



UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA
FACULTE DES SCIENCES
DE MATIERE



DEPARTEMENT DE CHIMIE

MEMOIRE de fin d'étude

Présenté pour l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Par: *MECHIKI Imane*

LAÂLA Ihsen

BOUGUERRA Ibtissem

SUJET

***Etude Phytochimique et Extraction des huiles
essentielles de l'espèce Salvia Aegyptiaca***

Soutenu publiquement le : 08/07/2019

Devant le jury composé de :

BELHADDAD Oum Elkheir
MOHAMADI Sabrina
BOUCHLOUCHE Kenza

Université de M'sila
Université de M'sila
Université de M'sila

Président
Rapporteur
Examineur

Promotion : 2018 /2019

Remerciements

Avant toute chose, Nos remerciements vont tout premièrement à Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et la patience, qu'il nous a donnée durant toutes ces longues années.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et nos chaleureux remerciements à notre promotrice Madame **MOHAMADI Sabrina**, qui nous a guidé et orienté tout au long de la réalisation de ce travail en prodiguant ses précieux conseils et ses vifs encouragement et surtout sa gentillesse.

Nos sincères remerciements aux madames les membres du jury pour l'honneur qu'elles nous font en participant au jugement de notre travail.

Nous tenons à remercier vivement toutes personnes qui nous ont aidé à élaborer et réaliser cette mémoire, ainsi à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à accomplir ce travail.

Nos remerciements vont aussi à tous les enseignants du département de Chimie qui ont contribué à notre formation. Nous remercions aussi Monsieur **ARIOUA Nouredine**, et Monsieur **Mohamed** qui nous ont aidé.

Enfin nous tenons à exprimer notre reconnaissance à tous nos familles, amis et collègues pour le soutien tout moral et matériel...

Dédicace

A ma mère

Je dédie tout particulièrement cette thèse à l'être le plus cher à mon cœur ma mère, symbole de tendresse et de sacrifice pour son soutien morale et assistance inestimable pendant toutes mes longues années d'études et pour tout l'amour qu'elle m'a donnée pour tout ça Merci maman. Que dieu te garde pour nous.

A mon père

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de consentir, vous avez fait plus qu'aucun père n'a fait pour que ses enfants suivent le bon chemin, je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond respect et amour. Que dieu te garde pour nous.

A mes frères Nasser, Abd El Hakim, Mouhamed, Zoubir

Et leurs femmes

A mes sœurs Aïcha, Nesma, M'barka

Et leurs enfants Amani, Hanane, Samahe, Nadjib, Oumaïma, Charaf, Marame, Belkisse, Tamime, Lina, Abd El hay, Tasbihe, Mirale

A ma deuxième famille Naima, Mouhamed, Karima, Rawia, Khawla

A mon mari Sayf Eddin et Sa famille

A mes amies et collègues

A tous ceux qui me sont chers

Imane

Dédicace

A ma mère

Je dédie tout particulièrement cette thèse à l'être le plus cher à mon cœur ma mère, de tendresse et de sacrifice pour son soutien morale et assistance inestimable pendant toutes mes longues années d'études et pour tout l'amour qu'elle m'a donnée pour tout ça merci maman. Que dieu te garde pour nous.

A mon père

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de consentir, vous avez fait plus qu'aucun père n'a fait pour que ses enfants suivent le bon chemin, je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond respect et amour. Que dieu te garde pour nous.

A mes frères Sayeh , Sohaib , Abed Elhakim , Kossai et odai

A ma sœur Linda

A ma Famille

A mes amies

A tous ceux qui me sont chers

Ihsen

Dédicaces

Je dédie ce travail :

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

À mon très cher mère, qui ma supportée et m'a aidée dans les pires moments, car tu as toujours cru en moi, je suis que je suis maintenant merci maman.

À toute ma petite famille surtout :

***À mes frères : SABBER, SAMI*

***À mes soeurs : RACHIDA ,NOURA ,AICHA*

À ma grande familles chaque'un avec son nom.

Liste des abréviations

CCM : Chromatographie sur couche mince

AcOEt : acétate d'éthyle

EBrt : L'extrait brut

BHT : Butylhydroxytoluène

MeOH : Méthanol

HE : Huile essentiel

R_f : Rapport frontal

UV : Ultraviolet

R (%) : Le rendement en %

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

I (%) : Pourcentage d'inhibition

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %

CMI : Concentration minimale inhibitrice

mg/ml : Milligramme par millilitre

mm : Millimètre

μl : Microlitre

CHCl₃ : Chloroforme

F : fraction

H₂O : eau

EtOH : éthanol

DMSO : Diméthylsulfoxyde

V/V : Volume par Volume

S : Singulet

d : Doublet

dd : Doublet de doublets

t : Triplet

m : Multiplet

C_q : Carbone quaternaire

RMN 1H : Résonance magnétique nucléaire du proton

1D : Monodimensionnelle

2D : Bidimensionnelle

RMN 13C : Résonance magnétique nucléaire du carbone 13

δ : Déplacement chimique en ppm

J : Constante de couplage en Hz

ppm : Partie par million

Hz : Hertz

COSY : COrrrelated SpectroscopY

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Corrélation

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Coherence

NOESY : Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

μg : Microgramme

Liste des tableaux

Tableau N°01 : Composition des huiles essentielles de <i>SalviaAegyptiaca</i>	1
Tableau N°02 : Les différentes classes des flavonoïdes.....	15
Tableau N°03 : Relation-fluorescences sous lumière UV et type des flavonoïdes.....	22
Tableau N°04 : Relation R _f -Structure flavonoïques.....	23
Tableau N°05 : Résultat de la séparation par chromatographie sur colonne du précipité P ..	32
Tableau N°06 : Données de RMN ¹ H.....	40

Liste des Figures

Figure 01 : Aspect de la plante <i>Salvia</i>	3
Figure 02 : Les feuilles de <i>Salvia</i>	3
Figure 03 : Les fleurs de <i>Salvia</i>	3
Figure 04 : Les graines de <i>Salvia</i>	3
Figure 05 : Les structures de quelques flavonoïdes et des acides phénoliques isolés du genre <i>Salvia</i>	5
Figure 06 : Photo de la plante <i>Salvia Aegyptiaca</i>	6
Figure 07 : Carte géographique de la station de récolte Bechar, Algérie.....	6
Figure 08 : Les structures des composés isolés de l'espèce <i>Salvia Aegyptiaca</i>	7
Figure 09 : Structure générale du flavonoïde.....	14
Figure 10 : La biosynthèse des flavonoïdes.....	19
Figure 11 : Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes (fleurs et feuilles) de <i>Salvia Aegyptiaca</i>	31
Figure 12 : Montage de chromatographie sur colonne.....	32
Figure 13 : l'évaporateur rotatif.....	33
Figure 14 : La plaque dans le système de solvant.....	33
Figure 15 : Lampe Ultra-violet 254-365 nm.....	33
Figure 16 : Chromatographie sur couche mince sur gel de silice de fraction 1 (CHCl_3 : AcOEt 9 :1).....	34
Figure 17 : Schéma de purification de l'extrait.....	34
Figure 18 : Matière végétale.....	35
Figure 19 : Appareil de clévenger.....	35
Figure 20 : Forme libre et réduite de DPPH.....	37
Figure 21 : Spectre UV-visible du composé P1	39
Figure 22 : La courbe d'étalonnage de la quercétine.....	42
Figure 23: Effet scavenger contre le radical DPPH du précipité de l'extrait n-butanol à différentes concentrations.....	43

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction Générale.....1

Partie 01 : étude bibliographique

Chapitre 01: Etude bibliographique du genre *Salvia* et de l'espèce *salvia Aegyptiaca*

I-Introduction.....	3
II-le genre <i>Salvia</i>	3
II-1-description botanique du genre.....	3
II-2-utilisation du genre.....	4
III- Les métabolites secondaires isolés du genre <i>salvia</i>	4
III-1- Les composés phénoliques isolés du genre <i>Salvia</i>	4
IV-Etude phytochimique et botanique de l'espèce <i>Salvia Aegyptiaca</i>	5
IV- 1-Place dans la systématique.....	5
IV- 2- Description botanique.....	6
IV- 3- Répartition géographique.....	6
IV-4-Propriétés biologiques de l'espèce <i>salvia Aegyptiaca</i>	6
IV-5- Métabolites secondaires isolés de genre <i>salvia Aegyptiaca</i>	6
IV-6-Etude des huiles essentielles de l'espèce <i>salvia Aegyptiaca</i>	8
IV-6-1-Composition chimique des huiles essentielles de <i>salvia Aegyptiaca</i>	8
Conclusion.....	9
Référence bibliographique.....	10

Chapitre 02 : les Flavonoïdes

I-Introduction.....	13
---------------------	----

II- Etude bibliographie des flavonoïdes.....	13
II -1 - Définition des flavonoïdes.....	13
II-2- Structure chimique des flavonoïdes	13
II-3-Classification des flavonoïdes	14
II-4 -Intérêt des flavonoïdes.....	15
II-4-1-Intérêthérapeutique	15
II-5-Biosynthèse	16
III -Etude chimique des flavonoïdes.....	19
III -1-L'extraction.....	19
III-2-Méthodes et techniques de purification	19
III-2-1- Chromatographie sur colonne (CC).....	19
III-2-2- La chromatographie sur papier(CP).....	20
III-2-3- La chromatographie sur couche mince (CCM)	20
III-2-4- La chromatographie liquide à haute performance	20
III-2-5-purification sur colonne	21
IV. LES TECHNIQUES D'IDENTIFICATION STRUCTURALE	21
IV-1- Fluorescence sou lumière UV	21
IV-2- Facteur de Rétention (Rf)	22
IV-3- Le spectroscopie de masse (SM)	23
IV- 3-1- Spectrométrie de masse à impact électronique(EI)	23
IV-3-2- Spectrométrie de masse à bombardement atomique rapide (FAB)	23
IV-3-3- Spectrométrie de masse electrospray (ES)	23
IV-4- La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	23
IV-4-1- RMN monodimensionnelle (RMN –1D).....	24
RMN proton (1H)	24
RMN carbone (13C): DEPT 135° et Jmod.....	24
IV-4-2-RMN bidimensionnelles (RMN – 2D)	25
COSY (1H – 1H)	25
NOESY (1H – 1H).....	25

HSQC (1JH-C).....	25
Conclusion	25
Référence bibliographique.....	26

Partie Expérimentale

Chapitre III : MATERIELS ET METHODES

I-Travaux personnels	30
1-Récolte du matériel végétal	30
2- Extraction	30
3- Fractionnement du précipité	32
4- Séparation sur couche mince	33
II- Extraction de l'huile essentielle de <i>Salvia Aegyptiaca</i>	35
Procédé d'extraction	35
Calcul du rendement	35
III- Dosage des polyphénols	36
IV. Etude de l'activité antioxydant	36
IV-1-Méthode DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	36
IV-1-1-Principe	36
IV-2-Activité anti-radicalaire par inhibition du DPPH	36
Référence bibliographique.....	38

Chapitre IV : Résultats et Discussions

I . Identification du produit isolé de précipité P de la phase n-butanol	39
1-Elucidation du composé P1	39
2- Dosage des Poly phénols totaux.....	42
3. Evaluation de l'activité antioxydant DPPH de l'extrait n- butanol	42
II- Etude de l'huile essentielle de <i>Salvia Aegyptiaca</i>	43
1- Le rendement	43
Références bibliographiques.....	45
Conclusion général	46
Résumé	47

Introduction générale :

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Ces derniers à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes [1].

Les plantes médicinales de meurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement, en absence d'un système médical moderne[2]. Le recours à la médecine à base des plantes est profondément ancré dans notre culture, car l'Algérie est réputée par la richesse de sa flore médicinale qui comprend des centaines d'espèces végétales. Ainsi qu'elle a un savoir-faire testé de longue date par nos ancêtres. Parallèlement, toutes les cultures et les civilisations de l'Antiquité à nos jours dépendent entièrement ou partiellement de la phytothérapie en raison de leur efficacité, l'accessibilité, la disponibilité, faible toxicité et d'acceptabilité [3]. Selon l'Organisation mondiale de la Santé (**O.M.S.**) en 2008, plus de 80% de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs besoins de soins de santé primaires[4]. Plusieurs plantes peuvent être une guérison de nombreux maux quotidiens qui vont des simples troubles digestifs jusqu'à le traitement des maladies chroniques comme le cancer, l'ulcère, le diabète, les calculs rénaux[5-11].

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé[12]. De plus, les produits forestiers non ligneux ont éveillé un intérêt considérable en Afrique au cours de ces dernières années pour leur contribution à l'économie des ménages et la conservation de la biodiversité végétale[13].

L'objectif de ce travail a consisté à rechercher par séparation, les substances naturelles actives présentes dans l'espèce *Salvia Aegyptiaca*.

- Le chapitre 1 comporte une partie bibliographique consacré à une étude botanique et phytochimique générale du genre *Salvia* et l'espèce *Salvia Aegyptiaca*.
- Le deuxième chapitre est consacré aux études bibliographiques et chimiques des flavonoïdes.

Introduction générale

- Le troisième chapitre est consacré au travail personnel consistant en la séparation et la purification des composés obtenus et l'extraction des huiles essentielles .
- Dans le dernier chapitre, nous reportons les résultats obtenus suivis de discussions et d'une conclusion générale.
- Enfin, nous présenterons une conclusion générale dans laquelle nous rappellerons les principaux résultats obtenus.

