



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE
ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE-1
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES
DÉPARTEMENT DE CHIMIE



N° d'ordre : 53/DS/3023

Série : 09/CH/3023

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat ès Sciences
Spécialité : Chimie Organique
Option : Synthèse Organique

Par

M^{elle} BELATTAR Nadjah

Thème

*Contribution à la Chimie des Composés Organoséléniés et Etudes
Phytochimique et Biologique de Plantes Médicinales Algériennes -
Investigation In silico de l'Activité Anti-SARS-CoV-2 des
Molécules Bioactives*

Devant le jury

Pr. MECHEHOUD Youcef	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Président
Pr. MEKKIOU Ratiba	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Directrice de thèse Rapporteuse
Pr. BICHA Sabrina	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Examinatrice
Pr. BENAÏSSA Ouahiba	Université Batna-2	Examinatrice
Dr. AYAD Radia	Université Mohamed Seddik Benyahia, Jijel	Examinatrice
Pr. SEGUENI Narimene	Université Salah Boubnider, Constantine 3	Examinatrice

Année 2022/2023

À la mémoire de ma très chère maman

*Qu'Allah lui accorde le plus haut de son
paradis*

*À mon cher père, pour son soutien et ses
sacrifices tout au long de mes études*

À mes frères et sœurs si très chers et précieux

À tous mes amis et collègues

À mes anges

Mes très chères nièces : Djana et Anfel

Remerciements

Ce travail de thèse, couronné d'un ensemble de résultats issus d'efforts substantiels, consentis tout au long de ma vie consacrée au travail laborantin, a été réalisé en premier lieu, au sein de l'unité de recherche VARENBIOMOL, en matière de valorisation des ressources naturelles et analyses physico-chimiques et biologiques, sous la direction du *Pr. Ramdane SEGHIRI* que je remercie vivement pour sa grande disponibilité ; une autre partie de ce laborieux travail a été effectuée au centre de recherche en sciences pharmaceutique, où j'exprime mes chaleureux remerciements chaleureusement à son personnel administratif et plus particulièrement à son directeur, *Pr. Djekoun* de m'avoir octroyé cette motivation afin d'élargir ma perception et d'optimiser mes acquis scientifiques.

J'ai le grand honneur de rendre hommage à Madame, la *Pr. Fadila BENAYACHE* et Monsieur, le *Pr. Samir BENAYACHE*, je tiens à leur exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude pour m'avoir accueillie dans leur unité de recherche et pour m'avoir formée à la recherche. Je me rappellerai toujours des discussions scientifiques passionnantes que j'ai eues avec eux et surtout leur grand intérêt vis-à-vis de la créativité scientifique au profit de la chimie, face à laquelle je ne pouvais être indifférente.

En effet, cela m'a donné le courage de cheminer dans ma recherche et de persévérer dans des conditions un peu difficiles. Leur disponibilité et leur orientation m'ont procurée la volonté dans la continuité dans mon parcours scientifiques.

Mes grands remerciements s'adressent à ma chère directrice de thèse, *Pr. Ratiba MEKKIOU*, qui était toujours présente et motivante, est en mesure de m'apporter des idées clés et d'interpréter certains résultats. Ses encouragements constants, ses conseils et son aide inestimable ont été mon premier support et mon guide essentiel vers un travail de recherche laborieux mais finalement fructueux.

Je remercie particulièrement monsieur, le *Pr. Youcef MECHEHOUD*, de l'Université Frères Mentouri-Constantine-1, pour avoir guidé avec gentillesse et dynamisme mes travaux de synthèse organique en me faisant l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse.

Je tiens à remercier vivement mes chères dames : *Pr. Ouahiba BENAÏSSA*, de l'Université Batna-2, *Pr. Sabrina BICHA*, de l'Université Frères Mentouri -Constantine-1, *Dr. Radia AYAD*, Maître de conférences à l'Université Mohamed Seddik Benyahia-Jijel et *Pr. Narimene*

SEGUENI, Maître de conférences à l'Université Salah Boubnider-Constantine-3, qui ont aimablement accepté de juger ce travail en tant qu'examinatrices.

J'exprime mes sincères remerciements à mes amis et à toute l'équipe persévérante de notre unité de recherche: madame la *Professeure* : *Ouahiba BOUMAZA* et tous les membres de notre équipe de recherche scientifique : *Dr. Ahmed Abdelrrahim YAHIAOUI*, *Dr. Fatiha LABED*, *Fatima IKHLEF*, *Amina BOUGANDOURA* , *Ammar HOUAT* ,*Mohamed ZABAT*, *Jalal*, *Sarah*, *Chafia*, *Hichem*, *Nawel*, *Sana*, *Khawla*, *Awatef*, *Chafi*, *Soufiane* et *Ramzi*, qui ont toujours su être là pour me remonter le moral en partageant les moments les plus glorieux et les plus difficiles de ce travail ardu..

Ma grande gratitude et ma reconnaissance sont également destinées aux pionniers de la chimie théorique : *Dr. Samir MESKALDJI*, Maître de conférences à l'École Normale Supérieure d'Enseignement Technologique-Skikda, et *Dr. Abdelghani MAY*, enseignant à l'Université Frères Mentouri Constantine -1, pour leur engagement dans la réalisation de l'étude *in silico* de ma thèse, à mes chers Maîtres : *Pr. Abdelmalek BOURAIOU*, *Dr. Badra BARHOUCHE* pour leur disponibilité, leurs précieux conseils et leur soutien inconditionnel lors de la préparation de cette thèse.

Enfin, mes sincères gratitudes vont également à ceux qui m'ont soutenu dans tous les moments difficiles, mes sœurs et mes frères, sans eux, ce travail n'aurait sans doute jamais pu voir le jour, je leur serai redevable à jamais.

Liste de figures

Figure I-1: Les réactifs phénylsélénylés électrophiles les plus communs	23
Figure I-2: Les diséléniures optiquement actifs	25
Figure I-3 : Les diséléniures chiraux non racémiques	26
Figure I-2I-4: Réactions de cyclisation des <i>O</i> -allylhydroxylamines	56
Figure IV-1: Spectre RMN- ¹ H(250 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit Azoxybenzène (IIa)	90
Figure IV-2: Étalement de la zone (6,01-6,07 ppm)	91
Figure IV-3: Étalement de la zone (6,258-6,320 ppm)	91
Figure IV-4: Étalement de la zone (6,388-6,518 ppm)	92
Figure IV-5: Étalement de la zone (7,237-7,280 ppm)	92
Figure IV-6: Étalement de la zone (7,528-7,621 ppm)	93
Figure IV-7: Spectre RMN- ¹³ C (75 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit Azoxybenzène (IIa).	94
Figure IV-8: Spectre IR du produit Azoxybenzène (IIa)	95
Figure IV-9: Spectre RMN- ¹ H(250 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>o,o'</i> -Diméthylazoxybenzène (IIb)	96
Figure IV-10: Étalement de la zone (6,452-6,507 ppm)	96
Figure IV-11: Étalement de la zone (6,605-6,634 ppm)	97
Figure IV-12: Étalement de la zone (6,820-6,879 ppm)	97
Figure IV-13: Étalement de la zone (7,224-7,255 ppm)	98
Figure IV-14: Étalement de la zone (7,550-7,609 ppm)	98
Figure IV-15: Étalement de la zone (7,773-7,806 ppm)	99
Figure IV-16: Étalement de la zone (8,004-8,035 ppm)	99
Figure IV-17: Spectre RMN- ¹³ C (75 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>o,o'</i> -Diméthylazoxybenzène (IIb).	100
Figure IV-18: Spectre IR du produit <i>o,o'</i> -Diméthylazoxybenzène (IIb)	101
Figure IV-19: Spectre RMN- ¹ H(250 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>m,m'</i> -Diméthylazoxybenzène (IIc)	102
Figure IV-20: Étalement de la zone (6,250-6,282 ppm)	102
Figure IV-21: Étalement de la zone (6,48- 6,543 ppm)	103
Figure IV-22: Étalement de la zone (6,800- 6,837 ppm)	103
Figure IV-23: Étalement de la zone (7,35 ppm)	104
Figure IV-24: Étalement de la zone (7,680-7,715 ppm)	104
Figure IV-25: Étalement de la zone (8,46 ppm)	105
Figure IV-26: Spectre RMN- ¹³ C(75 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>m,m'</i> -Diméthylazoxybenzène (IIc).	105
Figure IV-27: Spectre IR du produit <i>m,m'</i> -Diméthylazoxybenzène (IIc)	106
Figure IV-28: Spectre RMN- ¹ H(250 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>p,p'</i> -Diméthylazoxybenzène (IId)	107
Figure IV-29: Étalement de la zone (2,18-2,20 ppm)	107
Figure IV-30: Étalement de la zone (7,503-7,536 ppm)	108

Figure IV-31: Étalement de la zone (7,815-7,890 ppm)	108
Figure IV-32: Étalement de la zone (8,341-8,378 ppm)	109
Figure IV-33: Spectre RMN- ¹³ C(75 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>p,p'</i> -Diméthylazoxybenzène (IId).	109
Figure IV-34: Spectre IR du produit <i>p,p'</i> -Diméthylazoxybenzène (IId)	110
Figure IV-35: Spectre RMN- ¹ H(300 ppm, CDCl ₃) du produit <i>p,p'</i> -Dichloroazoxybenzène (IIe)	111
Figure IV-36: Étalement de la zone (7,603-7,663 ppm)	111
Figure IV-37: Étalement de la zone (8,067-8,107 ppm)	112
Figure IV-38: Étalement de la zone (8,168-8,206 ppm)	112
Figure IV-39: Spectre RMN- ¹³ C(75 ppm, CDCl ₃) du produit <i>p,p'</i> -Dichloroazoxybenzène (IIe)	113
Figure IV-40: Étalement de la zone (124 et 130 ppm)	113
Figure IV-41: Spectre IR du produit <i>p,p'</i> -Dichloroazoxybenzène (IIe)	114
Figure IV-42: Spectre RMN- ¹ H(300 ppm, CDCl ₃) du produit <i>p,p'</i> - Dibromoazoxybenzène (IIf).	115
Figure IV-43: Étalement de la zone (7,65-7,69 ppm)	115
Figure IV-44: Étalement de la zone (7,77-7,847 ppm)	116
Figure IV-45: Spectre RMN- ¹³ C(75 ppm, CDCl ₃) du produit <i>p,p'</i> - Dibromoazoxybenzène (IIf).	116
Figure IV-46: Spectre IR du produit <i>p,p'</i> - Dibromoazoxybenzène (IIf).	117
Figure IV-47: Spectre RMN- ¹ H(300 ppm, CDCl ₃) du produit <i>p,p'</i> - Diiodoazoxybenzène (IIg)	118
Figure IV-48: Étalement de la zone (7,65-7,69 ppm)	118
Figure IV-49: Étalement de la zone (8,16-8,18 ppm)	119
Figure IV-50: Étalement de la zone (8,466-8,493ppm)	119
Figure IV-51: Spectre RMN- ¹³ C(75 ppm, CDCl ₃) du produit <i>p,p'</i> - Diiodoazoxybenzène (IIg)	120
Figure IV-52: Spectre IR du produit <i>p,p'</i> - Diiodoazoxybenzène (IIg)	121
Figure IV-53: Spectre RMN- ¹ H(300 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>p,p'</i> - Dicarboxylazoxybenzène (IIh)	122
Figure IV-54: Étalement de la zone (6,191-6,264 ppm)	122
Figure IV-55: Étalement de la zone (6,755-6,784 ppm)	123
Figure IV-56: Étalement de la zone (7,482-7,517ppm)	123
Figure IV-57: Spectre RMN- ¹³ C(75 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>p,p'</i> - Dicarboxylazoxybenzène (IIh)	124
Figure IV-58: Spectre IR du produit <i>p,p'</i> - Dicarboxylazoxybenzène (IIh)	125
Figure IV-59: Spectre RMN- ¹ H(300 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>p,p'</i> - Diméthoxyazoxybenzène (IIi).	126
Figure IV-60: Étalement de la zone (3,45-3,46 ppm)	126
Figure IV-61: Étalement de la zone (7,135-7,204 ppm)	127
Figure IV-62: Étalement de la zone (8,731-8,768 ppm)	127
Figure IV-63: Étalement de la zone (9,261-9,298 ppm)	128

Figure IV-64: Spectre RMN- ¹³ C(75 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>p,p'</i> - Diméthoxyazoxybenzène (Iii)	128
Figure IV-65: Spectre IR du produit <i>p,p'</i> - Diméthoxyazoxybenzène (Iii)	129
Figure IV-66: Spectre RMN- ¹ H(300 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>p,p'</i> - Diacétylazoxybenzène (IIj).	130
Figure IV-67: Étalement de la zone (2,59-2,6 ppm)	131
Figure IV-68: Étalement de la zone (7,402-7,437 ppm)	131
Figure IV-69: Étalement de la zone (7,667-7,692 ppm)	132
Figure IV-70: Étalement de la zone (7,908-7,931 ppm)	132
Figure IV-71: Étalement de la zone (7,964-7,995ppm)	133
Figure IV-72: Spectre RMN- ¹³ C(75 ppm, DMSO- <i>d</i> ₆) du produit <i>p,p'</i> - Diacétylazoxybenzène (IIj).	133
Figure IV-73: Spectre IR du produit <i>p,p'</i> - Diacétylazoxybenzène (IIj)	134
Figure I-1: Photo de l'espèce <i>Pelargonium graveolens</i> L'Hér (photo réelle)	142
Figure I-2: Photo de l'espèce <i>Lavandula dentata</i> (photo réelle)	147
Figure I-3: Photo de l'espèce <i>Arbutus unedo</i> L.	151
Figure I-4: La répartition de l'espèce <i>Arbutus unedo</i> L. dans le monde (O Kirkardyella Boweri ; Siphoninus, 2000)	152
Figure I-5: Les structures de quelques acides organiques isolés de l'espèce <i>A.unedo</i>	154
Figure I-6: Quelques composés phénoliques simples isolés de l' <i>A unedo</i>	155
Figure I-7: Les anthocyanines isolées de l'espèce <i>A.unedo</i>	156
Figure I-8: Les monomères des procyanidines isolés de l'espèce <i>A.unedo</i>	157
Figure I-9: Les procyanidines isolées de l'espèce <i>A.unedo</i>	158
Figure I-10: Les dérivés de l'acide gallique et les tanins isolés de l'espèce <i>A.unedo</i>	159
Figure I-11 : Les flavonoïdes isolés de l'espèce <i>A. unedo</i>	161
Figure.I-12: Les terpènes isolés de l'espèce <i>A. unedo</i>	163
Figure.I-13: Les iridoïdes isolés de l'espèce <i>A. unedo</i>	165
Figure I-14: Les acides gras isolés de l'espèce <i>A. unedo</i>	167
Figure I-15: Autres produits isolés du miel de l'espèce <i>A. unedo</i>	169
Figure I-16: Structures de quelques molécules isolées de l'huile essentielle de l'espèce <i>A. unedo</i>	173
Figure.II-1: Montage d'extraction des H.E par entraînement à la vapeur	186
Figure II-2: Montage d'extraction des H.E par hydrodistillation (Clevenger)	188
Figure.II-3:Organigramme d'extraction à froid de l'espèce <i>Arbutus unedo</i>	190
Figure II-4: la neuro-inflammation et la cascade amyloïde	209
Figure III-1: Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>P. graveolens</i>	220
Figure.III-2: Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>L. dentata</i>	227
Figure III-3 : Spectre de RMN- ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé N4	240
Figure III-4: Spectre de RMN- ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) étalé (6,5 à 8 ppm) du composé N4	240
Figure III-5: Spectre de RMN- ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé N4	241

Figure III-6 : Spectre HSQC du composé N4 (zone aromatique)	241
Figure III-7: Spectre COSY du composé N4 (zone aromatique)	242
Figure III-8: Portions de structures du composé N4	242
Figure III-9: Spectre RMN- ¹ H étalé (4 à 5 ppm) (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé N4	243
Figure III-10: Spectre HSQC (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé N4	244
Figure III-11: Spectre COSY du composé N4 (zone correspondant aux protons du sucre)	245
Figure III-12: Spectre HSQC du composé N4 (zone correspondant aux protons du sucre)	245
Figure III-13: Spectre HMBC du composé N4 étalé (3 à 5 ppm)	246
Figure.III-14: Structure partielle du composé N4	246
Figure III-15: Structure finale du composé N4	247
Figure III-16: Série spectrale UV avec différents réactifs du composé N5	250
Figure III-17: Structure partielle du composé N5	251
Figure III-18: Spectre de RMN- ¹ H (250 MHz, CD ₃ OD) du composé N5	252
Figure III-19: Spectre de RMN- ¹ H (250 MHz, CD ₃ OD) étalé (4,25 à 8 ppm) du composé N5	253
Figure III-20: Structure du composé N5	253
Figure III-21: Les histogrammes représentant les CMI de la phase <i>n</i> -BuOH vis-à-vis de différentes souches	260
Figure III-22: Les histogrammes représentant les CMI de la phase AcOEt vis-à-vis de différentes souches	260
Figure III-23: Les histogrammes représentant les CMI de la phase CHCl ₃ vis-à-vis de différentes souches	261
Figure III-24: Contrôle négatif (MeOH)	262
Figure III-25: Inhibition des bactéries: <i>S.aureus</i> ; <i>A.baumannii</i> ; <i>M.morganii</i> ; <i>P. aeruginosa</i> et <i>S.typhimurium</i> par la phase <i>n</i> -BuOH	262
Figure III-26: Inhibition des bactéries : <i>S. aureus</i> ; <i>A.baumannii</i> ; <i>M.morganii</i> ; <i>E.coli</i> ; <i>P.aeruginosa</i> et <i>S.typhimurium</i> par la phase AcOEt	262
Figure III-27: Inhibition des bactéries : <i>S.aureus</i> ; <i>A.baumannii</i> ; <i>M.morganii</i> ; <i>E.coli</i> ; <i>P.aeruginosa</i> et <i>S.typhimurium</i> par la phase CHCl ₃	263
Figure III-28: Inhibition des bactéries : <i>E.coli</i> ; <i>P.aeruginosa</i> et <i>S.typhimurium</i> par la phase <i>n</i> -BuOH	263
Figure III-29: Inhibition des bactéries : <i>S.aureus</i> ; <i>A.baumannii</i> et <i>M.morganii</i> par la phase <i>n</i> -BuOH	264
Figure III-30: Inhibition des bactéries : <i>E. coli</i> ; <i>P.aeruginosa</i> et <i>S.typhimurium</i> par la phase AcOEt.	265
Figure III-31: Inhibition des bactéries : <i>S.aureus</i> ; <i>A.baumannii</i> et <i>M.morganii</i> par la phase AcOEt	266
Figure III-32: Inhibition des bactéries : <i>E.coli</i> ; <i>P.aeruginosa</i> et <i>S.typhimurium</i> par la phase CHCl ₃	267
Figure III-33: Inhibition des bactéries : <i>S.aureus</i> ; <i>A.baumannii</i> et <i>M.morganii</i> par la phase CHCl ₃	268
Figure III-34: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	272

Figure III-35 : Courbe d'étalonnage de la quercétine	272
Figure III-36: Les courbes des pourcentages d'inhibition des extraits MeOH, CHCl ₃ , AcOEt et <i>n</i> -BuOH dans le test DPPH	274
Figure III-37: Les courbes des pourcentages d'inhibition des extraits MeOH, CHCl ₃ , AcOEt, <i>n</i> -BuOH dans le test ABTS	275
Figure III-38: Les courbes des pourcentages d'inhibition des extraits MeOH, CHCl ₃ , AcOEt, <i>n</i> -BuOH dans le test CUPRAC	276
Figure III-39: Les courbes des pourcentages d'inhibition des extraits dans le test phénanthroline	276
Figure III-40: Les courbes d'inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits MeOH, CHCl ₃ , AcOEt et <i>n</i> -BuOH	278
Figure III-42: Les courbes des pourcentages d'inhibition de α -amylase par les extraits MeOH, CHCl ₃ , AcOEt et <i>n</i> -BuOH	279
Figure III-43: Histogrammes représentant l'activité antidiabétique de l'extrait MeOH, la catéchine, l'arbutine et l'acarbose comme standard	281
Figure III-43: Les interactions de la catéchine avec le site actif de α -glucosidase (2ZE0)	285
Figure III-44: Les interactions de la catéchine avec le site actif de α -amylase (1HNY)	286
Figure III-45: Les interactions de l'arbutine avec le site actif de α -glucosidase (2ZE0)	286
Figure III-46: Les interactions de l'arbutine avec le site actif de α -amylase (1HNY)	287
Figure III-47: Les interactions de l'acarbose avec le site actif de α -glucosidase (2ZE0)	287
Figure III-48: Les interactions de l'acarbose avec le site actif de α -amylase (1HNY)	288

Liste de schémas

Schéma I-1 : Les formes organiques et inorganiques du sélénium.	12
Schéma I-2: La réaction entre Se^{4+} et le groupement thiol.	16
Schéma I-3: Assimilation du sélénium inorganique dans l'organisme vivant.	19
Schéma I-4: Réactions d'addition et de cyclisation favorisées par les réactifs séléniés électrophiles.	21
Schéma I-5: Production de phénylsélénylène à partir de diséléniure de diphenyle.	24
Schéma I-6 : Réactions de desélénylation.	28
Schéma I-7: Série de réactions d'oxysélénylation (synthèse de cyclitols).	29
Schéma I-8: Mécanisme de méthoxysélénylation asymétrique de styrène.	32
Schéma I-9: Réactions d'amidosélénylation	37
Schéma I-10: Carbamato-, cyanamido- et sulfonamido-sélénylation des alcènes.	38
Schéma I-11 : Aminosélénylation des alcènes pauvres en électrons.	39
Schéma I-12: L'azidosélénylation électrophile des alcènes.	40
Schéma I-13: L'azidosélénylation radicalaire des alcènes.	41
Schéma I-14 : Réactions de cyclo-fonctionnalisation induites par sélénium.	43
Schéma I-15: Sélénoétherification et sélénoactonisation des alcènes.	45
Schéma I-16: Synthèse des groupements acétal cycliques par hydroxysélénylation des cétones dialcényles.	46
Schéma I-17 : Sélénoactonisation d'alcénylnitriles.	47
Schéma I-18 : Stéréosélectivité des cyclisations des alcools homoallyliques aux tétrahydrofuranes favorisés par le N-(phénylséléno) phtalimide (A) et par le bromure de (2,4,6-trisisopropylphényl) sélénylène (B).	48
Schéma I-19 : Cyclisation de 2-carbométhoxy-3-alcénols aux dérivés de tétrahydrofurane favorisés par le sulfate de phénylsélénylène.	49
Schéma I-20 : Cyclisation de l'alc-3-èn-1-ol substitué en position 2 aux dérivés de tétrahydrofurane favorisés par chlorure de phénylsélénylène.	50
Schéma I-21 : Cyclisation d'alcénylnitrones aux 1,2-oxazines.	51
Schéma I-22: Réactions de cyclisation de N-alcénylamines primaires protégées.	54
Schéma I-23: Réactions de cyclisation d'alcénylamines secondaires.	55
Schéma I-24: Réactions de cyclisation d'imidates et d'alcénylimines.	57
Schéma I-25: Réactions de cyclisation des <i>O</i> -allyloximes.	58
Schéma II-1: Réaction de halogéniure de phénylsélénylène avec un nucléophile externe.	68
Schéma II-2: Réaction de halogéniure de phénylsélénylène avec un nucléophile interne.	69
Schéma II-3: Réaction de cyclisation avec un nucléophile interne.	70
Schéma II-4: Élimination du fragment sélénié.	70
Schéma II-5: La synthèse d'isocoumarines (produit 3) catalysée par le diséléniure de diphenyle.	70

Schéma II-6: Nouvelle synthèse proposée des dihydroisocoumarines (produit 4).	71
Schéma II-7: L'ouverture du cycle oxolane par réduction de diséléniure de diphenyle en utilisant aluminohydrure de lithium.	71
Schéma II-8: Le clivage d'aziridine chirale via la réduction de diséléniure de diphenyle en utilisant les copeaux de zinc dans une solution de l'éther diéthylique et HCl.	72
Schéma II-9: La réduction du diséléniure de diphenyle par le borohydrure de sodium dans l'EtOH / THF (réaction 1).	73
Schéma II-10: La formation d'anion phénylséléniure par réaction du diséléniure de diphenyle avec le sodium métallique (réaction 2).	73
Schéma II-11: La formation d'anion phénylséléniure par réaction du phénylséléniol avec l'hydruure de sodium (réaction 3).	73
Schéma IV-1 : La réaction générale de la réduction catalytique de nitroarènes aux composés azoxyarènes.	85
Schéma IV-2 : Réduction catalytique de nitroarène en utilisant (PhSe) ₂ .	86
Schéma IV-3: La formation d'anion phénylséléniure par réaction du diséléniure de diphenyle avec borohydrure de sodium.	86
Schéma IV-4: Formation du sel (phénylséléno) triéthoxyborate de sodium comme une source du sélénium nucléophile.	87
Schéma IV-5: La réduction de nitrobenzène par phénylséléniure de sodium dans THF.	87
Schéma IV-6: La réduction de 3-méthylnitrobenzène par phénylséléniure de sodium dans THF.	88
Schéma IV-7: L'attaque nucléophile de l'ion phénylséléniure (PhSe ⁻) sur l'azote du composé nitroarène et la libération du composé nitroso.	88
Schéma IV-8: Le cycle catalytique de (PhSe) ₂ et la formation des azoxyarènes.	89
Schéma II-1: Réduction du radical DPPH [•] en DPPH-H.	204
Schéma II-2: Mécanisme proposé de piégeage des radicaux cationiques ABTS ^{•+} par des agents antioxydants .	206
Schéma II-3: Réduction du complexe Cu (II)-néocuproïne .	207

Liste de tableaux

Tableau I-1: Propriétés chimiques et physiques du sélénium.	10
Tableau I-2: Méthoxysélénénylation asymétrique de styrène.	33
Tableau I-3: Méthoxysélénénylation asymétrique des alcènes.	33
Tableau I-4: Hydroxysélénénylation des alcènes avec sulfate de camphorsélényle, R*: SO ₃ H, dans l'acétonitrile et l'eau à 40 °C.	35
Tableau I-5 : Le rendement (%) et l'excès diastéréoisomérique des réactions asymétriques de séléoétherification et de sélénolactonisation en utilisant les différents diséléniures.	52
Tableau IV-1: Les différents groupements substituants utilisés.	85
Tableau IV-2: : La réduction des nitroarènes (I) aux composés azoxy (II) et azo (III) catalysée par (PhSe) ₂ ^a .	89
Tableau I-1 : Place dans la systématique de l'espèce <i>P. graveolens</i> .	143
Tableau I-2 : Classification botanique de <i>Lavandula dentata</i> .	147
Tableau I-3 : Classification systématique de l' <i>Arbutus unedo</i> L.	151
Tableau II-1: Résultat du fractionnement de l'extrait AcOEt sur colonne de gel de silice avec le système d'élution CHCl ₃ /MeOH en gradient de polarité.	194
Tableau III-1: Les temps de rétention et les pourcentages de chaque composant présent dans l'huile essentielle de l'espèce <i>P. graveolens</i> L'Hér.	220
Tableau III-2:La teneur des principaux constituants présents dans l'huile essentielle de <i>P.graveolens</i> provenant de différentes régions.	226
Tableau III-3: Les temps de rétention et les pourcentages des composants chimiques présents dans l'huile essentielle de l'espèce <i>Lavandula dentata</i> L.	227
Tableau III-4: La teneur des principaux constituants présents dans l'huile essentielle de <i>Lavandula dentata</i> L. de différentes régions.	233
Tableau.III-5:Les temps de rétention et les pourcentages des composants chimiques présents dans l'huile essentielle de l'espèce <i>Arbutus unedo</i> .	234
Tableau III-6: Étude comparative entre les huiles essentielles de l'espèce <i>A. unedo</i> de différentes régions.	237
Tableau III-7: Résultat du rendement de l'extraction.	238
Tableau III-8 : Les différents métabolites présents dans l'extrait MeOH de l'espèce <i>A. unedo</i> .	238
Tableau III-9: Tableau des données spectrales du composé N4.	247
Tableau.III-10: Données spectrales des résultats de la série spectrale UV du composé N5.	249
Tableau III-11: Données de la spectrométrie RMN- ¹ H (250 MHz) du composé N5.	252
Tableau III-12: L'activité antibactérienne <i>in vitro</i> des huiles essentielles des espèces <i>Pelargonium graveolens</i> et <i>Lavandula dentata</i> .	255

Tableau III-13: Comparaison avec la littérature concernant l'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>L.dentata</i> de diverses origines.	256
Tableau III-14: Les CMI _s des trois phases vis-à-vis de différentes souches bactériennes.	259
Tableau III-15: Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans différents extraits.	273
Tableau III-16: Les CI _(s) ₅₀ et A _(s) _{0.5} de différents extraits et de BHA dans les tests <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante.	274
Tableau III-17: Mesure de la capacité inhibitrice de l'acétylcholinestérase par les extraits.	277
Tableau III-18: Mesure de la capacité inhibitrice de α -amylase par les extraits.	279
Tableau III-19: Les résultats du docking moléculaire, issus du logiciel AutoDock Vina dans les sites actifs de α -glucosidase (2ZE0) et α -amylase (1HNY).	283
Tableau IV-1: Les structures chimiques de différentes molécules mises en étude.	296
Tableau IV-2: Les propriétés physicochimiques prédites des molécules mises en étude.	301
Tableau IV-3: Les propriétés ADMET des molécules étudiées.	302
Tableau IV-4: Les résultats du docking des molécules étudiées avec la protéine principale du SARS-CoV-2 (PDB ID:6Y84).	303
Tableau IV-5: Les différents acides aminés responsables des interactions des molécules étudiées avec la principale cible protéique de COVID-19.	307

Liste des abréviations

r.d: rapport des diastéréoisomères.

DAN: 2,4-diaminonaphtalène .

AIBN: azobisisobutyronitrile

e.d (%): excès diastéréoisomérique.

PSS: sulfate de phénylsélénène.

N-PSP: *N*-(phénylséléno) phtalimide.

NaBH₄: borohydrure de sodium.

BH₃: borane.

HMPA: hexaméthylphosphoramide.

DMF: *N,N*-diméthylformamide

DMSO: diméthylsulfoxyde

THF: tétrahydrofurane

Boc: *tert*-butoxycarbonyle.

p.f : point de fusion.

HPLC: chromatographie en phase liquide à haute performance.

DAD: diode array detector.

H.E: huile essentielle.

CG/SM: chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

NIST: national institute of standards and technology

CCM: chromatographie sur couche mince.

ATCC: collection américaine de cultures de type.

DO: densité optique.

MH: Mueller Hinton.

CMI: concentration minimale inhibitrice

CMB: concentration minimale bactéricide.

CLSI : clinical and laboratory standards institute.

UFC: unités formant une colonie .

FCR : réactif de Folin-Ciocalteu.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle .

CI₅₀: concentration inhibitrice de 50 % des radicaux libres.

BHA: butylhydroxyanisol.

ABTS^{•+}: acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

CUPRAC: capacité antioxydante réduisant l'ion cuivre.

tr: temps de rétention

SD : standard deviation.

ANOVA: analyse unidirectionnelle de variance.

AChE: acétylcholinestérase.

BuChE : butyrylcholinestérase.

DTNB: acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque).

ATCI: iodure d'acétylthiocholine qui est généralement utilisée comme substrat dans la réaction.

RMN: résonance magnétique nucléaire.

HSQC: heteronuclear single quantum .

COSY: correlated spectroscopy.

HMBC: heteronuclear multiple bond correlation.

BLSE: bêta-lactamase à spectre étendu.

ADMET: absorption, diffusion, métabolisme, élimination, toxicité.

HIA: human intestinal absorption (absorption intestinale chez l'homme).

Caco-2 CP: cancer coli cell permeability (perméabilité aux cellules du cancer colorectal).

MDCK CP: Madin-Darby canine kidney cell permeability (perméabilité aux cellules rénales canines Madin-Darby).

SP (logKp): skin permeability (perméabilité cutanée ; exprimée en tant que perméabilité cutanée logarithmique (logKp) prédite par la relation quantitative structure-activité (logKp prédit) par rapport aux valeurs observées expérimentalement (logKp observé)).

BS: buffer solution (solution tampon).

PWS: pure water solution (solubilité dans l'eau pure).

PPB: plasma protein binding (la liaison aux protéines plasmatiques).

BBB: blood brain barrier (la barrière hémato-encéphalique).

Table des matières

PARTIE I:	SYNTHESE ORGANIQUE.....	6
CHAPITRE I: CONTRIBUTION A LA CHIMIE DES ORGANOSELENIES 7		
I.1	<i>Introduction</i>	8
I.2	<i>Contribution à la chimie des organosélénies.....</i>	8
I.3	<i>Références bibliographiques.....</i>	59
CHAPITRE II: REACTIONS DE SYNTHESE DES DERIVES D'AZOXYBENZENE 67		
II.1	<i>Les réactions de diséléniure de diphenyle</i>	68
II.2	<i>Références bibliographiques</i>	75
CHAPITRE III: PARTIE EXPERIMENTALE..... 77		
III.1	<i>Matériel et méthodes de synthèse</i>	Erreur ! Signet non défini.
III.2	<i>Procédure de synthèse générale</i>	78
CHAPITRE IV: RESULTATS ET DISCUSSION..... 84		
IV.1	<i>Planification de la réaction de réduction des nitroarènes en composés azoxybenzènes</i>	85
IV.2	<i>Mécanisme réactionnel et discussion</i>	86
IV.3	<i>Les données expérimentales</i>	89
IV.4	<i>Les données spectrales</i>	90
IV.5	<i>Références bibliographiques</i>	148
PARTIE II:	ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DE L'ACTIVITE	
BIOLOGIQUE	139	
CHAPITRE I: APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES PLANTES ETUDIEES 140		
I.1	<i>Introduction</i>	141
I.2	<i>Aperçu bibliographique sur l'espèce Pelargonium graveolens L'Hér</i>	142
I.3	<i>Étude phytochimique de l'espèce Arbutus unedo.....</i>	149
I.4	<i>Conclusion</i>	176
I.5	<i>Références bibliographiques.....</i>	176
CHAPITRE II: PARTIE EXPERIMENTALE 184		
II.1	<i>Travaux de la partie chimique.....</i>	186
II.2	<i>Travaux de la partie biologique</i>	199
II.3	<i>Références bibliographiques</i>	215
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION..... 219		
III.1	<i>Résultats et discussion de la partie chimique</i>	220
III.2	<i>Résultats et discussion de la partie biologique.....</i>	255
III.3	<i>Références bibliographiques</i>	292
IV.1	<i>Introduction.....</i>	297
IV.2	<i>Résultats et discussion</i>	304

Introduction générale

La chimie organique est une science expérimentale qui décrit et concrétise la synthèse des molécules organiques en se basant sur l'ensemble des propriétés physico-chimiques des groupements fonctionnels de chaque classe de composés mis en réaction. Une molécule organique est généralement synthétisée via des étapes successives à partir de molécules commerciales simples en exploitant la connaissance d'un certain nombre de concepts de base.

Ces acquisitions se sont développées progressivement au fil des années, de sorte que la synthèse de molécules complexes et multifonctionnelles via des séquences multi-étapes et parfois multi-phases a atteint son apogée. Les chimistes ont appris à reconnaître les caractéristiques, d'une part, de la réactivité dans le comportement d'un composé particulier vis-à-vis de différents réactifs et d'une série de composés vis-à-vis d'un réactif particulier et, d'autre part, de l'influence sélective dans l'interaction de ces réactifs vis-à-vis des groupements fonctionnels. En effet, cette reconnaissance a conduit à la rationalisation et, au-delà, à une description quantitative du processus de réaction en termes de cinétique et de thermodynamique. Théoriquement, il est nécessaire de connaître les positions des atomes et les énergies correspondant à chaque ensemble de positions, à tous les stades, des réactifs aux produits. Ces prérequis sont disponibles sur la base de calculs d'orbitales moléculaires pour certains systèmes simples, mais pour la plupart des réactions, nous devons nous appuyer sur des preuves indirectes. En effet, seule une minorité de réactions a été étudiée mécaniquement, et les connaissances acquises ont été largement extrapolées à d'autres réactions apparentées, parfois erronées [1].

L'étude de la chimie organique comporte deux aspects principaux : statique et dynamique. La chimie organique statique s'intéresse aux structures des molécules, tandis que la chimie organique dynamique analyse la cinétique de leurs réactions, mais les deux sont étroitement liées. De manière générale, la chimie organique est toujours à la recherche de méthodes et de techniques permettant d'obtenir de bons rendements lors des manipulations et de garantir une bonne reproductibilité de certains composés d'un intérêt thérapeutique ou industriel inestimable. Ainsi, cette synthèse organique progresse tant sur le plan des techniques que sur celui de la rationalisation des concepts qu'elle renferme. Au cours des dernières décennies, de nouvelles méthodes de synthèse sont apparues : la catalyse par transfert de phase, la catalyse sur des supports disposés de capteurs, des métaux de transition, la synthèse sans solvant, la synthèse induite par micro-ondes ou ultrasons, etc.

Les manipulations sont classées en fonction des propriétés réactionnelles des réactifs et des conditions expérimentales utilisées pour obtenir de bons rendements [2].

La phytochimie est la science qui s'intéresse à l'étude qualitative et quantitative des substances naturelles contenues dans la matière végétale, afin de discerner celles qui ont une action thérapeutique sur l'organisme, en fonction de leur contenu chimique dans ces plantes.

La phytothérapie fait référence aux principes actifs que les plantes synthétisent en très petites quantités au cours de leur métabolisme secondaire, de sorte que les structures chimiques de ces molécules peuvent être identifiées par des méthodes d'analyse physico-chimique bien développées [3-4]. Parallèlement, les plantes synthétisent d'autres composés liés au métabolisme primaire, qui sont essentiels à la subsistance et à la reproduction non seulement de la plante elle-même, mais aussi des animaux qui s'en nourrissent [5].

Dans le cadre de la préparation d'une thèse de Doctorat, ces travaux méthodologiques ont fait l'objet d'une étude bibliographique approfondie, divisée en deux grandes parties : la première partie est consacrée à la synthèse organique, dans laquelle les composés organosélénisés sont remarquablement visualisés lors de la réalisation de certaines réactions organiques, divisée en quatre chapitres :

- Un premier chapitre renferme des données bibliographiques sur la chimie des composés organosélénisés.
- Un deuxième chapitre présente également des données bibliographiques sur les réactions de synthèse des dérivés d'azoxybenzène.
- Un troisième chapitre comprend toute une section expérimentale avec différentes étapes.
- Un quatrième chapitre est consacré à l'interprétation des résultats.

Cette partie se termine par une conclusion.

La deuxième partie sera consacrée à l'étude phytochimique et bibliographique de trois espèces algériennes, également divisée en quatre chapitres :

- Un premier chapitre qui présente un aperçu bibliographique sur les trois plantes étudiées, à savoir *Pelargonium graveolens* L'Hér, *Lavandula dentata* L. et *Arbutus unedo* L. appartenant respectivement aux familles Géraniacées, Lamiacées et Ericacées.

- Un deuxième chapitre qui comporte toute une partie expérimentale portant sur l'extraction des huiles essentielles des trois espèces et l'investigation phytochimique de l'extrait AcOEt de *A.unedo* avec l'évaluation de leurs activités biologiques à savoir antibactérienne, antioxydante, antidiabétique et anti-Alzheimer.
- Un troisième chapitre est dévoué au traitement et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.
- Un quatrième chapitre est consacré à l'étude *in silico* qui a été effectuée sur quelques molécules bioactives isolées de l'espèce *A.unedo* afin de sélectionner les inhibiteurs prometteurs du virus SARS-CoV-2.

On termine par une conclusion générale.

Références bibliographiques

- [1] R.A.Y. Jones, "Physical and mechanistic organic chemistry," *Cambridge Texts in Chemistry and Biochemistry*, University of East Anglia, Norwich, 1979.
- [2] J.P. Bayle, "400 manipulations commentées de chimie organique," *Ellipses Edition Marketing S.A.*, Paris, 2006.
- [3] G. M. König, A. D. Wright, S. G. Franekblau, "Assessment of antimycobacterial activity of a series of mainly marine derived natural products," *Planta Medica*, vol.66, no. 4, pp. 337-342, 2000.
- [4] D. J. Newman, G. M. Cragg, "Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years," *Journal of Natural Products*, vol.70, pp. 461-477, 2007.
- [5] P. A. Cox, M. J. Balick, "The ethnobotanical approach to drug discovery," *Journal of Science American*, vol. 270, no.6, 82-87, 1994.

Partie I:
Synthèse organique

Chapitre I:

Contribution à la chimie des organoséléniés

I.1 Introduction

De nombreux composés organiques ont été synthétisés depuis la découverte de certaines molécules essentielles issues du métabolisme de l'organisme humain. Il est à noter que ces molécules jouent un rôle dans le fonctionnement de certains éléments chimiques appelés oligo-éléments, qui sont nécessaires au bon fonctionnement de diverses activités bio-organiques. L'organisme d'un être vivant ne peut pas les générer naturellement, mais doit les importer de sources extérieures telles que la nourriture ou les compléments alimentaires, et ainsi leur influence sur l'organisme est extrêmement faible.

Les composés organoséléniés font depuis longtemps l'objet de nombreuses études dont les résultats ont démontré l'importance de ces molécules dans le corps vivant.

Ces composés ont été largement utilisés en raison de leurs effets sur un nombre indéfini de réactions chimiques, y compris la formation de liaisons carbone-carbone, dans des conditions de réaction relativement douces. En outre, les organoséléniés peuvent être utilisés avec une variété de groupements fonctionnels, de sorte que leur rôle dans l'inhibition de l'effet des groupements protecteurs est largement envisagé [1] [2]. Un grand nombre de méthodes de préparation de produits organiques à base de sélénium sont réalisées de manière stéréo ou régiosélective avec d'excellents rendements. Bien que le premier produit organosélénié ait été préparé par Wöhler et Siemens en 1847 [3] [4], ce n'est qu'au début des années 1970 que la chimie des organoséléniés est devenue un outil polyvalent dans le domaine de la synthèse organique [5].

I.2 Contribution à la chimie des organoséléniés

La chimie des composés organoséléniés est devenue un outil versatile dans la synthèse des sélénohydrates, des acides sélénoaminés et des sélénopeptides. Le groupement sélénié peut être introduit dans un substrat organique par l'intermédiaire de réactifs nucléophiles et électrophiles.

La nucléophilie des sélénoates est nettement plus élevée que celle des thioates correspondants. Cette propriété permet aux sélénoates d'être des réactifs utiles en synthèse minérale, mais ils doivent être préparés *in situ* à cause de leur sensibilité et plus particulièrement leur oxydation en contact de l'air [6].

Par ailleurs, ils peuvent être préparés en faisant réagir des diaryldiséléniures avec des agents réducteurs tels que NaBH_4 [7] ou de l'insertion de sélénium élémentaire avec du lithium et des réactifs de Grignard [8] ou encore à partir des diorganoyldiséniures par réaction de réduction en utilisant des métaux alcalins [9] ou d'hydrures alcalins [10]. D'autre part, les composés organoséléniés contenant quelques groupements partants tels que Cl, Br ou O_2CCF_3 peuvent servir comme des réactifs électrophiles, si bien que les halogénures d'organoséléniyle représentent les formes électrophiles les plus actives du sélénium [11].

Le diséléniure de diaryle peut être utilisé comme réactif électrophile, mais uniquement en subissant une attaque nucléophile importante. Après avoir été introduit dans un substrat organique, le groupement organosélénié peut être aisément arraché via une élimination *syn* du sélénoxyde [12] suivie d'un réarrangement de Wittig (un réarrangement de type [2-3] sigmatropique) [13] [14].

