

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT : CHIMIE  
N° :



DOMAINE : science de matière  
FILIERE : CHIMIE  
OPTION : Pharmaceutique

Mémoire présenté pour l'obtention  
Du diplôme de Master

Par: KECHIDA Kheira  
MEGHICHE Malika

Intitulé

**Recherche et détermination structurale des  
métabolites secondaires de l'espèce  
*Saccocalyx Satureioides***

**Soutenu devant le jury composé de:**

BOUCHELOUCHE Kenza	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	Président
MERITATE Faiza	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	Examineur
MOHAMAD Sabrina	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	Rappeur

**Année universitaire : 2018 / 2019**

# Dédicace

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut ..... Toutes les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que*

*Je dédie ce mémoire A mes perfectes parents :*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulé, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*A mes chères sœurs et mes frères:*

*j'adore vous et que j'aime profondément. En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant vous protège et vous garde.*

*Et mon binôme Malika*

*A mes amis*

*A toute la famille Kechida et Hachemi à toutes les personnes ceux que j'ai oublié de citer.*

*kenza*

# Dédicace

*Je dédie mon travail à :*

*Les plus chères dans ma vie mes parents*

*À mon destin dans la vie mon professeur Elmahdi Bensawcha*

*Mes sœurs : Sameh, Souad, Nadia et ses petites filles Malak et  
Amel*

*Mes frères : Bilal, Tayeb, Achref et Mohammed*

*Toutes mes amies surtout Wiamou, Hinata, Hadjer, Chama,  
Chaima, Amel, Zahra, Hanen et leila*

*Je dédie mon travail aussi à :*

*Mon cher binôme kenza*

*Malika*

# *Remerciement*

*Tout d'abord, Nous remercions Dieu pour nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour achever ce travail qui a été réalisé au sein du laboratoire de la faculté des sciences, université de M'sila pour cela nous tenons à remercier son directeur Pr. Dakhouche*

*Nous souhaitons à adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide qui a contribué à l'élaboration de ce travail.*

*La première personne que nous tenons à remercier notre promotrice Dr. Mohamadi Sabrina, nous a remerciés pour sa gentillesse et sa spontanéité avec lesquelles elle a bien voulu diriger ce travail.*

*Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous sa direction et nous avons trouvé auprès de lui le conseil et le guide qui nous avons reçu en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance.*

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

*Enfin, nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Sommaire*

Introduction générale .....	1
Références .....	3
<b>Chapitre I : Etude bibliographique du genre <i>SaccocalyxSatureioide</i></b>	
<b>Introduction</b> .....	4
1. Distribution des Labiacées.....	4
1.2. Utilisation des Labiacées.....	4
1.3. Etude botanique de l'espèce <i>SaccocalyxSatureioides</i> .....	4
1.4. Usages traditionnels .....	5
1.5. Distribution géographique .....	5
<b>2. Etude phytochimique et botanique de l'espèce <i>SaccocalyxSatureioïdes</i></b> .....	6
2.1. Place dans la systématique.....	6
2.2. Description botanique .....	6
2.3. Activités biologiques.....	7
2.4. Intérêt écologique .....	7
2.5. Intérêt pharmacologique .....	7
<b>3. Etude des huiles essentielles de l'espèce <i>SaccocalyxSatureioides</i></b> .....	8
1. Composition chimique des huiles essentielles de <i>SaccocalyxSatureioides</i> .....	8
<b>Conclusion</b> .....	10
<b>Références bibliographique</b> .....	11
<b>Chapitre II : les métabolites secondaires</b>	
<b>INTRODUCTION</b> .....	12
<b>1. Les métabolites secondaires</b> .....	12
1.2. Différentes classes des métabolites secondaires .....	12

1.2.1. Les terpènes .....	12
1.2.2. Les alcaloïdes.....	13
1.2.3. Les Composés phénoliques .....	14
1.2.3.1. Principales classes des composés phénoliques .....	14
1.2.3.1.1. Les acides phénoliques simples .....	14
1.2.3.1.2. Coumarines .....	15
1.2.3.1.3. Les flavonoïdes .....	15
1.2.4. Les huilesessentielle .....	17
<b>2. Les techniques chromatographiques de séparation .....</b>	<b>17</b>
2.1. Chromatographie sur colonne .....	17
2.2. Chromatographie sur couche mince .....	17
2.3. Chromatographie sur papier .....	18
2.4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	19
2.5. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP) .....	19
<b>3.Les techniques d'analyse et d'identification structurale.....</b>	<b>20</b>
3.1. La spectrophotométrie UV .....	20
3.2. La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) .....	20
3.3. La spectrométrie de masse (SM).....	21
3.4. Spectroscopie Infrarouge (IR) .....	21
<b>Références bibliographique .....</b>	<b>23</b>
<b>Chapitre III : partie expérimentale</b>	
<b>Travaux personnel .....</b>	<b>25</b>
Récolte du matériel végétal .....	25
1. Extraction .....	25

2. Fractionnement de l'extrait chloroforme .....	27
3. Séparation sur couche mince .....	29
4. Purification de la fraction de F6, F7 et F8.....	29
<b>5. Activité antioxydant des extraits chloroformiques .....</b>	<b>31</b>
<b>6. Dosage des composés phénoliques .....</b>	<b>32</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>33</b>
<b>Références bibliographique .....</b>	<b>34</b>
<b>Chapitre IV: Résultats et discussion</b>	
1. Diagnostic par chromatographie analytique sur couche mince .....	35
2. Identification de produit isolé de l'extrait Chloroforme.....	35
2.1.Elucidation de composé B1 .....	35
2.2.Spectrophotométrie UV .....	35
2. 3.Spectroscopie RMN .....	36
<b>3. Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>40</b>
<b>4. Evaluation de l'activité antioxydant .....</b>	<b>41</b>
4.1.Piégeage du radical libre DPPH .....	41
4.2.Calcul des IC50 .....	42
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>43</b>

## *Liste des figures*

<b>Fig 1 :</b> <i>SaccocalyxSatureioides</i> .....	6
<b>Fig. 2 :</b> Extraction des parties aériennes (fleurs et feuilles) de <i>SaccocalyxSatureioides</i> .....	26
<b>Fig. 3:</b> Fractionnement de l'extrait CHCl <sub>3</sub> sur colonne. ....	27
<b>Fig. 4 :</b> les fractions obtenues.....	28
<b>Fig. 5 :</b> Séparation des fractions sur CCM.....	29
<b>Fig.6 :</b> les trois fractions F6, F7, F8 .....	29
<b>Fig.7:</b> Les fractions sur plaque CCM sous UV 254 et 365nm .....	30
<b>Fig.8 :</b> Schéma récapitulatif de la séparation de l'extrait CHCl <sub>3</sub> .....	31
<b>Fig.9 :</b> produit purifié B1 à 254nm.....	35
<b>Fig.10 :</b> Spectre UV_visible du composé .....	35
<b>Fig. 11 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux. ....	41
<b>Fig. 12 :</b> <i>Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait de SaccocalyxSatureioides</i> .....	41

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Composition chimique des huiles essentielles de <i>SaccocalyxSatureioides</i> .....	9
<b>Tableau 1</b> : Composition chimique des huiles essentielles de <i>SaccocalyxSatureioides</i> (suite) .....	10
<b>Tableau 2</b> : Classification des triterpènes .....	13
<b>Tableau 3</b> : Principaux acides hydroxybenzoïques.....	14
<b>Tableau 4</b> : Principaux acides hydroxycinnamiques .....	15
<b>Tableau 5</b> : Principaux types de coumarines .....	15
<b>Tableau 6</b> : Principales classes des flavonoïdes .....	16
<b>Tableau 7</b> : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait CHCl <sub>3</sub> .....	28
<b>Tableau 8</b> : données de la spectroscopie de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C (MeOH-d <sub>4</sub> , 400 MHz ) du composé B1.....	40

### *Liste des abréviations*

<b>°C</b>	Degré Celsius
<b><math>\Delta c</math></b>	Déplacement chimique du carbone (ppm)
<b><math>\delta H</math></b>	Déplacement chimique du proton (ppm)
<b><math>\mu l</math></b>	Microlitre
<b>AcOET</b>	Acétate d'ethyl
<b>A<sub>contrôle</sub></b>	Absorbance du contrôle
<b>A<sub>échant</sub></b>	Absorbance des extraits testés
<b>C</b>	Concentration
<b>C</b>	carbone
<b>CC</b>	Chromatographie sur colonne
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche mince
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Chloroforme
<b>CI50</b>	Concentration inhibitrice de 50% de la population cellulaire
<b>COSY</b>	Correlated Spectroscopy
<b>CPG</b>	Chromatographie en phase gazeuse
<b>D</b>	Doublet
<b>Dd</b>	Doublet de doublet
<b>DO</b>	Densité Optique
<b>DPPH</b>	Diphényl-picrylhydrazyle
<b>FAB</b>	Fast Atom Bombardement
<b>g</b>	gramme
<b>GC-MS</b>	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
<b>h</b>	Heure

<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
<b>HPLC</b>	Chromatographie Liquide à Haute Performance
<b>HSQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Correlation
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IE</b>	Impact Électronique
<b>IR</b>	Infra Rouge
<b>J</b>	Constante de couplage
<b>L</b>	Litre
<b>M</b>	Molarité
<b>M</b>	Multiplet
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>mg</b>	milligramme
<b>ml</b>	millilitre
<b>mm</b>	millimètre
<b>mm</b>	millimètre
<b>MS</b>	Spectrométrie de mass
<b>NaOH</b>	bicarbonate de sodium
<b>nm</b>	nanomètre
<b>NOESY</b>	NuclrarOverhauserEffectSpectroscopy
<b>Ppm</b>	Partie par million
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Résonance magnétique nucléaire du proton
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Résonance magnétique nucléaire du carbone
<b>R<sub>f</sub></b>	rapport frontal
<b>S</b>	Singulet
<b>SM</b>	Spectrométrie de masse
<b>T</b>	Triplet
<b>T</b>	Température
<b>UV</b>	ultra-violet

**UV\_VIS** ultra-violet visible

**V** Volume



*Introduction générale*

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes sont caractérisées par leur pouvoir thérapeutique. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique [1].

Dans la plupart des cas, l'activité biologique des métabolites secondaires est reconnue bien avant la détermination de leurs structures chimiques[2]. Il est néanmoins important de noter que la nature active de ces composés peut engendrer des effets bénéfiques, aussi bien que des effets néfastes, sur les organismes vivants.

*Saccocalyx Satureioides* est une plante médicinale largement utilisée par la population algérienne, notamment dans la médecine traditionnelle.

La valeur thérapeutique de cette plante est due à ses métabolites secondaires, notamment les huiles essentielles et les composés phénoliques. La concentration de ces molécules peut varier d'un organe à l'autre de la même plante.

Les composés phénoliques constituent une richesse largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique[3]. L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification[4].

La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé[1]. Parmi les divers procédés utilisés, on compte l'extraction par macération dans le méthanol aqueux et l'extraction par décoction ou avec de l'eau chaude. L'extraction par décoction ou avec de l'eau chaude est un procédé très utilisé traditionnellement par la population algérienne, soit dans la préparation des boissons les plus populaires comme le thé ou dans les préparations traditionnelles à base de plantes médicinales.

Notre travail a été effectué et présenté dans cette mémoire qui a été consacré sur la recherche et détermination des substances naturelles présentes dans les parties aériennes de l'espèce *Saccocalyx satureioides*.

- ✓ Le premier chapitre porte sur l'étude bibliographique, botanique et phytochimique sur le l'espèce *Saccocalyx Satureioides*.
- ✓ Le deuxième chapitre consiste à l'étude des métabolites secondaires et les méthodes de séparation et purification.
- ✓ Le troisième chapitre est consacré au travail personnel consistant en la séparation et la purification de composé obtenu.

- ✓ Dans le quatrième chapitre, nous reportons l'interprétation des résultats et la détermination structurale de composé isolé.
- ✓ Une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus.

