7. Résultats de l'étude phytochimique

Après l'extraction des huiles essentielles des branches/aiguilles et des cônes de *Cedrus atlantica*, ces huiles ont été analysées par un chromatographe en phase gazeuse doté d'un injecteur automatique de type Agilent HP6800. Les chromatogrammes sont représentés sur les figures III.56 et III.57



**Figure III.56.** Chromatogramme de l'analyse GC-MS de l'huile essentielle extraite des branches/aiguilles de *Cedrus atlantica*.



**Figure III.57.** Chromatogramme de l'analyse GC-MS de l'huile essentielle extraite des cônes de *Cedrus atlantica*

### Chapitre III. Résultats et discussions

Le rendement de la distillation des huiles essentielles de *C. atlantica* est calculé en pourcentage (poids / poids) par rapport au poids sec de la plante. Nos résultats ont montré que le rendement de l'huile des cônes (0,051%) est meilleur que celui des branches/aiguilles (0,017%). Cette investigation a permis d'identifier quatre-vingt-huit composés, correspondant à 74,11% d'huile totale des branches et des aiguilles. Les principaux constituants sont classés par ordre décroissant : *cis*- $\alpha$ -bisabolène (19,58%), perhydrofarnésyl acétone (4,78%), spathuléol (4,54%), 7-diméthyl-4 (E), 6-octadién-2-ol (3,51%),  $\alpha$ -cédrène (2,31%), oxyde de caryophyllène (2,26%), acétate de néryle (2,14%) et acide n-hexadécanoïque (2,02%). Cette enquête a également permis d'identifier trente-sept composés, correspondant à 99,33% d'huile totale des cônes. Les principaux constituants sont:  $\alpha$ -pinène (46,61%),  $\beta$ -pinène (9,70%), acétate de bornyle (7,33%), D-limonène (4,35%), D-verbénone (2,62%) et  $\beta$ -myrcène (2,28%). Nous remarquons une différence significative entre la composition des deux huiles essentielles.

La composition chimique des huiles essentielles et les pourcentages des composants identifiés sont reportés dans les tableaux III.26 et III.27. Les composés sont classés par ordre de leurs temps de rétention expérimental (TR) et de leurs indices de rétention (IR).

La comparaison de nos résultats avec des études antérieures montre des différences qualitatives et quantitatives importantes. En effet, la plante *C. atlantica* qui pousse à Alger est composée principalement de  $\alpha$ -pinène (17,7%), oxyde de caryophyllène (10,3%),  $\beta$ -caryophyllène (9,1%) et de  $\alpha$ -terpinéol (6,7%) [114]. Les études antérieures réalisées sur les huiles essentielles de bois de *Cedrus atlantica* [115-118] ont révélé que ces huiles sont majoritairement composées de  $\beta$ -himachalène et  $\alpha$ -himachalène. En outre, l'huile des graines de *C. atlantica* collectée dans le nord-est de l'Algérie est dominée par l' $\alpha$ -pinène (37,1%), tandis que les huiles de graines des espèces du centre de l'Algérie contiennent le diterpène manool (20,7%) comme composant majeur [119]. Cependant, le pourcentage élevé de  $\alpha$ -pinène et la détection de *cis*- $\alpha$ -bisabolène sont signalés pour la première fois pour l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*.

Les variations rencontrées dans la composition chimique des huiles essentielles dépendent qualitativement et quantitativement de certains facteurs environnementaux, la partie végétale utilisée, l'âge de la plante, la période du cycle de croissance, la période de récolte et des facteurs génétiques [116, 120]. La différence observée entre la composition chimique des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas marocain et celles de l'Algérie pourrait être due à la différence de facteurs climatiques et géographiques, tels que l'altitude et le type de sol [121].

## Chapitre III. Résultats et discussions

**Tableau III.26.** Composition chimique, IR, TR et pourcentages des composants identifiés de l'huile essentielle des branches et des aiguilles de *Cedrus atlantica*

N°	Composés <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	TR	%
1	$\alpha$ -Pinène	946	10,03	0,31
2	$\beta$ -Myrcène	1006	13,59	0,17
3	Yomogi alcool	1015	14,24	1,07
4	dl-Limonène	1041	16,05	0,40
5	1,8-Cinéol	1043	16,20	0,15
<b>6</b>	<b>2,7-diméthyl-4(E),6-octadièn-2-ol</b>	<b>1052</b>	<b>16,80</b>	<b>3,51</b>
7	3,3,6-triméthyl-1,5-heptadièn-4-ol	1099	20,11	1,72
8	Furfuranol	1119	21,50	0,11
9	Camphor	1156	24,18	0,12
10	Epoxy artemisia ketone	1164	24,73	0,70
11	Bornéol	1178	25,74	0,08
12	Carvomenthène	1187	26,44	0,18
13	$\alpha$ -terpinéol	1204	27,63	0,07
14	Dicyclopropylméthanone	1213	28,24	0,24
15	Dipropylamine	1228	29,29	0,47
16	Cyclohexène	1238	29,95	0,31
17	(Z)-3-Hexenyl hexanoate	1261	31,52	1,36
18	Acétate de bornyle	1300	34,21	0,12
19	3-Cyclohexène-1-méthanol	1314	35,15	1,12
20	3-Dodecenal	1379	39,43	0,82
21	$\alpha$ -Copaène	1390	40,10	0,20
<b>22</b>	<b>Acétate de neryle</b>	<b>1402</b>	<b>40,91</b>	<b>2,14</b>
23	<i>trans</i> -Caryophyllène	1438	43,13	0,44
24	$\alpha$ -Himachalène	1462	44,63	0,43
25	$\alpha$ -Humulène	1469	45,06	1,02
26	<i>trans</i> - $\beta$ -Farnésène	1475	45,43	0,07
27	$\alpha$ -Amorphène	1491	46,44	0,22
28	$\delta$ -Germacrène	1496	46,72	0,91
29	$\gamma$ -Cadinène	1509	47,51	0,21
30	$\alpha$ -Cadinène	1516	47,89	0,71
31	$\delta$ -Cadinène	1539	49,28	0,11
<b>32</b>	<b><i>cis</i>-<math>\alpha</math>-Bisabolène</b>	<b>1559</b>	<b>50,44</b>	<b>19,58</b>
33	Oxyde de caryophyllène	1566	50,88	1,09
34	Ledène oxide-(II)	1569	51,05	0,11
35	Acide dodécanoïque	1587	52,11	0,19
<b>36</b>	<b>Spathulenol</b>	<b>1593</b>	<b>52,47</b>	<b>4,54</b>
<b>37</b>	<b>Oxyde de caryophyllène</b>	<b>1598</b>	<b>52,77</b>	<b>2,26</b>
38	Humulène epoxide II	1623	54,17	0,25
39	Acétate de géranyle	1627	54,34	0,94
<b>40</b>	<b><math>\alpha</math>-Cédrène</b>	<b>1641</b>	<b>55,14</b>	<b>2,31</b>
42	$\tau$ -Muurolol	1658	56,06	0,23
43	$\gamma$ -Curcumène	1663	56,32	1,36

## Chapitre III. Résultats et discussions

**Tableau III.26.** Composition chimique, IR, TR et pourcentages des composants identifiés de l'huile essentielle des branches et des aiguilles de *Cedrus atlantica* (suite)

N°	Composés <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	TR	%
44	$\alpha$ -Cadinol	1671	56,75	0,13
45	Aromadendrene	1673	56,91	0,33
46	3-n-Hexylthiane, S,S-dioxide	1694	58,05	0,19
48	Tétradécanal	1732	60,06	0,23
49	(2E,6E)-famesol	1741	60,50	0,24
50	2-hydroxy cyclopentadécane	1743	60,65	0,19
51	Acide myristique	1784	62,80	0,17
52	(E)- $\alpha$ -Atlantone	1792	63,20	0,35
53	Acétate de farnesyle (III)	1861	66,69	0,73
<b>54</b>	<b>Perhydrofarnesyl acétone</b>	<b>1864</b>	<b>66,85</b>	<b>4,78</b>
55	6-Phényl-2-tétralone	1894	68,35	0,66
56	Linoleate d'éthyle	1905	68,89	0,74
57	Olealdéhyde	1912	69,22	0,22
59	Oxacycloheptadécane-2-one	1945	70,84	0,20
60	$\alpha$ -Terpinolène	1952	71,15	0,32
<b>62</b>	<b>Acide n-hexadécanoïque</b>	<b>1991</b>	<b>73,04</b>	<b>2,02</b>
63	Isopimaradiène	2006	73,71	1,05
65	Juvabione	2036	75,10	0,28
66	Abieta-8,11,13-triène	2072	76,73	0,30
69	n-Heneicosane	2120	78,92	0,46
70	Phytol	2133	79,51	0,16
72	n-docosane	2221	83,32	0,18
74	1,19-Eicosadiène	2245	84,34	1,07
75	Déhydroabietinal	2284	85,99	0,10
76	Sesquirosefurane	2308	87,00	0,46
77	isopimarate de méthyle	2311	87,13	0,29
78	n-Tricosane	2321	87,53	0,11
79	Acide Déhydroabiétique	2356	88,98	0,09
80	2,4,6-triméthyl-benzenamine	2383	90,09	0,11
81	n-Tetracosane	2420	91,53	0,15
82	1,21-Docosadiène	2448	92,64	0,26
83	n-Pentacosane	2521	95,45	0,40
84	Octadécanal	2653	100,34	0,14
85	n-Heptacosane	2719	102,78	0,11
86	Nonacosane	2900	111,41	0,16
	Composés identifiés(%)	Total		74,11

TR : Temps de Rétention

a : les composés sont énumérés dans l'ordre de leur IR

b : IR Indice de Rétention mesuré par rapport aux *n*-alcanes (C8-C20) (colonne HP-5 MS)

## Chapitre III. Résultats et discussions

**Tableau III.27.** Composition chimique, IR, TR et pourcentages des composants identifiés de l'huile essentielle des cônes de *Cedrus atlantica*

N°	Composés <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	TR	%
<b>1</b>	<b><math>\alpha</math>-pinène</b>	<b>952</b>	<b>10,31</b>	<b>46,61</b>
2	Camphène	963	10,98	1,22
3	Verbenene	969	11,29	0,26
<b>4</b>	<b><math>\beta</math>-pinène</b>	<b>993</b>	<b>12,74</b>	<b>9,70</b>
<b>5</b>	<b><math>\beta</math>-Myrcène</b>	<b>1008</b>	<b>13,67</b>	<b>2,28</b>
6	o-Cymène	1039	15,83	0,78
<b>7</b>	<b>D-Limonène</b>	<b>1043</b>	<b>16,15</b>	<b>4,35</b>
8	3,4-diméthyl-4-pentèn-1-yn-3-ol	1102	20,31	0,47
9	$\alpha$ -Pinène oxide	1112	20,96	2,19
10	Linalool L	1116	21,28	0,68
11	$\delta$ - Cyclogeraniolene	1120	21,56	1,12
12	<i>trans,cis</i> -2-méthyl-1,3-cyclo octadiène	1130	22,25	0,15
13	$\alpha$ -Campholenal	1140	22,98	0,30
14	<i>trans</i> -Pinocarveol	1152	23,85	1,29
15	<i>trans</i> -Verbénol	1159	24,38	1,74
16	Pinocarvone	1176	25,55	0,83
17	L-Bornéol	1179	25,79	1,04
18	Terpinène-4-ol	1191	26,64	0,60
19	Cryptone	1102	27,25	1,09
20	$\alpha$ - terpinéol	1206	27,71	2,17
21	Myrtenal	1210	28,01	1,36
<b>22</b>	<b>D-Verbénone</b>	<b>1224</b>	<b>28,95</b>	<b>2,62</b>
23	<i>trans</i> carvéol	1234	29,64	0,37
24	Propanal, 2-méthyl-3-phenyl-	1253	30,99	0,17
25	l-Carvone	1258	31,30	0,25
26	2-(1-méthylcyclopentyloxy)- tétrahydropyrane	1272	32,29	0,30
27	2-méthyl-2-cyclopentèn-1-ol	1290	33,51	0,20
<b>28</b>	<b>Acétate de bornyle</b>	<b>1302</b>	<b>34,35</b>	<b>7,33</b>
29	<i>cis</i> -Sabinol	1322	35,61	0,21
30	E,Z-4-Ethylidene cyclohexène	1338	36,72	0,16
31	Acétate de géranyle	1401	40,81	0,40
32	<i>trans</i> - $\beta$ -farnésène	1471	45,37	1,66
33	13-Epimanoyl oxide	2005	73,66	0,17
34	Epimanool	2073	76,77	4,35
35	Abieta-8,11,13-trien-7-one	2310	87,07	0,49
36	Tricosane	2321	87,50	0,27
37	Pentacosane	2521	95,42	0,15
	Composés identifiés(%)	Total		99,33

TR : Temps de Rétention

a : les composés sont énumérés dans l'ordre de leur IR

b : IR Indice de Rétention mesuré par rapport aux *n*-alcanes (C8-C20) (colonne HP-5 MS)



## Chapitre III. Résultats et discussions

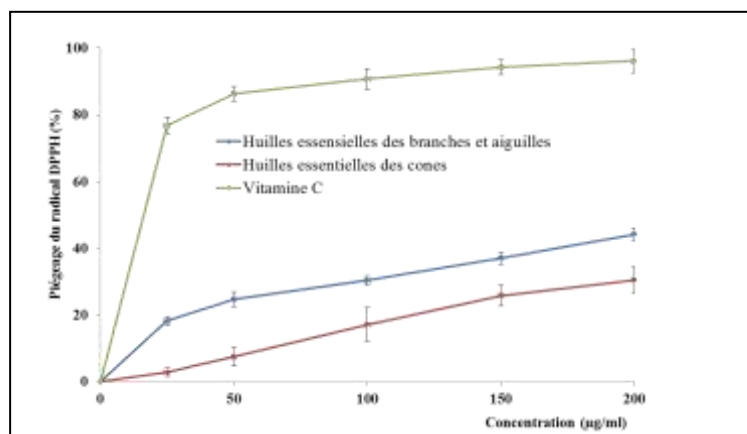
### III.8. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'espèce *C. atlantica*

Les radicaux libres, notamment les radicaux hydroxyles, sont responsables des dégâts oxydatifs cellulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'ADN. Pour échapper à ces graves conséquences du stress oxydant, l'apport d'antioxydants s'avère nécessaire [122-123].