En outre, la liaison carbone-sélénium peut être également remplacée par les liaisons : carbone-hydrogène [15], carbone-lithium [16], carbone-halogène [17] [18] ou même carbone-carbone [19]. En général, les espèces organoséléniées peuvent être introduites, manipulées et éliminées efficacement de diverses manières dans des conditions douces.

I.2.1 Aperçu historique sur le sélénium et ses dérivés

En 1817, le médecin chimiste suédois **Jöns Jacob Berzelius** [16] a réussi à extraire une nouvelle substance élémentaire d'un dépôt d'impuretés de différentes couleurs : brune, rougeâtre et claire, présentes dans de l'acide sulfurique (après plusieurs procédés chimiques visant à séparer toutes les substances connues). Cette substance, dont les caractéristiques sont similaires à celles du tellure, a été nommée sélénium par Berzelius, dont le nom vient du grec séléne, qui signifie "la lune" parce qu'elle a deux faces (sombre et claire), tandis que le tellure vient du latin tellus, qui signifie "la terre".

D'une part, le sélénium est le 69^{ème} élément formant la croûte terrestre et se trouve généralement associé à certains minéraux sulfurés de fer (la pyrite (FeS_2), de plomb (la clausthalite (PbSe)), de cuivre (la berzeline (Cu_2Se)) et la crookésite ($\text{Cu}_2(\text{Tl}, \text{Ag})\text{Se}_7$)), d'argent (la naumannite (Ag_2Se)) et de mercure (la tiémanite (HgSe)) [20].

Au cours de la première moitié du 19^{ème} siècle, le fondateur de la chimie organique **Friedrich Wöhler** a pu préparer le premier composé organosélénié et, en 1836, **Löwig Siemens** a isolé un composé contenant une quantité importante de séléniure de diéthyle $(\text{CH}_3\text{-CH})_2\text{Se}$ dans une tentative de préparation d'éthylsélénol $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-Se-H}$ [4]. Bien que les procédures utilisées pour la synthèse des composés organosulfurés s'appliquent également à leurs analogues organoséléniés, en raison de la configuration électronique similaire entre les deux éléments soufre et sélénium, qui se caractérise par six électrons occupant les orbitales externes s et p : ns^2 , np^4 , la préparation des composés séléniés est plus difficile que celle de leurs analogues organosulfurés [21][22].

I.2.2 La disponibilité du sélénium dans la nature

Le sélénium est un oligo-élément présent dans le corps humain, réagissant en très petites quantités. C'est un nutriment essentiel pour la vie animale et humaine. Cependant, il devient toxique à forte dose. Toutes les cellules de l'organisme en contiennent, à des concentrations qui varient d'un tissu à l'autre et qui sont liées à la teneur en ligands [23].

Le sélénium naturel se trouve dans certains aliments, notamment le poisson, le foie de bœuf et les crustacés. Les aliments végétaux tels que le chou, l'ail, les oignons et la spiruline sont également d'excellentes sources de sélénium. D'autres aliments d'origine animale, comme la viande (volaille et bétail), contiennent également du sélénium. Les noix du Brésil sont la meilleure source naturelle de sélénium [24].

I.2.3 Les propriétés physico-chimiques du sélénium

Le sélénium est un métalloïde appartenant à la famille des chalcogènes VIA (l'oxygène, le soufre, le tellurium et le polonium) dont la masse atomique avec le numéro atomique 34 est de 78,96 g. mole⁻¹. Il se présente sous la forme de six isotopes stables: ⁷⁴Se (0,87%), ⁷⁶Se (9,02%), ⁷⁷Se (7,58%), ⁷⁸Se (23,52%), ⁸⁰Se (49,82%) et ⁸²Se (9,19%) mais les plus abondants sont ⁷⁸Se (23,52%), ⁸⁰Se (49,82%) tandis que ses isotopes instables sont radionucléaires (70, 72, 73, 75, 79, 81, 85, 86 et 87) [25].

Le sélénium est considéré comme un élément photosensible, car ses propriétés changent avec l'exposition à la lumière. Le spin nucléaire de l'isotope ⁷⁷Se est de 1/2, d'où son utilisation est fréquente en spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN). Les températures de fusion et d'ébullition du sélénium gris, l'allotrope le plus abondant dans la nature, sont

respectivement de 221°C et 684°C [26]. Le **tableau I-1** résume les propriétés chimiques et physiques du sélénium [25].

Tableau I-1: Propriétés chimiques et physiques du sélénium

Propriétés chimiques	
Symbole chimique	${}_{34}\text{Se}$
Série chimique	métalloïde ou semi-métal
Masse atomique	78,96 g/mol
Groupe, Période, Bloc	XVI, 4, p
Configuration électronique	$[\text{Ar}] 4s^2 3d^{10} 4p^4$
Aspect	lustre gris-noir
Structure cristalline	hexagonal
États d'oxydation	-2, 0, 4, 6
Énergies d'ionisation	1 ^{ère} : 941,0 kJ/mole 2 ^{ème} : 2045 kJ/mole 3 ^{ème} : 2973,7 kJ/mole
Énergie de la liaison C-Se	234 kJ/mole
Électronégativité	2,55 (échelle de Pauling)
Rayon covalent	1,17 Å
Acidité et basicité	$\text{pK}_a (\text{H}_2\text{Se} - \text{H}_2\text{S} - \text{PhSe} - \text{PhS}) = (3,74-7-5,9-6,25)$.
Les formes allotropiques	1- sélénium monoclinale : ou sélénium rouge qui est une poudre amorphe virant au gris par chauffage. 2- sélénium métallique : ou sélénium gris qui est stable à température ordinaire.
Propriétés physiques	
Point de fusion	494°K, (221°C, 430°F)
Point d'ébullition	958°K, (685°C, 1265°F)
Point critique	1766°K; 27,2 MPa
Densité du liquide (près du point de fusion)	3,99 g. centimètre ⁻³

I.2.3.1 La configuration électronique et la nucléophilie

La configuration électronique de ^{34}Se est $_{18}[\text{Ar}] 3d^{10} 4s^2 4p^4$, et comme l'énergie des orbitales 4d vacantes est proche de celle des orbitales 4p ; ces orbitales sont facilement encombrées. En effet, les propriétés chimiques du sélénium sont intermédiaires entre celles du soufre et celles du tellure, si bien que le premier complexe organosélénié stable synthétisé à (-78°C) par Reich et son équipe était le 2',2''-diméthyl-1',2'-dihydro-[1,1':3',1''-terphényl]-2-sélénoate de lithium, alors que l'analogue soufré n'a pu être régénéré même à basse température [27].

Les sélénoates et les séléniures sont des composés divalents du sélénium, plus nucléophiles que leurs homologues soufrés ou oxygénés, car ils possèdent des orbitales **4p** à haute énergie $\text{PhSeNa} = 7x \text{PhSNa} = 10^4 x \text{MeONa}$ [5].

I.2.4 Électronégativité

La faible liaison **C-Se** régularise la réactivité des espèces séléniées électrophiles. Le sélénium est légèrement moins électronégatif que l'atome du carbone et un peu plus électronégatif que le soufre (Se 2,48 ; C 2,50 ; S 2,44) [28].

I.2.4.1 L'énergie de la liaison C-Se

L'énergie de la liaison **C-Se** (234 kJ/mole) est plus faible que celle de C-S (272 kJ /mole) et de C-Br (285 kJ/mole).

I.2.4.2 Le rayon covalent

Le rayon covalent du sélénium (1,17 Å) est plus grand que celui du carbone (0,77 Å), du soufre (1,04 Å) et de l'oxygène (0,74 Å), mais plus petit que celui de son homologue le tellure (1,37 Å). L'allongement de la double liaison carbone-sélénium est dû à l'interaction des orbitales (2p-4p) ; par conséquent, elle est plus grande que la double liaison carbone-oxygène (2p-2p) et légèrement plus grande que la double liaison carbone-soufre (2p-3p) ; ces paramètres font que les dérivés du sélénium sont plus susceptibles de réagir comme nucléophiles et électrophiles que comme radicaux, de sorte que de nombreux composés organoséléniés peuvent être préparés via des procédures standards de chimie organique [29].

I.2.4.3 L'acidité et la basicité des composés séléniés

Les séléniols sont plus acides en solution que leurs analogues soufrés ou oxygénés, comme le montrent les valeurs pKa de H₂Se - H₂S - H₂Se - PhSe - PhS, qui sont respectivement de 3,74 - 7- 5,9 - 6,25.

I.2.5 Les formes les plus abondantes dans l'organisme vivant

Dans le corps humain, le sélénium est considéré comme un oligo-élément essentiel, mais seulement à l'état de traces. En effet, à des concentrations plus élevées que nécessaire, le sélénium peut être hautement toxique. Il est souvent présent dans la nature et dans les organismes animaux et végétaux sous des formes organiques et inorganiques, comme l'isotope radioactif ⁷⁵Se, souvent utilisé en radiothérapie. Son interaction est notamment envisagée dans l'effet de la sélénométhionine.

Les formes organiques sont la sélénométhionine et la sélénocystéine. Les formes inorganiques se présentent sous quatre états d'oxydation : sélénite, séléniure, sélérate et l'élément sélénium (Schéma I-1).

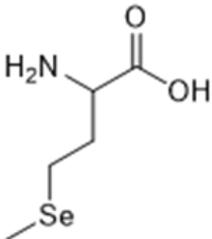
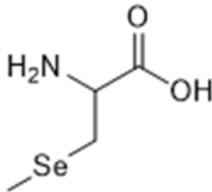
<u>formes organiques</u>		<u>formes inorganiques</u>
 sélénométhionine		Se ²⁻ séléniure
		SeO ₃ ²⁻ sélénite
 sélénocystéine		SeO ₄ ²⁻ sélérate
		Se sélénium

Schéma I-1 : Les formes organiques et inorganiques du sélénium.

I.2.6 Les différentes applications du sélénium

Le sélénium est un élément chimique très actif dont la synthèse organique a connu un développement remarquable et irrégulier depuis un peu plus d'un siècle [30]. Compte tenu des activités pharmacologiques de ses dérivés en tant qu'oxydants, groupes protecteurs, agents de fluoration, etc., l'étude des applications du sélénium devient une requête incontestable pour la chimie des organoséléniés. Depuis 1970, l'état réel de la chimie du sélénium a rendu son étude plus applicable dans les domaines des sciences de la vie, notamment la biologie, la médecine et l'industrie [31], si bien qu'il est utilisé pour colorer le verre et ses dérivés en rouge rubis [32], il est utilisé dans l'industrie électronique, comme semi-conducteur, comme support de cellules photoélectriques (appareil photo, photocopieur, etc.), de cellules photovoltaïques (Cu(In,Ga)Se₂), de détecteurs infrarouges, de récepteurs de rayons X dans le domaine médical grâce à ses propriétés d'électro-résistance et de photosensibilité, et comme matériau essentiel dans la composition des batteries d'imprimantes laser [33]. Il est à noter que depuis 1990, l'utilisation du sélénium (généralement avec du bismuth) comme additif dans les cuves de plomberie pour répondre aux normes environnementales a pris de l'ampleur. **En biologie**, cet élément, présent à faible dose dans certains aliments comme le chou, l'ail, l'oignon et les fruits de mer, s'est révélé nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme. De plus, sa présence dans certaines enzymes a été découverte en 1970, notamment sous la forme de sélénocystéine, qui a été isolée à partir de bactéries et retrouvée chez les mammifères. Cet acide aminé a un potentiel réducteur plus faible que la cystéine [34], de sorte que sa contribution à la constitution de certaines protéines, comme la glutathion peroxydase, renforce la protection de notre organisme contre les dommages causés par le stress oxydatif [35]. Outre son rôle essentiel dans le métabolisme thyroïdien [32], le sélénium augmente le taux de fertilité chez les mammifères [36]. Depuis 1996, des études approfondies ont été consacrées à la recherche et à l'optimisation des méthodes d'intégration des dérivés du sélénium dans la thérapie du cancer [37].

Cependant, les réactifs séléniés ont parfois des effets indésirables sur la santé humaine en raison de leur odeur nauséabonde (séléniols, sélénocyanates et sélénoxydes) [38] et donc de leur très grande toxicité, causée par certains séléniols. L'excès de sélénium peut également provoquer des alopecies, des dermatites et d'autres problèmes de santé [39].

I.2.7 Propriétés pharmacologiques et activités biologiques du sélénium et de ses dérivés

- Il est à noter que les dérivés séléniés sont largement utilisés en médecine comme agent anti-dermatite, c'est le cas du Selsun, et comme antibiotique appartenant à la famille des bêtalactamines [40].

❖ Activité antioxydante

Le sélénium joue un rôle antioxydant important dans l'organisme, en neutralisant les radicaux libres qui favorisent le développement des cellules cancéreuses. Ces radicaux libres sont des molécules instables qui ont perdu un ou plusieurs électrons et qui deviennent extrêmement nocives pour notre organisme, tendant à détruire les cellules saines, causant des dommages irréversibles qui entraînent l'apparition de maladies graves telles que les troubles articulaires et cardiaques, les affections respiratoires chroniques, la sclérose et le cancer, etc. Le sélénium contribue à la prévention de maladies graves telles que le cancer et l'arythmie cardiaque [41].

❖ Activité immunomodulatrice

Le sélénium représente également un immunostimulant efficace, qui renforce le système immunitaire en participant activement à la formation d'anticorps dans l'organisme. Ce minéral offre donc une protection efficace contre un certain nombre de maladies graves et dégénératives. Chez les sujets souffrant d'une légère carence en sélénium, les troubles physiques les plus fréquents sont l'infertilité et le mauvais fonctionnement du système immunitaire. En revanche, les maladies graves telles que le cancer et la maladie d'Alzheimer sont malheureusement assez fréquentes chez les personnes souffrant d'une carence sévère en sélénium. Le sélénium possède également des propriétés anti-inflammatoires, ce qui en fait un régulateur efficace du système immunitaire [42].

❖ Activité détoxifiante

Grâce à son action drainante, le sélénium contribue à la prévention des intoxications et à l'élimination des toxines. Tout d'abord, il stimule le système rénal, permettant l'élimination de divers métaux toxiques tels que l'arsenic, le cadmium, le mercure, le cuivre, l'argent et le plomb. [43]. En effet, le sélénium est particulièrement efficace pour réguler la sécrétion de certaines hormones, notamment la sécrétion excessive de sébum (séborrhée) au niveau du crâne [44].

❖ **Activité antidépressive**

Le sélénium est principalement utilisé pour prévenir et traiter la fatigue qui est due au surentraînement ou aux infections et traumatismes musculaires, si bien que les sportifs l'utilisent pour faire face à des efforts très intenses [45].

❖ **Activité anticancéreuse**

L'intervention de cet élément est observée lors des phases précoces de la cancérogenèse, lorsque le stress oxydatif dû aux réactions inflammatoires et à diverses cytokines endommage la cellule (poumons par le tabac, estomac par les nitrosamines).

L'efficacité du sélénium dépend notamment du maintien de l'homéostasie enzymatique. La supplémentation en sélénium vise à réduire la mortalité (50 %), alors qu'un certain niveau de carence tend à l'augmenter, du fait des cancers chez les sujets atteints d'hépatite B et C [46].

I.2.8 La toxicologie des composés organosélénés

❖ **La toxicité**

Malgré son rôle important dans l'organisme, le sélénium est hautement toxique si le corps l'intègre dans des quantités bien définies. La dose létale est supérieure à 10 ppm, tandis qu'en dessous de 0,2 ppm, des maladies et des troubles dus à une carence en sélénium peuvent survenir. Selon l'Académie américaine des sciences, le seuil de 5 ppm dans les aliments est reconnu comme la limite entre un régime toxique et non toxique pour la plupart des espèces. Au-delà de cette valeur, l'intoxication se manifeste par une chute excessive des cheveux et des ongles. Une surconsommation du sélénium naturel peut provoquer des problèmes dentaires et gingivaux. À fortes doses, le sélénium peut également entraîner des maladies de la peau telles que des dermatites, voire des paralysies progressives et de l'épilepsie [47].

Les composés sélénés les plus toxiques sont les sels de sélénium, et l'intoxication se caractérise par une irritation de la peau et des voies respiratoires supérieures, ainsi que par une perturbation des fonctions cérébrales et enzymatiques. En outre, les personnes souffrant d'un dysfonctionnement de la glande thyroïde doivent éviter de prendre des doses élevées de sélénium, de même que les femmes enceintes. En revanche, la toxicité peut être réduite en présence de vitamine E.

I.2.9.1 Les degrés d'oxydation du sélénium et ses composés inorganiques les plus importants

Le sélénium est capable de réagir avec de nombreux éléments pour former des composés avec une grande analogie avec les composés correspondants du soufre, en vue de ses différents degrés d'oxydation : $\delta = -2$ comme : le séléniure d'hydrogène (H_2Se) : un gaz incolore, inflammable et très toxique (des intoxications pulmonaires, des lésions oculaires), il possède une acidité relativement forte ($\text{Pka} = 3,73$) et un point d'ébullition à $42\text{ }^\circ\text{C}$. Il peut être obtenu par action d'un acide dilué, tel que l'acide chlorhydrique, sur le séléniure métallique ou en chauffant un mélange de sélénium et d'hydroxyde de magnésium anhydre à 225°C . De plus, il possède des propriétés réductrices très importantes.

Diséléniure de carbone CSe_2 : est obtenu par action du dichlorométhane CH_2Cl_2 sur le sélénium fondu entre 550 et $600\text{ }^\circ\text{C}$.

Séléniure de sodium Na_2Se : les séléniures alcalins et alcalino-terreux sont solubles dans l'eau et beaucoup d'entre eux se décomposent facilement dans un environnement acide, libérant un gaz incolore et inflammable à l'odeur nauséabonde.

$\delta = 0$ (Se, sélénium élémentaire).

$\delta = +4$ (Na_2SeO_3 , sélénite de sodium) : Les sélénites de sodium peuvent être formés par l'action directe du sodium sur le sélénium (réaction très violente). Ils sont réduits en sélénium élémentaire par l'ascorbate, le dioxyde de soufre ou un autre agent réducteur. Ils peuvent également réagir avec certains composés organiques tels que les diamines.

Cette réaction représente la base même de l'analyse spectrophotométrique, une procédure dans laquelle le sélénium est d'abord réduit à l'état d'oxydation $+4$ par le peroxyde d'hydrogène, puis complexé avec le 2,4-diaminonaphtalène (DAN).

$\delta = +6$ (Na_2SeO_4 , sélénate de sodium) : le sélénium forme également des halogénures séléniés, par combinaison directe avec le fluor, le chlore, le brome, mais pas avec l'iode.

Il peut former des oxyhaloséléniures (SeOCl_2 , oxychlorure de sélénium), qui sont de puissants agents chlorés et oxydants, capables de réagir très violemment avec d'autres substances. Dans cette catégorie de dérivés inorganiques du sélénium, on trouve également les oxydes et oxyacides de sélénium, des composés ressemblant à leurs homologues soufrés.

Bien que le séléniure ait une affinité plus faible pour l'oxygène que le soufre, seuls deux oxydes sont bien connus : SeO_2 et SeO_3 .

Le dioxyde de sélénium, substance cristalline blanche et stable, se forme en brûlant du sélénium dans l'air. Ses propriétés oxydantes, bien que peu prononcées, sont plus fortes que celles du SO_2 . Le SeO_2 est donc réduit par le SO_2 .

Le dioxyde de sélénium se dissout facilement dans l'eau pour donner l'acide sélénieux H_2SeO_3 , qui est plus faible que l'acide sulfureux dont **les sélénites** sont les sels correspondants. Le trioxyde de sélénium SeO_3 se forme par l'action du trioxyde de soufre sur le sélérate de potassium.

L'acide séléinique H_2SeO_4 est obtenu par l'action d'un oxydant puissant (fluor, chlore, brome, ion permanganate, oxydation anodique, etc.) sur Se, SeO_2 , H_2SeO_3 en présence d'eau.

L'acide séléinique est un diacide fort, très hygroscopique, encore plus oxydant que le H_2SO_4 . Ses sels, les séléniates sont les équivalents des sulfates et des sulfates d'hydrogène.

Les séléniates : ces combinaisons de sels d'acide séléinique et de bases salines ont été découvertes par M. Berzelius [49]

I.2.9.2 Disponibilité des dérivés séléniés inorganiques

Le sélénium est le 34^{ème} élément du tableau périodique de Mendeleïev, avec une masse atomique de 78,96. C'est le 69^{ème} élément en termes d'abondance parmi les différents éléments présents sur terre. Il se situe dans la colonne 16 du tableau périodique, en dessous de l'élément soufre, dans la famille des chalcogènes, qui comprend aussi l'oxygène.

Le sélénium existe sous différents états d'oxydation, résumés dans le **schéma I-3**. Tous les organismes peuvent assimiler l'oligo-élément sous sa forme sélénite SeO_3^{2-} ou sélélide H_2Se , mais l'assimilation de sa forme sélérate SeO_4^{2-} n'est possible que chez les plantes et les eubactéries [50].

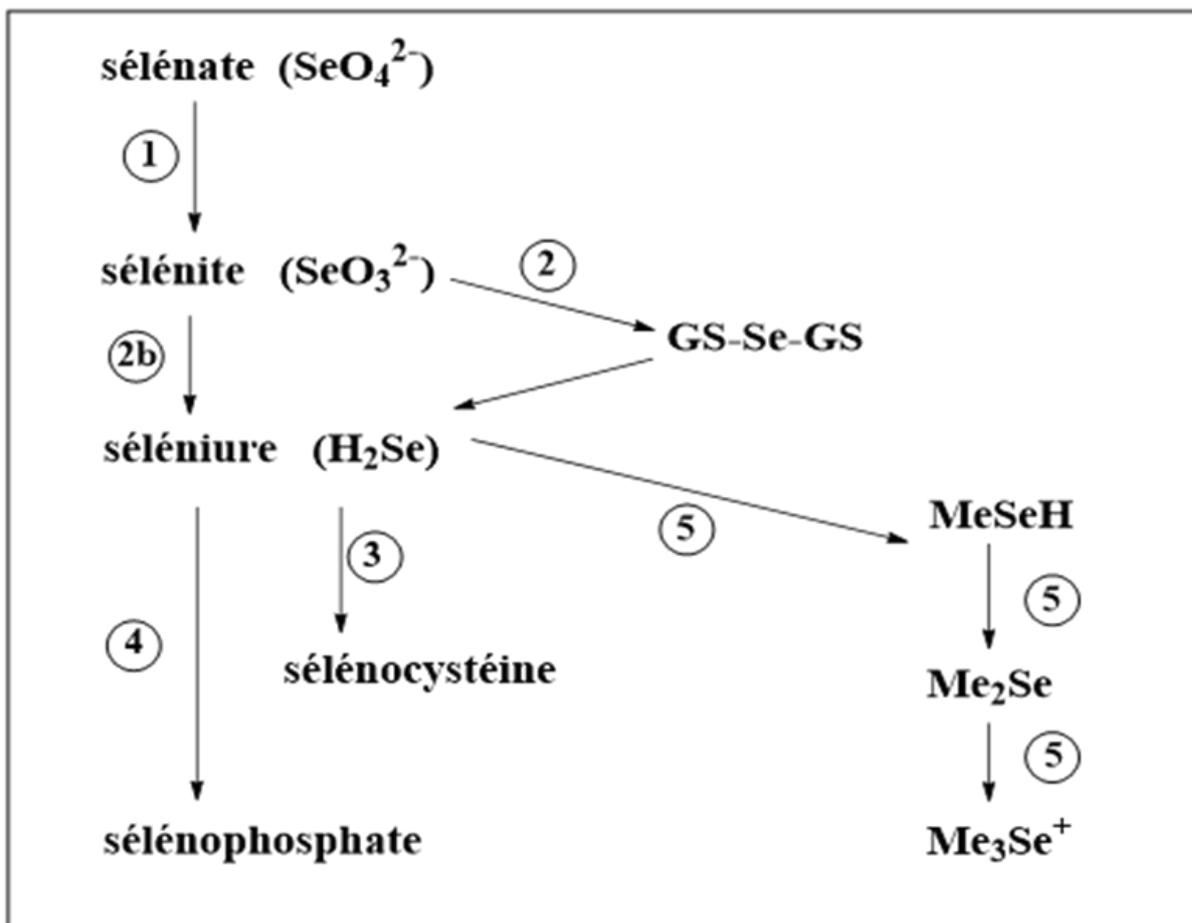


Schéma I-3: Assimilation du sélénium inorganique dans l'organisme vivant.

Le sélénium peut se trouver à différents degrés d'oxydation. Les chiffres entourés font référence aux voies métaboliques impliquées.

1 : Réduction du sélénate par une voie similaire à celle du sulfate, utilisant l'ATP sulfurylase [50]. Une sélénate réductase spécifique a été découverte dans la bactérie *Thauera selenatis* [51].

2 : Réaction non enzymatique du sélénite avec le glutathion, suivie d'une réduction en séléniure catalysée par la glutathion-réductase ou la thiorédoxine réductase [52]. Une voie de réduction directe existe chez les mammifères par l'intermédiaire de la thiorédoxine réductase (2b) [53].

3 : Formation spécifique de sélélocystéine par la cystéine synthase.

4 : Formation de séléno phosphate par la séléno phosphate synthétase ; c'est le lien avec la synthèse spécifique de la sélélocystéine.

5 : Réactions de méthylation par la *S*-adénosyl-méthionine transférase : ces composés méthylés sont excrétés par les organismes pour éliminer l'excès de sélénium [54].

I.2.9.3 Les différentes réactions chimiques des composés séléniés

Récemment, les composés organoséléniés sont devenus des réactifs très utiles et puissants. Ils permettent l'insertion chimio-, régio-et stéréosélective de nouveaux groupements fonctionnels dans des substrats organiques complexes dans des conditions expérimentales extrêmement douces. Le sélénium peut réagir comme électrophile, nucléophile ou radical, en fonction de son degré d'oxydation. Une fois incorporé, il peut être directement converti en divers groupes fonctionnels ou être utilisé pour manipuler davantage la molécule et être éliminé à un stade ultérieur.

Les propriétés des composés organoséléniés sont similaires à celles des analogues soufrés les plus connus. Cependant, l'introduction d'un hétéroatome, la manipulation des molécules résultantes et, en particulier, le déplacement du sélénium contenant diverses fonctions s'effectuent dans des conditions beaucoup plus simples et modérées que celles requises dans le cas des composés soufrés correspondants. Ces dernières années, des travaux intéressants ont été réalisés dans le domaine des réactions d'addition électrophile de réactifs séléniés sur des doubles liaisons carbone-carbone : l'influence du réactif électrophile RSeX sur les alcènes **1**. Le **schéma I-4** montre des réactions d'*anti*-addition stéréospécifiques incluant la formation d'ions sélénium (intermédiaires **2**) et, en présence de nucléophiles externes NuH, les composés **3** sont obtenus avec des oléfines asymétriques, l'addition suivant de préférence l'orientation de Markovnikov thermodynamiquement favorisée.

Dans le cas des alcènes **4**, à partir de groupes nucléophiles convenablement placés, l'attaque de l'ion séléniure **5** a lieu de manière intramoléculaire et les produits cycliques **6** ou **7** sont formés.

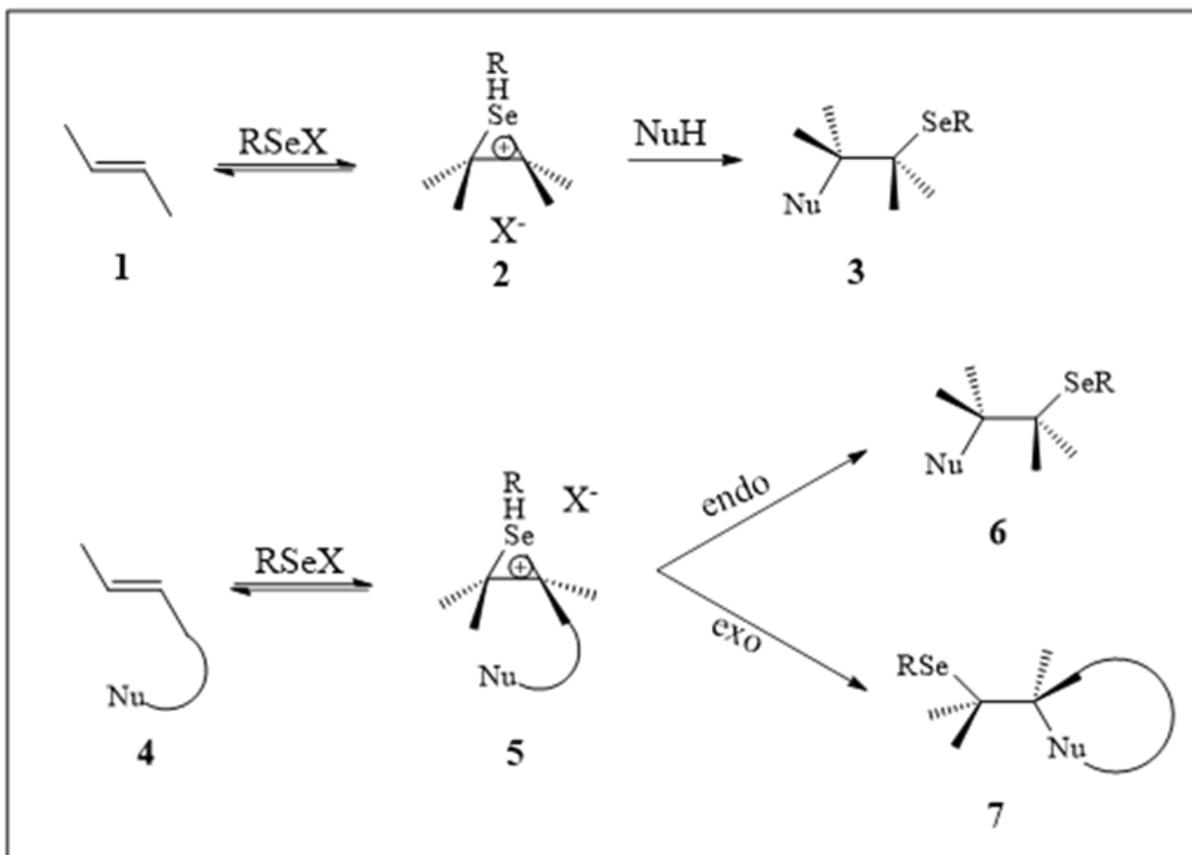


Schéma I-4: Réactions d'addition et de cyclisation favorisées par les réactifs séléniés électrophiles.

De nouvelles procédures ont été décrites pour la préparation de PhSeX, le réactif électrophile le plus utilisé en synthèse organique. En outre, des réactifs électrophiles au sélénium plus sélectifs et plus efficaces ont été également préparés et étudiés. Les réactifs séléniés chiraux et non racémiques récemment décrits et utilisés pour la synthèse asymétrique sont particulièrement intéressants. Dans tous ces cas, en effet, la stéréochimie des nouveaux atomes de carbone chiraux apparus dans les composés **3**, **6** et **7** est manifestement contrôlée par le réactif chiral, ce qui permet d'observer des réactions d'addition et de cyclisation diastéréosélectives.

L'utilisation de composés de sélénium chiraux dans la synthèse organique a récemment été mise en évidence et citée dans la littérature [55]. Plus intéressant encore, de nouveaux exemples tenant compte des réactions d'addition "anti" stéréospécifiques à travers la double liaison carbone-carbone ont été décrits. Cependant, l'étude des réactions de cyclisation a fait l'objet de beaucoup plus d'attention.

Les facteurs responsables du fonctionnement de ces réactions ont été étudiés et d'importants composés hétérocycliques ont été nouvellement synthétisés.

Un autre aspect intéressant, apparu ces dernières années, concerne la possibilité d'effectuer certaines conversions des groupements fonctionnels en utilisant non seulement les parties catalytiques du réactif sélénié électrophile. Le développement de ces procédures catalytiques au sélénium, favorisant les synthèses asymétriques, a probablement conduit aux résultats les plus importants rapportés récemment dans ce domaine. Leur pertinence conceptuelle et synthétique accroît considérablement l'importance de la chimie des organoséléniés.

I.2.9.3.1 Les organoséléniés en tant que réactifs électrophiles

Le cation phénylsélénylène représente l'entité la plus réactive dans un composé sélénié utilisé comme réactif électrophile. La plupart des réactifs utilisés sont disponibles dans le commerce, comme PhSeCl **8** et PhSeBr **9**, qui peuvent être facilement obtenus soit à partir de **8**, soit à partir du diséléniure de diphenyle **10**. Les composés **8** et **9** sont préparés à partir de **10** par traitement avec du chlorure de sulfure ou du chlore dans l'hexane et avec du brome dans le tétrahydrofurane, respectivement.

Un choix approprié du réactif est nécessaire pour garantir une réaction d'addition propre. Dans les réactions d'addition en présence de nucléophiles externes ou dans les réactions de cyclisation favorisées par le sélénium, l'utilisation de chlorure ou de bromure de phénylsélénylène entraîne certains processus secondaires indésirables, tels que l'incorporation d'anions halogénés et la diminution de la régiosélectivité. À cette fin, plusieurs nouveaux agents phénylsélénylés ne contenant pas de parties nucléophiles ont été mis au point (**Figure I-1**).

La plupart d'entre eux ont été préparés à partir de PhSeCl, comme le *N*-(phénylséléno)phtalimide (*N*-PSP) **11** [56] qui est produit, avec des sels d'argent, comme le hexafluorophosphate **12** [57], le hexafluoroantimonate **13** [57], le tolylsulfonate **14** [58] ou le triflate **15** [59]. Dans d'autres cas, le réactif électrophile a été produit par l'oxydation du diséléniure de diphenyle. Le sulfate de phénylsélénylène (PSS) **16** est un réactif électrophile très efficace, facilement produit à partir de la réaction du diséléniure de diphenyle avec le peroxodisulfate d'ammonium [60].

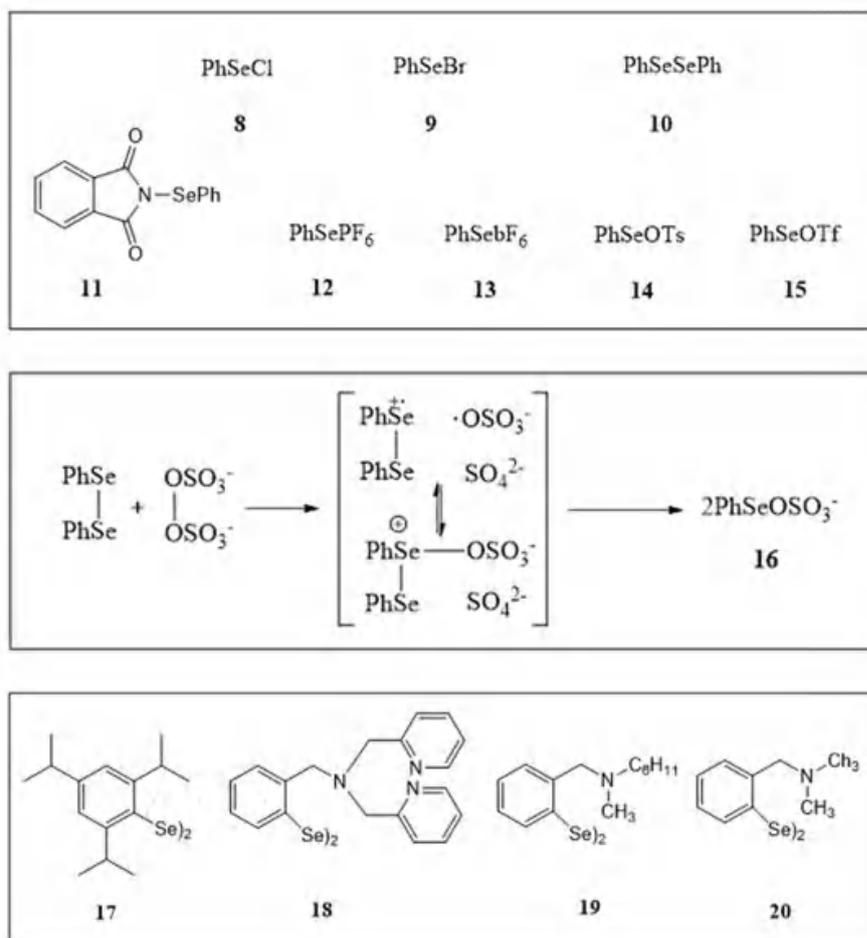


Figure I-1: Les réactifs phénylsélénényles électrophiles les plus communs.

Un transfert d'électron ou une réaction S_N2 , comme le suggère le **schéma I-4**, peut initier ce processus. La production des électrophiles phénylsélénényles du composé **10** peut être réalisée avec plusieurs autres réactifs. Par exemple, KNO_3 [61], CuSO_4 [60], $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_2)_6$ [62], et $\text{Mn}(\text{OAc})_3$ [63] ont été tous utilisés avec succès. Le dioxyde d'azote [64], le peroxyde de *m*-nitrobenzènesulfonyl [65], le bis - (trifluoroacétate) d'iodobenzène, le diacétate d'iodobenzène [66] et 2,3- dichloro-5,6-dicyano-1,4- benzoquinone ont été également proposés comme agents oxydants [67]. Le cation phénylsélénényle (**Schéma I-5**) peut être également obtenu par clivage du cation radical diséléniure de diphenyle créé par un simple transfert d'électron unique photo-sensibilisé du diséléniure de diphenyle au 1,4- dicyanonaphtalène [68].

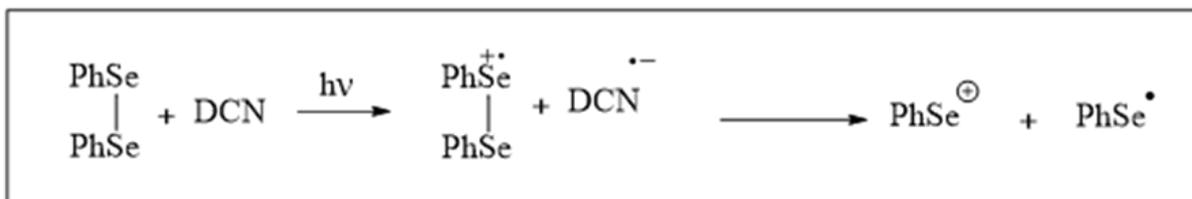


Schéma I-5: La formation du cation phénylsélénényle à partir de diséléniure de diphenyle.

Le choix de l'un de ces réactifs est souvent dicté par les conditions spécifiques de la réaction d'addition. Le triflate de phénylsélénényle **15** et le sulfate de phénylsélénényle **16** sont deux réactifs dont l'application générale est marquée par leur grande efficacité en donnant lieu à des réactions propres. Le sulfate de phénylsélénényle **16** peut être facilement préparé, mais seulement dans une mesure limitée, car il ne peut pas être utilisé à des températures inférieures à 30°C. Une propriété importante et très utile du réactif **16** est qu'il peut être utilisé pour effectuer des conversions de groupes fonctionnels multiples en utilisant seulement des quantités catalytiques de diséléniure de diphenyle. Des dérivés du diséléniure de diphenyle portant des substituants sur le cycle phényle ont été préparés afin d'optimiser la réactivité ou la sélectivité des réactifs électrophiles correspondants.

Ainsi, le bromure de (2, 4, 6-trisopropylphényl) sélénényle est synthétisé à partir du diséléniure correspondant **17** par traitement au brome, ce qui entraîne la fermeture du cycle des alcools homoallyliques en tétrahydrofuranes avec une stéréosélectivité considérablement plus élevée que celle observée avec d'autres composés phénylsélénénylés [69].

Les diséléniures azotés **18**, **19** et **20** ont été utilisés pour effectuer des réactions d'addition sur des alcènes [70] [71] dans des conditions catalytiques en utilisant le nitrate de cuivre et le persulfate de sodium comme oxydants. Récemment, Nicolaou a décrit la préparation de certains réactifs polymères à base de sélénium en utilisant du polystyrène cristallisé [72]. Les polymères liés au bromure de phénylsélénényle et au *N*-(phénylséléno) phtalimide agissent comme des agents de sélénénylation efficaces des alcènes. En raison de leur polyvalence et de leur facilité de manipulation, ces réactifs peuvent avoir des applications utiles en phase solide et en synthèse combinatoire. La **figure I-2** présente des exemples de diséléniures optiquement actifs. Les premières réactions stéréosélectives de sélénénylation électrophile ont été rapportées par Tomoda [73] à partir des dérivés de diséléniure de binaphtyle **21**.

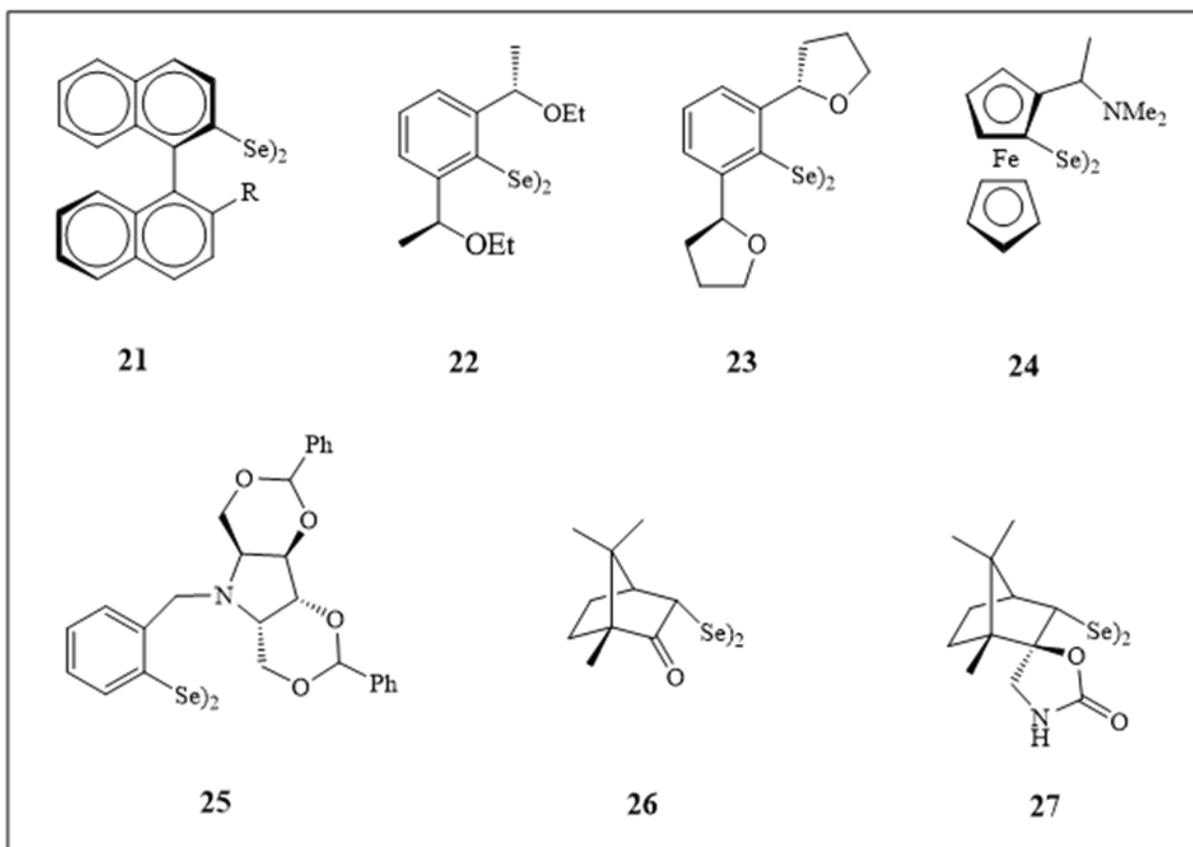


Figure I-2: Les diséleniures optiquement actifs.