I. Introduction :

Les Lamiaceae constituent une famille très diversifiée avec 220 genres et environ 4000 espèces. Certaines espèces de cette famille ont une importance économique en raison de leur teneur en huile essentielle [1], en composés polyphénoliques et de leur utilisation en médecine traditionnelle qui est souvent liée à la présence de diterpénoïdes [2-3]. Cette famille est répandue dans les régions tropicales et subtropicales, mais principalement en région méditerranéenne [4].

Le genre *salvia* (sauge) fait partie de genres les plus importants de la famille des lamiacées comprenant près de 900 espèces identifiées à travers le monde [5-6]. Elles sont aussi bien répandues dans les zones tempérées que subtropicales [7-8].

II. Le genre *Salvia*

II.1. Description botanique du genre *Salvia*:

Ce sont des arbustes ou des plantes herbacées, elles peuvent être annuelles bisannuelles ou vivaces selon l'espèce [9], calice bilabié variable, à lèvre supérieure tridentée, et à lèvre inférieure bidentée, corolle bilabiée, elle comporte 2 étamines, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthère et l'autre la plus courte une écaille, ou terminée en pointe [10].



Figure01 :Aspect de la plante *Salvia*



figure02 :les feuilles de *Salvia*



Figure03 :les fleurs de *Salvia*



figure04 :les graines de *Salvia*

II.2. Utilisation du genre *Salvia* :

De nombreuses espèces de *Salvia* sont utilisées comme tisane, comme condiments, en cosmétique et dans les industries agroalimentaire et pharmaceutique. Plusieurs espèces de *Salvia* sont utilisées pour leurs propriétés biologiques et pharmacologiques comprenant leurs effets antibactériens, antiviraux, anti-oxydants, antipaludéens, anti-inflammatoires, antidiabétiques, cardiovasculaires et anti-cancéreux. Certaines de ces propriétés ont été attribuées à leurs huiles essentielles [11].

Ces espèces sont riches en flavonoïdes et composés phénoliques tels que (les acide caféique, rosmarinique, chlorogénique, ellagique et gallique) [12].

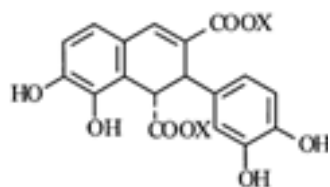
III. Les métabolites secondaires isolés du genre *Salvia* :

Les métabolites secondaires se définissent comme les molécules produites par des organismes vivants (plantes, champignons, bactéries...) ne jouant pas de rôle direct pour les fonctions vitales de l'organisme, c'est-à-dire la nutrition, la croissance et la reproduction.

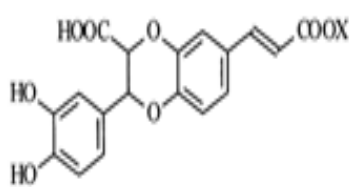
Les études phytochimiques effectuées sur le genre *Salvia* ont permis de montrer que ses principaux marqueurs chimiotaxonomiques sont les composés phénoliques tels que les flavonoides.

III.1. Les composés phénoliques isolés du genre *Salvia*

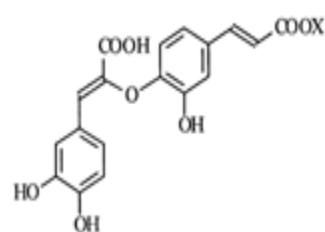
Les composés phénoliques ou polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal, ce sont des métabolites secondaires, caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle. Dans cette catégorie, on trouvera les acides phénoliques simples (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), les coumarines et les squelettes C6-C3-C6 dérivant de l'extension du phényle tels que les chalcones, les flavones, les flavonols ou les dérivés du type flavane ou flavane-3-ol. On considère également les formes polymérisées : lignanes, lignines et tanins condensés.



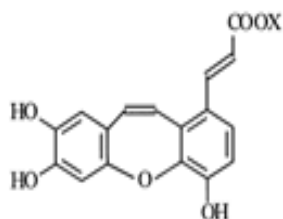
Acide salvianolique



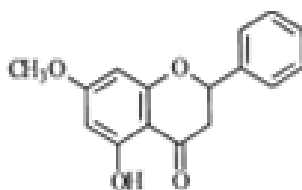
Acide salvianolique



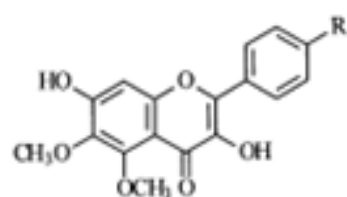
Acide salvianolique



Acide isosalvianolique

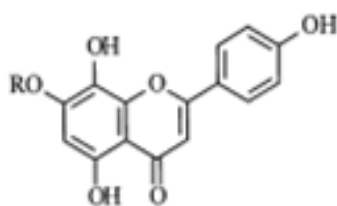


5-Hydroxy-7-methoxyflavanone

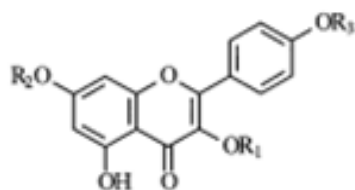


(R-OH) 5,6-Dimethyl ether

(R-H) 6-Hydroxygalangin-5,6-dimethyl ether



(R=H) 8-Hydroxyapigenin (isoscutellarein)

(R=CH₃) 3,6,4'-Trimethyl ether (santin)(R₁=R₂=R₃=H) 5,7,4'-Trihydroxyflavonol(R₁=CH₃, R₂=R₃=H) 3-Methyl ether (isokaempferide)(R₁=R₂=CH₃, R₃=H) 3,7-Dimethyl ether (kumatakenin)**Figure 05 :** Les structures de quelques flavonoïdes et des acides phénoliques isolés du genre *Salvia*

IV-Etude phytochimique et botanique de l'espèce *Salvia Aegyptiaca*

IV.1. Place dans la systématique

• Règne	Plantae
• Embranchement	Spermaphyte
• Classe	Dicotylédone
• Sous-classe	Asteridae
• Ordre	lamiales
• Famille	lamiaceae
• Genre	<i>Salvia</i>
• Espèce	<i>Salviaaegyptiaca</i> .

IV.2. Description botanique

C'est une plante buissonnante très rameuse à branches très intriquées de 30 à 40 cm de haut. Fleurs petites, d'un vert pâle. Tiges florifères ramifiées seulement dans leur portion supérieure, parfois simples. Feuilles lancéolées diversement incisées dentées Inflorescences très rameuses, denses, à bractées très petites (2-3 mm). Calice à 2 lèvres très écartées (Figure 06). [10]



Figure 06: Photo de la plante *Salvia Aegyptiaca*

IV.3. Répartition géographique

Cette plante vivace est originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires .elle croit de manière spontanée et en culture de long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu' à la Turquie, et dans le dans le nord de l'Afrique Espèce Euro-méditerranéenne, assez commune en Algérie (cultivée) [18].



Figure 07: Carte géographique de la station de récolte Bechar, Algérie

IV.4. Propriétés biologiques de l'espèce *Salvia Aegyptiaca*

L'espèce *Salvia Aegyptiaca* est couramment utilisée dans la pharmacopée traditionnelle. A titre d'exemple, les graines sont utilisées contre la diarrhée[19], et la plante entière dans le traitement de la diarrhée, la gonorrhée, les hémorroïdes, les maladies des yeux, et en tant qu'antiseptique, antispasmodique et stomachique[15]. La plante est également utilisée dans les cas de troubles nerveux, des vertiges et tremblements[20].

Malgré les nombreuses investigations effectuées sur *S. Aegyptiaca*, très peu d'études ont porté sur les propriétés pharmacologiques, et aucune étude toxicologique n'a été effectuée sur cette espèce. Il a été rapporté cependant que les extraits chloroformique et éthanolique de la plante entière ont une action inhibitrice sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus* et *Proteus vulgaris aureus*[21 -13] de même, il a été montré également que l'extrait de cette plante a une activité anti-inflammatoire et antipyrétique[16].

IV.5. Métabolites secondaires isolés de l'espèce *Salvia Aegyptiaca*

Du point de vue phytochimique, l'espèce *Salvia aegyptiaca* est caractérisée par une diversité structurale en métabolites secondaires riche en: flavonoïdes, tanins, stérols /triterpènes et coumarines[13].

- Plusieurs flavonoïdes ont été isolés tels que : l'apigénine **1**, la lutéoline **2**, l'apigénine-7-glucoside **3**, la lutéoline-7-glucoside **4**[14], le chrysoériol-7-glucoside **5**, le 6,8-di-C-β-glucosyl lutéoline **6**[15], 5-hydroxy-7,3',4'- triméthoxyflavone **7** et **5**, 6-dihydroxy-7,3',4'- triméthoxyflavone **8**[16].
- Trois nouveaux diterpénoïdes ont été isolés et caractérisés pour la première fois dans *salvia Aegyptiaca* : 6-méthylcryptoacétalide **9**, 6-méthyl-epicryptoacétalide **10** et 6-méthylcryptotanshinone **11** [16].

- Deux nouveaux diterpènes quinones : l'aegyptinoneA **12** et l'aegyptinone **B13**[17].
- D'autres constituants ont été isolés parmi lesquels on peut citer : le lupeol **14**, l'acide oléanolique **15**, l'acide ursolique **16**, l' α -amyrin **17**, la β -amyrine **18** [15], 7-
- methoxycoumarin (herniarin) **19**[14] , le β -sitostérol **20**, le sitostérol-3 β -glu coside **21** et le stig-masterol **22**[16]. (Figure 08)

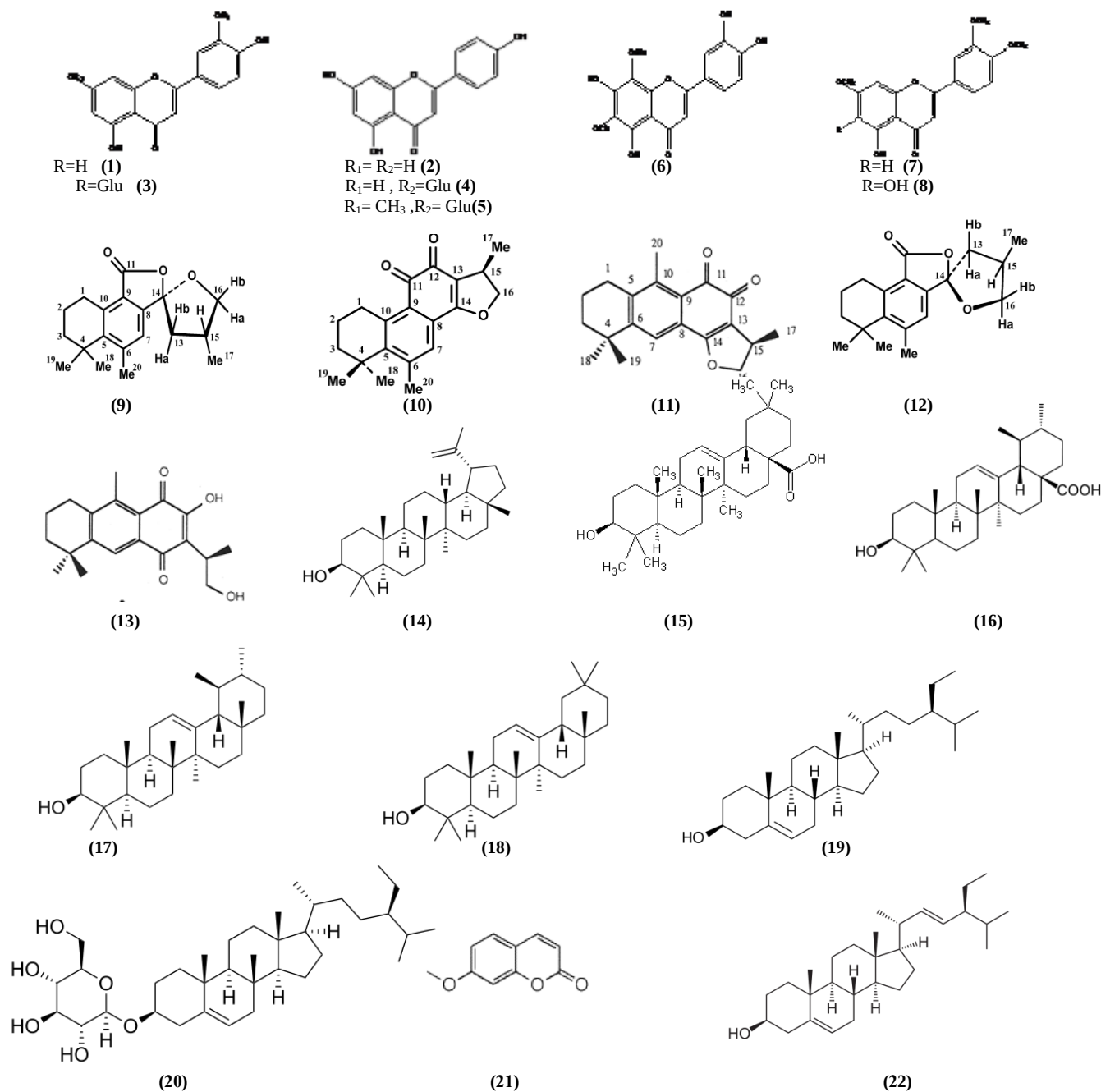


Figure 08 : Les structures des composés isolés de l'espèce *Salvia Aegyptiaca*

V. Etude des huiles essentielles de l'espèce *Salvia Aegyptiaca*

Les huiles essentielles sont des substances odorantes concentrées, obtenues à partir des plantes par entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation ou expression (pression à froid).