Dans ce contexte les plantes aromatiques et médicinales et particulièrement leurs huiles essentielles ont fait l'objet de plusieurs recherches. Ces huiles représentent un groupe très intéressant, qui sont dotés de propriétés antioxydantes. Dans la présente étude, le pouvoir antioxydant des huiles essentielles extraites des branches et aiguilles et des cônes de *C. atlantica* a été réalisé par la méthode de piégeage du radical DPPH et du radical hydroxyle.

#### III.8.1. Piégeage du radical DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH des huiles essentielles extraites de *C. atlantica* sont représentés dans la figure III.58



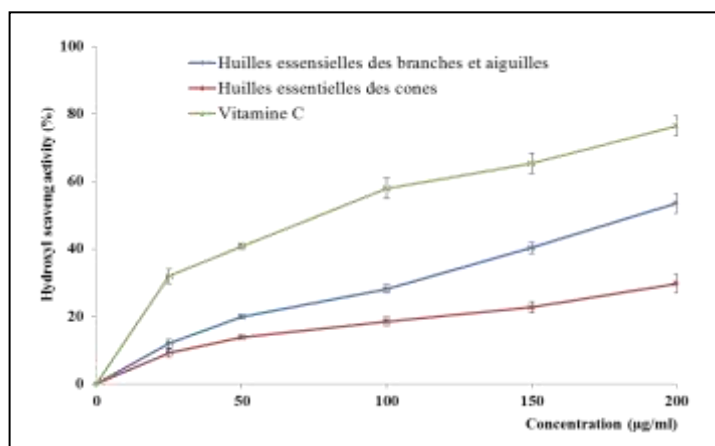
**Figure III.58.** Piégeage du radical stable DPPH des huiles essentielles extraites des branches et aiguilles et des cônes de *C. atlantica* (n=3)

L'activité antioxydante exercée sur le radical libre DPPH par les deux huiles essentielles est dose-dépendante (figure III.58). À la concentration 200 µg/mL, les huiles essentielles des branches et aiguilles et des cônes de *C. atlantica* ont données une activité antioxydante de l'ordre de 41,4% et 30,5% respectivement (figure III.58). La vitamine C a révélé une très bonne activité de l'ordre de 87% (à 50µg/mL).

## Chapitre III. Résultats et discussions

### III.8.2. Piégeage du radical hydroxyle

Les résultats de l'activité du piégeage du radical hydroxyle des huiles essentielles extraites de *C. atlantica* sont représentés dans la figure III.59



**Figure III.59.** Piégeage du radical hydroxyle des huiles essentielles extraites des branches et aiguilles et des cônes de *C. atlantica* (n=3)

Le piégeage du radical hydroxyle augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou pour les deux huiles essentielles testées. À la concentration de 200 µg/mL, les huiles essentielles extraites des branches et aiguilles et des cônes de la plante *C. atlantica* ont montré une activité antioxydante intéressante de l'ordre de 53,5% et 29,7% respectivement (figure III.59). À la même concentration, la vitamine C a montré une activité antioxydante puissante de l'ordre de 76,5µg/mL.

Les résultats obtenus ont montré l'existence d'une activité antioxydante intéressante. L'activité anti-radicalaire des deux huiles essentielles étudiées pourrait être attribuée à la présence de composés bioactives. Il a déjà été démontré que les huiles essentielles sont responsables de l'activité de piégeage radical, dû à la facilité de leur donation de l'atome de l'hydrogène à un radical libre actif [124-125].

## Conclusion

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles des branches et aiguilles et des cônes de *Cedrus atlantica* a conduit à l'identification de 88 composés représentant 74,11% de l'huile essentielle totale des branches et aiguilles et à l'identification de 37 constituants représentant 99,33% de l'huile essentielle totale des cônes. Ces résultats diffèrent considérablement de ceux obtenus auparavant sur les huiles essentielles de cette espèce.

### **Chapitre III. Résultats et discussions**

Les résultats des tests de piégeage du radical DPPH et du radical hydroxyle obtenus *in vitro* ont montré que ces huiles essentielles possèdent une activité antioxydante puissante. Ces résultats ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires afin de trouver des formulations pour l'utilisation des propriétés antioxydants de ces huiles essentielles dans les domaines de l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

## Chapitre III. Résultats et discussions

### Références bibliographiques

- [1] Rao, E. V., Murthy, M. S. R., Ward, R. S. (1984). Nine isoflavones from *Tephrosia maxima*. *Phytochemistry*, 23(7), 1493-1501.
- [2] Louaar, S., Akkal, S., Laouer, H., Guilet, D. (2007). Flavonoids of *Retama sphaerocarpa* leaves and their antimicrobial activities. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(5), 616-617.
- [3] Mizuno, M., Tanaka, T., Katsuragawa, M., Saito, H., Inuma, M. (1990). A new pterocarpan from the heartwood of *Cladrastis platycarpa*. *Journal of Natural Products*, 53(2), 498-499.
- [4] Chaudhuri, S. K., Huang, L., Fullas, F., Brown, D. M., Wani, M. C., Wall, M. E., Kinghorn, A. D. (1995). Isolation and structure identification of an active DNA strand-scission agent, (+)-3, 4-di-hydroxy-8, 9-methylenedioxypterocarpan. *Journal of natural products*, 58(12), 1966-1969.
- [5] Chang, L. C., Gerhäuser, C., Song, L., Farnsworth, N. R., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D. (1997). Activity-guided isolation of constituents of *Tephrosia purpurea* with the potential to induce the phase II enzyme, quinone reductase. *Journal of natural products*, 60(9), 869-873.
- [6] Jiménez-González, L., Álvarez-Corral, M., Muñoz-Dorado, M., Rodríguez-García, I. (2008). Pterocarpan: interesting natural products with antifungal activity and other biological properties. *Phytochemistry Reviews*, 7(1), 125-154.
- [7] Mahabusarakam, W., Deachathai, S., Phongpaichit, S., Jansakul, C., Taylor, W. C. (2004). A benzil and isoflavone derivatives from *Derris scandens* Benth. *Phytochemistry*, 65(8), 1185-1191.
- [8] Mizuguchi, H., Nariai, Y., Kato, S., Nakano, T., Kanayama, T., Kashiwada, Y., Fukui, H. (2015). Maackiain is a novel antiallergic compound that suppresses transcriptional upregulation of the histamine H1 receptor and interleukin-4 genes. *Pharmacology research perspectives*, 3(5), e00166.
- [9] Bezerra-Silva, P. C., Santos, J. C., Santos, G. K., Dutra, K. A., Santana, A. L., Maranhão, C. A., Bieber, L. W. (2015). Extract of *Bowdichia virgilioides* and maackiain as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito. *Experimental parasitology*, 153, 160-164.
- [10] Banerji, A., Luthria, D. L., Prabhu, B. R. (1988). Prenylated compounds from *Atalantia racemosa*: isolation and synthesis of two pyranoflavones. *Phytochemistry*, 27(11), 3637-3640.
- [11] Lee, C. K., Lu, C. K., Kuo, Y. H., Chen, J. Z., Sun, G. Z. (2004). New prenylated flavones from the roots of *Ficus beecheyana*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 51(2), 437-441.

### Chapitre III. Résultats et discussions

- [12] Min, C., Si-Qi, L., Jun-Hong, C. (1991). Two isoflavones from *Flemingia philippinensis*. *Phytochemistry*, 30(11), 3842-3844.
- [13] Pegnyemb, D. E., Messanga, B. B., Ghogomu, R., Sondengam, B. L., Martin, M. T., Bodo, B. (1998). A new benzoylglucoside and a new prenylated isoflavone from *Lophira lanceolata*. *Journal of natural products*, 61(6), 801-803.
- [14] Sun, N. J., Chang, C. J., Cassady, J. M. (1988). A cytotoxic isoflavone from *Cudrania cochinchinensis*. *Phytochemistry*, 27(3), 951-952.
- [15] Stewart, M., Bartholomew, B., Currie, F., Abbiw, D. K., Latif, Z., Sarker, S. D., Nash, R. J. (2000). Pyranoisoflavones from *Rinorea welwitschii*. *Fitoterapia*, 71(5), 595-597.
- [16] Naveed, M. A., Riaz, N., Saleem, M., Jabeen, B., Ashraf, M., Alam, U., Jabbar, A. (2015). -Glucosidase Inhibitory Constituents from *Ficus bengalensis*. *Pakistan Journal of Chemistry*, 5(1), 42-49.
- [17] Noccioli, C., Meini, L., Loi, M. C., Potenza, D., Pistelli, L. (2011). A new alpinumisoflavone derivative from *Genista pichisermolliana*. *Phytochemistry Letters*, 4(3), 342-344.
- [18] Ateba, S. B., Mvondo, M. A., Djiogue, S., Zingué, S., Krenn, L., Njamien, D. (2019). A pharmacological overview of alpinumisoflavone, a natural prenylated isoflavonoid. *Frontiers in pharmacology*, 10, 952.
- [19] Tjahjadarie, T. S., Saputri, R. D., Tanjung, M. (2016, March). Phenolic compounds from the stem bark *Erythrina Orientalis* and detection of antimalaria activity by ELISA. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1718, No. 1, p. 060007). AIP Publishing LLC.
- [20] Amen, Y. M., Marzouk, A. M., Zaghloul, M. G., Afifi, M. S. (2013). Bioactive compounds from *Tipuana tipu* growing in Egypt. *Journal of American Science*, 9(10), 334-9.
- [21] Chang, Y. C., Nair, M. G., Santell, R. C., Helferich, W. G. (1994). Microwave-mediated synthesis of anticarcinogenic isoflavones from soybeans. *Journal of agricultural and food chemistry*, 42(9), 1869-1871.
- [22] Stürtz, M., Lander, V., Schmid, W., Winterhalter, P. (2006). Preparative isolation of isoflavones from soy and red clover. *Molecular nutrition food research*, 50(4-5), 356-361.
- [23] Djeddi, S., Karioti, A., Yannakopoulou, E., Papadopoulos, K., Chatter, R., Skaltsa, H. (2013). Analgesic and antioxidant activities of Algerian *Retama raetam* (Forssk.) Webb Berthel extracts. *Records of Natural Products*, 7(3), 169-176.
- [24] Sarfraz, A., Javeed, M., Shah, M. A., Hussain, G., Shafiq, N., Sarfraz, I., Rasul, A. (2020). Biochanin A: a novel bioactive multifunctional compound from nature. *Science of the Total Environment*, 722, 137907.

### Chapitre III. Résultats et discussions

- [25] Chen, Y., Chen, W. N., Hu, N., Banwell, M. G., Ma, C., Gardiner, M. G., Lan, P. (2019). Cytotoxicity and Anti-inflammatory Properties of Apigenin-Derived Isolaxifolin. *Journal of natural products*, 82(9), 2451-2459.
- [26] Banerji, A., Luthria, D. L., Prabhu, B. R. (1988). Prenylated compounds from *Atalantia racemosa*: isolation and synthesis of two pyranoflavones. *Phytochemistry*, 27(11), 3637-3640.
- [27] Bacher, M., Brader, G., Greger, H., Hofer, O. (2010). Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data assignment of new constituents from *Severinia buxifolia*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 48(1), 83-88.
- [28] Xu, W. H., Al-Rehaily, A. J., Yousaf, M., Ahmad, M. S., Khan, S. I., Khan, I. A. (2015). Two new flavonoids from *Retama raetam*. *Helvetica Chimica Acta*, 98(4), 561-568.
- [29] Kuete, V., Sandjo, L. P., Djeussi, D. E., Zeino, M., Kwamou, G. M., Ngadjui, B., Efferth, T. (2014). Cytotoxic flavonoids and isoflavonoids from *Erythrina sigmoidea* towards multi-factorial drug resistant cancer cells. *Investigational New Drugs*, 32(6), 1053-1062.
- [30] Chan, E. W. C., Wong, S. K., Tangah, J., Inoue, T., Chan, H. T. (2020). Phenolic constituents and anticancer properties of *Morus alba* (white mulberry) leaves. *Journal of integrative medicine*, 18(3), 189-195.
- [31] Dat, N. T., Binh, P. T. X., Van Minh, C., Huong, H. T., Lee, J. J. (2010). Cytotoxic prenylated flavonoids from *Morus alba*. *Fitoterapia*, 81(8), 1224-1227.
- [32] Feng, T., Wang, R. R., Cai, X. H., Zheng, Y. T., Luo, X. D. (2010). Anti-human immunodeficiency virus-1 constituents of the bark of *Poncirus trifoliata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(7), 971-975.
- [33] Li, X., Dong, X., Shuai, M., Liang, Y. (2015). Simultaneous separation and purification of calycosin and formononetin from crude extract of *Astragalus membranaceus* Bge. var. mongholicus (Bge.) using high-speed counter-current chromatography. *Journal of Analytical Chemistry*, 70(1), 92-97.
- [34] Jiang, D., Rasul, A., Batool, R., Sarfraz, I., Hussain, G., Mateen Tahir, M., Li, X. (2019). Potential anticancer properties and mechanisms of action of formononetin. *BioMed research international*, 2019.
- [35] Qiu, G., Tian, W., Huan, M., Chen, J., Fu, H. (2017). Formononetin exhibits anti-hyperglycemic activity in alloxan-induced type 1 diabetic mice. *Experimental Biology and Medicine*, 242(2), 223-230.
- [36] Ji, Z. N., Zhao, W. Y., Liao, G. R., Choi, R. C., Lo, C. K., Dong, T. T. X., Tsim, K. W. K. (2006). In vitro estrogenic activity of formononetin by two bioassay systems. *Gynecological endocrinology*, 22(10), 578-584.

