

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTÉ : Sciences

DÉPARTEMENT : Chimie

N° :



DOMAINE : Science de la matière

FILIÈRE : Chimie

OPTION : Chimie Pharmaceutique

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Présenté par: DAIKACH AMINA REBEIHA

BENDJEDDOU SOUMIA

INTITULÉ

Étude phytochimique de l'extrait éthanoïque de
Linaria cymbalaria (Plantaginaceae)

SOUS LA DIRECTION DE

Mr. CHERIET THAMERE

Soutenu devant le jury composé de :

Mr Hichem Haffar

M^{me} Faiza Meratate

MCB-Université de M'SILA

MCB-Université de M'SILA

Président

Examinatrice

Année universitaire : 2018 /2019

Remerciements

Avant tout, nous remercions DIEU le tout puissant de nos avoir accordées la force et le courage pour réaliser ce modeste travail, afin d'atteindre notre but et réaliser ainsi un rêve.

*Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre encadreur **Dr. Thamer Cheriet***

Nous le remercions de nous avoir encadrés, orientés, aidés et conseillés

Nous exprimons toute notre gratitude aux membres de jurys :

Mr Hicham Haffar

M^{me} Faiza Merattate

Nous adressons nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation, par la même occasion à tous les amis pour le soutien moral.

A toutes nos membres de nos familles : Bendjeddou, Daikach, Khazzar et Basti.

DEDICACE

Aucune dédicace ne saurait être assez suffisante pour exprimer ce que vous mérites pour tous les sacrifices et votre soutien moral. Vous êtes ma source de joie et de bonheur, Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, à vous
Ma mère et mon père.

À ma cher mami Saida pour ton soutien et ton amour. Que Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur. Merci mami.

À ma chère sœur Saida, tu as toujours été présent pour les bons conseils, ton conseil m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle.

À mes frères Brahim et Hamza et ma belle sœur Messouda pour toutes ces encouragements et soutiens.

À mes amis et famille les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

Merci.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

D.Amina Rebaiha

Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à
Ceux que j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et je suis très
fière de les avoir tous **les mots du monde ne peuvent
exprimer l'amour** et le respect que je leur porte :

Mes très chers parents

Mes très chers frères Hamoudi, Ahmed

Mes sœurs Siham, Oumaima, Tinhinane, Meriem

Mes chers grands parents et toute ma famille

A tous mes amis, surtout khiera, Iman, Ikram, Souhila, Batoul,
Rahma, Elhadj, Hamza

A toutes celles et à tous ceux qui m'aiment.

Soumia

SOMMAIRE

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des spectres	
Liste des abréviations	

Introduction générale

Introduction.....	2
Références bibliographiques.....	4

Chapitre I : Recherche bibliographique

I.1. Description botanique de la famille Plantaginaceae	6
I.1.1. Généralité.....	6
I.1.2. Classification de la famille Plantaginaceae.....	6
I.1.3. Description de la famille Plantaginaceae.....	7
I.2. Description du genre <i>Linaria</i>	7
I.2.1. Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre <i>Linaria</i>	8
I.2.1.1. Utilisation en médecine folklorique.....	8
I.2.2. Les propriétés phytochimique du genre <i>Linaria</i>	8
I.3. Description botanique de <i>Linaria cymbalaria</i> (L.)Mill	12
I.3.1. Utilisation en médecine folklorique.....	12
I.3.2. Les propriétés phytochimiques de l'espèce étudiée.....	12
I.4. L'objectif du choix de l'espèce étudiée.....	13
I.5. Position systématique de <i>Linaria cymbalaria</i>	13
Références bibliographiques.....	14

Chapitre II : Méthodes et matériels

II.1. La récolte de <i>Linaria cymbalaria</i>	19
II.2. Produits et matériels utilisés.....	19
II.3. Partie expérimentale.....	19
II.3.1. L'extraction par soxhlet.....	19
II.3.2. Screening phytochimique.....	19
II.3.3. L'enregistrement du profil LC-ESI-MS de l'extrait éthanoïque de <i>L. cymbalaria</i>	21
Références bibliographiques.....	22

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats du screening phytochimique.....	24
III.2. Identification structurale du profil LC-ESI-MS de l'extrait éthanoïque de <i>L. cymbalaria</i>	28
III.2.1. identification du produit 1 (pic 2, $t_r= 3.0\text{min}$).....	29
III.2.2. identification du produit 2 (pic 3, $t_r= 3.7\text{min}$)	32
III.2.3. identification du produit 3 (pic 4, $t_r= 4.0\text{min}$)	35
III.2.4. identification du produit 4 (pic 9, $t_r= 13.8\text{min}$)	37
III.2.5. identification du produit 5 (pic 11, $t_r= 15.7\text{min}$)	40
III.2.6. identification du produit 6 (pic 13, $t_r= 17.3\text{min}$)	42
III.2.7. identification du produit 7 (pic 14, $t_r= 17.7\text{min}$)	45
III.2.8. identification du produit 8 (pic 20, $t_r= 24.1\text{min}$)	48
III.2.9. identification du produit 9 (pic 26, $t_r= 42.2\text{min}$)	50
III.2.10. identification du produit 10 (pic 27, $t_r= 42.7\text{min}$)	52
Références bibliographiques.....	57

Conclusion générale

Conclusion

Liste des tableaux

Chapitre I : Recherche bibliographique

Tableau I.1. Classification de la famille Plantaginaceae.....	6
Tableau I.2. Quelques iridoïdes isolés du genre <i>Linaria</i>	9
Tableau I.3. Quelques flavonoïdes isolés du genre <i>Linaria</i>	10
Tableau I.4. Quelques Diterpènes isolés du genre <i>Linaria</i>	11
Tableau I.5. Quelques Triterpènes isolés du genre <i>Linaria</i>	11
Tableau II.1. Position systématique du genre <i>Linaria</i>	13

Chapitre III : Résultats et discussion

Tableau III.1. Résultat de screening phytochimique de l'extrait éthanoïque de <i>L. cymbalaria</i>	28
--	----

Liste des figures

Chapitre I : Recherche bibliographique

Figure I.1. Distribution géographique des Plantaginaceae.....	6
Figure I.2. Quelques iridoïdes isolés à partir du genre <i>Linaria</i>	9
Figure I.3. Quelques flavonoïdes isolés à partir du genre <i>Linaria</i>	10
Figure I.4. Quelques diterpènes isolés à partir du genre <i>Linaria</i>	11
Figure I.5. Quelques triterpènes isolés à partir du genre <i>Linaria</i>	11
Figure I.6. <i>L. cymbalaria</i>	12
Figure I.7. Les iridoïdes isolés à partir du genre <i>Linaria</i>	13

Chapitre III : Résultats et discussions

Figure III.1. Screening des saponines dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	24
Figure III.2. Screening des anthraquinones dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	24
Figure III.3. Screening des phlobatannines dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	25
Figure III.4. Screening des terpénoïdes dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	25
Figure III.5. Screening des stéroïdes dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	26
Figure III.6. Screening des alcaloïdes dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	26
Figure III.7. Screening des glycosides cardiaques dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	27
Figure III.8. Screening des flavonoïdes dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	27
Figure III.9. Screening des triterpénoïdes dans l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	28
Figure III.10. Profile HPLC–DAD de l'extrait EtOH de <i>L. cymbalaria</i>	29
Figure III.11. Squelette de base d'un iridoïde.....	30
Figure III.12. Les fragmentations du produit 2.....	31
Figure III.13. Le produit du pic 2.....	31
Figure III.14. Squelette de base d'un iridoïde.....	32
Figure III.15. Les fragmentations du produit 3.....	34
Figure III.16. Le produit du pic 3.....	34
Figure III.17. Squelette de base d'un iridoïde	35
Figure III.18. Les fragmentations du produit 4	37
Figure III.19. Le produit du pic 4	37
Figure III.20. Les fragmentations du produit 9.....	39
Figure III.21. Le produit du pic 9.....	39
Figure III.22. Squelette de base d'un phénol.....	40

Figure III.23. Les fragmentations du composé 11.....	42
Figure III.24. Le produit du pic 11.....	42
Figure III.25. Squelette de base d'une flavone.....	43
Figure III.26. Les fragmentations du produit 13.....	45
Figure III.27. Le produit du pic 13.....	45
Figure III.28. Squelette de base d'une flavone.....	46
Figure III.29. Les fragmentations du produit 14.....	47
Figure III.30. Le produit du pic 14.....	47
Figure III.31. Squelette de base d'un flavone.....	48
Figure III.32. Les fragmentations du produit 20.....	50
Figure III.33. Le produit du pic 20.....	50
Figure III.34. Les fragmentations du produit 26.....	52
Figure III.35. Le produit du pic 26.....	52
Figure III.36. Squelette de base d'un iridoïde.....	53
Figure III.37. Les fragmentations du produit 27.....	55
Figure III.38. Le produit du pic 27.....	56

Liste des spectres

Chapitre III : Résultats et discussions

Spectre III.1. Spectre UV du pic 2 enregistré en MeOH.....	29
Spectre III.2. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 2.....	30
Spectre III.3. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 2.....	31
Spectre III.4. Spectre UV du pic 3 enregistré en MeOH.....	32
Spectre III.5. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 3.....	33
Spectre III.6. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 3.....	34
Spectre III.7. Spectre UV du pic 4 enregistré en MeOH.....	35
Spectre III.8. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 4.....	36
Spectre III.9. Spectre de masse ESI-MS en mode(-) du pic 4.....	36
Spectre III.10. Spectre UV du pic 9 enregistré en MeOH.....	37
Spectre III.11. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 9.....	38
Spectre III.12. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 9.....	39
Spectre III.13. Spectre UV du pic 11 enregistré en MeOH.....	40
Spectre III.14. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 11.....	41
Spectre III.15. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 11.....	41
Spectre III.16. Spectre UV du pic 13 enregistré en MeOH.....	43
Spectre III.17. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 13.....	44
Spectre III.18. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 13.....	44
Spectre III.19. Spectre UV du pic 14 enregistré en MeOH.....	45
Spectre III.20. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 14.....	46
Spectre III.21. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 14.....	47
Spectre III.22. Spectre UV du pic 20 enregistré en MeOH.....	48
Spectre III.23. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 20.....	49
Spectre III.24. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 20.....	49
Spectre III.25. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 26.....	51
Spectre III.26. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 26.....	51
Spectre III.27. Spectre UV du pic 27 enregistré en MeOH.....	53
Spectre III.28. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 27.....	54
Spectre III.29. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 27.....	55

Liste des abréviations

A

AcOH	acide acétique
APG II	angiosperme phylogénie groupe

C

°C	degrés Celsius
C	carbone
CCM	chromatographie sur couche mince
CHCl₃	chloroforme
CH₂	méthylène
CH₃	méthyle
CH₃CN	acétonitrile
C₂H₄O₂	acide acétique
C₂H₇NO₂	acétate d'ammonium
C₄H₆O₃	anhydride acétique
Cl	chlore
CO₂H	acide carboxylique

D

Da	data
-----------	------

E

ESI	ionisation electrospray (ou interface correspondante)
Etc	et caetera
EtOH	éthanol

F

FeCl₃	chlorure ferrique
-------------------------	-------------------

G

g	gramme
GGPP	géranyl géranyl pyrophosphate
GPS	global positioning system

H

¹H	proton
HCl	acide chlorhydrique
H₂O	eau
HPLC–DAD	liquid chromatography–détecteur à barrette de diode
H₂SO₄	acide sulfurique

K

³⁹K	potassium
-----------------------	-----------

L

L	litre
LC-ESI-MS	Liquid chromatography/electrospray ionization mass spectroscopy
LC-ion	liquid chromatography-ion
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry (couplage chromatographie liquide/spectrométrie de masse)
L/min	litres par minute

M

M	masse molaire
MeOH	méthanol
Mg	magnésium
mg/mL	milligramme sur millilitre
min	minute
mL	millilitre
mL/min	millilitre par minute
mm	millimètre
mM	millimole
MS/MS	fragmentation spectrométrie de masse
<i>m/z</i>	rapport de la masse d'un ion à sa charge

N

Na	sodium
NaOAc	acétate de sodium
NH₃	ammoniac
Nm	nanomètre

O

OH	hydroxyde
-----------	-----------

S

syn	synonyme
------------	----------

T

<i>t_r</i>	temps de rétention
-----------------------------	--------------------

U

UV	ultraviolet
UV-DAD	ultraviolet- détecteur à barrette de diode

V

V	volt
----------	------

Symbole

μm	micromètre
μL	microlitre
λ_{max}	longueur d'onde
%	pour cent

Introduction

Introduction

Les plantes constituent depuis toujours une source principale des médicaments. Aujourd'hui, une majorité de la population mondiale (près de 80%), plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de végétale. Les plantes produisent des composants qu'on appelle métabolites secondaires de différentes squelettes, ceux-ci occupent divers rôles et fonctions essentielles pour la survie et la propagation des plantes, comme signaux chimique, un système de défense contre les herbivores et les pathogènes, ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance), certains assurent une protection contre les radiations solaires et d'autre encore facilitent la dispersion du pollen et des graines[01]. Ces métabolites secondaires sont aussi bien exploités par l'homme dans différents domaines tels que culinaires dans les colorants et arômes, dans le domaine agricole (herbicides), domaine médicinale (antibiotiques, antioxydant, drogues...etc.) [02,03].

D'après plusieurs études sur les médicaments et leurs origines, plus que 70% d'entre eux sont d'origine végétale dont plus que 170000 molécules bioactives ont été identifiées telles que digitaline, quinine, morphine, artémisine et taxol. Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, l'industrie pharmaceutique moderne s'appuie encore largement sur la diversité de métabolites secondaires issus du règne végétal pour trouver de nouvelles molécules à visée thérapeutique [04].

Notre beau pays « l'Algérie » possède une richesse floristique considérable où on compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques [05], malgré que ce potentiel de plantes médicinales comporte plusieurs espèces présentant divers intérêt, il est toujours négligés et peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique.

L'usage médicinal de différentes espèces du genre *Linaria* ; qui fait partie de la famille Plantaginaceae, a attiré l'attention de différents chercheurs dans le but d'expliquer l'usage médicinal de ces plantes ainsi que d'identifier les agents responsables sur les effets biologiques observés. Et dans ce cadre, nous avons choisi *Linaria cymbalaria* (syn : *Cymbalaria muralis*), une plante connue dans la médecine populaire pour ses propriétés diurétiques, toniques et antiscorbutiques [06], pour investiguer sa composition chimique ainsi, ce travail fait l'objet d'un mémoire de fin d'étude Master en chimie pharmaceutique. Il est divisé en trois chapitres qui sont traités comme suit :

- Le premier chapitre traite les données bibliographiques du genre étudié, commençant avec une description botanique de la famille Plantaginaceae, le genre *Linaria*, l'usage médicinal, ainsi que les propriétés chimiques (les produits isolés) et pharmacologiques (les activités déjà testées).
- Le second chapitre est consacré à la partie expérimentale dont les techniques utilisées pour l'étude phytochimique (extraction screening et identification) de l'extrait obtenu à partir de *Linaria cymbalaria* Mill., sont bien décrits.
- Le dernier chapitre décrit les résultats obtenus par le screening phytochimique et l'identification du profil LC-MS de l'extrait éthanolique de *Linaria cymbalaria*, enrichie par une discussion claire qui explique la méthode d'identification.

Références

- [01] Jaun JM, Annie F, Chrystian JL, 2005. Les composés phénoliques des végétaux, p203-204.
- [02] Bruneton J, 1993. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.
- [03] Krief S, 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- [04] Ferhat M, 2010. Métabolites secondaires de *Linaria aegyptiaca* (Scrophulariaceae), 2.
- [05] Quezel P, Santa S, 1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. CNRS (Ed.), Paris. Tome 2.
- [06] Dobrescu D, Cristea A, Susanu M. Experimental pharmacodynamics study of *Linaria vulgaris* used in folk medicine for the treatment of eczemas. Farmacia Bucharest. 1985. 33:215–220

Chapitre I

Recherche bibliographique

I.1 Description botanique de la famille Plantaginaceae

I.1.1 Généralité

Basant sur nouvelles méthodes d'identification comme la microscopie électronique, cytologie, histologie...etc, la classification botanique APG III, sortie en 2009 [1], a transférée plusieurs genres de la famille Scrophulariaceae à la famille Plantaginaceae. Cette dernière comporte environ 220 genres et 4500 espèces [2]. Les plantes qui la composent se rencontrent abondamment dans les régions tempérées de l'hémisphère nord [3].



Figure I.1. Distribution géographique des Plantaginaceae [4]

I.1.2 Classification de la famille Plantaginaceae

Le tableau suivant résume quelques exemples des sous familles, tribus et genres.

Tableau I.1: Classification de la famille Plantaginaceae [5].

famille	Tribus	Genres
Plantaginaceae	<i>Antirrhineae</i>	<i>Antirrhinum</i> <i>Chaenorhinum</i> <i>Cymbalaria</i> <i>Kickxia</i> <i>Linaria</i> <i>Misopates</i> <i>Nuttallanthus</i>
	<i>Callitricheae</i>	<i>Callitriche</i> <i>Hippuris</i>
	<i>Cheloneae</i>	<i>Chelone</i> <i>Collinsia</i> <i>Nothochelone</i> <i>Penstemon</i> <i>Tonella</i>
	<i>Digitalideae</i>	<i>Digitalis</i>
	<i>Gratiroleae</i>	<i>Bacopa</i> <i>Gratiola</i>
	<i>Plantagineae</i>	<i>Littorella</i> <i>Plantago</i>
	<i>Veroniceae</i>	<i>Lagotis</i> <i>Veronica</i> <i>Veronicastrum</i>

I.1.3. Description de la famille Plantaginaceae

Les plantes de la famille Plantaginaceae sont des plantes ordinairement herbacées, parfois arbustives ou arborescentes, pouvant être parasites (l'althaea), aquatiques ou grimpantes. Les feuilles sont alternes ou opposées, Les fleurs sont hermaphrodites, souvent zygomorphes, pentamères ou tétramères. Elles sont solitaires, regroupées en épis, en grappes ou en panicules. Les sépales, à préfloraison valvaire ou imbriquée. La corolle est à pétales soudés et à préfloraison valvaire ou imbriquée. Les étamines sont ordinairement au nombre de quatre avec un staminode (parfois cinq ou deux étamines seulement). Elles sont insérées sur le tube de la corolle. L'ovaire est supère, normalement biloculaire, composé de deux carpelles soudés entre eux. Il est surmonté d'un style terminal à un ou deux stigmates. Il y a souvent un disque nectarifère autour du pistil. Les ovules sont nombreux, unitéguminés, anatropes à hémitropes, sur des placentas axiles. Le fruit est une capsule déhiscente septicide, parfois loculicide ou porricide, rarement une baie ou un schizocarpe. Les semences sont ailées ou anguleuses avec un embryon droit ou légèrement courbé dans un albumen oléagineux [6].

I.2 Description du genre *Linaria*

Plus que 200 espèces du genre *Linaria* sont distribuées dans les zones climatiques modérées de l'Europe, Nord d'Afrique et l'Asie. Ils doivent leur nom à leurs feuilles étroites évoquant celles du lin cultivé. Les plantes de ce genre sont herbacées soit dressées ou couchée annuelles ou vivaces de 10-30 cm à feuilles simples et étroites (souvent linéaires et rarement lobées ou dentées). Fleurs solitaires, axillaire, en grappe ou en épis terminaux. Le calice profondément divisé en cinq lobes inégaux, souvent courts. La corolle bilabiée à tube renflé et prolongée à la base par un éperon. La lèvre supérieure est formée de deux lobes légèrement réfléchis, la lèvre inférieure de trois lobes. Cette lèvre présente un palais saillant fermant la gorge, bilobé, maculé de couleurs vives, généralement velu. Quatre étamines. Le fruit est une capsule polysperme ovoïde.

À deux loges et à déhiscence porcidé [7]. Les espèces *Linaria* sont réputées par leurs accumulations de métabolites secondaires de type iridoïdes, flavonoïdes, néoclérodanes, alcaloïdes et phényléthanoïdes [8]. Le centre de distribution du genre *Linaria* est le bassin méditerranéen [9], dont 20 espèces se trouvent en Turquie [10], 20 en Italie [11], 24 en Espagne [12] et 39 espèces en Algérie [7].

I.2.1 Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre *Linaria*

I.2.1.1 Utilisation en médecine folklorique

Le genre *Linaria* est l'un des genres les plus connus de la famille Plantaginaceae dans la médecine folklorique dont plusieurs espèces sont réputées pour leurs vertus thérapeutiques telles que :

- ✓ *L. vulgaris* : utilisée particulièrement dans la Bulgarie [13] pour ses propriétés laxative, traitement des inflammations de la vessie, éruptions cutanées ainsi que les hémorroïdes [14]. La même espèce, poussant dans le Nord-Est de la Chine, est utilisée par la population locale dans le traitement de la toux, de l'asthme et comme expectorant [15].
- ✓ *L. japonica* : utilisée dans la médecine folklorique pour ses propriétés diurétique, purgative [16] et laxative [17].
- ✓ *L. cymbalaria* : une plante médicinale qui possède des propriétés diurétiques, toniques et antiscorbutiques [18].
- ✓ *L. reflexa* : une espèce connue sous le nom « Oum lajrah » en raison de son pouvoir cicatrisant. Elle est également employée en usage externe dans le traitement de certaines dermatoses [19].

Il en ressort que la plupart des espèces du genre *Linaria* sont utilisées dans la médecine folklorique pour leurs diverses propriétés biologiques notamment toniques, antiscorbutiques, laxatives, antidiabétiques et diurétiques, ainsi que pour le traitement de blessures, d'hémorroïdes et des désordres vasculaire [20], spasmolytique, anti-inflammatoire, cholagogue et anti-rhume [21].

I.2.2. Les propriétés phytochimique du genre *Linaria*

Les études réalisées sur les espèces du genre *Linaria* ont démontrés une richesse de métabolites secondaires comporte les iridoïdes, les flavonoïdes, les diterpenoïdes et alcaloïdes. Ces produits ont pour but de protégé la plante et aussi connus pour diverses activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, antidiabétique et antitumoral.

a) Les iridoïdes

Les iridoïdes sont présents chez les végétaux supérieurs notamment chez les angiospermes dicotylédones particulièrement chez les gamopétales appartenant aux ordres *gentianales*, *lamiales* et *scrophulariales*.

Antirrhinoside (1) et ses dérivés sont les marqueurs chimiotaxonomiques des genres de la tribu Plantaginaceae-Antirrhineae (Plantaginaceae), y compris *Linaria*, *Antirrhinum*,

Asarina, *Kickxia*, *Cymbalaria* et *Maurandia* [22-23]. Les iridoïdes les plus fréquents sont les dérivés de 6-acyl antirrhinoside et de 5-deoxyantirrhinoside. Figure et tableau suivants présente quelque iridoïdes déjà isolés du genre *Linaria*.