V.1. Composition chimique des huiles essentielles de *Salvia Aegyptiaca*

Les composants volatils des parties aériennes de *Salvia Aegyptiaca*, obtenus par hydrodistillation, ont été analysés par GC et GC-MS [22].

Les composants identifiés dans l'huile essentielle sont énumérés dans le tableau 01 par ordre de leur temps de rétention expérimentale et les indices de rétention. Les principaux constituants de l'huile sont les suivants : β -caryophyllène (10,2%), Selina-4,11-diène (9,7%), l'acétate de bornyle (8,5%), β -gurjunene (7,6%), germacrène D (7,0%) et β -caryo phyllene (6,2%). Les autres principaux constituants sont les suivants : germacrène B (4,8%), δ -cadinène (3,4%), limonène (3,2%), spatulenol (3,1%), β -bourbonene (2,9%), bicyclogermacrene (2,3%), et α -cadinol (2,9%). Les hydrocarbures monoterpéniques ne représentent que (15,8%) tandis que la fraction sesquiterpénique représente la majeure partie (71,9%). La fraction oxygénée représente 28,3% du total de composition d'huile.

Tableau 01: composition des huiles essentielles de *Salvia Aegyptiaca*

RI	RT	Composés	%
979	11.703	β -pinene	0.4
989	12.104	myrcene	0.5
1025	13.316	para cymene	0.5
1030	13.470	limonene	3.2
1034	13.587	1,8-cineol	0.4
1037	13.685	(Z)- β -ocimene	1.8
1105	15.931	nonanal	0.7
1175	18.050	borneol	0.5
1207	18.995	decanal	0.4
1286	21.233	bornyl acetate	8.5
1378	23.687	β -copaene	1.1
1387	23.908	β -bourbonene	2.9
1423	24.835	β -caryophyllene	10.2
1435	25.109	β -gurjunene	7.6
1452	25.551	(E)- β -farnesene	1.9
1460	25.731	α -humulene	1.1
1464	25.835	alloaromadendrene	1.5
1476	26.134	selina-4,11-diene	9.7

1484	26.345	germacrene D	7.0
1495	26.614	valencene	0.4
1498	26.691	bicyclogermacrene	2.3
1511	26.990	germacrene A	0.5
1516	27.095	γ -cadinene	1.3
1520	27.194	δ -cadinene	3.4
1539	27.649	α -cadinene	0.6
1563	28.202	germacrene B	4.8
1580	28.605	spathulenol	3.1
1587	28.756	oxyde de caryophyllene	6.2
1619	29.482	1,10-di-epi-cubenol	0.9
1638	29.908	caryophylla-4(14),8(15)-diene-5-ol	0.4
1645	30.067	epi α -cadinol	1.2
1647	30.102	epi α -muurolol	0.9
1659	30.368	α -cadinol	2.9
1699	31.264	heptadecane	0.3
1840	34.206	6,10,14-trimethyl-pentadecan-2-one	2.0

VI. Conclusion

L'étude bibliographique a montré que le genre *Salvia* est une importante source de flavonoïdes. Ces composés sont considérés comme étant responsables de nombreuses activités biologiques.

References bibliographiques

- [1] **Lawrence, B.M., 1992.** Chemical Components of Labiate Oils and Their Exploitation. In *Advances in Labiate Sciences*, 1st ed.; Harley, R.M., Reynolds, T., Eds.; Royal Botanic Gardens: Kew, UK, pp 399-436
- [3] **Piozzi, F., Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., 2007.** Structure and Biological Activity of the Furan-Diterpenoids from the Genera *Leonotis* and *Leonurus*. *Heterocycles*, 74, 31-52
- [4] **Piozzi, F., Bruno, M., 2011.** Diterpenoids from Roots and Aerial Parts of the Genus *Stachys*; *Rec. Nat. Prod.* 5:1, 1-11
- [5] **Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., & Moschos, P., 2005.** Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry*, 90, pp 333-340
- [6] **Kivrak, I., Duru, M.E., Ozturk, M., Mercan, N., Harmandar, M., Topçu, G., 2009.** Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food chemistry*, doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.069. Article in press.
- [7] **Standley, P., And Williams, L., 1973.** Labiateae. *Fieldiana Bot.* 24: 237-317
- [8] **Ozdemir, C., And Senel, G., 1999.** The morphological, anatomical and karyological properties of *Salvia sclarea* L. *Türk. Bot. Dergisi.* 23: 7-18
- [9] **Kabouche, A., 2005.** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiacées. Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine, 389p.
- [10] **Quezel, P. et Santa, S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris, p603, 781-793
- [11] **Alizadeh, A., Shaabani, M., 2012.** Essential oil composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity in *Salvia officinalis* L. cultivated in Iran, *Advances in Environmental Biology*, 6, 1: 221-226
- [12] **Szentmihályi, K., Then, M., Csedő, C., 2004.** Comparative study on tannins, flavonoids, terpenes and mineral elements of some *Salvia* species. *Acta Hort*, 629: 463-470
- [13] **Al-Yahya, M.A., Al-Meshal, I.A., Mossa, J.S., Al-Badr, A.A., Tariq, M., 1990.** *Salvia aegyptiaca* Linn. In: *Saudi Plants: Phytochemical and Biological Approach*. King Abdul Aziz City for Science and Technology, 365/367

- [14] El-Missiry, M.M., Hussiney, H.A., Ismail, S.I., Radwan, H.M., Rizk, A.M., 1994. Constituents of plants growing in Qatar XXIV. Phyto-chemical investigation of *Salvia aegyptiaca* L., Qatar University Science Journal 14, 249–251
- [15] Rizk, A., El-Ghazaly, G., 1995. *Salvia aegyptiaca* L. Medicinal and Poisonous Plants of Qatar, Science and Applied Research Centre, University of Qatar, King print of Richmond, 140/141
- [16] Al Yousufa, M.H., Bashir, A.K., Blunden, G., Crabb, T.A., Patel, A.V., 2002. 6-Methylcryptoacetalide, 6-methyl-epicryptoacetalide and 6-methylcryptotanshinone from *Salvia aegyptiaca*; Phytochemistry 361–365
- [17] Sabri, N.N., Abou-Donia, A.A., Ghazy, N.M., Assad, A.M., and El-Lakany, A.M., 1989. Two New Rearranged Abietane Diterpene Quinones from *Salvia aegyptiaca* L.. Org. Chem, 54, 4097-409
- [18] N. Benkiki., 2006, "Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Rutamontana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*". Thèse doctorat, Université el hadj lakhder Batna, pages 8, 112-125
- [19] Ghazanfar, S.A., 1999. *Salvia aegyptiaca* L. In: Handbook of Arabian Medicinal Plants, 125
- [20] Hussein, F.T.K., 1985. *Salvia aegyptiaca*. In: Medicinal Plants in Libya. Arab Encyclopaedia House, Tripoli, 311
- [21] Ikram, M., Haq, I., 1980. The antibacterial action of *Salvia aegyptiaca*. Fitoterapia, 51, 231/233
- [22] Mohamadi, S., 2016. Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de deux plantes Algériennes de la famille des Lamiaceae. These de doctorat, Université Freres mentouri de Constantine.

I. Introduction :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. [1-2].

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus[2].

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxy cinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines [3-4]. Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits [5].

II. Etude bibliographie des flavonoïdes :

II.1 . Définition des flavonoïdes :

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange [6] , cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune)[7-8].

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes[9].

Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradoxe" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées [10-8].Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits[11].

II.2. Structure chimique des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) [12].Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 [13] en formant une structure de type diphényle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule [14-15].

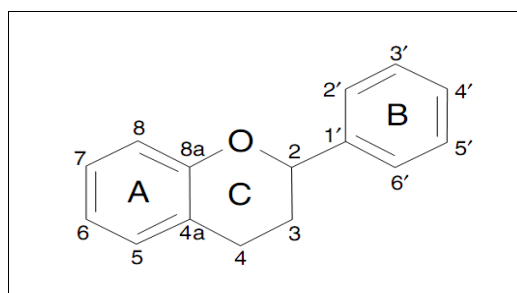


Figure 01 : Structure générale du flavonoïde

II.3.Classification des flavonoïdes :

Tableau 01 : les différentes classes des flavonoïdes

Classe	Structure chimique	R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '	Exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Flavanes (Flavanol)		OH	OH	H	Catéchine
		OH	OH	OH	Galocatéchine
Anthocyanes		H	OH	OH	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Chalcones		R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '	Exemple
		OH	H	OH	3',5',5',7-tetrahydroxy chalcone
Isoflavones (isoflavonoïde)		R ₅	R ₇	R ₄ '	Exemple
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	OH	OH	Daïdezine

II.4.Intérêt des flavonoïdes :

Les flavonoïdes possèdent des caractéristiques particulières qui font d'elles des marqueurs de choix dans l'étude et la compréhension de l'organisation hiérarchique du monde végétal [16].

- Ce sont des métabolites secondaires

- Ils constituent des molécules chimiques stables et faciles d'accès.

- Enfin, ils présentent une extraordinaire diversité structurale (plus de 4647 structures flavonoïques répertoriées à ce jour [17], plus de 500 nouveaux glycosides qui ont été répertoriés entre 1986 et 1991 [18].

II.4.1.Intérêt thérapeutique des flavonoïdes :

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse.

Parmi ces molécules, il a été montré récemment que les flavonoïdes connues anciennement comme tonique vineux et protecteurs capillaires [19]. (action vitamine P utilisé comme réductrice des hémorragies), sont dotés de propriétés biologiques remarquables.

En effet, ils inhibent un grand nombre d'enzymes parmi lesquelles : [20]

- Inhibition de l'histidine décarboxylase.
- Inhibition de l'élastase.
- Inhibition de l'hyaluronidase, ce qui permettrait de conserver l'intégrité de la Substance fondamentale de la gaine vasculaire.
- Inhibition non spécifique de la catéchol-O-méthyl transférase...

Plus rarement, il a été montré que les flavonoïdes peuvent stimuler une activité enzymatique telle que : ATPase, transférase, kinase... [21]

Plus généralement, les flavonoïdes des piègeurs de radicaux libres formés dans diverses circonstances, anoxie, inflammation et autoxydation lipidique [20].

De même, les composés flavonoïques ont une activité : anti-ulcérogène (tige feuillée de lespedeza), anti-ulcère gastrique[19], antiallergique[22], anti tumorale[23], anti carcinogène[24], mutagène[25], antioxydant[26], anti-inflammatoire[27-17],découplante, mitochondriale[28], antivirale[29], œstrogène[30-31], antispasmodique[32] et cytotoxique[33].

Une étude récente a montré qu'une alimentation riche en flavonoïdes, chez des personnes (805 hommes âgés entre 65 et 48 ans) peut les prévenir d'une éventuelle attaque cardiaque, il y a une relation inverse entre une alimentation riche en flavonoïdes et risques cardiaque.

La dose est de 26mg/jour sous forme de thé (61%), pomme de terre (10%), oignon (13%)[34]. Notons que les flavonoïdes ont un rôle important dans les maladies cancérogènes[35-36].

Elles permettent le développement des cellules saines et déterminent des cellules dégénérées (mortes) [37].

Elles ont un rôle antioxydant (notamment la silymarine), ce qui permet d'atténuer les inflammations primitives au niveau, la prostate et le sein [38].

Un type particulier de flavonoïdes, les isoflavones, suscite beaucoup l'intérêt des chercheurs.

Issus du soja, ces composés (notamment la génistéine) sont dotés de propriétés proches de certaines hormones féminines, les oestrogènes, ils sont de faible inhibiteur de l'enzyme « œstrogène synthétase » ou « aromatasase » dans les cellules périphériques et les cellules cancéreuses. Ils auraient un effet protecteur par le rôle anti promotion sur la croissance des hormo-dépendants [39].

Les recherches ont prouvé que l'augmentation du nombre de groupements hydroxyles (-OH) sur le noyau A ou B provoque une augmentation dans l'activité anticancérogène, la double liaison C2-C3 est nécessaire pour activer cet effet [40].