### Chapitre III. Résultats et discussions

- [37] Mu, H., Bai, Y. H., Wang, S. T., Zhu, Z. M., Zhang, Y. W. (2009). Research on antioxidant effects and estrogenic effect of formononetin from *Trifolium pratense* (red clover). *Phytomedicine*, 16(4), 314-319.
- [38] Jin, Y. M., Xu, T. M., Zhao, Y. H., Wang, Y. C., Cui, M. H. (2014). *In vitro* and *in vivo* anti-cancer activity of formononetin on human cervical cancer cell line HeLa. *Tumor Biology*, 35(3), 2279-2284.
- [39] Hu, W., Wu, X., Tang, J., Xiao, N., Zhao, G., Zhang, L., Ou, L. (2019). *In vitro* and *in vivo* studies of antiosteosarcoma activities of formononetin. *Journal of cellular physiology*, 234(10), 17305-17313.
- [40] Tay, K. C., Tan, L. T. H., Chan, C. K., Hong, S. L., Chan, K. G., Yap, W. H., Goh, B. H. (2019). Formononetin: a review of its anticancer potentials and mechanisms. *Frontiers in pharmacology*, 10, 820.
- [41] Zhao, Y., QU, G., Lu, W., Lv, Q., Shi, W., Xie, S., Zhou, F. (2020). Anti-inflammatory Activity of Formononetin in a Collagen-induced Arthritis Mouse Model of *Rheumatoid Arthritis*.
- [42] Cavendish, R. L., de Souza Santos, J., Neto, R. B., Paixão, A. O., Oliveira, J. V., de Araujo, E. D., Gomes, M. Z. (2015). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Brazilian red propolis extract and formononetin in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 173, 127-133.
- [43] Ma, Z., Ji, W., Fu, Q., Ma, S. (2013). Formononetin inhibited the inflammation of LPS-induced acute lung injury in mice associated with induction of PPAR gamma expression. *Inflammation*, 36(6), 1560-1566.
- [44] Ibrahim, M., Ambreen, S., Hussain, A., Hussain, N., Imran, M., Ali, B., Rehmani, F. S. (2014). Phytochemical investigation on *Eucalyptus globulus* Labill. *Asian Journal of Chemistry*, 26(4), 1011-1014.
- [45] Coward, L., Barnes, N. C., Setchell, K. D., Barnes, S. (1993). Genistein, daidzein, and their -glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 1961-1967.
- [46] El Sherbeiny, A. E. A., El Sissi, H. I., Nawwar, M. A. M., El Ansari, M. A. (1978). The Flavonoids of the Seeds of *Lygos raetam*. *Planta Medica*, 34, 335-336.
- [47] Harborne, J. B. (1969). Chemosystematics of the Leguminosae. Flavonoid and isoflavonoid patterns in the tribe *Genisteeae*. *Phytochemistry*, 8(8), 1449-1456.

### Chapitre III. Résultats et discussions

- [48] Saada, M., Falleh, H., Catarino, M. D., Cardoso, S. M., Ksouri, R. (2018). Plant growth modulates metabolites and biological activities in *Retama raetam* (Forsk.) Webb. *Molecules*, 23(9), 2177.
- [49] Hsiao, Y. C., Peng, S. F., Lai, K. C., Liao, C. L., Huang, Y. P., Lin, C. C., Chung, J. G. (2019). Genistein induces apoptosis *in vitro* and has antitumor activity against human leukemia HL-60 cancer cell xenograft growth *in vivo*. *Environmental toxicology*, 34(4), 443-456.
- [50] Jiang, H., Fan, J., Cheng, L., Hu, P., Liu, R. (2018). The anticancer activity of genistein is increased in estrogen receptor beta 1-positive breast cancer cells. *Oncotargets and therapy*, 11, 8153.
- [51] Thangavel, P., Puga-Olguín, A., Rodríguez-Landa, J. F., Zepeda, R. C. (2019). Genistein as potential therapeutic candidate for menopausal symptoms and other related diseases. *Molecules*, 24(21), 3892.
- [52] Sundaram, M. K., Ansari, M. Z., Al Mutery, A., Ashraf, M., Nasab, R., Rai, S., Hussain, A. (2018). Genistein induces alterations of epigenetic modulatory signatures in human cervical cancer cells. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 18(3), 412-421.
- [53] Garritano, S., Pinto, B., Giachi, I., Pistelli, L., Reali, D. (2005). Assessment of estrogenic activity of flavonoids from Mediterranean plants using an *in vitro* short-term test. *Phytomedicine*, 12(1-2), 143-147.
- [54] Kulesh, N. I., Vasilevskaya, N. A., Veselova, M. V., Denisenko, V. A., Fedoreev, S. A. (2008). Minor polyphenols from *Maackia amurensis* wood. *Chemistry of natural compounds*, 44(6), 712-714.
- [55] Ferrari, F., Botta, B., Alves De Lima, R. (1983). Flavonoids and isoflavonoids from *Zollernia paraensis*. *Phytochemistry*, 22 (7), 1663.
- [56] Utkina, N. K., Kulesh, N. I. (2012). Antioxidant activity of polyphenols and polyphenol complex from the far-eastern tree *Maackia amurensis*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 46(8), 488-491.
- [57] Kerkatou, M., Menad, A., Sarri, D., León, F., Brouard, I., Bouldjedj, R., Benayache, F. (2013). Secondary metabolites from *Genista aspalathoides* Lamk ssp. *aspalathoides* M. *Der Pharmacia Lettre*, 5 (5), 285-289.
- [58] Boumaza, O., Mekkiou, R., Seghiri, R., Sarri, D., Benayache, S., Garcia, V. P., Benayache, F. (2006). Flavonoids and isoflavonoids from *Genista tricuspidata*. *Chemistry of natural compounds*, 42(6), 730-731.



### Chapitre III. Résultats et discussions

- [59] Bontempo, P., Rigano, D., Doto, A., Formisano, C., Conte, M., Nebbioso, A., Altucci, L. (2013). *Genista sessilifolia* DC. extracts induce apoptosis across a range of cancer cell lines. *Cell proliferation*, 46(2), 183-192.
- [60] Zhao, S., Zhang, L., Gao, P., Shao, Z. (2009). Isolation and characterisation of the isoflavones from sprouted chickpea seeds. *Food Chemistry*, 114(3), 869-873.
- [61] Touati, R., Santos, S. A., Rocha, S. M., Belhamel, K., Silvestre, A. J. (2017). Phenolic composition and biological prospecting of grains and stems of *Retama sphaerocarpa*. *Industrial crops and products*, 95, 244-255.
- [62] Huang, C., Li, R., Shi, W., Huang, Z. (2019). Discovery of the anti-tumor mechanism of calycosin against colorectal cancer by using system pharmacology approach. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 25, 5589.
- [63] Zhang, D. Q., Wang, H. B., Wang, S. F., Wang, D. Q. (2015). Research achievements on biological activities of calycosin. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, 40(22), 4339-4345.
- [64] Cui, L., Han, Y., Ma, Y. (2019). Calycosin ameliorates inflammatory paw edema in mice via inhibiting NF-kappa B activation. *International Journal of Pharmacology*, 15(6), 744-751.
- [65] Hsu, C. C., Kuo, T. W., Liu, W. P., Chang, C. P., Lin, H. J. (2020). Calycosin preserves BDNF/TrkB signaling and reduces post-stroke neurological injury after cerebral ischemia by reducing accumulation of hypertrophic and TNF- $\alpha$ -containing microglia in rats. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 1-14.
- [66] Xuan, Q. C., Huang, R., Miao, C. P., Chen, Y. W., Zhai, Y. Z., Song, F., Wu, S. H. (2014). Secondary metabolites of endophytic fungus *Trichoderma* sp. ym 311505 of *Azadirachta indica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(1), 139-141.
- [67] Abdalla, M. F., Saleh, N. A. M. (1983). Flavonoids of *Retama raetam*. *Journal of natural products*, 46(5), 755-756.
- [68] Sun, M. Y., Ye, Y., Xiao, L., Rahman, K., Xia, W., Zhang, H. (2016). Daidzein: A review of pharmacological effects. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, 13(3), 117-132.
- [69] Kim, M. R., Lee, S. K., Kim, C. S., Kim, K. S., Moon, D. C. (2004). Phytochemical constituents of *Carpesium macrocephalum* FR-et SAV. *Archives of pharmacal research*, 27(10), 1029-1033.

### Chapitre III. Résultats et discussions

- [70] Tan, M. A., Gonzalez, S. J. B., Alejandro, G. J. D., An, S. S. A. (2020). Neuroprotective effects of vomifoliol, isolated from *Tarenna obtusifolia* Merr.(Rubiaceae), against amyloid-beta 1-42-treated neuroblastoma SH-SY5Y cells. *3 Biotech*, *10*(10), 1-6.
- [71] Maria, S., Islam, F., Qais, N., Hasan, C. M. (2013). Isolation of vomifoliol: a megastigmane from leaves of *Antidesma ghaesembilla*. *Asian Journal of Chemistry*, *25*(6), 3533.
- [72] Mogana, R., Adhikari, A., Debnath, S., Hazra, S., Hazra, B., Teng-Jin, K., Wiart, C. (2014). The antiacetylcholinesterase and antileishmanial activities of *Canarium patentinervium* Miq. *BioMed research international*, 2014.
- [73] Feng, T., Wang, R. R., Cai, X. H., Zheng, Y. T., Luo, X. D. (2010). Anti-human immunodeficiency virus-1 constituents of the bark of *Poncirus trifoliata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *58*(7), 971-975.
- [74] Kassem, M., Mosharrafa, S. A., Saleh, N. A. M., Abdel-Wahab, S. M. (2000). Two new flavonoids from *Retama raetam*. *Fitoterapia*, *71*(6), 649-654.
- [75] Posri, P., Suthiwong, J., Takomthong, P., Wongsas, C., Chuenban, C., Boonyarat, C., Yenjai, C. (2019). A new flavonoid from the leaves of *Atalantia monophylla* (L.) DC. *Natural product research*, *33*(8), 1115-1121.
- [76] Vu, L. T. N., Anh, L. T., Cuc, N. T., Nhiem, N. X., Tai, B. H., Van Kiem, P., Van Cuong, P. (2019). Prenylated flavonoids and other constituents from *Macaranga indica*. *Natural Product Research*, 1-8.
- [77] Xiao, Y., Lee, I. S. (2016). Microbial metabolism of prenylated apigenin derivatives by *Mucor hiemalis*. *Phytochemistry Letters*, *16*, 197-202.
- [78] Agrawal.K.P. (1992) Nmr-Spectroscopy in the Structural Elucidation of Oligosaccharides and Glycosides. *Phytochemistry*, *31*, 3307-3330.
- [79] Pistelli, L., Bertoli, A., Giachi, I., Manunta, A. (1998). Flavonoids from *Genista ephedroides*. *Journal of natural products*, *61*(11), 1404-1406.
- [80] López-Lázaro, M., Martín-Cordero, C., Iglesias-Guerra, F., González, M. A. (1998). An isoflavone glucoside from *Retama sphaerocarpha* boissier. *Phytochemistry*, *48*(2), 401-402.
- [81] Louaar, S., Akkal, S., Bousetla, A., Medjroubi, K., Djarri, L., Seguin, E. (2005). Phytochemical study of *Retama sphaerocarpha*. *Chemistry of natural compounds*, *41*(1), 107-108.
- [82] Benaissa, A., Cherfia, R., Canabady-Rochelle, L., Perrin, D., Chaimbault, P., Bouhelassa, M., Chaouche, N. K. (2017). Antioxidant and antimicrobial potentials of *Retama*

### Chapitre III. Résultats et discussions

*Sphaerocarpa*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(5), 214-221.

[83] Harris, R.S., Karmas, E. (1977). Nutritional evaluation of food processing, 3rd Ed. The Avi Publishing company Inc, New York, pp. 612.

[84] Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(25), 7292-7295.

[85] Kadri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., Gdoura, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African journal of biotechnology*, 10(19), 3908-3914.

[86] Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.

[87] Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.

[88] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.

[89] Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., Mirtajaldini, M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food chemistry*, 112(4), 885-888.

[90] Hamza Sherif, S., Gebreyohannes, B. (2018). Synthesis, characterization, and antioxidant activities of genistein, biochanin A, and their analogues. *Journal of Chemistry*, 2018.

[91] Kładna, A., Berczy ski, P., Kruk, I., Piechowska, T., Aboul-Enein, H. Y. (2016). Studies on the antioxidant properties of some phytoestrogens. *Luminescence*, 31(6), 1201-1206.

[92] Iswandana, R., Pham, B. T., Van Haften, W. T., Luangmonkong, T., Oosterhuis, D., Mutsaers, H. A. M., Olinga, P. (2016). Organ-and species-specific biological activity of rosmarinic acid. *Toxicology in Vitro*, 32, 261-268.

[93] Oksana, S., Marian, B., Mahendra, R., Bo, S. H. (2012). Plant phenolic compounds for food, pharmaceutical and cosmetics production. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(13), 2526-2539.

### Chapitre III. Résultats et discussions

- [94] Yamada, J., Tomita, Y. (1996). Antimutagenic activity of caffeic acid and related compounds. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 60(2), 328-329.
- [95] Laughton, M. J., Evans, P. J., Moroney, M. A., Hoult, J. R. S., Halliwell, B. (1991). Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochemical pharmacology*, 42(9), 1673-1681.
- [96] Cushnie, T. T., Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
- [97] Eldahshan, O. A., Azab, S. S. (2012). Anti-inflammatory effect of apigenin-7-neohesperidoside (rhoifolin) in carrageenin-induced rat oedema model. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(8), 74-79.
- [98] Chiang, L. C., Chiang, W., Liu, M. C., Lin, C. C. (2003). *In vitro* antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(2), 194-198.
- [99] Yusifova, D. Y., Movsumov, I. S., Garaev, E. A., Mahiou-Leddet, V., Mabrouki, F., Herbette, G., Ollivier, E. (2015). Biologically active compounds from *Lepidium campestre* and pulp from lemon-juice production. *Chemistry of Natural Compounds*, 51(5), 964-965.
- [100] Fursa, N. S., Litvinenko, V. I., Krivencuk, P. E. (1970). Flavonol glycosides in *Lepidium latifolium* and *L. draba*. *Rastitel'nye Resursy*, 6, 567-71.
- [101] Doke, S., Guha, M. (2014). Garden cress (*Lepidium sativum* L.) seed-an important medicinal source: A. *Journal of Natural Products of Plant Resources*, 4, 69-80.
- [102] Mahomoodally, M. F., Zengin, G., Aumeeruddy, M. Z., Sezgin, M., Aktumsek, A. (2018). Phytochemical profile and antioxidant properties of two Brassicaceae species: *Cardaria draba* subsp. *draba* and *Descurainia sophia*. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 16, 453-458.
- [103] Bai, N., He, K., Roller, M., Lai, C. S., Bai, L., Pan, M. H. (2015). Flavonolignans and other constituents from *Lepidium meyenii* with activities in anti-inflammation and human cancer cell lines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(9), 2458-2463.
- [104] Ait-Yahia, O., Perreau, F., Bouzroua, S. A., Benmalek, Y., Dob, T., Belkebir, A. (2018). Chemical composition and biological activities of n-butanol extract of *Lepidium sativum* L (Brassicaceae) seed. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(5), 891-896.
- [105] Orlovskaya, T. V., Chelombit'ko, V. A. (2007). Phenolic compounds from *Lepidium sativum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 3(43), 323-323.