## References bibliographiques

- [1]Tyihák E., Móricz Á M and Ott P.G., 2007. Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography inPhytochemistry. *CRC Press*.
- [2]Sofowera A., 2010. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique.Karthala, *Economie et Développement*. Paris: 384
- [3]Nkhili E ., 2009. Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ionsdu fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. *Thèse de doctorat*. Université Cadi Ayyad – Marrakech.
- [4]Mahmoudi S., Khali M et Mahmoudi N., 2013. Etude de l'extraction descomposés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynarascolymus l.*). *Nature & technologie*. b- sciences agronomiques et biologiques,N° 09 : 35-40.

*Etude bibliographique*  
*du genre Saccocalyx*  
*Satureioides*

## Introduction

Les lamiacées, encore parfois appelées labiées ou labiatées, sont une famille de plantes dicotylédones, très riche, particulièrement utilisée par l'homme. Plantes aromatiques, les Lamiacées soignent, parfument plats ou cosmétiques, décorent les potées et les massifs ou sont cultivées au potager. En France, la famille est très représentée dans la flore naturelle, elle montre d'ailleurs des caractères typiques très faciles à reconnaître pour le botaniste débutant.

### 1. Distribution des Lamiacées

Les Lamiacées sont présentes dans quasiment toutes les parties du monde. Mais une profusion d'espèces est regroupée dans les garrigues méditerranéennes, donc principalement en milieu ouvert. Les plantes appartenant à la famille des Lamiacées 6700 espèces de lamiacées sont réparties en 250 genres, dont, dernièrement, une cinquantaine ajoutées en provenance des Verbénacées après analyse moléculaire ; c'est à dire si ces familles sont proches.

### 2. Utilisation des Lamiacées

Dans les jardins les lamiacées sont incontournables : utiles, belles, odorantes, culinaires, mellifères. De nouvelles variétés ou espèces de sauges ornementales ne cessent d'apparaître chez les producteurs, quand les plantes aromatiques ou médicinales classiques ne démodent jamais. Quelques espèces forestières asiatiques sortent des sentiers battus : *Lamium orvala*, *Keiskea*, *Leucosceptrum*, qui sont de belles et sculpturales plantes au feuillage intéressant[1]. Certaines lamiacées sont très connues du grand public comme les: bugles, brunelles, lamiers, lavandes, menthes, basilics, origans et marjolaines, romarins, sauges, sarriettes, épiaires, germandrées, les thym et le *Saccocalyx Satureioides*[2].

### 3. Etude botanique de l'espèce *Saccocalyx Satureioides*

*Saccocalyx satureioides* c'est une plante algérienne endémique s'élevant dans le secteur de pré désert, c'est un arbuste aromatique, localement appelé zaâtar et aussi zaatar elkhil ou zaatar el'ibil[4]. C'est une plante à odeur de Thym, est un arbuste appartenant à la famille des Lamiacées qui ont toutes un appareil sécréteur d'huile essentielle. Localement, son nom populaire est « Zaâter », une appellation commune pour Oregano et Thym dans toutes les régions du Nord Africain[3].

#### 4. Usages traditionnels

*Saccocalyx satureioides* est une plante utilisée dans la médecine folklorique, la partie aérienne et utilisée généralement dans la décoction pour le traitement des désordres et des spasmes gastriques.

Elle est employée comme ingrédient dans des nombreuses médecines traditionnelles locales et la plupart du temps dans le soin du diabète[4]. Elle est utilisée comme une tisane pour son effet digestif, et antiarthritique, et dans certain cas de brucellose.

Cependant, cet arbuste est peu connu, il n'a selon aucun usage traditionnel dans la région de Bou-Saâda, Wilaya de M'sila[5].

*Saccocalyx satureioides* est utilisée comme herbe aromatique culinaire, aussi utilisée comme infusion et décoction pour guérir les infections du système respiratoire[4].

Et aussi le *saccocalyx satureioides* ne possède pas un usage traditionnel particulier connu, mais il est supposé qu'elle possède les mêmes effets thérapeutiques que l'Oregano puisque ces deux espèces appartiennent à la même famille « Lamiaceae » qui possède en général des vertus stomachique, tonique, calmante, diurétique, sudorifique et expectorante. Comme chez la plupart des labiées, la partie aérienne de *Saccocalyx satureioides* (tiges feuillées et fleurs) est utilisée comme organes pour l'extraction de leurs huiles[4].

#### 5. Distribution géographique

Cette espèce est caractéristique de l'Algérie, elle est répandue dans :

- ✓ Les dunes de la zone pré désertique
- ✓ Les sous-secteurs du Hodna
- ✓ Les sous-secteurs de l'Atlas saharien Oranais
- ✓ Les sous-secteurs de l'Atlas saharien Algérois
- ✓ Les sous –secteurs de l'Atlas saharien constantinois
- ✓ Et elle est rare dans le secteur du sahara septentrional[4].

## 6. Etude phytochimique et botanique de l'espèce *Saccocalyx satureioides*

### 6.1. Place dans la systématique

*Saccocalyx satureioides* appartient à:

- ❖ **Embranchement:** Spermaphyte
- ❖ **Classe :** Dicotylédone
- ❖ **Ordre:** Lamiales
- ❖ **Famille:** Lamiaceae
- ❖ **Sous-famille:** Stachyoideae
- ❖ **Genre :** *Saccocalyx*
- ❖ **Espèce :** *Saccocalyx satureioides*

### 6.2. Description botanique

L'espèce *Saccocalyx Satureioides* est une plante aromatique présente comme sous-arbrisseaux de 20-100cm à tiges érigées. Les feuilles sont ovales lancéolées de 4-6×2-3 mm, ciliées, hispides. Les fleurs sont en verticillaetres, petites, blanches rosées ou pourpres. Elle présente des calices à 5 dents, fortement accrescents, vésiculeux à la maturité. La corolle est incluse à 4 lobes très courts, subégaux , les supérieurs ± emarginés[4]. Cette espèce s'élève sur les dunes de la zone prédésertique[5].



**Figure 1 :** *Saccocalyx Satureioides*

### 6.3. Activités biologiques

L'huile essentielles de *Saccocalyx Satureioides* possède des propriétés antibactériennes et antifongiques et pourrait être employée comme agent antimicrobien normal pour les maladies infectieuses humaines et dans la conservation des aliments.

Elle a marquée une bonne activité contre la pneumonie et *Escherichia Coli* et l'*Enterococcus Faecalis*, comme elle possède aussi une activité antioxydante[4].

### 6.4. Intérêt écologique

Le *Saccocalyx Satureioide* est une espèce d'origine endémique qui est commune dans les hauts plateaux et dans le secteur de sahara septentrional 90 et elle est considérée comme fixatrice de dunes surtout par son enracinement profond qui contribue à la rétention du sol et lui permet de résister au dessèchement[6].

### 6.5. Intérêt pharmacologique

*Saccocalyx Satureioides* est utilisé comme :

- Herbe aromatique culinaire (épice).
- Extrait à forte pouvoir antibactérien et antioxydant[7].
- Infusion et décoction pour guérir les infections du système respiratoire[8].
- condiment, stomachique, digestif, antidiarrhéique et vermifuge.
- Infusion et décoction contre le rhume[9].
- Ingrédient dans de nombreuses médecines traditionnelles locales, le plus souvent dans le traitement du diabète de type II[10].
- L'extrait méthanolique de *Saccocalyx satureioides* a été évalué pour ses propriétés antioxydant par les méthodes au DPPH et FRAP. Les phénols et flavonoïdes totaux ont également été évalués. l'extrait a montré une haute activité antioxydant. Les résultats ont montré également que cette plante est une source de polyphénols et de flavonoïdes qui sont probablement responsables de l'activité décelé dans les extraits. Ceci explique également l'utilisation de cette plante comme agent de conservation naturel dans l'industrie agroalimentaire ou dans des applications pharmaceutiques[11].

## 7. Etude des huiles essentielles de l'espèce *Saccocalyx Satureioides*

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).

Le terme "huile essentielle" a été inventé au 16<sup>ième</sup> siècle par le médecin suisse Parascelsus von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums.

L'huile essentielle appartient à la gamme des métabolites secondaires issus du métabolisme végétale, elle ne se rencontre cependant que chez certaines plantes, qui prennent ainsi le nom de plantes aromatiques[12,13].

### 7.1. Composition chimique des huiles essentielles de *Saccocalyx satureioides*

Les composants volatils des parties aériennes de *Saccocalyx satureioides*, obtenus par hydrodistillation, ont été analysés par GC et GC-MS[14].

Le tableau 01 représente les composants majoritaires ( $\% \geq 0,05$ ) des huiles essentielles de *Saccocalyx Satureioides*. 41 composants ont été entièrement identifiés et regroupés en trois classes, à savoir hydrocarbures monoterpéniques, les monoterpènes oxygénés, et les sesquiterpènes.

- **Les monoterpènes oxygénés** (17 composants) caractérisent les composants les plus importations fournis à la fois pour (76,9% d'huile totale) quantitative et qualitatives. Dans cette classe les principaux composants sont :  $\alpha$ -terpinéol (32,7%), le thymol (22,8%), le bornéol (11,6%) et le carvacrol (6,9%)
- **Les monoterpène hydrocarbures** plus de 13 composants (16,8% d'huile totale), parmi lesquels on cite les plus intéressants : p-cymène 5,0%, de camphène 2,9% et  $\gamma$ -terpinène 2,8%,  $\alpha$ -pinène et le limonène 1,8 et 1,5%, respectivement, les autres composants de cette classe sont en dessous de 1%.
- **Les sesquiterpènes** (11 composants), le total de concentration est inférieur à 3%.

Du point de vue qualitatif, le bornéol, thymol,  $\alpha$ -terpinéol et le p-cymène ont été identifiés comme les principaux composants, avec une prédominance de bornéol (environ 58%)[14].

**Tableau 1:** Composition chimique des huiles essentielles de *Saccocalyx Satureioides*

N° de composé	Indice de rétention	Composés	Pourcentage %
		<b>Monoterpene hydrocarbons</b>	<b>16.8</b>
1	924	Tricyclene	0.1
2	929	$\alpha$ -Thujene	0.6
3	936	$\alpha$ -Pinene	1.8
4	950	Camphene	2.9
5	975	Sabinene	t
6	977	$\beta$ -Pinene	0.3
7	992	Myrcene	0.8
8	1003	$\alpha$ -Phellandrene	t
9	1017	$\alpha$ -Terpinene	0.6
10	1025	p-Cymene	5.0
11	1030	Limonene	1.5
12	1060	$\gamma$ -Terpinene	2.8
14	1087	Terpinolene	0.4
		<b>monoterpenes Oxygenés</b>	<b>76.9</b>
13	1070	cis-Sabynene hydrate	t
15	1097	trans-Sabinene hydrate	t
16	1099	Linalool	0.4
17	1121	Sabinaketonedehydro	t
18	1125	$\alpha$ -Campholenal	t
19	1139	trans-Pinocarveol	t
20	1143	Camphor	0.1
21	1165	Borneol	11.6
22	1191	Terpinen-4-ol	1.2
23	1193	$\alpha$ -Terpineol	32.7
24	1193	cis-Dihydrocarvone	0.2
25	1222	Isobornyl formate	0.2
26	1289	Bornyl acetate	t
27	1291	Thymol	22.8
28	1297	Carvacrol	6.9
29	1352	Thymol acetate	0.7
30	1364	Carvacrol acetate	0.1
		<b>Sesquiterpenes</b>	<b>2.7</b>
31	1394	$\alpha$ -Gurjunene	t
32	1402	$\beta$ -Caryophyllene	0.8
33	1437	$\alpha$ -Humulene	0.3
34	1444	Alloaromadendrene	0.2
35	1478	$\beta$ -Acoradiene	0.2
36	1494	$\gamma$ -Cadinene	0.1
37	1503	$\delta$ -Cadinene	0.3
38	1556	Spathulenol	0.3
39	1562	Caryophyllene oxide	0.3
40	1569	Viridiflorol	0.1
41	1663	epi- $\alpha$ -Muurolol	0.1

**Tableau 1** : Composition chimique des huiles essentielles de *Saccocalyx Satureioides* (suite)

N° de composé	Indice de rétention	Composé	Pourcentage %
24	1193	cis-Dihydrocarvone	0.2
25	1222	Isobornyl formate	0.2
26	1289	Bornyl acetate	t
27	1291	Thymol	22.8
28	1297	Carvacrol	6.9
29	1352	Thymol acetate	0.7
30	1364	Carvacrol acetate	0.1
		<b>Sesquiterpenes</b>	<b>2.7</b>
31	1394	$\alpha$ -Gurjunene	t
32	1402	$\beta$ -Caryophyllene	0.8
33	1437	$\alpha$ -Humulene	0.3
34	1444	Alloaromadendrene	0.2
35	1478	$\beta$ -Acoradiene	0.2
36	1494	$\gamma$ -Cadinene	0.1
37	1503	$\delta$ -Cadinene	0.3
38	1556	Spathulenol	0.3
39	1562	Caryophyllene oxide	0.3
40	1569	Viridiflorol	0.1
41	1663	epi- $\alpha$ -Muurolol	0.1

## Conclusion

L'étude bibliographique de l'espèce *Saccocalyx satureioides* a montré que seules les huiles essentielles de cette espèce ont été étudiées. Ceci nous a encouragé à entamer l'étude phytochimique et biologique de cette espèce endémique relativement peu connue.