II.5 .Biosynthèse

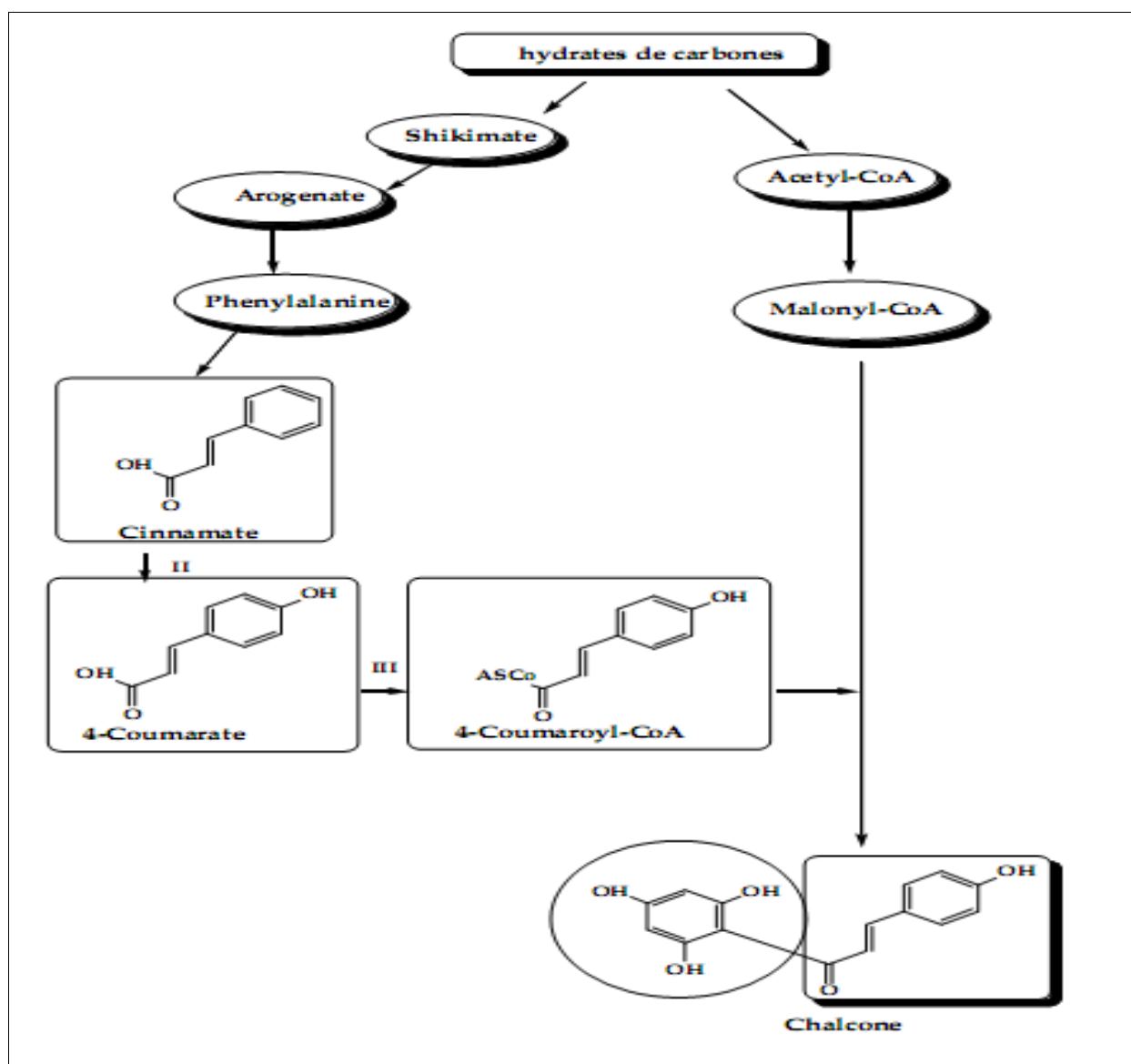
De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 [41].

Leur biosynthèse (Figure2) se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2', 4', 6' - tétrahydroxychalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone (1): naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavonesynthase ou la (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour donner la formation de la flavone (2) : apigénine ou le dihydroflavonol (3) : (2R, 3R)-dihydrokaempférol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol(4) : kaempférol ou en flavan-3,4-diol (5) :leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7)(Figure 4). Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélagonidol (7), sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8): pélagonidol-3-glucoside (Figure2)[41].

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire [41].

A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylés. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone [41].

Voies biosynthétiques conduisant aux chalcones.



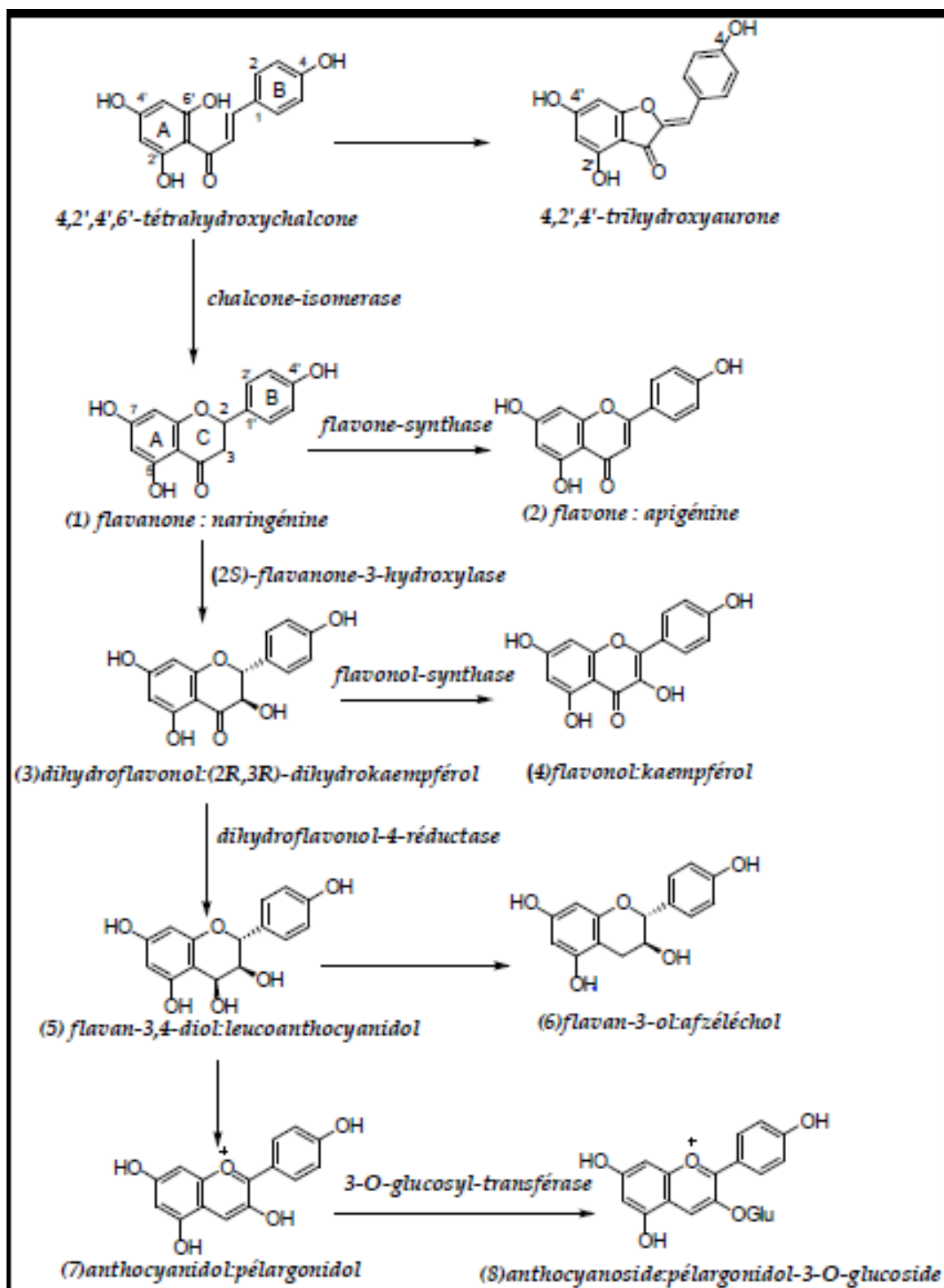


Figure02 : la biosynthèse des flavonoïdes

III .Etude chimique des flavonoïdes :

III .1.L'extraction

Avant de commencer l'extraction, il est indispensable de sécher la plante dans des endroits spéciaux qui permettent l'aération loin des rayons solaires et de l'humidité pour éviter les réactions enzymatiques qui provoquent des changements sur les composés extraits.

D le cas d'extraction des flavonoïdes, il est préférable d'utiliser des solutions alcooliques comme : éthanol (ETOH), méthanol(MeOH) avec l'ajout de l'eau de 20%--50%.

Après concentration et élimination de l'alcool utilisé, on fait l'extraction en utilisant un ensemble des solvants :Ether de pétrole pour éliminer la chlorophylle et les lipides.

Diethylether pour extraire les glucones libres et acétate d'éthyle afin d'extraire les glucones poly hydroxylés.

III.2.Méthodes et techniques de purification :

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile résulte, soit de leur absorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase dans le cas où les deux phases sont des liquides.

Il existe plusieurs méthodes de séparation chromatographique en fonction de l'objectif fixé au préalable et de la faisabilité de la méthode. On peut envisager une chromatographie sur colonne (**C.C**), sur couche mince (**C.C.M**) ou sur papier (**C. papier**). Enfin, on peut considérer également la chromatographie liquide à haute pression (**C. L. H. P**), qui se présentant des techniques instrumentales basées sur les mêmes principes que ceux de la chromatographie classique.

III.2.1. Chromatographie sur colonne (CC):

Alors que toutes les autres méthodes chromatographiques sont habituellement employées pour l'analyse, la séparation ou la purification de faibles quantités de produits, la **CC** peut être une méthode préparative ; elle permet, en effet, la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement, à partir d'échantillons dont la masse peut atteindre parfois jusqu'à plusieurs grammes. Dans notre cas, il a été question d'une **CC** de gel silice 60 utilisée en premier lieu, elle permet de dégraisser l'extrait, d'éliminer les pigments chlorophylliens et autres produits ne faisant pas l'objet

de ce travail et bien sûr dans la mesure du possible, départager le tout en bloc de composés plus en moins similaires.

III.2.2. La chromatographie sur papier(CP) :

Il s'agit de la méthode chromatographique la plus ancienne permettant de séparer des mélanges complexes de composés polaires, comme les glycosides. Encore aujourd'hui, malgré l'avènement de technique de purification de pointe(CLHP), la chromatographie sur papier Wattman reste couramment employée, en raison de son faible coût, de sa facilité d'utilisation et de son efficacité de séparation. La **CP** sert à la fois de technique d'analyse et de méthode de purification des composés présents dans un extrait végétal.

III.2.3. La chromatographie sur couche mince: (CCM)

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel.

III.2.4. Chromatographie liquide à haute performance :

La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine. Les particules solides ont un diamètre pouvant atteindre jusqu'à 5 μm . Le garnissage est tassé dans une colonne fermée. La phase mobile liquide circule sous l'effet d'une haute pression. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques microlitres) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données [42-43]. Cette technique est peu intéressante pour les fractions volatiles, toutefois elle est efficace pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour opérer des préfractionnements, on peut la coupler également à un analyseur de masse [1].

III.2.5.purification sur colonne :

Deux techniques sont utilisées :

- Filtration sur gel de sephadex LH-20 ; éluant : méthanol. Le LH-20 est un gel gonflant de manière différente d'un solvant à un, de ce fait on ne peut travailler en gradient ni changer de solvant une fois l'équilibre établi [44].
- Filtration sur polyamide SC6, éluant : toluène enrichi de méthanol (un gradient d'élution de polarité croissante).

IV. Techniques d'identification structurale des Flavonoïdes

L'identification des structures moléculaires organiques se fait généralement par utilisation combinée de plusieurs techniques spectroscopiques, la spectrométrie de masse, la spectroscopie infrarouge, la résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone. Ces techniques permettent dans un temps réduit d'avoir des données importantes conduisant à la l'élucidation structurale.

IV.1. Fluorescence sous lumière UV :

La fluorescence sous lumière de Wood des flavonoïdes :

L'absorption des substances flovonoiïque sous lumière de Wood à la longueur d'onde de 365 nm donne des renseignements Préliminaires sur la structure chimique. La relation entre la fluorescence et la structure chimique[45] est montrée dans le tableau suivant[46]

Tableau02 : Relation-fluorescences sous lumière UV et type de flavonoïdes

Couleur du spot du flavonoïdes sous UV	Type de flavonoïdes
Noir-Violet	- Flavone - 5, 6,7 ou 5, 7,8-tri-OH flavone - Flavonol substitué en 3 - Certaines chalcones
Violet-mauve	- Flavonone ou flavonol possédant un OH-3 - Flavonol substitué en 3 et sans OH en 5 - Flavone et flavonone en 5
Jaune	- Flavonol avec OH en 5

Jaune-Vert	- Aurone
Jaune-brillant	- Flavonol substitué en 5
Orange-brillant	- Isoflavone
Vert	- Certaines chalcones
Vert-bleu	- flavonone sans OH en 5

IV.2. Facteur de Rétention (Rf) :

Les indications que peuvent apporter ces deux propriétés constituent pour tout phytochimiste qui s'intéresse aux structures des flavonoïdes un atout considérable.

En effet, alors que la fluorescence permet de distinguer un flavone d'un flavonol, les valeurs des Rf effectués sur des systèmes chromatographiques spécifiques ou conventionnels peuvent si elles sont bien utilisées, apporter beaucoup d'indications. Ce dernier point permet effectivement de classer les composés à analyser selon la nature des substituant présents sur ces squelettes (**tableau03**).