### Chapitre III. Résultats et discussions

- [106] Ibrahim, I. A., Shalaby, A. A., Abdallah, H. M. L., El-Zohairy, N. F., Bahr, H. I. (2020). Ameliorative effect of garden cress (*Lepidium sativum* L.) seeds ethanolic extract on high fat diet-prompted non-alcoholic fatty liver disease in the rat model: Impact on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase and vascular endothelial growth factor. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 8(s1), 1-10.
- [107] Valentová, K., Ulrichová, J. (2003). *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*-prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomedical Papers*, 147(2), 119-130.
- [108] Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- [109] Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- [110] Decker, E. A., Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 38(3), 674-677.
- [111] Karan, T., Cadirci, B. H. (2018). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Lepidium draba* L. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 13(7), 1123-1131.
- [112] Sharifi-Rad, J., Hoseini-Alfatemi, S. M., Sharifi-Rad, M., da Silva, J. A. T., Rokni, M., Sharifi-Rad, M. (2015). Evaluation of biological activity and phenolic compounds of *Cardaria draba* (L.) extracts. *J. Biol. Today's World*, 4(9), 180-189.
- [113] Bicha, S., Benmekhebi, L., Boubekri, N., Khellaf, R., Brouard, I., Zama, D., Benayache, F. (2016). Compositional study, antibacterial and antioxidant potential of *Lepidium draba* L.(Brassicaceae). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 283-287.
- [114] Boudarene, L., Rahim, L., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y. (2004). Analysis of Algerian essential oils from twigs, needles and wood of *Cedrus atlantica* G. Manetti by GC/MS. *Journal of essential oil research*, 16(6), 531-534.
- [115] Dahoun, A., Derriche, R., Belabbes, R. (1993). Influence du mode d'extraction et de la composition de l'huile essentielle de la concrète du bois de cèdre de l'Atlas Algérien. *Rivista italiana. EPPOS*, 4, 29-32.

### Chapitre III. Résultats et discussions

- [116] Benouaklil, F., Hamaidi-cherqui, F., Hamaidi, M. S., Saidi, F. (2017). Chemical composition and antimicrobial properties of algerian *Cedrus atlantica* M. essential oils. *Agro Biologia*, 7(1), 355-362.
- [117] Satrani, B., Aberchane, M., Farah, A., Chaouch, A., Talbi, M. (2006). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. *Acta botanica gallica*, 153(1), 97-104.
- [118] Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A. (2010). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12(3), 381-385.
- [119] Boudarene, L., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y., Scharff, C. (2004). Composition of the seed oils from Algerian *Cedrus atlantica* G. Manetti. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 61-63.
- [120] Senatore, F. (1996). Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *Journal of agricultural and food chemistry*, 44(5), 1327-1332.
- [121] Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A. (2010). Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie*, 8(3), 166-170.
- [122] Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272.
- [123] Lipinski, B. (2011). Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2011.
- [124] Malika, B., Imegrave, L. (2012). Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of *Lavandula stoechas*. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 4(7), 96-101.
- [125] Rabib, H., Elagdi, C., Hsaine, M., Fougrach, H., Koussa, T., Badri, W. (2020). Antioxidant and Antibacterial Activities of the Essential Oil of Moroccan *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Biochemistry Research International*, 2020.

- 
- **Conclusion générale**

## Conclusion générale

Au cours du présent travail trois espèces végétales algériennes ont été investiguées chimiquement et biologiquement. Il s'agit de *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Lepidium draba* (L.) et *Cedrus atlantica*.

Les travaux de séparation, de purification et d'identification des composés de l'extrait chloroforme et acétate d'éthyle de *R.sphaerocarpa* ont permis l'isolement de 27 produits purs composés dont deux sont décrit pour la première fois dans la littérature et neuf dans le genre. Nous avons pu établir à l'heure actuelle, la structure de 16 composés qui sont classés comme suit :

- 10 isoflavonoïdes dont un prenylé, un isoflavonoïde glucosylé et un isoflavonoïde prenylé glucosylé
- trois flavonoïdes prenylés dont un flavonoïde prenylé glucosylé décrit pour la première fois comme un produit isolé à partir d'une source naturelle
- un ptérocarpane
- une dihydrochalcone
- un mégastigmane de type nor-isoprenoïde

Les deux composés présentant de nouvelles structures font actuellement l'objet d'un travail au laboratoire de l'Instituto di Chimica Biomolecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pozzuoli (Naples) Italie, qui permettra de compléter la caractérisation chimique et biologique.

L'analyse de la fraction acétate d'éthyle de l'espèce *Lepidium draba* (L.) a été réalisée par HPLC-TOF/MS. Le résultat de cette analyse a révélé la présence de douze acides phénoliques et six flavonoïdes.

Les huiles essentielles de l'espèce *Cedrus atlantica*, obtenues à partir d'une distillation par entraînement à la vapeur des branches/aiguilles et des cônes ont été caractérisées. 88 composés représentant 74,11% de l'huile essentielle totale des branches/aiguilles et 37 constituants représentant 99,33% de l'huile essentielle totale des cônes. Ces huiles sont majoritairement composée de : *cis*-bisabolène, perhydrofarnésyl acétone, spathuléol (cônes) et -pinène, -pinène, acétate de bornyle, D-limonène (branches/aiguilles).

D'un point de vue chimiotaxonomique, la composition chimique de l'espèce *Cedrus atlantica* révèle une différence considérable entre nos résultats et ceux obtenus auparavant avec la même espèce.



## Conclusion générale

L'isolement de tous ces composés a été effectué à l'aide de méthodes chromatographiques : chromatographie sur colonne de gel de silice normale (CC), chromatographie sur plaques préparatives de silice normale (CPP).

Les structures des produits isolés ont été établies par analyse spectrale, principalement des expériences de RMN ( $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ , COSY, HSQC et HMBC), de spectrométrie de masse avec ionisation par électrospray (TOF/MS), la spectroscopie UV et la comparaison de leurs données spectroscopiques avec celles rapportées dans la littérature.

Une analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux a été effectuée sur les trois extraits de *R.sphaerocarpa*. Les résultats montrent que l'extrait acétate d'éthyle est l'extrait le plus riche en composés phénoliques.

L'activité antioxydante des différents extraits de *R.sphaerocarpa* et des isoflavonoïdes **Rs1**, **Rs7** et **Rs9** a été évalué. Les trois extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol présentent un effet antioxydant modéré comparativement aux standards utilisés. La capacité anti-radicalaire la plus élevée par rapport aux autres extraits a été observée dans le cas de la fraction acétate d'éthyle, ce qui prouve la dépendance de l'activité antioxydante et la teneur totale en composés phénoliques des extraits.

Le pouvoir antioxydant des isoflavonoïdes est corrélé au nombre de groupement hydroxyle présent dans la molécule et spécifiquement sur le cycle A.

L'activité antioxydante des extraits chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol de l'espèce *L.draba* (L.) a été évalué par la combinaison de cinq techniques complémentaires: le test DPPH, la méthode d'ABTS, la méthode du CUPRAC, le test de la chélation du fer et enfin le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP). Les trois extraits de cette plante ont enregistré un pouvoir antioxydant modéré comparativement aux standards utilisés.

L'effet antioxydant des huiles essentielles de *C.atlantica* a été évalué, en utilisant le test de piégeage du radical DPPH et du radical hydroxyle. Les résultats montrent une activité antioxydante puissante de ces huiles.

Des études complémentaires seront nécessaires pour mieux évaluer la composition chimique et d'autres activités biologiques de ces trois espèces.

## HPLC Analysis and Antioxidant Properties of Algerian *Lepidium draba* Ethyl acetate Extract

Bensaid Sara Ouissem, Bicha Sabrina, Benmekhebi Lotfi, Rebbas Khellaf, Bensouici Chawki, Demirtas Ibrahim, Benayache Samir & Benayache Fadila

To cite this article: Bensaid Sara Ouissem, Bicha Sabrina, Benmekhebi Lotfi, Rebbas Khellaf, Bensouici Chawki, Demirtas Ibrahim, Benayache Samir & Benayache Fadila (2018) HPLC Analysis and Antioxidant Properties of Algerian *Lepidium draba* Ethyl acetate Extract, Journal of Biologically Active Products from Nature, 8:4, 265-271, DOI: [10.1080/22311866.2018.1511381](https://doi.org/10.1080/22311866.2018.1511381)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/22311866.2018.1511381>



Published online: 07 Sep 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

## HPLC Analysis and Antioxidant Properties of Algerian *Lepidium draba* Ethyl acetate Extract

Bensaid Sara Ouissem <sup>1</sup>, Bicha Sabrina <sup>1\*</sup>, Benmekhebi Lotfi <sup>2</sup>, Rebbas Khellaf <sup>3</sup>, Bensouici Chawki <sup>4</sup>, Demirtas Ibrahim <sup>5</sup>, Benayache Samir <sup>1</sup> and Benayache Fadila <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unit of Valorization of Natural Resources, Bioactive Molecules and Physicochemical and Biological Analyzes, Department of Chemistry, Faculty of Exact Sciences, University of Mentouri Brothers, P.B. 325 Route Ain El Bey, Constantine, Algeria

<sup>2</sup> Laboratory of Materials Chemistry, University of Mentouri Brothers, P.B. 325 Route Ain El Bey, Constantine, Algeria

<sup>3</sup> Department of Natural and Life Sciences, Faculty of Science, University Mohamed Boudiaf of M'Sila, 28 000, Agro-Biotechnology and Nutrition Laboratory in Arid and Semi-Arid Zones / Natural Resources Management and Environment Team. Ibn Khaldoun University, Tiaret, Algeria

<sup>4</sup> Biotechnology Research Center, Ali Mendjli Nouvelle Ville UV03, BP E73, Constantine, Algeria

<sup>5</sup> University of Çankiri Karatekin, Faculty of Science, Departement of Chemistry, Ballica Campus, Çankiri 18100, Turkey

Received 13 February 2018; accepted in revised form 06 August 2018

**Abstract:** The aim of this study was to identify and quantify the phenolic compounds of the Ethyl acetate extract from *Lepidium draba* using HPLC-TOF/MS; and to investigate the antioxidant potencies. In this work, we have found that the Ethyl acetate soluble fraction of *L. draba* is a good source of antioxidant, which is the result of its phenolic acids and flavonoids. Five methods were conducted, to determine the antioxidant components of the Ethyl acetate extract: DPPH, ABTS, CUPRAC, Reducing power assay and Metal chelating assay. Nineteen compounds from which 13 phenolic acids and 6 flavonoids known for their pharmacological properties were identified by using HPLC-TOF/MS technique: Gallic acid, Gentisic acid, Chlorogenic acid, 4-Hydroxy benzoic acid, Protocatechuic acid, Caffeic acid, Vanillic acid, 4-hydroxybenzaldehyde, p-coumaric acid, Chicoric acid, Ferulic acid, Rosmarinic acid, Salicylic acid, Catechin, Rutin, Hesperidin, Apigenin-7-glucoside, Quercetin, and Kaempferol. All These compounds were identified and quantified in *Lepidium draba* for the first time. The IC<sub>50</sub> and A<sub>0.50</sub> of the Ethyl acetate extract were 305.69±1.22, 39.42±0.45, 152.27±0.38 and 183.83±2.47 µg/mL in DPPH, ABTS, Metal chelating assay, and CUPRAC. However, the results indicate that *L. draba* is a good source of natural antioxidants.

**Key words:** *Lepidium draba*, HPLC-TOF/MS, phenolic acids, antioxidant activity.

### Introduction

Oxidative stress is a new concept that has been widely implicated in biomedical sciences during the last 20 years. It causes different diseases such as cancer, hypertension and Diabetes etc. Anti-

oxidants are class of molecules, which are considered as an essential part of optimal health <sup>1</sup>, Phenolic compounds as secondary metabolites have the potential to act as natural antioxidants <sup>2</sup>.

The genus *Lepidium*, which belongs to the

\*Corresponding author (Bicha Sabrina)  
E-mail: <bichasabrina2016@gmail.com >

Brassicaceae family contains about 250 species<sup>3</sup>, it mainly consists of alkaloids, saponins, anthracene glycosides, carbohydrates, proteins, amino acids, flavanoids, and sterols<sup>4-5</sup>. *Lepidium draba* L. (Brassicaceae; syn. *Cardaria draba*) called Haref machriki, which is a perennial herb with a stout, deep tap-root and branched woody rootstock. Flowering stems somewhat angular, 20-90 cm high, erect, rigid, with short adpressed, simple hairs, branched above with numerous leaves<sup>6</sup>. It is indigenous to Southwestern, Central Asia<sup>7</sup>, Europe<sup>8</sup>, North America<sup>9</sup> and North Africa including Algeria<sup>10</sup>.

Very little data on compositional studies of *Lepidium draba* exists<sup>11-17</sup>. In previous studies we reported some flavonoids from aerial parts of this plant and we investigated the antioxidant activity of *n*-butanol extract using only free radical-scavenging assay DPPH<sup>18</sup>. The purpose of the present work was the identification and quantification of phenolic compounds present in the ethyl acetate extract using HPLC-TOF/MS; and it was subjected to DPPH radical scavenging activity, ABTS, CUPRAC, reducing power; and metal chelate tests to evaluate the antioxidant activities.