Tableau I.2: quelques iridoïdes isolés du genre *Linaria*

Composé	Espèce	Référence
Antirrhinoside (1)	<i>L. vulgaris</i>	[24]
	<i>L. japonica</i>	[25]
	<i>L. reflexa</i>	[26]
6- <i>O</i> - <i>cis</i> - <i>p</i> -coumaroylantirrhinoside (2)	<i>L. vulgaris</i>	[27]
6- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroylantirrhinoside (3)		
6- <i>O</i> -seneciolyantirrhinoside (4)	<i>L. tingitana</i>	[20]
6- <i>O</i> -angeloylantirrhinoside (5)		
Aucubine (6)	<i>L. vulgaris</i>	[28]
10- <i>O</i> - β -glucosylaucubine (7)	<i>L. vulgaris</i>	[29]
Linaride (8)	<i>L. japonica</i>	[29]
7-3-hydroxy-8- <i>epi</i> -iridodial glucoside (9)	<i>L. japonica</i>	[29]
Antirrhide (10)	<i>L. reflexa</i>	[30]

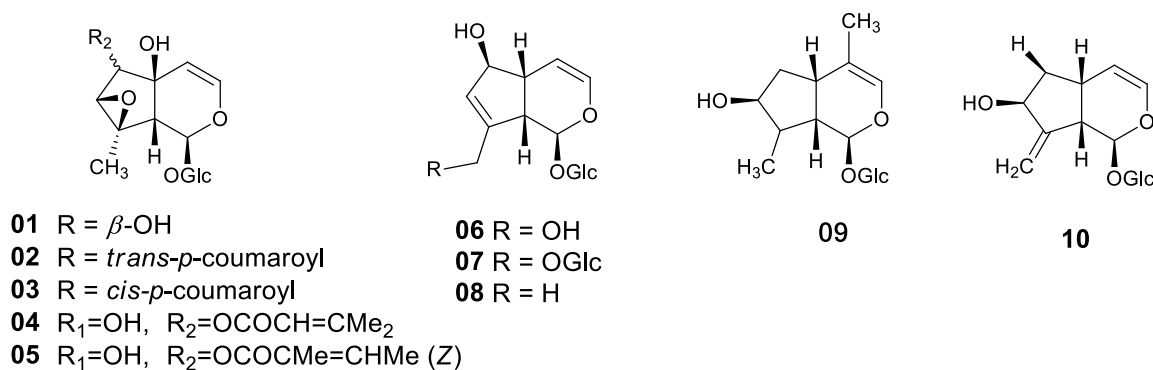


Figure I.2. Quelques iridoïdes isolés à partir du genre *Linaria*

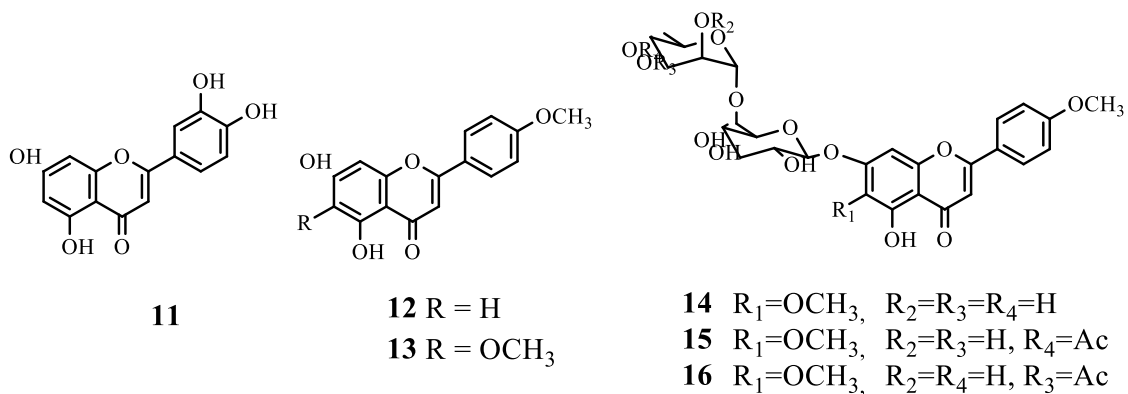
b) Les flavonoïdes

Ils représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans la nature et surtout dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On attribue à ces flavonoïdes divers effets biologiques tels que l'antitumoral, l'anti-cancérigène, l'anti-inflammatoire, l'hypotenseur et l'antioxydante [31].

Différents flavonoïdes sont isolés du genre *Linaria* dont la majorité est de type flavone glycosylés. La présence de groupement méthoxyle en position C-4' et C-6 est spécifique pour le genre *Linaria*.

Tableau I.3: quelques flavonoïdes isolés du genre *Linaria*

Composé	Espèce	Référence
Lutéoline (11)	<i>L. vulgaris</i>	[32]
	<i>L. japonica</i>	[33]
Acacétine (12)	<i>L. vulgaris</i>	[32]
Pectolinarigénine (13)	<i>L. vulgaris</i>	[34]
	<i>L. japonica</i>	[35]
Pectolinarine (14)	<i>L. vulgaris</i>	[36, 37]
	<i>L. japonica</i>	[32, 38]
	<i>L. reflexa</i>	[39]
Linariine (15)	<i>L. vulgaris</i>	[40]
	<i>L. japonica</i>	[41]
	<i>L. reflexa</i>	[26]
Isolinariin B (16)	<i>L. reflexa</i>	[26]

**Figure I.3.** Les flavonoïdes isolés à partir du genre *Linaria*

c) Diterpènes

Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C₂₀) élaborées à partir de 4 unités d'isoprène ; ils se forment à partir de leur précurseur, le géranyl géranyl pyrophosphate (GGPP) [42]. Sont très répandus chez les végétaux supérieurs, ils sont aussi présents chez certains insectes et chez divers organismes marins. On peut les trouver encore dans les résines, les exsudats, les gommés naturelles et les gibbérellines [43].

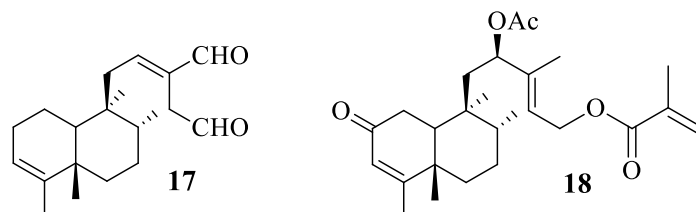
Ils peuvent être :

- ✓ Acycliques comme le phytol ; dont il est le représentant le plus connu dans la chlorophylle ou dans les vitamines K et E.
- ✓ Monocycliques comme la vitamine A.
- ✓ bicycliques comme le sclaréol.
- ✓ Tricycliques comme l'acide abiétique [42,44].

Seulement deux espèces du genre *Linaria* sont connus pour la présence de diterpénoïdes, il s'agit de *L. saxatilis* et *L. japonica*.

Tableau I.4: quelques Diterpènes isolés du genre *Linaria*

Composé	Espèce	Référence
Dialdéhyde linaridial (17)	<i>L. japonica</i>	[45]
Linarienone (18)		[46]

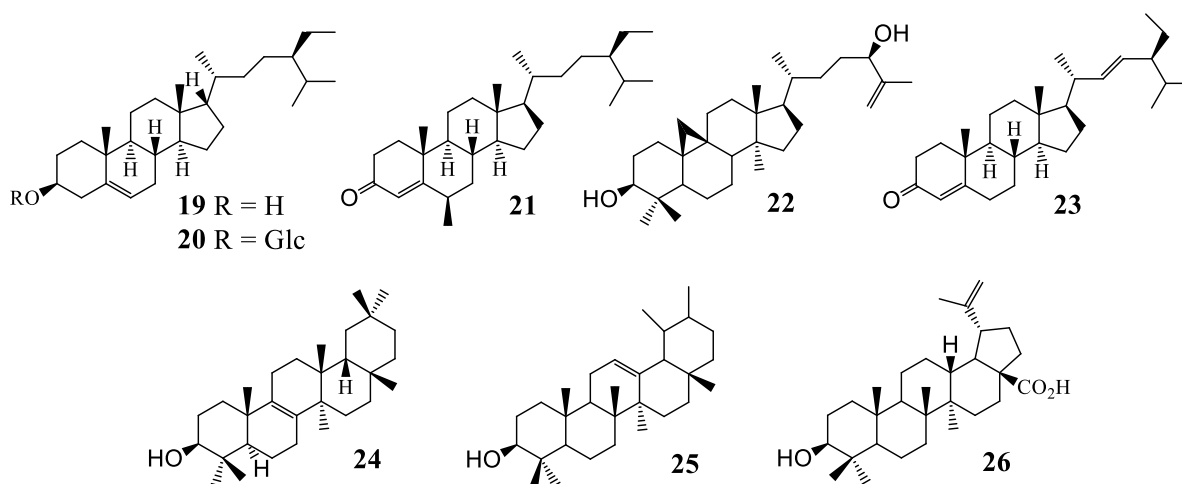
Figure I.4. Les diterpènes isolés à partir du genre *Linaria*

d) Triterpènes

Les triterpènes sont des molécules à 30 atomes de carbone. Ils ont comme précurseur le squalène Il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant très rare [42]. Le tableau I.4 présente quelques exemples des triterpènes isolés à partir du genre *Linaria*.

Tableau I.5: quelques Triterpènes isolés du genre *Linaria*

Composé	Espèce	Référence
β -Sitostérol (19)	<i>L. vulgaris</i>	[47]
3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (daucosterol) (20)	<i>L. vulgaris</i>	[47]
	<i>L. reflexa</i>	[26]
6 β -Hydroxystigmast-4-en-3-one (21)	<i>L. vulgaris</i>	[48]
Cycloart-25-ene-3,24-diol (22)		[49]
Stigmastadienone (23)		[47]
Isomultiflorenol (24)		[49]
α -Amyrin (25)		[47]
Acide betulique (26)		[47]

Figure I.5. Les triterpènes isolés à partir du genre *Linaria*

I.3 Description botanique de *Linaria cymbalaria* (L.) Mill

C'est une plante vivace rampante leur hauteur de 10 à 80 cm. Ces longues tiges ont en effet la capacité de s'enraciner de place en place, comme des stolons. Elles portent des petites feuilles persistantes qui évoquent celles du lierre à une forme légèrement déprimée en leur centre, qui peut effectivement faire penser à de petites embarcations. Ces derniers sont alternes luisantes et charnues, longuement pétiolées, réniformes ou arrondies, le plus souvent à cinq lobes, parfois plus [50].



Figure I.6. *Linaria cymbalaria*

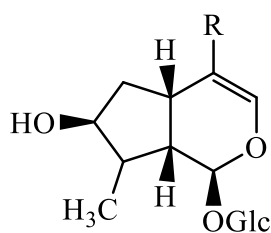
Du mois d'Avril jusqu'au septembre-octobre, cette plante s'orne d'une multitude de petites fleurs. Comme celles des mufliers, elles sont composées de pétales en forme de lèvres et d'un petit éperon. Cette gracieuse floraison affiche la couleur des vitraux : mauve plus ou moins bleuté, éclairé d'une gorge jaune ivoire ou beurre. Le fruit est une capsule polysperme à deux loges [50]. Cette plante est connue sous plusieurs synonymes tel que : *Cymbalaria muralis*, *Antirrhinum cymbalaria* L. et *Elatine cymbalaria* Moench [50].

I.3.1. Utilisation en médecine folklorique

Différents rapports déclarent que *L. cymbalaria* possède des propriétés diurétiques, toniques et de l'antiscorbutiques [51]. Dans la médecine folklorique de quelques pays, l'infusion de cette plante est utilisée pour ses propriétés anti-hémorroïdales, astringentes et vulnéraires. Il était également utilisé dans le traitement de l'eczéma, des excoriations, des engelures, des brûlures, de la gale et de teigne [52]. Des rapports mentionnés que la plante a été utilisée avec succès en Inde pour le traitement du diabète [53,54].

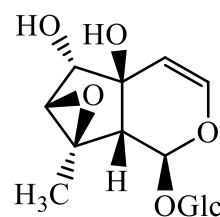
I.3.2. Les propriétés phytochimiques de l'espèce étudiée

Une étude phytochimique sur les parties aériennes de *L. cymbalaria* montre la présence des iridoïdes identifiés comme l'acide 8-epiloganique, antirrhinoside et 7,β-hydroxy-8-epi-iridodial glucoside [55,56].



R=CO₂H L'acide 8-epi-loganique [55]

R= CH₃ 7,β-hydroxy-8-epi-iridodial glucoside [55]



Antirrhinoside [56]

Figure I.7. Les iridoïdes isolés à partir du genre *Linaria*

I.4. L'objectif du choix de l'espèce étudiée

Les critères essentiels pour avoir choisi *Linaria cymbalaria* sont basés sur le fait que:

- ❖ Le genre *Linaria* est bien répandu en Algérie (39 espèces [57]), dont plusieurs espèces sont distribuées à l'East Algérien
- ❖ Dans la médecine folklorique, *L. cymbalaria* est utilisée comme remède populaire pour les effets laxatif, tonique, antiscorbutique et diurétique [58,59].
- ❖ Sa richesse en métabolites secondaires de type terpène et surtout iridoïde [60-62]

I.5. Position systématique de *Linaria cymbalaria*

Linaria cymbalaria est une plante de genre *Linaria*, de classe Magnoliopsida, qu'elle fait partie d'ordre Lamiales, elle est appropriée à la famille Plantaginaceae.

Tableau I.6. Position systématique de l'espèce étudiée [63].

Super- embranchement	<i>Linaria</i>
Embranchement	Angiospermae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Plantaginaceae
Tribu	Antirrhineae
Genre	<i>Linaria</i>
Espèce	<i>Linaria cymbalaria</i> (L) Mill

Références

- [1] The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot J Linn Soc.* 2009, 161:105–121
- [2] Deyunan H, Hanbi Y, Cun-li J, Manfred A. Fischer, Noel H, Holmgren & Robert R. Minn. *Flora of China.* 1998, 18:1
- [3] Ismael ES, Castro SV, Appezato-da-Gloria B. Anatomical confirmation of root parasitism in Brazilian *Agalinis Raf.* species (Scrophulariaceae). *Braz Arch Biol Technol.* 2001, 44:303–311
- [4] <https://hortical.com/mot683.html>
- [5] <https://data.canadensys.net/vascan/taxon/190?lang=fr>
- [6] Scrophulariaceae : la famille de la Digitale
<http://www.botanique.org/1/classification-549/description-diffrents-taxons/descriptions-familles/scrophulariaceae-famille-digitale/>
- [7] Quezel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 1963. Vol. 2. CNRS, Paris.
- [8] Cheriet T, Mancini I, Seghiri R, Benayache F, Benayache S. Chemical constituents and biological activities of the genus *Linaria* (Scrophulariaceae). *Nat Prod Res.* 2015, 29:158–1613
- [9] Davis PH. *Flora of Turkey and the East Aegean Island.* University press, Edinburgh. 1978, 6:825
- [10] Seçmen Ö, Gemici Y, Görk G, Bekat L, Leblebici E. *Tohumlu Bitkiler Sitematiği, Ége Üniv. Fen Fak. Kitaplar Serisi, VI. Baskı, Ege Üniv. Basımevi, İzmir.* 2000. No 116
- [11] Pignatti S, *Flora D'Italia; Edagricole, Ed. Bologna. Italy.* . 1982, 542–543
- [12] Rocio J, Julio P, Inmaculada F. Morphological and anatomical studies of *Linaria* species from South-west Spain: Seeds. *Annals of Botany.* 1999, 84:11–19
- [13] Stojanov N, Stefanov B, kitanov B. *Flora Bulgarica, part II, Naukaiiskustvo, Sofia.* 1967, 959
- [14] Stojanov N. *Our medicinal plants, part II, Naukaiiskustvo, Sofia.* 1973, 99.
- [15] Jiangsu College of New Medicine, "A Dictionary of the Traditional Chinese Medicines", 1977, People's Hygiene Publisher, Beijing.
- [16] Otsuka H. Phenylethanoids from *Linaria japonica*. *Phytochemistry* 1993, 32:979–981
- [17] Kitagawa I, Tani T, Akita K, Yosioka I. Constituents of *Linaria japonica*. I. Structure of linarioside, a new chlorinated iridoid glucoside and identification of two related glucosides. *Chem Pharm Bull.* 1973, 21:1978–1987
- [18] Dobrescu D, Cristea A, Susanu M. Experimental pharmacodynamics study of *Linaria vulgaris* used in folk medicine for the treatment of eczemas. *Farmacia Bucharest* 1985, 33:215–220
- [19] Boukef MK. *Médecine traditionnelle et pharmacopée.* ISBN. 1986
- [20] Hanfer M, Cheriet T, Ameddah S, Mancini I, Seghiri R, Menad A, Benayache S, Benayache F. Iridoids and anti-inflammatory properties of *n*-butanol extract of *Linaria tingitana* Boiss. & Reut. *Nat Prod Res.* 2017, 31:2008–2015
- [21] Dilek EM, Koray S, Del Olmo E, San Feliciano A. Chemical constituents of *Linaria aucheri*. *Turk J Chem.* 2004, 28:133–139

- [22] Ilieva E, Handjieva N, Spassov S, Popov S. 5-*O*-allosylantirrhinose from *Linaria* species. *Phytochemistry* 1993, 32:1068–1070
- [23] Sticher O. Isolation of antirrhinose from *Linaria vulgaris*. *Phytochemistry* 1971, 10:1974–1975
- [24] Ilieva E, Handjieva N, Spassov S, Popov S. 5-*O*-allosylantirrhinose from *Linaria* species. *Phytochemistry*.1993.32:1068–1070
- [25] Otsuka H. Iridoid glucosides from *Linaria japonica*. *Phytochemistry* 1993, 33:617–622
- [26] Tundis R, Deguin B, Loizzo MR, Bonesi M, Statti GA, Tillequin F, Menichini F. Potential antitumor agents: Flavones and their derivatives from *Linaria reflexa* Desf. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005, 15:4757–4760
- [27] Ilieva E, Khandzheva N, Popov S. Iridoid glucosides from *Linaria vulgaris*. *Phytochemistry* 1992, 31:1040–1041
- [28] Esposito P, Scarpati ML. Iridoids. IX. 10-*O*- β -glucosyl aucubin from *Linaria vulgaris*. *Gazzetta Chimica Italiana*. 1970. 100:836–845
- [29] Guiso M, Tassone G, Nicoletti M, Serafini M, Bianco A. Chemotaxonomy of iridoids in *Linaria vulgaris*. *Nat Prod Res*. 2007, 21:1212–1216
- [30] Cheriet T, Youcef-Ali M, Ahmed Chaouche M, Mancini I, Kacem Chaouche N, Seghiri R, Mekkiou R, Bouamza O, Benayache S, Benayache F. Phytochemical and antimicrobial screening of *Linaria reflexa* Desf. *J Mater Environ Sci*. 2016,7:3410–3414
- [31] Ren W, Qian Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: Promising anticancer agents. *Med Res Rev*. 2003, 23:519–534
- [32] Hua H, Sun J, Li X. Flavonoids from yellow toadflax (*Linaria vulgaris*). *Chin. Trad. Herb. Drugs*. 1999, 30:332–334
- [33] Widjowati R, Sugimoto S, Yamano Y, Sukardiman Y, Otsuka H, Matsunami K. New isolinariins C, D and E, flavonoid glycosides from *Linaria japonica*. *Chem Pharm Bull*. 2016, 64:517–521
- [34] Kouichi M, Takashi T, Isao K, Toshihiro F, Yuki Y, Kanji I. New iridoid diesters of glucopyranose from *Linaria Canadensis* (L.) Dum. *J. Nat. Med*. 2011, 65:172–175
- [35] Pethes E, Marczal G, Kery A, Petho M. Flavonoids as biologically active agents and their occurrence in the Scrophulariaceae family. *Acta Pharmaceutica Hungarica*. 1974, 44:83–90
- [36] Kuptsova LP, Bankovskii AI. New flavonoid from some species of *Linaria*. *Cem. Nat. Comp*. 1970, 6:128–129
- [37] Klobb T. Two New Glucosides: *Linarine* and *Pectolarine*. *Compt rend*. 1907, 145:331–334
- [38] Mun GS, Song HY, Kim IG. Analysis of flavonoid-components of *Linaria Japonica* *Miq. Anal. Scie. & techno*. 1979, 3:28–32
- [39] Ercil D, Sakar MK, Del Olmo E, San Feliciano A. Chemical constituents of *Linaria aucheri*. *Turk. J. Chem*. 2004, 28:133–139
- [40] Morita N, Shimizu M, Arisawa M, Kobayashi K. Medicinal resources. 37. Components of leaves of *Linaria japonica* and *L. vulgaris* (Scrophulariaceae). *Pharmacy magazine*. 1974, 94:913–916
- [41] Otsuka H. Isolation of isolinariins A and B, new flavonoid glycosides from *Linaria japonica*. *J. Nat. Prod*. 1992, 55:1252–1255

- [42] Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- [43] Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 35-39, 40, 47.
- [44] Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora Desf*, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine. p 16-20.
- [45] Kitagawa I, Yoshihara M, Tani T, Yosioka I. 1975. Linaridial, a new cis-clerodane-type diterpene dialdehyde, from *Linaria japonica*. Tetrahedron Lett. 1:23–26.
- [46] Kitagawa I, Yoshihara M, Kamigauchi T. Linarienone, a new cis-clerodane-type diterpene from the subterranean part of *Linaria japonica* Miq. Tetrahedron Lett. 1977, 14:1221–1224
- [47] Rzadkowska-Bodalska H, Kowalczyk-Ohem B, Lamer-Zarawska E. Chemical and biological investigation of lipophilic fraction of *Linaria vulgaris* Mill. (Scrophulariaceae). Bull Pol Acad Sci Biol Sci. 1996, 43:179–184.
- [48] Hua H, Li X, Zhang H. Steroids from *Linaria vulgaris* Mill. J Sheng Pharm Univ. 2000, 17:40–42, 48. Chinese.
- [49] Hua H, Hou B, Li W, Li X, Zhang Y. Triterpenes from butter-and-eggs (*Linaria vulgaris*). Chin Tradit Herb Drugs. 2000, 31:409–412. Chinese.
- [50] <http://arrosiers-secateurs.com/Cymbalaria-muralis-la-Ruine-de>
- [51] San Feliciano A, Gorinated M, Miguel del Corral, JM, de la Puente ML. Neo-clerodane diterpenoides from roots of *Linaria saxatilis* var. *glutinosa*. Phytochemistry. 1993, 33:631–633
- [52] Guarino C, De Simone L, Santoro S. Ethnobotanical study of the Sannio area, Campania, Southern Italy. EthnobotResAppl. 2008, 6:255-317
- [53] Grieve M. A MoDERNHerbal. Penguin ISBN 0-14-046-440-9 (1984)
- [54] Chopra RN, Nayar SL, Chpra IC. Glossary of Indian medicinal plants (including the supplement). Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi. (1986)
- [55] Bianco A, Passacantilli P, Polidori G. 8-Epiloganic acid and 7-β-hydroxy-8-epiiridodial glucoside. Two new iridoid glucosides from *Linaria cymbalaria*. Planta Med. 1982. 46:38–41
- [56] Ilieva E, Handjieva N, Bankova V, Popov S, Evstatieva L. Iridoid and flavonoid glycosides from *Linaria* species. Bulg Chem Commun. 1992, 25:400–406.
- [57] Quezel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 1963. Vol2. CNRS, Paris
- [58] San Feliciano A, Gordaliza M, Miguel del Corral, JM, de la Puente ML. Neo-clerodane diterpenoids from roots of *Linaria saxatilis* var. *glutinosa*. Phytochemistry 1993, 33:631–633
- [59] Fournier P. Le Livre des Plantes Médicinales. 1948. Vol. 2, p. 426, P. Lechevalier Ed.
- [60] Bianco A, Guiso M, Iavarone C, Passacantilli P, Trogolo C. Iridoids. XXIV. Linaride (10-deoxyaucubin), a new iridoid from *Linaria muralis*. Gazz Chim Ital. 1977, 107:83–85

- [61] Bianco A, Passacantilli P, Polidori G. 8-Epiloganic acid and 7- β -hydroxy-8-epiiridodial glucoside. Two new iridoid glucosides from *Linaria cymbalaria*. *Planta Med.* 1982, 46:38–41
- [62] Serafini M, Foddai S, Ballero M, Guiso M, Bianco A. The occurrence of iridoid glycosides in *Cymbalaria* spp. in Italy. *Nat Prod Res.* 2004, 18:325–327
- [63] The Manulae, a tribe of Scrophulariaceae. Edinburgh University Press, Edinburgh. . 1994, 1–212

Chapitre II

Méthodes et matériels

II.1. La récolte de *Linaria cymbalaria*

La récolte des parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de *L. cymbalaria* a été effectuée en mois février dans les parois du canyon Oued Rhumel de la Wilaya de Constantine à 465 m d'altitude selon les coordonnées GPS suivantes: latitude 36° 22'21.833"N, longitude 06°36'37.867"E.