La valeur de Rf est définie comme suit :

$$Rf = \frac{\text{Distance entre l'origine et la tâche du produit}}{\text{Distance entre l'origine et le front du solvant}}$$

Tableau03 : Relation Rf-Structure flavonoïque

Structure flavonoïques	Facteur de rétention
-Augmentation des hydroxyles	-Rf diminue dans le solvant organique
-Methylation des hydroxyles	-Rf augmente dans le solvant organique et diminue dans le solvant aqueux
-Glycosylation	-Rf augmente dans le solvant aqueux et diminue dans le solvant organique
-Acylation	-Rf augmente dans le solvant organique -Rf diminue dans le solvant aqueux

IV.3. La spectrométrie de masse (SM) :

La spectroscopie de masse est une technique de choix pour l'étude structurale des flavonoïdes, ultrasensible (moins de 1mg). Cette technique est utilisée pour confirmer l'identification structurale en donnant les informations suivantes :

- La formule brute de la molécule.
- La répartition des substituants sur les noyaux A et B à partir de la détermination des pics de la fragmentation de la molécule [47].
- La détermination de la nature et le site d'attachement des sucres dans les O ou C glycosides [47].

Il existe différentes techniques en spectroscopie de masse dont les plus utilisées sont :

III. 3.1. Spectrométrie de masse à impact électronique(EI) :

C'est la méthode la plus ancienne et la plus utilisée, le principe de cette technique consiste à volatiliser la molécule par chauffage sous vide et à bombarder cette vapeur. Seul les aglycones pourront être analysés en mode EI car les hétérosides manquent de volatilité [16].

IV.3.2. Spectrométrie de masse à bombardement atomique rapide (FAB) :

L'échantillon solide déposé sur une cible est bombardé par un faisceau d'atome neutre (Ar, Xe, Cs...) Cette technique permet de connaître la nature des sucres [48], des molécules hétérosidiques polaires peu volatiles [49], ou de poids moléculaires élevés qui ne peuvent être analysés directement en SM par impact électronique [16].

IV.3.3. Spectrométrie de masse electrospray(ES) :

C'est une technique d'ionisation douce, plus récente que la FAB. L'ionisation par ES dans le cas des flavonoïdes permet d'accéder à la masse moléculaire des molécules peu volatiles et à structure fragile. On obtient des spectres présentant des pics quasi moléculaires comme $[MH]^+$, $[MNa]^+$, $[MK]^+$...

IV.4. La Spectroscopie Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire ou RMN est une technique utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules chimiques. Elle sert principalement à la détermination structurale des composés organiques. Les principaux noyaux étudiés sont le proton ^1H , le carbone ^{13}C , le phosphore ^{31}P , et l'azote ^{15}N .

Cette méthode repose essentiellement sur le phénomène de magnétisme.

En effet, les noyaux de certains atomes (^1H , ^{13}C , etc....) possèdent un moment magnétique nucléaire, c'est-à-dire qu'ils se comportent comme des aimants microscopiques caractérisés par une grandeur quantique appelée «le spin».

La technique de RMN étudie le comportement des noyaux atomiques en présence d'un champ magnétique externe. Le champ magnétique appliqué aux produits entraîne un dédoublement des niveaux d'énergie du spin nucléaire, de sorte qu'on puisse induire des transitions entre eux, suite à l'absorption d'une radiation électromagnétique adéquate. Les échantillons sont dissous dans un solvant deutéré qui peut être du méthanol, du chloroforme, de la pyridine etc....

Ces solvants possèdent des déplacements chimiques spécifiques. Le tube contenant l'échantillon est soumis au champ magnétique permettant l'obtention des spectres utiles à la l'élucidation structurale.

Différentes techniques peuvent être utilisées :

IV.4.1. RMN monodimensionnelle (RMN – 1D)

❖ RMN proton (^1H)

Le spectre RMN du proton est une méthode puissante utilisée dans la détermination structurale des composés organiques inconnus. Il fournit de nombreuses informations telles que, les différents types d'hydrogènes présents dans la molécule analysée, les différents types d'hydrogènes présents dans l'environnement électronique, le nombre d'hydrogènes "voisins" d'un hydrogène donné et le déplacement chimique caractéristique de chaque proton.

❖ RMN carbone (^{13}C): DEPT 135° et Jmod

Dans cette expérience, chaque atome de carbone qui est dans un environnement unique provoque une crête distincte sur un spectre. Généralement, cette technique permet de mettre en évidence tous les carbones de la molécule.

L'analyse se base sur les déplacements chimiques observés en fonction de l'environnement de chacun des atomes de carbone. Cette expérience permet la mise en évidence des carbones primaires (CH_3), secondaires (CH_2), tertiaire (CH) et dans une moindre mesure les carbones quaternaires.

La différence majeure entre le DEPT 135° et le Jmod, réside dans le fait que les carbones quaternaires sont détectés avec le Jmod alors qu'ils ne le sont avec le DEPT.

IV.4.2. RMN bidimensionnelles (RMN – 2D)

Les expériences de RMN-2D reposent sur une succession de trois intervalles de temps, le temps de préparation, le temps d'évolution et le temps de détection. Dans certaines autres expériences, il peut s'ajouter une autre période avant la détection, c'est le temps de mixage.

Corrélations homonucléaires

- ❖ **COSY (1H – 1H):** cette expérience fournit des informations sur les couplages homonucléaires 2J et 3J (protons séparés par deux ou trois liaisons) entre les protons voisins et ceux qui sont adjacents.
- ❖ **NOESY (1H – 1H) :** cette technique permet d'observer, dans l'espace, les corrélations entre protons (effets Over hauser) d'une même molécule. Corrélations hétéro nucléaires
- ❖ **HSQC (1JH-C) :** cette technique permet d'observer les couplages chimiques entre les carbones et les protons directement liés entre eux. Toutefois, elle ne permet pas d'observer les déplacements chimiques des atomes de carbones quaternaires.
- ❖ **HMBC (2JH-C, 3JH-C) :** cette technique permet de répondre aux problèmes précédemment posés, puisqu'elle permet la détection des couplages longue distance 2JHC, 3JH-C, et permet de déduire les carbones quaternaires couplés aux protons.

V. Conclusion

Tel qu'il vient d'être décrit sur les flavonoïdes (leur diversité structurale, leur intérêt médicinal et thérapeutique), les flavonoïdes se révèlent important sur l'homme, le végétal et insectes.

Références bibliographiques

- [1] Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed
Techniques et documentations. Paris, Pp 227-310-312-313-314.494
- [2] Lugasi A., Hovari J., Sagi K., and Biro L., (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta biologica. szegediensi*, **47 (1-4)**:119-125
- [3] King A., and Young G., 1999. characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J of the American dietetic association*. **99**:213-218.
- [4] Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G., 2002. Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies. *Biomed. pharmacother.* **56**: 200-207
- [5] Boizot N., and Charpentier J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, pp 79-82.
- [6] Piquemal G., 2008. Les flavonoïdes (en ligne) : <http://www.detoursante.com/index.php>.
- [7] Karaali A., Boyacioğlu D., Güneş G. et Özçelik B., 2004. Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality, nutrition and health—STREP or CA. European commission's the 6th framework programme for research. Istanbul technical university. Turkey
- [8] Malešev D. et Kuntić V., 2007. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society*, **72 (10)** : 921-939
- [9] Nijveldt R. J., Van Nood E., Van Hoorn D. E. C., Boelens P. G., Van Norren K. et Van Leeuwen P. A. M., 2001. Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American journal of clinical nutrition*, **74** : 418-425
- [10] Ghedira k., 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, **3 (4)** : 162-169
- [11] Medić-Šarić M., Jasprica I., Smolčić-Bubalo A. et Monar A., 2004. Optimisation of chromatography of flavonoids and phenolic acids. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA*, **77 (1-2)** , 361-366
- [12] W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. Et Burrowes J., 2007. Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition*, **137 (3 supp1)** , 718 s-737 s

- [13] Emerenciano V. P., Barbosa K. O., Scotti M. T. et Ferrero M. J. P., 2007. Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of brazilian chemical society*, **18** (5) : 891-899
- [14] Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R., 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, **33** : 2-16
- [15] Malešev D. et Kuntić V., 2007. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society*, **72** (10) : 921-939
- [16] J.F.Gonnet, thèse de doctorat d'état., 1989. Université Claude-Bernard, Lyon.
- [17] A.Manthy-John ; N.Guthrie et K.Ghamann, *Current medicinal chemistry*, 2001, **8**(2), P 135-153
- [18] J.B.Harbone., 1986., 1993. *The flavonoids : advances in research since*. édition Chapman and Hall , London
- [19] M. Paris et M. Hurabielle,), 1981. *Abrégé de matière médicale (pharmacognosie. Tome I*, édition Masson, Paris, New York
- [20] J. Bruneton., 1993. *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales*, P 272-279 Technique et documentation-Lavoisier.
- [21] B. Havsteen ., 1993. *Biochem. Pharmacol*, **32**, P 1141
- [22] L. Ruzicka ., 1959. *Proc. Chem. Soc* , P 541, London
- [23] Stavaric and T.I. Matula., 1992. *Flavonoids in food. Their significance for nutrition and Health* , P 274-294
- [24] H. Cdac ; J.H Wang and E.G ., 1994. *Lien carcinogénité et cancer preventing activities of flavonoids*, P 133-136
- [25] P.R. Avel et coll ., 1987. *La génotoxicité des plantes, plantes médicinales et phytothérapie* Tome XXI(1) , P 63-92
- [26] O. Aruoma ; J.E. Speger, J. Butler and B. Halliwell, *Free Rad. Res.*, 1995, **22**, P 187-190
- [27] E. Middleton ; J.R.C. Kandaswami ., 1992. *Biochem. Pharmacol*, **43**(6), P 1167-1179

- [28] A.Manthy-John ;N.Guthrie et K. Ghamann .,2001. Curent medicinal chemistry,8(2),P 135-153
- [29] P.Ravanel ., 1983.Effet de différents flavonoides sur l'sur l'activité mitochondriale. plantes médicinales et phytothérapie Tome 17(3) , P 165-172
- [30] J.F.Christoferme and G.H.Neil-Towers ., 1992.Phytochemistry,31(9), P 3017-3020
- [31] A.D'arcyLametta ., 1984. Thèse Doctorat d'état, Parie VI
- [32] A.Hérriset ;J.P.Chaumont et R.Paris ., 1973. plantes médicinales et phytothérapie. Tome 7,P 234-240
- [33] A.Kery ;H.A .A.Twaiji et N.R.AL-Khazraji, Herba, hyng.24,P183-194
- [34] N.C.Cook and S.Samman ., 1996. Nutritional biochemistry. 7,P 60-76
- [35] W.Cisonski,Herba pol., 1984,30,P 219-231
- [36] S.H.Ryu ;B.T.Yoo ;B.Z.Ahn et M.Y.Pack, Arch ., 1985 .Der Pharm,318,P 659
- [37] L.Jhonson1., 1999. Antioxydants et Anticancéreux, Biofuture,196 ,P 14-17
- [38] J.Z hao ;Y.Sharma and R.Agrawol ., 1999 .Molecular Carcinogenesis.26(4),P 321-333
- [39] H.Jayeux.,1997. prévenir les cancers du sein.éditionFrancois Xavier de Guibert ed
- [40] R.L.Geahlen ;N.M.Koochanok J.L.Mclanghlin; D.E.Pratt ., 1989. Inibition of proteinkinase activity by flavonoid and related compounds, J.Nat. Prod52(5),P 982-986
- [41] ABDELGHAFOR MARFAK ., (2003) . Biophysique ; Thèse de Doctorat ; Radiolyse Gamma des Flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des Alcools : Formation de Depsides. Univ.Limoges ; Ecole Doctorale Sciences Biologie Santé, Faculté de Pharmacie.
- [42] Audigie C.L., Dupon G. et Zonsgain F., 1995.Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris, p 44
- [43] Bencheikh H., 2005.Contribution à l'étude de la composition, de l'activité antimicrobienne et de la cytotoxicité des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et de *Foeniculumvulgare*. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences,UFA de Sétif
- [44] A.Ismaili,M.Jay .,1989.phytochimcitra,28(11),P 3035-3037
- [45] J.B.,1973.Harborne phytochemical methods.Chapman and Hall

- [46] K.Randerah., 1971. Chromatographie sur couche mince.éditeur Gautier Villard
- [47] A.Hassan.,1976.Thésede doctorat de spécialité(3^{ème} cycle),Lyon
- [48] S.H.Kaundun.,1991.these DEA de Biochimie,ISPB faculté de pharmacie,Lyon
- [49] M.Becchi and D.Press,Biomédical and Environmental.,1989. Mass Spectrometry,18,P122.130

I. Travaux personnels

I.1. Récolte du matériel végétal :

La plante a été récoltée de la région de Bechar (sud algérien), au mois de mai 2010. Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été coupées en petits morceaux et pesées (2171.45 g).

I.2. Extraction :

La poudre du matériel végétal (feuilles et fleurs $m = 881,45\text{g}$) est mise à macérer à température ambiante dans un mélange hydroalcoolique (Ethanol/Eau ; 70/30 ; v/v).

Cette macération est répétée 4 fois avec renouvellement du solvant et dure dans chaque cas de 24 à 48 heures. Après concentration à une température n'excédant pas $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, l'extrait éthanolique est dilué avec de l'eau distillée (400 ml pour 1kg de matière sèche). Après filtration, la solution est devenue rouge-brune. Cette dernière a subi des extractions liquide-liquide successives en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. La figure I résume les différentes étapes de l'extraction jusqu'à l'obtention des extraits bruts.

Les trois phases organique ainsi obtenus (chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) sont filtrées, concentrés à sec sous pression réduite et puis pesées.