## Materials and methods

### Plant material

Aerial parts of *Lepidium draba* L. were collected from M'sila, located in the Northeastern of Algeria in May 2014 and authenticated by the botanist Dr. Khellaf Rebbas of M'Sila University. The voucher specimen (SB/KR, 002) is maintained in the botanical laboratory of the department.

### Preparation of extracts

Air-dried and powdered aerial parts (1200 g) of *Lepidium draba* L. were exhaustively extracted from maceration with methanol /water (80/20) at room temperature. After filtration, evaporation of the solvent under reduced pressure and temperature. The residue was dissolved in water and extracted with chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol. The organic solutions were concentrated in vacuum (up to 35°C) to obtain the following extracts CHCl<sub>3</sub> (1.96 g), EtOAc (8.46 g) and *n*-butanol (3.18 g).

### Quantitative analysis by HPLC-TOF/MS analysis

The quantification of flavonoids, phenolic acids in the ethyl acetate extract was carried out using 1260 Infinity HPLC system (Agilent technology) coupled with TOF (6210 Time of Flight) LC/MS detector and ZORBAX SB-C18 (4.6 x 100 mm, 3.5 µm) column. The mobile phase comprised of solvent mixtures (A) water (ultra-pure) with 0.1 % formic acid and (B) acetonitrile, respectively. The flow rate was 0.6 mL min<sup>-1</sup>. The column temperature was maintained at 35°C. The solvent program was as follows: 0-1 min 10 % B; 1-20 min 50 % B; 20-23 min 80 % B; 23-30 min 10 % B. The injection volume was 10 µL. Ionization mode of HPLC-TOF/MS instrument was negative operating with nitrogen gas at 325°C, and the gas flow of 10.0 L/min, nebulizer of 40 psi, capillary voltage of 3500 V; finally, fragmentor voltage of 175 V. The EtOAc extract (200 ppm) was dissolved in methanol at room temperature. The particulates of the samples were removed using a PVDF (0.45 µm) filter<sup>19</sup>. The limits of detection were found to be between 25 and 2500 ppb using HPLC-TOF/MS.

### Antioxidant activity

#### Antioxidant activity by DPPH assay

The antioxidant activity was established according to method described by Blois<sup>20</sup>. In the radical form, DPPH has a deep violet color and it pale yellow when presence of antioxidant product followed by decreases in its absorbance. Briefly, in a 96-well plate, 160 µl of DPPH<sup>•</sup> solution at 0.1 mM was added with 40 µl of sample solutions in methanol at different concentrations. The plate was kept in the dark at room temperature. The absorbance was measured at 517 nm after 30 mn of incubation. BHA, BHT, ascorbic acid and tannic acid were used as antioxidant standards for comparison of the activity. The scavenging activity of the extract was calculated using the following equation:

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

where  $A_{\text{control}}$  and  $A_{\text{sample}}$  are the absorbances of the reference and sample obtained from the UV-visible spectrophotometer, respectively.

### Antioxidant activity by ABTS assay

The ABTS<sup>•+</sup> scavenging activity was evaluated according to the method of Apak *et al.*,<sup>21</sup>. The ABTS<sup>•+</sup> solution was prepared by the mixture of 7 mM ABTS with 2.45 mM potassium persulfate using the water as solvent. The ABTS<sup>•+</sup> solution was diluted in ethanol or water to get an absorbance of 0.708±0.025 at 734 nm. In each well the reaction mixture containing 40 µL of sample solution in methanol at different concentrations and 160 µL of ABTS<sup>•+</sup> solution. After incubation is complete, the absorbance was measured at 734 nm using a 96-well microplate reader. Each assay for all samples was carried out in triplicate. BHA, BHT, ascorbic acid and tannic acid were used as antioxidant standards for comparison of the activity. Percentage inhibition of all samples was calculated using the following equation:

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \left[ \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

where  $A_{\text{control}}$  and  $A_{\text{sample}}$  are the absorbances of the reference and sample obtained from the UV-visible spectrophotometer, respectively.

### Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC)

The CUPRAC was determined according to the method described previously<sup>22-23</sup>. 40 µl of the Ethyl acetate solution at different concentrations and 50 µl of CuCl<sub>2</sub> solution (10 mM) were added into a 96 well round-bottomed plate. Following this, 50 µl of neocuproine solution (7.5 mM) and 60 µl of NH<sub>4</sub>Ac buffer (1 M, pH 7.0) solution were given to each well. After 60 min the absorbance was measured at 450 nm. Results were given as A<sub>0.5</sub> corresponding to the concentration indicating 50 % absorbance intensity compared with the absorbance of BHA, BHT, ascorbic acid and tannic acid, which were used as antioxidant standards.

### Reducing power assay

The reducing power of ethyl acetate extract was determined according to the method of Oyaizu (1986)<sup>23</sup>. 10 µl of sample solutions at different amounts were mixed with 40 µl of 0.2 M phos-

phate buffer (pH 6.6) and 50 µl of potassium ferricyanide (1 %). The mixture was incubated at 50°C for 20 min, 50 µl of trichloroacetic acid (10 %) were added. The solutions obtained was mixed with distilled water (40 µl) and 10 µl of ferric chloride (0.1 %), and the absorbance was measured at 700 nm. Higher absorbance of the reaction mixture indicates greater reducing power. BHT, BHA, ascorbic and tannic acid were used as antioxidant standards for comparison of the activity. The increase of reducing power by the extract and standard was calculated as follows:

$$\% \text{ Reducing power} = \left[ \left( \frac{A_{\text{test}}}{A_{\text{blank}}} \right) - 1 \right] \times 100$$

Where,  $A_{\text{test}}$  and  $A_{\text{blank}}$  are absorbance of sample and blank solutions, respectively.

### Metal chelating activity assay

The ferrous ion chelating potential of ethyl acetate extract of *L. draba* was measured according to the method of (Decker and Welch with slight modifications<sup>24</sup>. 40 µL of FeCl<sub>2</sub> (0.2 mM) was mixed at ethyl acetate extract of different concentrations. The reaction was initiated by the addition of ferene (0.5 mM). The mixture was shaken well then incubated for 10 min at room temperature. Absorbance was determined at 593 nm. EDTA was used as antioxidant standard and percent chelation was calculated using the following equation. The results were given as IC<sub>50</sub> value (mg/mL) (50 % inhibition):

$$\text{FE}^{+2} \text{ chelating effect (\%)} = \left[ \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

### Statistical analyses

All the experimental results are mentioned as a mean ± standard deviation of three trials.

## Results

### Identification and quantification of compounds by HPLC-TOF/MS analysis

The ethyl acetate extract was obtained from the aerial parts of *L. draba* and analyzed by HPLC-TOF/MS. The identification of individual compounds were performed on the basis of their retention times and mass spectrometry by comparison with those of different standards.

Nineteen compounds were identified and listed

**Table 1. HPLC-TOF/MS analysis of ethyl acetate extract of *Lepidium draba* L.**

No.	Compounds	Contents (mg/kg plant)	RT (min)
1	Gallic acid	1.47	2.40
2	Gentisic acid	176.10	4.50
3	Chlorogenic acid	2.50	5.50
4	Catechin	0.50	5.80
5	4-Hydroxy benzoic acid	3880.50	7.00
6	Protocatechuic acid	92.10	7.10
7	Caffeic acid	819.90	7.60
8	Vanillic acid	4.20	7.90
9	Rutin	10.80	9.20
10	4-hydroxybenzaldehyde	1.10	9.40
11	Ferulic acid	61.80	10.60
12	Hesperidin	7.11	10.80
13	Apigenin-7-glucoside	130.80	11.40
14	Rosmarinic acid	4040.00	12.00
15	p-Coumaric acid	0.90	12.10
16	Salicylic acid	24.20	13.10
17	Quercetin	1.82	14.00
18	Kaempferol	0.92	15.70
19	Chicoric acid	35.30	18.00

in table 1. As it can be seen, the analyzed extract comprises, phenolic acids and flavonoids. These phenolic acids were identified as gallic acid, gentisic acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, 4-hydroxybenzaldehyde, p-coumaric acid, chicoric acid, ferulic acid, salicylic acid. Rosmarinic acid has the highest concentration 4040 mg/kg followed by 4-hydroxybenzoic acid 3880.5 mg/kg and caffeic acid 819.9 mg/kg. While, flavonoids were identified as catechin, rutin, hesperidin, apigenin-7-glucoside, quercetin and kaempferol.

#### Determination of anti-oxidant activity

In this study the antioxidant activity of ethyl acetate extract from *L. draba* was evaluated by five different methods: DPPH, ABTS, reducing power, CUPRAC and metal chelating tests. The results, except for CUPRAC and reducing power assay, were recorded as  $IC_{50}$ . As shown in table 2 the antioxidant activity of the tested extract was compared to those of standards BHA, BHT, ascorbic acid, tannic acid and EDTA. The extract displayed a good activity in ABTS ( $A_{0.50} = 39.42 \pm$

$0.45 \mu\text{g/mL}$ ), in the metal chelating ( $IC_{50} = 152.27 \pm 0.38 \mu\text{g/mL}$ ) and in CUPRAC ( $IC_{50} = 183.83 \pm 2.47 \mu\text{g/mL}$ ). In DPPH the ethyl acetate extract exhibited a fairly well activity ( $305.69 \pm 1.22 \mu\text{g/mL}$ ). It was observed that in reducing power, the antioxidant activity was lower than those found for antioxidant standards ( $A_{0.50} > 800 \mu\text{g/mL}$ )

#### Discussion

The analysis of the ethyl acetate extract from *Lepidium draba* using HPLC-TOF/MS reveals the presence of the phenolic acids and flavonoids. These compounds showing relevant antioxidant properties<sup>26</sup>. Flavonoids and phenolic acids are the most important groups of secondary metabolites and bioactive compounds in plants. Rosmarinic acid, 4-Hydroxy benzoic acid and caffeic acid were the main components of ethyl acetate extract. Rosmarinic acid has beneficial properties, including anti-inflammatory and antibacterial effects<sup>27</sup>. 4-Hydroxy benzoic acid was reported to have antibacterial, antifungal, anti-algal, antimutagenic, antisickling and estrogenic activities<sup>28</sup>. Caffeic acid exhibits cytoprotective



**Table 2. IC<sub>50</sub> and A<sub>0.5</sub> values of antioxidant activity of ethyl acetate extract by the DPPH, CUPRAC, ABTS, reducing power and metal chelating assays**

	DPPH assay	Antioxidant activity			
		ABTS assay	Metal chelating assay	CUPRAC assay	Reducing power assay
		IC <sub>50</sub> (µg/mL)		A <sub>0.50</sub> (µg/mL)	
Ethyl acetate extract	305.69±1.22	39.42±0.45	152.27±0.38	183.83±2.47	>800
BHA <sup>b</sup>	6.14±0.41	1.81±0.10	NT	5.35±0.71	7.99±1.87
BHT <sup>b</sup>	12.99±0.41	1.29±0.30	NT	8.97±3.94	>800
Ascorbic acid <sup>b</sup>	13.94±2.81	1.74±0.10	NT	12.43±0.09	6.77±1.15
Tannic acid <sup>b</sup>	7.74±0.19	1.01±0.16	NT	3.76±0.73	41.07±2.36
EDTA <sup>b</sup>	NT	NT	12.11±0.32	NT	NT

<sup>a</sup>IC<sub>50</sub> and A<sub>0.50</sub> values expressed are means ± SD of three parallel measurements (p < 0.05)

<sup>b</sup>Reference compounds: BHA: butylated hydroxyanisole; BHT: butylated hydroxytoluene;

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid; NT: Not tested

effect on endothelial cells against oxidized low density lipoprotein and inhibits the oxidation of lipoprotein<sup>29</sup>, whereas flavonoids such as rutin and others are well known to have special activities such as antioxidant<sup>30</sup>, antimicrobial<sup>31</sup>, anti-inflammatory<sup>32</sup>, antiviral<sup>33</sup>, cardiovascular protection and antitumor effects<sup>34</sup>. Antioxidant capacity of *L. draba* was performed using five methods in parallel because different methods could give different results. The results in table 2 reveal that the ethyl acetate extract of *L. draba* possesses a good antioxidant activity. The antioxidant effect is because of the presence of flavonoids such as rutin, kaempferol, caffeic acid and rosmarinic acid<sup>35</sup>. All these results are in agreement with other studies about other species of *Lepidium* genus<sup>4-5,18</sup>.

### Conclusion

The present study evaluates the antioxidant acti-

vity of ethyl acetate extract from aerial part of *L. draba*. The extract possesses good antioxidative properties *in vitro*. The activity is confirmed by HPLC-TOF/MS analysis that reveals the presence of phenolic acids: gallic acid, gentisic acid, chlorogenic acid, 4-hydroxy benzoic acid, protocatechuic acid, caffeic acid, vanilic acid, 4-hydroxybenzaldehyde, p-coumaric acid, chicoric acid, ferulic acid, rosmarinic acid, salisilic acid, and flavonoids: catechin, rutin, hesperidin, apigenin-7-glucoside, quercetin and kaempferol. *L. draba* demonstrates an important antioxidant activity; It serves as well as a source of various bioactive products, including phenolic compounds and Flavonoids.

### Acknowledgments

This study was supported by Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research.

### References

1. **Shastri, A., Srivastava, R., Jyoti, B., Gupta, M. (2016).** The antioxidants-scavengers of free radicals for immunity boosting and human health/ overall well being. *International Journal of Contemporary Medical Research*. 3(10): 2918-2923.
2. **Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Zevallos, L.C., Byrne, D.H. (2006).** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assay for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.* 19: 669-75.
3. **Dunja, Š., Pavlovic, I., Branka, S.S. (2016).** White cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* f.