Quelques années plus tard, des agents de sélénylation efficaces ont été produits à partir des diséleniures symétriques en C_2 (produits **22** et **23**) décrits par Deziel [74]. Le diséleniure de ferrocényle **24**, le plus intéressant, a été préparé par Uemura [75] par métallisation, suivie d'un traitement au sélénium élémentaire pour subir une oxydation catalytique. Le composé **25** est un exemple d'une classe de diséleniures contenant diverses unités chirales de pyrrolidine, qui ont été préparées et utilisées dans des synthèses stéréosélectives par Tomoda [76]. Le composé **26** a été introduit par Back [77]. Il s'agit probablement du diséleniure chiral le plus facile à obtenir, puisqu'il peut être obtenu à grande échelle par une préparation en une seule étape à partir du camphre. D'autres diséleniures à base de camphre peuvent être facilement préparés à partir de produit **26**. Un réactif efficace est le diséleniure **27** dans lequel le groupe carbonyle a été converti en un cycle oxazolidinone. Divers diséleniures structurellement plus simples ont été synthétisés par Wirth [78].

À partir de précurseurs chiraux disponibles dans le commerce, les diséléniures **28** et **29** ont été simplement préparés dans une synthèse en une seule étape consistant en une *ortho*-lithiation, une réaction avec du sélénium élémentaire et une oxydation à l'air. Cette méthode simple a permis la préparation d'un grand nombre de diséléniures de structure générale **30** ($X = NR_2''$, OR''). Plus particulièrement, des réactifs électrophiles particulièrement efficaces ont récemment été obtenus à partir des diséléniures **31** [79] et **32** [80], également décrits par Wirth. Une caractéristique commune à tous ces diséléniures est la proximité d'un hétéroatome (oxygène ou azote) par rapport à l'atome de sélénium. Il a été signalé à plusieurs reprises que le sélénium peut interagir avec des hétéroatomes proches. Dans certains cas, l'existence de cette interaction a été démontrée par des calculs théoriques, et ainsi la détermination de la structure cristalline et des mesures spectroscopiques par RMN [76]. Cette interaction rapprochera le centre chiral du centre réagissant lors de l'addition de l'agent de sélénylation à l'alcène, ce qui entraînera une induction asymétrique. En outre, cette même interaction devrait également déterminer la structure du réactif actif au sélénium, jouant ainsi un rôle fondamental dans la formation du diastéréoisomère préféré dans les produits d'addition **3** (**Figure I-3**).

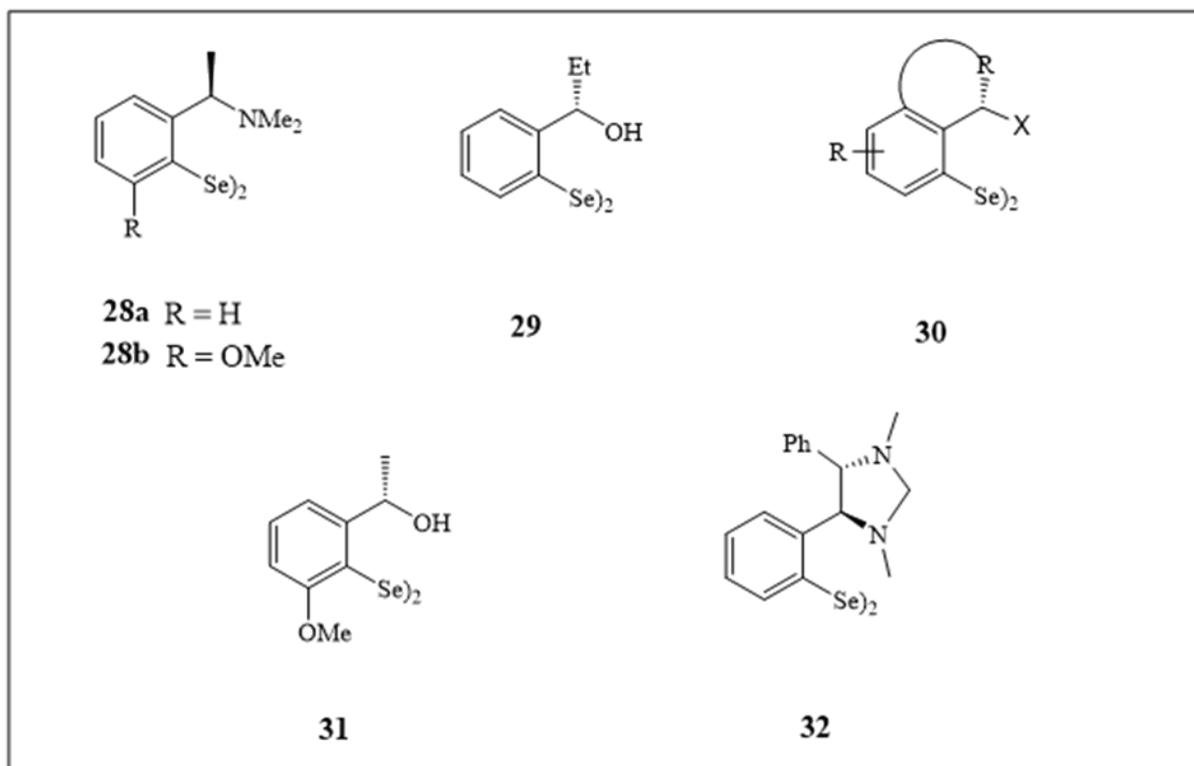


Figure I-3 : Les diséléniures chiraux non racémiques.

I.2.9.3.2 Réactions d'addition aux doubles liaisons Carbone-Carbone

Les applications directes des additions de réactifs phénylsélényles électrophiles à des oléfines sont relativement peu nombreuses. La grande importance synthétique de ces réactions est due au fait que, en raison de la polyvalence de la partie contenant du sélénium, les produits d'addition **3** (**Schéma I-6**) peuvent être utilisés comme précurseurs d'une série de transformations utiles.

En fait, le groupe phénylséléno peut être éliminé de plusieurs façons, ce qui conduit à des dérivés intéressants dans chaque cas. Par traitement avec des hydrures d'étain en présence d'AIBN (azobisisobutyronitrile), le clivage homolytique de la liaison carbone-sélénium a lieu et les carbones radicalaires **33** sont générés (**Schéma I-6**), ceci conduit à effectuer plusieurs réactions radicalaires intéressantes. Alternativement, les radicaux **33** peuvent effectuer une extraction d'hydrogène pour obtenir les produits de réduction **34**. Après conversion en sélénonnes [81] par oxydation ou aux ions de sélénonium [82] par traitement avec PhSeX, la partie sélénium peut réagir avec divers nucléophiles pour obtenir les produits de substitution **37**.

Lorsque des agents sélényles optiquement actifs sont utilisés, les produits d'addition **3** (**Schéma I-6**) sont obtenus sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères, et leur desélénylation mène à la formation énantiosélective des composés **34**, **36** et **37**. Dans certains cas, les deux diastéréoisomères peuvent être séparés et leur desélénylation donne alors des composés énantiomériquement purs.

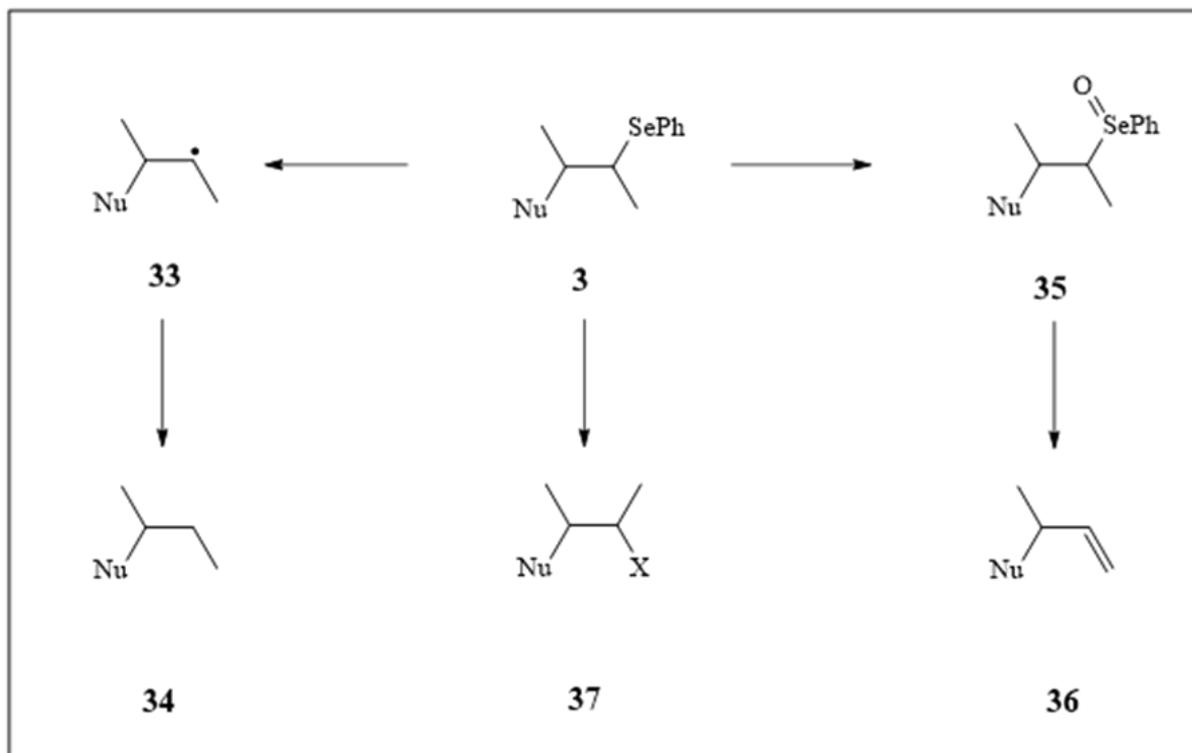


Schéma I-6 : Réactions de desélénylation.

Un nombre limité de nouvelles réactions d'addition a été décrit ces dernières années. Il s'agit principalement de réactions réalisées en présence d'oxygène externe (réactions d'oxysélénylation) ou de nucléophiles azotés. En revanche, les réactions d'oxysélénylation ont été largement utilisées comme sonde pour tester l'efficacité des différents agents chiraux de sélénylation.

I.2.9.3.3 Réactions d'oxysélénylation

Les réactions d'oxysélénylation, c'est-à-dire l'anti-addition stéréospécifique d'un groupe organoséléno et d'un nucléophile oxygéné, tel qu'un groupe OH, OR, OCOR, à une oléfine, sont des procédures très utiles et largement utilisées pour la préparation de molécules simples ou complexes. Des conditions expérimentales simples permettant d'effectuer efficacement l'hydroxy-, l'alcoxy- ou l'acétoxysélénylation des alcènes ont déjà été décrites [83] et sont actuellement utilisées.

Engman a rapporté que l'acétoxysélénylation des alcènes pouvait être mieux réalisée avec le PhSeBr dans l'acide acétique en présence d'anhydride acétique et de KNO₃ [84]. Dans le cas des oléfines terminales, l'addition est suivie d'un contrôle régiosélectif pauvre.

Cependant, quand la solution de chloroforme des deux produits a été traitée par des quantités catalytiques d'éthérate de trifluorure de bore, l'isomérisation a eu lieu et l'additif anti-Markovnikov a été transformé en produit de Markovnikov. L'acétoxysélenylation des alcènes peut être proprement effectuée par oxydation du diséleniure de diphenyle avec du diacétate d'iodobenzène dans l'acétonitrile [66]. Une application intéressante des réactions séquentielles d'oxysélenénylation a été signalée récemment par Kim pour la synthèse de cyclitols biologiquement importants [85]. La stéréochimie et la régio-chimie de l'oxysélenénylation séquentielle du cyclohexène ont été contrôlées par l'utilisation d'un diol chiral, l'hydrobenzoïne, comme nucléophile. Les diverses étapes utilisées pour la synthèse importante du *muco*-quercitol de cyclitols **42** et de *D*-*chiro*-inositol **43** ayant une activité physiologique (un intermédiaire d'insuline), sont illustrées dans le schéma I-7:

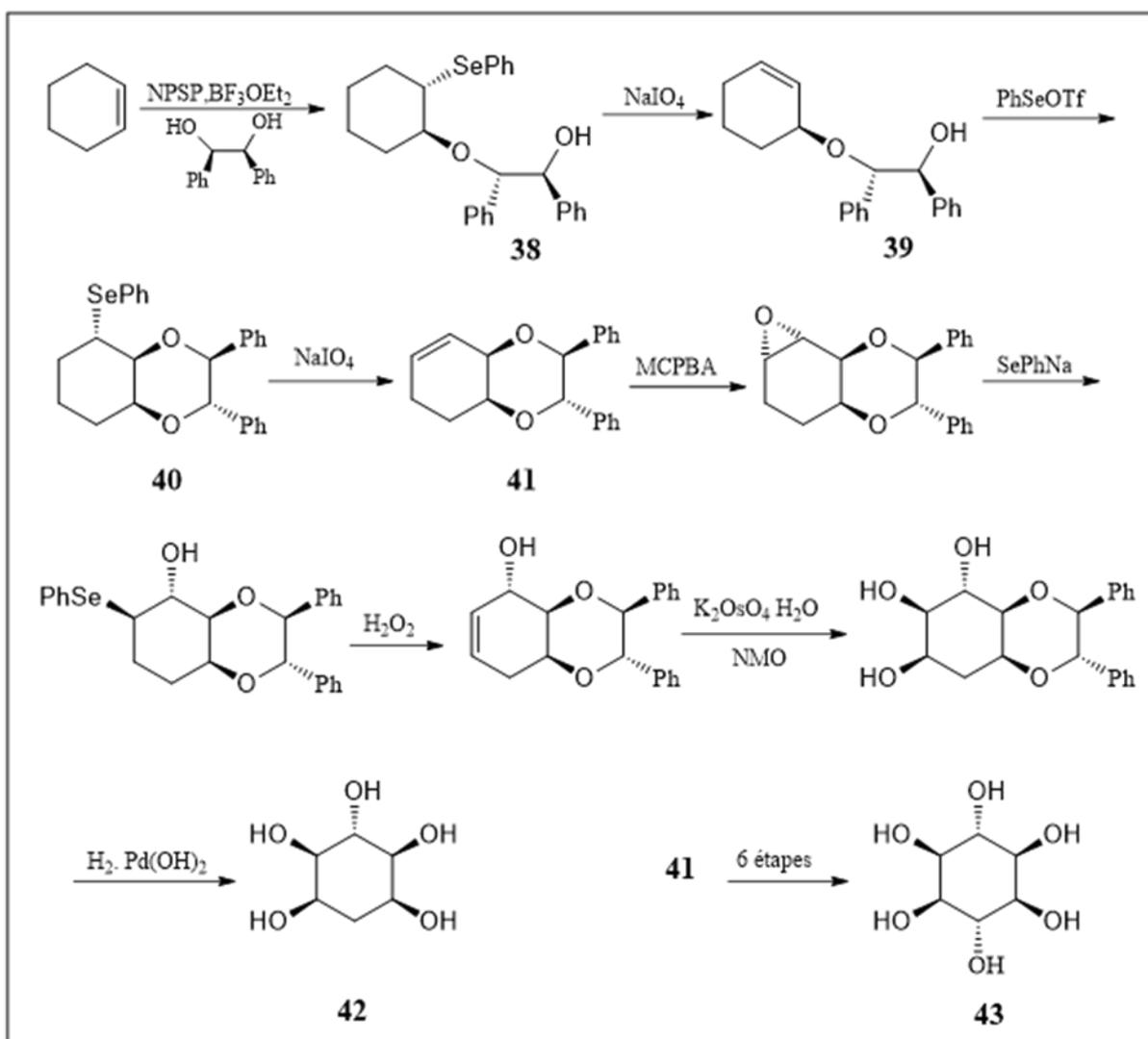


Schéma I-7: Série de réactions d'oxysélenénylation (synthèse de cyclitols).

La réaction du cyclohexène avec le *N*-(phénylsélénio) phtalimide en présence de (*S,S*)-hydrobenzoin dans le chlorure de méthylène a permis d'obtenir deux diastéréomères oxyséléniures (**38** et le diastéréomère (*1R, 2R*)) dans un rapport 1:1. Le composé **38** a été séparé et converti en oléfine **39** par élimination du sélénoxyde. Cette deuxième réaction d'oxysélénylation promue par le PhSeOTf n'a donné que le *cis*-dioxane bicyclique fusionné **40**. L'oxydation et l'élimination subséquente ont permis d'obtenir l'oléfine **41**. Il s'agit de l'intermédiaire clé pour les synthèses des cyclitols **42** et **43**, qui ont été obtenus à partir d'une série de réactions classiques indiquées dans le **schéma I-8**. Les réactions d'oxysélénylation ont été également utilisées pour promouvoir les réactions de glycosylation [86].

❖ Réactions d'oxysélénylation asymétrique

Les réactions d'oxysélénylation asymétrique ont été largement utilisées pour étudier l'efficacité de divers agents de sélénylation chirale non racémique. En particulier, la méthoxysélénylation du styrène a été étudiée avec tous les diséléniures mentionnés dans le **schéma I-8**. Le déroulement mécanique de la méthoxysélénylation du styrène a été étudié en détail par Wirth [87] en utilisant le diséléniure de triflate de sélényle **29**.

À partir du réactif électrophile de configuration (*S*), les deux produits d'addition diastéréomériques ont été formés dans un rapport allant jusqu'à 96:4 et il a été démontré que le stéréocentre nouvellement généré du principal diastéréomère **44** a la configuration (*R*) (**Schéma I-8**). Cela correspond à une attaque (*R*) favorisée du styrène. Étant donné que dans le cas des (*E*)-alcènes, la formation des intermédiaires de séléniranium est l'étape qui détermine la stéréochimie des réactions d'addition [88], il est à noter que la réaction de l'alcène avec un électrophile sélényle chiral aboutit à la formation préférentielle d'un intermédiaire de séléniranium. Des expériences compétitives ont démontré que la formation des intermédiaires de séléniranium est un processus réversible ; il s'ensuit que la formation préférentielle d'un intermédiaire de séléniranium par rapport à l'autre doit refléter la différence de stabilité entre eux. Des preuves expérimentales à l'appui de cette interprétation ont été obtenues en générant indépendamment les ions séléniranium et en étudiant leurs réactions avec le méthanol.

À cette fin, les deux β -hydroxyséléniures optiquement actifs (*R,S*)-**45** et (*S,S*)-**47** ont été préparés [89] par réaction de l'anion sélénié obtenu à partir de **29** avec l'époxyde de (*R*)- ou de (*S*)-styrène. La protonation de **45** et **47** et un déplacement S_N2 intramoléculaire subséquent par le sélénium génèrent les intermédiaires de séléniranium souhaités.

Dans le cas de l'intermédiaire **46**, correspondant à celui formé par l'attaque (*R*) du styrène, et qui est supposé être le plus stable, la réaction avec le méthanol a donné le produit prévu (*R,S*)-**44**, sans perte d'information stéréochimique au niveau de l'atome de carbone benzylique. Dans le cas de l'intermédiaire **48**, correspondant à l'attaque (*S*) du styrène, et supposé être moins stable, un mélange de (*S,S*)-**49** et (*R,S*)-**44** a été obtenu, ce qui explique clairement qu'une certaine conversion de **48** en **46**, plus stable, s'est produite avant que la réaction avec le méthanol a eu lieu par un mécanisme de décomplexation-complexation, indiqué dans le **schéma I-8**.

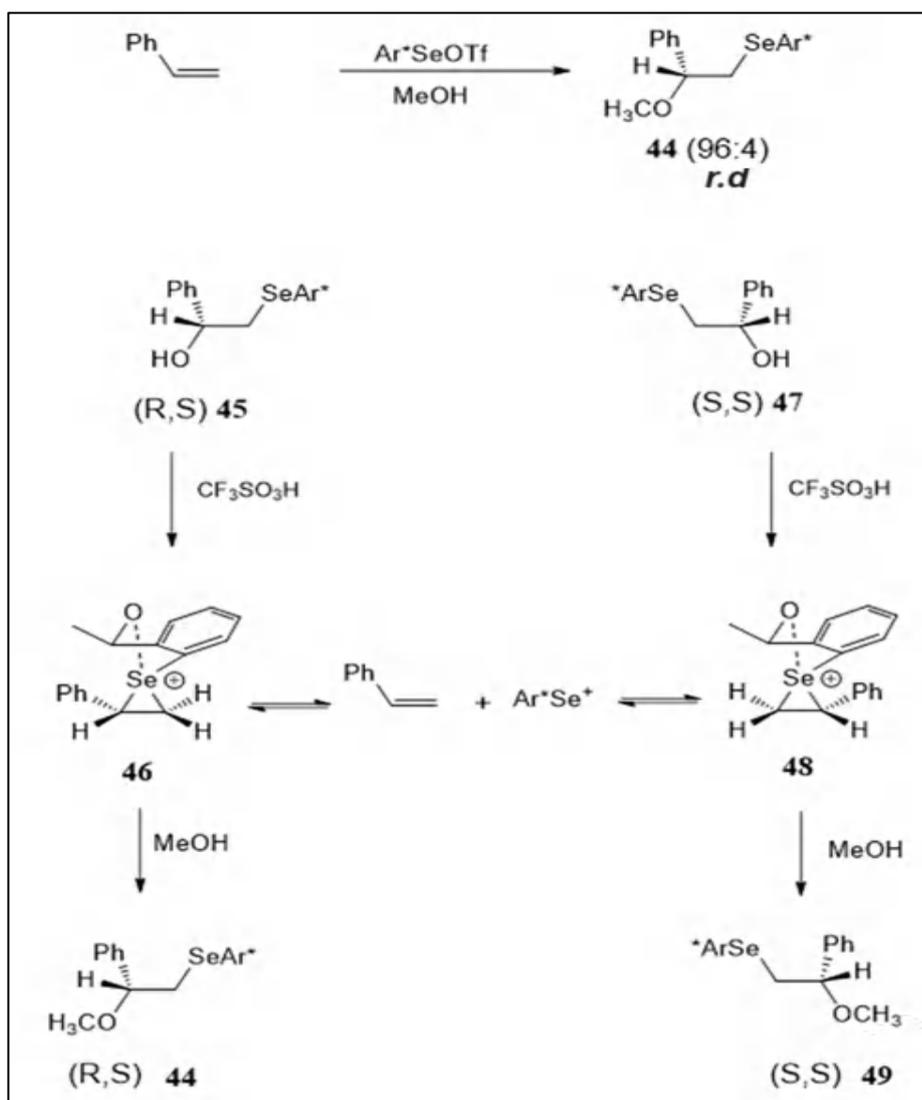


Schéma I-9: Mécanisme de méthoxysélenénylation asymétrique de styrène.

Les résultats obtenus à partir des réactions de styrène avec divers réactifs électrophiles dérivés des diséléniures présentés dans le **schéma I-8** sont résumés dans le **tableau I-2**.

Dans plusieurs cas, la réaction d'addition se déroule avec d'excellents excès diastéréomériques. Bien que la température de réaction, le solvant et la nature du contre-anion soient différents d'un cas à l'autre, les données rapportées dans le **tableau I-2** peuvent être prises en considération pour obtenir des indications préliminaires sur la capacité des divers réactifs électrophiles à transférer la chiralité aux stéréocentres nouvellement générés.

Cela ressort clairement des données du **tableau I-3** dans lequel sont indiqués les excès diastéréomériques mesurés pour les réactions des dérivés électrophiles des disélénures **24** et **26** avec divers alcènes. Dans les deux cas, les résultats obtenus avec d'autres alcènes sont bien meilleurs que ceux observés avec le styrène.

Tableau I-2: Méthoxysélénénylation asymétrique de styrène

Disélénure	Anion	Conditions	<i>e.d</i> (%)	Rendement (%)	Ref.
21	Br^-	MeOH, 25°C	49	49	[90]
22	TfO^-	Et ₂ O, -78°C	77	88	[91]
23	TfO^-	Et ₂ O, -78°C	94	73	[74]
24	TfO^-	CH ₂ Cl ₂ , -78°C	35	97	[75]
24	Br^-	CH ₂ Cl ₂ , 25°C	97	21	[89]
25	PF_6^-	CH ₂ Cl ₂ , -78°C	42	79	[92]
26	SO_4^{2-}	CH ₂ Cl ₂ , 25°C	30	91	[93]
26	TfO^-	CH ₂ Cl ₂ , -78°C	47	77	[94]
28	TfO^-	Et ₂ O, 0°C	10	64	[78]
29	TfO^-	Et ₂ O, -100°C	89	81	[78]
31	TfO^-	MeOH, -78°C	98	55	[79]
32	TfO^-	Et ₂ O, -100°C	86	98	[80]
32	SO_4^{2-}	Et ₂ O, -15°C	86	74	[80]
32	SO_4^{2-}	Et ₂ O, 25°C	76	95	[80]

Tableau I-3: Méthoxysélénylation asymétrique des alcènes.

Alcène	Diséléniure 26			Diséléniure 24			
	Anion	T °C	Ref.	Anion	T °C	<i>e.d</i> (%)	Ref.
Styrène	SO_4^{2-}	25	[93]	TfO^-	-78	35	[75]
<i>E</i> -3-Octène	SO_4^{2-}	25	[93]	/	/	/	/
<i>E</i> -2-Butène	TfO^-	-78	[93]	TfO^-	0	96	[75]
β -Méthylstyrène	/	/	[93]	TfO^-	0	96	[75]
α -Méthylstyrène	TfO^-	-78	[93]	TfO^-	0	15	[75]
Styrylacétate de méthyle	SO_4^{2-}	25	[93]	/	/	/	/
3-Hexenoate de méthyle	SO_4^{2-}	25	[93]	/	/	/	/

Il est intéressant de noter que la nature des anions semble avoir une influence considérable sur la sélectivité et le rendement des réactions. L'effet d'un anion sur le déroulement des réactions des dérivés électrophiles du diséléniure **25** avec le β -méthylstyrène, dans le chlorure de méthylène et le méthanol à 100°C a été étudié par Tomoda [92].

À partir de ces résultats, il a été suggéré qu'une diminution de la nucléophilie de l'anion, c'est-à-dire une augmentation de l'électrophilie du réactif sélénié, entraîne une augmentation de l'excès diastéréoisomérique de ces réactions.

Des changements similaires de sélectivité lors du passage du bromure au sulfate ont été également observés avec le styrène, (*E*)- β -méthylstyrène, (*E*)-4-octène et 3-hexénoate de méthyle. Aucune modification n'a été observée avec le cyclohexène et le cyclooctène.

Tout récemment, une nouvelle réaction d'addition asymétrique a été décrite par Tiecco. L'oxydation du diséléniure **26** par le persulfate d'ammonium donne le sulfate de camphorsélényle, qui réagit avec les alcènes dans l'acétonitrile en présence d'eau, pour donner les produits de hydroxysélénylation avec de bons rendements et des diastéréosélectivités modérées à bonnes [95]. Les résultats de ces expériences sont rassemblés dans le **tableau I-4**.

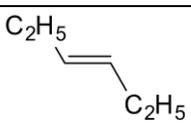
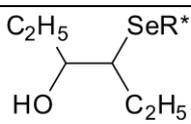
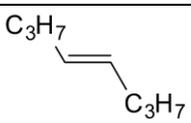
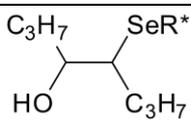
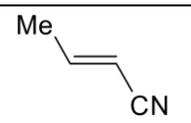
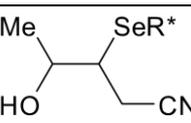
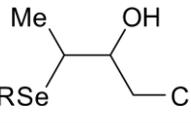
Des rapports diastéréomériques significatifs ont été observés dans la hydroxysélénylation du cyclohexène, du styrène et du β -méthylstyrène.

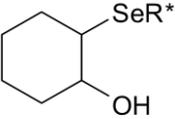
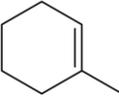
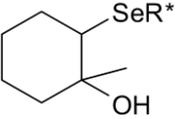
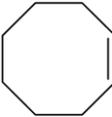
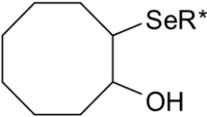
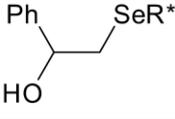
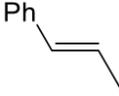
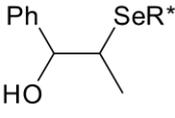
Une bonne sélectivité faciale a été observée dans tous les autres cas. Les deux produits diastéréomériques obtenus lors de la réaction d'addition, ont pu être séparés dans la plupart des cas.

Des alcools saturés ou allyliques énantiomériquement purs peuvent être obtenus par désélénylation classique, réductrice ou oxydative, des isomères simples. L'interaction de l'anion sulfate s'est avérée importante et ainsi l'utilisation des dérivés sulfatés présente un avantage considérable dont ces réactions peuvent être effectuées à température ambiante. Les données rassemblées dans les **tableaux I-3 et I-4**, montrent que, dans la méthoxysélénylation des alcènes, les excès diastéréomériques ainsi obtenus sont comparables à ceux observés avec d'autres agents de sélénylation qui, en revanche, nécessitent de basses températures pour leurs réactions. La hydroxysélénylation a été également réalisée à 40 °C.

Cette réaction d'addition présente un autre avantage de l'utilisation de l'anion sulfate. En effet, il semble assez difficile de trouver des conditions réactionnelles appropriées pour avoir des stéréosélectivités similaires avec un agent de sélénylation ayant un anion différent du sulfate. Enfin, il a été démontré qu'avec l'utilisation de cet anion sulfate, plusieurs conversions catalysées par le sélénium sont possibles à accéder, et d'autant plus les conversions catalysées par des électrophiles séléniés chiraux et non racémiques sont particulièrement intéressantes.

Tableau I-4: Hydroxysélénylation des alcènes avec sulfate de camphorsélenyle, R*: SO₃H, dans l'acétonitrile et l'eau à 40 °C.

Alcènes	Temps (h)	Produits additifs	Rendement (%)	rd
	36		60	91 :9
	39		89	94 :6
	60		60	90 :10
/	/		10	90 :10

Alcènes	Temps (h)	Produits additifs	Rendement (%)	rd
	37		68	78 :22
	31		75	90 :10
	45		50	81 :19
	28		68	65 :35
	40		62	65 :35

I.2.9.3.4 Addition des nucléophiles azotés

Vu le rôle important des groupements fonctionnels azotés, les réactions d'addition d'un dérivé électrophile sélénié et d'un nucléophile azoté sur une double liaison carbone-carbone représentent un processus synthétiquement pertinent pour des applications potentielles. Les réactions de ce type d'addition ont contribué à la synthèse d'amide de Ritter selon Toshimitsu et Uemura [96] [97]. L'addition d'un groupe phénylsélénylène et d'un groupe acylamino à une oléfine mono ou 1,2-disubstituée a été réalisée en traitant l'oléfine avec PhSeCl dans l'acétonitrile et l'eau en présence d'acide trifluorométhanesulfonique. La conversion stéréospécifique du cyclohexène en amidoséléniure **54** correspondant est présentée dans le schéma I-9.

Ces réactions d'amidosélénylation sont couramment utilisées pour la préparation d'amides allyliques saturés par désélénylation oxydative ou réductrice. Le propionitrile, le butyronitrile, le benzonitrile et le cyanoacétate d'éthyle peuvent être utilisés à la place de l'acétonitrile. Le styrène a donné des résultats médiocres et même les autres oléfines riches en électrons, telles que le 1-méthylcyclohexène ou le 2,3-diméthylbut-2-ène, n'ont pas donné les produits d'amidosélénylation désirables. La réaction peut être également effectuée à partir des produits d'hydroxy- ou de méthoxysélénylation d'alcènes, en présence d'eau et d'acide

trifluorométhanesulfonique; dans ce cas, les nitriles sont utilisés en quantités stœchiométriques [98].

Cette méthodologie a été utilisée pour préparer les produits d'amidosélenénylation du styrène **55** et des oléfines riches en électrons. Il a été cependant nécessaire de remplacer le phénylséleno par le groupement 2-pyridylsélénio afin d'augmenter la réactivité de l'intermédiaire séléniranium [99].

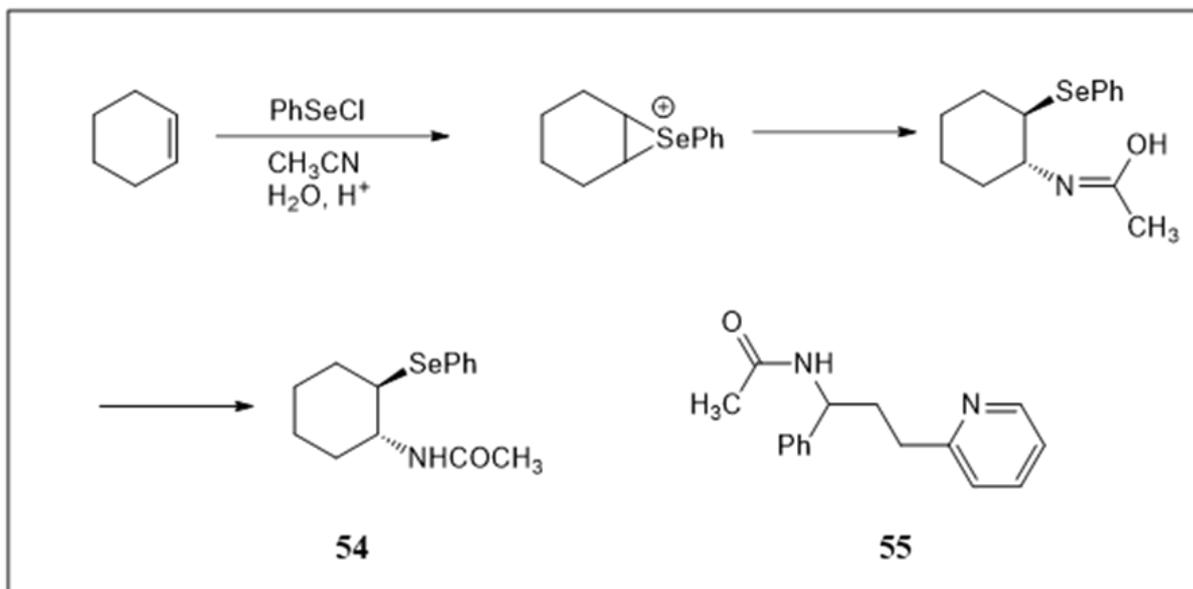


Schéma I-10: Réactions d'amidosélenénylation

D'autres réactions d'amidosélenénylation ont été décrites par Salazar [100] dont la carbamatosélenénylation des alcènes peut avoir lieu en utilisant le *N*-(phénylséleno) phtalimide, en présence d'acide tétrafluoroborique, et d'éthylcarbamate en tant que nucléophile.

L'utilisation des alcènes monosubstitués et 1,2-disubstitués est favorisée pour la réaction d'anti-addition stéréospécifique. Dans le cas des alcènes monosubstitués, des mélanges de régioisomères ont été obtenus. Une investigation approfondie de la réaction de dodéc-1-ène **56** a permis de constater que, lorsque la température et le temps de réaction sont réduits, les rendements du produit **59** de carbamatosélenénylation diminuent et ceux du produit d'oxysélenénylation, dérivé de l'hydrolyse du produit **58**, augmentent (**Schéma I-10**). En raison de la nature ambidextre du carbamate, les composés **58** et **59** peuvent être formés par l'attaque d'oxygène ou d'azote, respectivement. La formation du composé **58**, cinétiquement favorisée, semble être réversible, tandis que l'attaque nucléophile par l'azote sur l'ion séléniranium **57**, qui donne le produit **59** de carbamatosélenénylation (et son régioisomère), semble être un processus

irréversible dans les conditions réactionnelles appliquées. De bons résultats ont été obtenus lorsque les mêmes réactions ont été effectuées avec cyanamide comme nucléophile.

La réaction de cyanamidossélénénylation a bien marché avec des alcènes mono-, di- et tri-substitués. Dans ce cas également, l'addition était stéréospécifique.

Le composé **60** a été obtenu à partir de *trans*-déc-5-ène. Il a été également rapporté que le *p*-toluènesulfonamide peut être utilisé comme nucléophile dans les réactions des alcènes avec PhSeCl [101], la réaction du cyclohexène a permis d'obtenir le composé **61**. Récemment, Piancatelli a utilisé le PhSeCl en présence de chlorure de zinc pour réaliser la chlorosélénénylation stéréospécifique d'oléfines pauvres en électrons telles que le maléate et le fumarate d'éthyle, l'acrylate de méthyle et la cétone de méthyle et de vinyle [102].

L'addition s'est produite également avec une bonne régiosélectivité dans le cas des esters méthyliques des acides acrylique, crotonique et cinnamique **62** (Schéma I-11). Dans ces derniers cas, si le mélange réactionnel est directement traité avec une amine primaire, les dérivés chlorés **63** et **64** sont directement convertis en un mélange *syn-anti* des deux sélénures aminés diastéréomériques **65** et **66** [103], l'ensemble de ce processus représente donc une aminosélénénylation pratique des alcènes en une seule étape.

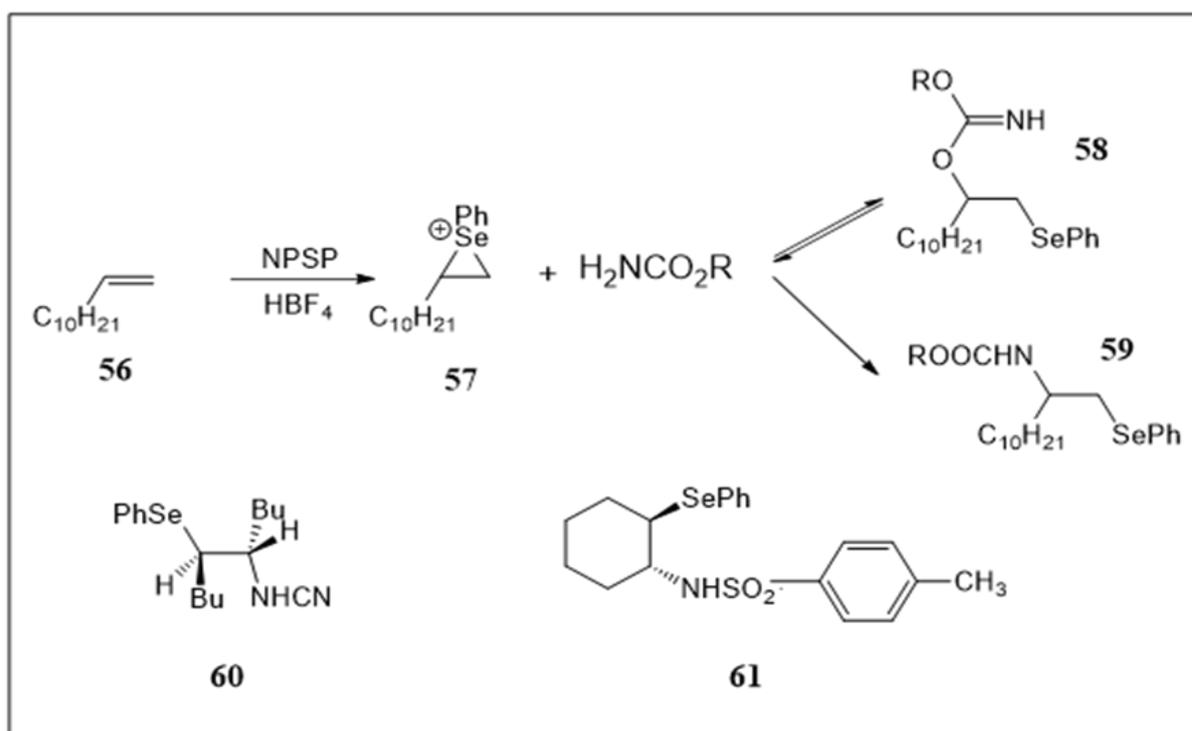


Schéma I-11: Carbamato-, cyanamido- et sulfonamido- sélénénylation des alcènes.

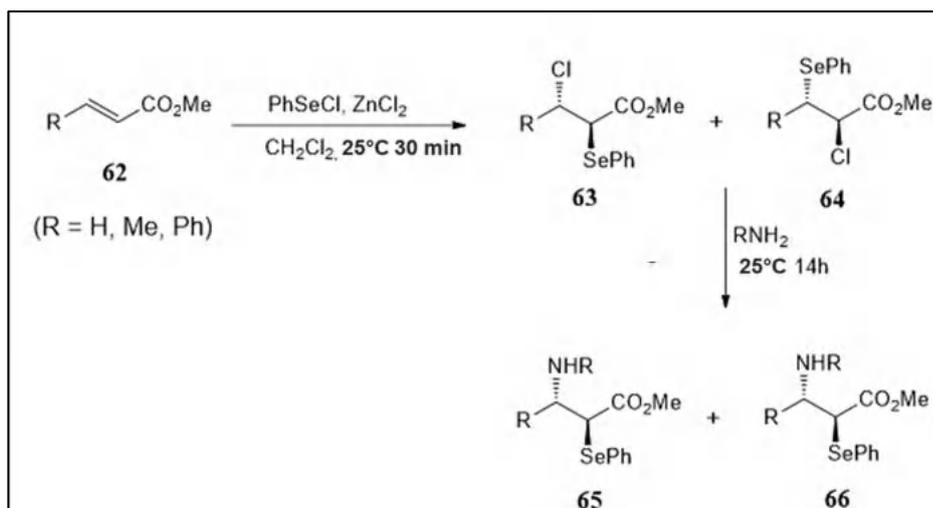


Schéma I-12 : Aminosélenénylation des alcènes pauvres en électrons.

L'une des réactions d'addition les plus importantes impliquant des nucléophiles azotés est l'azido-sélenénylation des alcènes, car les groupes azido et phénylséleno peuvent donner lieu à plusieurs transformations utiles. Ces composés ont été préparés pour la première fois par Krief à partir de la réaction d'alcènes avec du PhSeBr suivi d'azide de sodium dans du DMF [104]. L'azido-sélenénylation directe des alcènes peut être réalisée avec du PhSeCl et de l'azoture de sodium dans du DMSO [105]. Dans ces conditions, la réaction est stéréospécifique mais n'est pas régiospécifique. De même, la réaction d'alcènes *exo*-cycliques avec le *N*-(phénylséleno)phthalimide et l'azidotriméthylsilane dans le chlorure de méthylène (**Schéma I-12**) mène à la formation d'un mélange 1:1 des régio-isomères **67** et **68** [106].