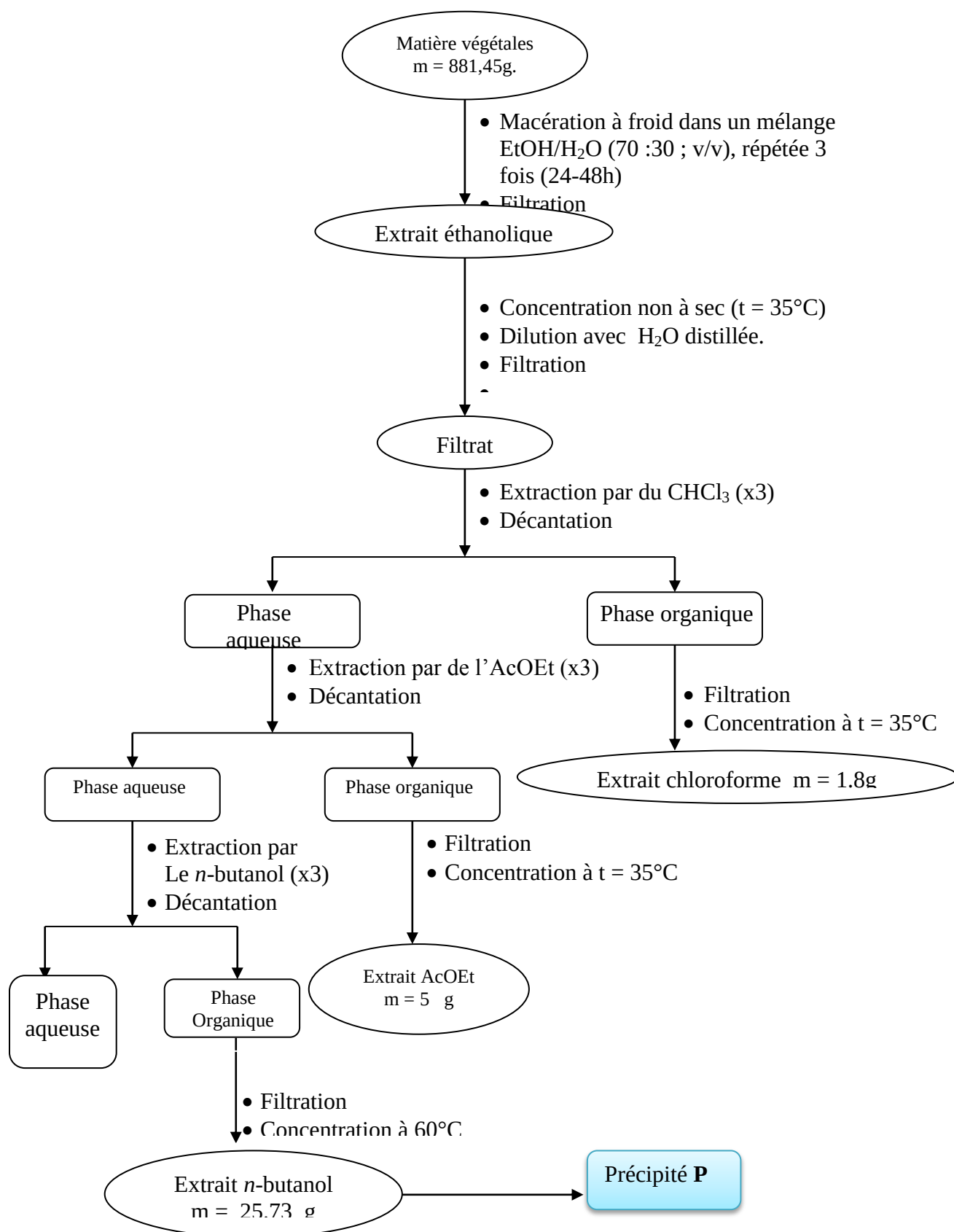


Figure01: Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes (fleurs et feuilles) de *Salvia Aegyptiaca*

I.3.Fractionnement du précipité :

Au cours de la concentration du précipité de l'extrait *n*-butanol, nous avons constaté la formation d'un précipité **P** de couleur marron .d'une masse de 1g que nous avons immédiatement récupéré.

Un premier fractionnement du précipité **P** (0.5 g) a été réalisé par chromatographie d'adsorption sur une colonne de gel de silice (**figure 02**).

Le précipité est déposée sur une colonne de gel de silice, préparée dans le chloroforme. L'élution a été réalisée par du chloroforme enrichi progressivement en acétate d'éthyle .Les fractions recueillies sont regroupées suivant la similitude de leur profil chromatographique sur couches minces de gel de silice déposées sur feuilles d'aluminium (Merck) qui après développement dans des cuves en verre avec des systèmes adéquats, ont été visualisées à la lumière du jour et sous lampe UV à 254 et 365 nm, Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau 01**



Figure02 : montage de chromatographie sur colonne

Tableau 01: Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne du précipité **P**

Fraction	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12
Solvant % (CHCl ₃ /AcOEt)	100 :0	97,5 :2,5	95 :5	90 :10	85 :15	80 :20	70 :30	60 :40	50 :50	40 :60	20 :80	0 :100

Dans un évaporateur rotatif les fractions ont été séchées pour éliminer rapidement de grandes quantités de solvant. La fraction est mise en rotation dans un ballon. Ensuite, la pression est diminuée grâce à une pompe à vide et la fraction est chauffée en fonction du solvant à éliminer(chloroforme ou acétate d'éthyle)(**figure 03**).



Figure03 : l'évaporateur rotatif

I.4. Séparation sur couche mince :

À l'aide d'une seringue, des dépôts des fractions étaient effectués de façon linéaire sur une plaque chromatographie sur couche mince (CCM). Le milieu d'élution (chloroforme : méthanol, 9 : 1) était préparé puis ajouté dans un cuve et laissé une heure avant d'y faire migrer les plaques.

Les différents dépôts étaient espacés de 1 cm afin de prévenir la superposition des taches. Ensuite la plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié (**figure 04**)

Après migration, la plaque était séchée à l'air puis observée à l'aide d'une lampe UV à deux longueurs d'onde (254 nm et 366 nm). Les taches apparentes ont été notées au crayon plomb pour chaque longueur d'onde (**figure 05**)

La fraction 1 (21,21mg) a été séparé sur plaque de gel de silice éluee par le système : (chloroforme : ACOEt, 9 : 1), pour donner le produit **P1** (m=1,5mg), d'une couleur jaune sous la lampe UV 365nm (**figure 06**).



Figure04: La plaque dans le système de Solvant.



Figure05: Lampe Ultra-violet 254-365nm.

Produit P1

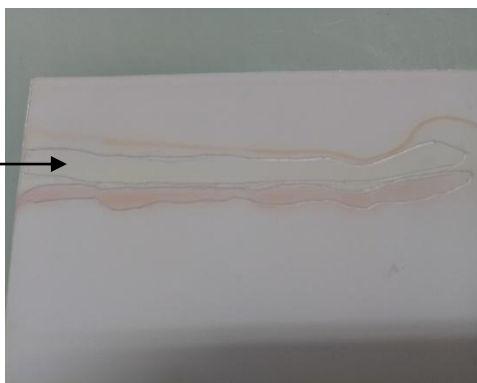


Figure 06 :Séparation de fraction 1 sur CCM dans le système (CHCl_3 : AcOEt 9 :1)

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son rapport frontal R_f , calculé par la formule suivante :

$$R_f = d / D$$

d : la distance parcourue par la molécule.

D : la distance parcourue par la phase mobile (front du solvant).

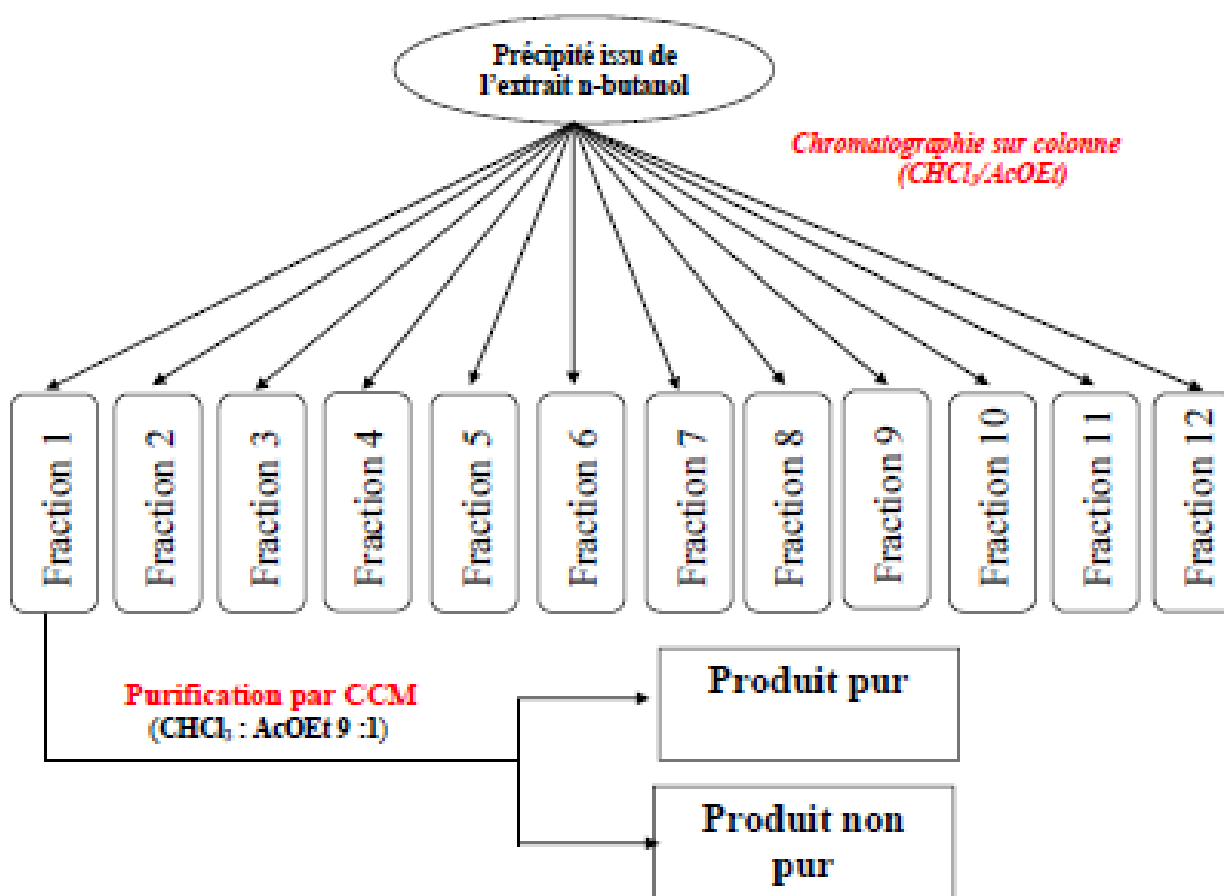


Figure07 : schéma de purification du précipité

II. Extraction de l'huile essentielle de *Salvia Aegyptiaca*

II.1. Procédé d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydro distillation en utilisant l'appareil de clévenger. il est constitué d'un chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon. Celui-ci est en général en verre pyrex dans lequel on place le matériel végétal séché et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon, un collecteur qui reçoit les produits de la distillation.

Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé par l'acétone puis l'eau distillée pour éviter toute contamination. Dans un ballon, on ajoute 100 g des parties aériennes de la plante (feuilles + tiges) (**figure 08**) sont mises en contact avec 900 ml d'eau distillée dans le ballon. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3h et 30min. L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après repos du liquide (**figure 09**). En ajoutant du sulfate de sodium (Na_2SO_4) pour absorber l'eau qui est présente dans l'huile.



Figure 08: Matière végétale



Figure 09: Appareil de clévenger

II.2. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\boxed{\text{RHE (\%)} = (\text{MHE} / \text{MS}) \times 100}$$

- ✓ **RHE** : rendement en huile essentielle de la partie aérienne de la plante.
- ✓ **MHE** : le poids de l'huile extraite (mg).
- ✓ **MS** : le poids de la matière végétale sèche (mg).

III- Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu[1]. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross, 1965) [2] en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 µl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à **765 nm**.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml).

IV-Etude de l'activité antioxydant :

Pour évaluer l'effet antioxydant des extraits de la plante *Matricaria pubescens*, deux techniques ont été réalisées : en utilisant le radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et la technique FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

IV.1.Méthode DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl)

IV-1-1-Principe

L'activité anti radicalaire des composés polyphénoliques contenus dans les extraits préparés est évaluée en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH (2,2'-diphényl picrylhydrazyl) sa couleur violette foncée se transforme en jaune lors de sa réduction (capté par les produits testés) [3].

IV.2. Activité anti-radicalaire par inhibition du DPPH :

Afin d'étudier l'activité anti radicalaire, des différents extraits, 50 µl de chacune des différentes concentrations d'extraits ou de standard (quercétine, rutine et BHT) ont été incubés avec 1.25 ml d'une solution méthanoïque de DPPH à 0.004 %. Après une période d'incubation de 30 minutes, la réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH est suivie par spectroscopie visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH à 517 nm. La capacité antioxydant d'extrait est déterminée en évaluant le pourcentage d'inhibition de l'absorbance du radical DPPH :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}$$

- ✓ **A_{échantillon} : Absorbance avec antioxydant**
- ✓ **A_{contrôle} : Absorbance sans antioxydant**

Les pourcentages d'inhibition déterminés, nous permettent de calculer la valeur du paramètre IC₅₀ (concentration d'inhibiteur) qui représente la concentration de la substance nécessaire pour diminuer de 50% la concentration des radicaux libres dans le milieu réactionnel. Chaque mesure est réalisée en du plicate .