## Référence bibliographique

- [1] <https://www.aujardin.info/plantes/famille-lamiaceae.php>
- [2] <https://www.aquaportail.com/taxonomie-famille-97-lamiaceae.html>
- [3] **ARIECH Mounira et SABRI Esma., 2008.** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Saccocalyx satureioides*.
- [4] **DEMIM Imene., 2016.** Criblage phytochimique et activités antioxydantes et antifongiques de *Saccocalyx Satureioides*. Master en chimie
- [5] **Mme BELMEKKI Nacéra née TEBICHEK., 2009.** Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Saccocalyx satureioides*, *Salvia verbenaca* et *Teucrium polium* de la région Ouest d'Algérie. Diplôme de Magister en BIOLOGIE
- [6] **Khadidja Lahrech., 2010.** Extraction et analyse des huiles essentielles de *mentha pulegium L. de saccocalyx satureioides*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques. Master chimie moléculaire
- [7]. **Bouhdid, S., 2006.** Biochimie .Substances Naturelles et environnement, 324.
- [8] **Benmoufki, F., Choukri, S., 2007.** Memoire d'ingenieur (Biologie).Université de djelfa.
- [9] <https://sites.google.com/site/.../saccocalyx-satureioides-coss-et-dur>
- [10] **Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M. A., Tabti, B., Ghalem, S., Benabadji, N., 2008 .** Asian J Chem.
- [11] **Belmekki, N., and Bendimerad, N., 2012.** Antioxidant activity and phenolic content in methanol crude extracts from three Lamiaceae grown in southwestern Algeria; J. Nat. Prod. Plant Resour, 2 (1):175-181.
- [12] Encyclopédie Encarta ,2004.
- [13] **Guinard, J. L., 1996.** Biochimie végétale. Masson, Paris, 255..
- [14] **Biondi, D. M., Sari, M., Zedam A. G., and Giuseppe ,Ruberto., 2006,** Essential oil of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Durieu; Flavour Fragr. J; 21: 546–548.

*Les métabolites  
secondaires*

## Introduction

Les plantes produisent un grand nombre de composés, dont, jusqu'à il n'y a pas très longtemps, on ne connaissait pas le rôle pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures, d'où le nom de métabolites secondaires. Des découvertes récentes ont montré que bon nombre d'entre eux ont un rôle défensif pour les plantes. Ils ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Ils se sont surtout illustrés en thérapeutique et dépassent actuellement 100 000 substances identifiées[1].

### 1. Les métabolites secondaires

Le métabolisme secondaire implique les voies métaboliques primaires spécifiques à certain organisme végétal. Donc les métabolites secondaires sont les molécules que ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt intervenaient dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction.

Les composés de métabolisme secondaire ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultant de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires. Ces composés ne se trouvent pas dans toutes les plantes. Ils sont surtout illustrés en thérapeutique.

Les métabolites secondaires comportant trois types de composés[2]:

#### 1.2. Les terpènes

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représenté et d'un intérêt chimique considérable, très diversifiés. Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Extraites ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Ils ont un caractère commun, formés d'**unités isopréniques** ( $C_5H_8$ ). Ils sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques  $(C_5H_8)_n$ . Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des anneaux. De ce fait une classification rationnelle, basée sur ce nombre qu'ils renferment, est possible (tableau 2)

**Tableau 2** : Classification des triterpènes

Monoterpènes	C <sub>10</sub>
Sesquiterpènes	C <sub>15</sub>
Diterpènes	C <sub>20</sub>
Sesterpènes	C <sub>25</sub>
Triterpènes et Stéroïdes	C <sub>30</sub>
Tetraterpènes	C <sub>40</sub>
Polyterpènes	(C <sub>10</sub> ) <sub>n</sub> avec n>8

### 1.3. Les alcaloïdes

En général, ces composés possèdent au moins un atome d'azote hétérocyclique. Actuellement, la structure chimique d'environ 16 000 alcaloïdes est connue. Environ 20 % des espèces de plantes produisent des alcaloïdes. Ils ont une nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. La médecine les emploie le plus souvent à l'état pur et leur véritable valeur ne s'affirme qu'entre les mains du médecin car ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif. Les plantes les utilisent pour la plupart d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes car ces composés sont toxiques. Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes :

- Des phénylalanines: capsaïcine du piment, colchicine du colchique.
- Des alcaloïdes isoquinoléiques : morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales.
- Des alcaloïdes quinoléiques : tige feuillée de la rue commune.
- Des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine.
- (poison violent) de la ciguë.
- Des alcaloïdes dérivés du tropane : scopolamine et atropine de la belladone.
- Des alcaloïdes stéroïdes: racine de véatrate, douce-amère ou aconite (aconitine).

## 1.4. Les Composés phénoliques

Les Composés phénoliques correspondent à une grande variété de substances possédant un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle. Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances: les noyaux simples en C6-C1, les phénylpropanoïdes (C6-C3), les noyaux dérivant de l'extension du phényle propane, en C6-C3-C6, comme les chalcones, les flavones, les flavonols ou les dérivés du flavane ou du flavane-3-ol (catéchines et proanthocyanidines)[1].

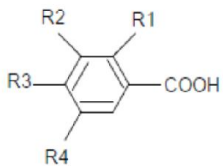
Les principales classes des composés phénoliques :

### 1.4.1. Les acides phénoliques simples :

#### ✚ Acides hydroxybenzoïques :

- Sont des dérivés de l'acide benzoïque
- Ont une structure générale de base de type (C6-C1)
- Existents souvent sous forme d'esters ou de glycosides

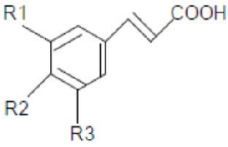
**Tableau 3 :** Principaux acides hydroxybenzoïques[26] :

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

#### ✚ Acides hydroxycinnamiques :

- Dérivent de l'acide cinnamique
- Ont une structure générale de base de type (C6-C3)
- Existents souvent sous forme combinée avec des molécules organiques
- Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules, le tableau (4) représente les principaux acides hydroxycinnamiques

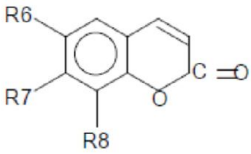
**Tableau 4 :** Principaux acides hydroxycinnamiques[3] :

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

#### ✚ Les coumarines :

- Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale
- Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique

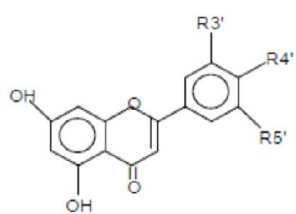
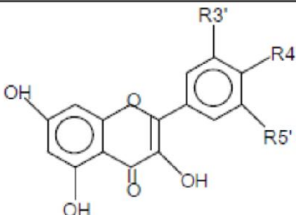
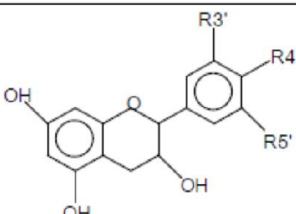
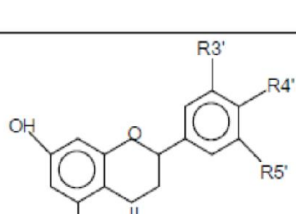
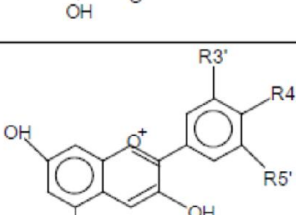
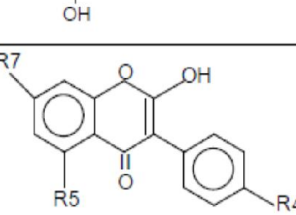
**Tableau 5 :** Principaux types de coumarines[4] :

Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aesculol
	OCH3	OH	H	Scopolétole
	OCH3	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

#### ✚ Les 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)[5]. Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6[6] en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule[7,8].

**Tableau 6 :** Principales classes des flavonoïdes [5,8] :

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

### 1.5. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes de nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes[15].

## 2. Les techniques chromatographiques de séparation

Les plantes ayant révélé des activités biologiques font l'objet d'une étude chimique incluant la purification, l'isolement, et l'identification structurale de principes actifs ayant l'activité biologique initialement détectée.

L'isolement des principes actifs est généralement réalisé à l'aide de différentes méthodes de chromatographie sur colonne, sur couche mince préparative, et sur papier, chromatographie en phase gazeuse (CPG) et chromatographie liquide à haute performance (CLHP)[9].

### 2.1. Chromatographie sur colonne

C'est une technique basée sur des phénomènes d'adsorption. La phase solide, le plus souvent l'alumine ou la silice, remplit une colonne de longueur et de section variable :

L'échantillon, en solution concentrée, est déposé en haut de la colonne et la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. On peut utiliser comme éluant un solvant unique ou bien accroître progressivement la polarité de l'éluant de façon à accélérer le déplacement des composés.

Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se développe en formant une succession de zones cylindriques qui se séparent en migrant vers le bas. A mesure que chaque zone s'écoule de la colonne, on la recueille[10].

## 2.2. Chromatographie sur couche mince

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont:

- **la cuve chromatographique** : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- **la phase stationnaire** : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.
- **l'échantillon**: environ un microlitre ( $\mu\text{L}$ ) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant
- **l'éluant** : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires[11].

## 2.3. Chromatographie sur papier

La technique ressemble à celle de la CCM mais le principe repose sur des phénomènes de partage. La phase mobile est le plus souvent un solvant organique et l'eau; la phase stationnaire est constituée par l'eau elle-même adsorbée sur la cellulose du papier ou liée chimiquement à elle. Comme en chromatographie sur couche mince, l'échantillon, mis en solution, est déposé en un point repère du papier et le solvant, qui se déplace par capillarité, fait migrer les composants de l'échantillon à des vitesses variables selon leur solubilité. Généralement, les composés les plus solubles dans l'eau ou ceux qui forment facilement des associations par liaisons hydrogène sont fortement retenus par la phase stationnaire et migrent donc lentement. Lorsque l'eau est un des solvants de la phase mobile, le ou les solvants organiques doivent y être assez solubles. Des produits comme l'acide éthanoïque, le propanol, le phénol ou la pyridine sont les solvants les plus

fréquemment utilisés en mélange avec de l'eau pour développer un chromatogramme. La chromatographie sur papier est employée principalement pour l'analyse de composés très polaires, tels les acides aminés, les sucres et les composés polyfonctionnels. Ses plus grands inconvénients par rapport à la CCM sont:

- une durée de développement beaucoup plus longue.
- une séparation généralement moins bonne[11].

#### **2.4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

Actuellement, la méthode de dosage et d'identification, la plus couramment employée dans l'étude des huiles essentielles, fait appel à la chromatographie en phase gazeuse.