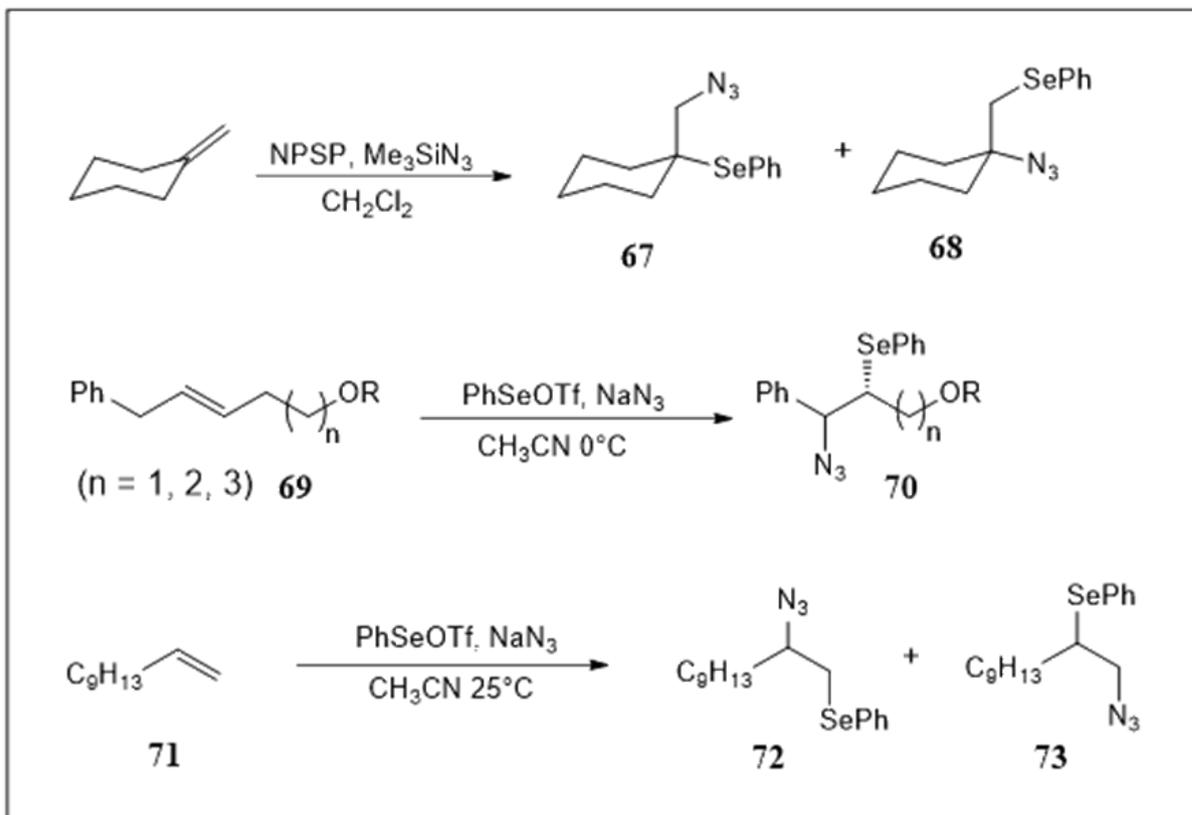


Schéma I-13: L'azidosélenénylation électrophile des alcènes.

Tout récemment, Tiecco a rapporté que l'azidosélenénylation électrophile des alcènes peut être effectuée avec le PhSeOTf et l'azide de sodium dans l'acétonitrile [107]. Cette réaction est une *anti*-addition stéréospécifique dans tous les cas ; la régiochimie est plutôt déterminée par la structure de l'alcène de départ. Les produits **70** dérivés des alcènes **69** substitués par des phényles ont été formés avec une régiosélectivité et une stéréosélectivité complète. En revanche, les alcènes terminaux ont donné un mélange de deux régio-isomères ; ainsi, par exemple, le 1-octène **71** a donné un mélange 2:1 des produits **72** et **73**. Les meilleures conditions expérimentales favorables pour introduire un phénylséleno et un groupement azido sur la double liaison d'alcène sont celles qui exigent l'utilisation de diséleniure de diphenyle, de l'azoture de sodium et de diacétate d'iodobenzène dans le chlorure de méthylène. Dans ces conditions, cependant, la réaction d'addition se produit par le biais du mécanisme radicalaire présenté dans le **schéma I-12** [108]. L'addition s'effectue donc avec une orientation *anti*-Markovnikov et n'est pas stéréospécifique. La réaction est initiée par l'oxydation de l'anion azido en radical azido, qui s'ajoute à l'alcène pour donner un carbone radicalaire, celui-ci est piégé par le PhSeSePh pour obtenir le produit final et un radical PhSe, qui se dimérise en formant le diséleniure de diphenyle.

En raison de sa nature radicalaire, cette réaction d'addition peut avoir lieu avec différents types d'alcènes.

Les produits **74**, **75** et **76** obtenus, indiquent la régiosélectivité et la chimiosélectivité de la réaction d'addition avec différents substrats tels que les éthers d'énol, les esters α,β -insaturés et les esters de vinyle α,β -insaturés (**Schéma I-13**).

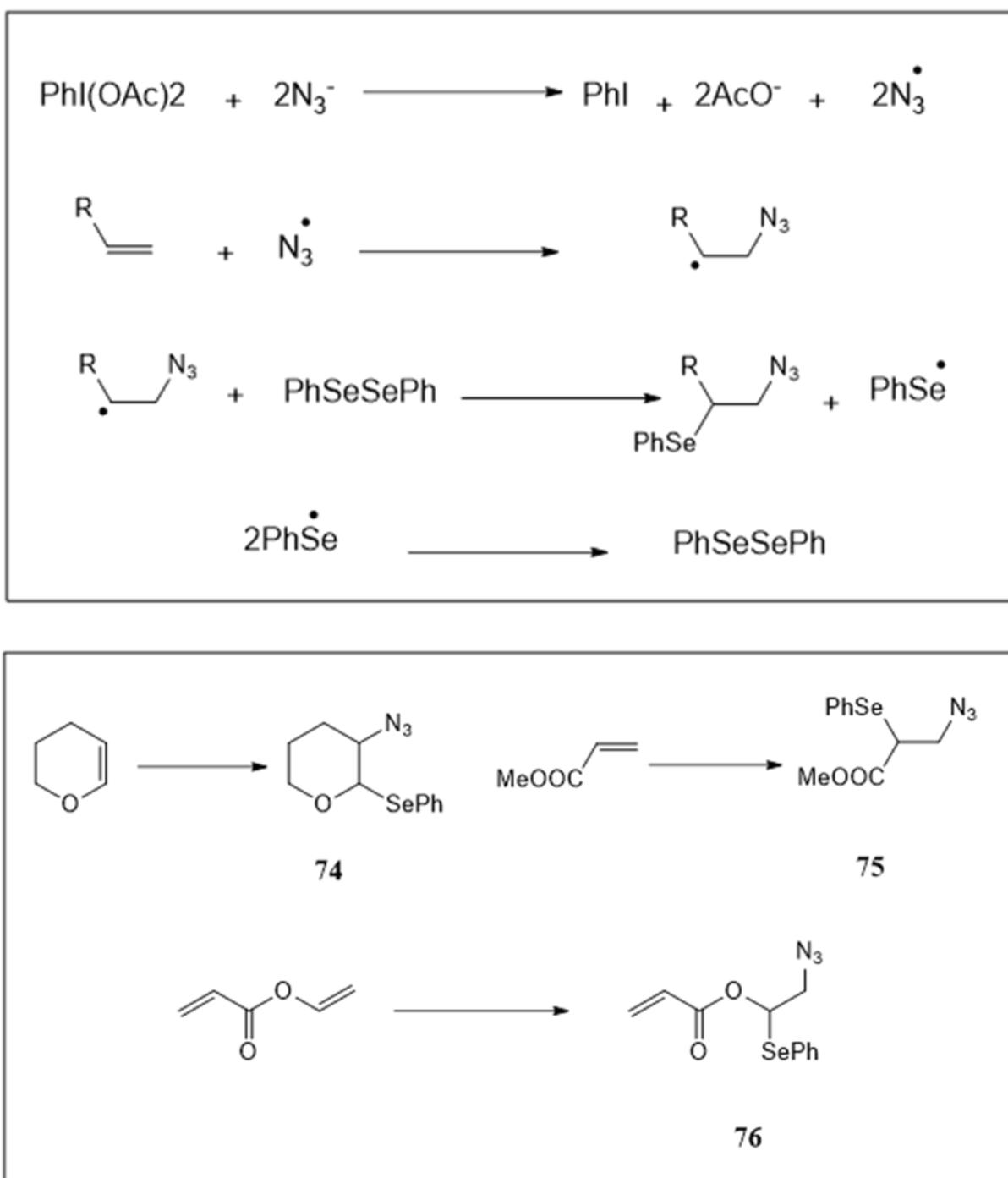


Schéma I-14: L'azidosélenénylation radicalaire des alcènes.

I.2.9.3.5 Sélénocyclisation

En raison de la grande importance des composés hétérocycliques en tant que produits finaux ou intermédiaires de réaction, plusieurs méthodes ont été décrites pour leur construction. Parmi les différents types de réactions de cyclisation les plus utiles, celles basées sur la réaction d'un réactif électrophile avec un alcène contenant un groupe nucléophile convenablement positionné. Le terme de cyclo-fonctionnalisation a été introduit par Clive [109] pour décrire ce type de processus qui peut être favorisé par plusieurs réactifs électrophiles. Le grand nombre de produits acquis ces dernières années à partir des réactifs séléniés pour réaliser les réactions de fermeture de cycle est dû à la disponibilité aisée des réactifs, aux nombreuses manipulations chimiques qui peuvent être effectuées sur le groupement sélénium avant ou pendant son élimination, et aux conditions réactionnelles douces requises dans les différentes étapes. Les réactions de cyclisation favorisées par le sélénium permettent donc d'accéder facilement à une grande variété de composés hétérocycliques et à ceux qui contiennent des hétéroatomes y compris l'oxygène et/ou l'azote en particulier. Le **schéma I-14** montre les possibilités de cyclisation en fonction de la position relative du nucléophile et de la double liaison dans l'alcène de départ. Des composés hétérocycliques optiquement actifs peuvent être préparés à l'aide de réactifs séléniés électrophiles RSeX dans lesquels R est un groupe chiral. Les composés de type **77**, en passant par les intermédiaires de séléniranium **78**, donnent naissance aux composés cycliques à quatre chaînons **79** qui, selon les règles de Baldwin [110], sont obtenus de la réaction de cyclisation de type *4-exo-trigonal*, ou aux dérivés à cinq chaînons **80** comme résultat d'une cyclisation de type *5-endo-trigonal*.

Les composés **81** permettent d'obtenir l'intermédiaire de séléniranium **82** à partir duquel une cyclisation de type *5-exo-trigonal* ou *6-endo-trigonal* peut donner lieu respectivement aux composés **83** ou **84**. Les cyclisations de type *4-exo-trigonal*, *5-exo-trigonal* et *6-endo-trigonal* sont favorisées, tandis que la cyclisation de type *5-endo-trigonal* est défavorisée [110]. Le **schéma I-14** montre des réactions de fermeture de cycle qui représentent des réactions d'*anti*-addition stéréospécifiques.

Dans la grande majorité des exemples rapportés dans la littérature, le nucléophile lié à l'alcène de départ est une entité oxygénée ou azotée et le processus de cyclisation se produit donc par la formation d'une liaison carbone-oxygène ou carbone-azote. Des réactions compétitives intéressantes peuvent être observées lorsque l'atome d'azote est incorporé dans un groupe fonctionnel contenant d'autres atomes nucléophiles, ce qui peut également donner lieu à des

réactions de cyclisation. Lorsque les nucléophiles carbonés sont utilisés, les réactions de fermeture de cycle correspondantes donnent naissance à des composés carbocycliques.

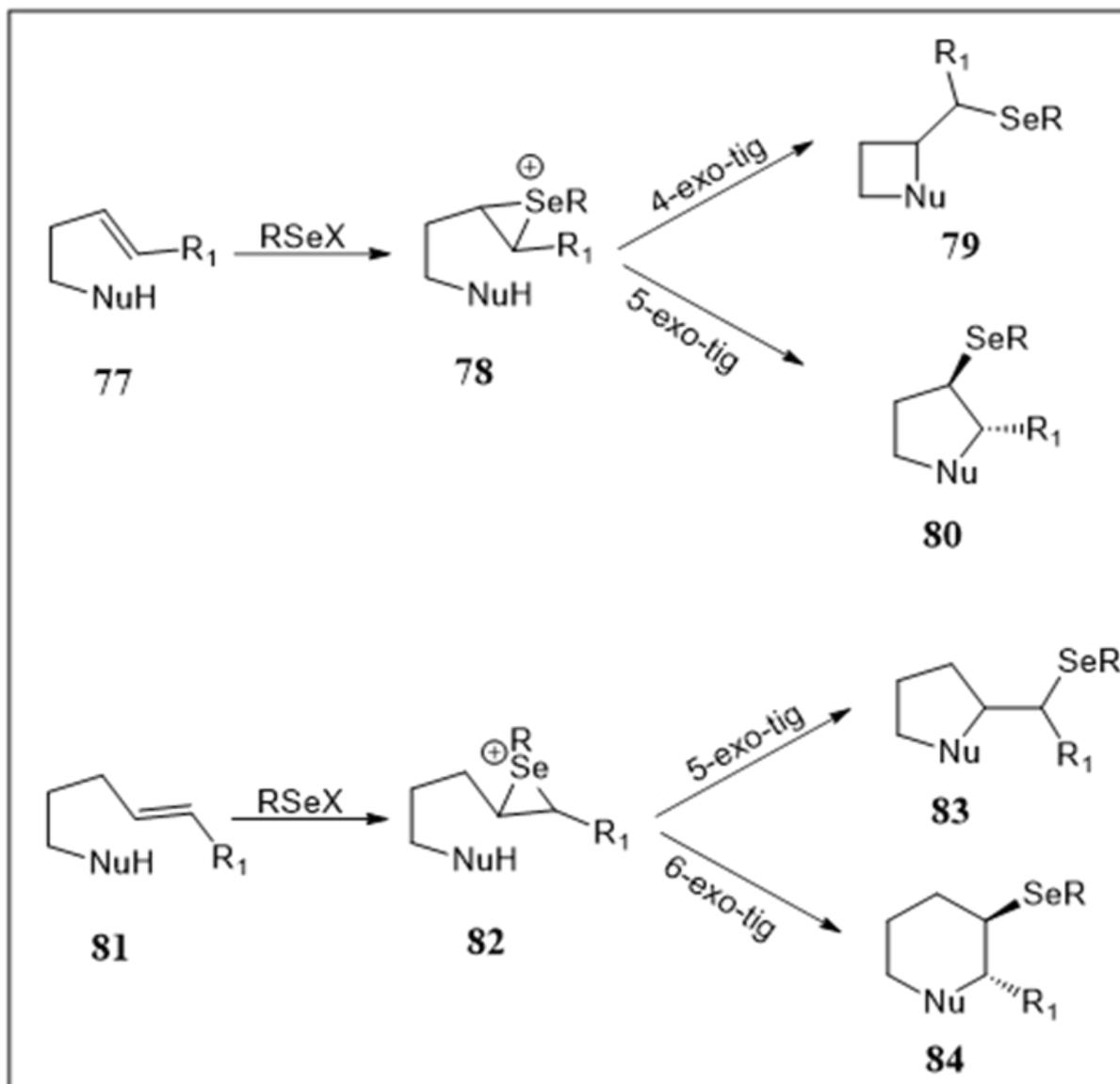


Schéma I-15 : Réactions de cyclo-fonctionnalisation introduites par sélénium.

1.2.9.3.5.a Addition des nucléophiles oxygénés

Les cyclo-fonctionnalisations d'alcènes contenant des nucléophiles oxygénés internes sont les réactions de cyclisation, promues par le sélénium les plus étudiées. Dans les cas les plus courants, l'atome d'oxygène agissant peut être celui d'un groupe OH ou COOH, et les réactions de cyclisation correspondantes sont appelées respectivement la sélénoétherification ou la séléno-lactonisation.

Ces réactions ont trouvé une large application dans le domaine de la synthèse qui correspond à la construction des molécules complexes et ainsi la préparation des produits naturels. Quelques exemples simples sur ces réactions de fermeture de cycle sont présentés dans le **schéma I-15**.

Les cyclisations des produits de **85** à **86** et de **87** à **88** représentent des cas simples où le nucléophile interne est le groupement OH d'alcool [111]. Un groupement hydroxy généré *in situ*, comme dans le cas d'addition d'alcools à des composés carbonylés, peut aussi participer à des réactions de phénylsélénio-étherification. Ceci est indiqué par la conversion de **89** au **90** en présence d'alcool benzylique [112]. Un autre type du groupement OH donnant lieu à ce type de réactions, est OH énolique des composés β -dicarbonylés. D'autant plus, Ley a rapporté que les composés tels que **91** et **93** peuvent être transformés aux dérivés cycliques **92** et **94** respectivement par traitement avec du *N*-PSP **11** en présence d'iodure de zinc [113]. La cyclisation du produit **95** pour donner le produit **96** est un exemple simple sur le processus de séléno-lactonisation [114].

Il est à noter que les diverses réactions de cyclisation présentées dans le **schéma I-15** nécessitant différents agents électrophiles de sélénylation, peuvent toutes être effectuées avec le sulfate de phénylsélényle [115]. Un exemple très intéressant sur l'utilité synthétique des réactions de sélénoétherification a été rapporté par Metha [116] qui a décrit une conversion très simple et efficace de dialcénylcétones en plusieurs acétals cycliques d'importance expérimentale (**Schéma I-16**). Le traitement du composé **97** avec le PhSeCl dans l'acétonitrile et l'eau a permis d'obtenir un mélange 1:1 des produits **98** et **99** dont leur séparation est facile avec de bons rendements. Les conditions de réaction appliquées sont celles décrites précédemment par Toshimitsu [117] pour réaliser l'hydroxysélénylation des alcènes. En effet, les réactions de cyclisation sont proposées pour procéder à une hydroxysélénylation intermoléculaire et intramoléculaire en tandem comme dans le cas de la cyclisation de undéca-1,10-diène-6-one **100** (**Schéma I-16**).

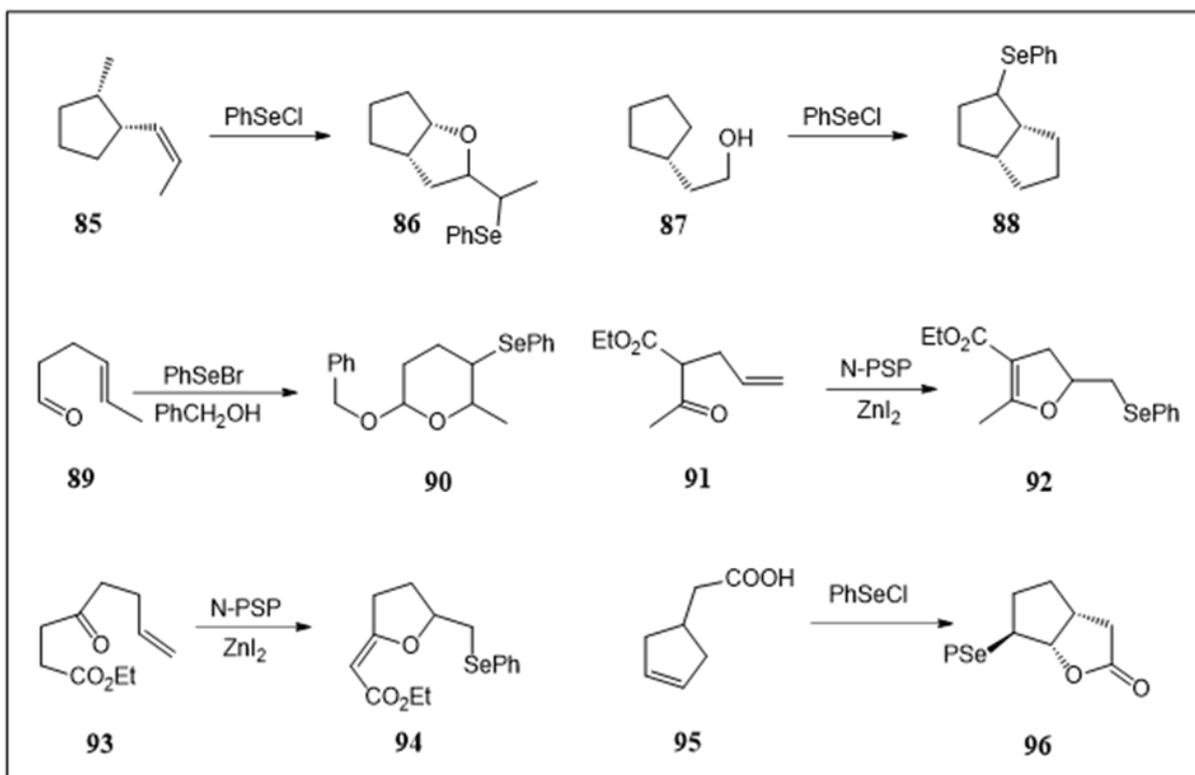


Schéma I-16: Sélénoétherification et séléno lactonisation des alcènes.

La première étape de la réaction a permis d'obtenir le produit hydroxyséléniure **101**. Généralement, l'addition intramoléculaire d'un hydroxyle OH au groupe carbonyle génère le nucléophile qui piège le second intermédiaire de séléniranium **102** et permet d'obtenir les spiroacétals **103** et **104** avec un rapport de 30:70. A partir de nona-1,8-diène-5-one **105**, le spiroacétal à cinq chaînons **106** a été obtenu avec un rendement élevé. La conversion de **97** en un mélange 1:1 des produits **98** et **99** a été également réalisée par Pandey [118] à partir d'une réaction photocatalysée de PhSeSePh avec DCN (dicyclohexylcarboxydiimide) dans un mélange d'acétonitrile et d'eau.

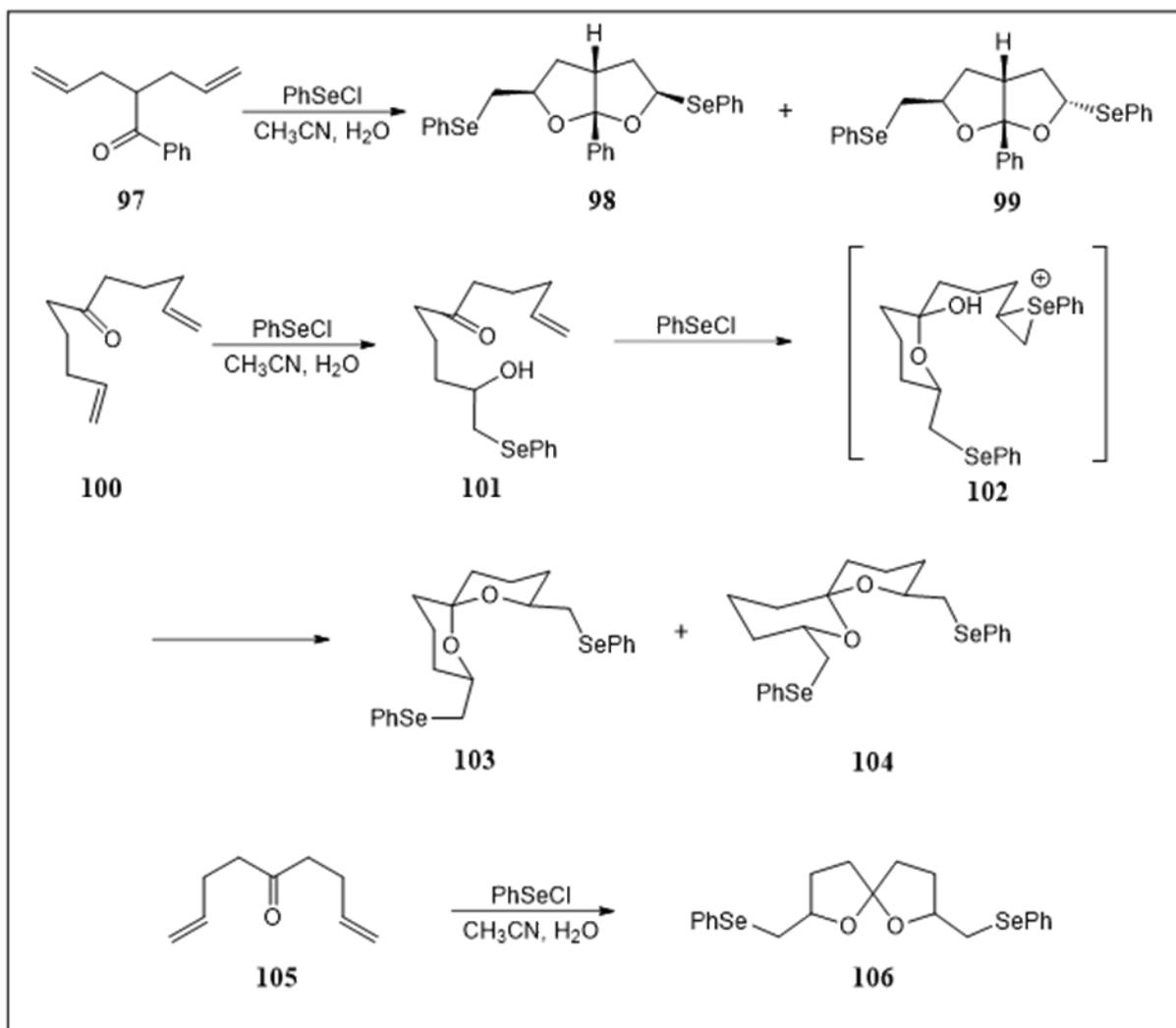


Schéma I-17: Synthèse des fonctions acétal-cycliques par hydroxysélénénylation des cétones dialcényles.

La conversion des alcénylnitriles en lactones, promue par le sélénium et décrite par Tiecco [119] est également basée sur une réaction intermoléculaire d'hydroxysélénénylation suivie de l'addition de l'hydroxyle à un groupe insaturé. Les alcénylnitriles **107** (Schéma I-17) réagissent avec le PSS **16**, préalablement obtenu de la réaction de diséléniure de diphenyle avec le persulfate d'ammonium, dans un mélange de dioxane et d'eau en présence d'acide trifluorométhanesulfonique, afin de donner le produit d'hydroxysélénénylation **108**, ce dernier est en équilibre avec la molécule protonée **109**. L'addition intramoléculaire du groupement OH permet de donner le produit **110**, qui est facilement hydrolysé pour obtenir la lactone finale **111**. Les cyclisations électrophiles de type *5-endo-trigonal* continuent à faire l'objet de recherches dont l'intérêt s'est porté sur la stéréosélectivité des réactions de fermeture des cycles impliquant des alcools homoallyliques sur les tétrahydrofuranes substitués [69] [120].

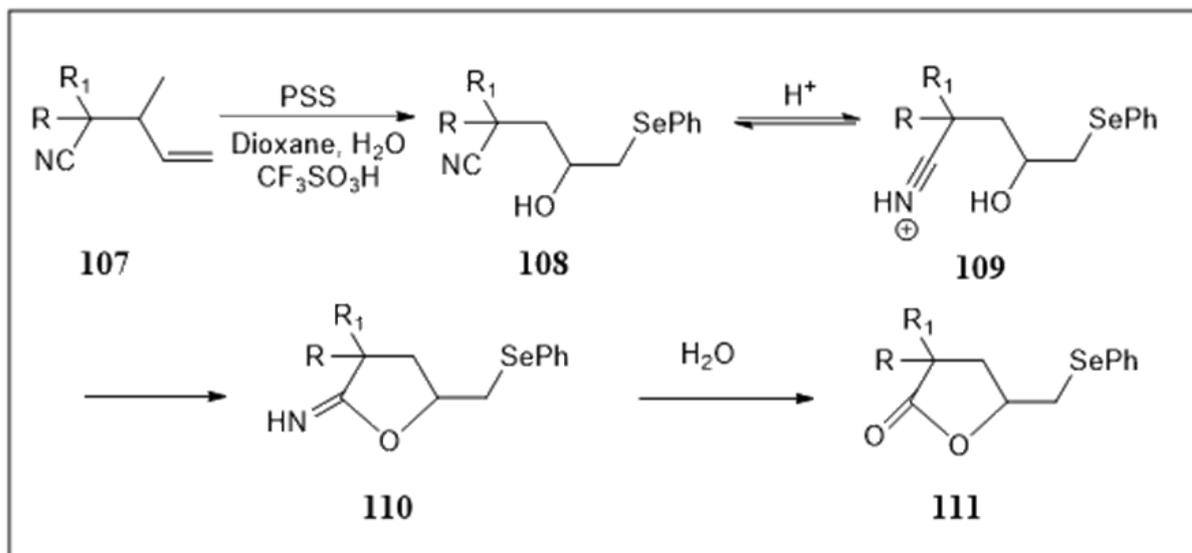


Schéma I-18 : Séléno lactonisation d'alcénylnitriles.

Le schéma I-17 récapitule les résultats obtenus par Mihelich [121] à propos des cyclisations des alcools homoallyliques **112-115** en utilisant le *N*-(phénylséno) phtalimide pour donner des tétrahydrofuranes substitués **116-123**. Une faible sélectivité a été observée dans le cas des (*E*)-oléfines **112** ou **113**, qui ont donné **116** et **117** ou **118** et **119** dans un rapport de 1,2:1 et 4:1, respectivement. Les cyclisations des (*Z*)-oléfines **114** et **115** ont, en revanche, été très sélectives. Le rapport des deux tétrahydrofuranes **120** et **121** était de 32:1 et celui de **122** et **123** de 38:1. Dans tous les cas, le produit favorisé présente une relation inverse entre le groupe phénylséno et le méthyle adjacent [69] a utilisé le chlorure de 2,4,6-triisopropylbenzènesélenényle, dérivé du diséleniure **17**. Les résultats de ces réactions sont également rassemblés dans le schéma I-18.

Des résultats intéressants ont été obtenus avec les (*E*)-oléfines **112** et **113**, qui donnent les tétrahydrofuranes correspondants avec un rapport de 49:1 dans les deux cas. La stéréosélectivité accrue obtenue avec ce nouvel agent de sélenénylation a été expliquée sur la base d'exigences stériques accrues dans l'approche de l'électrophile à la double liaison carbone-carbone se produisant de préférence loin du substituant allylique. Une interprétation similaire a été aussi donnée par Tiecco [122] pour expliquer les résultats obtenus lors des cyclisations des 2-carbométhoxy-3-alcénols **124** en dérivés tétrahydrofuraniques **125** et **126**, promues par le sulfate de phénylsélenényle (Schéma I-19).

Dans tous les cas étudiés, les réactions de cyclisation ont donné préférentiellement des composés **125**, dans lesquels le groupe phénylséléno est en position anti par rapport au groupe carbométhoxy allylique. Les rapports des deux stéréoisomères varient de 10:1 à 19:1 en fonction de la nature des substituants R, R₁, et R₂ (**Schéma I-19**).

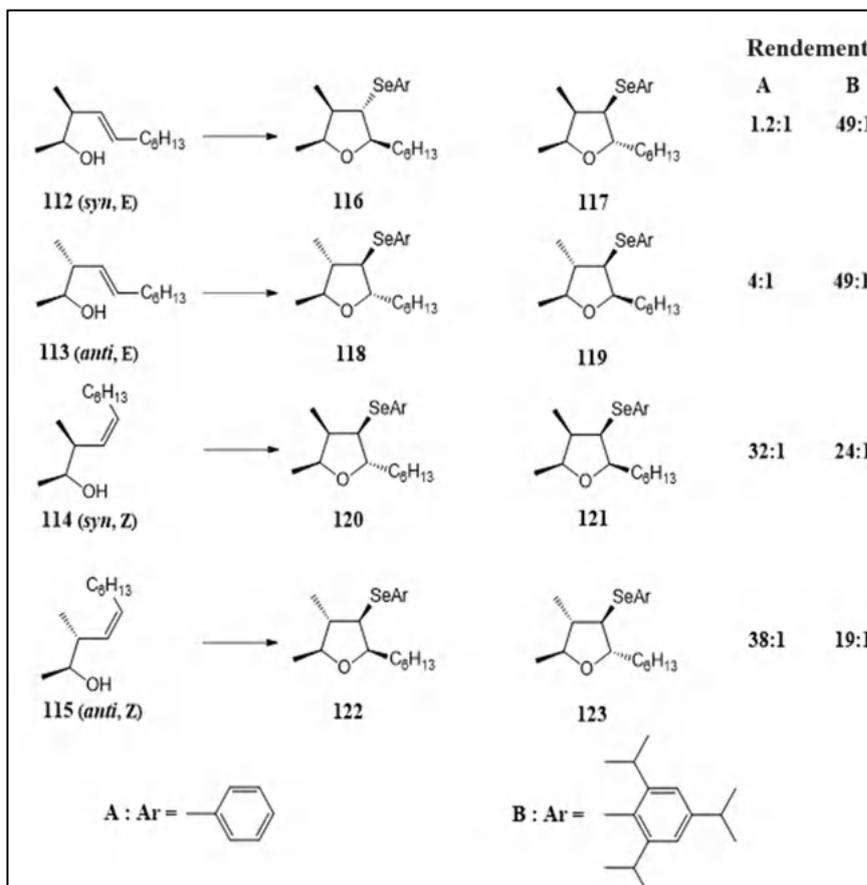


Schéma I-19 : La stéréosélectivité et la synthèse des tétrahydrofuranes à partir des cyclisations des alcools homoallyliques, favorisées par le *N*-(phénylséléno) phtalimide (A) et par le bromure de (2,4,6-trisisopropylphényl) sélénylène (B).

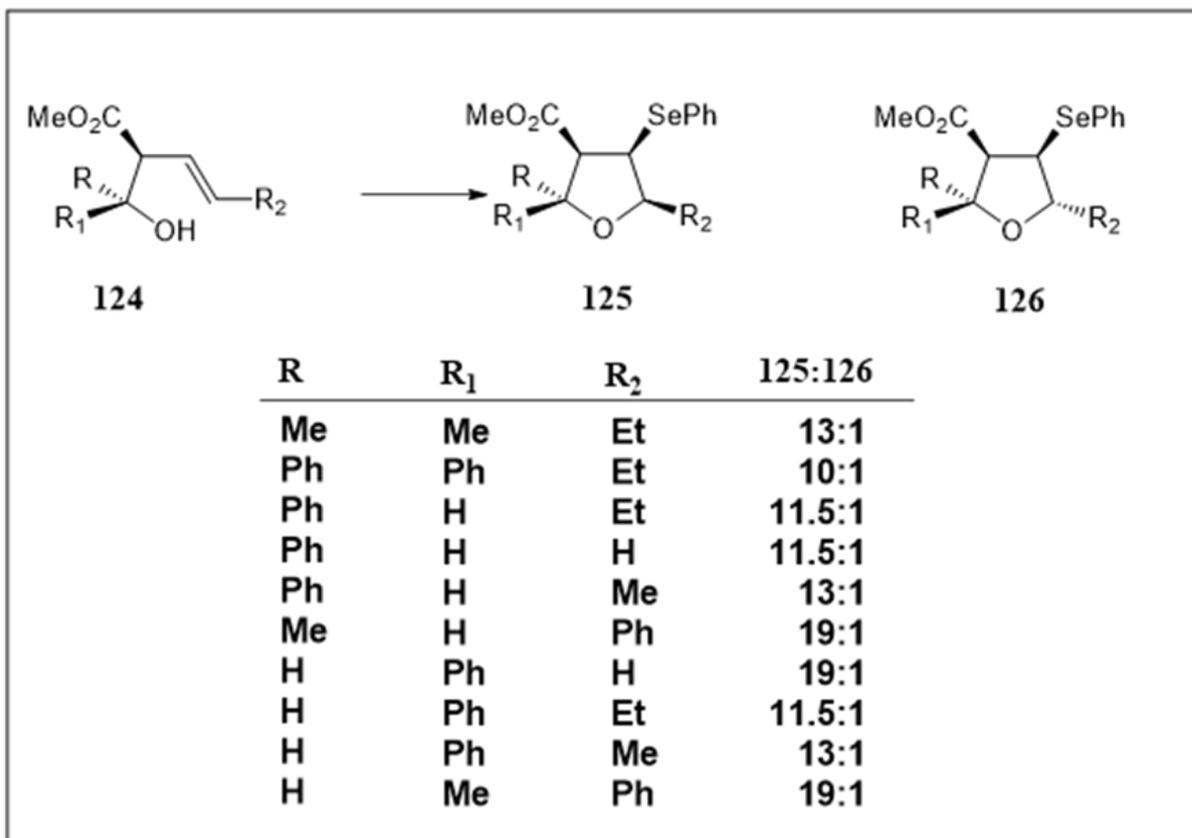


Schéma I-20 : La formation des dérivés de tétrahydrofurane par cyclisations de 2-carbomethoxy-3-alcénols en utilisant le sulfate de phénylsélénényle.

Les cyclisations promues par PhSeCl de plusieurs 3-alcénols 2-substitués **127** (**Schéma I-20**) ont été étudiées par Landais [120] qui a constaté que la stéréosélectivité de cette réaction dépend rigoureusement de la nature des substituants X.

Avec des substituants tels que OTIPS, NHPH, SPh ou SO₂Ph, la formation des stéréoisomères **128** est préférée, tandis que les composés **129** sont les principaux isomères lorsque X représente un groupement OH, OEt, OCH₂CF₃ ou un groupement OPh. Il a été suggéré que les effets stériques et électroniques des substituants X déterminent l'importance relative des deux conformations à l'état de transition conduisant aux produits **128** ou **129**. Les résultats expérimentaux peuvent être également expliqués sur la base d'une coordination qui se produit entre l'électrophile entrant et les groupements OH, OEt, OCH₂CF₃ et OPh favorisant la formation des produits **129**, dans lesquels les entités X et SePh ont une configuration-*syn*. Une telle coordination a été déjà suggérée pour expliquer la sélectivité observée dans d'autres cyclisations de type *5-exo-trigonal* [123].

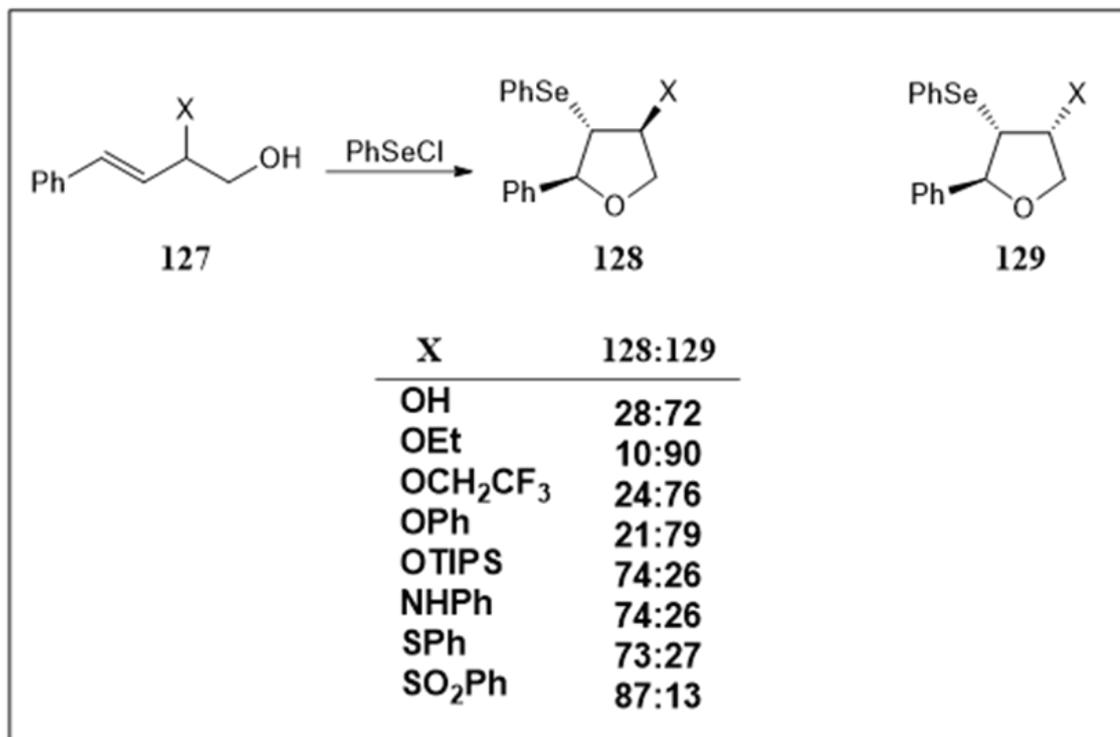


Schéma I-21 : La synthèse des dérivés de tétrahydrofurane par cyclisation de l'alc-3-èn-1-ol substitué en position 2, favorisée par le chlorure de phénylsélénényle.

Une réaction de cyclisation totalement nouvelle est la conversion, favorisée par le PhSeBr, d'alcénylnitrones en 1,2-oxazines, qui a été récemment rapportée par Tiecco [124]. Il s'agit des premiers exemples d'utilisation d'alcénylnitrones pour effectuer des réactions de fermeture des cycles, induites par des réactifs électrophiles. Selon le schéma I-21, les nitrones **130** et **134** réagissent avec PhSeBr pour donner les sels cycliques d'iminium **131** et **135**, respectivement. Ces intermédiaires sont attaqués par des réactifs nucléophiles au niveau d'atome du carbone partiellement positif. La nature des produits finaux dépend de la structure de la nitronne de départ et du nucléophile utilisé.

L'intermédiaire **131**, dans lequel la double liaison carbone-azote est *exo*-cyclique, réagit avec le borohydrure de sodium pour donner la *N*-benzyl-1,2-oxazine **132**. Cependant, le traitement avec le méthanol donne lieu aux 1,2-oxazine **133** et PhCH(OMe)₂ comme résultats de la méthanolyse du sel d'iminium. Les composés **132** et **133** ont été obtenus comme mélange de deux stéréoisomères avec des rapports 2:1 et 4:1, respectivement. Dans les deux cas, les principaux isomères sont ceux dans lesquels le groupement méthyle occupe une position équatoriale.

En revanche, avec l'intermédiaire **135**, dans lequel la double liaison carbone-azote est *endo*-cyclique, la seule réaction observée est l'addition du nucléophile sur l'atome du carbone positif pour former les composés **136** et **137** comme des stéréoisomères simples.