II.2. Produits et matériels utilisés

Eau distillé (H₂O), méthanol (MeOH), éthanol (EtOH), acétonitrile (CH₃CN), acétate d'ammonium (C₂H₇NO₂), ammoniac (NH₃), acide chlorhydrique (HCl), chloroforme (CHCl₃), acide sulfurique (H₂SO₄), anhydride acétique (C₄H₆O₃), réactif de Dragen Droff, acide acétique (AcOH), chlorure ferrique (FeCl₃), magnésium (Mg) et l'acétate de sodium (NaOAc).

Evaporateur rotatif, pipette pasteur, poire, micropipette (1000 µL), cuve, bécher, erlenmeyer, éprouvette graduée, tubes à essai, capillaire, spatule, entonnoir, porte tube, papiers filtres, coton, pince, règle, couteau à lame rétractable, ballon à fond round, porte ballon, plaque CCM.

II.3. Partie expérimentale

II.3.1. L'extraction par soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et utile permettant de répéter plusieurs fois le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement total du soluté dans la matière végétale.

L'extraction de *L. cymbalaria* a été réalisée par un binôme Master (BELAHSSINI Fatima et BENTOBICHE Nihed) en 2017 à l'université des Frères Mentouri-Constantine dont 20 g des parties aériennes (sécher et découpé en petites morceaux), a été extraite avec 1 L d'éthanol, à 38°C. L'extraction a été répétée jusqu'à l'épuisement de la matière végétale pour obtenir un extrait éthanolique de 5.45 g (27.25%) [1].

II.3.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence les différents groupes chimiques présents dans une matière végétale. Il est basé sur des réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques spécifiques.

Les classes de métabolites secondaires sont nombreux et à cause de ça, on a choisi que les principales classes : alcaloïdes, polyphénols (tanins, flavonoïdes...) et terpénoïdes (iridoïdes, stéroïdes...).

La présence de ces derniers est attestée soit par la formation d'un précipité, soit par le changement de coloration du milieu. C'est l'apparition de ces deux dernières qui indique la présence de la classe recherchée.

✓ **Les saponines (test de moussage)**

L'ajoute de 0.5 mL d'extrait avec 5 mL d'eau distillée dans un tube à essai puis l'agiter bien, la persistance d'une mousse indique la présence des saponines [2].

✓ **Les anthraquinones (test de Borntrager)**

L'ajoute 1 mL d'ammoniac dilué (10%) à 2 mL d'extrait dans un tube à essai, une couleur rose-rouge dans la couche ammoniacal (inférieure) indique la présence des anthraquinones [2].

✓ **Les phlobatannins**

On fait bouillir 2 mL d'extrait avec 2 mL d'acide chlorhydrique dilué (1%), la formation de précipitation rouge indique la présence des phlobatannins [2].

✓ **Les terpénoïdes (test de salkowski)**

2.5 mL d'extrait a été ajouté à 1 mL de chloroforme et 1.5 mL d'acide sulfurique concentré, l'apparition d'une couleur brune rougeâtre de l'interface indique la présence des terpénoïdes [2].

✓ **Les stéroïdes**

À 1 mL d'extrait, on ajoute 2 mL d'anhydride acétique et 2 mL d'acide sulfurique concentré, le changement de couleur vers le bleu ou le vert indique la présence des stéroïdes [2].

✓ **Les alcaloïdes**

On introduit 1 mL d'extrait dans un tube à essai puis on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique dilué (10%). Après 24 heures, on ajoute 3 gouttes du réactif de Dragendorff, un changement de couleur et la présence d'un précipité indique la présence des alcaloïdes [1].

✓ **Les glycosides cardiaques (test de kellerkiliani)**

Sur 2 mL d'extrait, on ajoute 1 mL d'acide acétique glacial, 1 mL de chlorure ferrique (2%) et 1 mL d'acide sulfurique concentré, l'apparition d'une couleur verte bleue indique la présence des glycosides cardiaques [2].

✓ Les flavonoïdes :

On introduit 2 mL d'extrait dans un tube à essai puis on ajoute 5 mL d'acide chlorhydrique concentré (HCl) et des copeaux de magnésium, un changement de couleur indique la présence des flavonoïdes [1].

✓ Les triterpénoïdes :

On a utilisé une version modifiée de test de *Salkowski*. 1 mL d'extrait a été ajouté lentement à l'acide sulfurique concentré, la formation de couleur rouge/marron/violet à l'interface indique la présence des triterpénoïdes [3].

II.3.3. L'enregistrement du profil LC-ESI-MS de l'extrait éthanoïques de *L. cymbalaria*

Un échantillon de 400 µL (10 mg/mL) a été envoyé au laboratoire de chimie bioorganique à l'université de Trento-Italie pour l'enregistrement du profil LC-ESI-MS. Ce dernier a été réalisé sur Hewlett-Packard (Palo Alto, CA, USA) modèle 1100 séries de chromatographie liquide couplé à une matrice de détecteur photodiode (Agilent, Palo Alto, CA, USA) série 1100, et à un Esquire LC-ion piège spectromètre de masse (Bruker, Billerica, MA, USA) équipé par une ionisation électronébuliseur (*ESI*) d'interface. UV-DAD 200-700 nm; la chaîne UV: 204, 234, 254, 470 et 665 nm. La source *ESI* : mode positive et négative; l'injection: 5µl. Le système d'élution est de 80:20 (H₂O + 1 mL d'acétate d'ammonium (10 mM) : CH₃CN + 1 mL d'acétate d'ammonium (10 mM)) pendant 30 min puis il passe à 0:100 jusqu'à 56 min, le fractionnement de l'effluent de la colonne a été réalisé avec un débit de 1 mL/min s'écoulant dans le spectromètre de masse. Le spectre LC-MS a été exécuté sur une colonne de type Nucleosil C18 Macherey-Nagel (250 mm × 4.6 mm de diamètre, diamètre de 5 µm, coiffe terminale). L'azote de haute pureté a été utilisé comme le nébuliseur et également en tant que gaz de séchage à 300°C à une vitesse d'écoulement constante de 6 L/min. Les spectres complets ont été acquis en mode d'ions négatifs dans la région *m/z* 100–1000, en adoptant les paramètres suivants : unités d'entraînement de piège, 55.1; capillaire tension de sortie, -120.4 V; skimmer 1 tension, -43.3 V. Les expériences de fragmentation MS/MS ont été réalisées sur l'ion précurseur choisi. Les analyses des données (version 3.0, BrukerDaltonikGmbH) ont été utilisés pour élucidés les spectres de masse.

Références

- [1] Belahssini F, Bentobbiche N. Screening phytochimique et biologique de quelques espèces algériennes, Mémoire de Master pharmaceutique, p. 28. L'université des Frères Mentouri-Constantine, 2017
- [2] Sasudharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram K.M, Yoga Latha L. Exreaction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants extracts. Afr J Tradit complement Altern Med. 2011, 8:1–10
- [3] Erdenechimeg Ch, Guiqide A, Dejidmaa B, Chimedragchaa Ch, Purevsuren S. Total phenolic, flavonoid, alkaloid and ididoid content and preventive effect of Lider-7-tang on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. Braz J Med Biol Res. 2017, 50:e5916.

Chapitre III

Résultats et Discussions

III.1. Résultats du screening phytochimique :

Le screening phytochimique de l'espèce étudiée a permis d'identifier les différentes classes des métabolites secondaires dont les résultats sont :

➤ Saponines :

L'observation: la présence d'une mousse indique la présence des saponines.



Figure III.1. Screening des saponines dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

D'après l'observation de l'expérience réalisée dans un tube à essai (figure III.1), on a remarqué la présence d'une mousse légère ce qui réveille la présence des saponines dans l'extrait éthanoloïque de *L. cymbalaria*.

➤ Anthraquinones :

L'observation: la présence d'une couleur rose-rouge dans la couche ammoniacale (inférieure) indique la présence des anthraquinones.

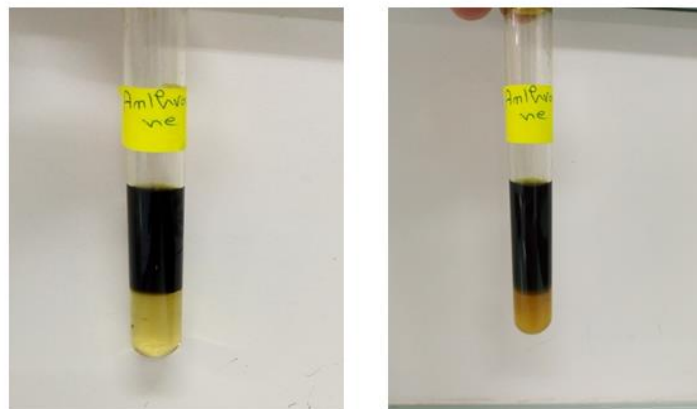


Figure III.2. Screening des anthraquinones dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

D'après la figure III.2, on observe l'absence de changement de couleur indiquent l'absence des anthraquinones dans l'extrait éthanoloïque de *L. cymbalaria*.

➤ **Phlobatannines :**

L'observation: la formation d'un précipité rouge indique la présence des phlobatannines.



Figure III.3. Screening des phlobatannines dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

On a observés la formation d'un précipité rouge claire qui réveil la présence des phlobatannines dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*.

➤ **Terpénoïdes :**

L'observation: changement de couleur brun rougeâtre de l'interface indique la présence des terpénoïdes.



Figure III.4. Screening des terpénoïdes dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

D'après la 4^{ème} figure, on observe un changement de couleur brun rougeâtre de l'interface qui indique la présence des terpénoïdes dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*.

➤ **Stéroïdes :**

L'observation: changement de couleur en bleu ou vert indique la présence des stéroïdes.



Figure III.5. Screening des stéroïdes dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

D'après l'expérience réalisée dans un tube à essai (figure III.5), nous avons observés le changement de couleur vers le bleu ou vert qui indique la présence des stéroïdes dans l'extrait éthanoïque de *L. cymbalaria*.

➤ **Alcaloïdes :**

L'observation : changement de couleur et la présence d'un précipité indique la présence des alcaloïdes.

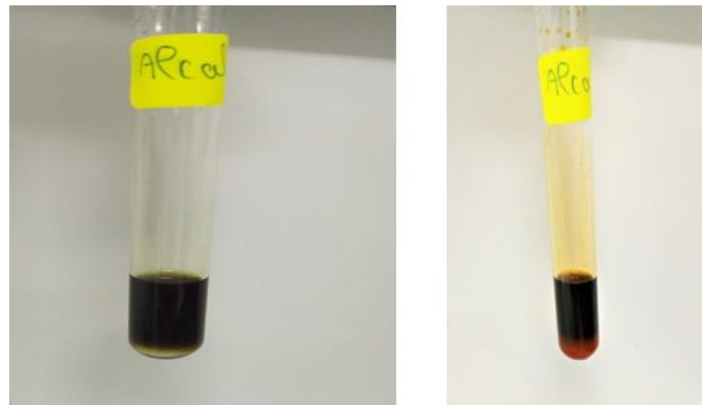


Figure III.6. Screening des alcaloïdes dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

Un changement de couleur ainsi que la formation d'un précipité ont été observés ce qui révèle la présence des alcaloïdes en bonne quantité dans l'extrait éthanoïque de *L. cymbalaria*.

➤ **Glycosides cardiaques :**

L'observation : changement de couleur vert bleu indique la présence des glycosides cardiaques.

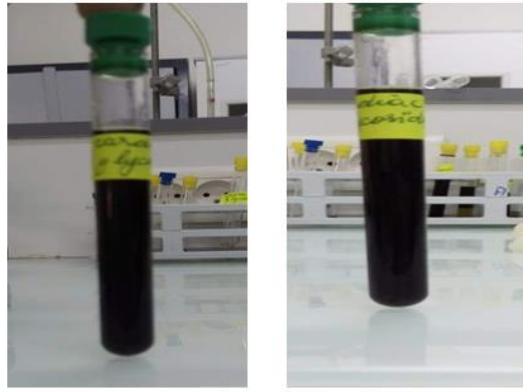


Figure III.7. Screening des glycosides cardiaques dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

Selon la figure III.7, l'observation d'une coloration verte bleue qui indique que l'extrait éthanoïque de *L. cymbalaria* contient une bonne quantité des glycosides cardiaques.

➤ **Flavonoïdes :**

L'observation : une altération de couleur indique la présence des flavonoïdes.

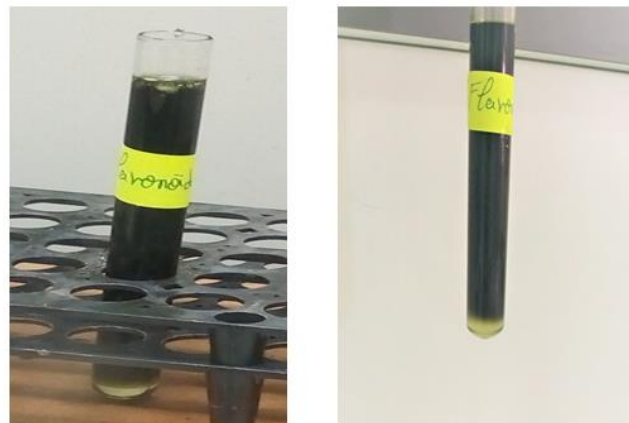


Figure III.8. Screening des flavonoïdes dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

D'après la figure III.8, l'absence d'altération de couleur est claire, ce qui indique l'absence de cette classe recherchée dans l'extrait éthanoïque de *L. cymbalaria*.

➤ **Triterpénoïdes :**

L'observation : la création de couleur rouge / marron / violet à l'interface indique la présence des triterpénoïdes.

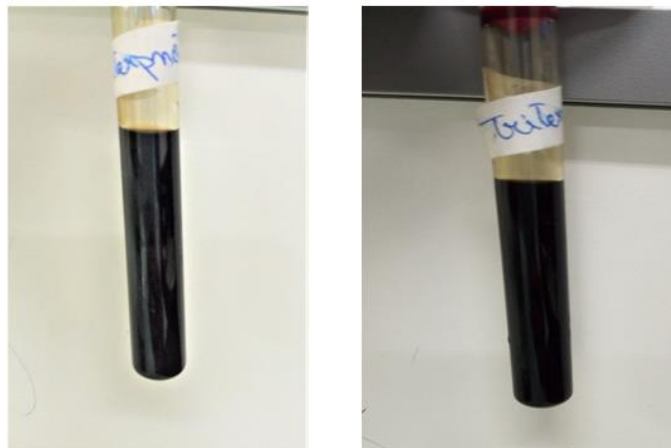


Figure III.9. Screening des triterpénoïdes dans l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

Selon le changement de couleur observé dans la figure III.9, on peut dire que l'extrait éthanoïque de *L. cymbalaria* contient une bonne quantité des triterpénoïdes.

Le tableau suivant rassemble les résultats obtenus par le screening phytochimique.

Tableau III.1. Résultat de screening phytochimique d'extrait éthanoïque de *L. cymbalaria*.

Classe recherchée	Résultat
Saponines	+
Anthraquinones	-
Phlobatannines	+
Terpénoïdes	+++
Stéroïdes	+++
Alcaloïdes	+++
Glycosides cardiaques	+++
Flavonoïdes	-
Triterpénoïdes	+++

(-) : négatif; (+) : légèrement positif; (++) : positif; (+++) : fortement positif.

La comparaison de nos observations de screening phytochimique et la littérature montre que nos résultats sont en accord avec la bibliographie du genre *Linaria* dont les terpénoïdes sont les composants les plus fréquents [1].

III.2. Identification structurale du profil LC-ESI-MS de l'extrait éthanoïque de *L. cymbalaria*

L'analyse du profil HPLC–DAD enregistré à 250 nm, obtenu par l'injection de 400 µL de l'extrait EtOH montre un profil riche en métabolites secondaires qui contient 82 pics dont 33 sont les plus remarquables où on a pu identifier 10 composés selon les données

spectroscopiques UV et ESI-MS (+ et -) ainsi que les fragmentations observées dans les spectres de masses.

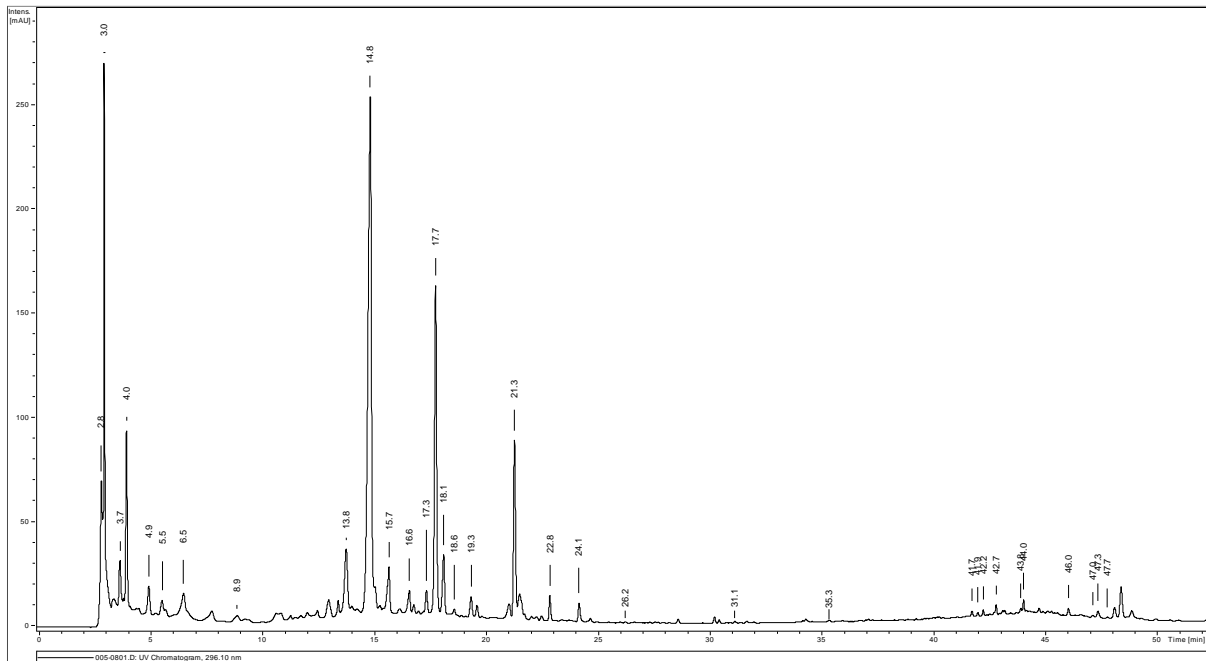
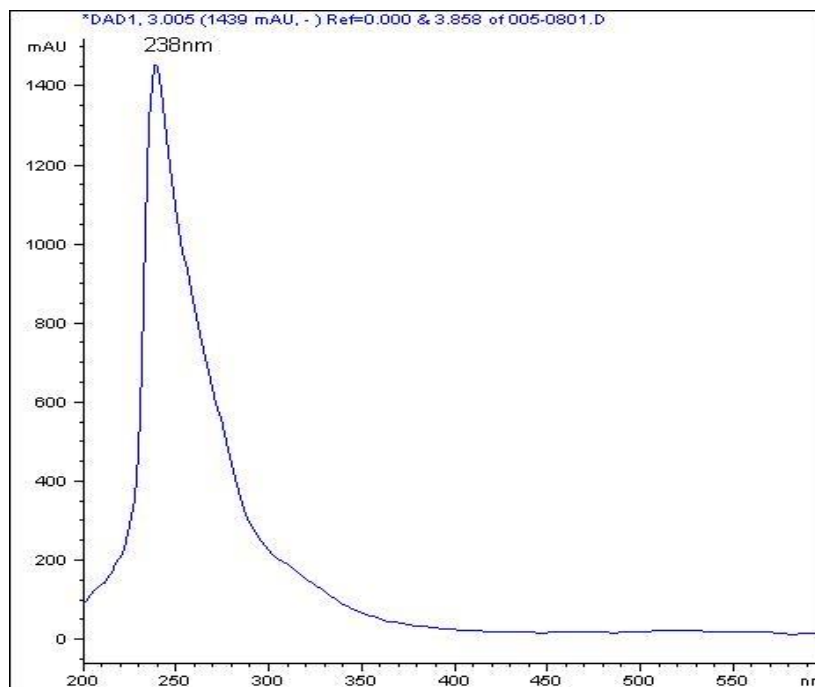


Figure III.10. Profile HPLC–DAD de l'extrait EtOH de *L. cymbalaria*

III.2.1. Identification du produit 1 (pic 2, $t_r = 3.0$ min)

Basant sur le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, on a observé la présence d'une seule bande à $\lambda_{\max} = 238$ nm. Selon la littérature, cette longueur d'onde correspond à une structure d'un monoterpène de type iridoïde [2].



Spectre III.1. Spectre UV du pic 2 enregistré en MeOH

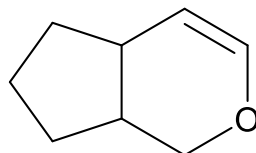
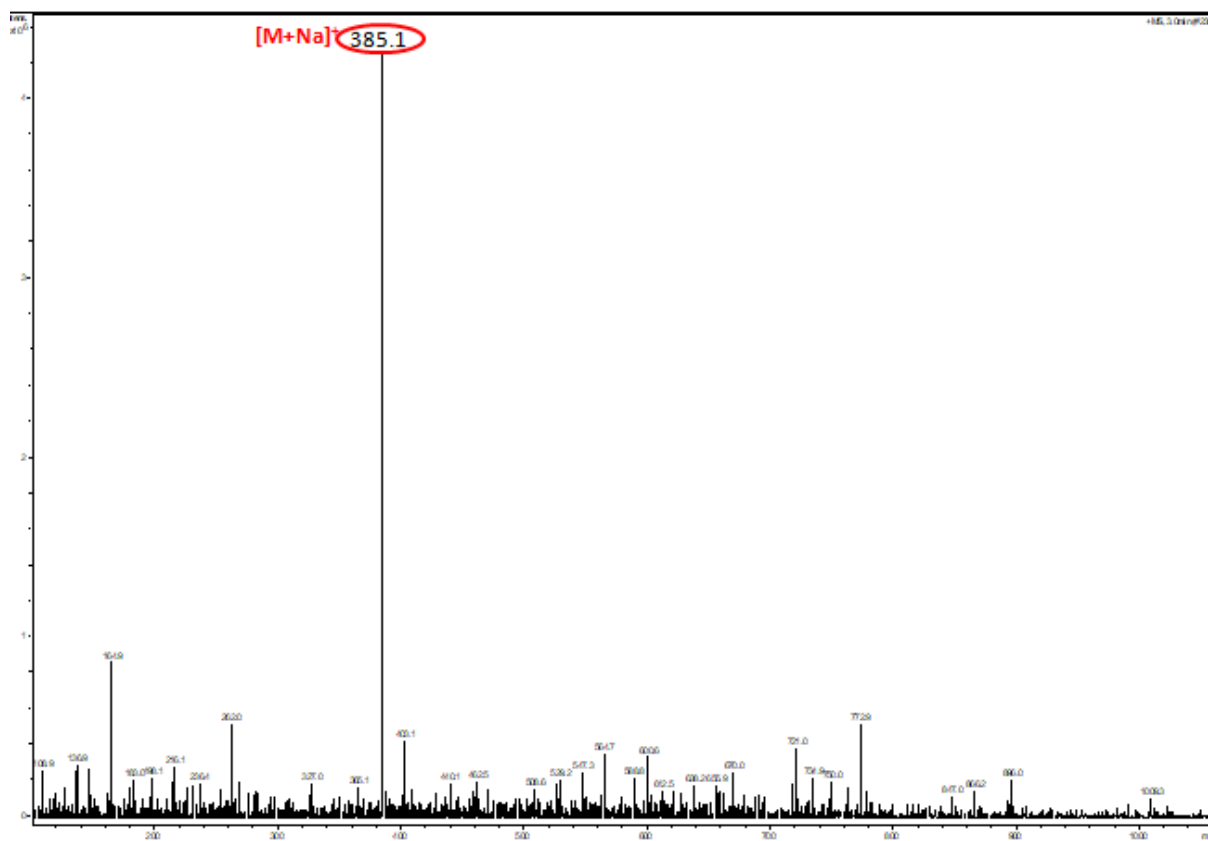


Figure III.11. Squelette de base d'un iridoïde

L'analyse des spectres de masse ESI-MS montre la présence d'un pic moléculaire à m/z 385.1 en mode positif (spectre III.2) attribuable à $[M+Na]^+$, ainsi que deux pics en mode négatif (spectre III.3) à m/z 361.6 et 723.3 attribuables à $[M-H]^-$ et $[2M-H]^-$, respectivement. Tous ces pics confirment que la masse molaire de notre composé est de 362 Da. Cette masse est connue pour différents iridoïdes dans le genre *Linaria* dont l'antirrhinoside est le plus connu.