Elle permet l'identification des constituants et l'obtention d'une valeur approximative des concentrations respectives. Cette méthode permet également de séparer de faibles quantités de différents composants de l'huile essentielles. Le principe de cette méthode est basé sur le partage de l'analyse entre une phase gazeuse mobile et une phase (liquide ou solide) immobilisée sur la surface d'un support inerte .

Les constituants des mélanges appelés généralement « solutés » sont inégalement retenus par la phase stationnaire lors de transit dans la colonne. De ce phénomène appelé « rétention » les solutés injectés se déplacent avec une vitesse inégale entre eux et inférieure à celle de la phase mobile, ce qui les conduit à sortir de la colonne les uns après les autres. On enregistre d'abord un signal dit ligne de base en présence du gaz vecteur seul. Puis un pic au passage de chaque soluté séparé[10].

#### **2.5. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)**

La chromatographie en phase liquide à haute performance (l'abréviation anglaise HPLC : High Performance Liquid Chromatographie est plus fréquemment utilisée) est une technique de séparation analytique basée sur l'hydrophobicité des molécules ou d'un mélange de composés. L'échantillon à analyser est poussé par un éluant liquide sous pression environ 70 bar (appelé aussi phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire composée de grains solides très fins Le débit d'éluant est assuré par une pompe à haute pression. Dans la colonne, les divers composés de l'échantillon sont séparés l'un de l'autre en raison de leurs diverses affinités à l'égard des deux phases – stationnaire et mobile. A la sortie de la colonne les composés sont détectés à l'aide d'un détecteur (pouvant être UV, IR etc.)

### 3. Les techniques d'analyse et d'identification structurale

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

#### 3.1. La spectrophotométrie UV

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une structure chimique donnée en solution, plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer–Lambert[12].

Le principe repose sur l'absorption de la lumière par les espèces chimiques, l'appareil comporte une source de lumière blanche, un système dispersif permettant de sélectionner la longueur d'onde de la radiation et un système détecteur permettant la mesure de l'intensité lumineuse de la radiation monochromatique traversant la solution. Le spectrophotomètre effectue une comparaison entre les intensités lumineuses incidentes et transmises et permet par l'intermédiaire d'un circuit électronique d'afficher l'absorbance

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

Pour valider la loi de Beer-Lambert il faut travailler en lumière monochromatique, les solutions utilisées doivent être diluées, homogènes, et le soluté ne doit pas donner de réactions sous l'effet de la lumière incidente. conduisant à la l'élucidation structurale.

#### 3.2. La spectroscopie de 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 ou  $^1\text{H}$ , le carbone treize  $^{13}\text{C}$ , le phosphore  $^{31}\text{P}$ , le fluor  $^{19}\text{F}$ , l'azote  $^{15}\text{N}$ ...[10].

Les particules atomiques doivent avoir un spin nucléaire non nul pour pouvoir être observées en RMN. Lorsqu'elles sont placées dans un champ magnétique, elles peuvent prendre plusieurs orientations. Des spectres RMN monodimensionnels ( $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ) et bidimensionnels (COSY, HMBC, HSQC) peuvent être réalisés. Ces spectres apportent des informations différentes et complémentaires qui permettent de déterminer la structure des molécules. En ce qui concerne le spectre du proton (RMN  $^1\text{H}$ ), divers paramètres sont à observer et analyser :

- **Le déplacement chimique ( $\delta$ )** : la position des signaux dans le spectre exprimée en Hz ou en ppm qui donne une idée du type de groupement auquel appartient le proton correspondant à ce signal.
- **L'intégration** : l'aire sous la courbe d'un pic proportionnelle au nombre de protons qui résonnent à cet endroit.
- **La multiplicité du signal** : le nombre de protons voisins du proton considéré.

### 3.3. La spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse est une technique de détection extrêmement sensible qui permet de déterminer le poids moléculaire d'un produit pur ou de recueillir des informations structurales à partir de la nature des fragments obtenus[13].

Le principe de la spectrométrie de masse est basé sur l'ionisation des molécules introduites dans l'appareillage. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé. Il peut y avoir rupture de liaisons chimiques au sein de l'ion moléculaire, avec formation d'ions fragments caractéristiques puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard mais selon des molécules bien déterminées l'ensemble de ces ions constituent le spectre de masse dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire. Il existe plusieurs modes d'ionisation en spectrométrie de masse dont l'ionisation par Impacte Electronique (IE) pour les molécules thermostable notamment les flavonoïdes aglycones. Pour les molécules thermo instables comme les glycosides des techniques d'ionisation douces sont utilisées dont l'électrospray ou ionisation par électronébulisation (ESI) et la Fast Atom Bombardement (FAB). Dans ces techniques en mode positif, l'ion moléculaire n'est pas toujours observable. On observe généralement, un ion pseudo moléculaire  $[M+H]^+$ . D'autres ions adduits peuvent se former comme  $[M+Na]^+$  par addition de chlorure de sodium (NaCl). Ces informations permettent de déduire le poids moléculaire du composé étudié[10].

### 3.4. Spectroscopie Infrarouge (IR)

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infrared Spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet, via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière

va absorber le rayonnement et une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise est enregistrée. Le domaine infrarouge entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  et  $400\text{ cm}^{-1}$  ( $2,5\text{--}25\text{ }\mu\text{m}$ ) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée, les modes de vibration actifs en infrarouge peuvent être déterminés grâce à la théorie des groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent, à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau[14].

**Références bibliographique :**

- [1] **Seghiri R., 2007.** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires du Genre *Centaurea* : *C. africana*, *C. nicaensis*. Thèse de doctorat .Université Frères Mentouri Constantine
- [2] **Benhamama L., 2015.** Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité Antioxydante de la plante médicinale *Crataegus monogyna*. Mémoire de master en biologie . Université Frères Mentouri Constantine
- [3] **Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. p2- 10.
- [5] **W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., WilliamsonG. et Burrowes J., 2007.** Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, 137 (3 supp 1) : 718 s-737 s.
- [4] **Macheix J J., Fleuriet A. et Jay–Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechniques et universitaires romandes. p4-5.
- [6] **Emerenciano V. P., Barbosa K. O., Scotti M. T. et Ferriro 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.
- [7] **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.
- [8] **Malešev D. et Kuntić V., 2007.** Investigation of metal-flavonoid chelates and the détermination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society.*, **72** (10) : 921-939.
- [9] **ABEDINLA., 2014.** Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptisatorubens*Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de Doctorat en Pharmacognosie . Université de Lille
- [10] **Bezzaz N., 2014.** Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de *Mentharotundifolia*. Mémoire magistère en chimie organique. Université de M'sila

[11] Stage MAFPEN CHROMATOGRAPHIE 26 et 28 Janvier 1998 Edith ANTONOT Robert MARCHAL .Lycée Louis Vincent – METZ

[12] Wikipédia. 2008. L'encyclopédie libre (en ligne) : <http://www.wikipédia.com>

[13] **Belguidoum M., 2012.** une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*. Mémoire de master académique en chimie .Université de Ouargla

[14] **Ibrahim H & Ouazine Y., 2014.** Utilisation de la spectrophotométrie UV-visible pour l'étude de l'extraction solide-liquide du thym. Mémoire de Master en Génie de procédés. Université A.mira-Bejaia

[15] **M. TOURE Daouda., 2015.** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatique médicinales de Côte d'ivoire. thèse Doctorat



*Partie expérimentale*

## Travaux personnels

### 1. Récolte du matériel végétal

La plante a été récoltée dans la région de Mogheul près 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 broyées et pesées (2295.1 g).

### 2. Extraction

La poudre du matériel végétal (feuilles et fleurs, 445.65g) est mise à macérer à température ambiante dans un mélange hydro alcoolique (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 °C, l'extrait éthanolique 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 successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le *n*-butanol. La figure 1 résume les différentes étapes de l'extraction jusqu'à 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, puis pesées.

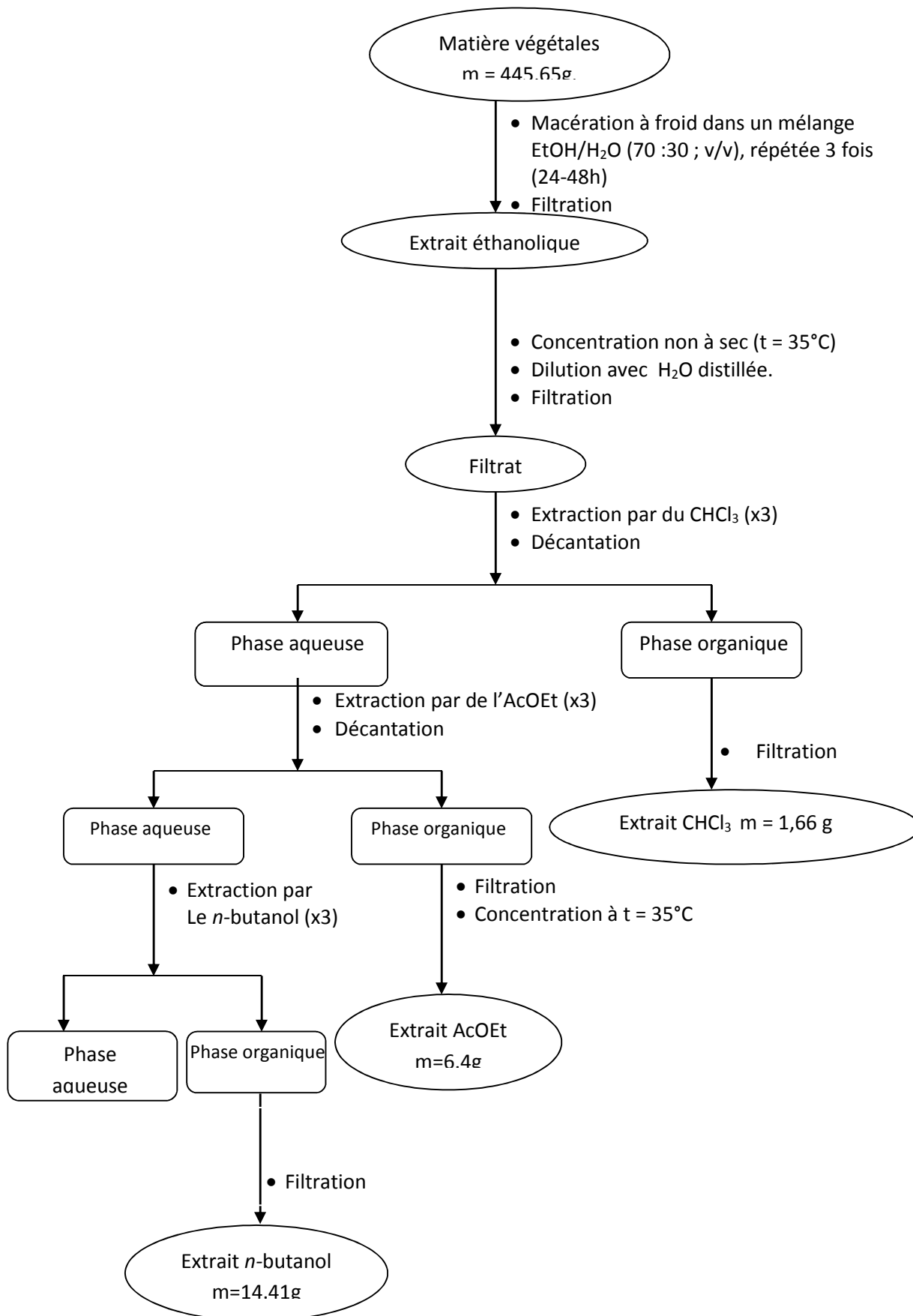


Figure 2 : Extraction des parties aériennes (fleurs et feuilles) de *Saccocalyx Satureioides*

### 3. Fractionnement de l'extrait chloroforme

Un premier fractionnement de l'extrait chloroforme (1g) a été réalisé par chromatographie d'adsorption sur une colonne de gel de silice.