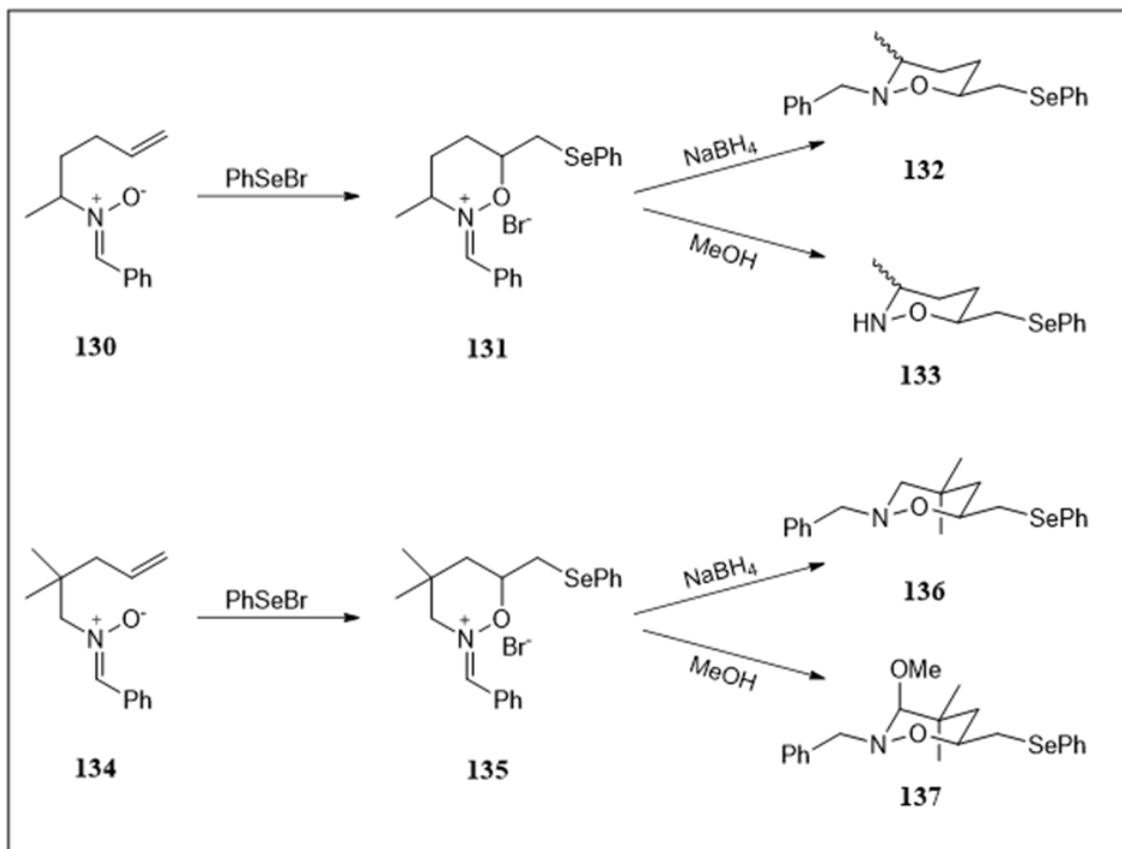
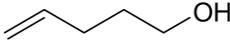
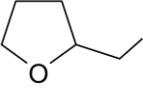
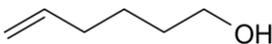
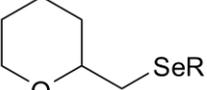
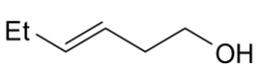
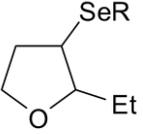
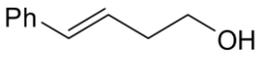
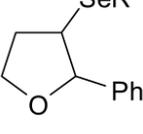
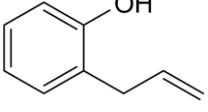
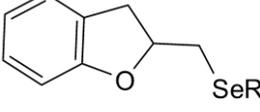
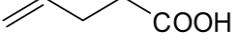
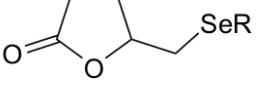
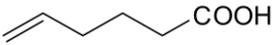
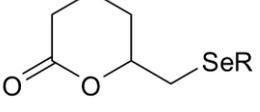
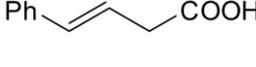
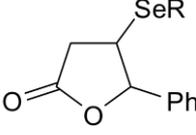
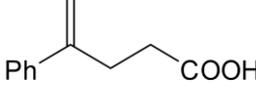
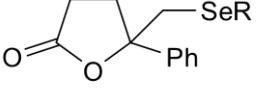


Schéma I-22 : Formation de 1,2-oxazines à partir de la cyclisation d'alcénylnitrones

La sélénoétherification asymétrique d'alcools insaturés et la sélénoactonisation d'acides carboxyliques insaturés peuvent être efficacement réalisées avec des électrophiles séléniés chiraux et racémiques. Cette procédure représente un moyen utile pour la synthèse des composés hétérocycliques optiquement actifs tels que les éthers cycliques et les lactones. Presque toutes les équipes de recherche travaillant sur le développement de la synthèse asymétrique, promue par le sélénium ont revendiqué l'utilisation de ces réactifs dans des réactions de séléno-cyclisation stéréosélectives. Plusieurs exemples sur ces réactions de cyclo-fonctionnalisation, favorisées par différents réactifs séléniés, sont présentés dans le **tableau I-5**, ce processus semble être d'application générale. En fonction des substituants liés à la double liaison carbone-carbone et de la position des groupes nucléophiles OH et COOH, les réactions de fermeture des cycles 5-*endo-trigonal*, 5-*exo-trigonal*, 6-*endo-trigonal* et 6-*exo-trigonal* peuvent toutes être facilement réalisées.

La réaction de cyclisation est un processus stéréospécifique, si bien que son évolution stéréochimique est similaire à celle décrite pour les réactions intermoléculaires d'oxysélenénylation.

Tableau I-5 : Le rendement (%) et l'excès diastéréoisomérique des réactions asymétriques de sélénoétherification et de séléno lactonisation en utilisant les différents diséléniures.

Alcènes	Produits	27	29	24	25	23
		[125] -95 °C Cl ⁻	[126] 100 °C TfO ⁻	[127] -78 °C Br ⁻	[92] -100 °C PF6 ⁻	[94] -78 °C TfO ⁻
		87 (68)	/	97 (95)	100 (22)	84 (91)
		96 (74)	/	/	80 (59)	/
		/	60 (0)	/	86 (98)	/
		/	87 (84)	/	88 (94)	92 (92)
		93 (84)	/	20 (95)	83 (13)	/
		81 (90)	/	84 (95)	81 (57)	/
		87 (82)	/	46 (87)	90 (39)	/
		/	41 (72)	/	87 (92)	62 (99)
		/	58 (85)	/	/	/

L'analyse des données rapportées dans le tableau ci-dessus indique que d'excellents résultats peuvent être obtenus dans la plupart des cas et que la nature du nucléophile et la taille du cycle du composé hétérocyclique formé ont peu d'influence sur la sélectivité faciale observée. Le dernier exemple présenté dans le **tableau I-6** correspond au cas intéressant d'un alcène 1,1-disubstitué. La réaction de cyclisation se déroule avec une bonne induction asymétrique pour avoir un atome de carbone chiral tétra-substitué, qui n'est pas facilement accessible par d'autres méthodes [126].

I.2.9.3.6 Addition des nucléophiles azotés

Les réactions de fermeture cyclique d'alcènes contenant des nucléophiles azotés internes, introduites par des réactifs électrophiles, représentent l'une des meilleures façons pour la synthèse des composés hétérocycliques contenant de l'azote [128]. Cette méthode est versatile et permet de construire une grande variété de structures hétérocycliques. Plusieurs nouveaux exemples sur ce type de cyclo-fonctionnalisation ont été rapportés ces dernières années. Les cyclisations directes d'amines primaires alcényles ont été rarement utilisées en raison des réactions secondaires généralement associées à ce processus. Les cyclisations favorisées peuvent être effectuées à partir d'alcénylamine dans lesquelles l'azote est protégé par des substituants électroattracteurs [129] selon le **schéma I-22** où les composés **138** sont convertis en pyrrolidines **139**. La pyrrolidine chirale **141** a été synthétisée par Wirth [126], avec 40%-45% d'excès diastéréoisomérique, de la cyclization asymétrique du produit **140**, promue par le triflate de sélénényle, dérivé de diséléniure **29**. La même réaction a été appliquée par Wirth [85] pour la synthèse d'alkaloïdes tétrahydroquinoléiniques. La cyclisation d'amine **142**, protégée par Boc a permis d'obtenir **143** avec 90 % d'excès diastéréoisomérique. La déséléniylation radicale et la déprotection de l'azote ont permis d'accéder à la formation de (-)-salsolidine **144**.

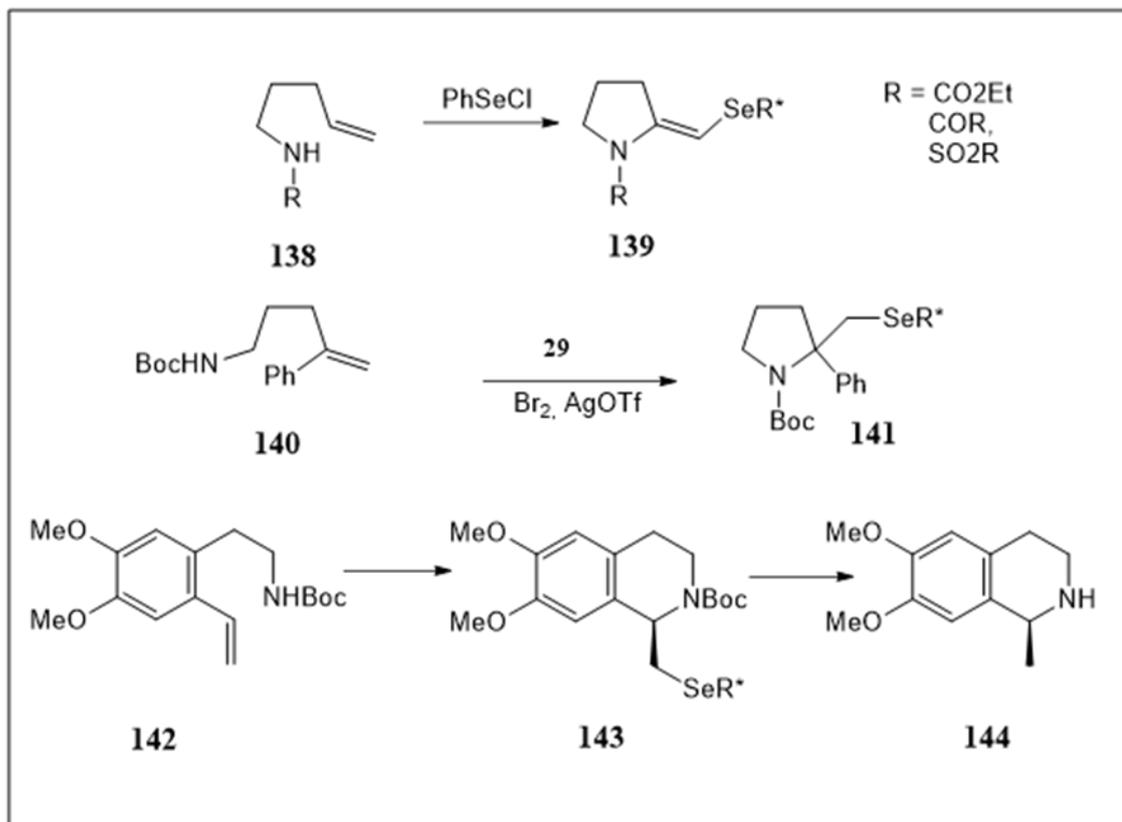


Schéma I-23: Réactions de cyclisation d'alcénylamines primaires *N*-protégées

Les alcénylamines secondaires réagissent facilement avec des réactifs électrophiles séléniés, ce qui conduit à la formation des produits de cyclisation souhaitables. La conversion favorisée par le sulfate de phénylsélénényle indiquée dans le **schéma I-23** montre que les alcénylpyrrolidines **145** peuvent être utilisées pour construire le noyau de la pyrrolizidine **147** [1]. Tout récemment, Paulmier [131] a rapporté le premier exemple sur la formation d'un cycle azétidine à partir de la cyclisation induite par PhSeBr ou PhSeCl de benzylamines homoallyliques **148** (**Schéma I-23**).

L'intermédiaire de séléniranium **149** peut donner lieu à une cyclisation de type *4-exo-trigonal* ou *5-endo-trigonal* pour obtenir l'azétidine **150** ou la pyrrolidine **151**, ou à une cyclisation *5-endo-trigonale* pour obtenir l'azétidine **150** ou la pyrrolidine **151**, respectivement. Selon les règles de Baldwin [110], la cyclisation *4-exo-trigonal* est favorisée par rapport à la cyclisation de type *5-endo-trigonal*, mais l'évidence expérimentale pour la formation des hétérocycles à quatre côtés est très rare. La première évidence expérimentale est basée sur la formation du produit **150**. Une étude détaillée menée sur plusieurs benzylamines homoallyliques substituées et dans différentes conditions expérimentales, il a été constaté que **150** et **151** se forment via deux réactions compétitives et que l'azétidine est favorisée par l'encombrement stérique autour

du carbone homoallylique. En effet, lorsque deux substituants sont présents sur l'atome de carbone homoallylique et que la réaction est effectuée dans l'acétonitrile avec le PhSeBr, l'azétidine **150** sera le seul produit de cette réaction.

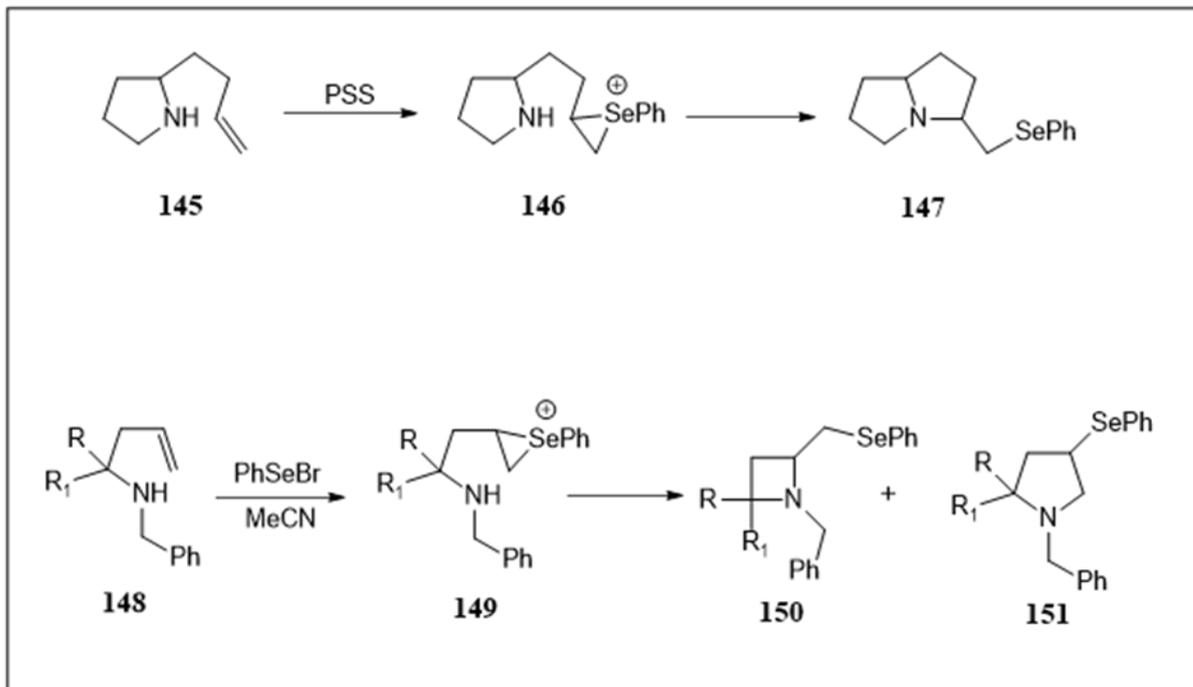


Schéma I-23: Réactions de cyclisation d'alcénylamine secondaires.

La cyclisation des *O*-allylhydroxylamine **152** (**Schéma I-24**), permet d'obtenir des *N*-alkyloxazolines avec de bons rendements après traitement avec le sulfate de phénylsélénène **16** [132]. La présence d'un groupement méthyle en position allylique n'a pas d'effet substantiel sur l'évolution stéréochimique de cette réaction de cyclisation de type *5-endo-trigonal*, les deux diastéréoisomères **153** et **154** étant formés en quantités égales.

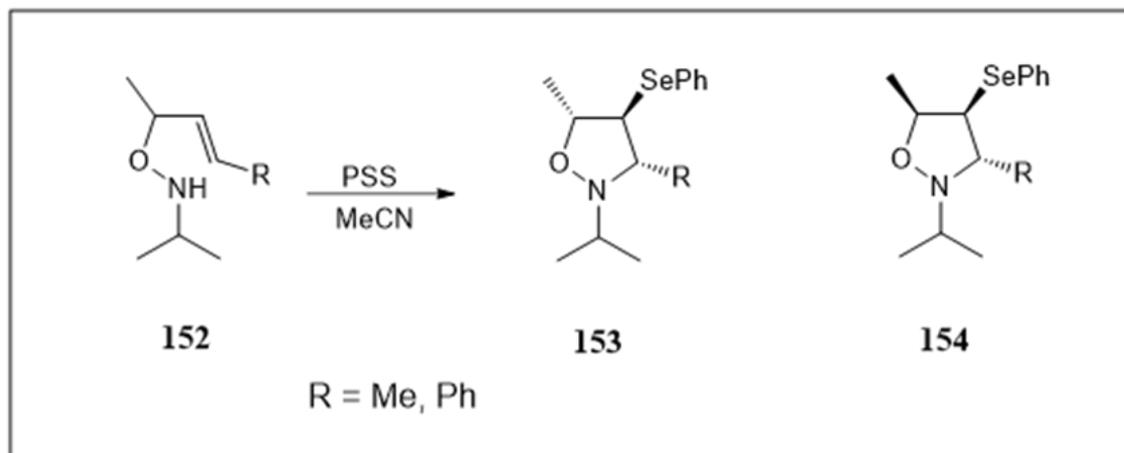


Figure I-24: Réactions de cyclisation des *O*-allylhydroxylamines.

L'atome d'azote de la fonction imino est suffisamment nucléophile, si bien qu'il peut attaquer l'atome du carbone de l'intermédiaire de séléniranium. Toshimitsu et Uemura ont rapporté un exemple intéressant sur des réactions de la conversion des imidates impliqués dans γ -lactames [133] [134] (**Schéma I-24**). La cyclisation de **155** se produit par la formation d'une liaison carbone-azote avec la libération du sel d'iminium **156**. L'utilisation de PhSeBr comme agent de sélénylation est à l'origine du succès de cette réaction. De cette manière, en effet, le groupe alkyle du sel d'iminium peut être substitué par le brome dont le groupe partant de cette substitution est γ -lactame **157**. De Kimpe a décrit quelques réactions de cyclisation d'alcénylaldimines en utilisant le PhSeBr, ce dernier même est indiqué dans les réactions de cyclisation de types *5-exo-trigonal* et *5-endo-trigonal* des produits **158** et **161** (**Schéma I-25**) [135]. Les sels d'iminium **159** et **162** préalablement formés sont convertis en pyrrolidines correspondantes **160** et **163** par réduction avec du borohydrure de sodium. Le composé **163** a été obtenu sous la forme d'un mélange équimoléculaire de deux diastéréoisomères.

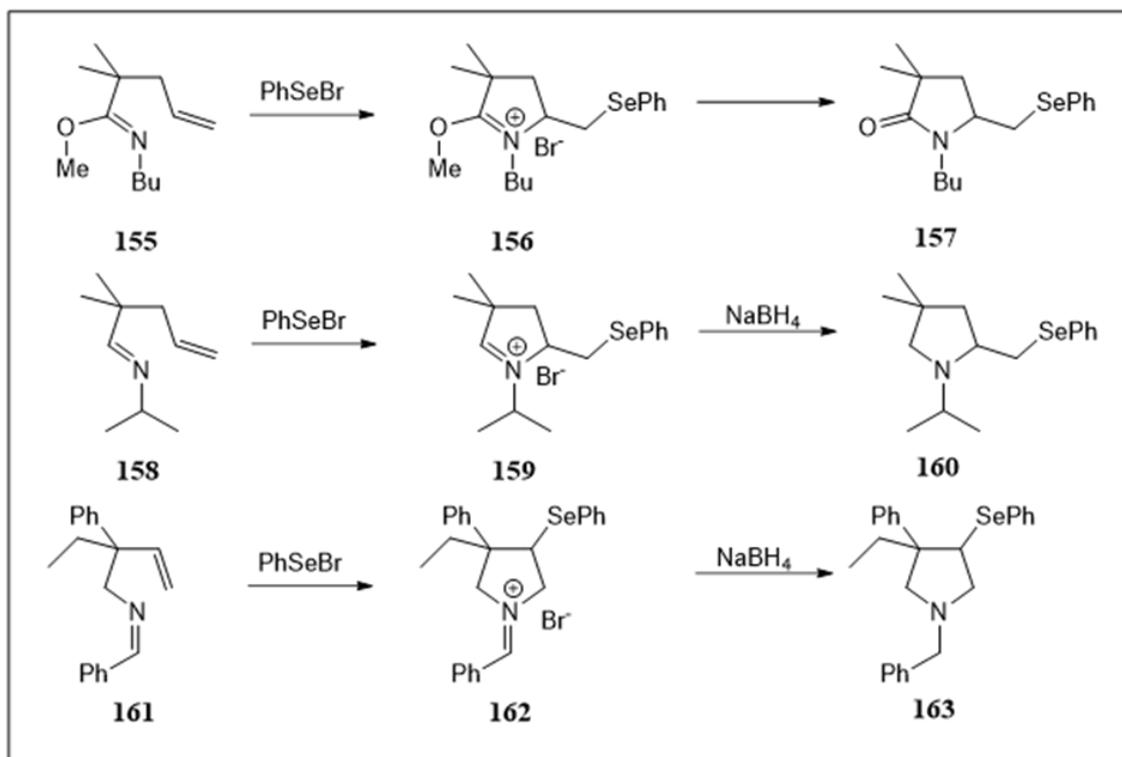


Schéma I-25: Réactions de cyclisation d'imidates et d'alcénylimines.

La même méthode a été exploitée par Tiecco pour réaliser les cyclisations des *O*-allyloximes **164** présentés dans le schéma I-26. Le traitement du sel d'iminium intermédiaire **165** avec du borohydrure de sodium permet d'obtenir des *N*-alkylisoxazolidines **166** [136]. Il est également possible de traiter **165** avec de l'eau pour obtenir des isoxazolidines **167** *N*-non substituées [137]. Cette synthèse des *N*-alkylisoxazolidines représente une alternative valable à celle décrite dans le schéma I-26. De plus, la présente réaction de cyclisation est beaucoup plus stéréosélective que la cyclisation des *O*-allylhydroxylamines. En effet, lors d'utilisation du dérivé méthylique **168**, les deux isoxazolidines isomères **153** et **154** ont été obtenues avec un rapport de 95:5. Les deux mêmes produits ont été formés avec un rapport de 1:1 lorsque la réaction a été effectuée à partir des *O*-allylhydroxylamines correspondantes. Il est clair que les conditions stériques nécessaires pour la cyclisation des *O*-allyloximes, induite par le sélénium sont beaucoup plus importantes que celles des *O*-allylhydroxylamines correspondantes.

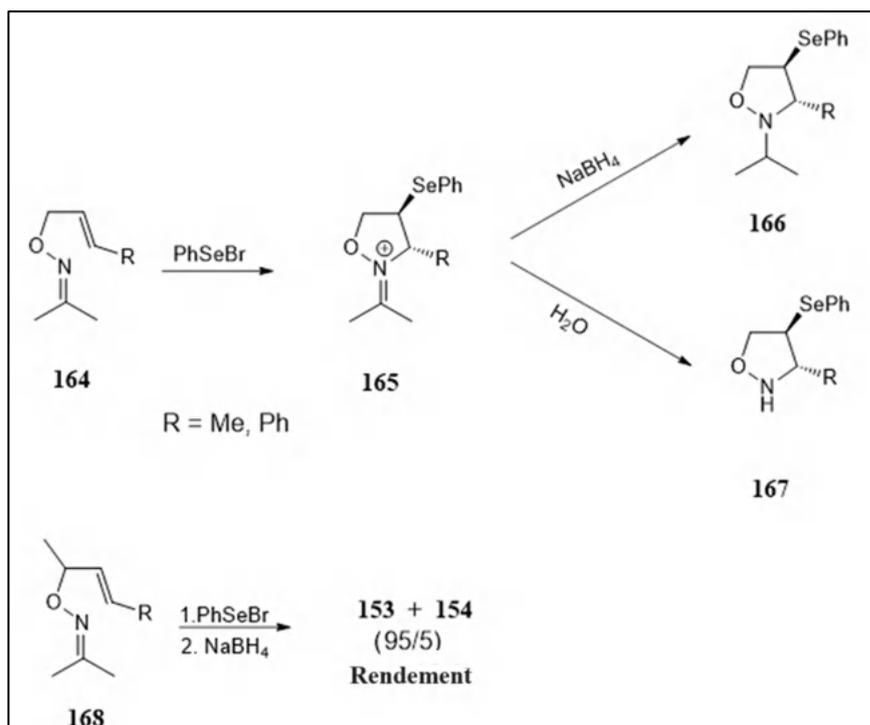


Schéma I-26: Réactions de cyclisation des *O*-allyloximes.

I.3 Références bibliographiques

- [1] T. Wirth, "Organoselenium chemistry: Modern developments in organic synthesis," *Springer Verlag*: Berlin, Heidelberg, New York, Vol. 208, 2000.
- [2] G. Mugesch and H. B. Singh, "Heteroatom-directed aromatic lithiation: a versatile route to the synthesis of organochalcogen (Se, Te) compounds," *Acc. Chem. Res.*, vol. 35, no. 4, pp. 226-236, 2002.
- [3] Wöhler, and Liebig, "Ueber das Thialdin und Selenaldin, zwei künstlich darstellbare organische Basen," *Annalen der Chemie und Pharmacie*, vol. 61, no. 1. pp. 1-13, 1847.
- [4] C. Siemens, "Ueber das Selenmercaptan," *Annalen der Chemie und Pharmacie*, vol. 61, no. 3. pp. 360-362, 1847.
- [5] K. B. Sharpless and R. F. Lauer, "Mild procedure for the conversion of epoxides to allylic alcohols. First organoselenium reagent," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 95, no. 8. pp. 2697-2699, 1973.
- [6] R. G. Pearson, H. R. Sobel, and J. Songstad, "Nucleophilic reactivity constants toward methyl iodide and trans-dichlorodi(pyridine)platinum(II)," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 90, no. 2. pp. 319-326, 1968.
- [7] M. Miyashita, T. Suzuki, M. Hoshino, and A. Yoshikoshi, "The organoselenium-mediated reduction of α,β -epoxy ketones, α,β -epoxy esters, and their congeners to β -hydroxy carbonyl compounds: Novel methodologies for the synthesis of aldols and their analogues," *Tetrahedron*, vol. 53, no. 37. pp. 12469-12486, 1997.
- [8] H. J. Reich, J. M. Renga, and I. L. Reich, "Organoselenium chemistry. Conversion of ketones to enones by selenoxide syn elimination," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 97, no. 19. pp. 5434-5447, 1975.
- [9] A. Krief, M. Trabelsi, and W. Dumont, "Syntheses of Alkali Selenolates from Diorganic Diselenides and Alkali Metal Hydrides: Scope and Limitations," *Synthesis*, vol. 1992, no. 10. pp. 933-935, 1992.
- [10] A. Krief, C. Delmotte, and W. Dumont, "Chemoselective Reduction of Organoselenocyanates to Diselenides," *Tetrahedron Letters*, vol. 38, no. 17. pp. 3079-3080, 1997.
- [11] H. J. Reich, M. L. Cohen, and P. S. Clark, "Reagents for Synthesis of Organoselenium Compounds: Diphenyl Diselenide and Benzeneselenenyl Chloride," *Organic Syntheses*, pp. 141-141, 2003.
- [12] K. B. Sharpless, M. W. Young, and R. F. Lauer, "Reactions of selenoxides: Thermal *syn*-elimination and $H_2^{18}O$ exchange," *Tetrahedron Letters*, vol. 14, no. 22, pp. 1979-1982, 1973.
- [13] K. B. Sharpless and R. F. Lauer, "Selenium dioxide oxidation of olefins. Evidence for the intermediacy of allylseleninic acids," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 94, no. 20. pp. 7154-7155, 1972.
- [14] H. J. Reich, "Organoselenium chemistry. Synthetic transformations based on allyl selenide anions," *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 40, no. 17. pp. 2570-2572, 1975.
- [15] M. Sevrin, D. Van Ende, and A. Krief, "Reduction or alkylative reduction of the carbonyl group," *Tetrahedron Letters*, vol. 17, no. 30. pp. 2643-2646, 1976.
- [16] M. Sevrin, W. Dumont, L. Hevesi, and A. Krief, "Transformation of selenides to alkylhalides new routes for homologization of primary alkylhalides," *Tetrahedron Letters*, vol. 17, no. 30. pp. 2647-2650, 1976.
- [17] D. Seebach and A. K. Beck, "Secondary and tertiary phenylthio- and phenylselenoalkyllithium compounds as novel reagents for the formation of C-C bonds," *Angewandte Chemie International Edition in English*, vol. 13, no. 12. pp. 806-807, 1974.

- [18] H. J. Reich and S. K. Shah, "Organoselenium chemistry α -lithioselenoxides and selenides. Preparation and further transformation to olefins, dienes, and allylic alcohols," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 97, no. 11. pp. 3250-3252, 1975.
- [19] C. C. Silveira, A. L. Braga, A. S. Vieira, and G. Zeni, "Stereoselective synthesis of enynes by nickel-catalyzed cross-coupling of divinyllic chalcogenides with alkynes," *J. Org. Chem.*, vol. 68, no. 2, pp. 662-665, 2003.
- [20] J. J. Berzelius ,” *Electronic Enlightenment Biographical Dictionary*. Bodleian Libraries, University of Oxford, Oxford, UK, 2022.
- [21] F. Krafft and R. E. Lyons, "Ueber Diphenylselenid und einige Derivate desselben," *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, vol. 27, no. 2. pp. 1761-1768, 1894.
- [22] C. Paulmier, "Selenium reagents & intermediates in organic synthesis," *Elsevier*, 2013.
- [23] C. D. Thomson, "Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review," *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 58, no. 3. pp. 391-402, 2004.
- [24] S. B. Goldhaber, "Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity," *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 38, no. 2, pp. 232-242, 2003.
- [25] Y. Mechehoud , "Synthèse de nouveaux composés diarylséléniés," thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine, 2011.
- [26] M. Callejas, "Le sélénium et la reproduction chez la vache, diagnostic et préventions des carences," 2009.
- [27] H. J. Reich, "Functional group manipulation using organoselenium reagents," *Acc. Chem. Res.*, vol. 12, no. 1, pp. 22-30, 1979.
- [28] C. Paulmier, "Selenium reagents and intermediates in organic synthesis," *Angewandte Chemie*, vol. 100, no. 2. pp. 311-311, 1988.
- [29] C. Paulmier, "Selenium reagents and intermediates in organic synthesis", *Pergamon Press*, Oxford, 1986.
- [30] K. C. Nicolaou and N. A. Petasis, and K. B. Sharpless, "Selenium in natural products synthesis," *CIS. Inc.*, Philadelphia, 1984.
- [31] Y. Mechehoud, F. Benayache, S. Benayache and P. Mausset, "One pot synthetic method of new keto diphenyl selenide compounds," *E-Journal of Chemistry* , Vol.7(S1),pp. 143-150, 2010.
- [32] H. Sies, "Metabolism and disposition of Ebselen, selenium in biology and medicine," *Springer Berlin Heidelberg*, pp. 153-162, 1989.
- [33] G. Grebe, G. Roussos, and H. J. Schulz, "Infrared luminescence of ZnSe : Cr crystals," *J. Lumin.*, vol. 12-13, pp. 701-705, 1976.
- [34] B. J. Byun and Y. K. Kang, "Conformational preferences and pK(a) value of selenocysteine residue," *Biopolymers*, vol. 95, no. 5, pp. 345-353, 2011.
- [35] F. Ursini and A. Bindoli, "The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes," *Chem. Phys. Lipids*, vol. 44, no. 2-4, pp. 255-276, 1987.
- [36] M. J. Parnham and E. Graf, "Pharmacology of synthetic organic selenium compounds," *Prog. Drug Res.*, vol. 36, pp. 9-47, 1991.
- [37] G. F. Combs Jr and L. C. Clark, "Can dietary selenium modify cancer risk," *Nutr. Rev.*, vol. 43, no. 11, pp. 325-331, 1985.
- [38] J. Drabowicz, "Organoselenium chemistry: modern developments in organic synthesis," *Springer Science & Business Media*, 2000.

- [39] P. Patnaik, "Handbook of inorganic chemicals," *McGraw-Hill*, New York, 2003.
- [40] M. O. Faddis, L. Goodman, and A. Gilman, "The pharmacological basis of therapeutics," *Am. J. Nurs.*, vol. 41, no. 9, p. 1118, 1941.
- [41] C.M. Andersson, A. Hallberg, and T. Högberg, "Advances in the development of pharmaceutical antioxidants," *Advances in Drug Research*, B. Testa and U. A. Meyer, Eds., Academic Press, pp. 65-180, 1996.
- [42] D. Shanks, "Design, synthesis and evaluation of catalytic chalcogenide antioxidants," *Acta Universitatis Upsaliensis*, 2005.
- [43] J. H. Doroshov, "Prevention of doxorubicin-induced killing of MCF-7 human breast cancer cells by oxygen radical scavengers and iron chelating agents," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 135, no. 1, pp. 330-335, 1986.
- [44] X. Gruffat, "Ektosélène®," Jan. 07, 2021. <https://www.creapharma.ch/medicaments-suisse/ektos%C3%A9l%C3%A8ne> (accessed Jul. 26, 2023).
- [45] A. M. Casaril, M. Domingues, M. Fronza, B. Vieira, K. Begnini, E.J. Lenardão, F.K. Seixas, T. Collares, C.W. Nogueira, and L. Savegnago "Antidepressant-like effect of a new selenium-containing compound is accompanied by a reduction of neuroinflammation and oxidative stress in lipopolysaccharide-challenged mice," *Journal of Psychopharmacology*, vol. 31, no. 9, pp. 1263-1273, 2017.
- [46] Z. Zhu, and W. Jiang, "Selenium in prevention of cancer: evidence and mechanism," *Biomed. Res. Trace Ele.*, vol. 19, no. 4, pp. 282-289, 2008.
- [47] I. Duvoid, and M. A. Picot, "Le sélénium, un élément essentiel parfois redoutable ou le rapport bénéfice/risque du sélénium," ENSIB/Université Claude Bernard, Lyon I, 1999.
- [48] E. P. Painter, "The Chemistry and toxicity of selenium compounds, with special reference to the selenium problem," *Chem. Rev.*, vol. 28, no. 2, pp. 179-213, 1941.
- [49] P. M. Radhakrishna, K. C. Sharadamma, H. M. Vagdevi, P. M. Abhilekha, S. R. Mubeen, and K. Nischal, "Synthesis and antibacterial activity of novel organoselenium compounds." *International journal of chemistry*, vol.2, no.2, p.149,2010.
- [50] A. Läuchli, "Selenium in plants: Uptake, functions, and environmental toxicity," *Bot. Acta*, vol. 106, no. 6, pp. 455-468, 1993.
- [51] I. Schröder, S. Rech, T. Krafft, and J. M. Macy, "Purification and characterization of the selenate reductase from *Thauera selenatis*," *J. Biol. Chem.*, vol. 272, no. 38, pp. 23765-23768, 1997.
- [52] M. Björnstedt, S. Kumar, and A. Holmgren, "Selenodiglutathione is a highly efficient oxidant of reduced thioredoxin and a substrate for mammalian thioredoxin reductase," *J. Biol. Chem.*, vol. 267, no. 12, pp. 8030-8034, 1992.
- [53] S. Kumar, M. Björnstedt, and A. Holmgren, "Selenite is a substrate for calf thymus thioredoxin reductase and thioredoxin and elicits a large non-stoichiometric oxidation of NADPH in the presence of oxygen," *Eur. J. Biochem.*, vol. 207, no. 2, pp. 435-439, 1992.
- [54] P. K. Dudeja, E. S. Foster, and T. A. Brasitus, "Synthesis of phosphatidylcholine by two distinct methyltransferases in rat colonic brush-border membranes: evidence for extrinsic and intrinsic membrane activities," *Biochim. Biophys. Acta.*, vol. 875, no. 3, pp. 493-500, 1986.
- [55] T. Wirth, "Chiral selenium compounds: versatile reagents in organic synthesis," *Liebigs Ann.: Org. Bioorg. Chem.*, vol. 1997, no. 11, pp. 2189-2196, 1997.
- [56] K. C. Nicolaou, N. A. Petasis, and D. A. Claremon, "N-phenylselenophthalimide (NPSP): A valuable selenenylating agent," *Tetrahedron*, vol. 41, no. 21, pp. 4835-4841, 1985.
- [57] W. P. Jackson, S. V. Ley, and A. J. Whittle, "Selenium-mediated cyclization reactions of alkenyl-substituted β -ketoesters," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 23, pp. 1173-1174, 1980.

- [58] T. G. Back and K. R. Muralidharan, "Formation and electrophilic reactions of benzeneselenenyl *p*-toluenesulfonate. Preparation and properties of addition products with acetylenes," *J. Org. Chem.*, vol. 56, no. 8, pp. 2781-2787, 1991.
- [59] S. Murata and T. Suzuki, "Stereoselective formation of tetrahydrofuran and -pyran by benzeneselenenyl triflate," *Tetrahedron Lett.*, vol. 28, no. 38, pp. 4415-4416, 1987.
- [60] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, L. Bagnoli, and F. Marini, "Ring-closure reactions of alkenyl oximes induced by persulfate anion oxidation of diphenyl diselenide. Formation of 1,2-oxazines and cyclic nitrones," *J. Chem. Soc. Perkin 1*, no. 17, pp. 1989-1993, 1993.
- [61] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, D. Chianelli, and D. Bartoli, "Selenium catalyzed conversion of vinyl halides into α -alkoxy acetals," *Tetrahedron*, vol. 44, no. 8, pp. 2273-2282, 1988.
- [62] C. Bosman, A. D'Annibale, S. Resta, and C. Trogolo, "Oxidation of diphenyl diselenide with ceric ammonium nitrate: a Novel route for functionalization of olefins," *Tetrahedron Letters*, vol. 35, no. 35, pp. 6525-6528, 1994.
- [63] D. H. Lee and Y. H. Kim, "Regioselective Phenylselenenylation at the 5-Position of Pyrimidine Nucleosides Mediated by Manganese (III) Acetate," *Synlett.*, vol. 1995, no. 04, pp. 349-350, 1995.
- [64] L. B. Han and M. Tanaka, "Unexpected formation of β -(phenylseleno)alkyl nitrates by the reaction of alkenes with the diselenide-nitrogen dioxide couple," *Chem. Commun.*, no. 4, pp. 475-476, 1996.
- [65] M. Yoshida, S. Sasage, K. Kawamura, T. Suzuki, and N. Kamigata, "Oxidative cleavage of diselenide by *m*-nitrobenzenesulfonyl peroxide. Novel method for the electrophilic benzeneselenenylations of olefins and aromatic rings," *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, vol. 64, no. 2, pp. 416-422, 1991.
- [66] M. Tingoli, M. Tiecco, L. Testaferri, and A. Temperini, "Iodosobenzene diacetate and diphenyl diselenide: An electrophilic selenenylating agent of double bonds," *Synth. Commun.*, vol. 28, no. 10, pp. 1769-1778, 1998.
- [67] T. Wirth, "Organoselenium chemistry: modern developments in organic synthesis," *Springer*, 2003.
- [68] G. Pandey, and B. B. V. Soma Sekhar, "Enyne cyclisation by photoinduced electron transfer (PET) promoted in situ generated electrophilic selenium species: A new carbocyclisation strategy," *Tetrahedron*, vol. 51, no. 5, pp. 1483-1494, 1995.
- [69] B. H. Lipshutz, and T. Gross, "(2,4,6-Triisopropylphenyl) selenium Bromide (TIPPSe-Br). An *in situ*-generated reagent for effecting highly selective ring closures of homoallylic alcohols to substituted tetrahydrofurans," *J. Org. Chem.*, vol. 60, no. 12, pp. 3572-3573, 1995.
- [70] M. Iwaoka, and S. Tomoda, "Structural Characterization of Areneselenenyl Chloride Stabilized by the Stereoelectronic Effect of an Intramolecular Nitrogen Atom," *J. Org. Chem.*, vol. 60, no. 16, pp. 5299-5302, 1995.
- [71] R. Kaur, H. B. Singh, and R. P. Patel, "Synthesis, characterisation and reactions of bis [2-(dimethylaminomethyl)-phenyl] diselenide: its structure and that of [2-(dimethylaminomethyl) phenyl]-selenium bromide," *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, no. 13, pp. 2719-2726, 1996.
- [72] K. C. Nicolaou, J. Pastor, S. Barluenga, and N. Winssinger, "Polymer-supported selenium reagents for organic synthesis," *Chem. Commun.*, no. 18, pp. 1947-1948, 1998.
- [73] S. Tomoda, K. I. Fujita, and M. Iwaoka, "Asymmetric *trans*-addition reactions using chiral selenobinaphthyls," *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, vol. 67, no. 1-4, pp. 247-252, 1992.

- [74] R. Déziel, E. Malenfant, C. Thibault, S. Fréchette, and M. Gravel, "2,6-Bis[(2*S*)-tetrahydrofuran-2-yl]phenyl diselenide: An effective reagent for asymmetric electrophilic addition reactions to olefins," *Tetrahedron Lett.*, vol. 38, no. 27, pp. 4753-4756, 1997.
- [75] S.I. Fukuzawa, K. Takahashi, H. Kato, and H. Yamazaki, "Asymmetric methoxyselenenylation of alkenes with chiral ferrocenylselenium reagents," *J. Org. Chem.*, vol. 62, no. 22, pp. 7711-7716, 1997.
- [76] H. Komatsu, M. Iwaoka, and S. Tomoda, "Intramolecular non-bonded interaction between selenium and oxygen as revealed by ^{17}O and ^{77}Se NMR spectroscopy and natural bond orbital analysis," *Chem. Commun.*, no. 2, pp. 205-206, 1999.
- [77] T. G. Back, B. P. Dyck, and S. Nan, "Asymmetric electrophilic methoxyselenenylations and cyclizations with 3-camphorseleno derivatives," *Tetrahedron*, vol. 55, no. 11, pp. 3191-3208, 1999.
- [78] T. Wirth and G. Fragale, "Asymmetric addition reactions with optimized selenium electrophiles," *Chemistry*, vol. 3, no. 11, pp. 1894-1902, 1997.
- [79] G. Fragale, T. Wirth, and M. Neuburger, "New and efficient selenium reagents for stereoselective selenenylation reactions," *Chem. Commun.*, no. 17, pp. 1867-1868, 1998.
- [80] C. Santi, G. Fragale, and T. Wirth, "Synthesis of a new chiral nitrogen containing diselenide as a precursor for selenium electrophiles," *Tetrahedron Asymmetry*, vol. 9, no. 20, pp. 3625-3628, 1998.
- [81] A. Krief, W. Dumont, and J.-N. Denis, "Novel functional group transformations involving alkyl phenyl selenones," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 9, pp. 571-572, 1985.
- [82] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, D. Chianelli, and D. Bartoli, "Methoxychlorination and dimethoxylation of alkenes the reactions of substituted styrenes with phenylselenenyl chloride in methanol," *Tetrahedron*, vol. 44, no. 8, pp. 2261-2272, 1988.
- [83] S. Patai, "The chemistry of organic selenium and tellurium compounds: chemistry of functional groups," Chichester, England: *John Wiley & Sons*, vol. 1, 1986.
- [84] L. Engman, "Acetoxyselenenylation of olefins for the preparation of vinylic and allylic acetates," *J. Org. Chem.*, vol. 54, no. 4, pp. 884-890, 1989.
- [85] K. S. Kim, J. Park, and P. Ding, "Synthesis of enantiopure cyclopentitols and aminocyclopentitols mediated by oxyselenenylation of cyclopentene with (*R,R*)-hydrobenzoin," *Tetrahedron Lett.*, vol. 39, no. 36, pp. 6471-6474, 1998.
- [86] W. R. Roush, D. P. Sebesta, and C. E. Bennett, "Stereoselective synthesis of 2-deoxy- β -glycosides from glycal precursors. 1. Stereochemistry of the reactions of *D*-glucal derivatives with phenylsulfenyl chloride and phenylselenenyl chloride," *Tetrahedron*, vol. 53, no. 26, pp. 8825-8836, 1997.
- [87] T. Wirth, G. Fragale, and M. Spichy, "Mechanistic course of the asymmetric methoxyselenenylation reaction," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 120, no. 14, pp. 3376-3381, 1998.
- [88] S. Tomoda and M. Iwaoka, "Asymmetric trans-addition reactions of a chiral selenobinaphthyl with prochiral olefins. The case of methoxyselenenylation," *Chem. Lett.*, vol. 17, no. 11, pp. 1895-1898, 1988.
- [89] S.I. Fukuzawa, Y. Kasugahara, and S. Uemura, "A highly selective asymmetric methoxyselenenylation of alkenes with a chiral ferrocenylselenium reagent," *Tetrahedron Letters*, vol. 35, no. 50, pp. 9403-9406, 1994.
- [90] S. Tomoda and M. Iwaoka, "Asymmetric *trans*-addition reactions of a chiral selenobinaphthyl with prochiral olefins. The case of methoxyselenenylation," *Chemistry Letters*, vol. 17, no. 11, pp. 1895-1898, 1988.