Spectre III.2. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 2

Le spectre ESI-MS (-) montre la présence d'une fragmentation entre le pic moléculaire à m/z 361.6 et un pic à m/z 199.1 avec la perte de (162.5) Da, selon la littérature qu'on peut l'attribuer à une unité du glucose sans l'atome oxygène en position C-1'. Une fragmentation entre le pic moléculaire et un pic à m/z 274.2 avec la perte de (87.4) Da attribuable à la fragmentation de $C_4H_6O_2$ (le cycle à 5 atomes avec un époxyde, un CH_3 et un groupement OH). Une fragmentation entre le pic moléculaire et un pic à m/z 290.5 avec la perte de (71.1) Da attribuable à la fragmentation rupture du cycle à 6 et la perte de $C_3H_3O_2$ ($HO-C-CH=CH-O$). Une fragmentation entre le pic à m/z 199.1 et un pic à m/z 181.1 avec la

perte de 18 Da attribuable à la perte d'une unité d'eau (OH + H). Une autre fragmentation entre le pic à m/z 181.1 et le pic à m/z 162.9 attribuable à la perte d'une unité d'eau (OH + H).

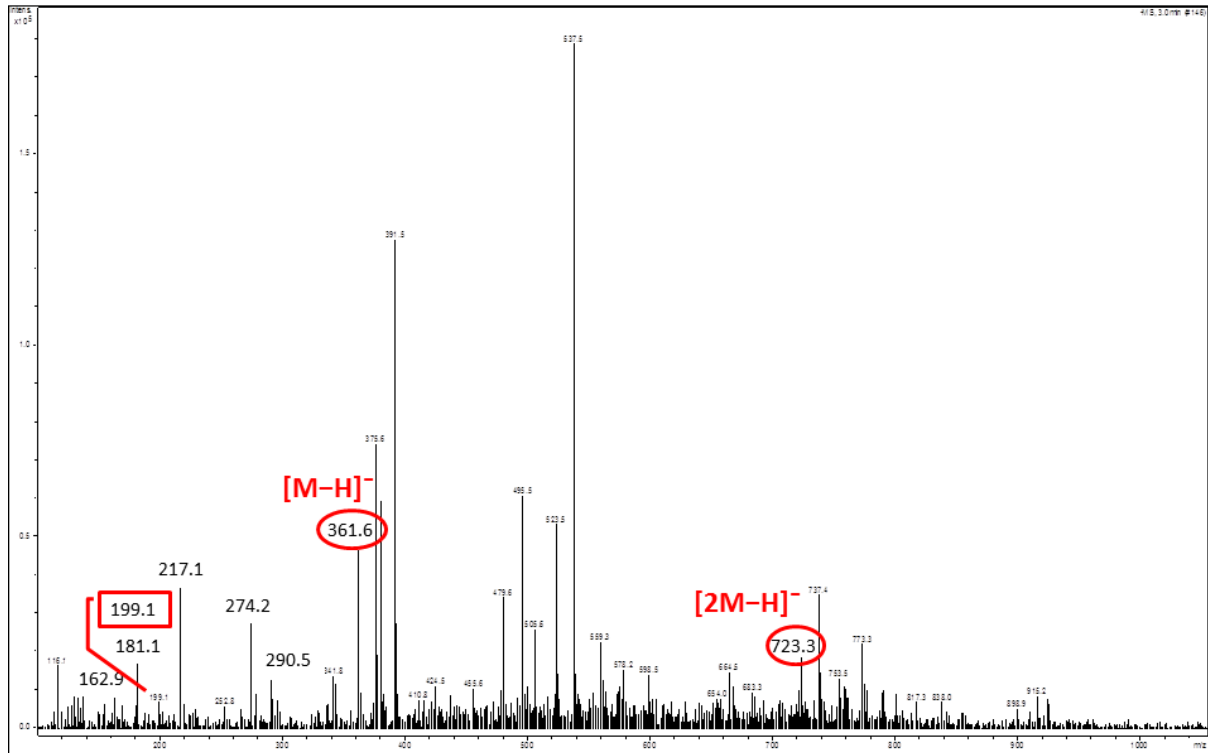


Figure III.3. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 2

Les fragmentations major sont présentes dans la figure suivante :

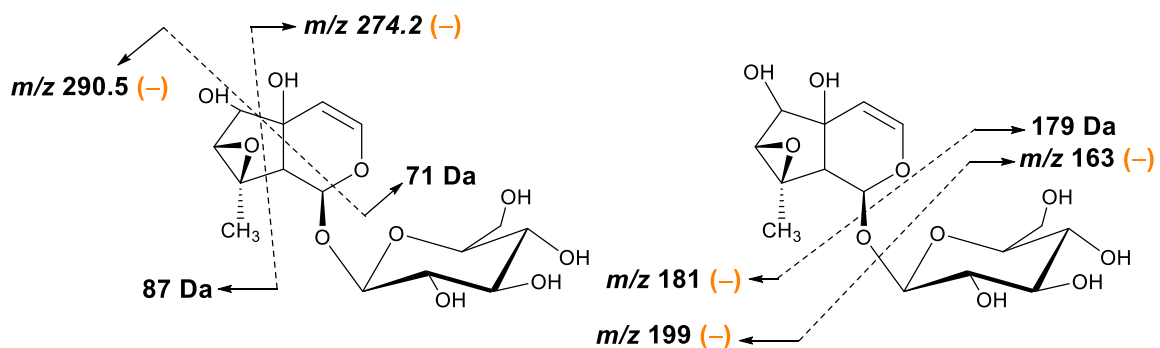


Figure III.12. Les fragmentations du produit 1

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS confirment la présence d'une unité de sucre de type glucose, la présence de deux groupement hydroxyles ainsi que un époxyde et un CH_3 , ce qui confirme la structure de antirrhinoside [3, 4].

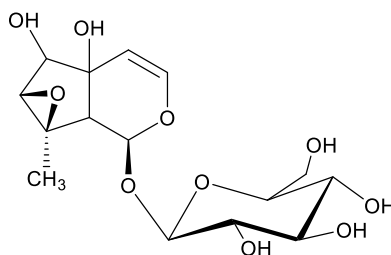
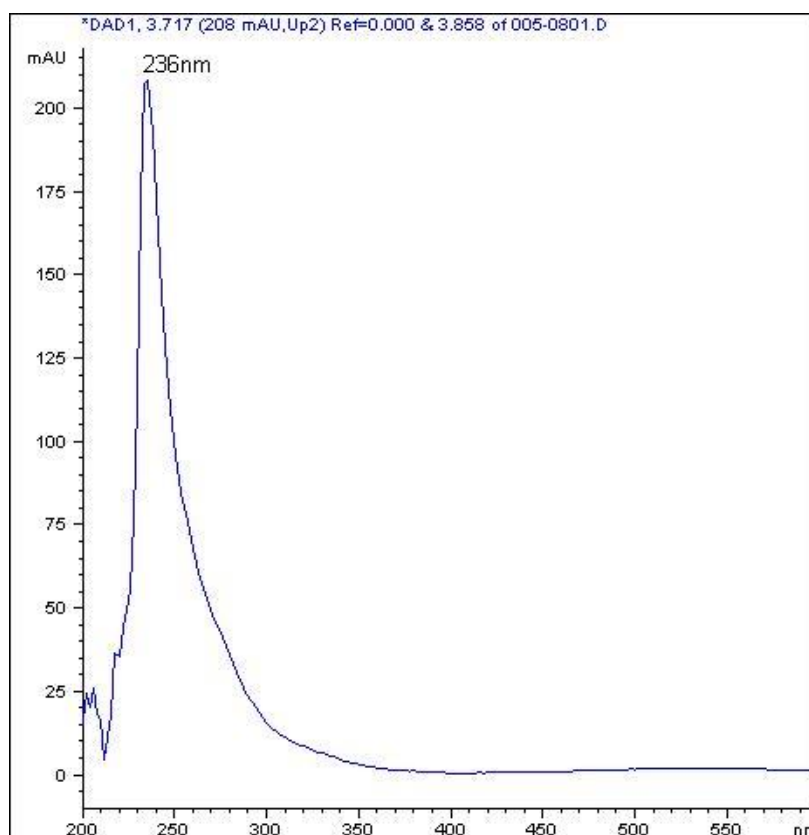


Figure III.13. Le produit du pic 2

III.2.2. Identification du produit 2 (pic 3, $t_r = 3.7$ min)

Le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, montre la présence d'une seule bande à $\lambda_{\max} = 236$ nm. Selon la littérature, cette longueur d'onde correspond à une structure d'un monoterpène de type iridoïde [2].



Spectre III.4. Spectre UV du pic 3 enregistré en MeOH

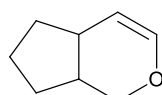
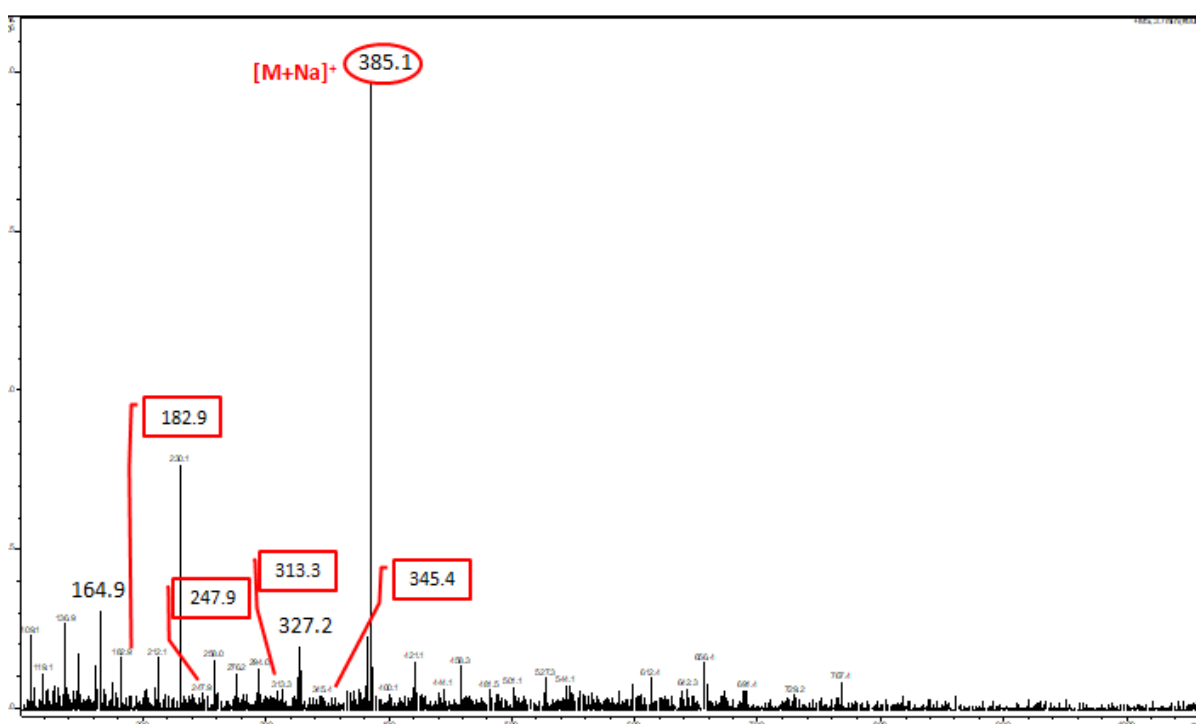


Figure III.14. Squelette de base d'un iridoïde

L'analyse des spectres de masse ESI-MS montre la présence d'un pic moléculaire à m/z 385.1 en mode positif (spectre III.5) attribuable à $[M+Na]^+$, ainsi que deux pics en mode négatif (spectre III.6) à m/z 361.6, 397.5 et 723.2 attribuables à $[M-H]^-$, $[M+Cl]^-$ et $[2M-H]^-$ respectivement. Tous ces pics confirment que la masse molaire de notre composé est de 362 Da.

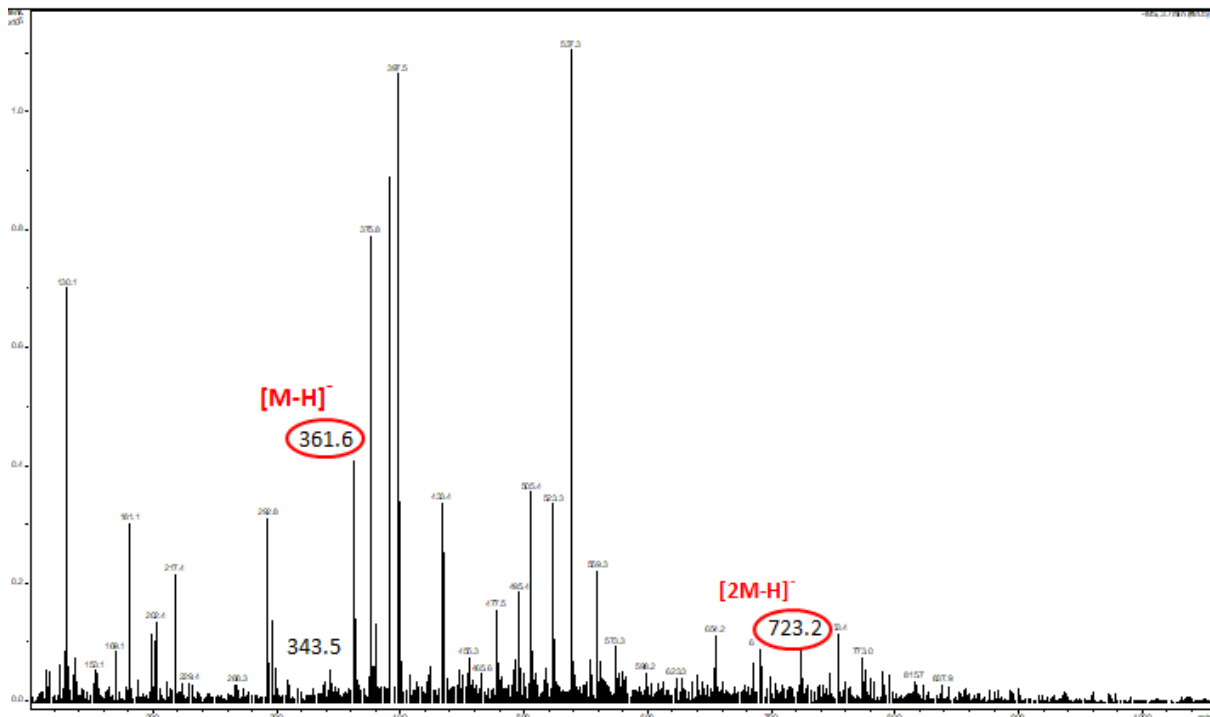
L'analyse des deux spectres ESI-MS (+) et (-) montre la présence de différentes fragmentations qu'on peut les attribuer comme suit : une est observée entre les deux pics à m/z 361.6 et 343.5, avec la perte de 18.1 Da, attribuable à une unité d'eau, ce qui confirme la présence d'un groupement OH. La perte d'une autre unité d'eau (-18.2 Da) est présente entre les pics à m/z 345.4 et 327.2 ainsi que la perte de 13.9 Da ($-CH_2$) entre les pics à m/z 327.2 et

313.3 suggérer la présence d'un CH₂OH, cette observation est confirmée par la fragmentation entre les deux pics à m/z 345.4 et 313.3 avec la perte de 32.1 Da (CH₂OH). En mode (+), une fragmentation entre les pics à m/z 345.4 et 164.9 attribuable à la perte de 180.5 Da (unité de glucose). La présence de cette unité de glucose est confirmée aussi par la présence du pic 182.9 avec la perte de 179 Da à partir du [M+H]⁺ (363 Da). Une autre fragmentation entre les pics m/z 182.9 et 164.9 confirme que la partie aglycone contient un groupement OH. Une fragmentation entre le pic à m/z 327.2 (après la perte de deux groupements OH) et le pic à m/z 247.9 avec la perte de 79.3 Da attribuable au cycle à 5 d'un iridoïde avec la présence d'un CH₃, cette fragmentation confirme la présence d'un groupement CH₃ sur le cycle à 5 atomes ainsi que le groupement CH₂OH est substitué sur l'hétérocycle à 6 atomes d'un squelette iridoïde.



Spectre III.5. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 3

Le spectre ESI-MS (-) avec la présence de différents pics qui confirment les observations du ESI-MS (+).



Spectre III.6. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 3

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante :

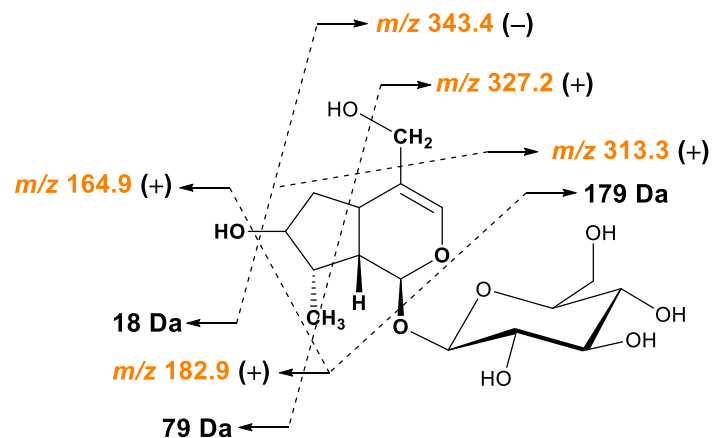


Figure III.15. Les fragmentations du produit 2

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS indiquent que notre composé est un dérivé de l'acide 8-épi-logénique, déjà isolé du genre *Linaria* [5].

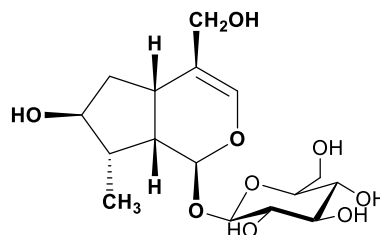
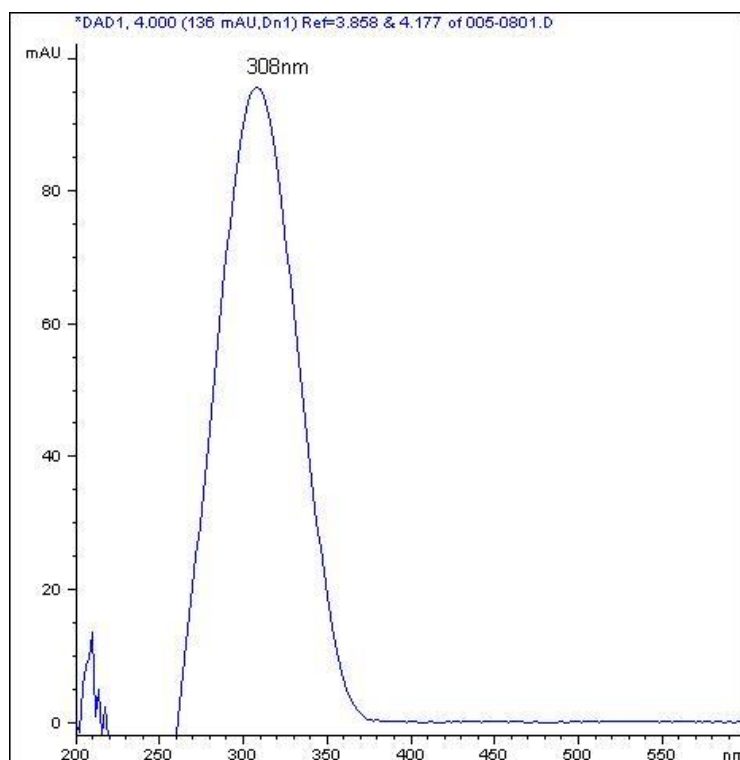


Figure III.16. Le produit du pic 3

III.2.3. identification du produit 3 (pic 4, $t_r = 4$ min)

Basant sur le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, on a observé la présence d'une seule bande à $\lambda_{\max} = 308$ nm.