Le DPPH initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (Figure 10). Cette décoloration est représentative de la capacité des antioxydants à piéger ces radicaux libres indépendamment de toute activité enzymatique. Ce test nous permet donc d'obtenir des informations sur le pouvoir antioxydant direct de nos composés.

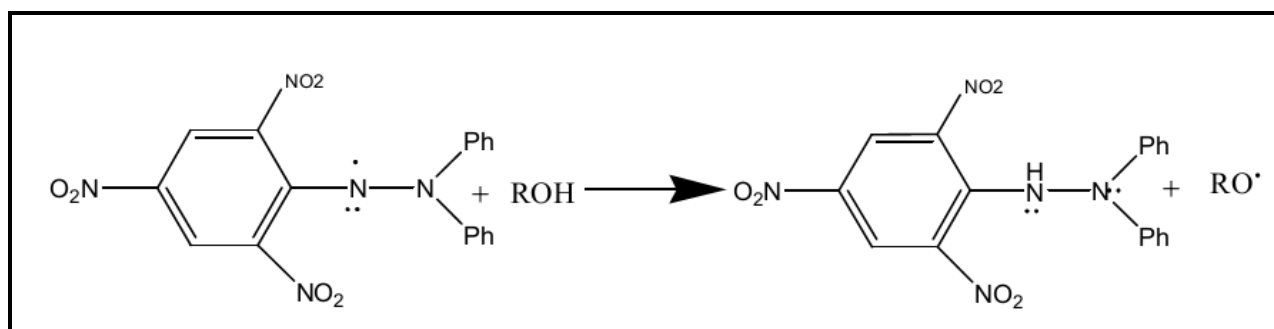


Figure 10 : Forme libre et réduite du DPPH.

Références bibliographiques

- [1] V.L.Singleton, R.Orthofer, R.M.Lamuela-Raventos., 1999. "Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent" *Methods Enzymol*, Vol. (299), Page 152
- [2] V.L.Singleton, J.R.Rossi., 1965. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid" *Am. J. Enol. Vitic*, Vol. (16), page 144
- [3] N. Zeghad., 2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne Mémoire de Magister Université de Constantine, p 17-19-41-69

I. Identification du produit isolé de précipité P de la phase *n*-butanol

1. Elucidation du composé P1 :

Ce produit se présente sous forme d'un précipité jaune de fluorescence jaune sous lampe UV à 365 nm.

➤ Spectroscopie UV

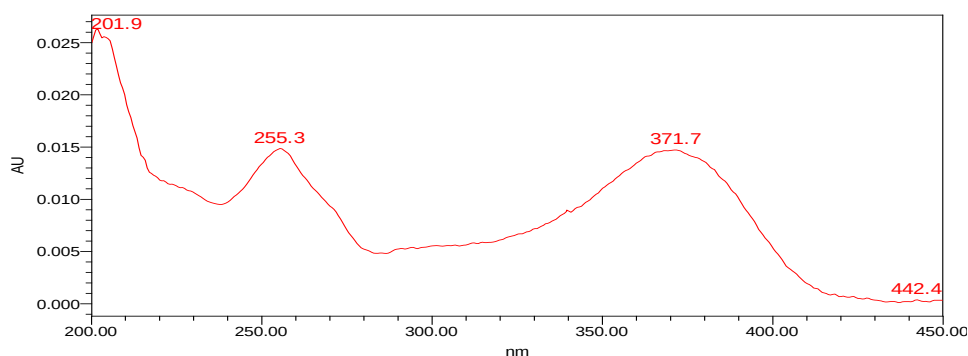
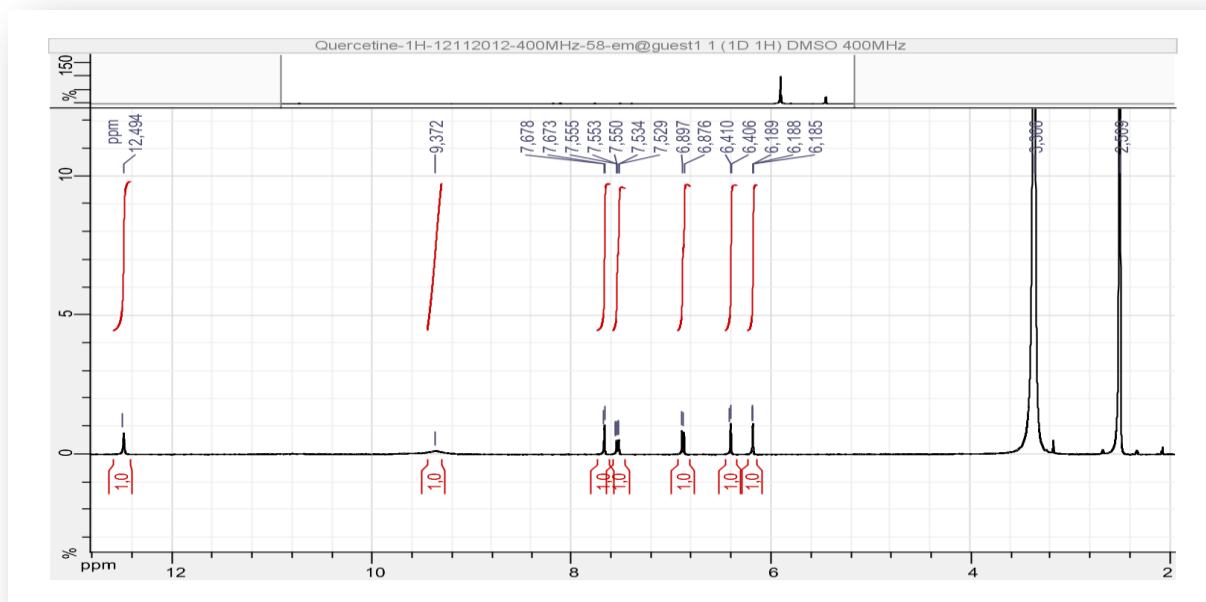


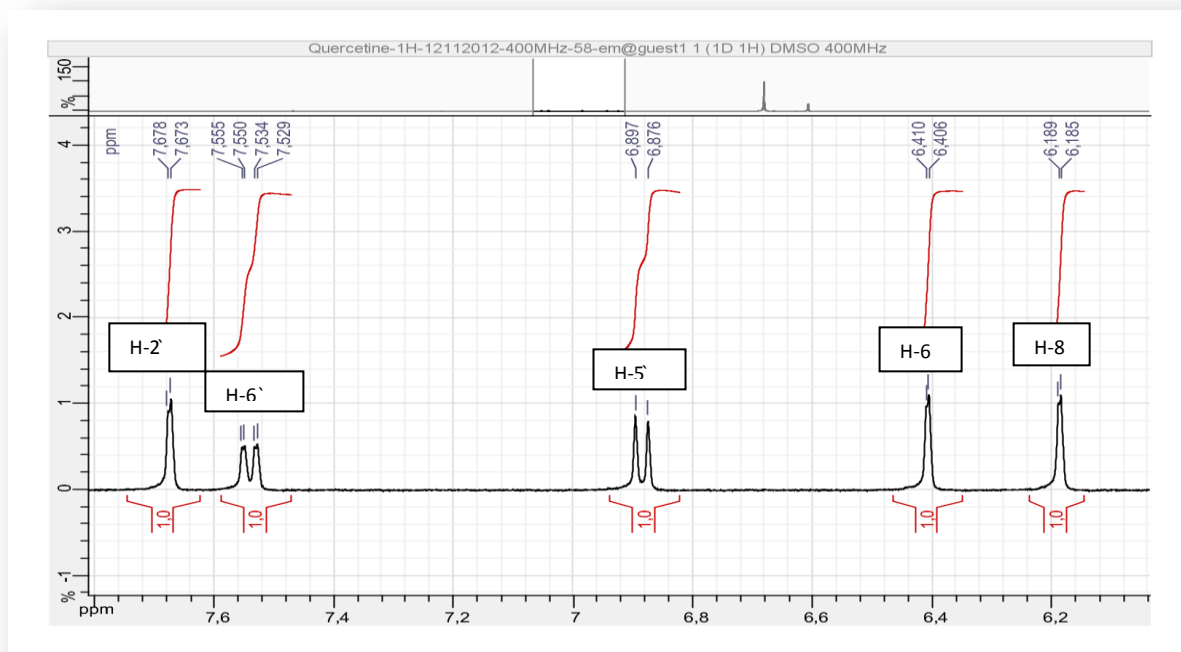
Figure 01 : spectre UV-visible du composé **P1**.

Le spectre d'absorption ultraviolette enregistré dans le méthanol (Figure 01) donnant la valeur de la longueur d'onde d'absorption maximale de la bande I à 371,7 nm, oriente vers la structure d'un flavonol.

➤ Spectroscopie RMN



Spectre n°1: spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , ppm) du composé **P1**.



Spectre n°2: spectre RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , ppm) du composé **P1**.

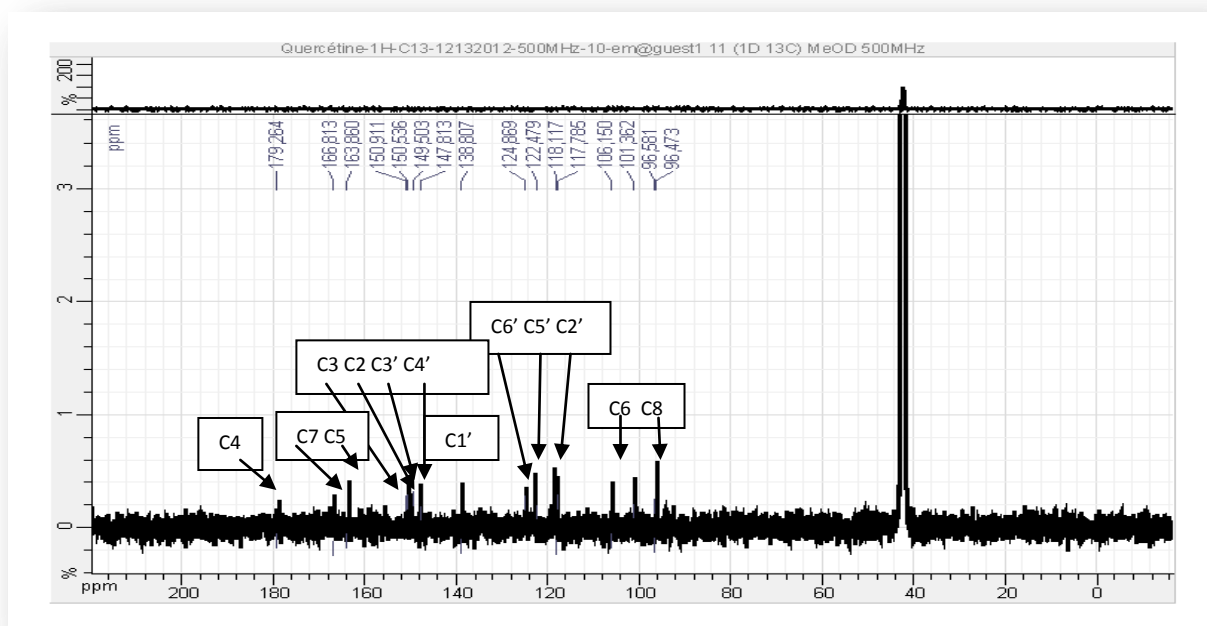
Le spectre RMN-1H (Spectre n°2) et son étalement (spectre n°3, spectre n°4 et spectre n°5) donnent les indications suivantes :

- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6,18$ ppm ($J = 1,6$ Hz) attribuables à H-8.
- ✓ Un doublet d'intégration 2H à $\delta_{\text{H}} = 6,41$ ppm ($J = 1,6$ Hz) attribuables à H-6.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6,88$ ppm ($J = 8,4$ Hz) attribuables à H-5'.
- ✓ Un doublet de doublet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 7,54$ ppm ($J = 9,6$; 2Hz) attribuable à H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 7,67$ ppm ($J = 2$ Hz) attribuable à H-2'.
- ✓ Un singlet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 12,49$ ppm attribuable à OH-5.

Les données de RMN ^1H sont reportées sur le tableau suivant :

Tableau 1 : Données de RMN ^1H

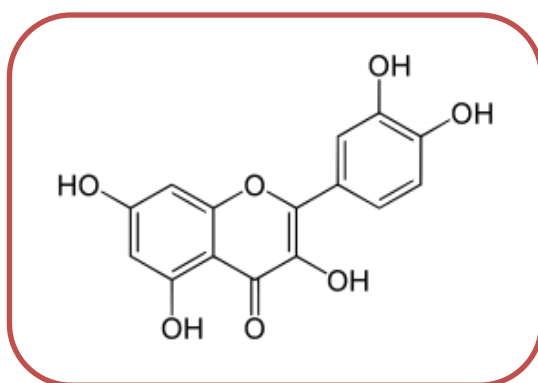
Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
6,18	1H	(d, 1,6)	H-8
6,4	1H	(d, 1,6)	H-6
7,67	1H	(d, 2)	H-2
6,88	1H	(d, 8,4)	H-5
7,54	1H	(dd, 9,6, 2)	H-6'
12,49	1H	s	OH-5



Spectre n°6 : spectre RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6 , ppm) du composé **P1**.