- [91] R. Deziel, S. Goulet, L. Grenier, J. Bordeleau, and J. Bernier, "Asymmetric selenomethoxylation of olefins involving a chiral C₂ symmetrical electrophilic organoselenium reagent," *J. Org. Chem.*, vol. 58, no. 14, pp. 3619-3621, 1993.
- [92] K.I. Fujita, K. Murata, M. Iwaoka, and S. Tomoda, "Design of optically active selenium reagents having a chiral tertiary amino group and their application to asymmetric inter- and intramolecular oxyselenenylations," *Tetrahedron*, vol. 53, no. 6, pp. 2029-2048, 1997.
- [93] M. Tiecco, L. Testaferri, C. Santi, F. Marini, L. Bagnoli, and A. Temperini, "Asymmetric selenomethoxylation of alkenes with camphorselenenyl sulfate," *Tetrahedron Letters*, vol. 39, no. 18, pp. 2809-2812, 1998.
- [94] T. G. Back and S. Nan, "Asymmetric methoxyselenenylations with camphor-based selenium electrophiles," *J. Chem. Soc. Perkin 1*, no. 19, pp. 3123-3124, 1998.
- [95] M. Tiecco, L. Testaferri, C. Santi, F. Marini, L. Bagnoli, A. Temperini and C. Tomassini, "Asymmetric ., "Asymmetric selenohydroxylation of alkenes with camphorselenenyl sulfate," *European J. Org. Chem.*, vol. 1998, no. 11, pp. 2275-2277, 1998.
- [96] A. Toshimitsu, T. Aoi, S. Uemura, and M. Okano, "Simple procedure for the aminoselenation of olefins," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 22, pp. 1041-1042, 1980.
- [97] A. Toshimitsu, T. Aoi, H. Owada, S. Uemura, and M. Okano, "Amidoselenation of olefins and its utilization for synthesis of allylic amides," *J. Org. Chem.*, vol. 46, no. 23, pp. 4727-4733, 1981.
- [98] A. Toshimitsu, G. Hayashi, K. Terao, and S. Uemura, "Amidoselenation of olefins via hydroxyselenation: reactions using nitriles in reagent quantity and the synthesis of β -(acrylamido) alkyl phenyl selenides," *J. Chem. Soc. Perkin 1*, pp. 343-347, 1986.
- [99] A. Toshimitsu, G. Hayashi, K. Terao, and S. Uemura, "The pyridylseleno group in organic synthesis. Part 5. Amidoselenation of alkenes," *J. Chem. Soc. Perkin 1*, no. 8, pp. 2113-2117, 1988.
- [100] C. G. Francisco, R. Hernández, E. I. León, J. A. Salazar, and E. Suárez, "Aminoselenenylations of alkenes: syntheses of β -phenylseleno carbamates and β -phenylseleno cyanamides," *J. Chem. Soc. Perkin 1*, no. 9, pp. 2417-2427, 1990.
- [101] A. Toshimitsu, T. Kusumoto, T. Oida, and S. Tanimoto, "Amidoselenation of olefins using *p*-toluenesulfonamide as a nitrogen nucleophile," *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, vol. 64, no. 7, pp. 2148-2152, 1991.
- [102] F. D'Onofrio, L. Parlanti, and G. Piancatelli, "The binary reagent PhSeCl-ZnCl₂: a powerful chlorophenylselenenylating agent of electrophilic olefins," *Tetrahedron Letters*, vol. 36, no. 11, pp. 1929-1932, 1995.
- [103] G. C. Torchiarolo, F. D'Onofrio, R. Margarita, L. Parlanti, G. Piancatelli, and M. Bella, "Direct amino-phenylselenylation of enoates: An easy route to α -phenylseleno- β -amino esters and β -lactams," *Tetrahedron*, vol. 54, no. 51, pp. 15657-15666, 1998.
- [104] J. N. Denis, J. Vicens, and A. Krief, "New synthetic routes to β -hydroxyselenides and β -azidoselenides," *Tetrahedron Letters*, vol. 20, no. 29, pp. 2697-2700, 1979.
- [105] A. Hassner, and A. S. Amarasekara, "Phenylselenium azide addition to alkenes. A new and stereospecific introduction of Se and N into organic molecules," *Tetrahedron Letters*, vol. 28, no. 43, pp. 5185-5188, 1987.
- [106] R. M. Giuliano, and F. Duarte, "Addition of nitrogen functionality to exocyclic alkenes: a new procedure for azidoselenenylations," *Synlett.*, vol. 1992, no. 5, pp. 419-421, 1992.
- [107] M. Tiecco, L. Testaferri, A. Temperini, L. Bagnoli, F. Marini, and C. Santi, "Electrophilic azido selenenylations of alkenes. A simple synthetic route to racemic taxol side chain," *Synth. Commun.*, vol. 28, no. 12, pp. 2167-2179, 1998.

- [108] M. Tingoli, M. Tiecco, D. Chianelli, R. Balducci, and A. Temperini, "Novel azido-phenylselenenylation of double bonds. Evidence for a free-radical process," *J. Org. Chem.*, vol. 56, no. 24, pp. 6809-6813, 1991.
- [109] D. L. J. Clive, G. Chittattu, N. J. Curtis, W. A. Kiel, and C. K. Wong, "Cyclofunctionalisation of *ortho*-alkenyl phenols: a new method for introducing the benzeneseleno-group," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 20, pp. 725-727, 1977.
- [110] J. E. Baldwin, "5-*Exo*-trig designation for the five-membered ring closure of 9a, b," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, vol. 734, pp. 736-738, 1976.
- [111] K. C. Nicolaou, R. L. Magolda, W. J. Sipio, W. E. Barnette, Z. Lysenko, and M. M. Joullie, "Phenylselenoetherification. A highly efficient cyclization process for the synthesis of oxygen- and sulfur-heterocycles," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 102, no. 11, pp. 3784-3793, 1980.
- [112] S. Current, and K. B. Sharpless, "Carbonyl participation in the addition of *p*-chlorophenylselenenyl bromide to (*E*)-4-hexenal: A new route to 2,6-dideoxylglycosides," *Tetrahedron Letters*, vol. 19, no. 51, pp. 5075-5078, 1978.
- [113] W. P. Jackson, S. V. Ley, and J. A. Morton, "New cyclization procedure for alkenyl-substituted β -dicarbonyl compounds using *N*-phenylselenophthalimide," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 21, pp. 1028-1029, 1980.
- [114] K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, W. J. Sipio, and J. F. Blount, "Phenylseleno- and phenylsulfenolactonizations. Two highly efficient and synthetically useful cyclization procedures," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 101, no. 14, pp. 3884-3893, 1979.
- [115] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, D. Bartoli, and R. Balducci, "Ring-closure reactions initiated by the peroxydisulfate ion oxidation of diphenyl diselenide," *J. Org. Chem.*, vol. 55, no. 2, pp. 429-434, 1990.
- [116] G. Mehta, H. S.P.Rao, and K. R.Reddy, "A short, general, organoselenium-mediated synthesis of cyclic acetals," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 2, pp. 78-80, 1987.
- [117] A. Toshimitsu, T. Aoai, H. Owada, S. Uemura, and M. Okano, "Phenylselenenyl chloride in acetonitrile-water: A highly convenient reagent for hydroxyselenation of olefins and preparation of cyclic ethers from dienes," *Tetrahedron*, vol. 41, no. 22, pp. 5301-5306, 1985.
- [118] G. Pandey, and B. B. V. S. Sekhar, "*In situ* generation and utilization of electrophilic selenium species (PhSe⁺) by photooxidative (single electron transfer) cleavage of diphenyl diselenide (PhSeSePh)," *J. Org. Chem.*, vol. 57, no. 14, pp. 4019-4023, 1992.
- [119] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, and D. Bartoli, "Phenylseleno-lactonization of olefinic nitriles promoted byperoxydisulphate ion oxidation of diphenyl diselenide," *Tetrahedron*, vol. 45, no. 21, pp. 6819-6832, 1989.
- [120] Y. Landais, and D. Planchenault, "Electronic versus steric effects in 5-*endo*-trig-like electrophilic cyclizations," *Synlett*, vol. 1995, no. 11, pp. 1191-1193, 1995.
- [121] E. D. Mihelich, and G. A. Hite, "Stereochemical course of direct ring closures of complex homoallylic alcohols to substituted tetrahydrofurans," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 114, no. 18, pp. 7318-7319, 1992.
- [122] M. Tiecco, L. Testaferri, and C. Santi, "Catalytic oxyselenenylation-deselenenylation reactions of alkenes - stereoselective one-pot conversion of 3-alkenols into 2,5-dihydrofurans," *European J. Org. Chem.*, vol. 1999, no. 4, pp. 797-803, 1999.
- [123] S. D. Kahn, C. F. Pau, A. R. Chamberlin, and W. J. Hehre, "Modeling chemical reactivity. Regiochemistry and stereochemistry of electrophilic additions to allylic double bonds," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 109, no. 3, pp. 650-663, 1987.

- [124] M. Tiecco, L. Testaferri, and L. Bagnoli, "Alkenyl nitrones cyclizations induced by phenylselenenyl bromide. A convenient synthetic route to 1,2-oxazines," *Tetrahedron*, vol. 52, no. 19, pp. 6811- 6822, 1996.
- [125] Y. Nishibayashi, J. D. Singh, S. I. Fukuzawa, and S. Uemura, "Synthesis of [*R,S*; *R,S*]- and [*S,R*; *S,R*]-bis [2-[1-(dimethylamino) ethyl] ferrocenyl] diselenides and their application to asymmetric selenoxide elimination and [2,3] sigmatropic rearrangement," *J. Org. Chem.*, vol. 60, no. 13, pp. 4114-4120, 1995.
- [126] G. Fragale, and T. Wirth, "Chiral diselenides in asymmetric cyclization reactions," *European journal of organic chemistry*, Vol.1998 (7), pp. 1361-1369.
- [127] Y. Nishibayashi, S. K. Srivastava, H. Takada, S.I. Fukuzawa, and S. Uemura, "Highly selective asymmetric intramolecular selenocyclisation," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 22, pp. 2321-2322, 1995.
- [128] G. Cardillo and M. Orena, "Stereocontrolled cyclofunctionalizations of double bonds through heterocyclic intermediates," *Tetrahedron*, vol. 46, no. 10, pp. 3321-3408, 1990.
- [129] M. A. Cooper and A. D. Ward, "Selenium induced stereoselective cyclization of *N*-substituted-4-hydroxy-5-hexenylamines," *Tetrahedron Letters*, vol. 35, no. 28, pp. 5065-5068, 1994.
- [130] T. Wirth and G. Fragale, "Stereoselective isoquinoline alkaloid synthesis with new diselenides," *Synthesis*, vol. 1998, no. 02, pp. 162-166, 1998.
- [131] B. Berthe, F. Outurquin, and C. Paulmier, "Synthesis of azetidines by electrophilic selenium-induced cyclization of homoallylic benzylamines," *Tetrahedron Letters*, vol. 38, no. 8, pp. 1393-1396, 1997.
- [132] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, and C. Santi, "New synthesis of isoxazolidines from the selenium-induced cyclization of *O*-allyl hydroxylamines," *Tetrahedron Letters*, vol. 36, no. 1, pp. 163-166, 1995.
- [133] A. Toshimitsu, K. Terao, and S. Uemura, "Organoselenium-induced cyclization of olefinic imidates and amides. Selective synthesis of lactams or iminolactones," *J. Org. Chem.*, vol. 52, no. 10, pp. 2018-2026, 1987.
- [134] H. Takahata, T. Takamatsu, and T. Yamazaki, "Electrophilic olefin heterocyclization in organic synthesis. Stereoselective synthesis of 4,5-disubstituted γ -lactams by iodine-induced lactam formation of γ , δ -unsaturated thioimidates," *J. Org. Chem.*, vol. 54, no. 20, pp. 4812-4822, 1989.
- [135] D. De Smaele and N. De Kimpe, "Synthesis of functionalized pyrrolidines from *N*-(benzylidene)- and *N*(alkylidene)-homoallyl amines," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 19, pp. 2029-2030, 1995.
- [136] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, L. Bagnoli, and C. Santi, "Selenium-induced cyclization of *O*-allyl oximes as a synthetic route to *N*-alkyl isoxazolidines," *Tetrahedron*, vol. 51, no. 4, pp. 1277-1284, 1995.
- [137] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, and L. Bagnoli, "Organoselenium-induced stereoselective cyclisation of *O*-allyl oximes: a new synthetic route to isoxazolidines," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 2, pp. 235-236, 1995.

*Chapitre II: Réactions de synthèse des dérivés
d'azoxybenzène*

II.1 Les réactions de diséléniure de diphényle

Les réactifs organoséléniés sont largement utilisés dans la synthèse des composés organiques pour introduire de nouveaux groupes fonctionnels dans des conditions réactionnelles douces. De nombreux groupes de recherche ont décrit depuis longtemps la synthèse de diséléniures chiraux et non chiraux, qui peuvent être convertis *in situ* en séléniènes électrophiles ou en séléniolates nucléophiles [1] .

II.1.1 Diséléniure de diphényle en tant que réactif électrophile

Au cours de leurs réactions de séléniénylation, ces composés organoséléniés jouant un rôle des réactifs électrophiles sont utilisés pour leur réactivité stéréosélective, car cela dépend de l'addition du cation phénylséléniényle aux doubles ou triples liaisons carbone-carbone. La fonctionnalisation de ces réactifs est considérée comme l'une des méthodes permettant d'introduire l'entité séléniée dans la molécule [2] .

Des efforts considérables ont été consacrés à la production des réactifs séléniés électrophiles en utilisant un halogénure de phénylséléniényle, en particulier le chlorure de phénylséléniényle et le bromure de phénylséléniényle qui sont facilement préparés à partir du diséléniure de diphényle. En outre, un cation phénylséléniényle peut être formé en transférant un seul électron du diséléniure, qui a été déjà rendu photosensible au 1,4-dicyanonaphtalène [3] [4]. En général, l'addition d'un halogénure de phénylséléniényle à un alcène conduit à un β -halo-séléniure qui est en équilibre avec un ion séléniéranium pour donner un séléniure β -substitué lors de sa réaction avec un nucléophile externe (**Schéma II-1**) et un séléniure cyclique lors de sa réaction avec un nucléophile interne (**Schéma II-2**).

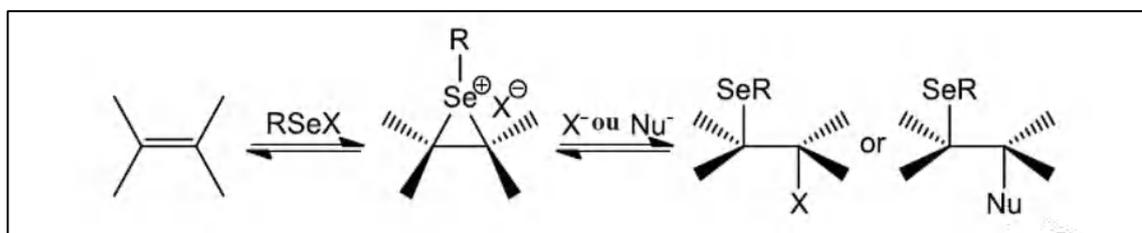


Schéma II-1: Réaction d'un halogénure de phénylséléniényle avec un nucléophile externe.

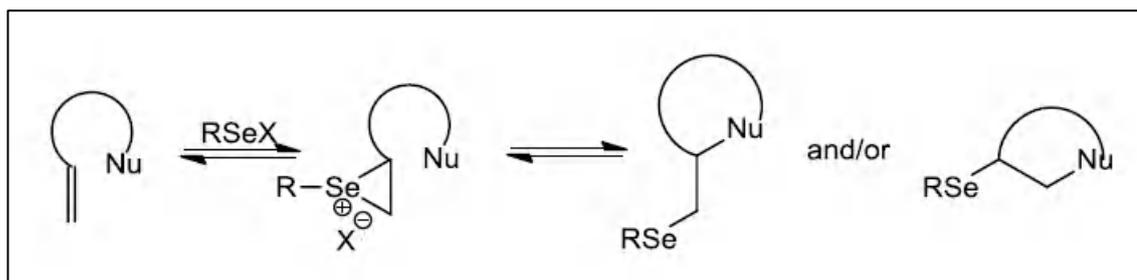


Schéma II-2: Réaction d'un halogénure de phénylsélénényle avec un nucléophile interne.

Les entités électrophiles de sélénium qui peuvent être générées à partir de précurseurs de disélénium dépendent des conditions réactionnelles. Par conséquent, certains réactifs tels que le KNO_3 [5], le $\text{Mn}(\text{OAc})_3$ [6], et le diacétoxyiodobenzène [7] ont été utilisés avec succès pour générer des électrophiles sélénés via une réaction d'oxydation en utilisant les diséléniums correspondants.

Il convient de noter que les dérivés aryles sont plus largement utilisés que les dérivés alkyles, à cause de leur grande stabilité et leur faible volatilité, et ainsi leurs odeurs sont beaucoup moins désagréables que celles des analogues alkyles.

Ces intermédiaires réagissent avec des alcènes en présence d'un nucléophile interne conduisant à leur cyclisation. Pour cette raison, l'élimination d'une entité sélénée doit souvent être réalisée par des processus d'oxydation en une étape chimique distincte, et les diséléniums utilisés comme pré-catalyseurs, réagissent avec des agents oxydants stœchiométriques pour générer l'électrophile correspondant. Les hétérocycles requis seraient obtenus après la formation de l'électrophile, en suivant la séquence de cyclisation-élimination intramoléculaire.

II.1.1.1 Les réactions de cyclisation avec des nucléophiles internes

Pour former une gamme d'isocoumarines, la cyclisation s'effectue à travers une réaction intramoléculaire de sélénénylation-désélénénylation. Par conséquent, la présence de la fonction acide jouant un rôle d'un nucléophile interne en position-*ortho* conduit à la formation d'un produit séléné (2) illustré dans le **schéma II-3**.

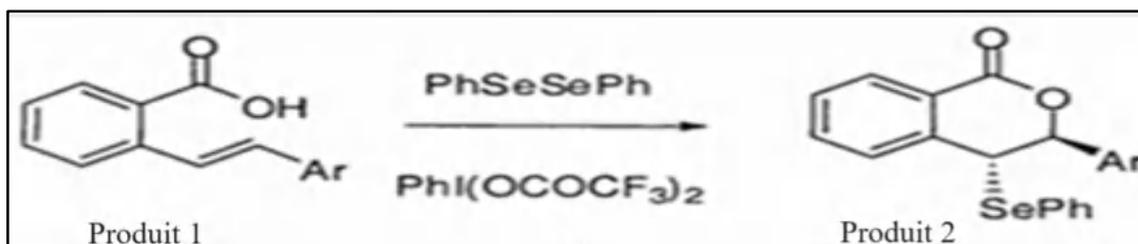


Schéma II-3: Réaction de cyclisation avec un nucléophile interne.

I.1.1.2 Élimination de l'entité séléniée

Sous l'effet oxydant, le séléniure résultant peut être converti en sélénoxyde ou subir un processus d'élimination pour donner le produit **3** en raison de la présence du proton- β dans le séléniure correspondant du produit **2** (**Schéma II-4**). La régénération du diséléniure en présence d'un agent oxydant, tel qu'un réactif à l'iode hypervalent, le peroxyde d'hydrogène et le persulfate d'ammonium, rendrait très facile la réinsertion dans le cycle catalytique (schéma II-5) (**Schéma II-5**).

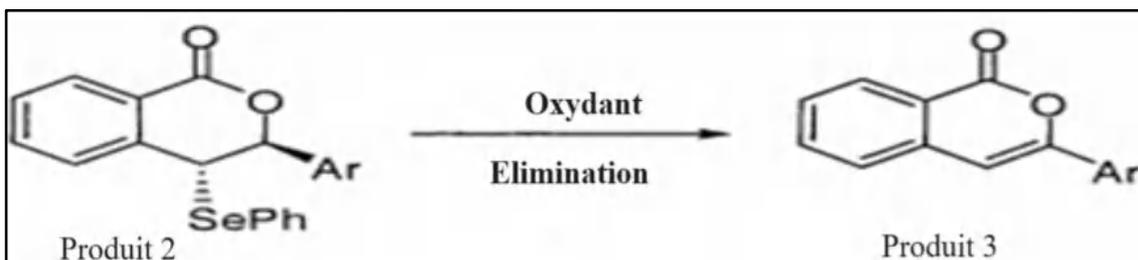


Schéma II-4: Élimination du fragment sélénié.

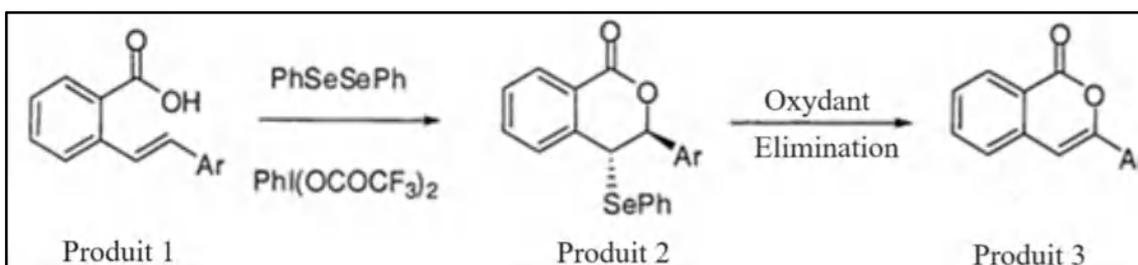


Schéma II-5: La synthèse d'isocoumarines (produit **3**) catalysée par le diséléniure de diphenyle.

Ce type de réaction a été déjà utilisé pour synthétiser des buténolides avec de bons rendements [8] [9]. Cependant, le diséléniure de diméthyle, comme le disulfure de diphenyle, a été proposé dans la synthèse sélective de dihydroisocoumarines (produit **4**) à la place d'isocoumarines via la conversion d'acides stilbènes carboxyliques (**Schéma II-6**).

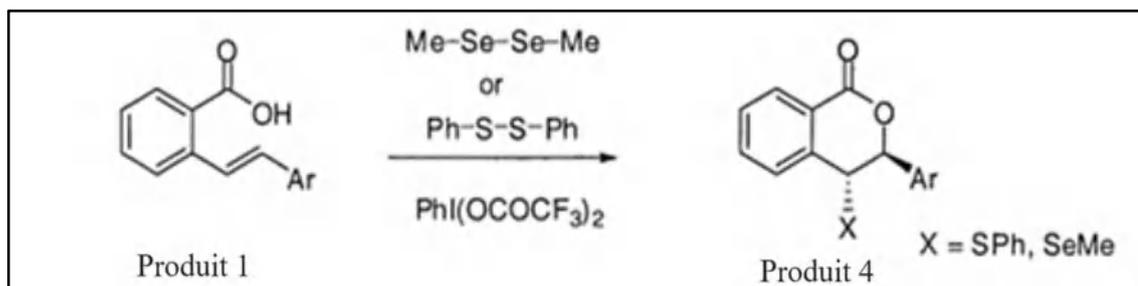


Schéma II-6: Nouvelle méthode proposée pour la synthèse des dihydroisocoumarines (produit **4**).

II.1.2 Diséléniure de diphényle en tant que réactif nucléophile

La réduction du diséléniure de diphényle par certains agents oxydants conduit à la formation d'un anion sélénoate ayant la capacité d'introduire une attaque nucléophile dans une molécule organique. Outre sa puissante nucléophilie, sa réactivité dépend des conditions dans lesquelles il est généré. En particulier, sa nucléophilie peut être atténuée en faisant varier le contre-ion et/ou le degré de sa solvatisation. La réduction du diséléniure de diphényle par l'hydrure de lithium et d'aluminium mène à la formation d'un ion sélénoate présentant un caractère acide de Lewis en raison de la nature oxygénophile de l'aluminium [10].

L'efficacité de cet anion peut être appliquée pour ouvrir les cycles des oxolanes (produit **5**) et des oxétanes, donnant accès respectivement aux alcools γ -phénylsélényles (produit **6**) et aux alcools δ -phénylsélényles (**Schéma II-7**) [10]

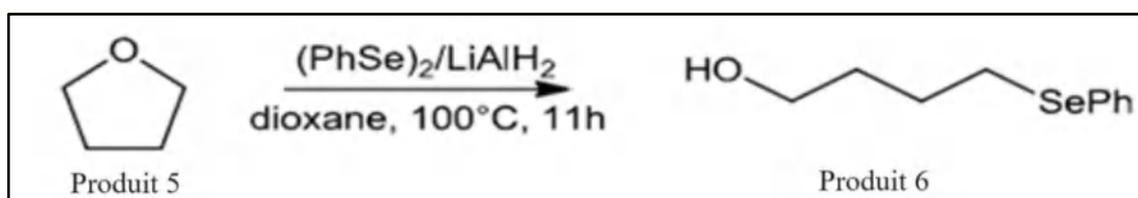


Schéma II-7: L'ouverture du cycle oxolane par réduction de diséléniure de diphényle en utilisant l'aluminohydrure de lithium.

La réduction du diséléniure de diphényle par le borohydrure de sodium dans l'éthanol conduit à la formation d'un complexe d'anion sélénoate, $\text{Na}^+ [\text{PhSeB}(\text{OEt})_3]^-$ [11], qui permet de remplacer un halogénure ou un sulfonate [12] ou d'ouvrir un époxyde [13]. Dans des milieux moins protiques comme le DMF, la nucléophilie de cet anion est clairement renforcée [14].

D'autre part, la réduction du diséléniure de diaryle et de dialkyle peut générer un anion sélénoate non complexé RSe^-Na^+ ou RSe^-K^+ en utilisant du sodium métallique dans le THF/HMPA [15], ou avec de l'hydrure de sodium ou de l'hydrure de potassium, respectivement dans le THF ou le DMF [16] [17]. L'anion sélénoate non complexé RSe^-Na^+ ou RSe^-K^+ est plus nucléophile que le complexe borane $\text{Na}^+[\text{PhSeB}(\text{OEt})_3]^-$, ce qui permet le clivage d'un ester ou une lactone sur le carbone du carbinol avec un rendement élevé dans des conditions douces [15] [17] [18]. Le diséléniure de diphényle peut être réduit en utilisant des copeaux de zinc [19] [20], ce qui facilite l'utilisation d'une solution biphasique d'éther diéthylique et de HCl (10 %) pour ouvrir le cycle aziridine, de telle sorte qu'une gamme de β -sélénamines chirales a été obtenue à partir d'aziridines chirales non protégées (**Schéma II-8**) [20].

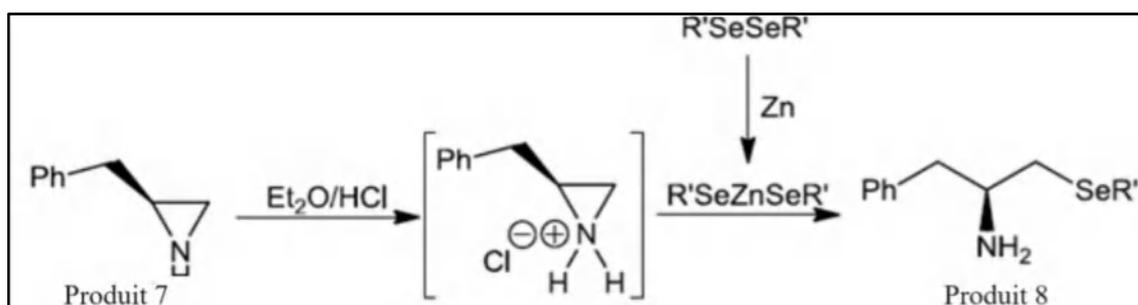


Schéma II-8: Le clivage d'aziridine chiral via la réduction de diséléniure de diphenyle en utilisant les copeaux de zinc dans une solution d'éther diéthylique et de HCl.

Des clivages d'esters et de lactones de type S_N2 peuvent être effectués avec une grande sélectivité au niveau des groupes fonctionnels en présence de diséléniure de diphenyle réduit comme réactif principal. L'anion séléniolate est caractérisé par sa faible ionisation, son potentiel élevé et sa grande polarité qui devraient se combiner pour en faire un nucléophile extrêmement puissant et ainsi sa faible basicité qui en fait un groupe partant relativement pauvre, d'autant plus cet anion a été antérieurement rapporté (1977) comme un réactif le plus efficace pour cliver les esters [15] et les lactones [18] [14].

II.1.3 Formation d'anion phénylséléniure

Sharpless [13] [21] a attribué les conditions nécessaires pour la génération d'anion phénylséléniure à la réduction du diséléniure de diphenyle par le borohydrure de sodium dans un mélange d'éthanol/THF (**Schéma II-9**). Dans ces conditions, une solution limpide, incolore et homogène contenant un anion s'est formée.

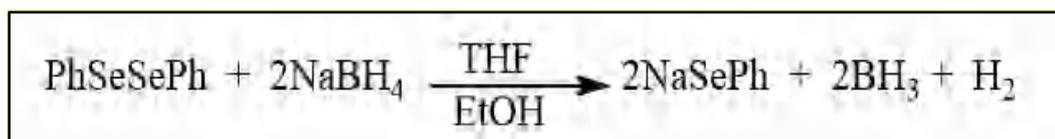


Schéma II-9: La réduction du diséléniure de diphenyle par le borohydrure de sodium dans un mélange EtOH/THF (réaction 1).

La formation d'anion phénylséléniure par réaction du diséléniure de diphenyle avec le sodium métallique dans le THF anhydre à reflux conduit à l'apparition d'un précipité intense durant 3 à 4 h (**Schéma II-10**).

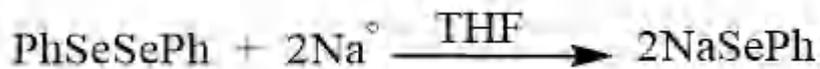


Schéma II-10: La formation d'anion phénylsélénure par réaction du disélénure de diphenyle avec le sodium métallique (réaction 2).

En outre, avec les mêmes propriétés physicochimiques de la réaction montrée dans le **schéma II-10**, un précipité a apparu lors de la réaction du benzènesélénol et de l'hydruure de sodium dans le THF à température ambiante (**Schéma II-11**).



Schéma II-11: La formation d'anion phénylsélénure par réaction du phénylsélénol avec l'hydruure de sodium (réaction 3).

L'investigation stœchiométrique de ces réactions fait apparaître certaines différences entre le processus obtenu dans la réaction 1 et ceux obtenus dans les réactions 2 et 3. Plus l'hydrogène produit dans les réactions 1 et 3, la réaction 1 donne deux équivalents de BH_3 .

Il convient de noter que la réduction par le borohydruure est attribuée à la substitution des hydruures par des groupes alkoxy, parvenus des solvants alcooliques [22], mais dans le cas de la réaction 1, l'acide doux BH_3 interagit préférentiellement avec l'anion phénylsélénure de la base molle plutôt qu'avec le solvant alcoolique qui semble être plus dur, de sorte que la réduction du disélénure de diphenyle par le borohydruure de sodium donne lieu à un complexe phénylsélénure de borane, et la comparaison entre les deux types d'anion, en vue de leurs réactivités, indique que l'anion généré lors de la réaction 1 sous forme de complexe devrait être beaucoup moins réactif que l'anion généré lors de la réaction 2 ou 3. L'application de ce principe inhérent à un certain nombre de réactions avec des esters et des lactones nous fait penser à une récupération quantitative de la matière de départ après l'utilisation de ces anions issus de la réduction du disélénure de diphenyle avec du borohydruure de sodium. Cependant, le traitement d'une grande variété d'esters et de lactones par cet anion non complexé (réaction 2 ou 3) dans le mélange THF/HMPA (hexaméthylphosphoramide) facilite le clivage des liaisons alkyle-oxygène et conduit à la formation des acides carboxyliques correspondants avec de bons rendements.

Une autre caractéristique importante de l'anion phénylséleuniure est le degré de solvatation de la paire d'ions : l'anion et son contre-ion [23]. Il est important de noter que le sodium ionique semble être plus réactif que son homologue lithium, de sorte que cette espèce devrait être utilisée dans les cas nécessitant un nucléophile fort.

II.2 Références bibliographiques

- [1] J. L. Piette and M. Renson, "darst von arylaliphatischen telluroaethern, die in *O*-stellung durch verschiedene funktionelle carbonylgruppen substituiert sind, darst. und chemische eigenschaften von *o*-methyl-tellurobenzaldehyd," *Chemischer Informationsdienst. Organische Chemie*, vol.1, no.38,1970.
- [2] G. Hölzle and W. Jenny, "Sulfenic and selenenic acids and their derivatives. VII. New methods for preparing selenenic esters," *Helv. Chim. Acta.*, vol. 41, pp.331-340,1958.
- [3] G. Pandey, V. Jayathirtha Rao, and U. T. Bhalerao, "Formation of electrophilic selenium species (PhSe⁺) by photo-oxidative (single-electron transfer) cleavage of diphenyl diselenide," *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 7, pp. 416-417, 1989.
- [4] G. Pandey and B. B. V. Soma Sekhar, "Enyne cyclisation by photoinduced electron transfer (PET) promoted in situ generated electrophilic selenium species: A new carbocyclisation strategy," *Tetrahedron*, vol. 51, no. 5, pp. 1483-1494, 1995.
- [5] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, D. Chianelli, and D. Bartoli, "Selenium catalyzed conversion of vinyl halides into α -alkoxy acetals," *Tetrahedron*, vol. 44, no. 8, pp. 2273-2282, 1988.
- [6] D. H. Lee and Y. H. Kim, "Regioselective phenylselenenylation at the 5-position of pyrimidine nucleosides mediated by manganese (III) acetate," *Synlett.*, vol. 1995, no. 4, pp. 349-350, 1995.
- [7] M. Tingoli, M. Tiecco, L. Testaferri, and A. Temperini, "Iodosobenzene diacetate and diphenyldiselenide: an electrophilic selenenylating agent of double bonds," *Synth. Commun.*, vol. 28, no. 10, pp. 1769-1778, 1998.
- [8] M. Tiecco, L. Testaferri, M. Tingoli, L. Bagnoli, and C. Santi, "Selenium catalysed conversion of β,γ -unsaturated acids into butenolides," *Synlett.*, vol. 1993, no. 10, pp. 798-800, 1993.
- [9] D. M. Browne, O. Niyomura, and T. Wirth, "Catalytic use of selenium electrophiles in cyclizations," *Org. Lett.*, vol. 9, no. 16, pp. 3169-3171, 2007.
- [10] K. Haraguchi, H. Tanaka, and T. Miyasaka, "Preparation of γ - and δ -phenylselenenyl alcohols via ring cleavage of oxetane and oxolane," *Synthesis*, vol. 21, no. 6, pp. 434-436, 1989.
- [11] M. Miyashita, M. Hoshino, and A. Yoshikoshi, "Sodium phenylseleno(triethoxy)borate, Na⁺(PhSeB(OEt)₃)⁻: The reactive species generated from (PhSe)₂ with NaBH₄ in ethanol," *Tetrahedron Letters*, vol. 29, no. 3, pp. 347-350, 1988.
- [12] D. L. J. Clive, "Modern organoselenium chemistry," *Tetrahedron*, vol. 34, no. 8, pp. 1049-1132, 1978.
- [13] K. B. Sharpless and R. F. Lauer, "Mild procedure for the conversion of epoxides to allylic alcohols. First organoselenium reagent," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 95, no. 8, pp. 2697-2699, 1973.
- [14] R. M. Scarborough, "Jr. and AB Smith, III," *Tetrahedron Letters*, vol. 4361,1977.
- [15] D. Liotta, W. Markiewicz, and H. Santiesteban, "The generation of uncomplexed phenyl selenide anion and its applicability to S_N2 - type ester cleavages," *Tetrahedron Letters*, vol. 18, no. 50, pp. 4365-4367, 1977.
- [16] A. Krief, M. Trabelsi, and W. Dumont, "Syntheses of alkali selenolates from diorganic diselenides and alkali metal hydrides: Scope and limitations," *Synthesis*, vol. 1992, no. 10, pp. 933-935, 1992.

- [17] P. Dowd and P. Kennedy, "Convenient preparation of sodium and potassium phenyl selenides. Reduction of the selenium-selenium bond by sodium hydride and potassium hydride," *Synth. Commun.*, vol. 11, no. 11, pp. 935-941, 1981.
- [18] D. Liotta and H. Santiesteban, "Nucleophilic ring opening of lactones via SN₂-type reaction with uncomplexed phenyl selenide anion," *Tetrahedron Letters*, vol. 18, no. 50, pp. 4369-4372, 1977.
- [19] C. Santi, S. Santoro, L. Testaferri, and M. Tiecco, "A Simple zinc-mediated preparation of selenols," *Synlett.*, vol. 2008, no. 10, pp. 1471-1474, 2008.
- [20] A. L. Braga, R. S. Schwab, E. E. Alberto, S. M. Salman, J. Vargas, and J. B. Azeredo, "Ring opening of unprotected aziridines by zinc selenolates in a biphasic system," *Tetrahedron Letters*, vol. 50, no. 20, pp. 2309-2311, 2009.
- [21] K. B. Sharpless, R. F. Lauer, and A. Y. Teranishi, "Electrophilic and nucleophilic organoselenium reagents. New routes to α,β -unsaturated carbonyl compounds," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 95, no. 18, pp. 6137-6139, 1973.
- [22] D. C. Wigfield and F. W. Gowland, "Limited alkoxy group exchange in tetraalkoxyborohydrides: Evidence against the four-center transition state in the borohydride reduction of ketones," *Tetrahedron Letters*, vol. 17, no. 38, pp. 3373-3376, 1976.
- [23] D. Liotta, U. Sunay, H. Santiesteban, and W. Markiewicz, "Phenyl selenide anion, a superior reagent for the SN₂ cleavage of esters and lactones," *J. Org. Chem.*, vol. 46, no. 13, pp. 2605-2610, 1981.

Chapitre III: Partie expérimentale

III.1 Matériel et méthodes de synthèse

➤ Appareillage

Les points de fusion ont été mesurés sur un appareil capillaire électrothermique de type WME. Les spectres RMN-¹H et RMN-¹³C ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker F.T.ARX 250-300 MHz en utilisant du TMS comme étalon interne. Les spectres IR ont été enregistrés sur le spectromètre SHIMADZU-FTIR-8201PC sous forme de KBr à sec à $100 \pm 0,1$ °C.

➤ Produits et techniques

Toutes les réactions de préparation des dérivés des azoxybenzènes ont été réalisées sous une atmosphère d'argon en utilisant une verrerie séchée à la flamme sous pression réduite. Les solvants anhydres et certains réactifs liquides ont été redistillés avant leur utilisation.

Tous les réactifs : nitroarènes, borohydrure de sodium et diséléniure de diphenyle, ainsi que les autres composés inorganiques (NaOH, MgSO₄...), sont des produits commerciaux fournis par Sigma-Aldrich et utilisés sans purification supplémentaire.

Le diséléniure de diphenyle est un composé nauséabond. Toutes les réactions et manipulations doivent être effectuées sous une hotte bien ventilée. La progression de la réaction et la pureté du produit ont été contrôlées par chromatographie sur couche mince de gel de silice (60-120 mesh) et par chromatographie sur colonne en utilisant les systèmes d'élution : (éther de pétrole/acétate d'éthyle) et (éther de pétrole/CH₂Cl₂). Les composés ont été principalement révélés sous la lampe UV, comme agent de visualisation. L'évaporation des solvants a été effectuée sous pression réduite, à l'aide d'un évaporateur rotatif Buchi.

III.2 Procédure de synthèse générale

Une solution préparée à partir de NaOH (5M, 98%) dissous dans l'eau distillée (2,5 mL) a été soigneusement ajoutée au ballon bicol contenant de diséléniure de diphenyle (0,04 mmol) et de NaBH₄ (10 mmol) dissous dans l'EtOH (10 mL), et dégazé en faisant barboter du gaz d'argon. La solution de nitroarène (2 mmol), dissoute dans EtOH (5 mL), a été ensuite additionnée à la solution homogène. Le mélange réactionnel a subi une agitation magnétique dans un système à reflux. L'évolution de la réaction a été contrôlée par chromatographie sur couche mince. Après le lavage du mélange avec l'eau distillée (10 mL), une extraction avec le CH₂Cl₂ (3×20 mL) ou l'acétate d'éthyle (3×20 mL) a été effectuée, puis les phases organiques ont été réunies, séchées sur MgSO₄ anhydre, puis filtrées.

Les filtrats récupérés ont été concentrés à sec puis ils ont subi une séparation et purification sur une colonne de gel de silice en utilisant les systèmes d'élution (éther de pétrole/acétate d'éthyle) ou (éther de pétrole/CH₂Cl₂).

Les produits séparés ont été soumis à une recristallisation avec différents solvants, à savoir MeOH, DMF et THF pour obtenir des dérivés azoxybenzènes purs (du produit IIa au produit IIj) dont les structures chimiques ont été confirmées via les techniques d'analyses spectroscopiques : RMN-¹H, RMN-¹³C et IR.

III.2.1 Préparation d'azoxybenzène (IIa)

Dans un ballon bicol, sec et muni d'un réfrigérant ; 0,016 g de diséléniure de diphényle et 0,38 g de NaBH₄ ont été dissous dans l'EtOH (10 mL) sous agitation. Dans un autre ballon, une solution composée de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissous dans H₂O (2,5 mL) a été préparée, cette dernière a été additionnée goutte à goutte à la réaction principale sous un courant d'argon dans un système à reflux à température 75°C. Après deux heures, une solution préparée à partir de 0,25 g de 1-nitrobenzène dissous dans l'EtOH (5 mL) a été ajoutée au mélange réactionnel en formant un solide jaune.

Après une nuit, le mélange rouge foncé obtenu, a subi un lavage avec l'eau distillée et une extraction avec CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été réunies et séchées sur MgSO₄ anhydre. Après filtration et concentration, le filtrat a subi une purification sur une colonne de gel de silice en utilisant le système (éther de pétrole/acétate d'éthyle). Le produit (m= 0,108 g; 54%) a été isolé sous forme d'un solide jaune-brun, dont le R_f est de 0,39 en utilisant l'éluant éther de pétrole (10 mL) et quelques gouttes d'acétate d'éthyle. Ce produit a été recristallisé dans l'EtOH sous forme des paillettes jaunes.

III.2.2 Préparation de *o,o'*-diméthylazoxybenzène (IIb)

La réaction réalisée dans un ballon bicol à partir de 0,016 g de diséléniure de diphényle et 0,38 g de NaBH₄ qui ont été dissous dans l'EtOH (10 mL) a subi une agitation magnétique sous un courant d'argon dans un système à reflux (75°C) pendant qu'une solution de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissoute dans H₂O (2,5 mL) était préparée dans un autre ballon. Cette dernière solution a été ensuite transvasée goutte à goutte dans la réaction principale. Un précipité jaune s'est formé après deux heures lorsqu'une solution composée de 0,27 g de 1-méthyl-2-nitrobenzène dissous dans l'EtOH (5 mL) a été ajoutée.

Le mélange rouge foncé, formé après une nuit d'agitation, a été rincé avec l'eau distillée puis extrait avec CH_2Cl_2 . La phase organique a été séchée sur MgSO_4 anhydre, filtrée et concentrée. Le filtrat obtenu a été purifié sur une colonne de gel de silice dont la phase mobile est composée de l'éluant (éther de pétrole/acétate d'éthyle). En utilisant le système éther de pétrole (8 mL) et quelques gouttes d'acétate d'éthyle, le produit ($m = 0,104$ g ; 46%) a été séparé sous forme d'un solide jaune foncé dont le R_f est de 0,27. Ce produit a donné des cristaux jaunes dans l'EtOH.