Spectre III.7. Spectre UV du pic 4 enregistré en MeOH

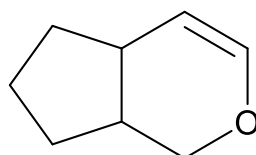
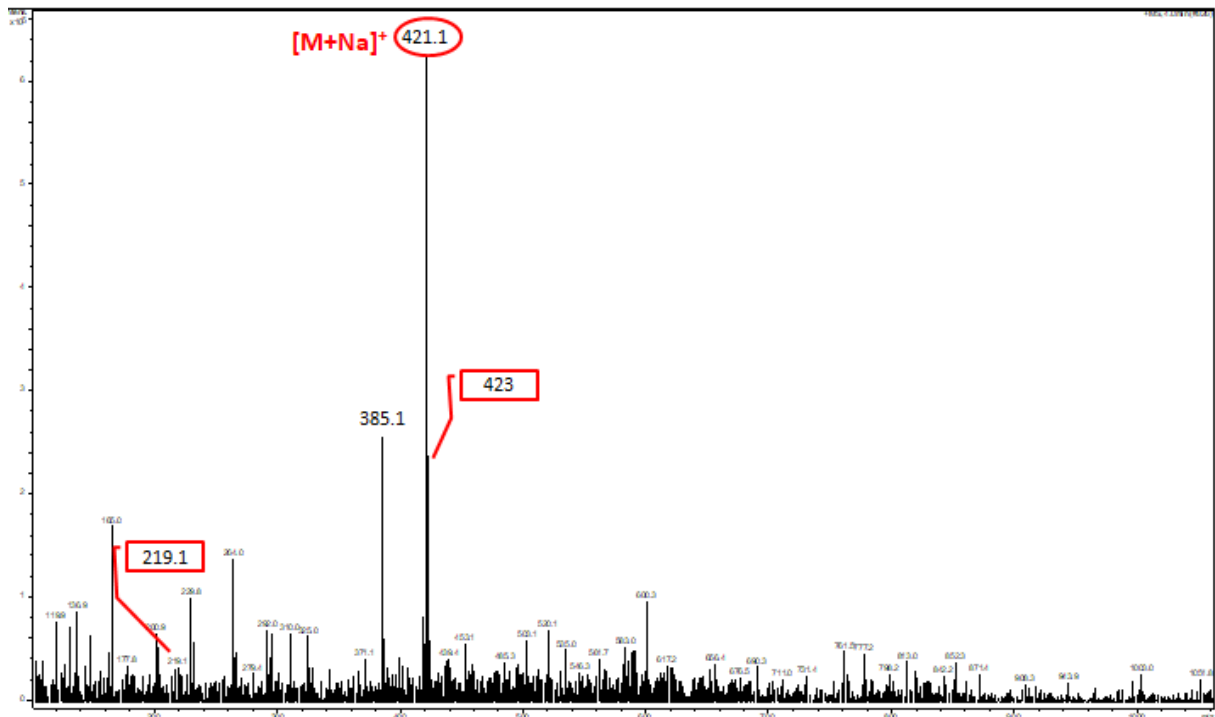


Figure III.17. Squelette de base d'un iridoïde

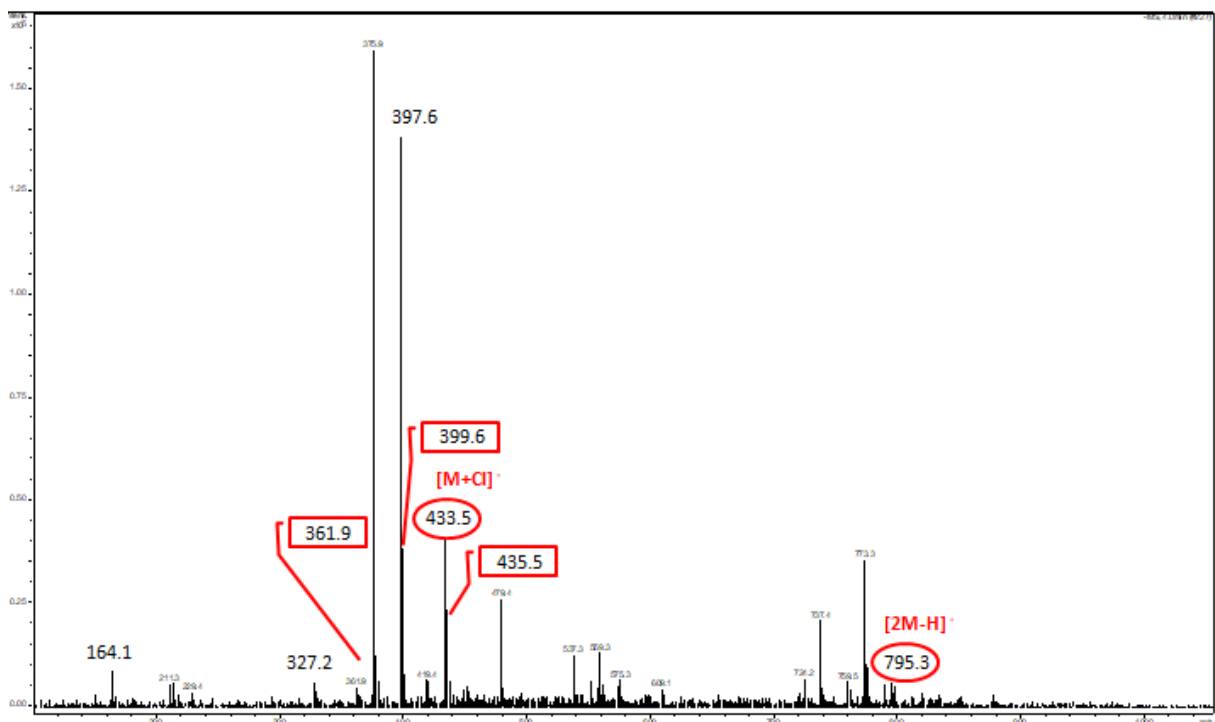
L'analyse du spectre de masse ESI-MS (+) montre la présence de deux pics moléculaires à m/z 421.1 et 423 attribuable à $[M(^{35}\text{Cl})+\text{Na}]^+$ et $[M(^{37}\text{Cl})+\text{Na}]^+$ (spectre III.8). Ces données indiquent que notre composé contient un atome Cl. Cette observation a été confirmée dans le spectre ESI-MS (-) par la présence de quatre pics moléculaires à m/z 397.6, 399.6, 433.5 et 435.5 attribuables aux $[M(^{35}\text{Cl})-\text{H}]^-$, $[M(^{37}\text{Cl})-\text{H}]^-$, $[M(^{35}\text{Cl})+\text{Cl}]^-$ et $[M(^{37}\text{Cl})+\text{Cl}]^-$ respectivement (spectre III.9). Ainsi que la présence de deux pics à m/z 795.3 et 797 attribuables à $[2M(^{35}\text{Cl})-\text{H}]^-$ et $[2M(^{37}\text{Cl})-\text{H}]^-$ respectivement. Tous ces pics confirment que la masse molaire de notre composé est de 398 Da avec la présence d'un chlore (Cl).

L'analyse de spectre ESI-MS (+) montre que le pic à m/z 385.1 correspond à la perte du Cl (-36 Da) ce qui confirme la présence de cette atome dans la structure. Le pic à m/z 219.1 attribuable à la partie aglycone (la perte de l'unité glycoside -179 Da).



Spectre III.8. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 4

Le spectre ESI-MS (-) montre la présence de plusieurs pics correspond au différents fragmentations dont une est observé entre le pic moléculaire à m/z 397.6 ($[M(^{35}\text{Cl})-H]^-$) et le pic à m/z 361.9 avec la perte de 35.7 Da, attribuable au $-\text{Cl}$. Une autre fragmentation a été observée entre le dernier pic 361.9 et le pic à m/z 327.2 attribuable à la perte de deux groupement OH 34.7 Da. Une fragmentation entre les pics m/z 327.2 et 164.1 avec la perte de 163.1 Da confirme la présence d'une unité de glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$).



Spectre III.9. Spectre de masse ESI-MS en mode(-) du pic 4

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante :

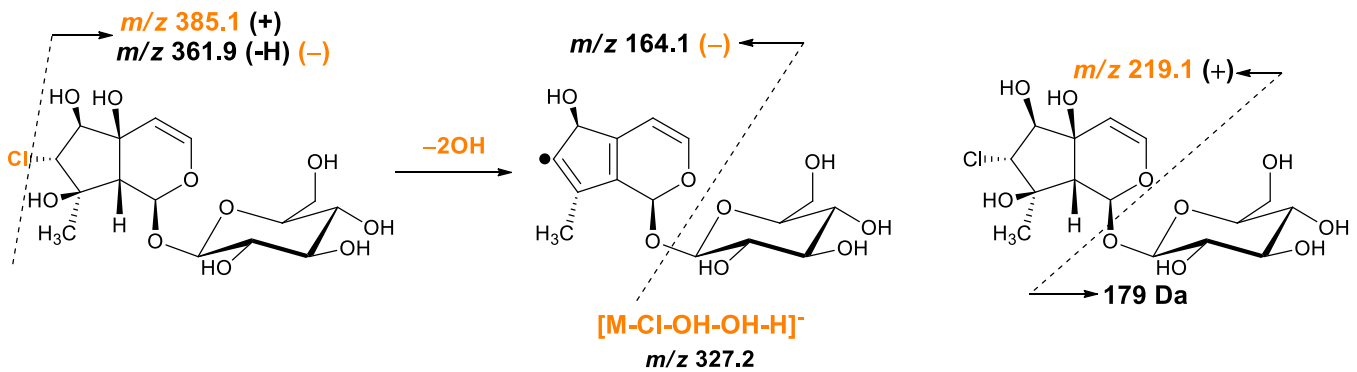


Figure III.18. Les fragmentations du produit 3

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS indiquent que notre composé est nommé linarioside, déjà isolé du genre *Linaria* [6].

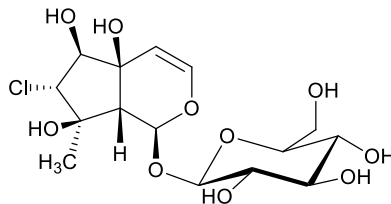
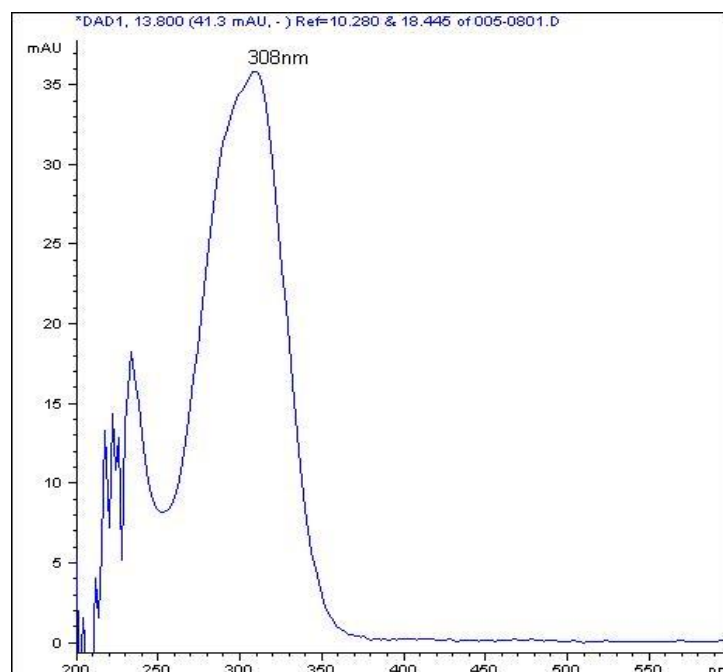


Figure III.19. Le produit du pic 4

III.2.4. identification du produit 4 (pic 9, $t_r=13.8$ min)

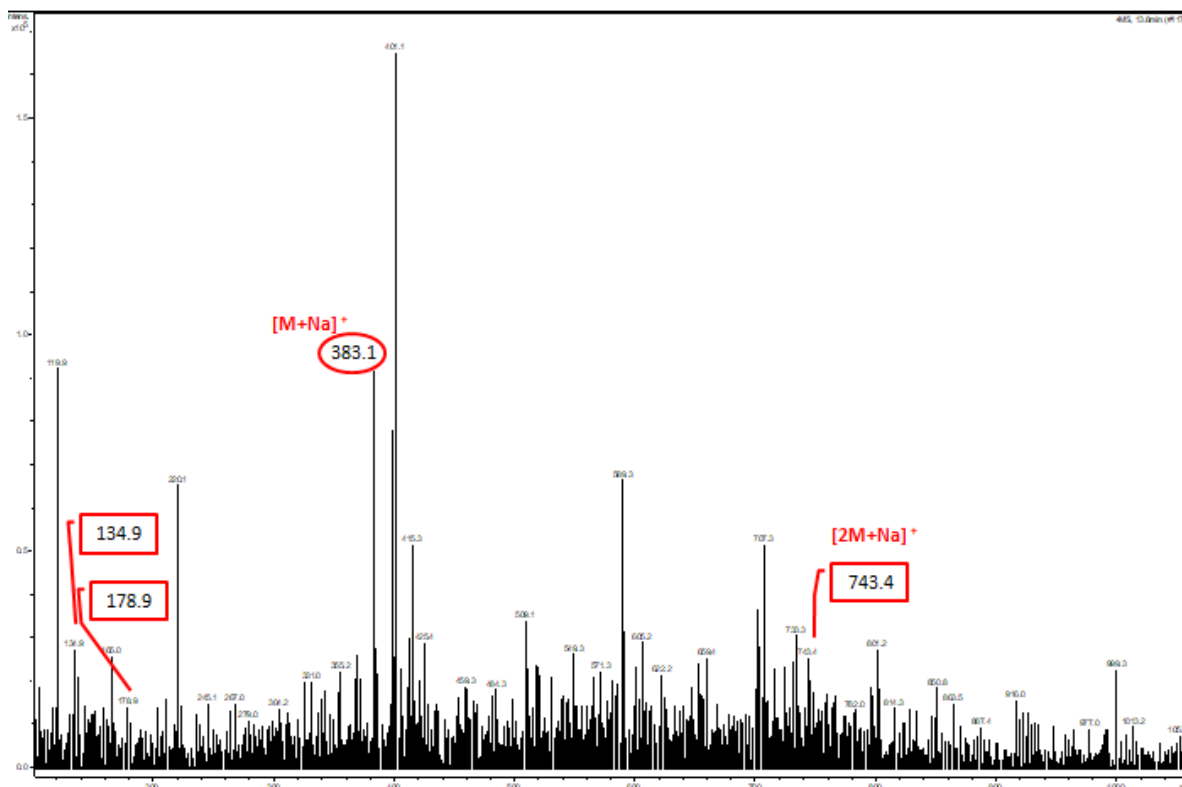
Le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, montre la présence d'une bande à $\lambda_{\text{max}} = 308$ nm. Selon la littérature, cette valeur est connue pour quelques composés phénoliques notamment les acides phénoliques [7].



Spectre III.10. Spectre UV du pic 9 enregistré en MeOH

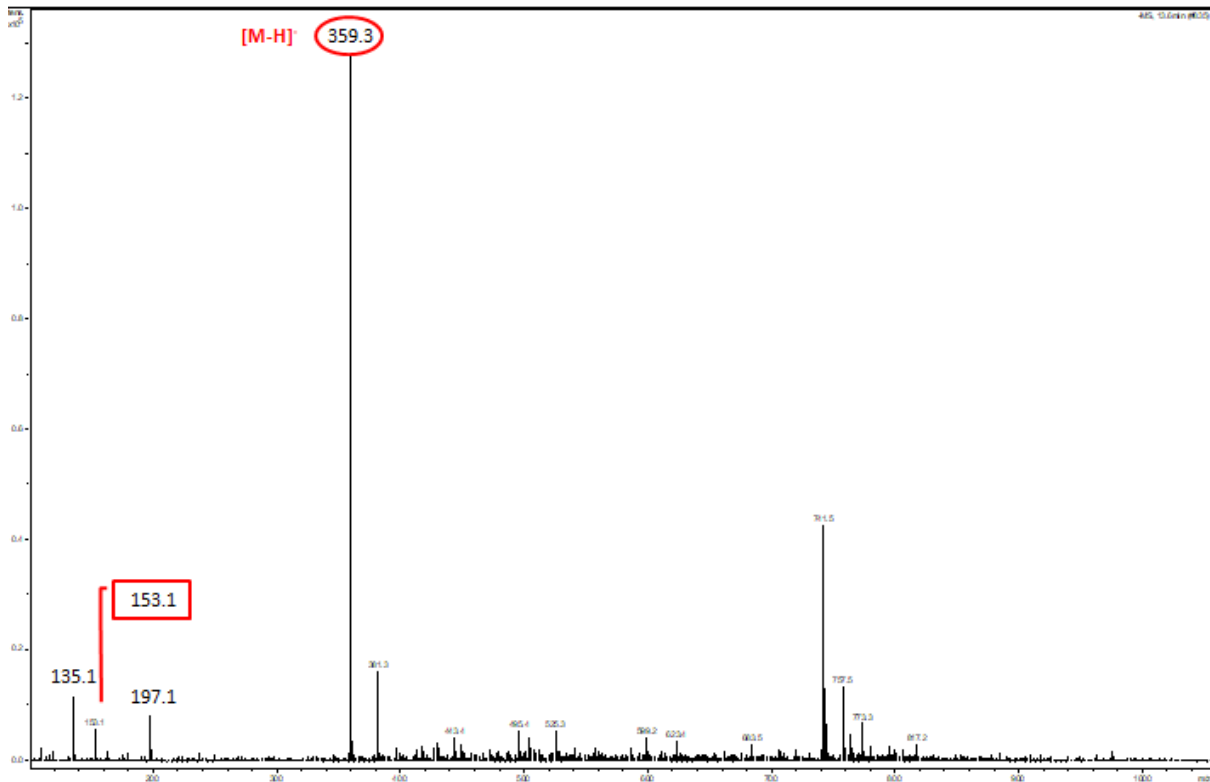
L'analyse de la série spectrale de masse ESI-MS révèle la présence de deux pics moléculaires à m/z 383.1 et 743.4 en mode positif (spectre III.11) attribuables à $[M+Na]^+$ et $[2M+Na]^+$, respectivement, tandis que en mode négatif (spectre III.12), on a observé un pic à m/z 359.3 attribuable à $[M-H]^-$. Basant sur ces attributions, on a trouvé que la masse molaire de notre composé est de 360 Da.

En mode (+), la présence des pics m/z 178.9 et 134.9 confirme la présence du glucose et la fonction acide (la différence entre les deux pics est de 44 Da).



Spectre III.11. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 9

En mode (-), autres pics sont visible dont l'un à m/z 197.1 est attribué à la perte d'une unité de glucose $[M-H-C_6H_{11}O_5]^-$ sans l'oxygène en position 1' (-163 Da). Une fragmentation entre les deux pics à m/z 197.1 et 153.1 avec la perte de 44 Da attribuable à une fonction acide (CO_2H). La dernière attribution est confirmé par la présence du pic m/z 135.1 attribué à $[M-H-C_6H_{11}O_5-CO_2H]^-$.



Spectre III.12. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 9

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante :

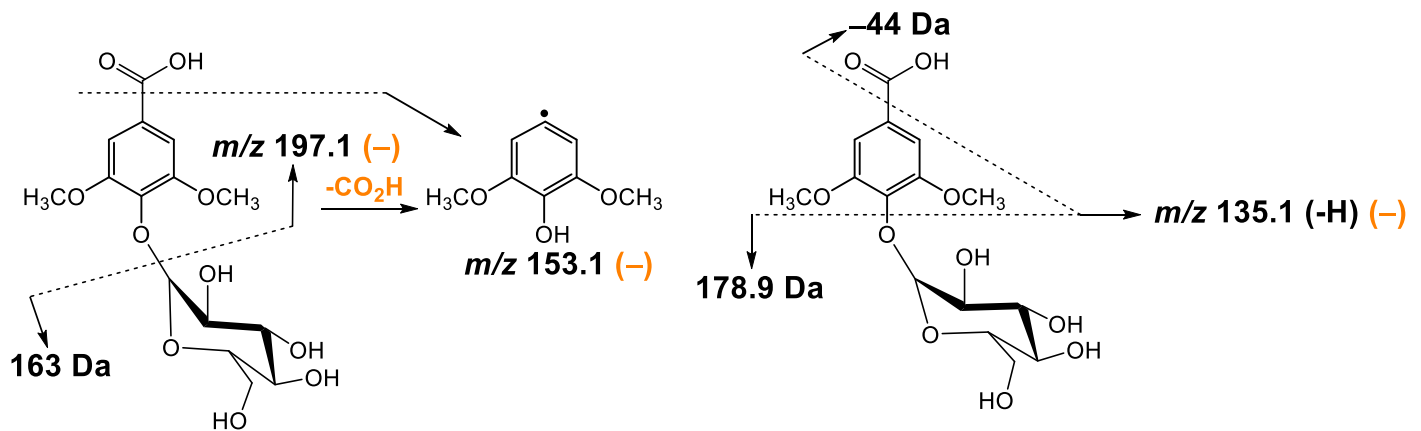


Figure III.20. Les fragmentations du produit 4

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS indiquent que notre composé est nommé l'acide glucosyringique, déjà isolé du genre *Linaria* [8].

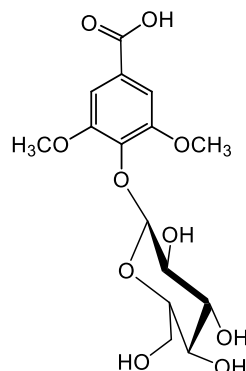
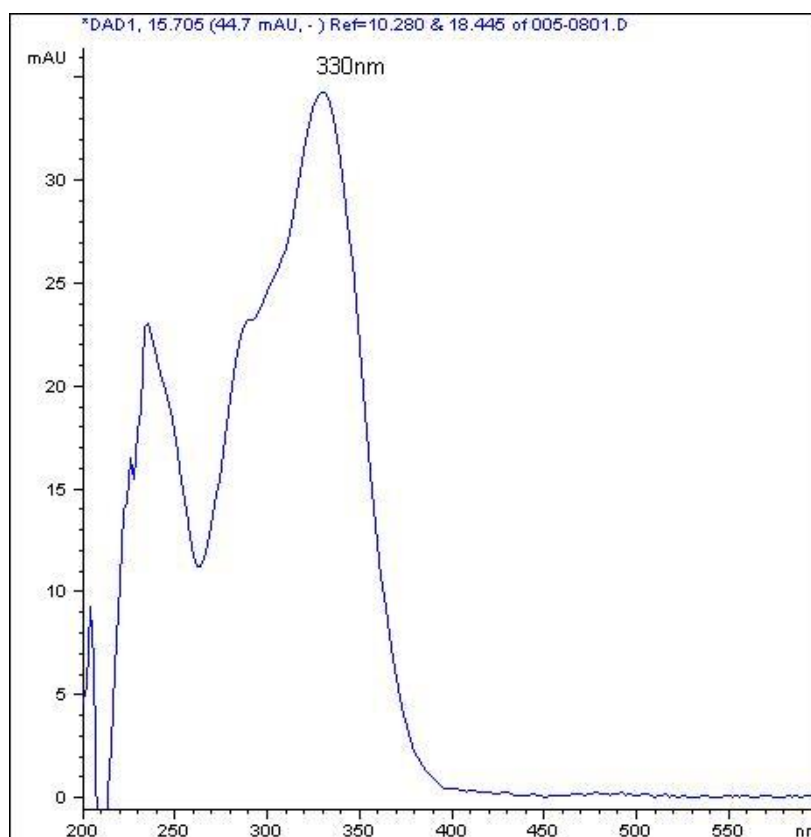


Figure III.21. Le produit du pic 9

III.2.5. identification du produit 5 (pic11, $t_r=15.7$ min)

Basant sur le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, on a observé la présence d'une seule bande à $\lambda_{\max} = 330$ nm. Selon la littérature, cette longueur d'onde correspond à une structure d'un composé phénolique [7].



Spectre III.13. Spectre UV du pic 11 enregistré en MeOH

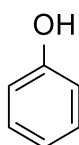
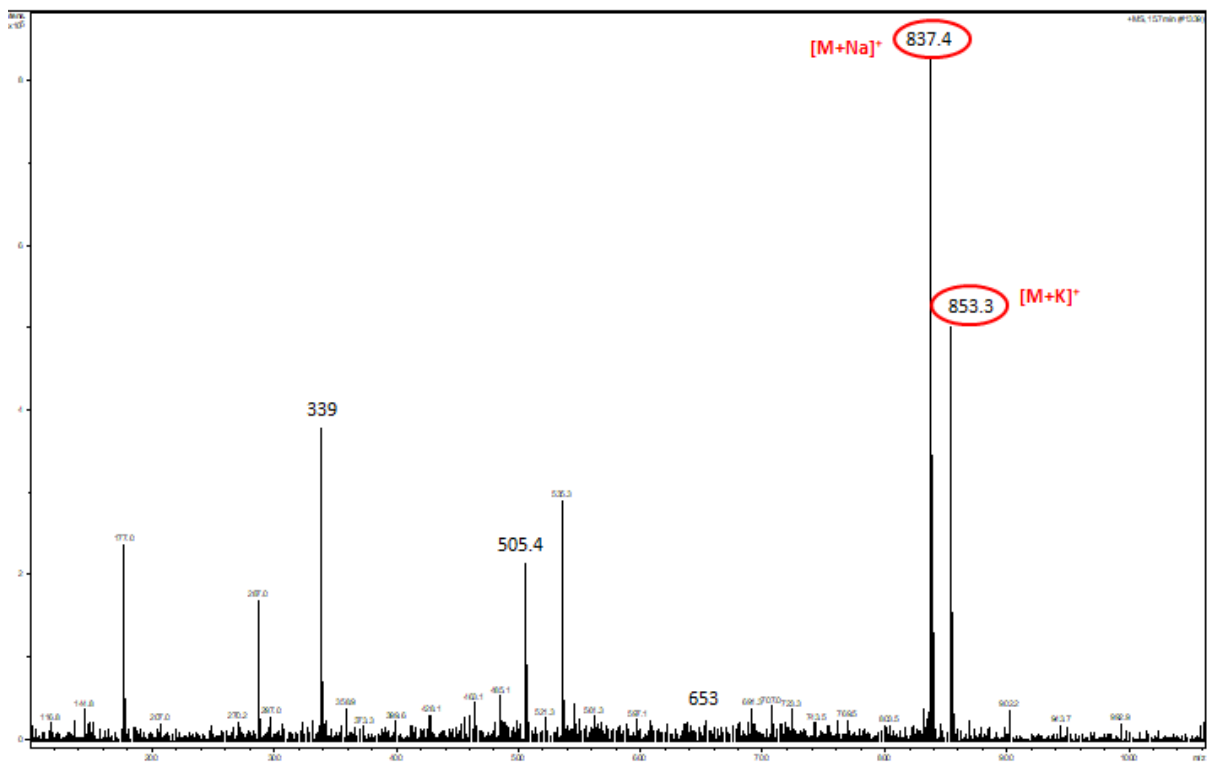


Figure III.22. Squelette de base d'un phénol.