Cette structure est encore confirmée par le spectre RMN ^{13}C (spectre n°5) qui donne 15 atomes de carbones dont cinq signaux éthyléniques résonants à (93,36 ; 98,19 ; 115,05 ; 119,98 et 121,96 ppm). Selon la littérature, ces déplacements chimiques sont caractéristiques des carbones (C-8, C-6, C-2', C-5' et C-6') respectivement.

L'ensemble des données de RMN ^1H , RMN ^{13}C et HR-ESI-MS mènent à la structure de **La quercétine**.



2. Dosage des Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisé par une solution étalon (quercetine) à différentes concentration.

Les quantités des polyphénols correspondantes de l'extrait a été rapportée en équivalent gramme de quercetine et déterminé par l'équation de type : $y = 0.1657x - 0.1125$

Le contenu des composés phénoliques a été déterminé par la méthode de Folin-ciocalteu. Le précipité issu de l'extrait butanolique présente $5.58 \pm 0.63 \text{ mgEAT/g}$ d'extrait sec de la plante.

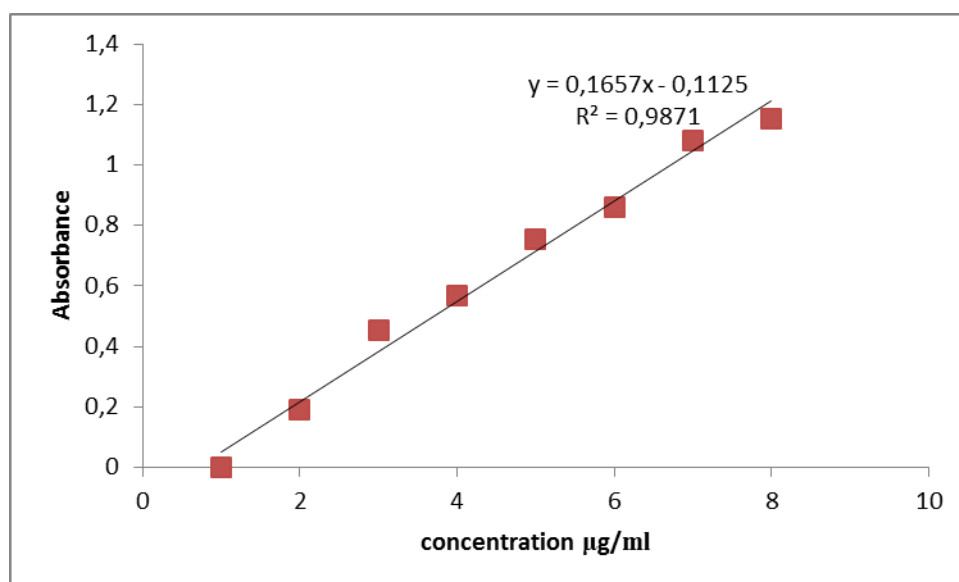


Figure 03: La courbe d'étalonnage de la quercetine

3. Evaluation de l'activité antioxydante DPPH de l'extrait *n- butanol*

L'activité anti-radicalaire de l'extraits de la plante *Salvia Aegyptiaca* a été testée par la méthode du radical libre DPPH.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de courbe suivante :

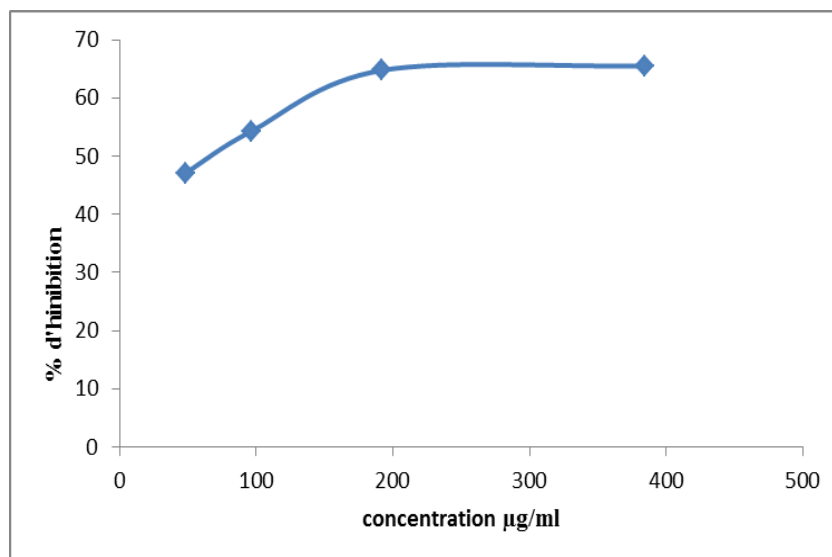


Figure 04 : Effet scavenger contre le radical DPPH du précipité de l'extrait *n-butanol* à différentes concentrations.

Calcul des IC50

Il faut savoir aussi que l'IC50 est la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres, c'est le paramètre utilisé pour mesurer l'activité de l'extrait à piéger le radical libre [1], il est inversement lié à la capacité antioxydant d'un composé car une faible valeur d'IC50 indique une forte efficacité antioxydant de l'extrait [2].

L'analyse des résultats de IC50 de notre extraits ,montre que précipité **P** et la quercetine ont un IC50 de (25,2µg/ml), et (3,22µg/ml), respectivement.

On constate que l'activité antioxydante du précipité P est faible par rapport au quercetine.

II.. Etude de l'huile essentielle de *Salvia Aegyptiaca*

1. Le rendement

Les huiles essentielles ont été extraites à partir des feuilles et tiges de la plante *Salvia Aegyptiaca* par hydrodistillation sur un appareil de Clevenger. L'échantillon d'huile essentielle est récupéré, puis conservé au réfrigérateur.

$$\text{RHE \%} = (\text{MHE/MS}) \times 100$$

$$= (0,195/100) \times 100$$

$$\text{RHE \%} = 0,195\%$$

Nous avons observé le rendement d'extraction des huiles essentielles est faible, il est égal à **0.195%**. ce résultat est différent que les résultat trouvé par [3], France (2.05%), Hongrie (2.50%), Portugal (2.90%), Roumanie (2.30%) [4], Tunisie :Djebel ouest (2.55%) et Algérie (0,08%) [5].

Référence bibliographie :

- [1] Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C., 1992. Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure- activity relationship. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 56, 324-325
- [2] Babovic N, Djilas S, Jadranin M, Vajs V, Ivanovic J, Petrovic S, Zizovic I., 2010. Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 11:98-107
- [3] Chalchat, J.C., Michet, A., Pasquier, B., 1998. Study of clones of *Salvia officinalis* L. Contents and chemical composition of essential oil. *Flavour Frag J* 13:68-70
- [4] Fellah, S., Romdhane, M., Abderraba, M., 2006. Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie, *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 16(2), 193-202
- [5] Djeddi, S., Bouchenak, N.S., Settar, I., Halli, L., 2012. Screening of chemical composition and antimicrobial potential of Algerian sage essential oil. *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 1(1), 46-49

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale ; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiées de métabolites secondaires.

Le présent travail a été consacré sur la détermination structurale des composés issues de l'extrait n-butanol, dosage des polyphénols ainsi que l'activité antioxydant de cette extrait .

Au cours de nos travaux, nous avons isolé un flavonoïde de type flavonol (Quercétine) à partir de cette plante. La méthodologie de purification a été essentiellement fondée sur la combinaison de différentes méthodes chromatographiques solide-liquide sur différents supports (chromatographie sur couche mince et sur colonne). La structure a été établie par la combinaison des données spectrales notamment :la spectroscopie d'absorption ultraviolette ,RMN-¹H et RMN -¹³C.

L'huile essentielle issue de différents organes de cette plante, a été extraite par hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur de type clevenger.

Dans cette partie, il ressort que la plante étudiée est de faible rendement en huiles essentielles (0,195%).

L'évaluation de l'activité antioxydante du précipité issu de l'extrait butanolique par la méthode de piégeage de radical libre DPPH, a montré que cette extrait a une activité antioxydant faible avec une IC50 (25.22µg/ml).

Résumé :

Ce travail fait partie de notre programme de recherche sur les plantes médicinales algériennes du genre *Salvia*.

Les études que nous avons entreprises concernent les déterminations des composés phénoliques isolés du «genre *Salvia*», ces études sont une poursuite des résultats précédents sur les métabolismes secondaires de cette espèce.

L'isolement des composés et leur purifications, basé sur l'utilisation d'une combinaison de méthodes chromatographiques, et leur détermination structurale grâce à l'utilisation de techniques spectroscopique, telles que la spectroscopie d'absorbance, et la résonance magnétique nucléaire.

Ensuite ; on détermine l'activité antioxydant de l'extrait et de huile essentielle par le test de DPPH ; et on détermine les taux d'inhibition par calculer le moment IC50 des échantillons étudiés.

Mots clés : genre *Salvia*, poly phénol, flavonoïde, antioxydants, radical libre, IC50.

Summary:

This work is part of our research program on Algerian medicinal plants of the genus *Salvia*.

The studies we have undertaken concern the determinations of phenolic compounds isolated from the "*Salvia* genus", these studies are a continuation of the previous results on the secondary metabolisms of this species.

The isolation of the compounds and their purifications based on the use of a combination of chromatographic methods, and their structural determination through the use of spectroscopic techniques, such as absorbance spectroscopy, and nuclear magnetic resonance.

Then; the anti oxidant activity of the extract and essential oil is determined by the DPPH test; and the inhibition coefficients were determined by calculating the IC50 moment of the samples studied.

Key words: *Salvia* genus, poly phenol, flavonoid, antioxidants, free radical, IC50.

ملخص:

هذا العمل جزء من برنامجنا البحثي حول النباتات الطبية الجزائرية من جنس *سالفيا*.

الدراسات التي أجريناها تتعلق بتحديد المركبات الفينولية المعزولة من "جنس *سالفيا*" ، وهذه الدراسات هي استمرار للنتائج السابقة على الأيضات الثانوية لهذا النوع.

عزل المركبات وتنقيتها ، بناءً على استخدام مجموعة من الأساليب الكروماتوغرافية ، وتصميمها الهيكلي من خلال استخدام التقنيات الطيفية ، مثل التحليل الطيفي للامتصاص ، والرنين المغناطيسي النووي.

ثم؛ يتم تحديد نشاط مضادات الأكسدة في المستخلص والزيوت الأساسية من خلال اختبار DPPH ؛ وتم تحديد سعال تثبيط من خلال حساب لحظة IC50 من العينات التي شملتها الدراسة.

الكلمات المفتاحية: جنس *سالفيا* ، بولي فينول ، فلافونويد ، مضادات الأكسدة ، جذور حرة ، IC50.

Résumé :

Ce travail fait partie de notre programme de recherche sur les plantes médicinales algériennes du genre *Salvia*.

Les études que nous avons entreprises concernent les déterminations des composés phénoliques isolés du «genre *Salvia*», ces études sont une poursuite des résultats précédents sur les métabolismes secondaires de cette espèce.

L'isolement des composés et leur purifications, basé sur l'utilisation d'une combinaison de méthodes chromatographiques, et leur détermination structurale grâce à l'utilisation de techniques spectroscopique, telles que la spectroscopie d'absorbance, et la résonance magnétique nucléaire.

Ensuite ; on détermine l'activité antioxydant de l'extrait et de huile essentielle par le test de DPPH ; et on détermine les taux d'inhibition par calculer le moment IC50 des échantillons étudiés.

Mots clés : genre *Salvia*, poly phénol, flavonoïde, antioxydants, radical libre, IC50.

Summary:

This work is part of our research program on Algerian medicinal plants of the genus *Salvia*.

The studies we have undertaken concern the determinations of phenolic compounds isolated from the "*Salvia* genus", these studies are a continuation of the previous results on the secondary metabolisms of this species.

The isolation of the compounds and their purifications based on the use of a combination of chromatographic methods, and their structural determination through the use of spectroscopic techniques, such as absorbance spectroscopy, and nuclear magnetic resonance.

Then; the anti oxidant activity of the extract and essential oil is determined by the DPPH test; and the inhibition coughs were determined by calculating the IC50 moment of the samples studied.

Key words: *Salvia* genus, poly phenol, flavonoid, antioxidants, free radical, IC50.

ملخص:

هذا العمل جزء من برنامجنا البحثي حول النباتات الطبية الجزائرية من جنس *سالفيا*.

الدراسات التي أجريناها تتعلق بتحديد المركبات الفينولية المعزولة من "جنس *سالفيا*" ، وهذه الدراسات هي استمرار للنتائج السابقة على الأيضات الثانوية لهذا النوع.

عزل المركبات وتنقيتها ، بناءً على استخدام مجموعة من الأساليب الكروماتوغرافية ، وتصميمها الهيكلي من خلال استخدام التقنيات الطيفية ، مثل التحليل الطيفي لامتصاص ، والرنين المغناطيسي النووي.

ثم؛ يتم تحديد نشاط مضادات الأكسدة في المستخلص والزيوت الأساسية من خلال اختبار DPPH ؛ وتم تحديد سعال تثبيط من خلال حساب لحظة IC50 من العينات التي شملتها الدراسة.

الكلمات المفتاحية: جنس *سالفيا* ، بولي فينول ، فلافونويد ، مضادات الأكسدة ، جذور حرة ، IC50.