III.2.3 Préparation de *m,m'*-diméthylazoxybenzène (IIc)

0,016 g de diséléniure de diphenyle et 0,38 g de NaBH_4 ont été dissous dans (10 mL) EtOH et mis sous agitation dans un ballon bicol sec renfermant un système à reflux sous un courant d'argon. Dans un autre ballon, une solution composée de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissous dans (2,5 mL) H_2O a été préparée. Cette solution a été introduite goutte à goutte dans la réaction principale, puis une solution de 0,28 g de 1-méthyl-3-nitrobenzène dissous dans (5 mL) EtOH a été ajoutée au mélange réactionnel résultant la formation d'un précipité jaune après deux heures.

Après une nuit d'agitation, le mélange rouge résultant a été rincé avec l'eau distillée et extrait avec CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). Les phases organiques réunies ont été séchées sur MgSO_4 anhydre et filtrées. Le filtrat concentré a été ensuite purifié sur une colonne de gel de silice, élué par le mélange (éther de pétrole/acétate d'éthyle). En utilisant un système d'éther de pétrole (10 mL) et quelques gouttes d'acétate d'éthyle, le produit ($m = 0,168$ g ; 73%) avec R_f de 0,26, a été séparé. Ce produit a donné des cristaux jaunes dans l'EtOH.

III.2.4 Préparation de *p,p'*-diméthylazoxybenzène (II d)

Sous un courant d'argon, une solution composée de 0,016 g de diséléniure de diphenyle et 0,38 g de NaBH_4 dissous dans (10 mL) EtOH a été préparée dans un ballon bicol sec et mise sous agitation magnétique à reflux (75°C). Dans un autre ballon, une solution formée de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissous dans (2,5 mL) H_2O a été préparée, cette dernière a été ajoutée goutte à goutte à la réaction principale sous un courant d'argon. Après deux heures d'agitation, une solution préparée à partir de 0,28 g de 1-méthyl-4-nitrobenzène dissous dans (5 mL) EtOH a été additionnée au mélange réactionnel résultant la formation d'un précipité jaune.

Après une nuit, le mélange rouge foncé obtenu, a subi un lavage avec l'eau distillée et une extraction avec CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). Les phases organiques réunies ont été séchées sur MgSO_4 anhydre. Après filtration et concentration, le filtrat a été purifié sur une colonne de gel de silice en utilisant l'éluant (éther de pétrole/acétate d'éthyle).

Le produit ($m = 0,122$ g; 53%) a été séparé sous forme d'un solide jaune foncé, dont le R_f est de 0,25 en utilisant l'éluant éther de pétrole (10 mL) et quelques gouttes d'acétate d'éthyle. Ce produit a été recristallisé dans l'EtOH sous forme des paillettes jaunes.

III.2.5 Préparation de *p,p'*-dichloroazoxybenzène (IIe)

Une solution préparée à partir de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissous dans H₂O (2,5 mL) a été ajoutée goutte à goutte à un mélange de 0,016 g de diséléniure de diphényle et 0,38 g de NaBH₄ dissous dans l'EtOH (10 mL), cette dernière a été mise en agitation sous un courant d'argon dans un système à reflux (75°C). Après deux heures, une solution préparée à partir de 0,32 g de 1-chloro-4-nitrobenzène dissous dans l'EtOH (5 mL) a été additionnée au mélange réactionnel donnant une couleur jaune.

Le mélange rouge foncé obtenu après une nuit d'agitation a subi un lavage avec l'eau distillée et une extraction avec CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Après le séchage sur MgSO₄ anhydre des phases organiques obtenues, ces dernières ont été filtrées et concentrées, puis purifiées sur colonne de gel de silice en utilisant l'éluant (éther de pétrole/acétate d'éthyle). Le produit ($m = 0,148$ g, 55%) a été isolé sous forme d'un solide orange-clair, dont le R_f est de 0,28 en utilisant le système éther de pétrole (10 mL) et quelques gouttes d'acétate d'éthyle. Ce produit a été recristallisé dans l'EtOH sous forme des paillettes d'une couleur orange.

III.2.6 Préparation de *p,p'*-dibromoazoxybenzène (IIf)

Sous agitation magnétique ; 0,016 g de diséléniure de diphényle et 0,38 g de NaBH₄ dissous dans l'EtOH (10 mL) ont été mis dans un ballon bicol à reflux sous un courant d'argon, puis une solution de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) préparée dans H₂O (2,5 mL) a été ajoutée goutte à goutte. Une solution préparée de 0,405 g de 1-bromo-4-nitrobenzène dissous dans l'EtOH (5 mL) a été additionnée à la réaction principale.

Le mélange rouge foncé obtenu après une nuit d'agitation a été rincé avec l'eau distillée et extrait avec CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les phases organiques ont été rassemblées et séchées sur le MgSO₄ anhydre. Après filtration et concentration, le filtrat obtenu a été purifié sur une colonne de gel de silice en utilisant l'éluant (éther de pétrole/acétate d'éthyle). Un solide orange foncé ($m = 0,207$ g ; 58%) a été séparé dont le R_f est de 0,27 en utilisant le système (acétate d'éthyle/éther de pétrole) (1:9). Des cristaux d'une couleur orange ont été formés dans l'EtOH.

III.2.7 Préparation de *p,p'*-diiodoazoxybenzène (IIg)

Une solution préparée à partir de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissous dans H₂O (2,5 mL) a été ajoutée goutte à goutte au mélange formé de 0,016 g de diséléniure de diphényle et 0,38 g de NaBH₄ dissous dans l'EtOH (10 mL) dans un ballon bicol muni d'un réfrigérant, la réaction a été mise en agitation sous un courant d'argon à 75°C.

Le mélange réactionnel est devenu jaune au bout de deux heures lorsqu'une solution composée de 0,498 g de 1-iodo-4-nitrobenzène dissous dans l'EtOH (5 mL) a été ajoutée.

Après une nuit d'agitation, le mélange pourpre foncé a été rincé avec l'eau distillée et extrait avec CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Les phases organiques réunies ont été séchées sur MgSO₄ anhydre et filtrées, et le filtrat obtenu a été concentré et purifié sur une colonne de gel de silice en utilisant le système (éther de pétrole/acétate d'éthyle). Le produit (m= 0,271 g; 60%) a été séparé sous forme d'un solide marron, dont le R_f est de 0,24 en utilisant l'éluant (acétate d'éthyle /éther de pétrole) (2:8). Ce produit a donné des cristaux jaunes dans l'EtOH.

III.2.8 Préparation de *p,p'*-dicarboxylazoxybenzène (IIh)

Dans un ballon bicol muni d'un réfrigérant, connecté à une bonbonne d'argon et sous agitation magnétique ; 0,016 g de diséléniure de diphényle et 0,38 g de NaBH₄ ont été dissous dans l'EtOH (10 mL) dans un système de reflux (75°C). Une solution préparée à partir de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissous dans H₂O (2,5 mL) a été ajoutée goutte à goutte au mélange réactionnel auquel une solution préparée à partir de 0,33 g d'acide 4-nitrobenzoïque dissous dans l'EtOH (5 mL) a été ajoutée après deux heures donnant une coloration jaune. Le mélange marron foncé obtenu après une nuit d'agitation a subi un lavage avec l'eau distillée et une extraction avec AcOEt (3 x 20 mL). Les phases organiques réunies ont été séchées sur MgSO₄ anhydre et filtrées. Le filtrat obtenu a été concentré et purifié sur une colonne de gel de silice en utilisant le système (éther de pétrole/CH₂Cl₂). Le produit (m= 0,195 g; 68 %) a été séparé sous forme d'un solide jaune, dont le R_f est de 0,37 dont la phase mobile est composée du mélange (CH₂Cl₂ /éther de pétrole) (4:6). Ce produit a donné des cristaux jaunes dans le DMF.

III.2.9 Préparation de *p,p'*-Diméthoxyazoxybenzène (IIi)

Dans un ballon bicol, sec et muni d'un réfrigérant ; 0,016 g de diséléniure de diphényle et 0,38 g de NaBH₄ ont été dissous dans l'EtOH (10 mL).

Après 10 min d'agitation, une solution préparée à partir de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissous dans H₂O (2,5 mL) a été ajoutée goutte à goutte à la réaction principale sous un courant d'argon à 75°C. Après deux heures, une solution préparée à partir de 0,306 g de 1-méthoxy-4-nitrobenzène dissous dans l'EtOH (5 mL) a été additionnée au mélange réactionnel résultant la formation d'un solide brun.

Après une nuit, le mélange rouge foncé a été rincé avec l'eau distillée. L'extraction avec l'AcOEt (3 x 20 mL) a donné des phases organiques qui ont été réunies et séchées sur MgSO₄ anhydre. Après filtration et concentration, le filtrat a subi une purification sur une colonne de gel de silice dont la phase mobile est formée des solvants (éther de pétrole/CH₂Cl₂). Le produit (m= 0,140 g; 54 %) a été isolé sous forme d'un solide jaune foncé, dont le R_f est de 0,31 en utilisant l'éluant (CH₂Cl₂ /éther de pétrole) (3:7). Ce produit a donné des cristaux jaunes dans le THF.

III.2.10 Préparation de *p,p'*-Diacétylazoxybenzène (IIj)

Une solution de 0,51 g de NaOH (5M, 98%) dissous dans H₂O (2,5 mL) a été ajoutée goutte à goutte au mélange préparé à partir de 0,016 g de diséléniure de diphenyle et 0,38 g de NaBH₄ dissous dans l'EtOH (10 mL) sous un courant d'argon dans un système à reflux (75°C). Après 2 heures d'agitation, une solution préparée à partir de 0,330 g de 1-acétyl-4-nitrobenzène dissous dans l'EtOH (5 mL) a été additionnée à la réaction principale résultant la formation d'un solide brun.

Le mélange est devenu rouge foncé après une nuit d'agitation. Après le lavage avec l'eau distillée et l'extraction avec AcOEt (3 x 20 mL), les phases organiques réunies ont été séchées sur MgSO₄ anhydre, filtrées et concentrées. Le filtrat obtenu a subi une purification sur une colonne de gel de silice en utilisant l'éluant (éther de pétrole/CH₂Cl₂). Le produit (m= 0,237 g; 79 %) a été isolé sous forme d'un solide jaune, dont le R_f est de 0,34 en utilisant le système (CH₂Cl₂ /éther de pétrole) (4:6). La recristallisation de ce produit dans le DMF a permis la formation des paillettes jaune foncé.

Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1 Planification de la réaction de réduction des nitroarènes en composés azoxybenzènes

L'arènesélenolate de sodium (ArSeNa) est parvenu de la réduction de diséléniure de diphényle par le borohydrure de sodium dans l'éthanol en présence d'hydroxyde de sodium. Dans notre travail, nous décrivons la réduction sélective des nitroarènes en composés azoxy ou azoarènes correspondants en présence de ArSeNa issu de diséléniure de diphényle utilisé comme catalyseur (**Schéma IV-1**).

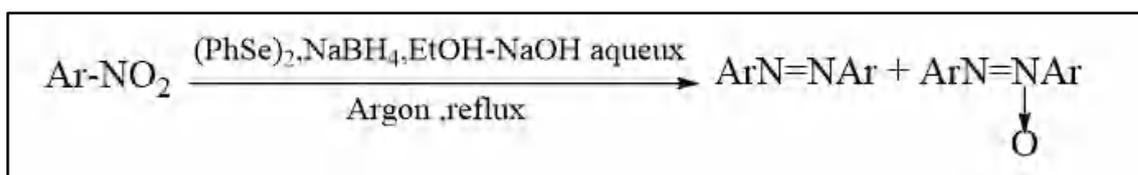


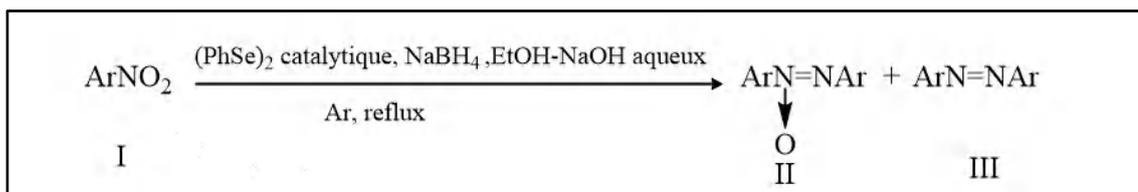
Schéma IV-1 : Réaction générale de la réduction catalytique de nitroarènes en composés azoxyarènes.

Sachant que le groupement (Ar) représente le cycle benzyle lié aux différents substituants indiqués dans le **tableau IV-1** ci-dessous :

Tableau IV-1: Les différents substituants utilisés.

Indice	Ar
a	C ₆ H ₅
b	2-CH ₃ C ₆ H ₄
c	3-CH ₃ C ₆ H ₄
d	4-CH ₃ C ₆ H ₄
e	4-ClC ₆ H ₄
f	4-BrC ₆ H ₄
g	4-IC ₆ H ₄
h	4-COOHC ₆ H ₄
i	4-CH ₃ OC ₆ H ₄
j	4-CH ₃ COC ₆ H ₄

La réduction catalytique des nitroarènes en présence de (PhSe)₂ a permis d'obtenir le produit **IIa** à partir du produit **Ia** lorsqu'un excès de NaBH₄ a été utilisé (**Schéma IV-2**).

Schéma IV-2 : Réduction catalytique de nitroarène en utilisant (PhSe)₂.

IV.2 Mécanisme réactionnel et discussion

Si la réaction s'effectue à une température ambiante, les rendements des composés azoxy sont très faibles, alors que les rendements des composés azoxy sont meilleurs lorsque la température du milieu réactionnel augmente. Des études antérieures ont suggéré la formation de l'anion phénylsélénate dans certaines conditions thermiques, mais le pouvoir catalytique du phénylsélénate de sodium correspond à l'effet de la température, et donc la réduction du diséléniure de diphenyle par le borohydrure de sodium à température ambiante conduit à l'apparition du complexe phénylséléniure-borane dont l'acide doux BH₃ interagit préférentiellement avec l'anion phénylséléniure qui joue un rôle d'une base molle (Schéma IV-3). Le complexe obtenu est évidemment moins réactif que l'anion phénylsélénate qui est censé se générer dans des conditions douces.

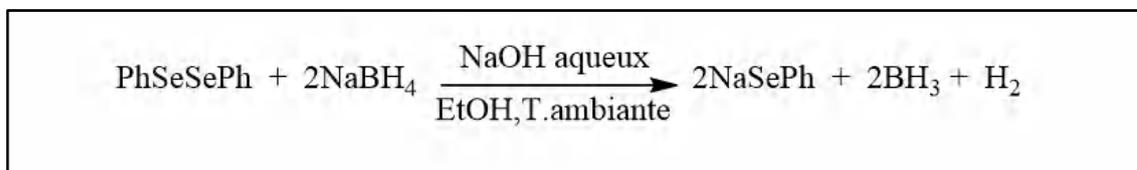


Schéma IV-3: La formation d'anion phénylséléniure via la réaction de diséléniure de diphenyle avec le borohydrure de sodium.

D'autre part, la concentration alcaline pourrait également affecter le rendement et la sélectivité du produit, même sans NaOH aqueux, car la réduction peut avoir lieu dans certaines conditions. Il est suggéré que l'addition de la quantité catalytique de NaOH (5 M de NaOH dissous dans (2,5 mL) d'eau distillée à la solution de diséléniure de diphenyle et de NaBH₄ dissous dans (10 mL) d'EtOH est favorisée pour obtenir des composés azoxy avec une sélectivité élevée et de bons rendements. Une concentration alcaline adéquate semble nécessaire non seulement pour obtenir le PhSeNa à priori, mais aussi pour homogénéiser le système réactionnel.

Dans ces conditions favorables, l'obtention des composés azoxy **II** était sélective lors de la réduction de plusieurs nitroarènes, mais les composés azoarène **III** étant à peine obtenus (Schéma IV-4).

D'un côté cinétique, la vitesse de la réduction du composé nitroarène portant un groupement donneur d'électrons est généralement plus lente que celle du composé portant un groupement électroattracteur.

La formation d'anilines est intéressante, et l'espèce active dans ce cas peut être principalement le (phénylsélénio) triéthoxyborate de sodium $[\text{PhSeB}(\text{OEt})_3]^- \text{Na}^+$ généré lors de la réaction de $(\text{PhSe})_2$ et NaBH_4 dans l'éthanol [1], sachant que la réactivité de ce complexe est supérieure à celle du sel de sodium, tout en étant suffisamment réactif pour de nombreuses applications (**Schéma IV-4**) :

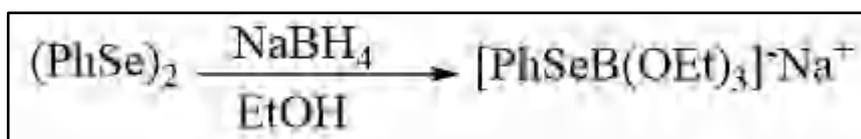


Schéma IV-4: La formation du sel (phénylsélénio) triéthoxyborate de sodium comme une source du sélénium nucléophile.

La réduction de **Ia** et **Ic** s'est également effectuée avec le PhSeNa , généré *in situ* à partir de la réaction de $(\text{PhSe})_2$ avec le NaBH_4 dans le tétrahydrofurane (THF). Dans les deux cas, les produits obtenus sont des composés azoxy et azo correspondant à chaque nitroarène (**Schéma IV-5** et **Schéma IV-6**) tandis que les anilines n'ont pas eu lieu du tout.

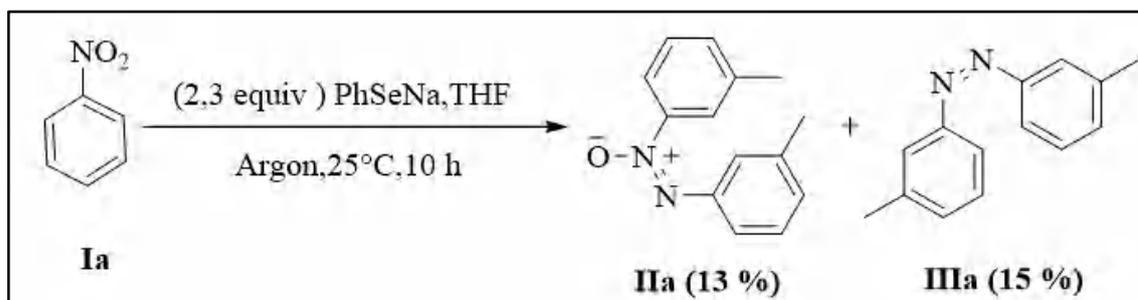


Schéma IV-5: La réduction de nitrobenzène par phénylsélénolate de sodium dans le THF.

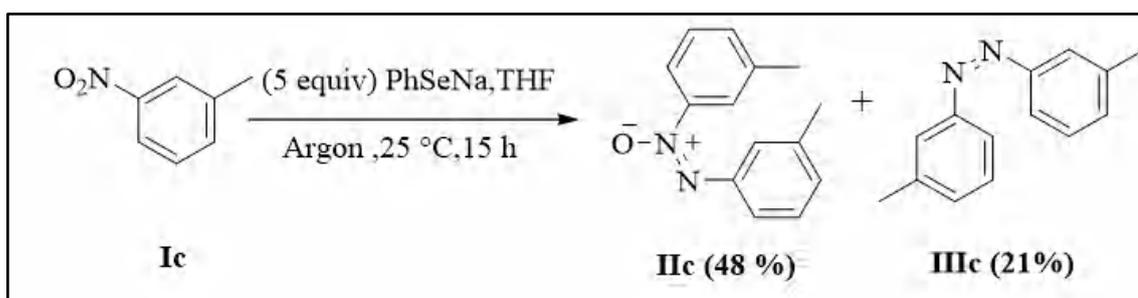


Schéma IV-6: La réduction de 3-méthylnitrobenzène par phénylsélénolate de sodium dans le THF.

Le PhSeNa s'est avéré être un agent réducteur plus doux que le PhSeH, car il peut spécifiquement conduire à la formation des composés azoxy. De plus, le (phénylséléno) triéthoxyborate de sodium peut être converti en PhSeNa en présence de NaOH.

Russel et *al.* ont déjà souligné que la réduction des nitroarènes doit passer par la formation des nitrosoarènes pour obtenir des composés azoxy dans des conditions alcalines [2]. Dans notre travail, aucun composé nitroso n'a été détecté à la fin de la réaction, ce qui confirme la facilité de la conversion des nitroarènes en composés azo ou azoxy dans ces conditions alcalines.

Selon les études antérieures, la réduction du composé nitro est probablement suivie de la formation du composé nitroso, comme le montre le **schéma IV-7**. Il est clair que l'attaque nucléophile de l'ion phénylséléniure (PhSe^-) sur l'azote du composé nitroarène, suivie d'un réarrangement du groupement PhSe qui est lié à l'atome d'azote vers l'oxygène, conduit à un intermédiaire libérant le phénylséléniure (PhSeO^-) et un composé nitroso.

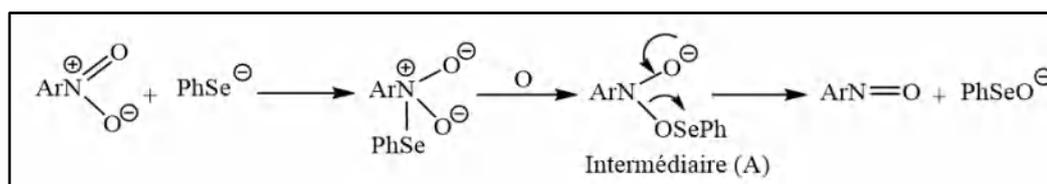


Schéma IV-7: L'attaque nucléophile de l'ion phénylséléniure (PhSe^-) sur l'azote du composé nitroarène et la libération du composé nitroso.

Le cycle catalytique de cette réduction est présenté dans le **schéma IV-8** dans lequel le phénylséléniure de sodium (PhSeONa), formé via la réaction de PhSeNa avec le nitroarène ou l'azoxyarène, régénère le PhSeNa lors d'une réduction par NaBH_4 . Une autre possibilité est la disproportionation de PhSeONa donnant le PhSeNa et le PhSeO_2Na [2], ce dernier réactif a été également obtenu séparément dans les travaux antérieurs en jouant un rôle d'un catalyseur réducteur du nitroarène pour obtenir un composé azoxyarène à haute température.

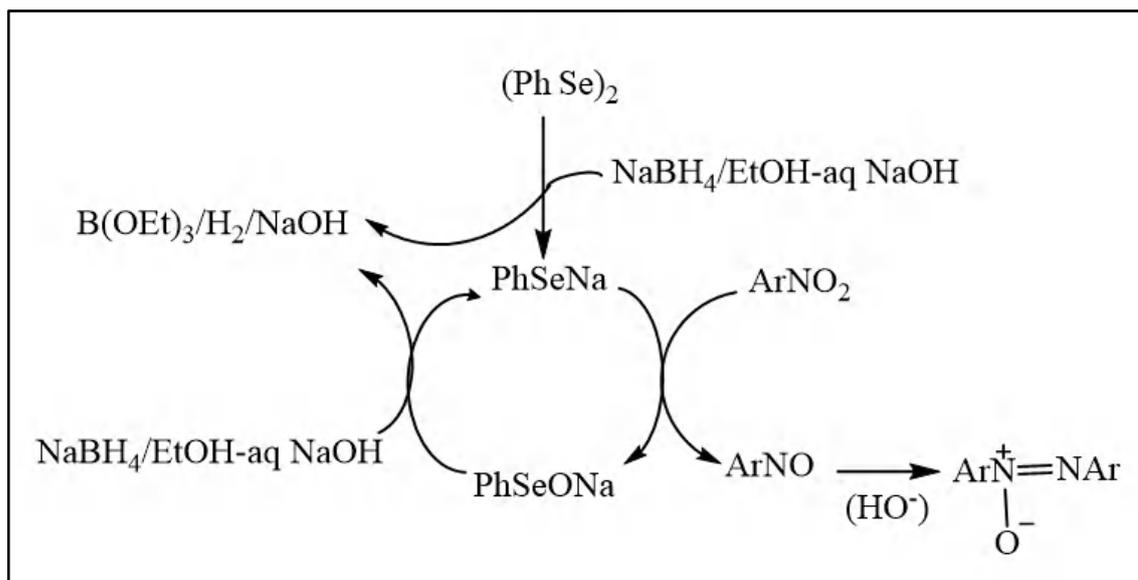


Schéma IV-8: Le cycle catalytique de $(\text{PhSe})_2$ et la formation des azoxyarènes.

IV.3 Les données expérimentales

Tableau IV-2: La réduction des nitroarènes (I) en composés azoxy (II) et azo (III) catalysée par $(\text{PhSe})_2^\alpha$.

Produit I	$(\text{PhSe})_2$	Temps (h)	Produit III	Produit II
	mmol		Rendement (%)	Rendement (%)
<i>Ia</i>	0,04	15	IIIa (18)	IIa (54)
<i>Ib</i>	0,04	25	IIIb (3)	IIb (46)
<i>Ic</i>	0,04	25	IIIc (8)	IIc (73)
<i>Id</i>	0,04	30	IIIc (20)	IId (53)
<i>Ie</i>	0,04	20	IIIe (4)	IIe (55)
<i>If</i>	0,04	20	IIIf (6)	IIf (58)
<i>Ig</i>	0,04	20	IIIg (2)	IIg (60)
<i>Ih</i>	0,04	15	IIIh (0,5)	IIh (68)
<i>Ii</i>	0,04	48	IIIg (6)	IIg (54)
<i>Ij</i>	0,04	48	IIIh (8)	IIh (79)

α : produit I (2 mmol), $(\text{PhSe})_2$ (0,04 mmol), NaBH_4 (10 mmol) dans EtOH (10 mL) et NaOH aqueux 5M (2,5 mL) à reflux avec un barbotage du courant d'argon.

IV.4 Les données spectrales

Les spectres RMN-¹H et RMN-¹³C ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker F.T.ARX fonctionnant à 250-300 MHz (¹H), 62,5-75 MHz (¹³C) dans CDCl₃ et DMSO-*d*₆. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en parties par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme étalon interne.

Les solvants protiques résiduels (CDCl₃ avec $\delta = 7,28$ ppm, et DMSO-*d*₆ avec $\delta = 2,50$ ppm) ont été utilisés comme référence pour les spectres RMN-¹H. Les déplacements chimiques de la RMN-¹³C ont été rapportés par rapport aux solvants deutérés (CDCl₃ avec un $\delta = 44,20$ ppm et DMSO-*d*₆ avec un $\delta = 39,52$ ppm).

Les constantes de couplage (valeurs *J*) sont données en Hertz. Les multiplicités des pics RMN sont abrégées comme suit : *s* : singulet, *d* : doublet, *t* : triplet et *m* : signal multiplet.

IV.4.1.1 Azoxybenzène (IIa) : recristallisé dans l'éthanol, p.f. 34-36 °C.

IV.4.1.1.1 Spectre RMN-¹H

RMN-¹H (250 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 6,01- 6,50 (*m*,6H); δ 7,22-7,65 (*m*,4H):

RMN-¹H (250 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 6,02 (*t*, *J*=7,34 Hz, H-4) ; 6,27 (*dd*, *J*=7,98-7,34 Hz, 2H-3/5) ; 6,40 (*dd*, *J*=8,17-7,38 Hz, H-11/13) ; 6,47 (*t*, *J*=7,38 Hz, H-12) ; 7,24 (*dd*, *J*=7,98-2,8 Hz, 2 H-2/6) ; 7,55 (*dd*, *J*=8,16-2,8 Hz, H-10) ; 7,60 (*dd*, *J*=8,17-2,8 Hz, H-14).

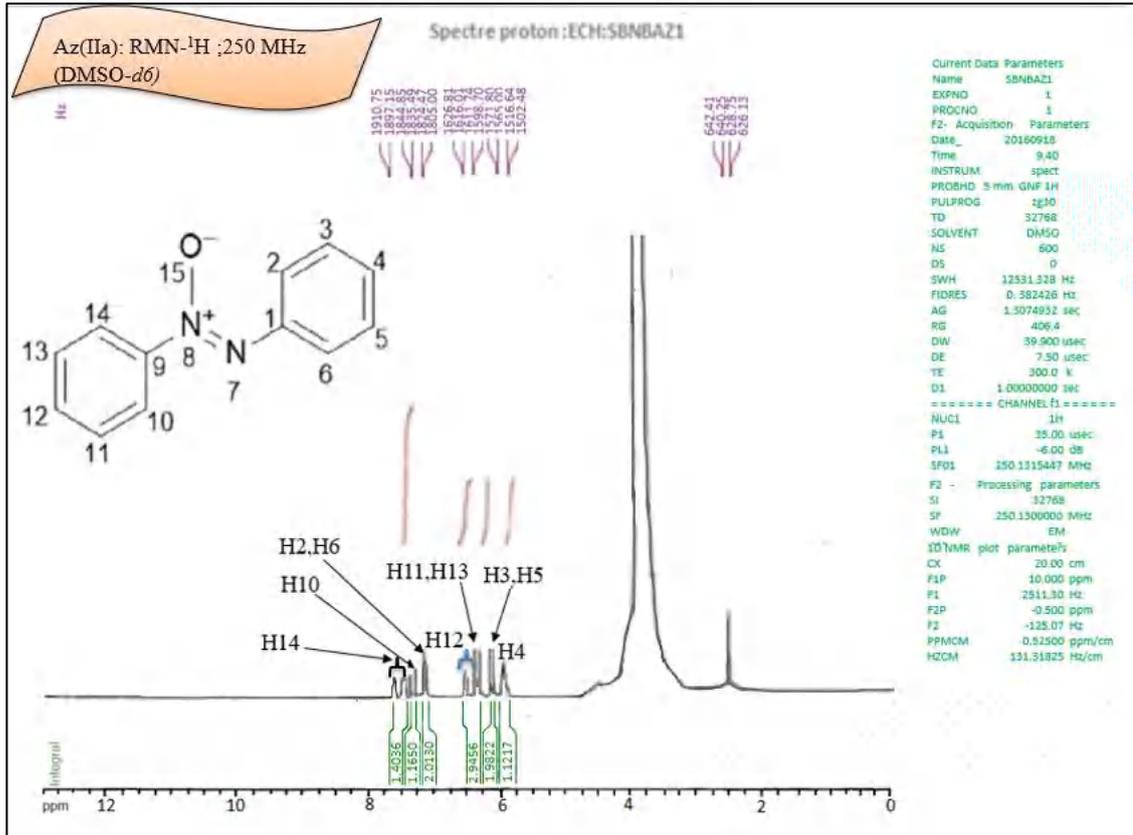


Figure IV-1: Spectre RMN-¹H (250 ppm, DMSO-*d*₆) du produit Azoxybenzène (IIa).

- Les étalements

a1-1. Étalement de la zone (6,01-6,07 ppm)

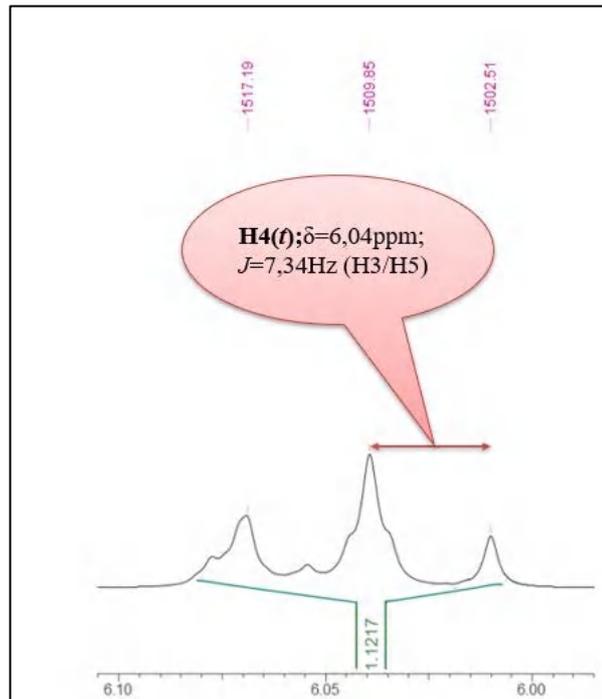


Figure IV-2: Étalement de la zone (6,01-6,07 ppm).

a1-2. Étalement de la zone (6,258-6,320 ppm).

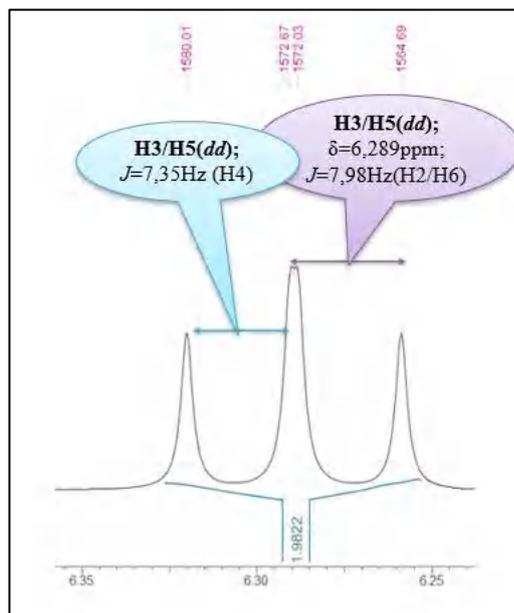


Figure IV-3: Étalement de la zone (6,258-6,320 ppm).

a1-3. Étalement de la zone (6,388-6,518 ppm)

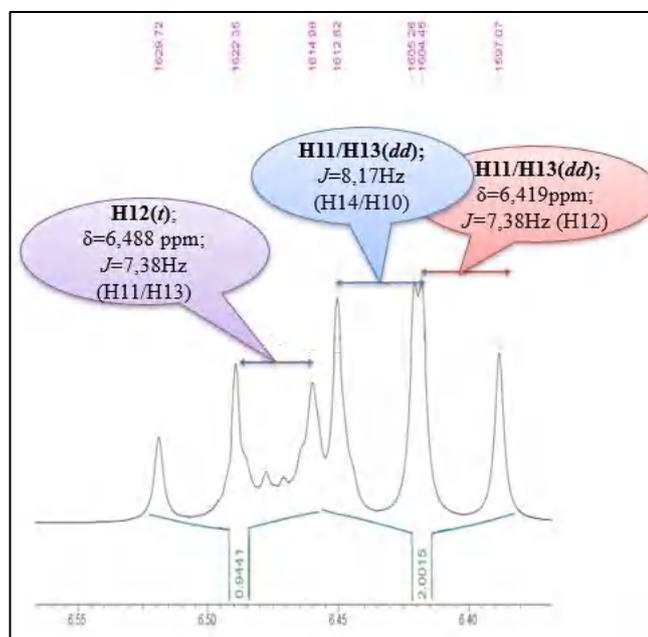


Figure IV-4: Étalement de la zone (6,388-6,518 ppm).

a1-4. Étalement de la zone (7,237-7,280 ppm)

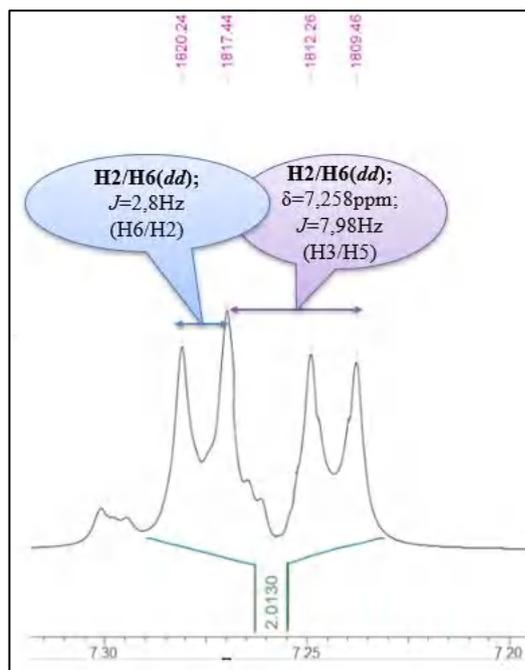


Figure IV-5: Étalement de la zone (7,237-7,280 ppm).

a1-5. Étalement de la zone (7,528-7,621 ppm)

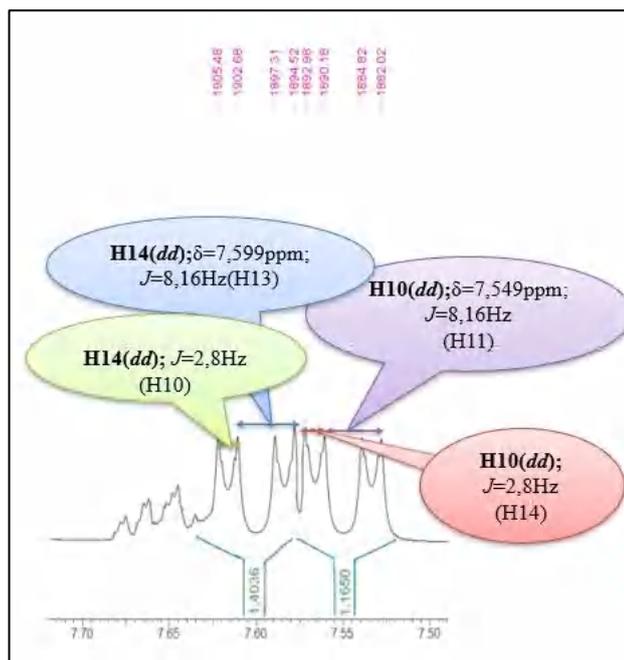


Figure IV-6: Étalement de la zone (7,528-7,621 ppm)

IV.4.1.1.2 Spectre RMN-¹³C

- RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 122,34 (2C-2/6) ; 122,97 (2C-10/14); 127,89 (2C-11/13); 129,44 (2C-3/5) 130,28 (1C-12); 134,10 (1C-4); 140,05 (1C-9); 144,92 (1C-1).

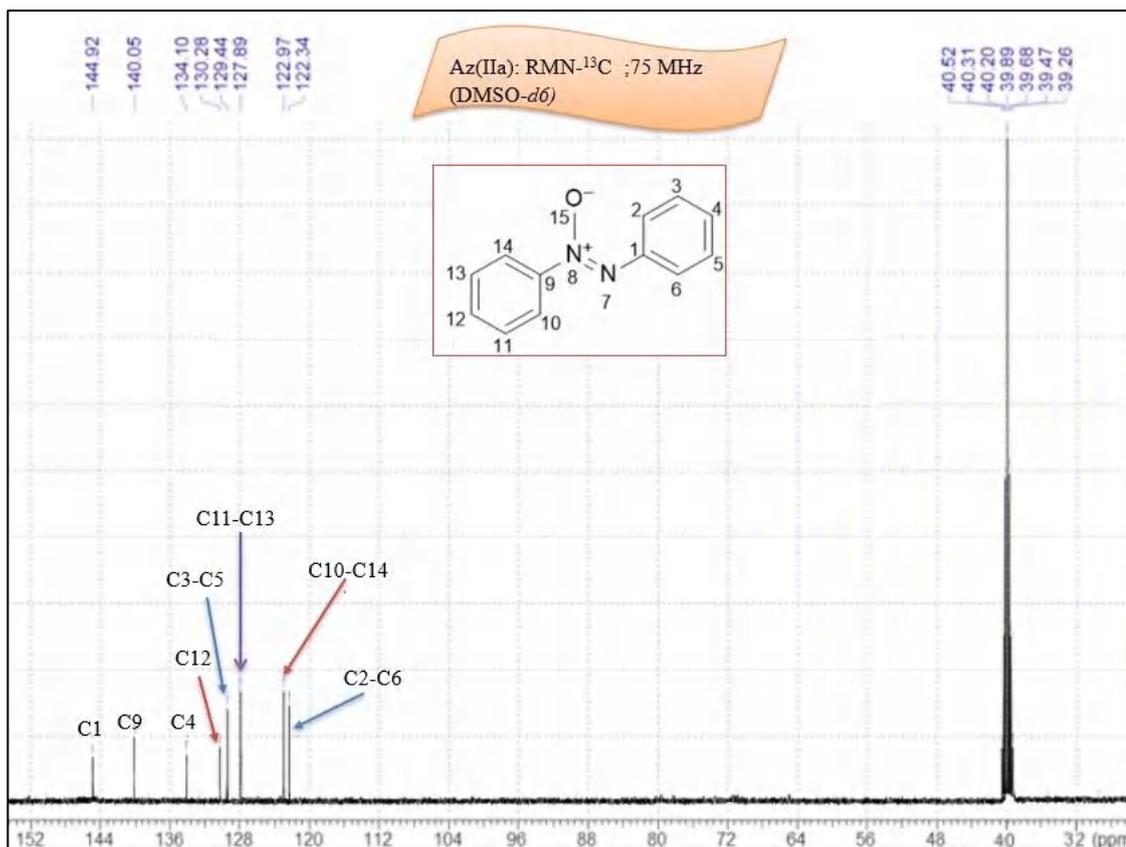


Figure IV-7: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, DMSO-*d*₆) du produit Azoxybenzène (IIa).

IV.4.1.1.3 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm^{-1} :

1570: caractéristique d'une vibration de valence asymétrique d'un groupement N=O.

1472/1426: bandes d'élongation C=C du cycle aromatique.

1330: bande d'absorption de valence symétrique du groupement N-O et peut être chevauchée avec la bande d'absorption de valence du groupement C-N.

748/672: caractérisent des vibrations de déformation hors le plan des liaisons C-H aromatiques.

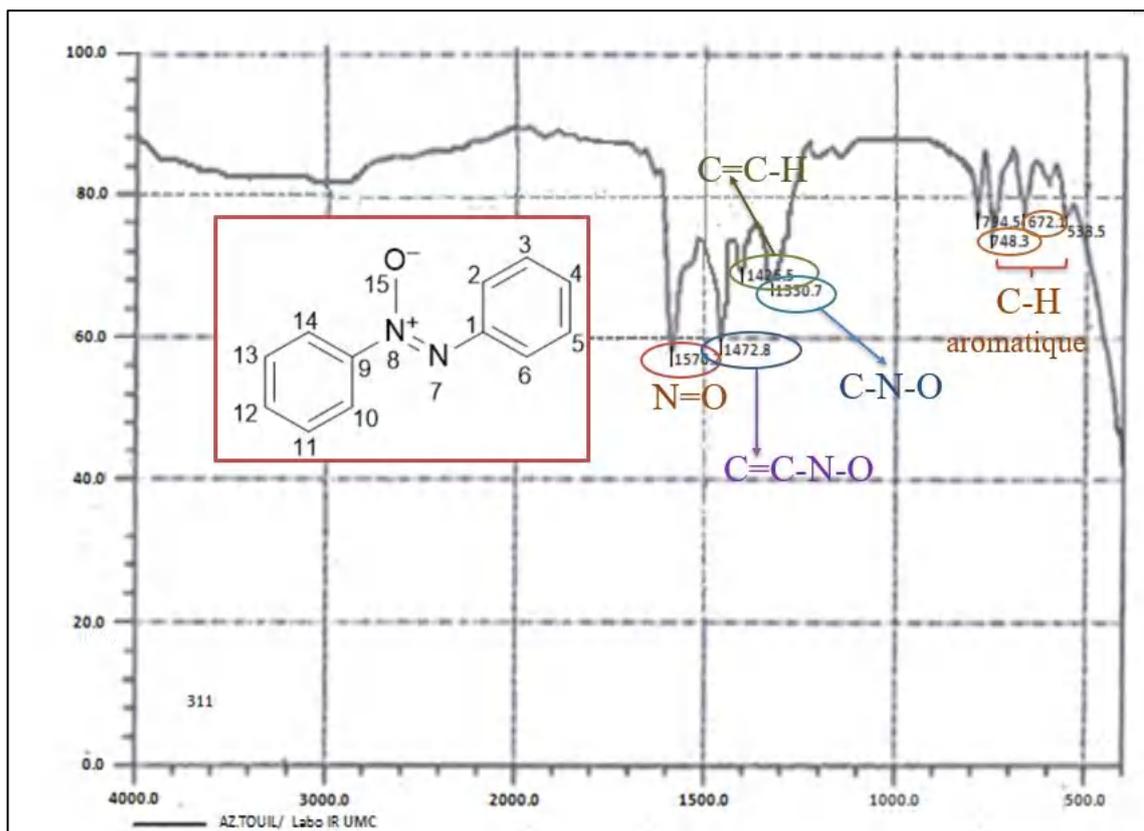


Figure IV-8: Spectre IR du produit Azoxybenzène (IIa).