L'extrait chloroforme dissout dans le chloroforme est mélangé à 30g de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Cette poudre est déposée sur une colonne de gel de silice, préparée dans le chloroforme. L'éluion 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 qui après développement dans des cuves en verre avec des systèmes adéquats, ont été visualisées sous lampe UV à 254 et 365 nm, (Figure 3)

13 lots de 100 millilitres ont été collectés, Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 7



**Figure 3:** Fractionnement de l'extrait  $\text{CHCl}_3$  sur colonne.

Les fractions collectées sont soumises au contrôle chromatographique sur couche mince, puis révélées par la lampe UV à 254 et à 365 nm, ce qui nous a permis de rassembler les fractions présentant des similitudes.

Avant évaporation

Après évaporation



Figure 4 : les fractions obtenues

Tableau 7 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait  $\text{CHCl}_3$ 

FRACTION	Eluent	Observation
F1	$\text{CHCl}_3$ (100)	mélange complexe
F2	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}(95/5)$	mélange complexe
F3	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (90/10)	mélange complexe
F4	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (85/15)	mélange complexe
F5	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (80/20)	mélange complexe
F6	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (70/30)	mélange complexe
F7	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (60/40)	mélange complexe
F8	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (50/50)	mélange complexe
F9	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (40/60)	mélange complexe
F10	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}(30/70)$	mélange complexe
F11	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}(20/80)$	mélange complexe
F12	$\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (10/90)	mélange complexe
F13	AcOEt (100)	mélange complexe

#### 4. Séparation sur couche mince

Nous avons procédé à des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice par de multiple système de solvant apolaire, moyennement polaire et polaire qui nous ont mené au bon système de séparation.

La meilleure séparation a été obtenue avec le test chromatographique sur couche mince de gel de silice avec un système :  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  : 9/1.

Les plaques sont visualisées sous lumière UV visible (254 et 365 nm) (figure 5), les fractions de même composition sont rassemblés, donnant ainsi 13 Fractions.

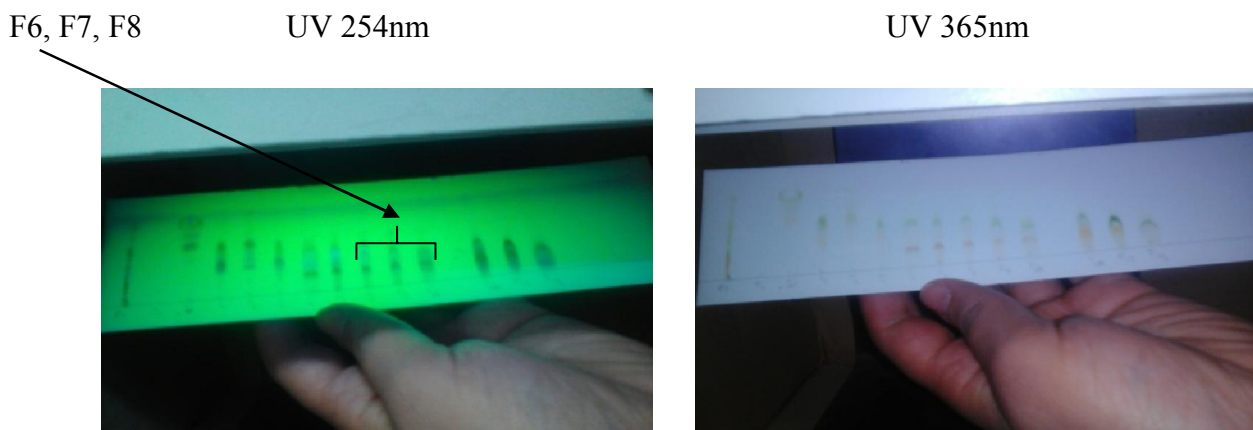


Figure 5: Séparation des fractions sur CCM

#### 5. Purification de la fraction de F6, F7 et F8

Les fractions F6, F7, F8 (figure 06) sont déposées sur la plaque CCM, et sont placées par la suite dans une cuve muni d'un support, contenant la phase mobile (**Chloroforme/méthanol**) (9/1).



Figure 6 : les trois fractions F6, F7, F8

Après révélation de la plaque CCM sous la lumière UV à 254 et 365 nm, on a constaté que les trois fractions sont identiques

Les 3 fractions ont subi une séparation sur plaque de gel de silice, en utilisant comme système d'élution :  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (9:1), pour donner le produit **B1** de fluorescence noire violette sous 365 nm. (figure07).

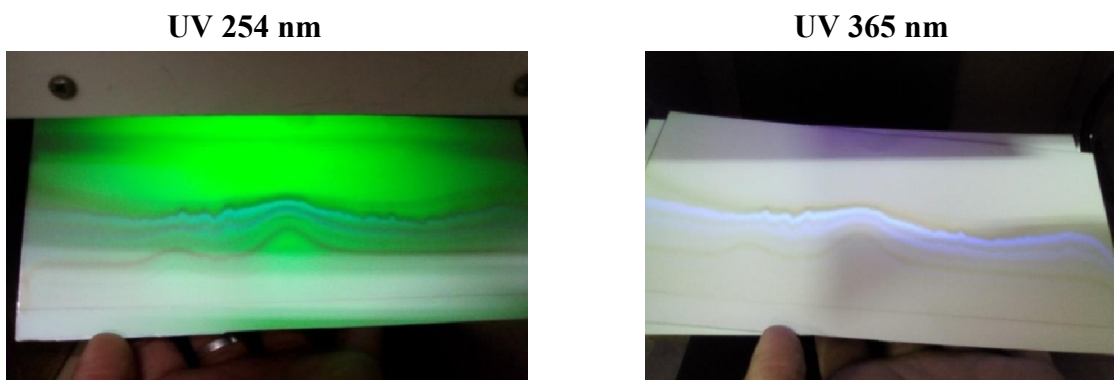


Figure 7: Les fractions sur plaque CCM sous UV 254 et 365 nm

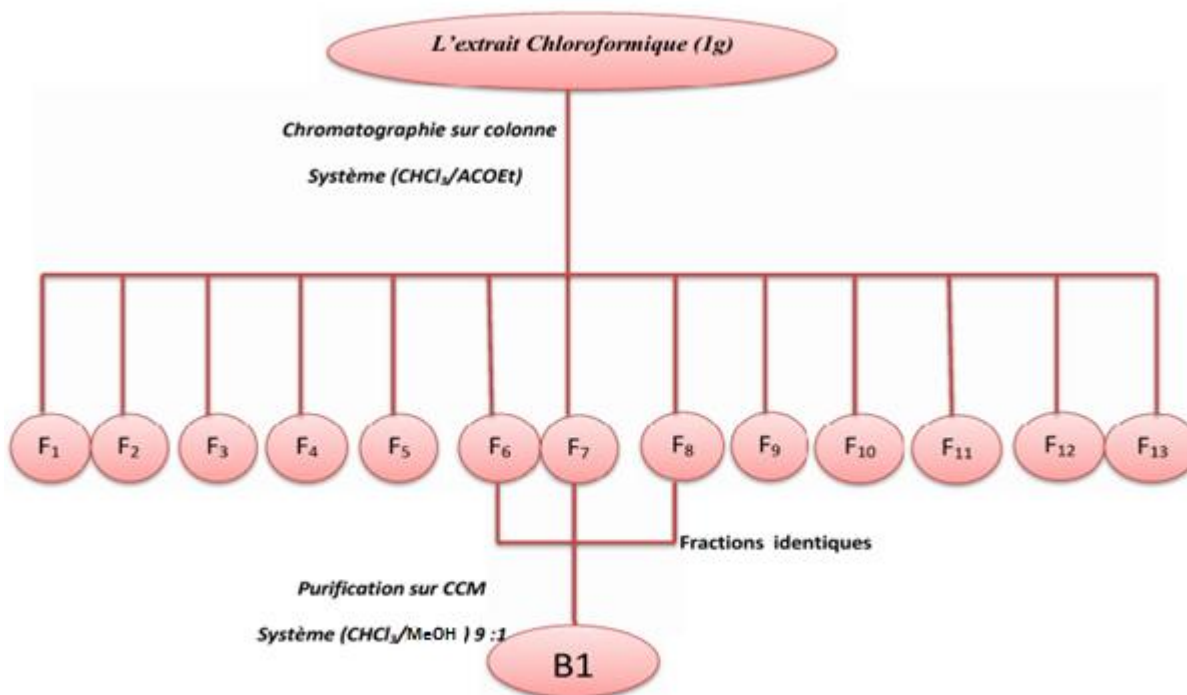


Figure 8: Schéma récapitulatif de la séparation de l'extrait  $\text{CHCl}_3$

## 5. Activité antioxydant de l'extrait chloroformique

Les antioxydants naturels sont présents dans l'alimentation ; pour la plupart se sont des composés phénoliques qui possèdent au moins un noyau aromatique, contenant un ou plusieurs substituants, en effet cette propriété antioxydant est en relation directe avec la structure de ces molécules. L'activité antioxydant des flavonoïdes peut être mesurée par l'utilisation d'une méthode simple, rapide et facile à mettre en œuvre ; c'est la méthode de DPPH, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm.

Le DPPH est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté par les produits flavoniques testés. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité anti radicalaire de la molécule, et dépend de la nature, la concentration et la puissance de cette molécule[2] qui possède une bande d'absorbance à 517 nm[1].

L'activité anti radicalaire de ces extraits est mesurée selon la méthode décrite par[3] :

- 50µl de l'extrait à tester (avec dilutions appropriées).
- 1250µl d'une solution méthanoïque de DPPH (0.004%).
- Agiter vigoureusement.
- L'absorbance est mesurée par le spectrophotomètre à 517 nm.

Après 30 minutes d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité.

- Le méthanol est utilisé à la place de l'antioxydant pour préparer le blanc de la courbe d'étalonnage.
- Toutes les mesures sont répétées 2 fois

La décroissance de l'absorbance est convertie en pourcentage d'activité Scavenger selon

L'équation suivante :

$$\text{Activité Scavenger (\%)} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échant}) \times 100 / A \text{ contrôle}$$

**A contrôle** : Absorbance du contrôle.

**A échant** : Absorbance des extraits testés.

## 6. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de folin-ciocalteu.

### Principe

La teneur polyphénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec Spectrophotomètre UV-Vis en utilisant d'essai de folin-ciocalteu[4].

Brièvement des extraits ont été ajoutées à de réactif de folin-ciocalteu dilué, les solutions ont été mélangées et incubées pendant quelques minutes. Après une incubation,

Une solution de Bicarbonate de Sodium NaOH a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre UV-Vis.

### Protocol

Le contenu des composés phénoliques de nos extraits est estimé par la méthode de Folin - ciocalteu [5].

- ❖ 10µl d'extrait de l'échantillon.
- ❖ 500µl du réactif de Folin-ciocalteu (dilué dix fois).
- ❖ 400µl d'une solution de bicarbonate de sodium (0.7M).
- ❖ Agiter vigoureusement.
- ❖ Incuber pendant 2h à une température ambiante.
- ❖ Lire l'absorbance à 765 nm.

### Conclusion

Nous avons résumé dans ce chapitre les techniques et les informations nécessaires à la compréhension des expériences réalisées la chromatographie (CC, CCM) sont des techniques utilisée pour la séparation et purification des produits isolés de l'extrait chloroformique de *Saccocalyx Satureioides*.

Les résultats des analyses RMN de ces extraits seront présentés dans le chapitre suivant.

### Références bibliographiques

- [1]Cosio C., Vollenweider P., Catherine C.,2006.Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium - tolerant willow (*Salix viminalis*L.) I. Macrolocalization and phytotoxic effects of cadmium. *Environmental and Experimental Botany*.58: 64–74.
- [2] Madi A.,2010.Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Thèse de Magister de l'Université de Constantine.
- [3]Es-safi R.I., Sadok A., Khalaf N., Fathallah D.M.,2007. A strategy for high –level expression of soluble and functional human interferon alpha as a GST-fusion proteinin *E. coli*. *Protein Eng Des Sel*. 20: 201–209.
- [4] Vuorela S.,2005.Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.
- [5]Adesegun S.A., Fajana A., Orabueze C.I., Coker H.A.B. 2007.Evaluation of Antioxidant Properties of Phaulopsis Fascisepsepala CBCI (*Acantaceae*). *Oxford Journal*. 6 : 227-213.