- alba): botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*. 16(1): 117-135.
4. **Esparza, E., Hadzich, A., Kofer, W., Mithofer, A., Cosio, E.G. (2015).** Bioactive maca (*Lepidium meyenii*) alkaloids are a result of traditional Andean postharvest drying practices. *Phytochemistry*. 116: 138-148.
  5. **Prajapati, V.D., Miheriya, P.M., Girishk, J., Patil, P.D. (2014).** *Lepidium sativum* Linn. A current addition to the family of mucilage and its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 65: 72-80
  6. **Scurfield, G. (1962).** *Cardaria draba* (L.) Desv. (*Lepidium draba* L.). *J. Ecol.* 50: 489-499.
  7. **Mulligan, G. A., Frankton, C. (1962).** Taxonomy of the genus *Cardaria* with particular reference to the species introduced into North America. *Canadian Journal of Botany*. 40: 1411-1425.
  8. **Hegi, G. (1986).** *Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Spermatophyta, Band IV Teil 1, Angiospermae, Dicotyledones 2.* Berlin: Paul Parey.
  9. **Groh, H. (1940).** Turkestan alfalfa as a medium of weed introduction. *Scientific Agriculture*. 21: 36-43.
  10. **Maire, R. (1962).** *Flore de l'Afrique du nord.* Vol. 8, Edition Lechevalier, France. 97-99.
  11. **Kurkin, V.A., Zapesochaya, G.G., Krivenchuk, P.E. (1981).** Flavonoids of *Orobis vernus*, *Lepidium draba* and *Lepidium ruderale*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*. 5: 661-662.
  12. **Fursa, N.S., Litvinenko, V.I., Krivenchuk, P.E. (1970).** Flavonol glycosides of *Lepidium latifolium* and *Lepidium draba*. *Rastitel'nye Resursy*. 6: 567-571.
  13. **Prochazka, Z. (1950).** Isolation of sulforaphane from *Lepidium draba*. Preliminary communication, Collection of Czechoslovak Chemical Communications. 24: 2429-2430.
  14. **Miri, A., Sharifi, R.J., Sharifi, R. M. and Teixeira da Silva, J.A. (2013).** Allelopathic activity of medicinal plant, *Cardaria draba* (*Lepidium draba* L.). *Annals of Biological Research*. 4(6): 76-79.
  15. **AlMarzoqi, A.H, Al khafaji, N.M.S. and kadhim, R.A. (2015).** Influence of the crude Phenolic alkaloid and terpenoid compounds extracts of *Cardaria draba* (*Lepidium draba* L) on human pathogenic bacteria. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 4(6): 456-460.
  16. **Yaghooti, F., Sani, A.M. (2015).** Antibacterial activity of methanolic extracts from *Cotoneaster nummularioides*, *Cynodon dactylon* and *Cardaria draba* on typical food-borne pathogens. *International Journal of Biosciences*. 6(2): 349-356.
  17. **Chyad, A.H. (2017).** Evaluation of anticancer, analgesic and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract of *Lepidium draba* Linn. Leaves. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 5(1): 7-13.
  18. **Bicha, S., Benmekhebi, L., Boubekri, N., Rebbas, K., Brouard, I., Zama, D., Benayache, S. and Benayache, F. (2016).** Compositional study, antibacterial and antioxidant potential of *Lepidium draba* L. (Brassicaceae). *RJPBCS*. 7 (2): 284-287.
  19. **Blois, M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*. 4617 (181): 1119-1200.
  20. **Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237.
  21. **Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E (2004).** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 52(26): 7970-7981.
  22. **Bensouici, C., Kabouche, A., Karioti, A., Ozturk, M., Duru, M.E., Bilal, A.R., Kabouche Z. (2016).** Compounds from *Sedum caeruleum* with antioxidant, anticholinesterase, and antibacterial activities. *Pharm Biol.* 54: 174-179.
  23. **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning



- reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.* 44: 307-315.
24. **Decker, E.A., Welch, B. (1990).** Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 38: 674-677.
  25. **Abay, G., Altun, M., Koldas, S., Tufekci, A.R., Demirtas, I. (2015).** Determination of anti-proliferative activities of volatile contents and HPLC profiles of *Dicranum scoparium* (Dicranaceae, Bryophyta). *Comb. Chem. High T. Scr.* 18: 453-63.
  26. **Chirinos, R., Campos, D., Warnier, M., Pedreschi, R., Rees, J.F., Larondelle, Y. (2008).** Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological *in vitro* assays. *Food Chem.* 111: 98-105.
  27. **Gomes, C.A., da Cruz, T.G., Andrade, J.L., Milhazes, N., Borges, F., Marques, M.P. (2003).** Anticancer Activity of Phenolic Acids of Natural or Synthetic Origin: A Structure Activity Study. *J. Med. Chem.* 46: 5395-5401.
  28. **Iswandana, R., Pham, B.T., Van Haften, W.T., Luangnon, K.T., Oosterhuis, D., Musaers H.A., Olinga, P. (2016).** Organ and species-specific biological activity of rosmarinic acid. *Toxicol in vitro.* 32: 261-268.
  29. **Oksana, S., Marian, B., Mahendra, R. and Hong, Bo. S. (2012).** Plant phenolic compounds for food pharmaceutical and cosmetics production. *Journal of Medicinal Plants Research.* 6: 2526-2539.
  30. **Yamada, J., Tomita, Y. (1996).** Antimutagenic activity of caffeic acid and related Compounds. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60: 328-329.
  31. **Laughton, M.J., Evans, P.J., Moroney, M.A., Houlst, J.R., Halliwell, B. (1991).** Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion reducing ability. *Biochem. Pharmacol.* 42(9): 1673-81.
  32. **Cushnie, T.P., Lamb, A.J. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 26: 343-356.
  33. **Eldahshan, O.A., Azab, S.S. (2012).** Anti-inflammatory Effect of Apigenin-7-Neohesperidoside (Rhoifolin) in Carragenin Induced Rat Oedema Model. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2(8): 74-79.
  34. **Chiang, L.C., Chiang, W., Liu, M.C., Lin, C.C. (2003).** *In vitro* antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 52(2): 194-198.
  35. **Remesy *et al.* (1996).** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes = Nutritional interest of flavonoids, *Médecine et Nutrition.* 32(1): 17-27.



**CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF BRANCH,  
NEEDLE, CONE OILS OF *CEDRUS ATLANTICA*, ANTIOXIDANT PROPERTIES  
FROM AURES REGION (ALGERIA)**

**BENSAID S O<sup>1</sup>, BAALI N<sup>2</sup>, FADEL H<sup>1</sup>, BENSOUICI C<sup>3</sup>, AKKAL S<sup>1</sup>, BICHA S<sup>1\*</sup>**

**1:** Research Unit: Valorization of Natural resources, Bioactive molecules and Analyses Physicochemical and Biological (VARENBIOMOL), Department of Chemistry, Faculty of Science, University Mentouri-Constantine 1, 25000 Constantine, Algeria.

**2:** Laboratory of Biology and Environment, Faculty of Sciences of Nature and life University of Brothers Mentouri, Constantine1 Algeria

**3:** Biotechnology Research Center, Ali Mendjli Nouvelle Ville UV 03, BP E73, Constantine, Algeria

**\*Corresponding Author: Dr. Bicha Sabrina: E Mail: [bichasabrina2016@gmail.com](mailto:bichasabrina2016@gmail.com); Tel: +213 540898581**

Received 27<sup>th</sup> Dec. 2020; Revised 29<sup>th</sup> Jan. 2021; Accepted 15<sup>th</sup> Feb. 2021; Available online 1<sup>st</sup> Oct. 2021

<https://doi.org/10.31032/IJBPAS/2021/10.10.5678>

**ABSTRACT**

The aim of the present work is to characterize the phytochemistry and antioxidant activity of the cone, branch and needle essential oils of *Cedrus atlantica* growing in Khenchla, east mountain region of Algeria. The chemical constituents of the essential oils obtained from the cones, branches and needles of the species were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). Cis- $\alpha$ -Bisabolene (19.57%) was the main component of branch and needle oils followed by Perhydrofarnesyl acetone (4.74%) and Spathuleno (4.54%). Cone oils contained  $\alpha$ -pinene (46.613%) besides  $\beta$ -pinene (9.698%) and D-limonene (4.351%). Moreover, the antioxidant activity was assessed using DPPH and Hydroxyl radical scavenging assays. It was found that the essential oils have a significant antioxidant effect when tested by the two methods but it is less effective than vitamin C.

**Keywords: Branch and needle oils, cone oils, GC-MS, *Cedrus atlantica*, Antioxidant Properties**

## INTRODUCTION

*Cedrus* is one of the most important genus of the Pinaceae family, there are only four *Cedrus* species classified by their morphological diversities, *C. atlantica* (Endl.) Carr, *C. libani* A., *C. brevifolia* (Hook. fil.) Dole, and *C. deodara* (D. Don) [1]. The four species are widely used in the popular medicine, the Atlas cedar (*C. atlantica*) is an endemic species of Algeria and Morocco [2-3]. Various studies have shown many important pharmacological properties of *Cedrus atlantica* such as antiseptic, diuretic, astringent, fungicidal, sedative [4-5] as well as antimicrobial, anti-inflammatory and antiviral activities [6-7]. Several previous studies reported the chemical composition of different parts of this plant [8] nevertheless, few studies have been performed on essential oils and their antioxidant and antibacterial activities [9-10]. We report herein, our results concerning the chemical composition of branch, needle and cone oils of *Cedrus atlantica* collected from the area of Khenchla revealed some differences from those previously reported on this species [11-12]. Furthermore, we investigate the anti-oxidant activity of essential oils of plant using both DPPH and Hydroxyl radical scavenging assays.

## MATERIALS AND METHODS

### Plant material

The Aerial parts Branch, Needle and Cone of *C. atlantica* were collected on December

2018 in Aures region, in Yabous (El Kantina) near Khenchla (61 km south-west from Khenchla, 35°24'29" nord, 6°38'31" East, Altitude: 1167 m). A Voucher specimen (CA/114/VAR/12-18) was identified by Professor Mohamed Kaabeche, Setif 1 University, Algeria, and deposited in the Herbarium of the Varenbiomol Research Unit, University of Mentouri Brothers, Constantine, Algeria.

### Extraction

The fresh aerial parts branches and needles (963 g) and cones (719g) of *C. atlantica* were subjected to steam distillation for three hours in a Clevenger apparatus. Each obtained oil was collected, and kept at +4 °C until analysis [13].

### GC-MS analysis

GC analysis was performed using an Agilent Technologies GC 17. A gas chromatograph equipped with a cross-linked HP 5MS column (30mX0.25mm, film thickness 0.25µm). The oven temperature was programmed as isothermal at 60 °C for 8 min, helium was used as the carrier gas at a rate of 0.5 ml/min. GC/MS was performed using a HP Agilent technologies 6800 plus mass selective detector, the operating conditions were the same as for the analytical GC. The MS operating parameters were as follows: ionization potential, 70 eV; ionization current, 2 A; ion source temperature, 280 °C; resolution, 1000 scan time, 5 s; scan mass

range, 34–450 u; split ratio, 50:1; injected volume, 1.0  $\mu$ L. The identification of compounds of the essential oil was based on their retention times in comparison with matching spectral peaks available with NIST and Wiley mass spectral libraries, as well as by comparison of the fragmentation patterns of the mass spectra and their retention indices with those reported in the literature [14]. The retention indices were calculated for all constituents, using a series of n-alkanes.

### Determination of antioxidant activity

#### DPPH radical scavenging assay

The hydrogen atom-or-electron donation ability of branches, needles and cones essential oils was measured from the bleaching of the purple coloured methanol solution of DPPH radical. This spectrophotometric assay uses the stable radical, 2,2-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), as a reagent [15]. Briefly, 1ml of various concentrations of the each essential oil sample in methanol was added to 1mL of a methanol solution of DPPH (0.135mM). The mixture was vigorously shaken and then allowed to stand at room temperature for 30 min in the dark. After a 30 min incubation period at room temperature, the absorbance was read against a blank at 517 nm. The commercial known antioxidant, vitamin C was used for comparison. The tests were carried out in triplicate. The ability of the branch, needle and cone essential oils to

scavenge DPPH radical was calculated as % inhibition by the following equation:

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{[\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of sample}]}{\text{Absorbance of control}} \times 100$$

#### Hydroxyl radical scavenging assay

Hydroxyl scavenger ability was performed by generating the hydroxyl radicals from  $\text{FeSO}_4$  and hydrogen peroxide. The radical scavenging activity of branch, needle and cone oils was determined by their ability to hydroxylate salicylate [16]. To 1 ml of different samples concentrations, 300  $\mu$ l of  $\text{FeSO}_4$  (8mM) solution and 250  $\mu$ l of  $\text{H}_2\text{O}_2$  (20 mM) were added and mixed. To initiate the reaction, 250  $\mu$ l of salicylic acid in ethanol (3mM) was added. The reaction mixture was allowed to stand for 30 min in a water bath at 37  $^\circ\text{C}$ , after which 450  $\mu$ l of distilled water was added and the mixture was centrifuged. The absorbance of the supernatant was measured at 510 nm. Vitamin C was used for comparison. The tests were carried out in triplicate. The percentage scavenging activity was calculated by the same equation as given for the DPPH assay.