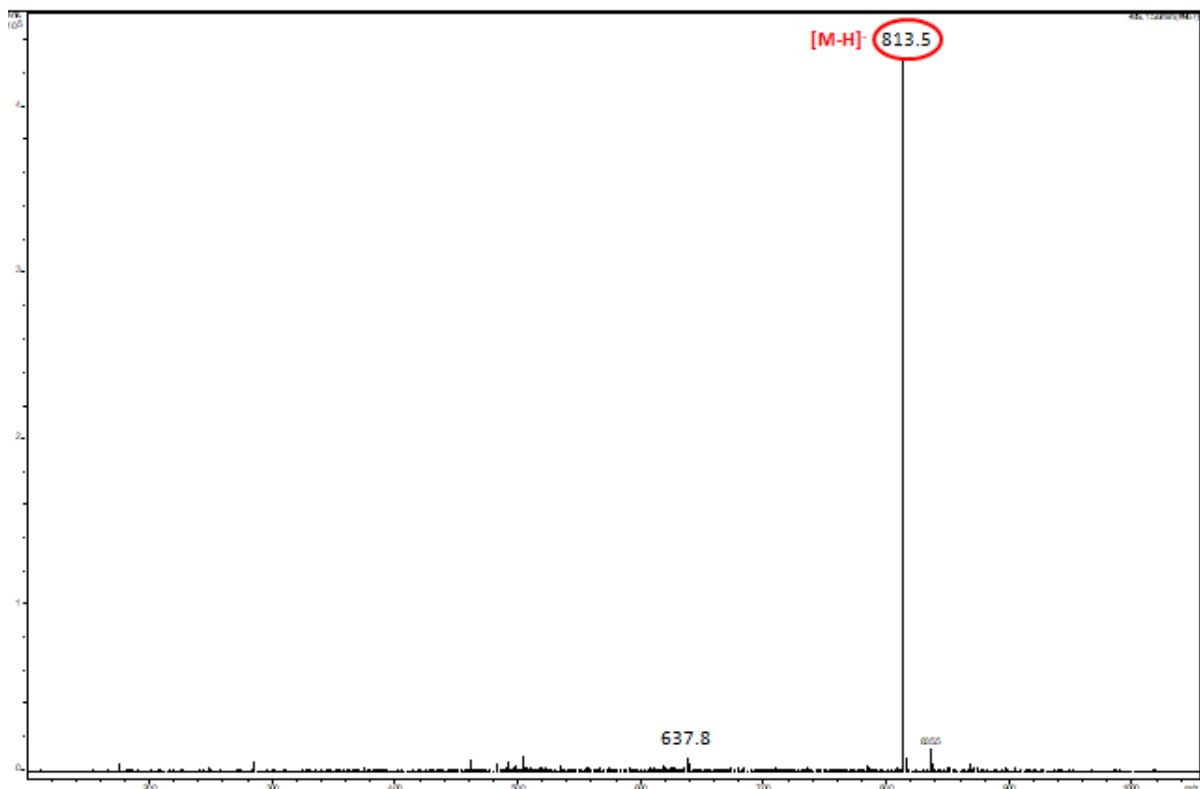
L'analyse des spectres de masse ESI-MS montre la présence de deux pics moléculaires à m/z 837.4 et 853.3 en mode positif (spectre III.14) attribuables aux $[M+Na]^+$ et $[M+K]^+$ respectivement, ainsi qu'un pic en mode négatif (spectre III.15) à m/z 813.5 attribuable à $[M-H]^-$. Tous ces pics confirment que la masse molaire de notre composé est de 814 Da.

Le spectre ESI-MS (+) montre la présence des pics tel que m/z 505.4 attribuable à l'unité de $C_{24}H_{24}O_{12}$. Le pic m/z 339 attribuable à l'unité de $C_{16}H_{17}O_8$, et le pic m/z 651 attribuable aux deux unités tel que $C_{27}H_{39}O_{18}$ et $C_{30}H_{35}O_{16}$.

Pour le spectre ESI-MS (-) montre un seul pic de m/z 637.8 attribuable à l'unité $C_{27}H_{39}O_{17}$ (+2H).



Spectre III.14. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 11



Spectre III.15. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 11

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante :

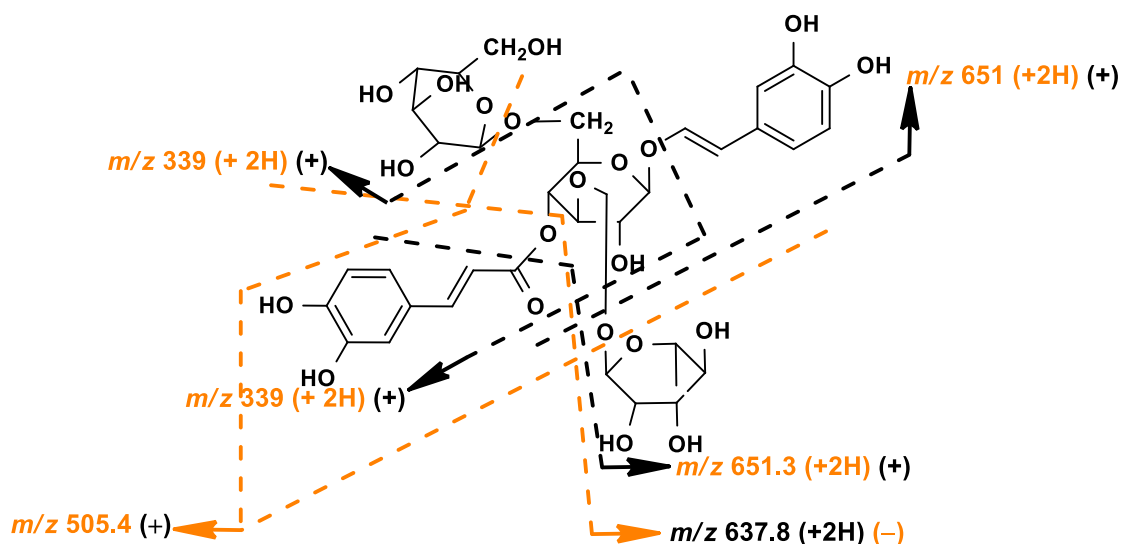


Figure III.23. Les fragmentations du produit 5

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS indiquent que notre composé est un dérivé de glucopyranosyl (1→6) martynoside, déjà isolé du genre *Linaria* [9].

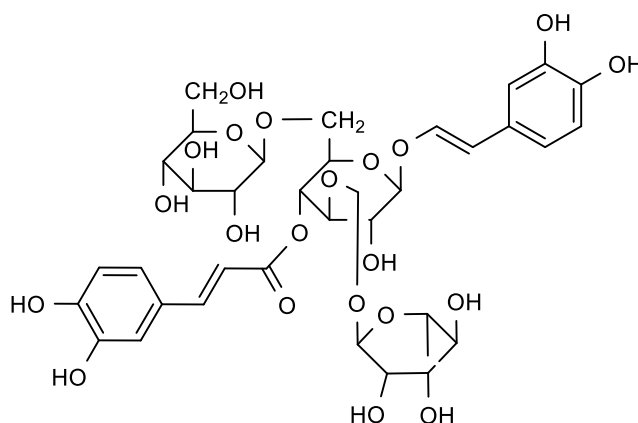


Figure III.24. Le produit du pic 11

III.2.6. identification du produit 6 (pic 13, $t_r = 17.3$ min)

Basant sur le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, on a observé la présence de deux bande dont la première (bande I) est à $\lambda_{\max} = 336$ nm et la seconde à $\lambda_{\max} = 268$ nm. Selon la littérature, ces longueurs d'onde correspondent à une structure d'une flavone (flavonoïde avec H en position 3) [7].

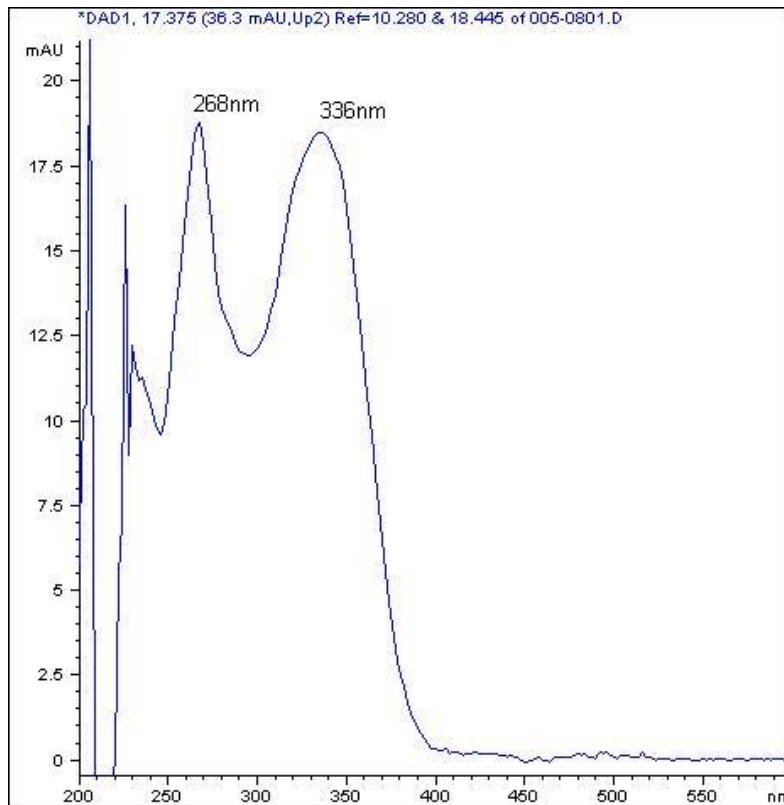


Figure III.16. Spectre UV du pic 13 enregistré en MeOH

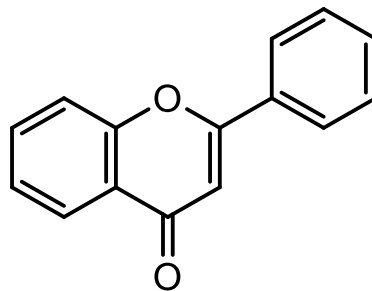
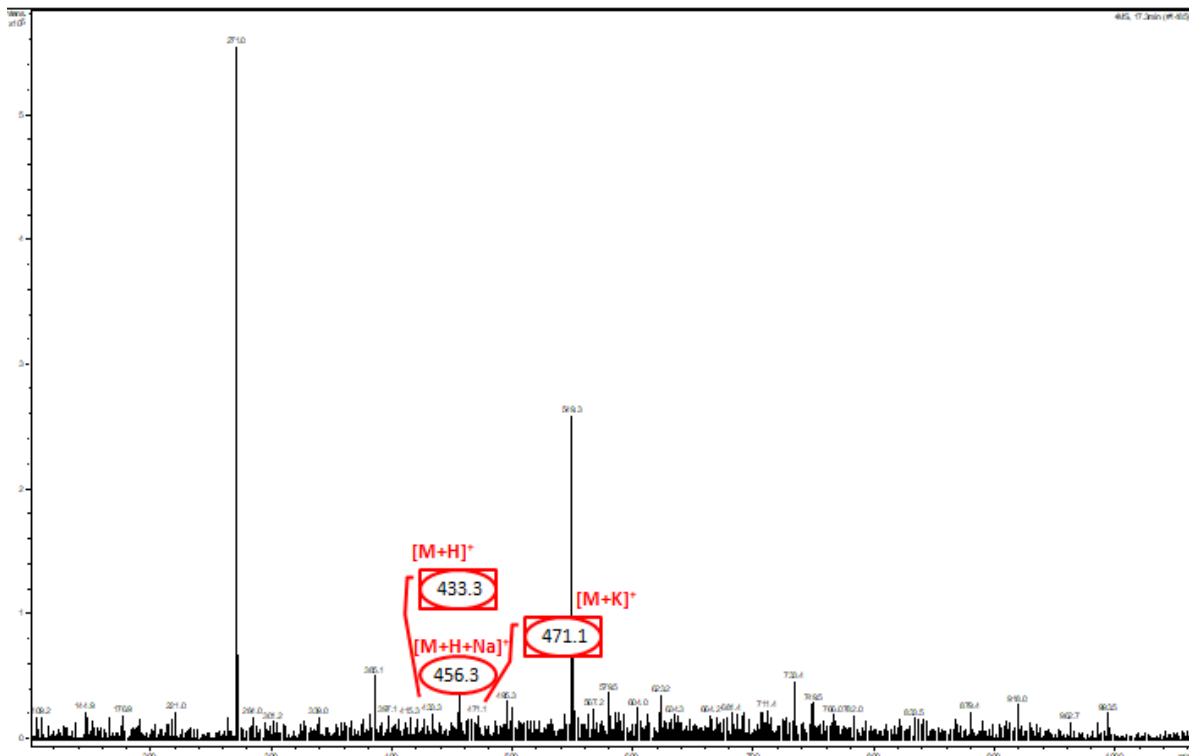


Figure III.25. Squelette de base d'une flavone

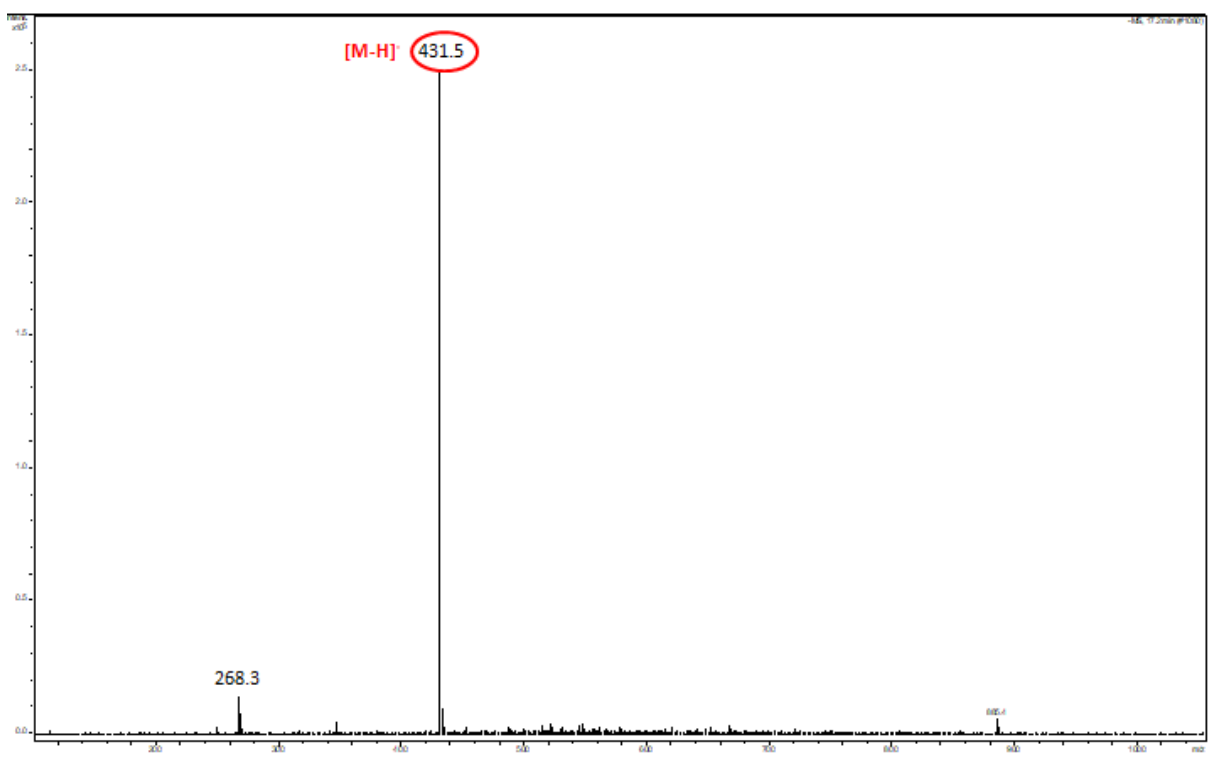
L'analyse des spectres de masse ESI-MS en mode (+) montre la présence de trois pics moléculaires à m/z 433.3, 456.3 et 471.1 (spectre III.17) attribuables aux $[M+H]^+$, $[M+H+Na]^+$ et $[M+K]^+$, respectivement, alors que le spectre enregistré en mode (-) montre la présence d'un pic à m/z 431.5 attribuable à $[M-H]^-$ (spectre III.18). Ces données suggèrent que la masse molaire de notre composé est de 432 Da.

L'étude des spectres ESI-MS (-) et ESI-MS (+) indique la présence des fragments relatif à la structure d'une flavone glycosylé. La majorité des pics sont interpréter comme des possibilités de fragmentation pour déterminer la structure de notre composé.



Spectre III.17. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 13

Le spectre ESI-MS (-) montre une fragmentation majoritaire entre le pic moléculaire à m/z 431.5 et le pic à m/z 268.3 attribuable à la perte de 163.2 Da, celons la littérature que l'on peut l'expliquer par une unité de glucose sans l'oxygène en position 1 $[M-H-C_6H_{11}O_5]^-$.



Spectre III.18. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 13

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante :

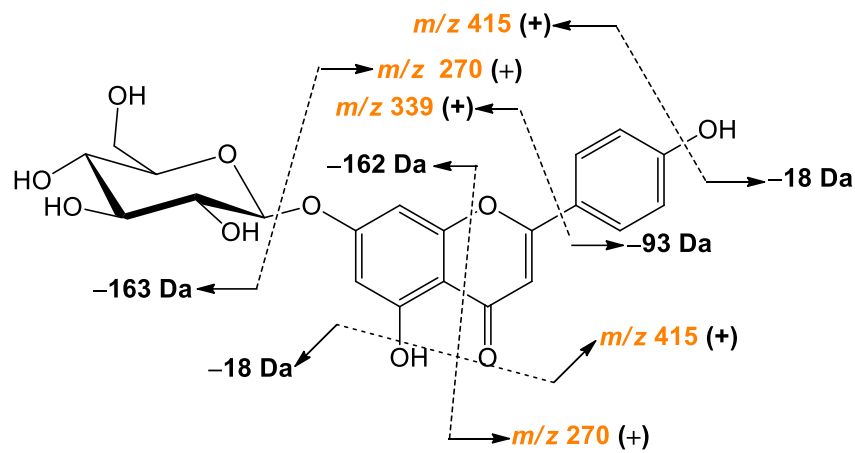


Figure III.26. Les fragmentations du produit 6

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS indiquent que notre composé est nommé l'apigénine-7-*O*- β -D-glucoside, déjà isolé du genre *Linaria* [10].

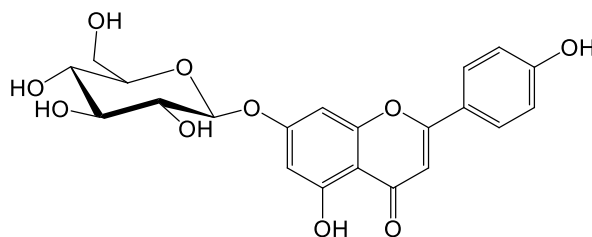
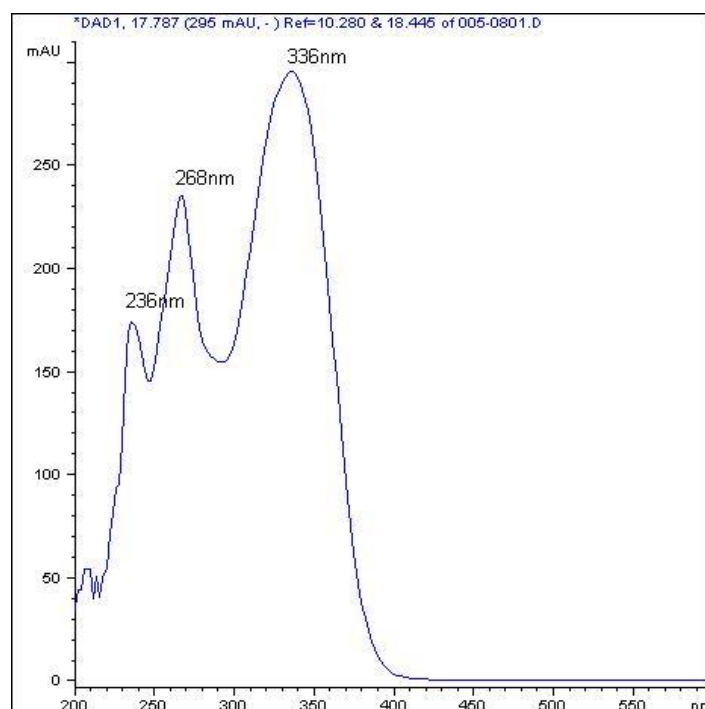


Figure III.27. Le produit du pic 13

III.2.7. identification du produit 7 (pic14, $t_r = 17.7$ min)

Basant sur le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, on a observé la présence de trois bandes à $\lambda_{max} = 236$ nm, 268 et 336 nm. Selon la littérature, ces longueurs d'onde correspondent à une structure d'une flavone [7].