*Résultats et  
discussions*

## 1. Diagnostic de produit B1 isolé de l'extrait Chloroforme par CCM

Nous avons utilisé une plaque de CCM pour contrôler la pureté du composé B1 dans le système de solvant suivant : chloroforme/Méthanol (9/1).

La visualisation de cette plaque sous UV 254 et 365 nm permet de mesurer le  $R_f$  :

$$R_f = \frac{h}{H} \quad \Longrightarrow \quad R_f = 0,66$$

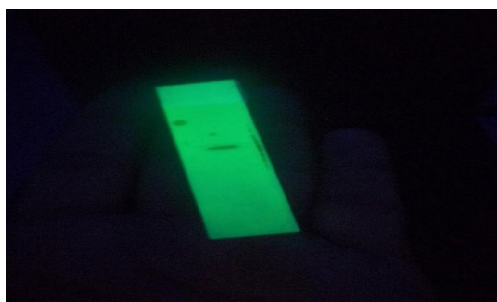


Figure 09: produit purifié B1 à 254nm

## 2. Identification de produit B1

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

### 2.1. Spectrophotométrie UV

Le spectre d'absorption UV du composé B1 (Figure 10) présente deux maxima d'absorption à 207 nm, 338 nm correspondant à l'absorption d'un cycle aromatique et la présence d'un système cinnamoyle.

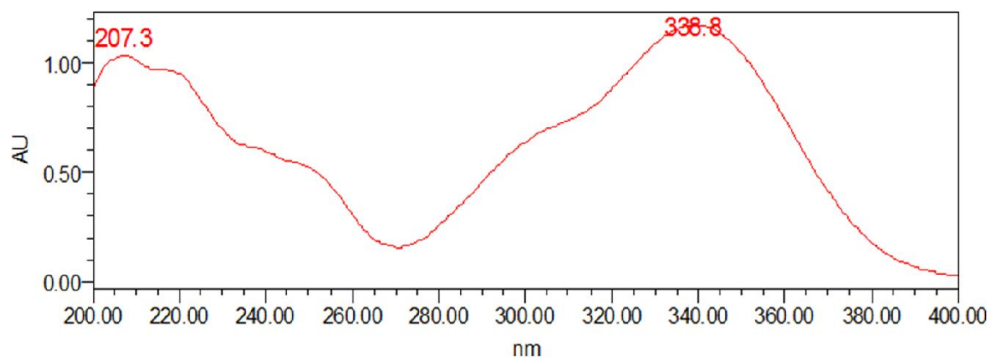
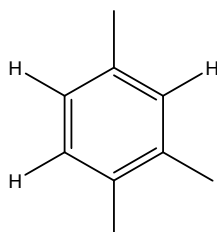


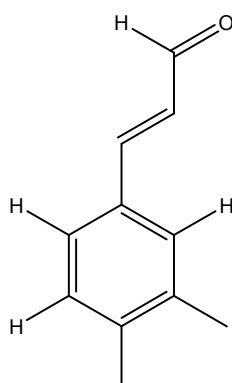
Figure 10 : Spectre UV\_visible du composé

## 2.2.Spectroscopie RMN

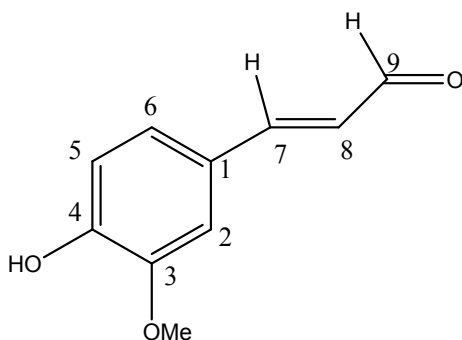
Le spectre RMN  $^1\text{H}$  (spectre 02) du composé B1 montre la présence d'un noyau aromatique tri substitué dont les trois protons aromatiques se présentent sous la forme d'un doublet à  $\delta_{\text{H}}$  6,74 ppm ( $J=8\text{Hz}$ ), un doublet de doublet à  $\delta_{\text{H}}$  7,06 ppm ( $J = 8 ; 1,6 \text{ Hz}$ ) et un doublet à  $\delta_{\text{H}}$  7,15 ppm ( $J = 2 \text{ Hz}$ ). Ce système peut être représenté comme suit :

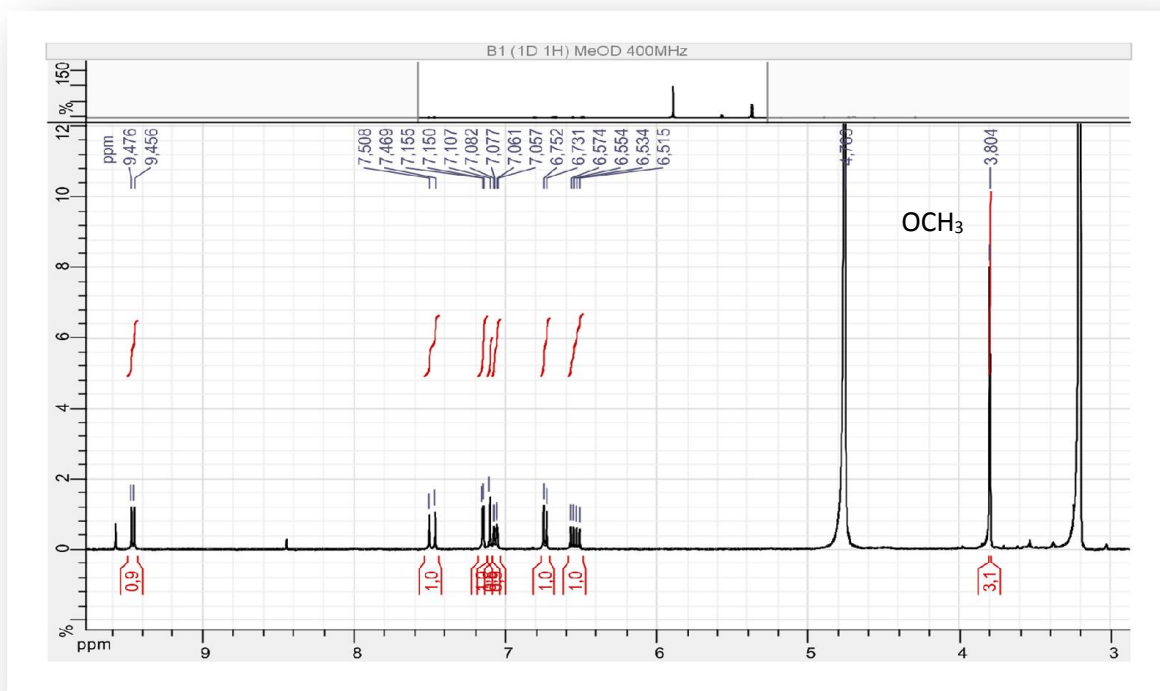


Le spectre montre également la présence d'un système AX à  $\delta_{\text{H}}$  7,5 et  $\delta_{\text{H}}$  6,54 ppm : ( $J = 15,6 \text{ Hz}$ ) et ( $J = 16 ; 8 \text{ Hz}$ ), avec un couplage vicinal éthylénique trans (CH=CH) dont l'un des protons couple avec un autre proton à  $\delta_{\text{H}}$  9,46 ppm ( $J = 8 \text{ Hz}$ ) caractéristique d'un aldéhyde (Spectre n° 03 et 04), Nous pouvons donc proposer à ce stade la structure partielle suivante :

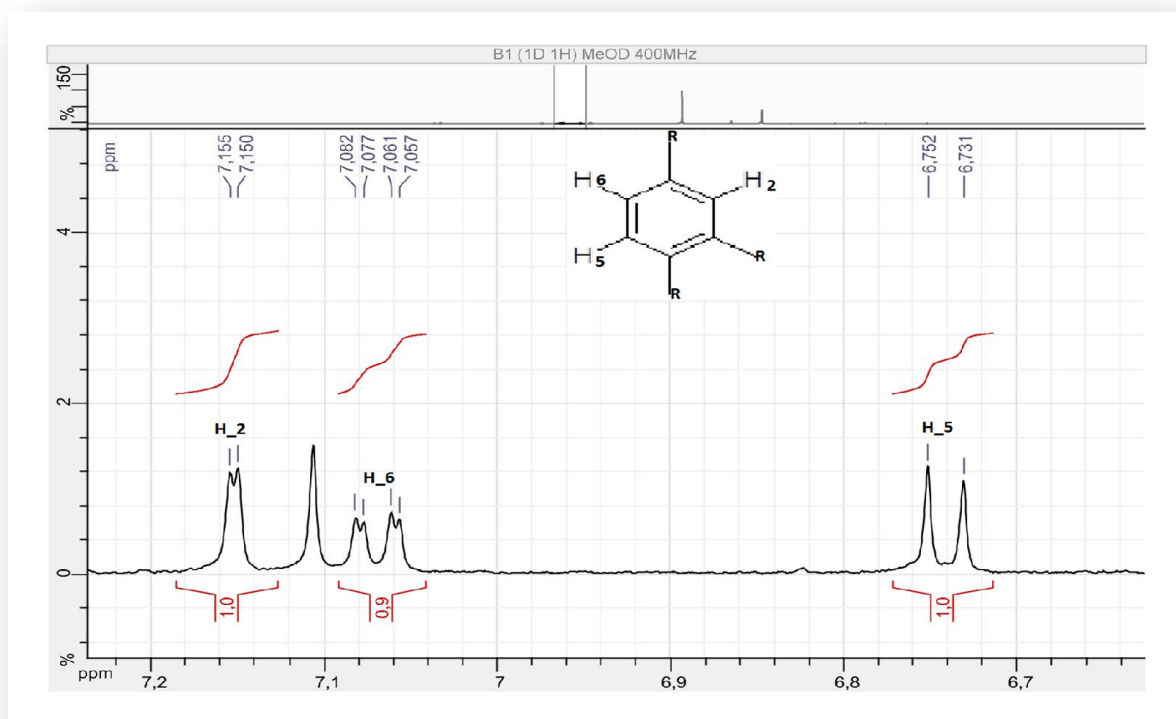


Le spectre montre également un signal sous forme d'un singulet d'intégration 3H à  $\delta_{\text{H}}=3,8\text{ppm}$  (Spectre n° 01). Toutes ces données comparées aux données de la littérature orientent vers la structure de l'aldéhyde férulique