### RESULTS AND DISCUSSION

#### Chemical composition of the essential oil

The yield of steam distillation was based on percent (w/w) in relation to the dry weight of the plant. Our result showed that the yield of cone oils (0.051%) was better than that of branches and needles (0.017%). 88 constituents were determined representing

74.11% of branch and needle oils. The identified components (**Table 1 and Table 2**) are listed in order of their experimental retention times and retention indices. The major components were characterized with  $\alpha$ -Bisabolene (19.58%), Perhydrofarnesyl acetone (4.78%), Spathulenol (4.54%), 7-dimethyl-4(E), 6-octadien-2-ol (3.51%),  $\alpha$ -Cedrene (2.31), Caryophyllene oxide (2.26%), Neryl acetate (2.14%) and n-Hexadecanoic acid (2.02%). Moreover, this investigation allowed the identification of 37 constituents corresponding to 99.33% of the cone essential oils. The major components were  $\alpha$ -pinene (46.61%),  $\beta$ -pinene (9.70%), Borneol, acetate, (7.33%), D-Limonene (4.35%), D-Verbenone (2.61%) and  $\beta$ -Myrcene (2.28%). There was a significant difference between the two oils. The comparison of our results with previous studies shows important qualitative and quantitative differences in compositions. Indeed, *C. atlantica* growing in Algiers contained mainly  $\alpha$ -pinene (17.7%), caryophyllene oxide (10.3%),  $\beta$ -caryophyllene (9.1%) and  $\alpha$ -terpineol (6.7%) [11]. The studies done by Dahoun *et al.* [17]; Benouaklil *et al.* [12], Aberchane *et al.* [18]; Boudarene *et al.* [11], Satrani *et al.* [19] and Derwich *et al.* [20] on essential oils of *Cedrus atlantica* wood were dominated by  $\beta$ -Himachalene and  $\alpha$ -Himachalene. Furthermore, the seed oil of *C. atlantica* collected from north-eastern Algeria also exhibited  $\alpha$ -pinene (37.1%) as major

component, while the seed oil from central Algeria species contained the diterpene manool (20.7%) as major component [21]. However  $\alpha$ -Bisabolene was reported for the first time from *Cedrus atlantica* essential oil. Moreover, a high percent of  $\alpha$ -pinene is obtained. In summary, these results indicate significant differences in the composition of the branch, needle and cone oils of *Cedrus atlantica* compared with previous studies, the variations found in the chemical composition of essential oils, qualitatively and quantitatively depend on certain environmental factors, the plant part used, the age, the period of its growth cycle, Moreover, differences in the harvest time, or even genetic factors [12, 22]. Also, the observed difference between the chemical composition of the essential oils of the Moroccan Atlas cedar and those of Algeria could be due to the difference of both climatic and geographical factors, such as the altitude and the soil type [23].

### Antioxidant properties

The scavenging effect of branch, needle and cone oils on DPPH radical was concentration-dependent as shown in **Figure 1**. At 200  $\mu$ g/ml, branch and needle oils displayed noticeable DPPH radical scavenging activity with percentage of inhibition value of 41.4%, while the value of cone oils was 30.5%. In hydroxyl radical assay, the percentage inhibitions pattern of branch, needle and cone oils was similar to DPPH as shown in **Figure 2**. At 200  $\mu$ g/ml,

the percentage scavenging activity of each oil against hydroxyl radical was 53.5% and 29.7% for branch, needle and cone oils respectively. The scavenging potential of vitamin C toward DPPH and hydroxyl radicals was better than branch, needle and cone oils.

Free radicals play a key role in pathological manifestations. These plants derived constituents perform their role either by quenching the ROS or by acting as a defense shield to protect the antioxidant defense mechanism [24-27]. DPPH is one of the most common antioxidant assays to analyze the free radical scavenging activity of the test compound antioxidants transfer either electrons or hydrogen atoms to DPPH and thus reduce a number of DPPH radical equal to their number of available hydroxyl groups [28]. In addition, the stable yellow-colored DPPH-H simultaneously formed, and the extent of the reaction will depend on the hydrogen donating ability of the antioxidants [29]. Our findings revealed that the branch, needle and cone essential oils scavenged DPPH radicals in a concentration dependent

manner, indicating the ability of tested essential oils to act as hydrogen donors. Furthermore, our results revealed that branch, needle and cone essential oils were able to scavenge hydroxyl radical produced from  $\text{FeSO}_4$  and hydrogen peroxide system in a concentration dependent manner. This observation suggests that the tested essential oils can be used as an alternative remedy to synthetic antioxidants in combating the oxidative activity of hydroxyl radical. The hydroxyl radical is the most active in the reactive oxygen species, and it can cause most damage to the organism [30]. The antioxidant ability of branch, needle and cone essential oils may be due to the mixture of dozens of compounds of different functional groups, polarity and chemical behavior which produces either synergistic or antagonistic effect on antioxidant activity. The findings in this study are in agreement with previous essential oil researchers, that some essential oils are strong natural antioxidants [31-33].

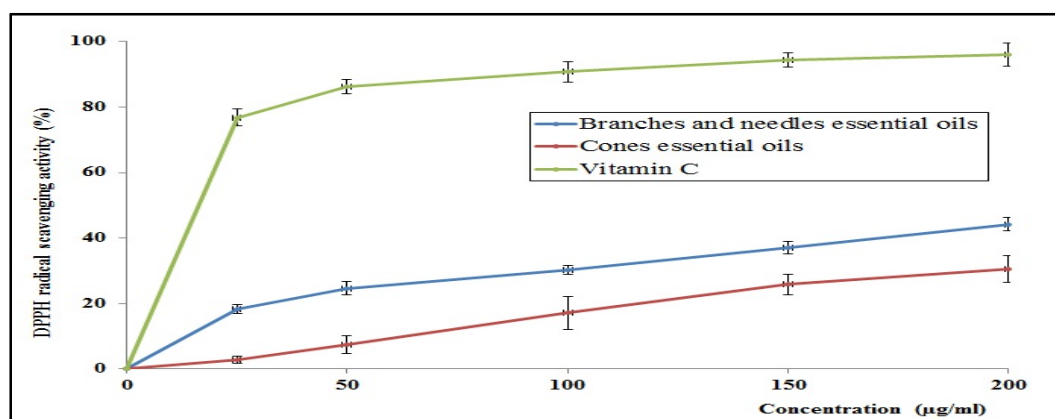


Figure 1: DPPH radical scavenging ability of branch, needle and cone essential oils (n=3)

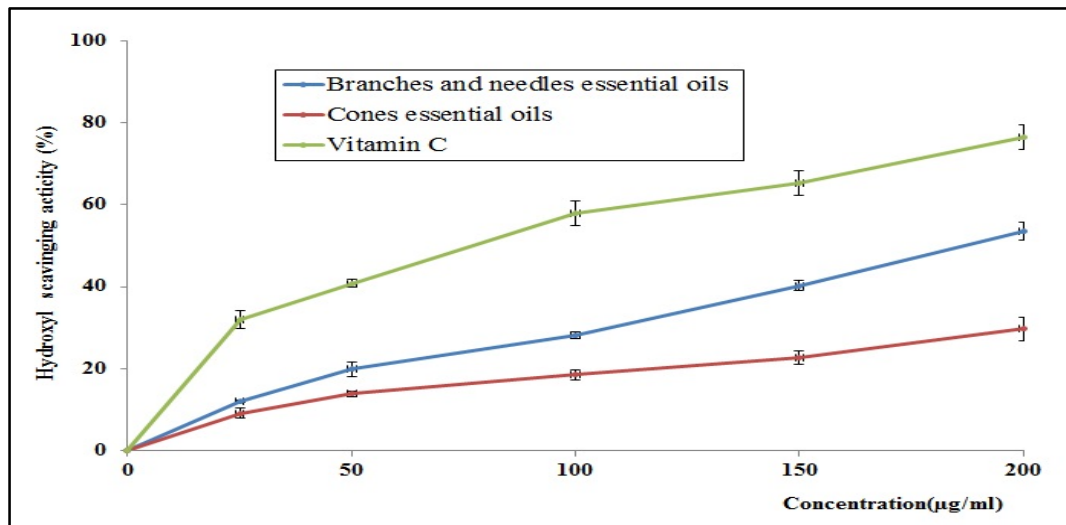


Figure 2: Hydroxyl radical scavenging ability of branch, needle and cone essential oils (n=3)

Table 1: Chemical composition, retention indices and percentage composition of cones essential oil of *Cedrus atlantica*

Pic	Compounds <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	(%)
1	$\alpha$ -pinene	952	46.61
2	Camphene	936	1.22
3	verbenene	969	0.26
4	$\beta$ -pinene	993	9.70
5	$\beta$ -Myrcene	1008	2.28
6	O-Cymene	1039	0.78
7	D-Limonene	1043	4.35
8	3,4-Dimethyl-4-penten-1-yn-3-ol	1102	0.47
9	$\alpha$ -Pinene oxide	1112	2.19
10	Linalool L	1116	0.68
11	$\delta$ -Cyclogeraniolene	1120	1.12
12	trans,cis-2-methyl-1,3-cyclooctadiene	1130	0.15
13	$\alpha$ -Campholenal	1140	0.30
14	trans-Pinocarveol	1152	1.29
15	trans-Verbenol	1159	1.74
16	Pinocarvone	1176	0.83
17	L-Borneol	1179	1.04
18	Terpinene-4-ol	1191	0.60
19	Cryptone	1102	1.09
20	$\alpha$ -terpineol	1206	2.17
21	Myrtenal	1210	1.36
22	D Verbenone	1224	2.62
23	Trans carveol	1234	0.37
24	Propanal, 2-methyl-3-phenyl-	1253	0.17
25	l-Carvone	1258	0.25
26	2-1-Methylcyclopentyloxy tetrahydropyran	1272	0.30
27	2-Methyl-2-cyclopenten-1-ol	1290	0.20
28	Bornyl acetate	1302	7.33
29	cis-Sabinol	1322	0.21
30	E,Z-4-Ethylidene-cyclohexene	1338	0.16
31	Geranyl acetate	1401	0.40
32	trans- $\beta$ -Farnesene	1471	1.66
33	13-Epimanoyl oxide	2005	0.17
34	Epimanol	2073	4.35
35	Abieta-8,11,13-trien-7-one	2310	0.49
36	Tricosane	2321	0.27
37	Pentacosane	2521	0.15
	Identified compounds(%)	Total	99.33%

Table 2: Chemical composition, retention indices and percentage composition of branch and needle essential oils of *Cedrus atlantica*

Pic	Compound <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	(%)
1	$\alpha$ -Pinene	946	0.31
2	$\beta$ -Myrcene	1006	0.17
3	Yomogi alcohol	1015	1.07
4	D-Limonene	1041	0.40
5	1,8-Cineole	1043	0.15
6	2,7-dimethyl-4(E),6-octadien-2-ol	1052	3.51
7	3,3,6-Trimethyl-1,5-heptadien-4-ol	1099	1.72
8	Furfuranol	1119	0.11
9	Camphor	1156	0.12
10	Epoxy artemisia ketone	1164	0.70
11	Borneol	1178	0.08
12	Carvomenthene	1187	0.18
13	$\alpha$ -terpineol	1204	0.07
14	Dicyclopropylmethanone	1213	0.24
15	Dipropylamine	1228	0.47
16	Cyclohexene	1238	0.31
17	Z-3-Hexenyl hexanoate	1261	1.36
18	L-bornyl acetate	1300	0.12
19	3-Cyclohexene-1-methanol	1314	1.12
20	3-Dodecenal	1379	0.82
21	$\alpha$ -Copaene	1390	0.20
22	Neryl acetate	1402	2.14
23	trans-Caryophyllene	1438	0.44
24	$\alpha$ -Himachalene	1462	0.43
25	$\alpha$ -Humulene	1469	1.02
26	trans-.beta.-Farnesene	1475	0.07
27	$\alpha$ -Amorphene	1491	0.22
28	$\delta$ -Germacrene	1496	0.91
29	$\gamma$ -Cadinene	1509	0.21
30	$\alpha$ -Cadinene	1516	0.71
31	$\delta$ -Cadinene	1539	0.11
32	cis- $\alpha$ -Bisabolene	1559	19.58
33	Caryophyllene oxide	1566	1.09
34	Ledene oxide-(II)	1569	0.11
35	Dodecanoic acid	1587	0.19
36	Spathulenol	1593	4.54
37	Caryophyllene oxide	1598	2.26
38	Humulene epoxide II	1623	0.26
39	Geranyl acetate	1627	0.94
40	$\alpha$ -Cedrene	1641	2.31
42	$\tau$ -Muurolol	1658	0.23
43	$\gamma$ -Curcumene	1663	1.36
44	$\alpha$ -Cadinol	1671	0.13
45	Aromadendrene	1673	0.33
46	3-n-Hexylthiane, S,S-dioxide	1694	0.19
48	Tetradecanal	1732	0.23
49	(2E,6E)-famesol	1741	0.24
50	2-hydroxy cyclopentadecanone	1743	0.19
51	Myristic acid	1784	0.17
52	(E)-alpha-Atlantone	1792	0.35
53	Farnesyl acetate	1861	0.73
54	Perhydrofarnesyl acetone	1864	4.78
55	6-Phenyl-2-tetralone	1894	0.66
56	Ethyl linoleate	1905	0.74
57	Olealdehyde	1912	0.22
59	Oxacycloheptadecan-2-one	1945	0.20
60	$\alpha$ -Terpinolene	1952	0.32
62	n-Hexadecanoic acid	1991	2.02
63	Isopimaradiene	2006	1.05
65	Juvabione	2036	0.28
66	Abieta-8,11,13-triene	2072	0.30
69	n-Heneicosane	2120	0.46
70	Phytol	2133	0.16
72	n-docosane	2221	0.18
74	1,19-Eicosadiene	2245	1.07



Table 2 continued...

pic	compound <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	(%)
75	Dehydroabietinal	2284	0.10
76	Sesquirosefuran	2308	0.46
77	Methyl isopimarate	2311	0.29
78	n-Tricosane	2321	0.11
79	Dehydroabietic acid	2356	0.09
80	Benzenamine, 2,4,6-trimethyl-	2383	0.11
81	n-Tetracosane	2420	0.15
82	1,21-Docosadiene	2448	0.26
83	n-Pentacosane	2521	0.40
84	Octadecanal	2653	0.14
85	n-Heptacosane	2719	0.11
86	Nonacosane	2900	0.16
	Identified compounds (%)	Total	74.11

<sup>a</sup>compounds listed in order to their RI  
<sup>b</sup>RI (retention index) measured relative to n-alkanes (C8-C20) using HP5MS

## CONCLUSION

The steam distillation of cone essential oils of *Cedrus atlantica*, collected from Khenchla (Eastern Algeria) were characterized by  $\alpha$ -pinene (46.61%). Furthermore, branch and needle oils were characterized by cis- $\alpha$ -Bisabolene. There was a significant difference between the two oils. It is interesting to note that the chemical composition of the present essential oil differs from those reported in the literature. Furthermore cone, branch and needle essential oils of *C. atlantica* possess good antioxidant properties. The cone oil, branch and needle oil could be used as antioxidant agent.

## Acknowledgements

We are grateful to CRAPC (Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimiques) for the GC and GC/MS analysis and MESRS (DGRSDT) for financial support.

## Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

## REFERENCES

- [1] Mabberley, D. J., The Plant-Book. Cambridge University 1. Press, Cambridge, 1990
- [2] Fennane, M.; Ibn Tattou, M.; Mathez, J.; Ouyahya, A.; & Oualidi, J., Flore Pratique du Maroc, Pteridophyta, Gymnospermae, Angiospermae (Lauraceae - Neuradaceae): Manuel de Détermination. *Travaux de l'Institut Scientifique, série botanique*, 1999,1, 36-58.
- [3] Jahandiez, E.; Maire, R.; & Emberger, L., *Catalogue des plantes du Maroc (Spermatophytes et Ptéridophytes)*, Imprimerie Minerva, 1931, Vol. 2.
- [4] Prabuseenivasan, S.; Jayakumar, M.; & Ignacimuthu, S., *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils, *BMC complementary and alternative medicine*, 2006, 6(1), 39.
- [5] Bouchra, C.; Mohamed, A.; Mina, I. H.; & Hmamouchi, M., Antifungal

- activity of essential oils from several medicinal plants against four postharvest citrus pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, **2003**, 42(3), 251-256.
- [6] Hammer, K. A.; Carson, C. F.; & Riley, T. V., Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of applied microbiology*, **1999**, 86(6), 985-990.
- [7] Loizzo, M. R.; Saab, A.; Tundis, R. ; Statti, G. A.; Lampronti, I.; Menichini, F.; & Doerr, H. W., Phytochemical analysis and in vitro evaluation of the biological activity against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) of *Cedrus libani* A. Rich, *Phytomedicine*, **2008**, 15(1-2), 79-83.
- [8] Antoine, M. S.; Roberto, G.; Gianni, S.; Alessandra, G., Ilaria, L.; Massimo, T.A.S.; Samir M.; Hassane, M.; Mona, T., Jihad, A.; Mona, D.A.; Anake, K.; Rosa, T.; Jawad, A. & Thomas, E., Phytochemical and pharmacological properties of essential oils from *Cedrus* species, *Natural Product Research*, **2018**, 32(12), 1415-1427.
- [9] Paun, G.; Zrira, S.; Boutakiout, A.; Ungureanu, O.; Simion, D.; Chelaru, C.; & Radu G. L., Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential oils from marrocan aromatic herbs, *Revue Romaine de Chimie*, **2013**, 58, 891-897.
- [10] Satrani, B. ; Aberchane, M. ; Farah, A. ; Chaouche, A. ; & Talbie, M., Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti, *Acta Botanica Gallica*, **2006**, 153, 97-104.
- [11] Boudarene, L.; Rahim, L.; Baaliouamer, A.; & Meklati, B. Y., Analysis of Algerian essential oils from twigs, needles and wood of *Cedrus atlantica* Manetti by GC/MS, *Journal of Essential Oil Research*, **2004**, 16, 531- 534.
- [12] Benouaklil, F.; Hamaidi-chergui, F.; Hamaidi, M.S. and Saidi, Fairouz., Chemical composition and antimicrobial properties Of Algerian *Cedrus atlantica* M. Essential oils, *Revue Agrobiologia* , **2017**, 7(1), 355-362.
- [13] Hajdari, A.; Mustafa, B.; Ahmeti, G.; Pulaj, B.; Lukas, B.; Ibraliu, A.; & Novak, J., Essential oil composition variability among natural populations of *Pinus mugo* Turra in Kosovo. *SpringerPlus*, **2015**, 4(1), 828.
- [14] Adams, R. P., *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass*

- spectrometry Carol Stream, IL: Allured publishing corporation, 2007, Vol. 456.
- [15] [15]. Okoh, S. O.; Asekun, O. T.; Familoni, O. B.; & Afolayan, A. J. Antioxidant and free radical scavenging capacity of seed and shell essential oils extracted from *Abrus precatorius* (L). *Antioxidants*, 2014, 3(2), 278-287.
- [16] Smirnoff, N., & Cumbes, Q. J., Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 1989, 28(4), 1057-1060.
- [17] Dahoun, A.; Derriche, R.; & Belabbes, R., Influence du mode d'extraction et de la composition de l'huile essentielle de la concrète du bois de cèdre de l'Atlas Algérien. *Rivista Italiana EPPOS*. 1993, 10, 29- 32
- [18] Aberchane, M.; Satrani, B.; Fechtal, M.; & Chaouch, A., Effet de l'infection du bois de cèdre de l'Atlas par *Trametes pini* et *Ungulina officinalis* sur la composition chimique et l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles, *Acta Botanica Gallica*, 2003, 150, 223-229
- [19] Satrani, B.; Aberchane, M.; Farah, A.; Chaouche, A.; & Talbie, M., Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti, *Acta Botanica Gallica*, 2006, 153, 97-104.
- [20] Derwich, E.; Benziane, Z.; & Boukir, A., Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*, *International Journal of Agriculture and Biology*, 2010, 12, 381-385.
- [21] Boudarene, L.; Baaliouamer, A.; Meklati, B. Y.; & Scharff, C., Composition of the seed oils from Algerian *Cedrus atlantica* G. Manetti, *Journal of Essential Oil Research*, 2004, 16(1), 61-63.
- [22] Senatore, F., Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44, 1327-1332.
- [23] Mansouri, N.; Satrani, B.; Ghanmi, M.; El ghadraoui, L.; Aafi, A.; & Farah, A., Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* and *Juniperus oxycedrus* du Maroc, *Phytothérapie*, 2010, 8, 166-170.
- [24] Ahmad, B.; Khan, M. R.; Shah, N. A.; Khan, R. A., In vitro antioxidant potential of *dicliptera roxburghiana*,

- BMC complementary and alternative medicine*, **2013**, 13(1), 140.
- [25] Genç, N.; Yıldız, İ.; Karan, T.; Eminağaoğlu, Ö.; Erenler, R., Antioxidant activity and total phenolic contents of *Galanthus woronowii* (Amaryllidaceae), *Turk J Biod*, **2019**, 2(1), 1-5.
- [26] Dede, E.; Genç, N.; Elmastas, M.; Aksit, H.; Erenler, R., Chemical Constituents Isolated from *Rhododendron ungeronii* with Antioxidant Profile. *Natural Products Journal*, **2019**, vol 9, 238-243.
- [27] Elmastas, M.; Celik, S. M.; Genç, N.; Aksit, H.; Erenler, R.; Gulcin, I., Antioxidant activity of an anatolian herbal tea—*Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *International Journal of Food Properties*, **2018**, 21(1), 374–384.
- [28] Kedare, S. B.; & Singh, R. P., Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, **2011**, 48(4), 412-422.
- [29] Lipinski, B., Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, **2011**.
- [30] Guleria, S.; Tiku, A.K.; Koul, A.; Gupta, S.; Singh, G.; & Razdan, V. K., Antioxidant and antimicrobial properties of the essential oil and extracts of *Zanthoxylum alatum* grown in North-Western Himalaya, *The Scientific World Journal*, **2013**, 580-790.
- [31] Goudjil, M. B.; Ladjel, S.; Bencheikh, S. E.; Zighmi, S.; & Hamada, D., Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the *Mentha piperita* of Southern Algeria, *Research Journal of Phytochemistry*, **2015**, 9(2), 79-87.
- [32] Erenler, R.; Demirtas, I.; Karan, T.; Gul, F.; Kayir, O. and Karakoc, O.C., Chemical constituents, quantitative analysis and insecticidal activities of plant extract and essential oil from *Origanum monites* L., *Trends Phytochem. Res*, **2018**, 2(2), 91-96.
- [33] Karan, T.; Yildiz, I.; Aydin, A.; and Erenler, R., Inhibition of Various Cancer Cells Proliferation of Bornyl Acetate and Essential Oil from *Inulagra veolens* (Linnaeus) Desf. *Rec. Nat. Prod*, **2018**, 12:3, 273-283.

## Résumé

Notre étude s'intéresse à l'investigation phytochimique et biologique des parties aériennes de trois espèces végétales algériennes : *Retama sphaerocarpa* L. Boiss de la famille Fabaceae, *Lepidium draba* L. de la famille Brassicaceae et *Cedrus atlantica* de la famille Pinaceae.

L'investigation phytochimique de l'espèce *R.sphaerocarpa* a mené à la caractérisation et l'identification de 16 composés. La détermination structurale a été réalisée par la combinaison des techniques d'analyses spectroscopiques : RMN ( $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ , COSY, HSQC et HMBC), la spectrométrie de masse (TOF/MS) et la spectroscopie UV.

L'étude de la composition chimique de l'espèce *L. draba* est réalisée en utilisant la technique HPLC-TOF/MS. Le résultat révèle la présence de 12 acides phénoliques et 6 flavonoïdes.

L'analyse GC-GC/MS des huiles essentielles de *C. atlantica* a permis d'identifier 88 composés représentant 74,11% de l'huile essentielle totale des branches/aiguilles et 37 constituants représentant 99,33% de l'huile essentielle totale des cônes. Une différence importante est remarquée entre les résultats de cette analyse et ceux obtenus auparavant.

La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux des extraits de *R. sphaerocarpa* a été réalisée par les méthodes colorimétriques. Cette étape a montré un contenu en polyphénols et en flavonoïdes plus important dans l'extrait AcOEt.

Trois méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante de cette espèce : le test DPPH, ABTS et le test CUPRAC. Cette plante a montré une activité modérée comparativement aux standards utilisés. Les deux composés génistéine et isopruneatine ont manifesté une activité antioxydante significative.

Les extraits de l'espèce *L.draba* ont été évalués pour leurs activités antioxydantes en utilisant cinq techniques complémentaires: le test DPPH, ABTS, CUPRAC, le test de la chélation du fer et le test FRAP. Les trois extraits de cette plante ont enregistré un pouvoir antioxydant modéré comparativement aux standards utilisés.

Par ailleurs, les huiles essentielles de *C.atlantica* ont montré une activité antioxydante puissante dans les deux tests effectués: le test de piégeage du DPPH et du radical hydroxyle.

**Mots clés :** *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Lepidium draba* (L.), *Cedrus atlantica*, activité antioxydante, méthodes chromatographiques, RMN, HPLC-TOF/MS, GC-GC/MS.

## Abstract

Our study is interested in the investigation of the chemical composition and the biological activities of the aerial parts of three Algerian species: *Retama sphaerocarpa* L. of the Fabaceae family, *Lepidium draba* L. of the Brassicaceae family and *Cedrus atlantica* of the Pinaceae family.

Phytochemical investigation of *R. sphaerocarpa* led to the characterization of 16 compounds. Structural determination was performed by the combination of spectroscopic analysis techniques: NMR (<sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H, COSY, HSQC and HMBC), mass spectrometry (TOF / MS) and UV spectroscopy.

The study of chemical composition of *L. draba* is carried out using the HPLC-TOF / MS technique. The result revealed the presence of 12 phenolic acids and 6 flavonoids.

The GC-GC/ MS analysis of the essential oils of *C. atlantica* allowed to identify 88 compounds representing 74.11% of total essential oil of the branches / needles and 37 constituents representing 99.33% of total essential oil of the cones. An important difference is noted between the results of this analysis and those obtained previously.

Quantification of total polyphenols and total flavonoids in extracts of *R. sphaerocarpa* was performed by colorimetric methods. This step showed a content of polyphenols and flavonoids more important in the AcOEt extract.

Three methods were used to evaluate the antioxidant activity of this species: DPPH assay, ABTS assay and CUPRAC assay. This plant showed moderate activity compared to the standards used. The two compounds genistein and isopruneitin showed significant antioxidant activity.

The extracts of *L. draba* were evaluated for their antioxidant activities using five complementary methods: DPPH, ABTS, CUPRAC, iron chelating and FRAP assays. The three extracts of this plant have recorded a moderate antioxidant activity compared to the standards used.

In addition, the essential oils of *C. atlantica* showed powerful antioxidant activity in the two tests carried out: DPPH and hydroxyl radical scavenging assays.

**Key words:** *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Lepidium draba* (L.), *Cedrus atlantica*, antioxidant activity, chromatographic methods, NMR, HPLC-TOF / MS, GC / GC/ MS.

من خلال هـ كان اهتمامنا منصبا بالتركيب الكيميائي البيولوجية الهوائية :  
*Lepidium draba* (L.) Fabaceae *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss  
Pinaceae. *Cedrus atlantica* Brassicaceae

ريات الكيميائي الفيتوكيميائية لنبته *R.sphaerocarpa* التعريف البنيوي ل16 . التحديد  
الهيكلية بين التقنيات الطيفية (RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, COSY, HSQC et HMBC) مطيافية  
(TOF / MS) التحليل الطيفي البنفسجية.  
التركيب الكيميائي *L.draba* تقنية HPLC-TOF / MS. أظهرت 12  
فينولي 6 فلافونويدات.

حليل GC-GC / MS للزيوت الأساسية *C. atlantica* بتحديد 88  
يمثل 74.11 الزيت / 37 يمثل 99.33 الزيت  
للمخاريط الخشبية. هذ النتائج عن النتائج المتحصل عليها .

تم تحديد الفينولات والفلافونويدات في مستخلصات *R.sphaerocarpa* بواسطة الطرق اللونية. أظهرت  
النتائج محتوى معتبر من البوليفينولا و الفلافونويدات في مستخلص اسينات الايثيل.  
لتقييم *R.sphaerocarpa* طريقة DPPH ABTS CUPRAC. أظهر  
هـ بالمعايير المستخدم . أظهر genisteine isoprunitine

تقييم *L.draba* لأنشطتها تقنيات مكملة لبعضها ال :  
DPPH ABTS CUPRAC . إستخلاص ايونات الحديد الثنائي .FRAP  
لهذ نشاطا متوسطا بالمقارنة مع المعايير المستخدم .  
أظهرت الزيوت الأساسية *C. atlantica* قويا  
الاختبار DPPH جذور الهيدروكسيل.

الكلمات المفتاحية : *Cedrus atlantica* *Lepidium draba* (L.) *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss  
النشاطية المضادة للأكسدة ، مختلف الكروماتوغرافية ، RMN، HPLC-TOF/MS GC-GC/MS.