Spectre III.19. Spectre UV du pic 14 enregistré en MeOH

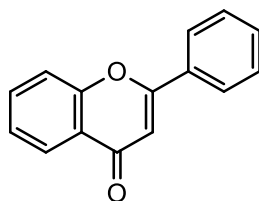
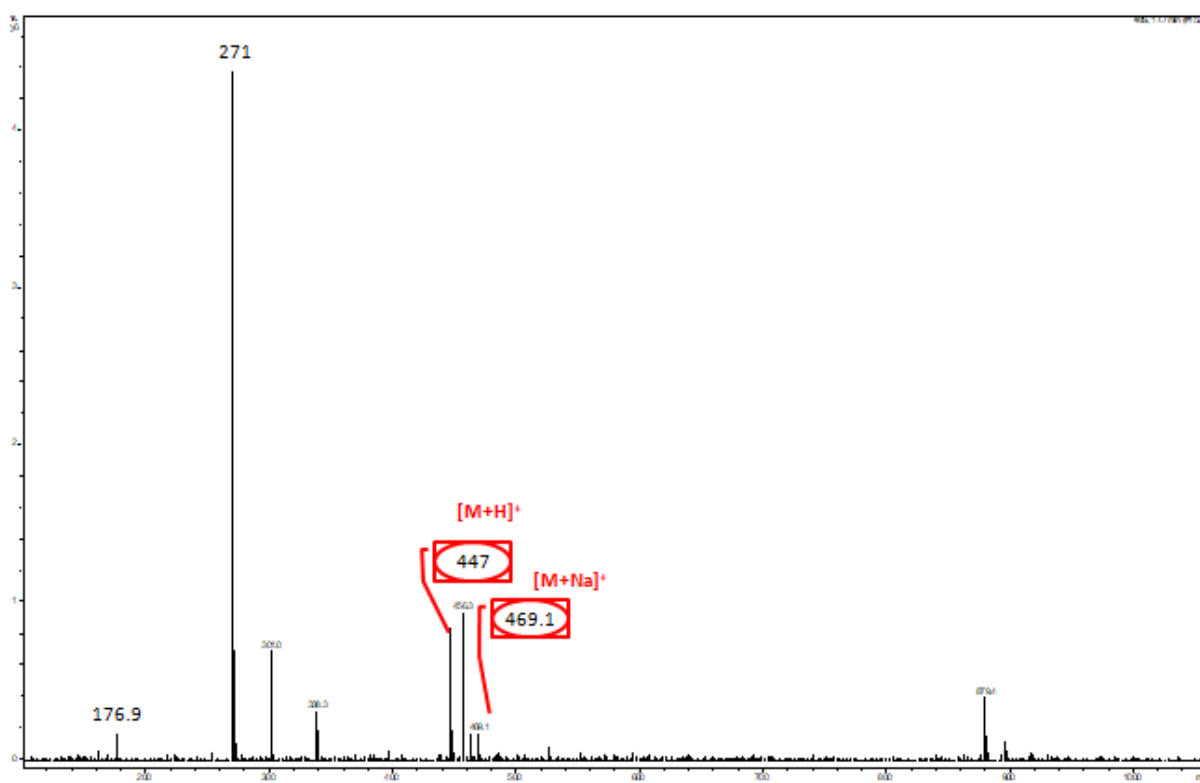


Figure III.28. Squelette de base d'un flavone

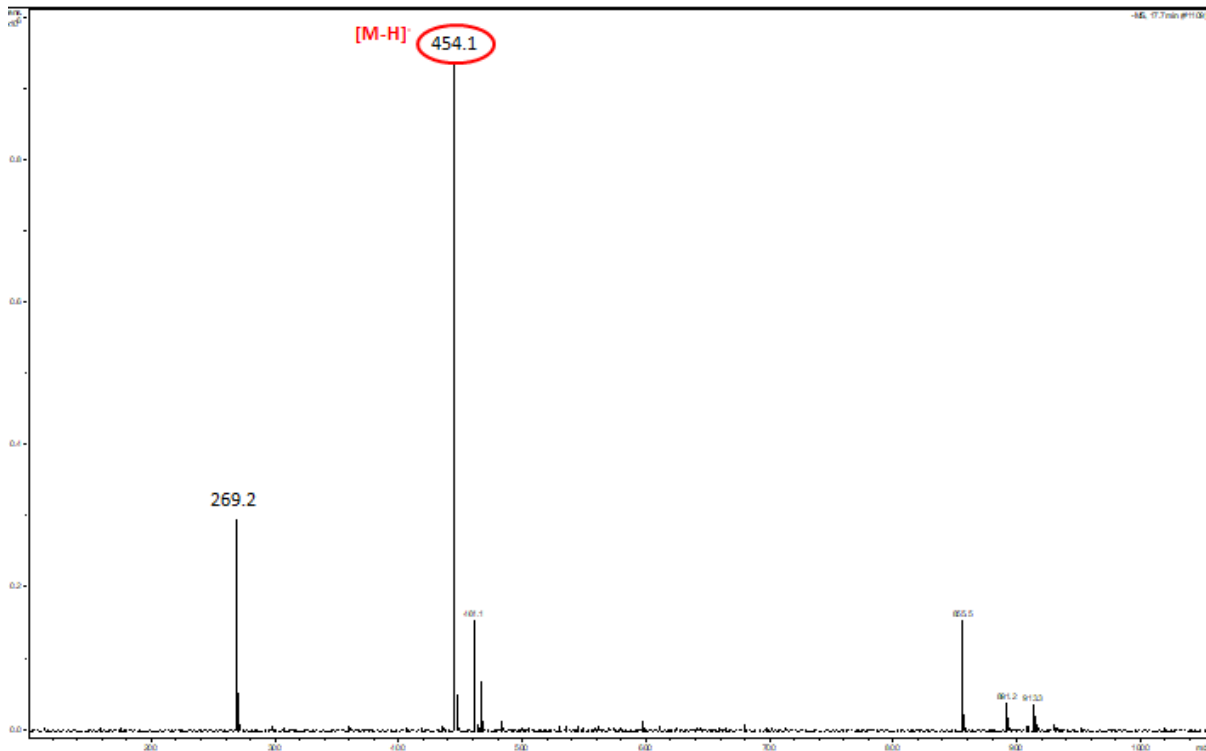
L'analyse du spectre de masse ESI-MS (+) montre la présence de deux pics moléculaires à m/z 447 et 469.1 (spectre III.20) attribuables aux $[M+H]^+$ et $[M+Na]^+$, respectivement. L'observation d'un pic moléculaire en mode (-) à m/z 445.1 (spectre III.21) attribuable à $[M-H]^-$, ainsi qu'un pic à m/z 891.2 attribuable à $[2M-H]^-$. Ces valeurs indiquent que la masse molaire de notre composé est de 446 Da.

D'autres pics sont observés dans le spectre ESI-MS (+) tel que l'un à m/z 271 correspond à la perte de 175 Da, celons la littérature qu'on peut l'attribué à une unité de glucose après réarrangement. Cette partie est attribuable aussi à la perte du cycle aromatique A glycosylé $[C_6H_3O_2-C_6H_{11}O_5+H]^+$. Le même pic est fragmenté pour donner le pic à m/z 176.9 avec la perte de 94.1 Da, attribuable à la perte du glucose $[M-C_6H_{11}O]^+$.



Spectre III.20. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 14

Le spectre ESI-MS (-) montre la présence d'un pic à m/z 269.2 attribuable à la perte du cycle B et C $[M-C_3H_1O_2-C_6H_4-OCH_3]^-$ dont il nous reste que le cycle A lié au glucose $[C_{12}H_{14}O_7-H]^-$. Une fragmentation entre le pic moléculaire et le pic m/z 269.2 avec la perte de 185.2 qui est attribuable à l'unité de $C_{11}H_5O_3$.



Spectre III.21. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 14

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante :

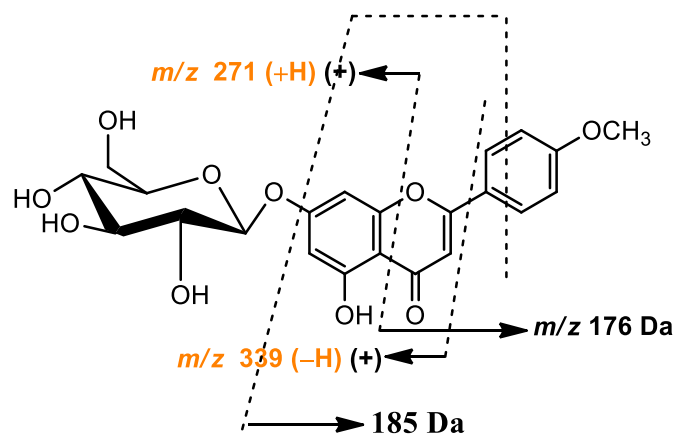


Figure III.29. Les fragmentations du produit 7

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS indiquent que notre composé est nommé l'acacétine 7-*O*- β -D-glucopyranoside, déjà isolé du genre *Linaria* [11].

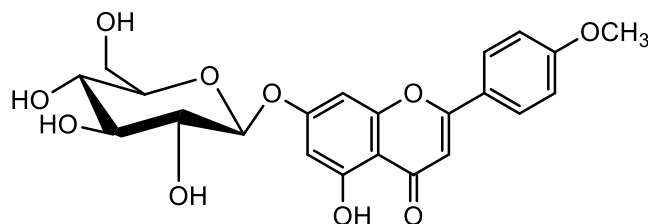
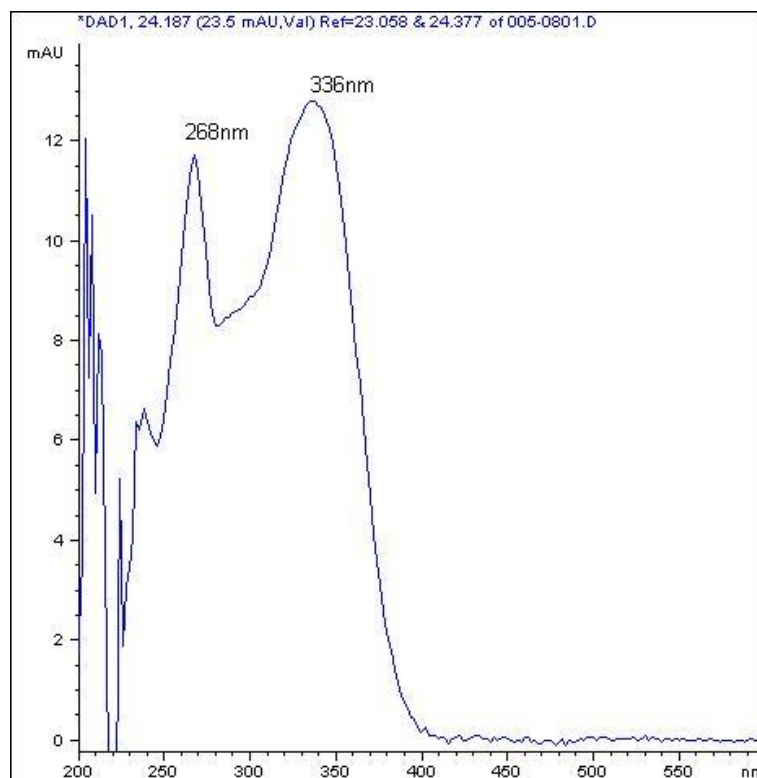


Figure III.30. Le produit du pic 14

III.2.8. identification du produit 8 (pic 20, $t_r = 24.1$ min)

Basant sur le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, on a observé la présence de deux bandes à $\lambda_{\max} = 268$ nm et 336 nm. Selon la littérature, ces longueurs d'onde correspondent à une structure d'une flavone [7].



Spectre III.22. Spectre UV du pic 20 enregistré en MeOH

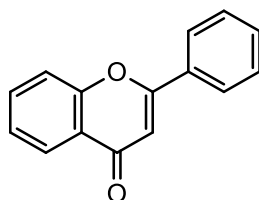
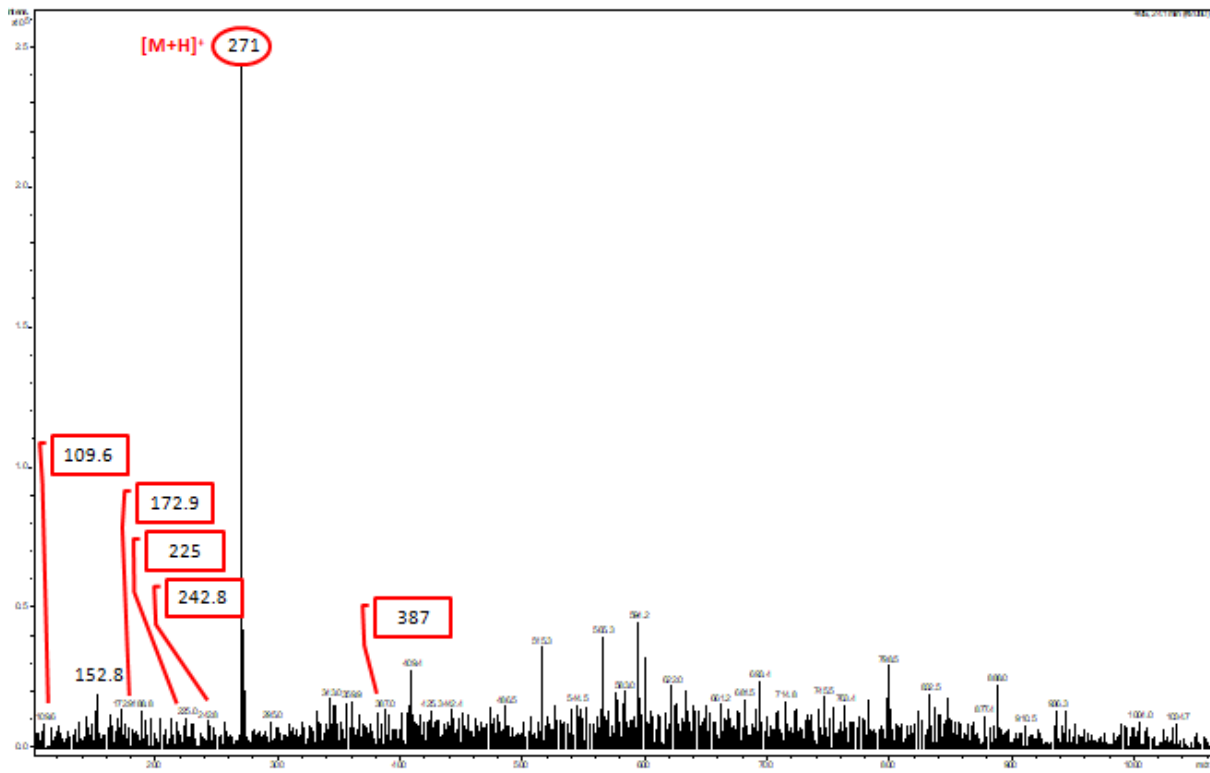


Figure III.31. Squelette de base d'un flavone

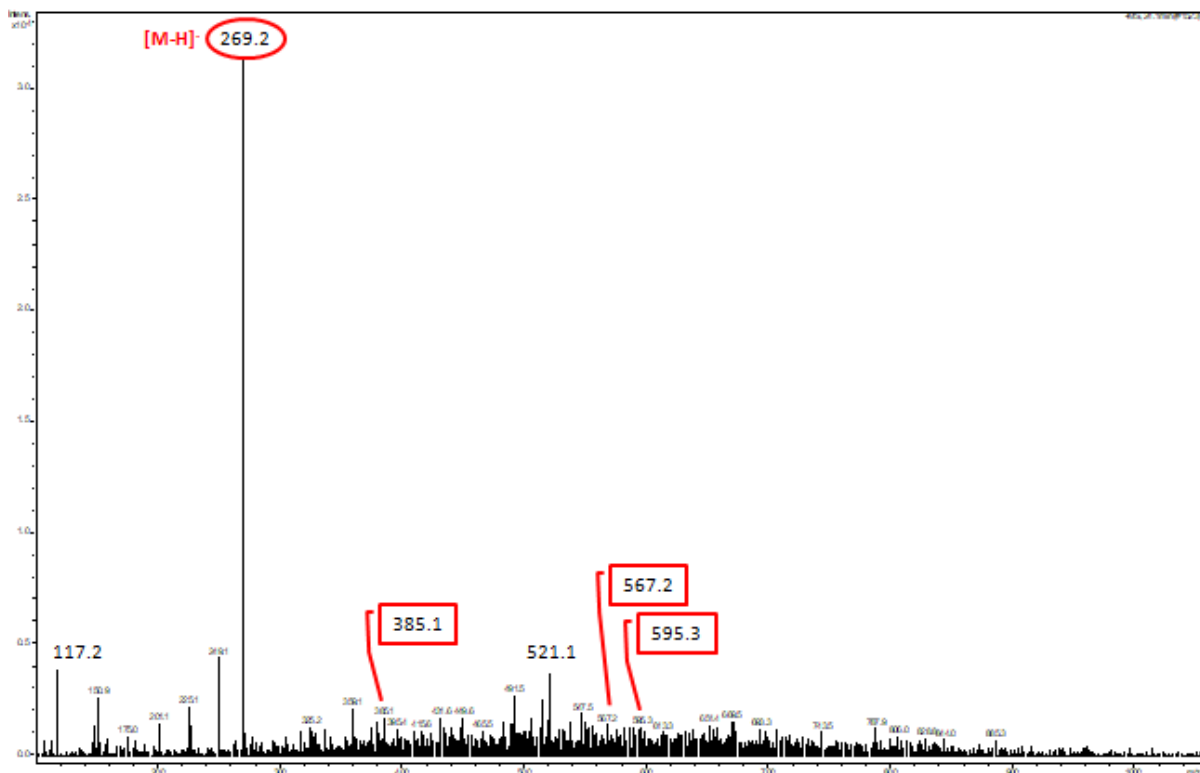
L'analyse des spectres de masse ESI-MS montre la présence d'un pic moléculaire à m/z 271 en mode positif (spectre III.23) attribuable à $[M+H]^+$, ainsi qu'un pic en mode négatif (spectre III.27) à m/z 269.2 attribuable à $[M-H]^-$. Tous ces pics confirment que la masse molaire de notre composé est de 270 Da.

L'analyse de spectre ESI-MS (+) montre plusieurs pics tel que le pic à m/z 152.8 correspond à l'unité de $[C_7H_4O_4+H]^+$. La présence du pic m/z 172.9 attribuable à l'unité de $[C_8H_6O_2+K]^+$, et la présence du pic m/z 109.6 attribuable à l'unité de $[C_6H_4O_2+H]^+$. Montre aussi la perte de 162 Da entre les pics m/z 387 et 225 qui est correspondante à l'unité de $C_9H_6O_3$. La perte de 28.2 Da entre le pic moléculaire et le pic m/z 242.8 qui est attribuable à l'unité de $C=O$.



Spectre III.23. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 20

Le spectre ESI-MS (-) montre la présence d'un pic à m/z 117.2 attribuable à l'unité de $[C_8H_6O-H]^-$. Montre aussi la perte de 136.2 entre les pics m/z 521.1 et 385.1 qui est attribuable à l'unité $C_7H_4O_3$, et la perte de 28.1 entre les pics m/z 595.3 et 567.2 qui est correspondante à l'unité $C=O$.



Spectre III.24. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 20

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante

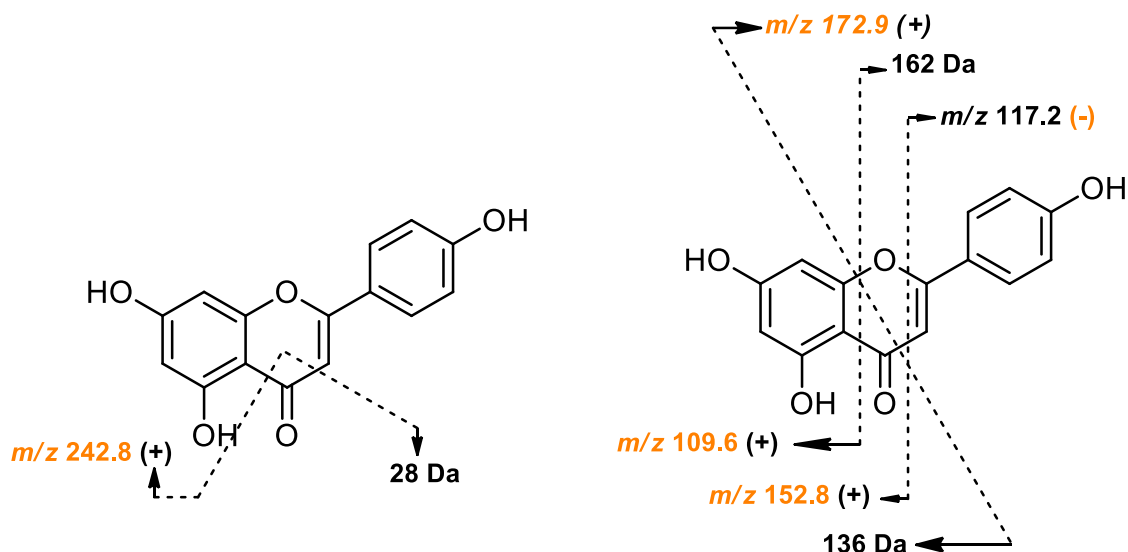


Figure III.32. Les fragmentations du produit 8

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS indiquent que notre composé est nommé l'apigénine, déjà isolé du genre *Linaria* [12].

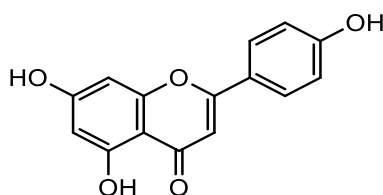
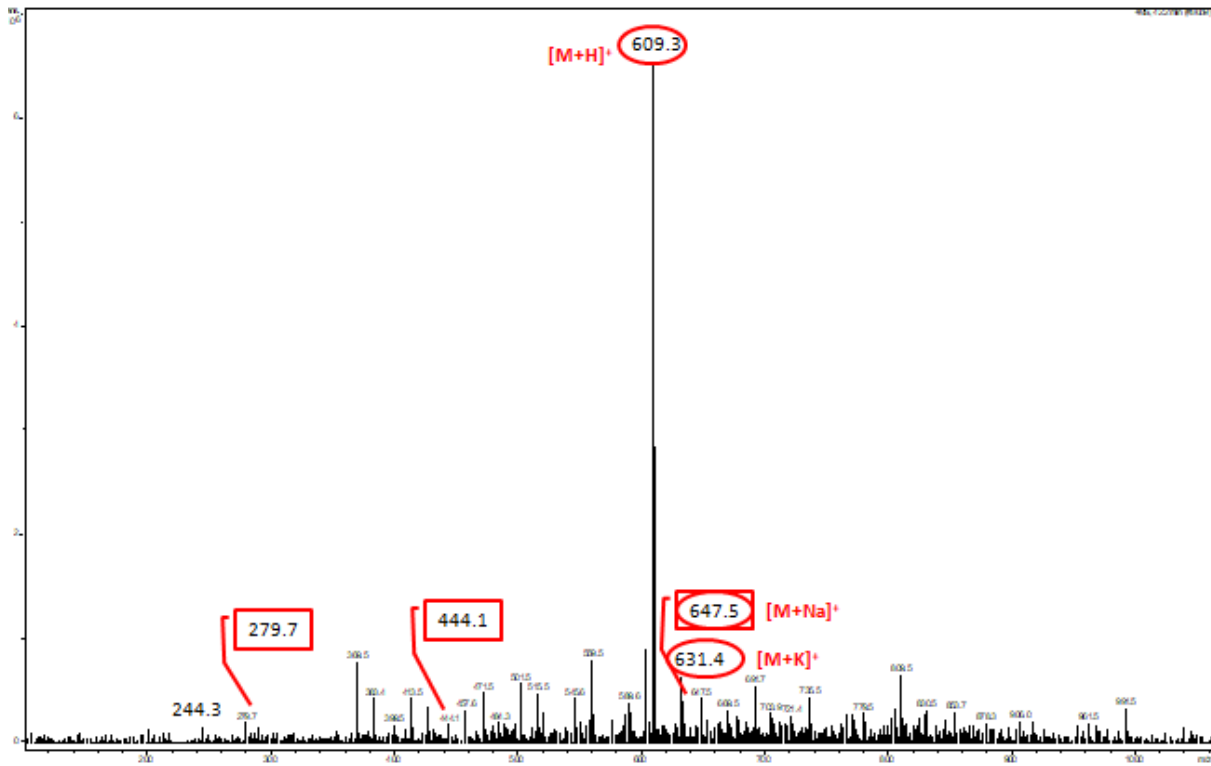


Figure III.33. Le produit du pic 20

III.2.9. identification du produit 9 (pic 26, $t_r = 42.2$ min)

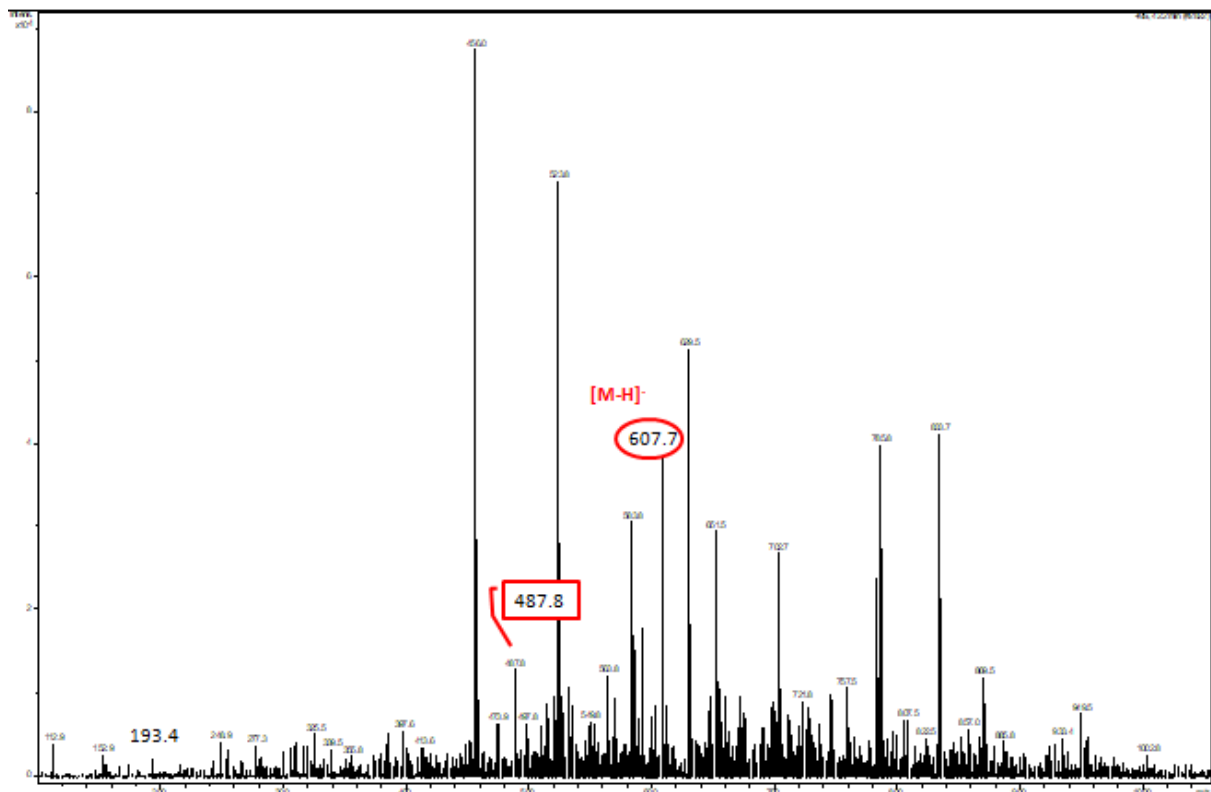
Les spectres de masse ESI-MS enregistré en mode (+) et (-) montrent la présence de différents pics dont trois sont observés en mode (+) à m/z 609.3, 631.4 et 647.5 (spectre III.25) attribués aux $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$ et $[M+K]^+$, respectivement, ainsi que un pic en mode négatif (spectre III.26) à m/z 607.7 attribuable à $[M-H]^-$. Ces données suggèrent que la masse molaire de notre composé est de 608 Da.