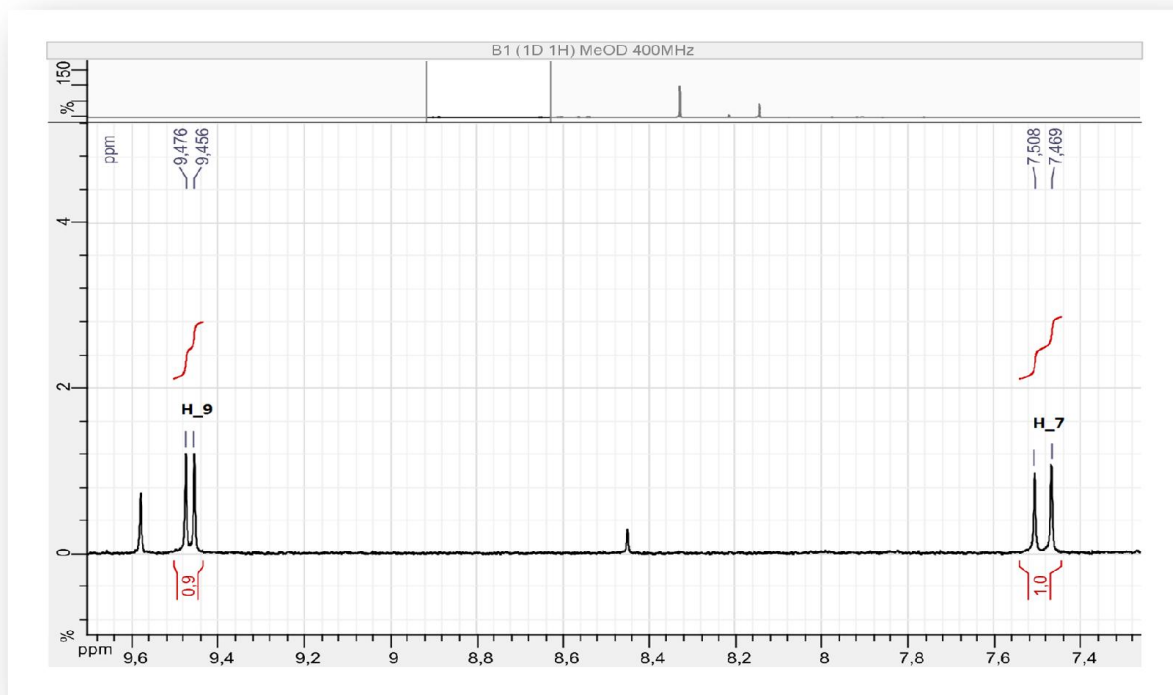




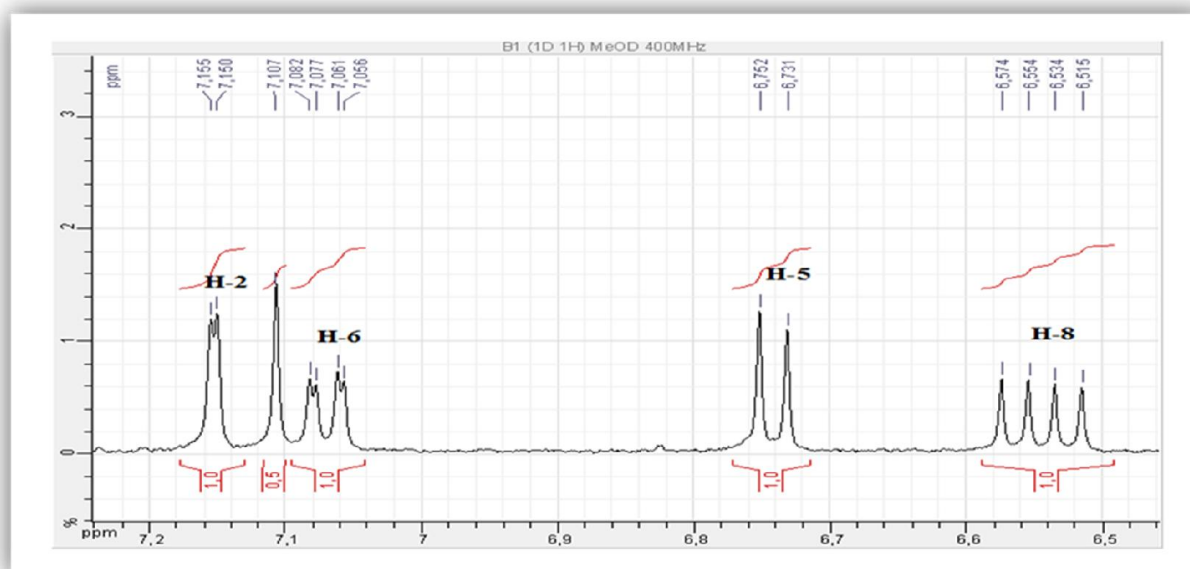
**Spectre n° 1** : spectre RMN 1-H ( 400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>, δ ppm ) du composé B1



**Spectre n° 2** : spectre RMN 1-H étalé ( 400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>, δ ppm ) du composé B1

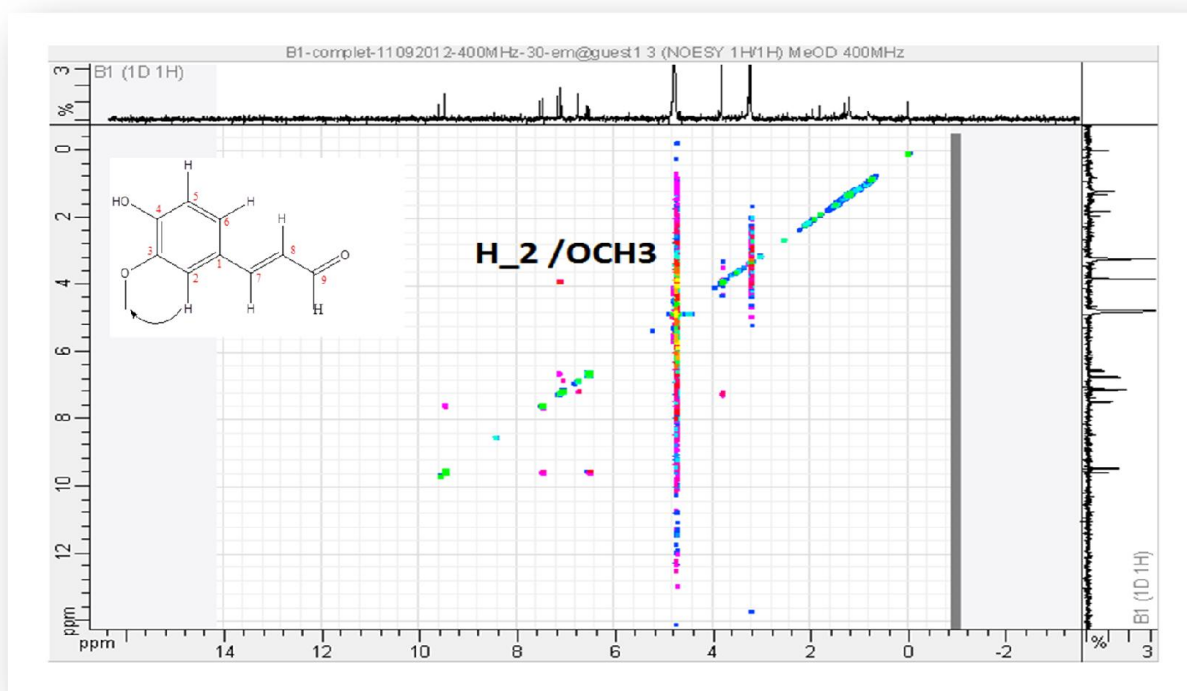


Spectre n<sup>o</sup> 3 : spectre RMN  $^1\text{H}$  étalé ( 400 MHz,  $\text{MeOH-d}_4$ ,  $\delta$ ppm ) du composé B1



Spectre n<sup>o</sup> 4 : spectre RMN  $^1\text{H}$  étalé ( 400 MHz,  $\text{MeOH-d}_4$ ,  $\delta$ ppm ) du composé B1

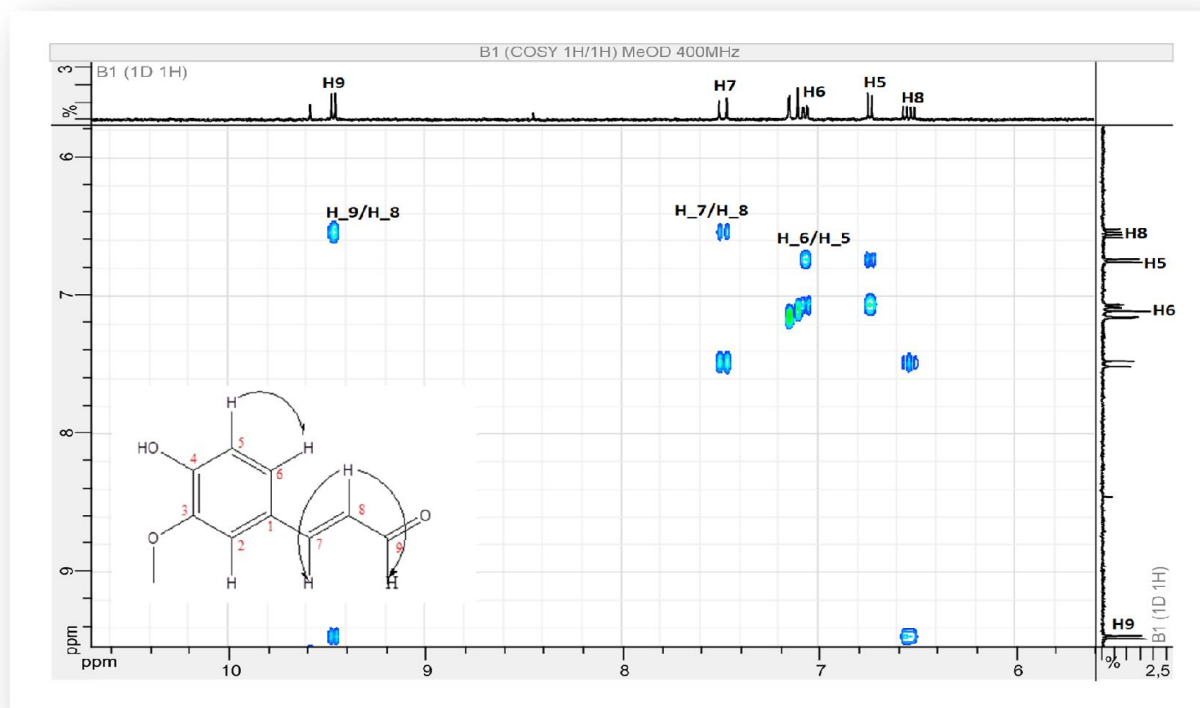
Cette analyse est confortée par le spectre NOESY ( spectre n°05) qui montre une tache de corrélation entre le groupement méthoxyl et le proton H<sub>2</sub>.



**Spectre n° 5 :** spectre RMN NOESY( 400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>, δ ppm ) du composé B1

Le spectre COSY permet de confirmer cette structure en montrant de manière non équivoque toutes les corrélations entre les différents groupements couplés (spectre n° 06) :

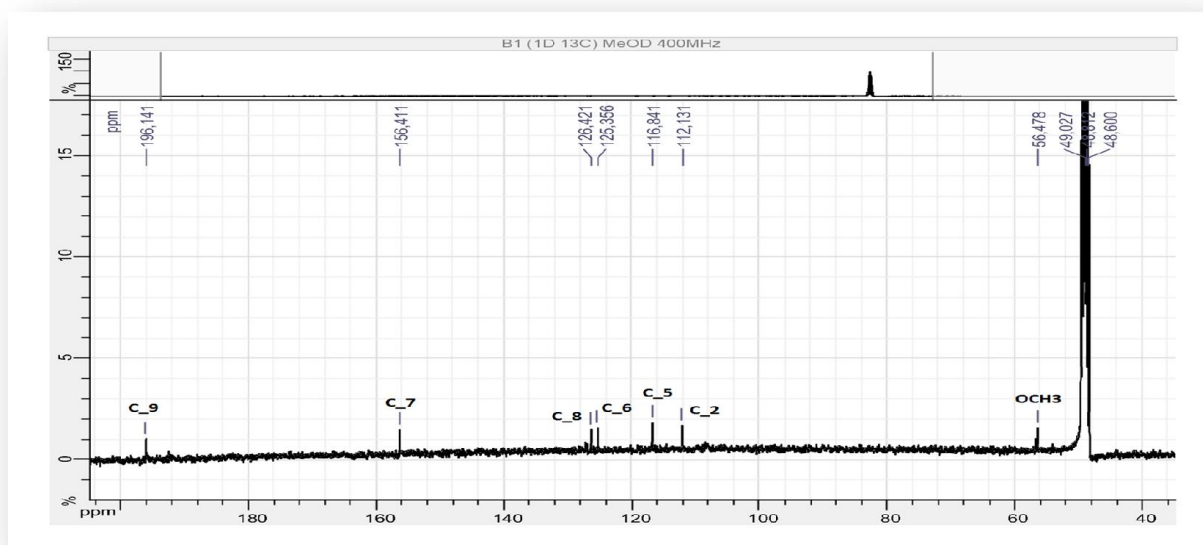
- ✓ Le CH de l'aldehyde (H-9) sous forme d'un doublet donne une tache de corrélation avec le proton H-8 à  $\delta_H$  6.54 ppm sous forme de doublet de doublet. Ce dernier corrèle avec le H-7 à  $\delta_H$  7.5 ppm sous forme de doublet .
- ✓ Le proton H-5 montre une tache de corrélation avec le H-6 à  $\delta_H$  7.06 ppm sous forme d'un doublet de doublet



**Spectre n° 6** : spectre COSY étalé ( 400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>, δ ppm ) du composé B1

Le spectre RMN <sup>13</sup>C (spectre n°7 ) montre la présence de :

- Cinq groupement CH sp<sub>2</sub> à δ<sub>C</sub> ( 156,4 ; 126,4 ; 125,35 ; 116,84 et 112,13 ppm).
- Un groupement méthoxyle à δ<sub>C</sub> 56,47 ppm.
- Un groupement carbonyle d'une fonction aldéhyde à δ<sub>C</sub> 196,14 ppm



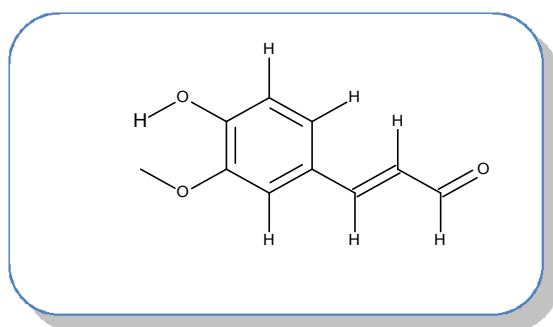
**Spectre n° 7** : spectre RMN <sup>13</sup>C ( 400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>, δ ppm ) du composé B1

Le tableau n°8 rassemble les données spectroscopiques RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  relatives à cette molécule.

**Tableau n°8** : données de la spectroscopie de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  (MeOH- $d_4$ , 400 MHz ) du composé B1

Position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
9	196,1 (CH)	9,46 (d, 8Hz)
8	126,4 (CH)	6,54 (dd, 16 ; 8Hz)
7	156,4 (CH)	7,5 (d, 15,6Hz)
6	125,3 (CH)	7,06 (dd, 10 ; 1,6Hz)
5	116,8 (CH)	6,74 (d, 8Hz)
2	112,13 (CH)	7,15 (d, 2Hz)
OMe-3	56,47 (CH <sub>3</sub> )	3,8 (S)

La molécule B1 est donc : Aldéhyde férulique, toutes ces données sont confirmées par ailleurs par les résultats de la littérature.



### 3. Dosage des polyphénols totaux

L'estimation des teneurs en polyphénole totaux a été effectuée par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentration (Figure 11).

La quantité de polyphénol correspondante d'extrait a été rapportée en équivalent gramme de l'acide gallique et déterminé par l'équation de type :  $y = 0,007x - 0,091$

Le contenu du composé phénolique a été déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'extrait chloroformique présente  $11.48 \pm 1.35 \mu\text{g EAG/g}$ , cette extrait est apolaire alors il est pauvre en polyphénols.

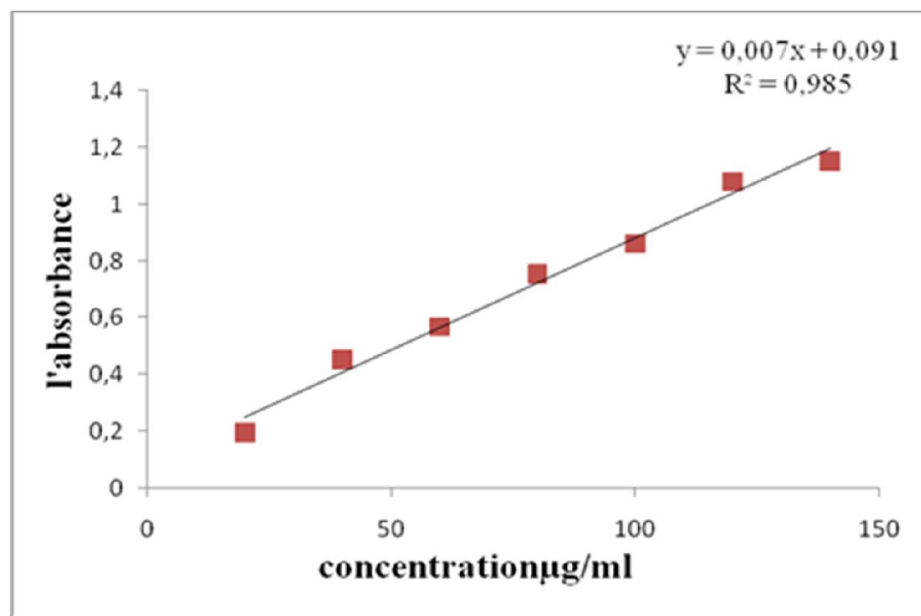
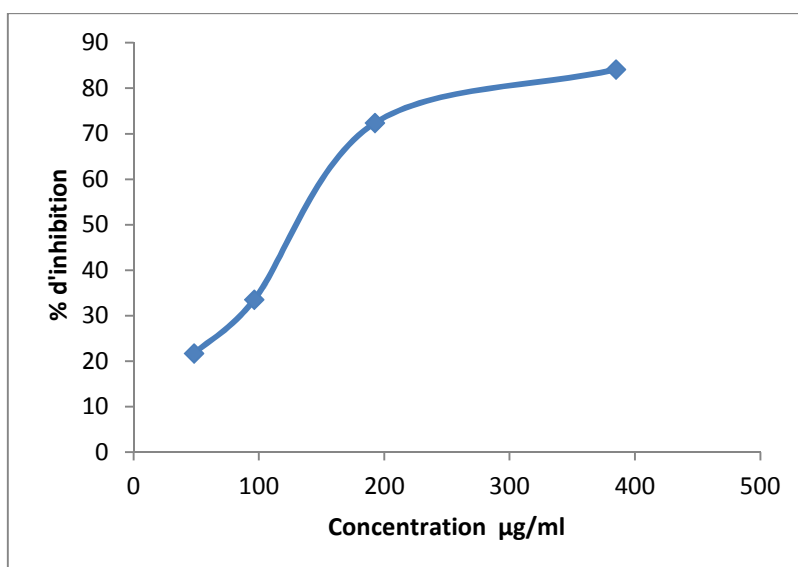


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

#### 4. Evaluation de l'activité antioxydant par le radicale DPPH

L'évaluation du pouvoir antioxydant d'extrait de plante a été déterminée par méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats figurant dans la courbe (figure 12), sont exprimés en pourcentage d'inhibition radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations en extrait de *Saccocalyx satureioides*. Ces résultats montrent que l'activité antioxydante varie de composé à l'autre tout dépend la structure chimique, le nombre et la position des groupes hydroxyle.



**Figure 12:** Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait de *Saccocalyx Satureioides*.

#### 4.2. Calcul des $IC_{50}$

Le pouvoir antioxydant a été déterminé à partir de la concentration inhibitrice  $CI_{50}$ . C'est la concentration nécessaire pour inhiber 50% du radical libre.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le paramètre  $IC_{50}$  est inversement proportionnelle à l'action anti radicalaire (anti DPPH), un  $IC_{50}$  faible correspond à une activité antioxydante élevée et l'inverse.

Les résultats montrent que l'extrait chloroformique présente une concentration inhibitrice  $IC_{50}=164,9 \mu\text{g/ml}$ , la comparaison de cette valeur avec la valeur de  $IC_{50}$  de référence quercétine ( $IC_{50}=3.22 \mu\text{g / ml}$ ) montre que notre extrait a une faible activité antioxydante.



*Conclusion*

## CONCLUSION GENERALE

L'objet de notre étude a porté sur l'étude phytochimique de l'extrait Chloroformique de la plante *Saccocalyx Satereioide*, ainsi que sur l'évaluation de l'activité antioxydant et dosage des polyphénols.

L'utilisation des méthodes chromatographiques, telle que la Chromatographie sur couche mince, chromatographie sur colonne a mené à la séparation d'un composé phénolique (Aldehyde ferulique).

La détermination structurale de ce composé a été réalisée grâce à l'utilisation des techniques physicochimiques et spectroscopiques incluant la spectroscopie ultraviolette (UV), et la spectroscopie de résonance magnétique (RMN) monodimensionnelles ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et bidimensionnelles (COSY, NOESY).

L'activité antioxydante de l'extrait Chloroformique a été évaluée par le test antiradicalaire qui consiste à estimer la capacité de piégeage du radical libre DPPH, Les résultats montrent une faible activité antioxydante. Les résultats du dosage des polyphénols ont montré clairement que cet extrait est pauvre en ces composés.

## ***Résumé***

Ce travail concerne la détermination structurale et l'évaluation biologique de substances naturelles isolées d'une plante de la famille des Lamiacées (*Saccocalyx satereioides*). Cet espèce est connue de sa richesses en composés antioxydants notamment les polyphénols et les flavonoïdes.

L'étude phytochimique de l'extrait Chloroformique de cet espèce a permis, après extraction, séparation et purification, d'isoler et d'identifier un composé pur (ferulique aldehyde). Ce composé a été identifié par la combinaison des données spectroscopiques notamment : la spectroscopie d'absorption UV-Visible, la RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  et ses séquences bidimensionnelles (COSY, NOESY).

Ce travail a fait l'objet d'une évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait Chloroformique par le test de DPPH, cet extrait enregistre une faible activité antioxydante avec une forte valeur de IC50 (IC50=164,9  $\mu\text{g/ml}$ ) et la teneur de cet extrait en phénols totaux montre une teneur faible en composé phénolique (11.48 $\pm$ 1.35  $\mu\text{g EAG/g}$ ).

**Mots clés :** *Saccocalyx satereioides*, Polyphénols, Activité antioxydante, EAG, DPPH.

## ***Summary***

This work deals with the structural determination and biological evaluation of natural substances isolated from a plant of the Lamiaceae family (*Saccocalyx satereioides*). This species is known for its rich antioxidant compounds including polyphenols and flavonoids.

The phytochemical study of the chloroformic extract of this species allowed after extraction, separation and purification, to isolate and identify one compound (ferulic aldehyde). This compound was identified by the combination of spectroscopic data including: spectroscopy of UV-Visible absorption, <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR and its two-dimensional sequences(COSY,NOESY).

This work was the subject of an evaluation of the antioxidant activity of chloroformic extract by the DPPH test. This extract shows a low antioxidant activity with a high IC<sub>50</sub> value (IC<sub>50</sub> = 164.9 µg / ml). and the total phenol content of this extract shows a low phenolic content (11.48 ± 1.35 µg EAG/g).

**Key words:** *Saccocalyx Satereioides*, Polyphenols, Antioxidant activity, EAG, DPPH.

## ملخص

هذا العمل مخصص للتحديد البنوي و التقييم البيولوجي لمركبات طبيعية معزولة من جنس من العائلة الشفوية (زرعتر الابل) . هذا الجنس معروف بغنائه بالمركبات المضادة للأكسدة مثلا: المركبات الفلافونيدية و البوليفينولية . الدراسة الفيتوكيميائية لمستخلص الكلوروفورم لهذا النوع , أدت بعد عملية الاستخلاص , الفصل و التنقية الى الحصول على المركب (ferulique aldehyde) تم تحديد بنية هذا المركب بالاستعانة بطرق التحليل الطيفي : مطيافية الأشعة فوق البنفسجية ومطيافية الرنين المغناطيسي بجميع أنواعها.

تم تقييم هذا العمل من أجل نشاط مضادات الأكسدة في مستخلص الكلوروفورميك من خلال اختبار DPPH ، ويوضح هذا المستخلص نشاط مضادات الأكسدة منخفضة مع قيمة IC50 عالية (IC50= 164.9 ميكروغرام / ميليلتر ) . ويظهر إجمالي محتوى الفينول في هذا المستخلص محتوى فينولي منخفض ( $1.35 \pm 11.48$  ميكروغرام / مغ مكافئ لحمض الغاليك)

كلمات البحث: *Saccocalyx Satureioides*، بوليفينول، DPPH.