L'observation du spectre ESI-MS (+) montre la présence de plusieurs pics tel que le pic m/z 279.7 attribuable à l'unité $C_{16}H_{11}O_5$ (+2H). Le pic m/z 444.1 qui est attribuable à deux unités $C_{19}H_{24}O_{15}$ et $C_{22}H_{21}O_{10}$. Le pic m/z 244.3 attribuable à l'unité de $C_{13}H_9O_5$



Spectre III.25. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 26

L'observation d'une fragmentation en mode (-) montre la présence de plusieurs pics tels que le pic m/z 193.4 attribuable à l'unité de $C_{10}H_8O_4$. Le pic m/z 299 attribuable à l'unité de $C_{16}H_{11}O_6$. Le pic m/z 487.7 attribuable à l'unité de $C_{23}H_{22}O_{12}$. Le pic m/z 462 attribuable à l'unité de $C_{22}H_{21}O_{11}$.



Spectre III.26. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 26

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante :

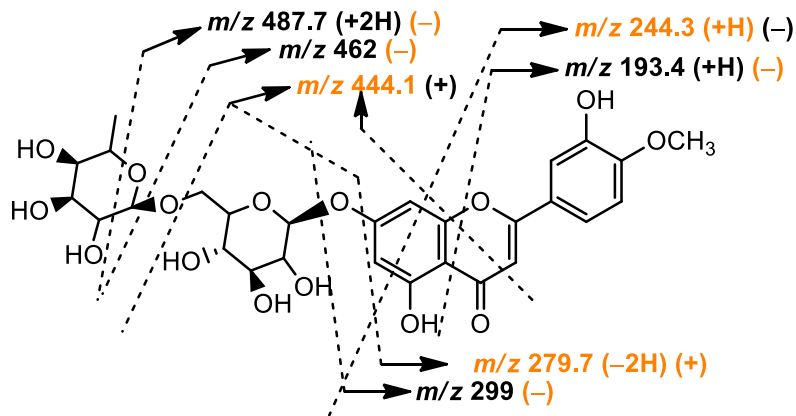


Figure III.34. Les fragmentations du produit 9

Les données obtenues des spectres ESI-MS indiquent que notre composé est nommé diosmèteine4'-méthoxy-7-O- β -D-rutinoside (diosmine), déjà isolé du genre *Linaria* [10].

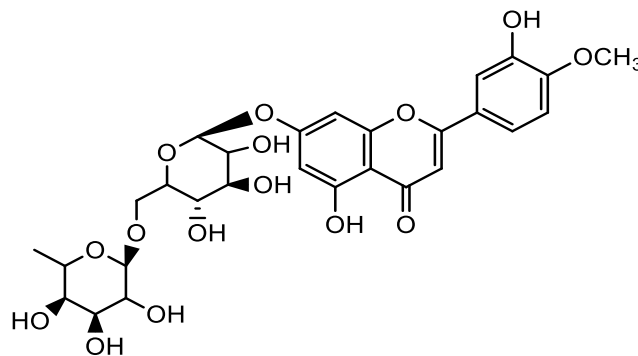
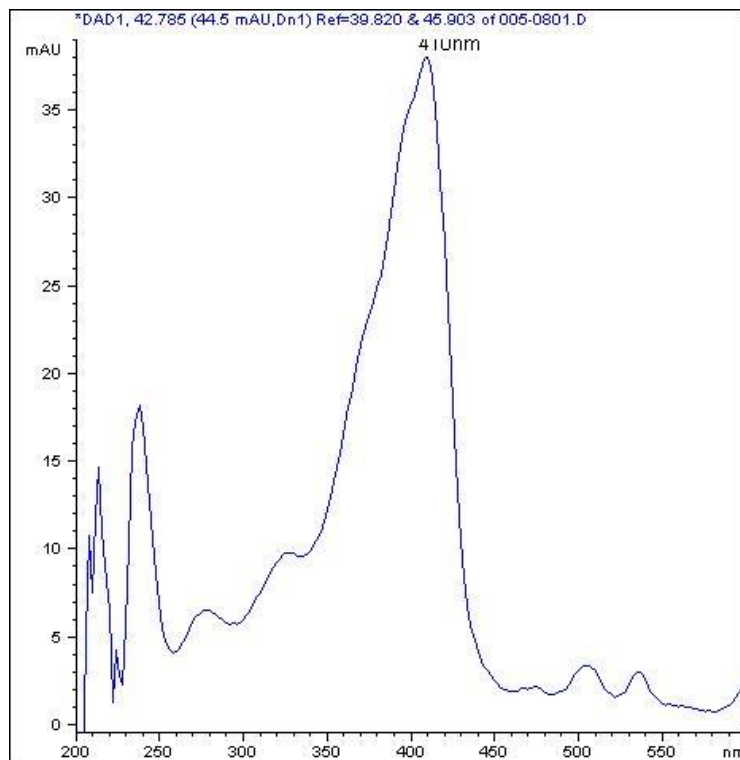


Figure III.35. Le produit du pic 26

III.2.10. identification du produit 10 (pic 27, $t_r=42.7$ min)

Basant sur le spectre UV (figure III.10) enregistré dans le MeOH, on a observé la présence d'une seule bande à $\lambda_{\max} = 410$ nm. Selon la littérature, cette longueur d'onde correspond à une structure d'une flavone [7].



Spectre III.27. Spectre UV du pic 27 enregistré en MeOH

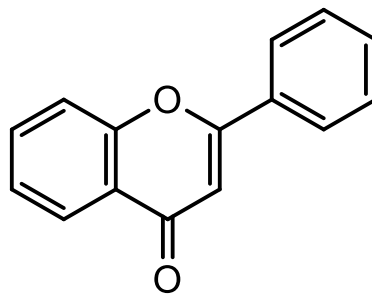
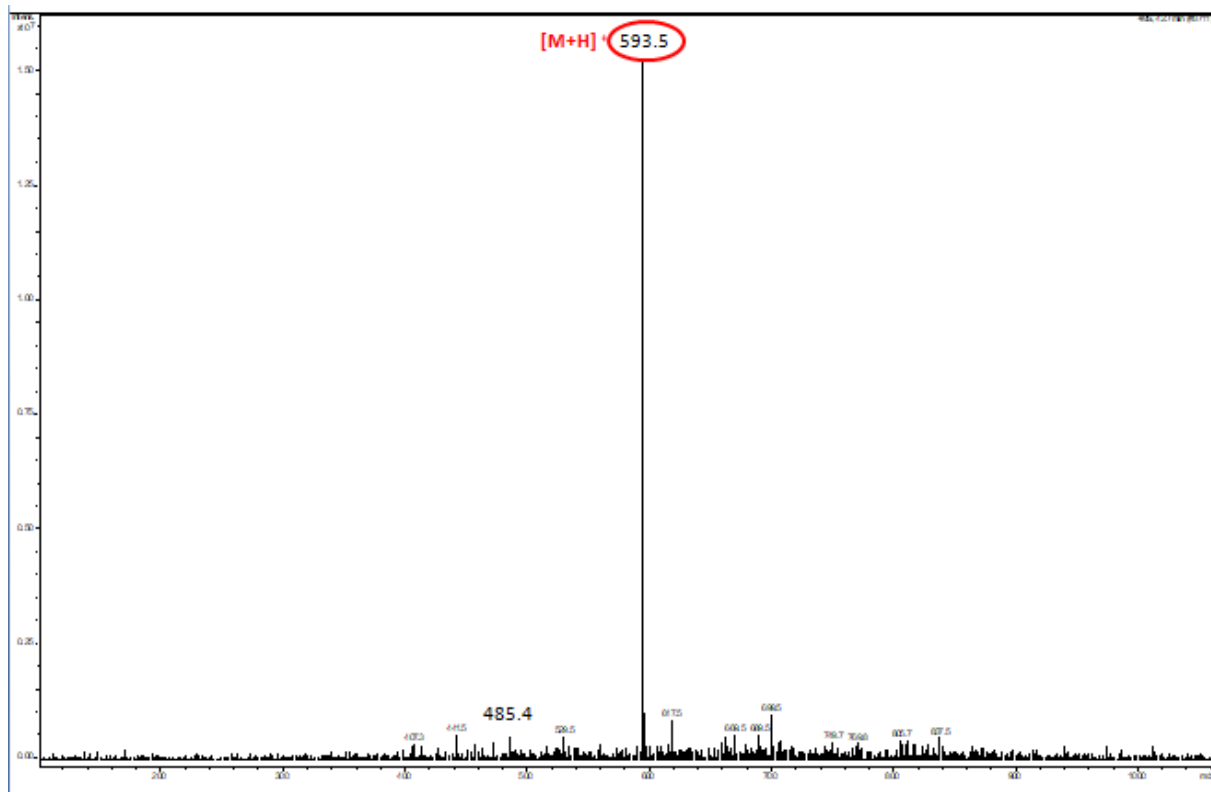


Figure III.36. Squelette de base d'un iridoïde

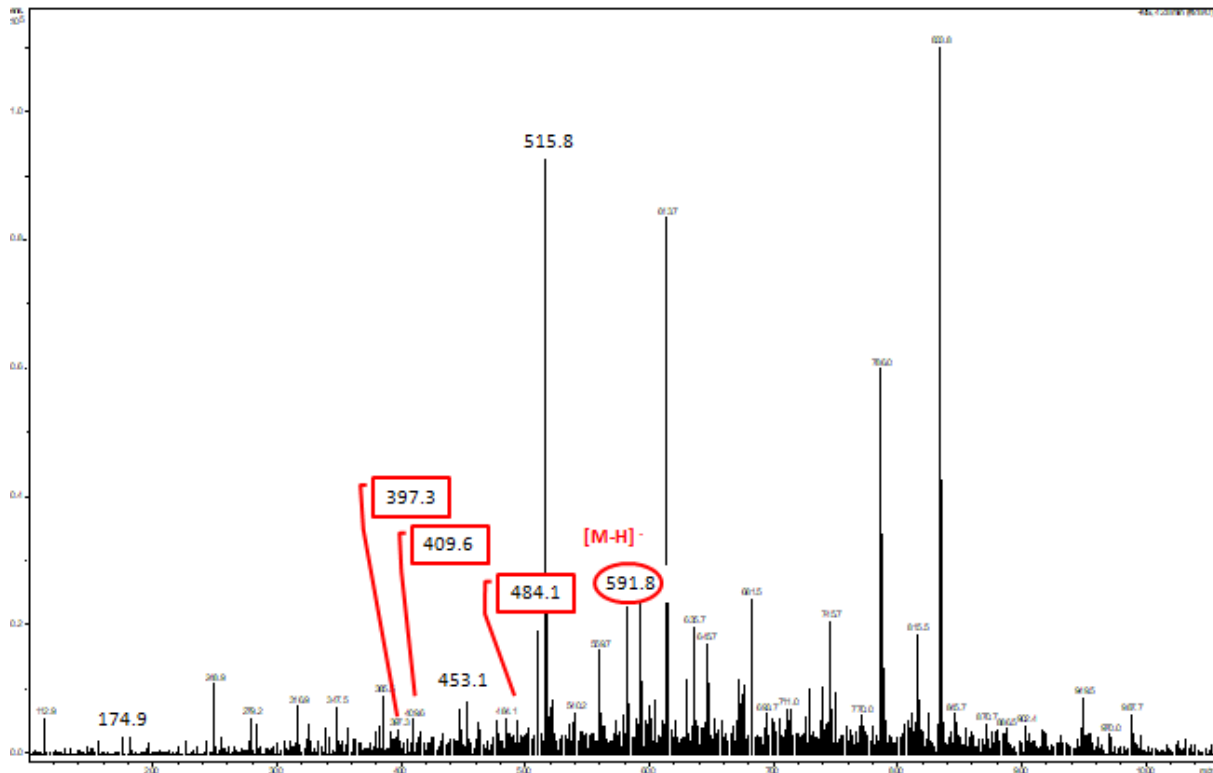
L'analyse des spectres de masse ESI-MS montre la présence d'un pic moléculaire à m/z 593.5 en mode positif (spectre III.28) attribuable à $[M+H]^+$, ainsi d'un pic en mode négatif (spectre III.29) à m/z 591.8 attribuable à $[M-H]^-$. Ces pics confirment que la masse molaire de notre composé est de 592 Da.

Un seul pic est observé dans le spectre ESI-MS (+) tel que le pic m/z 485.4 correspond à l'unité ($C_{21}H_{25}O_{13}$).



Spectre III.28. Spectre de masse ESI-MS en mode (+) du pic 27

Pour le spectre ESI-MS (-) ont observé plusieurs pics tel que le pic m/z 484.1 qui est attribuable à l'unité de $[\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_{13}\text{-H}]^-$. Le pic m/z 397.3 qui est attribuable à l'unité de $[\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_8\text{-H}]^-$, un pic de m/z 174.9 qui est attribuable à l'unité de $[\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{-H}]^-$ et un pic m/z 561 (559.7) qui est attribuable $[\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{O}_{13}\text{-H}]^-$. Montre aussi la présence des fragmentations entre le pic m/z 515.8 et m/z 409 avec la perte de 106.8 Da qui est attribuable à l'unité de $\text{C}_7\text{H}_7\text{O}$, et entre le pic m/z 484.1 et m/z 453.1 avec la perte de 31 Da attribuable à l'unité de méthoxyle (OMe).



Spectre III.29. Spectre de masse ESI-MS en mode (-) du pic 27

Les fragmentations observées dans les spectres ESI-MS (+) et (-) sont rassemblés dans la figure suivante :

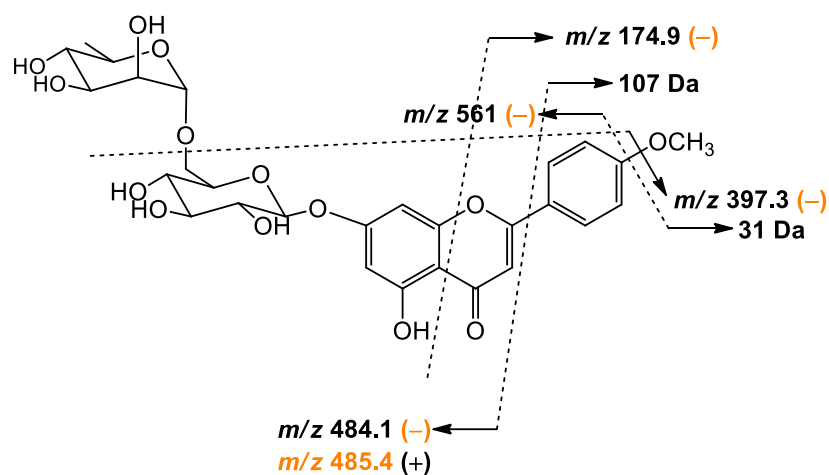


Figure III.37. Les fragmentations du produit 10

Les données obtenues des spectres UV et ESI-MS indiquent que notre composé est nommé linarine, déjà isolé du genre *Linaria* [13].

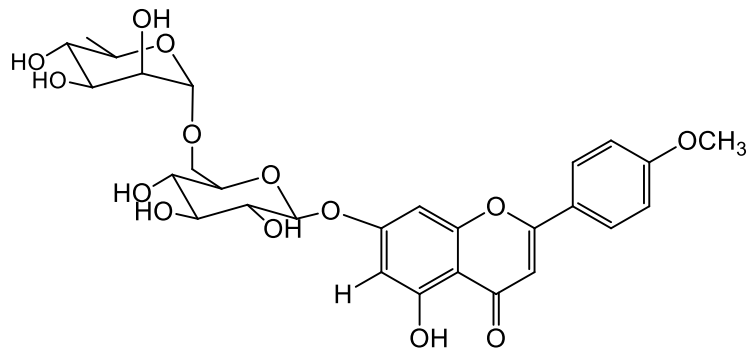


Figure III.38. Le produit du pic 27

Références

- [1] Cheriet T, Mancini I, Seghiri R, Benayache F, Benayache S. Chemical constituents and biological activities of the genus *Linaria* (Scrophulariaceae). *Nat Prod Res.* 2015, 29:158–1613
- [2] Qi L-W, Chen C-Y, Li P. Structural characterization and identification of iridoid glycosides, saponins, phenolic acids and flavonoids in *Flos Lonicerae Japonicae* by a fast liquid chromatography method with diode-array detection and time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2009, 23:3227–3242
- [3] Bianco A, Guiso M, Ballero M, Foddai S, Nicoletti M, Piccin A, Serafini M, Tomassini L. Iridoids in the flora of Italy: glycosidic monoterpenes from *Linaria capraria*. *Nat Prod Res.* 2004, 18:241–246
- [4] El-Naggar LJ, Beal JL. Iridoids. A Review. *J Nat Prod.* 1980, 43:649–707
- [5] Bianco A, Passacantilli P, Polidori G. 8-Epiloganic acid and 7- β -hydroxy-8-epiiridodial glucoside. Two new iridoid glucosides from *Linaria cymbalaria*. *Planta Med.* 1982, 46:38–41.
- [6] Otsuka H. Isolation of isolinariins A and B, new flavonoid glycosides from *Linaria japonica*. *J Nat Prod.* 1992, 55:1252–1255
- [7] Jose Luise AT, Wessel T. 2018. The role of uv-visible spectroscopy for phenolic compounds quantification in winemaking. Chapter in: *Frontiers and New Trends in the Science of Fermented Food and Beverages*. DOI: 10.5772/intechopen.79550
- [8] Shima K, Hisada S, Inagaki I. Isolation of glucosyringic acid from *anodendron affine*. *Phytochemistry* 1971, 10:894–895
- [9] Otsuka H. Phenylethanoids from *Linaria japonica*. *Phytochemistry* 1993, 32:979–981
- [10] Degot AV, Fursa NS, Zaitsev VG, Chaika EA, Popova TP, Litvinenko VI, Kornievskii YI. Study of *Linaria macroura*. *Chem. Nat. Comp.* 1983, 3:388–389
- [11] Boryaev LP, Ban'kovskii KI, AI. Acacetin and its glycosides in plants of the genus *Linaria*. *Chem. Nat. Comp.* 1974, 10:96–97
- [12] Kouichi M, Takashi T, Isao K, Toshihiro F, Yuki Y, Kanji I. New iridoid diesters of glucopyranose from *Linaria canadensis* (L.) Dum. *J. Nat. Med.* 2011, 65:172–175
- [13] Morita N, Shimizu M, Arisawa M, Kobayashi K. Medicinal resources. 37. Components of leaves of *Linaria japonica* and *L. vulgaris* (Scrophulariaceae). *Pharmacy magazine* 1974, 94:913–916

Conclusion

Conclusion générale

Le but de ce travail est l'analyse spectrale du profile LC-ESI-MS de l'extrait éthanolique obtenu des parties aériennes de *Linaria cymbalaria* Mill. (*Cymbalaria muralis*), une plante médicinale connue pour leur effets diurétiques, toniques et antiscorbutiques.

Nous avons commencé notre étude par un screening phytochimique qui nous a montré la présence de différentes classes de métabolites secondaires tels que les terpénoïdes et les polyphénols. Ces résultats sont confirmés par le profile LC-ESI-MS enregistré en mode positif et négatif qui a révélé la présence de 33 pics dont 10 sont identifiés en utilisant les données spectroscopiques UV et masse.

Les produits déterminés sont structuralement élucidés comme suit :

➤ **Iridoïdes :**

Pic 2 : antirrhinoside (1)

Pic 3 : dérivé de l'acide 8-épi-logénique (2)

Pic 4 : linarioside (3)

➤ **Les phénols :**

Pic 9 : l'acide glucosyringique (4)

Pic 11 : dérivé de glucopyranosyl (1→6) martynoside (5)

➤ **Les flavones :**

Pic 13 : l'apégénin-7-*O*-glucoside (6)

Pic 14 : l'acacétine 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside (7)

Pic 20 : l'apigénine (8)

Pic 26 : diosmine (9)

Pic 27 : linarine (10)

Les produits **3-10** sont identifiés pour la première fois dans l'espèce.

Résumé

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la préparation de notre projet de fin d'étude à fin d'obtenir le diplôme Master. Le but de ce travail est l'analyse spectrale du profil LC-ESI-MS et l'étude phytochimique de l'extrait éthanolique obtenu des parties aériennes de *Linaria cymbalaria* (L.) Mill. (*Cymbalaria muralis*). On a commencé par un screening phytochimique qui a été réalisé sur l'extrait à travers lequel, nous avons pu mettre en évidence la présence des métabolites secondaires suivants : terpénoïdes et les polyphénols. L'analyse spectrale du profil LC-ESI-MS nous a permis d'identifier nouveaux produits pour l'espèce tel que : linarioside, l'acide glucosyringique, un dérivé de glucopyranosyl (1→6) martynoside, l'apégénin-7-O-glucoside, l'acacétine-7-O-β-D-glucopyranoside, apigénine, diosmine et linarine.

Summary

This work was realized in the aim of preparing of our studies end project to obtain the Master's degree. The purpose of this work is the spectral analysis of the LC-ESI-MS profile and the phytochemical study of the ethanolic extract obtained from the aerial parts of *Linaria Cymbalaria* (L.) Mill. (*Cymbalaria muralis*). We started with a phytochemical screening that was performed on the extract through which we were able to highlight the presence of the following secondary metabolites: terpenoides and polyphenols. The spectral analysis of the LC-ESI-MS profile allowed as to identify new products for the specie such as: linarioside, l'acide glucosyringique, derivied of glucopyranosyl (1→6) martynoside, apegénin-7-O-glucoside, l'acacetin-7-O-β-D-glucopyranoside, apigenine, diosmine and linarine.

ملخص

تم تنفيذ هذا العمل في اطار اعداد مشروع نهاية الدراسة من اجل حصول على شهادة الماسترة. الهدف من هذا العمل هو التحليل الطيف LC-ESI-MS التحليل الفيتوكيميائي للمستخلص الإيثانولي المتحصل عليه من الاجزاء الهوائية لنبات (*Linaria cymbalaria* Mill) (*Cymbalaria muralis*). بدأنا بفحص فيتوكيميائي التي تم تنفيذه على المستخلص الذي مكنا من خلاله استنتاج وجود المركبات الثانوية التالية التربينات و متعددة الفينول. التحليل الطيفي لملف LC-ESI-MS مكنا من تحديد مركبات جديدة للنبته مثل

(linarioside, l'acide glucosyringique, dérivé de glucopyranosyl (1→6) martynoside, l'apégénin-7-O-glucoside, l'acacétine 7-O-β-D-glucopyranoside, l'apigénine, diosmine, linarine).