IV.4.1.2 *o,o'*-Diméthylazoxybenzène (IIb) : recristallisé dans l'éthanol, p.f. 33-36 °C.

IV.4.1.2.1 Spectre RMN-¹H

- **RMN-¹H (250 MHz, DMSO-*d*₆)** : δ ppm 2,24 (s, 3H) ; 2,46 (s, 3H) ; 6,48 (dd, $J = 7,31$ - $6,65$ Hz, H-4) ; 6,62 (d, $J = 7,31$ Hz, H-5) ; 6,85 (dd, $J = 7,7$ - $6,83$ Hz, H-11) ; 6,87 (dd, $J = 8,03$ - $6,65$ Hz, H-3) ; 7,24 (d, $J = 7,98$ Hz, H-13) ; 7,58 (dd, $J = 7,98$ - $6,83$ Hz, H-12) ; 7,79 (d, $J = 8,03$ Hz, H-2) ; 8,02 (d, $J = 7,7$ Hz, H-10).

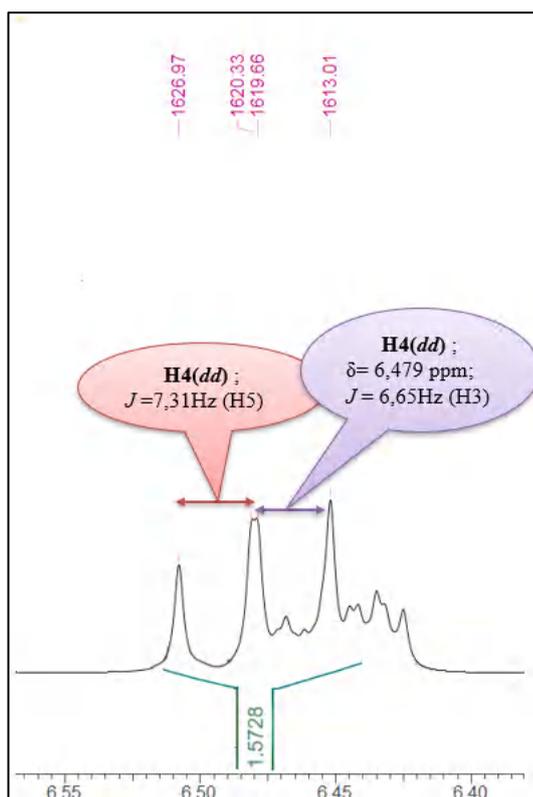


Figure IV-10: Étalement de la zone (6,452-6,507 ppm)

b1-2. Étalement de la zone (6,605-6,634 ppm)

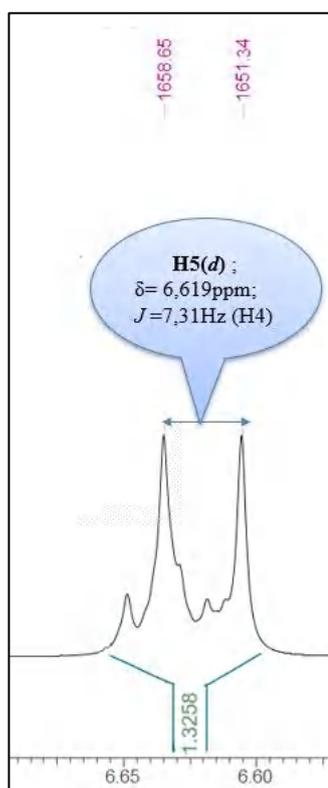


Figure IV-11: Étalement de la zone (6,605-6,634 ppm)

b1-3. Étalement de la zone (6,820-6,879 ppm)

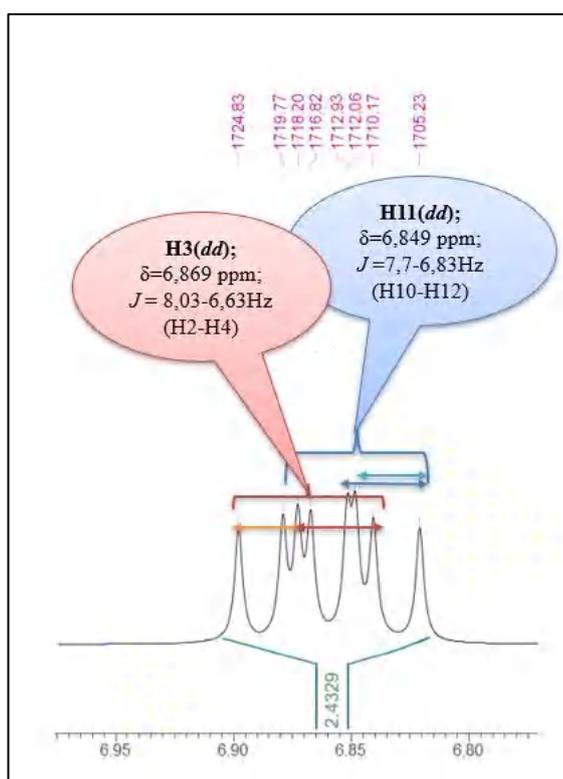


Figure IV-12: Étalement de la zone (6,820-6,879 ppm)

b1-4. Étalement de la zone (7,224-7,255 ppm)

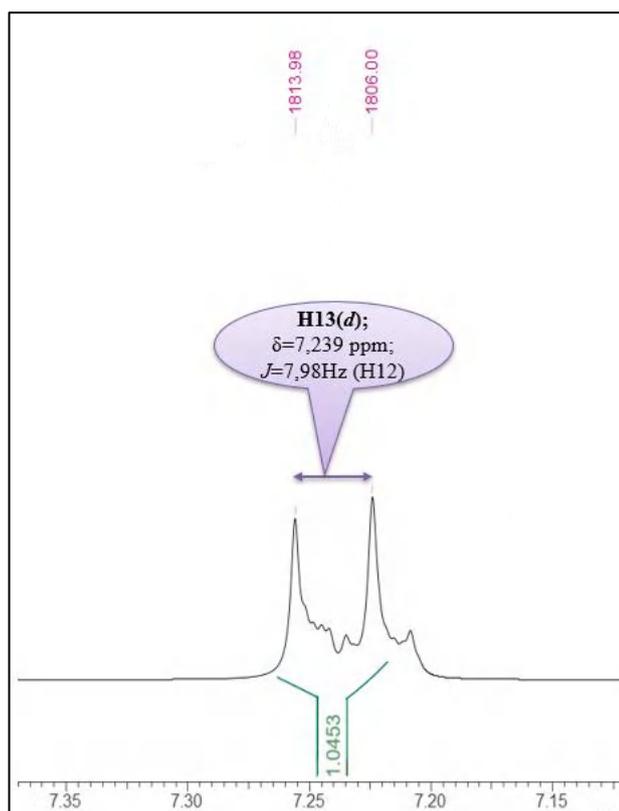


Figure IV-13: Étalement de la zone (7,224-7,255 ppm)

b1-5. Étalement de la zone (7,550-7,609 ppm)

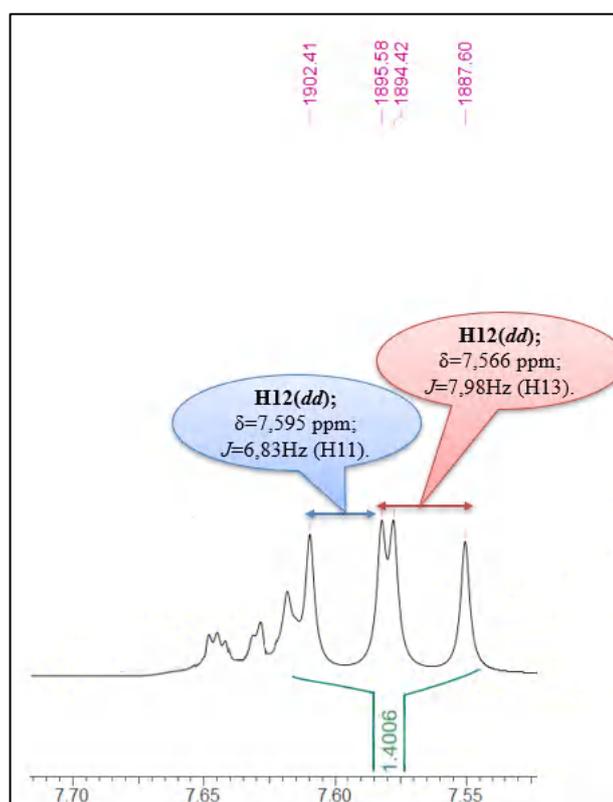


Figure IV-14: Étalement de la zone (7,550-7,609 ppm)

b1-6. Étalement de la zone (7,773-7,806 ppm)

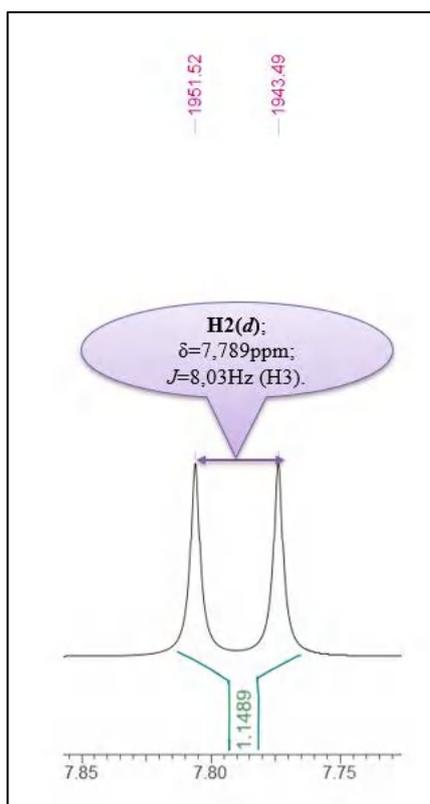


Figure IV-15: Étalement de la zone (7,773-7,806 ppm)

b1-7. Étalement de la zone (8,004-8,035 ppm)

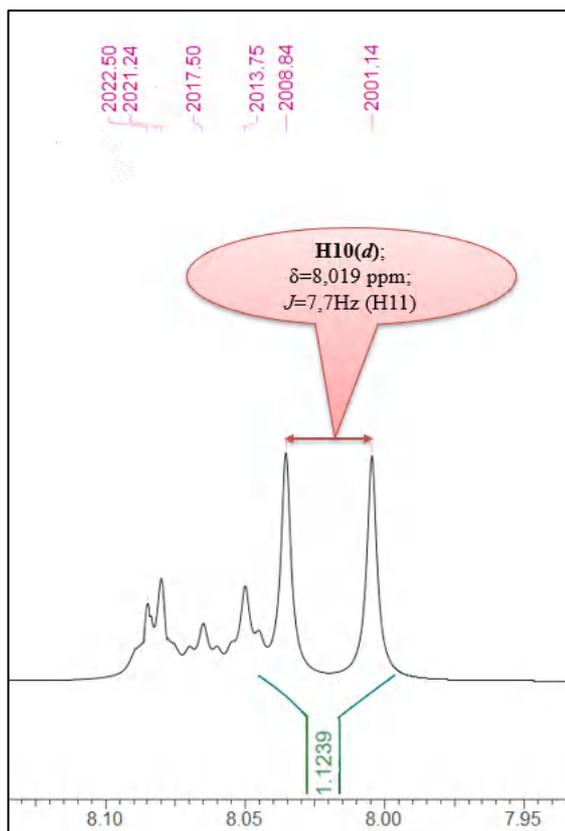


Figure IV-16: Étalement de la zone (8,004-8,035ppm)

IV.4.1.2.2 Spectre RMN-¹³C

- **RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆):** δ ppm 16,27 (CH₃-15); 17,89 (CH₃-16); 121,98 (C-2); 123,47 (C-4); 124,22 (C-10); 126,35 (C-11); 126,96 (C-3); 129,14 (C-12); 129,92 (C-13); 131,15 (C-5); 132,43 (C-14); 134,56 (C-6); 141,89 (C-1); 144,9 (C-9).

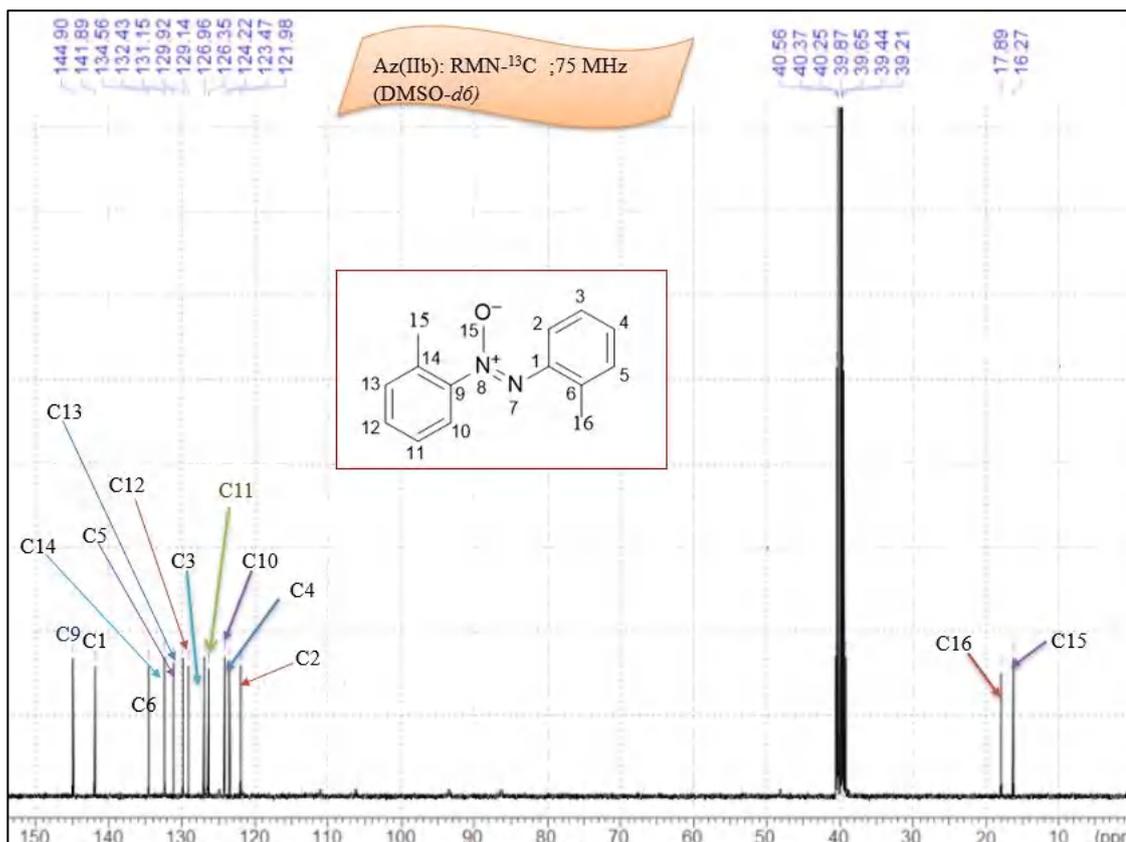


Figure IV-17: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *o,o'*-Diméthylazoxybenzène (IIb).

IV.4.1.2.3 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm^{-1} :

1682/1578: caractéristiques des vibrations de valence asymétrique du groupement N=O et également les bandes de vibration d'élongation des C=C du cycle aromatique.

1396: cette bande caractéristique de vibration de déformation du groupement CH₃ (Csp³-H) et peut être chevauchée, d'une part par la bande d'absorption de valence du groupement C-N et d'autre part, par la bande d'absorption de valence symétrique du vibreur N-O.

1207: peut être également attribué à l'absorption de valence du groupement C-N.

772: caractéristique de vibration de déformation hors le plan du groupement C-H d'un cycle aromatique *ortho*-disubstitué.

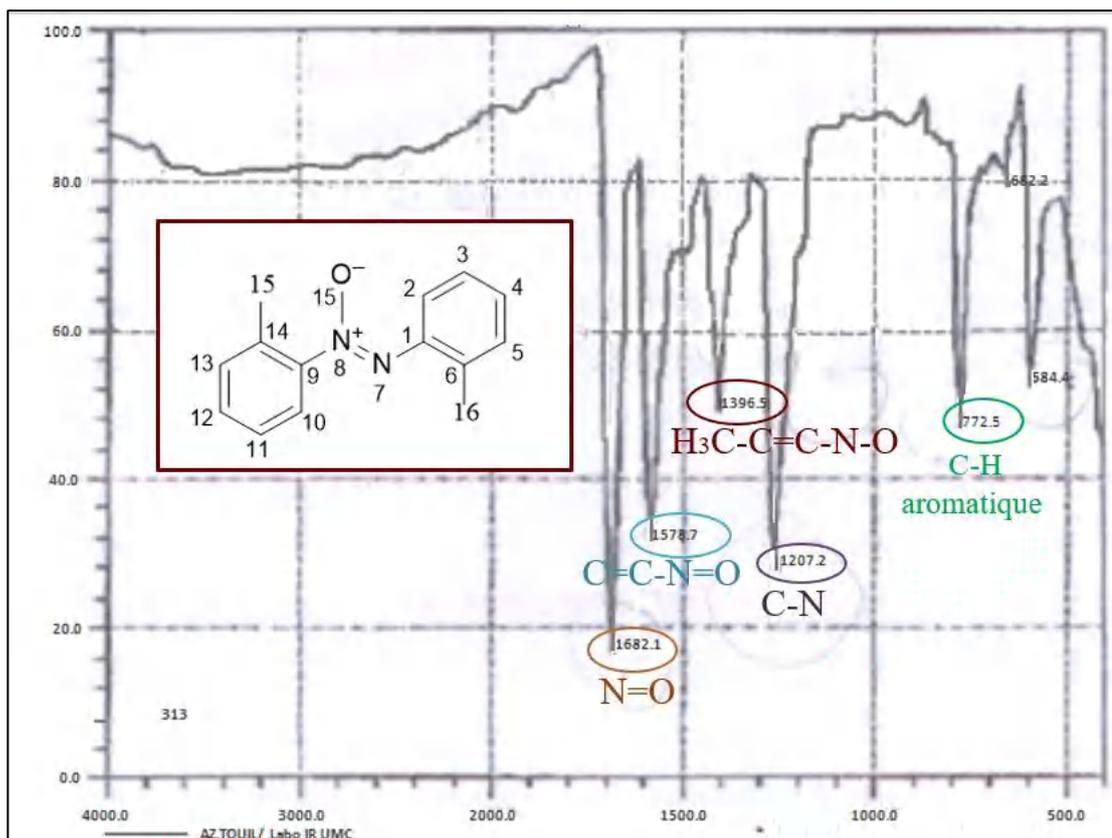


Figure IV-18: Spectre IR du produit *o,o'*-Diméthylazoxybenzène (IIb).

IV.4.1.3 *m,m'*-Diméthylazoxybenzène (IIc) : recristallisé dans l'éthanol, p.f. 33-36 °C.

IV.4.1.3.1 Spectre RMN-¹H

- RMN-¹H (250 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 2,28 (s, 3H-16) ; δ 2,32 (s, 3H-15) ; δ 6,25 (d, *J* = 6,75 Hz, 1H-4) ; δ 6,48 (dd, *J* = 8,18-7,62, 2H-13/5) ; δ 6,80 (dd, *J* = 1,22-9,57 Hz, 1H-12) ; δ 7,35 (s, 1H-2) ; δ 7,68 (dd, *J* = 1,25-7,45 Hz, 2H-6/14) ; δ 8,46 (s, 1H-10).

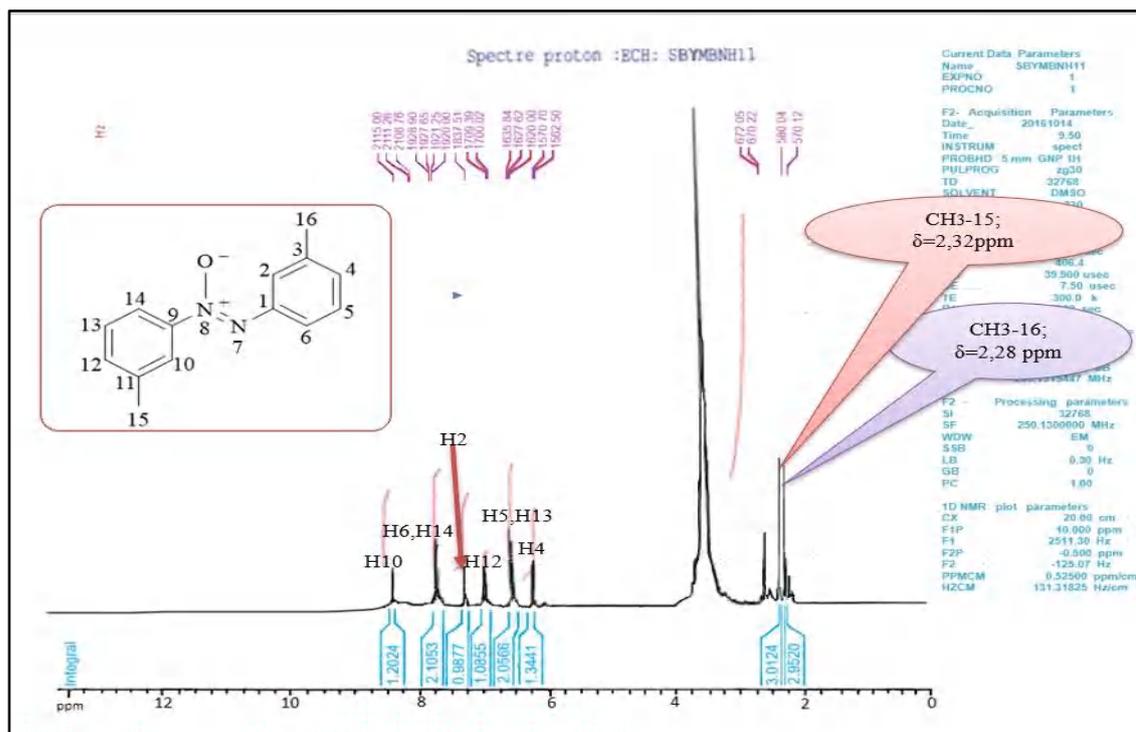


Figure IV-19: Spectre RMN-¹H (250 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *m,m'*-Diméthylazoxybenzène (IIc).

c1-1.Étalement de la zone (6,250-6,282 ppm)

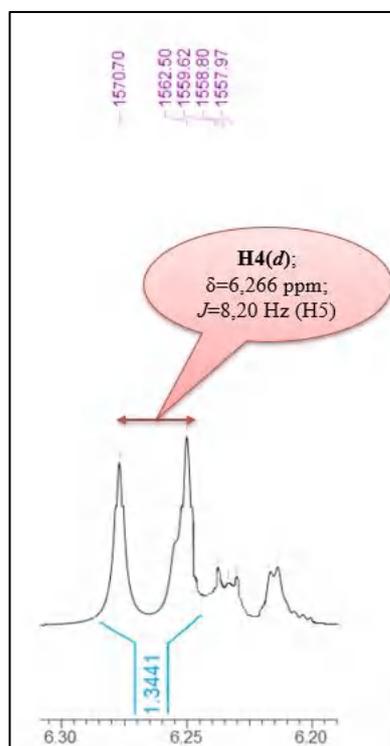


Figure IV-20: Étalement de la zone (6,250-6,282 ppm).

c1-2.Étalement de la zone (6,48- 6,543 ppm)

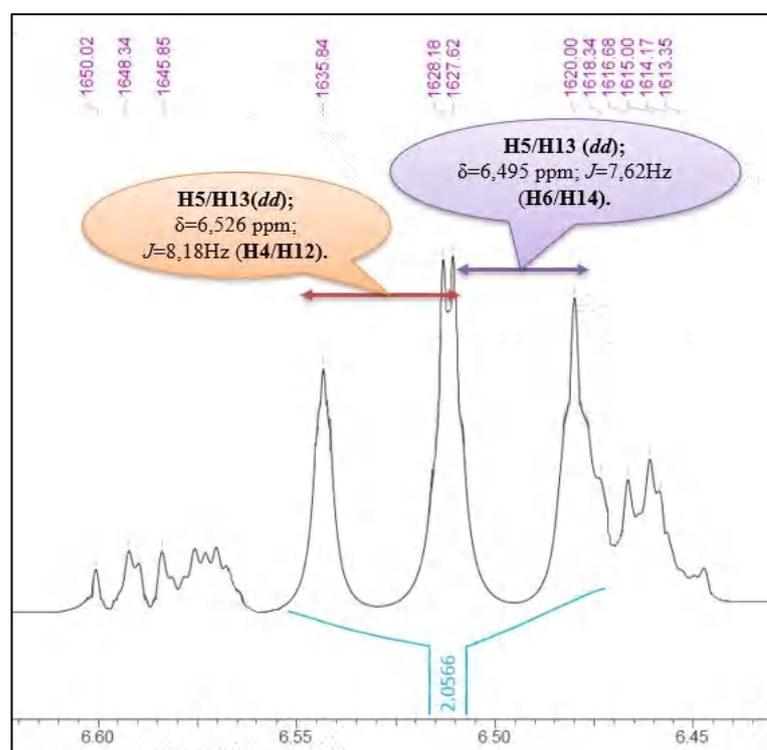


Figure IV-21: Étalement de la zone (6,48- 6,543 ppm).

c1-3. Étalement de la zone (6,800- 6,837 ppm)

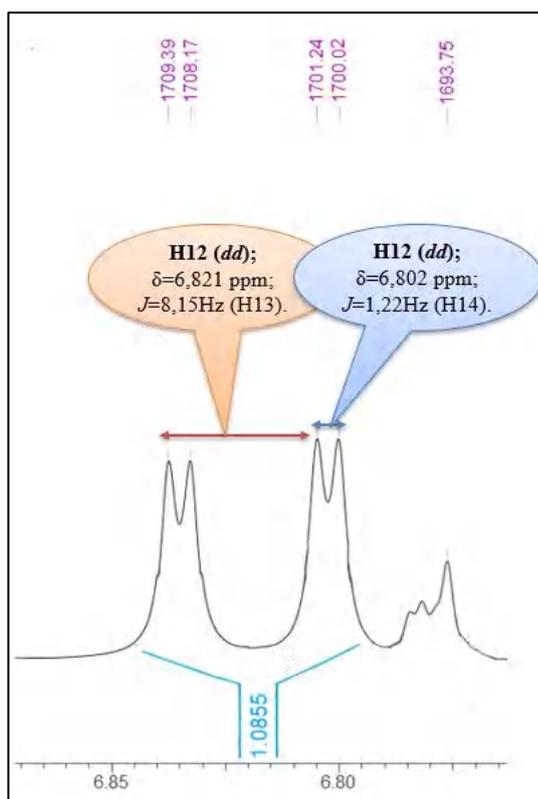


Figure IV-22: Étalement de la zone (6,800- 6,837 ppm).

c1-4. Étalement de la zone (7,35 ppm)

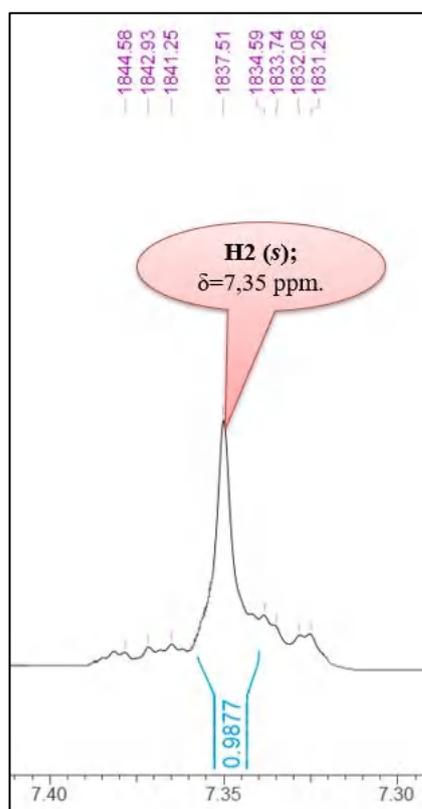


Figure IV-23: Étalement de la zone (7,35 ppm).

c1-5. Étalement de la zone (7,680-7,715 ppm)

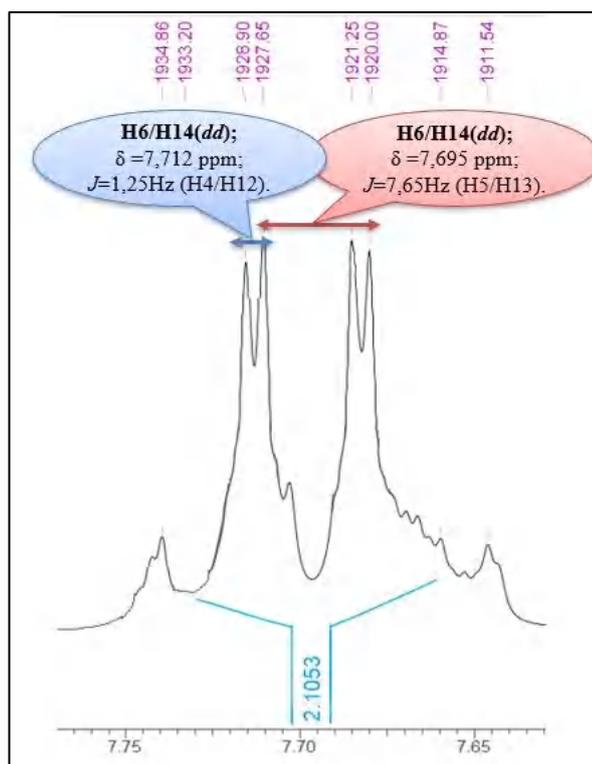


Figure IV-24: Étalement de la zone (7,680-7,715ppm).

c1-6. Étalement de la zone (8,46 ppm)

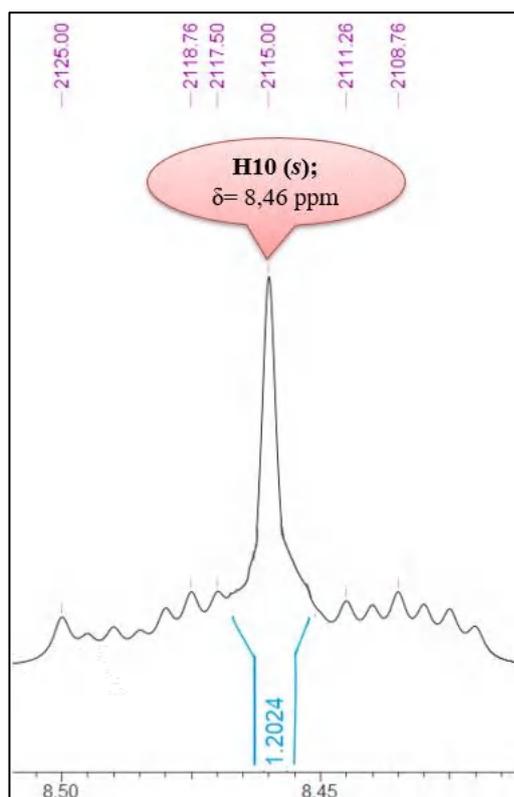


Figure IV-25: Étalement de la zone (8,46 ppm).

IV.4.1.3.2 Spectre RMN-¹³C

- NMR-¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 21,14 (C-16); 21,42 (C-15); 121,28 (C-6) 121,34 (C-14); 123,27 (C-2); 126,30 (C-10); 128,14 (C-13); 128,98 (C-4); 129,25 (C-5); 131,56 (C-12); 140,97 (C-3); 142,63 (C-11); 145,02 (C-9); 145,44 (C-1).

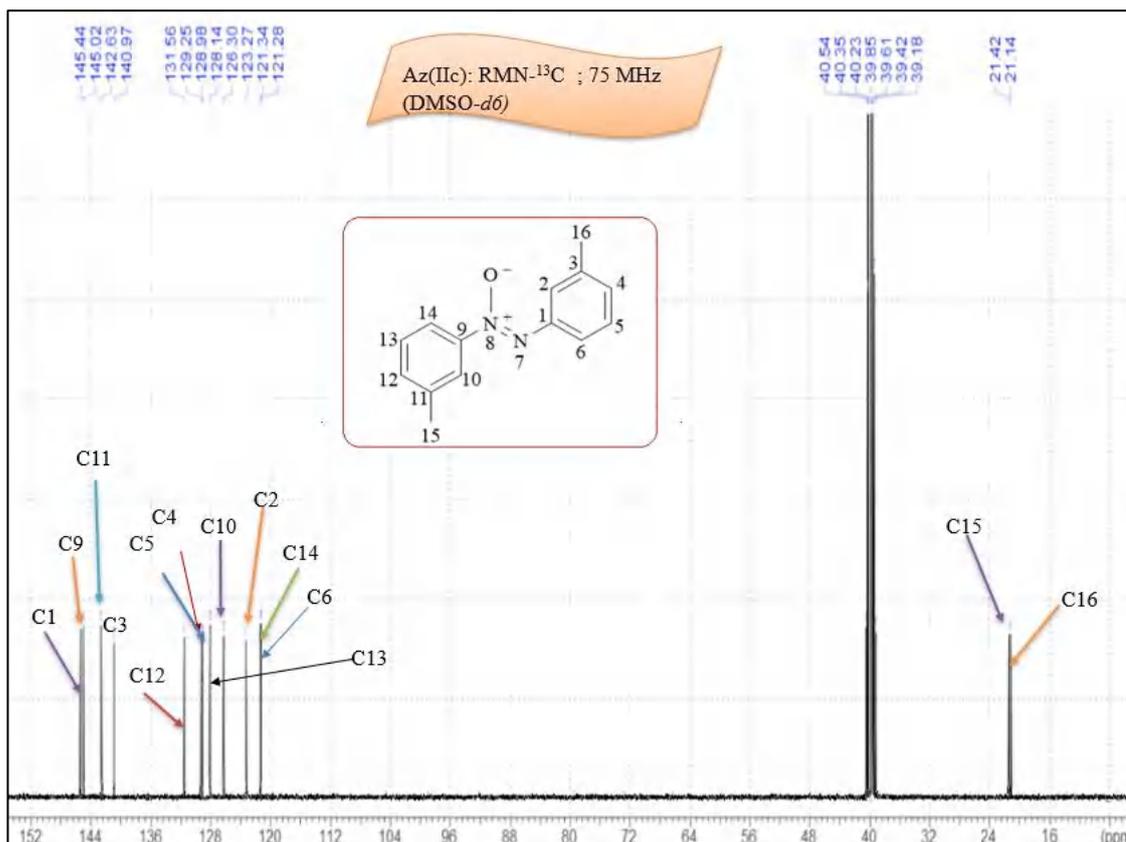


Figure IV-26: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *m,m'*-Diméthylazoxybenzène (IIc).

IV.4.1.3.3 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm^{-1} :

1601/1495/1460: caractéristiques des bandes de vibration d'élongation des C=C du cycle aromatique, ces bandes sont également chevauchées avec les bandes de vibrations de valence asymétrique du groupement N=O.

1415: caractéristique de la bande d'absorption de valence du groupement C-N.

1305: caractéristique de vibration de déformation du groupement CH₃ (Csp³-H).

683/789: caractéristique de vibration de déformation hors le plan du groupement Csp²-H d'un cycle aromatique *meta*-disubstitué.

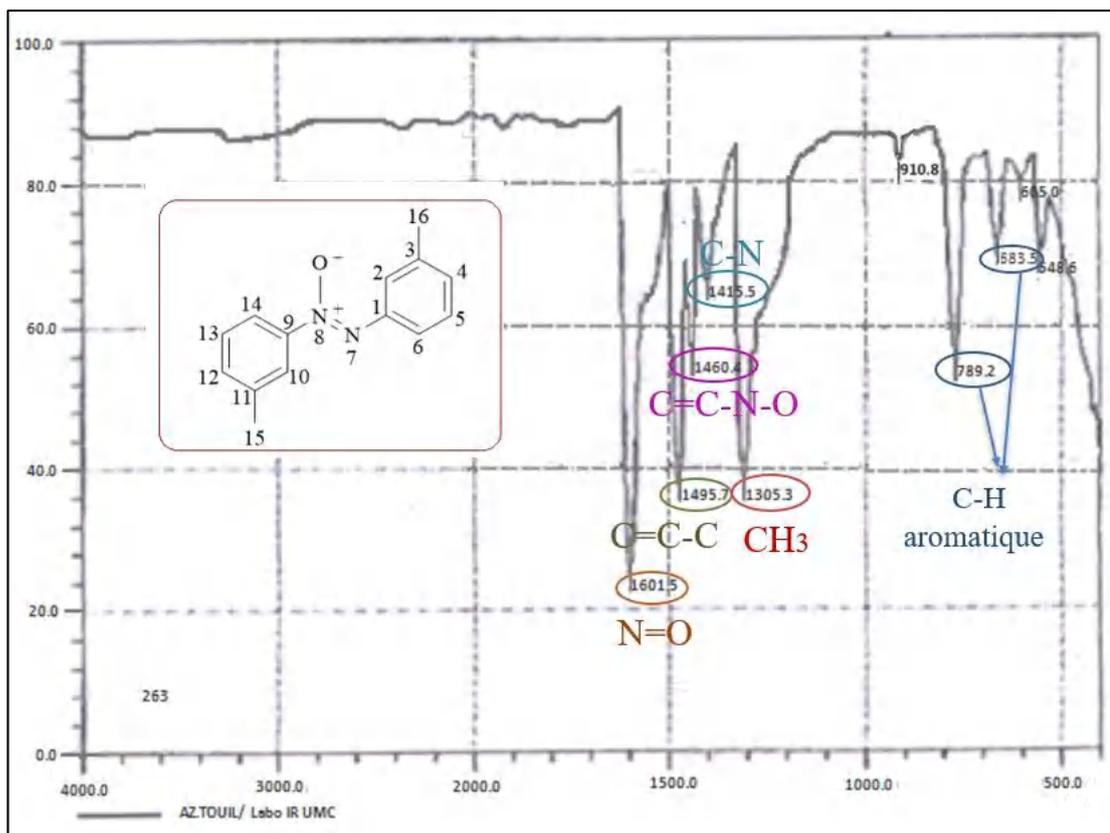


Figure IV-27: Spectre IR du produit *m,m'*-Diméthylazoxybenzène (IIc).

IV.4.1.4 *p,p'*-Diméthylazoxybenzène (IId) : recristallisé dans l'éthanol, p.f. 69-70 °C.

IV.4.1.4.1 Spectre RMN-¹H

- RMN-¹H(250 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 2,18 (*s*, 3H-16); 2,20 (*s*, 3H-15); 7,52 (*d*, *J* = 8,35 Hz, 2H-3/5); 7,83 (*d*, *J* = 7,26 Hz, 2H-11/13); 7,87 (*dd*, *J* = 8,35-2,04 Hz, 2H-2/6); 8,36 (*dd*, *J* = 7,26-2,04 Hz, 2H-10/14).

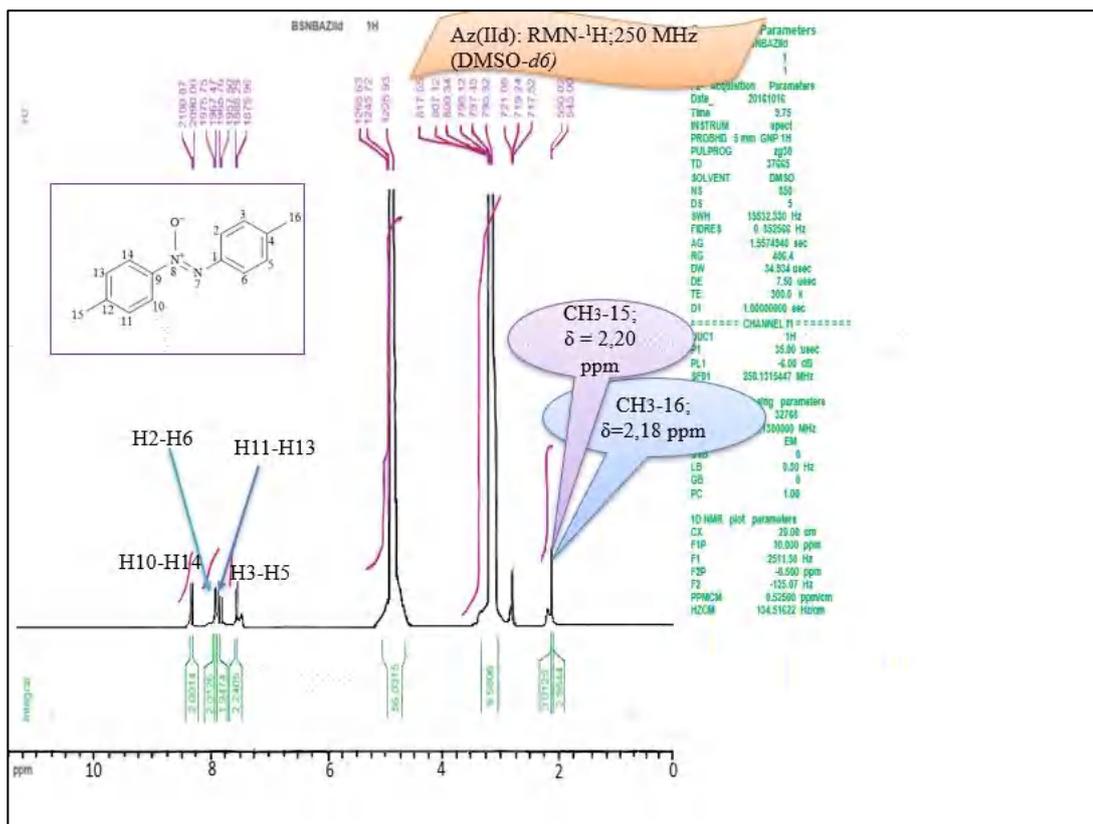


Figure IV-28: Spectre RMN-¹H (250 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *p,p'*-Diméthylazoxybenzène (IIc)

d1-1. Étalement de la zone (2,18-2,20 ppm)

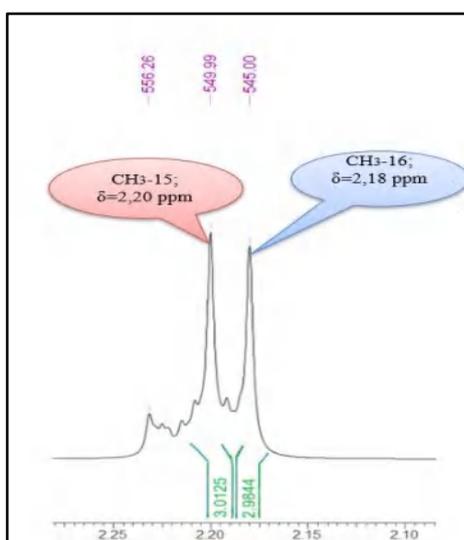


Figure IV-29: Étalement de la zone (2,18-2,20 ppm).

d1-2. Étalement de la zone (7,503-7,536 ppm)

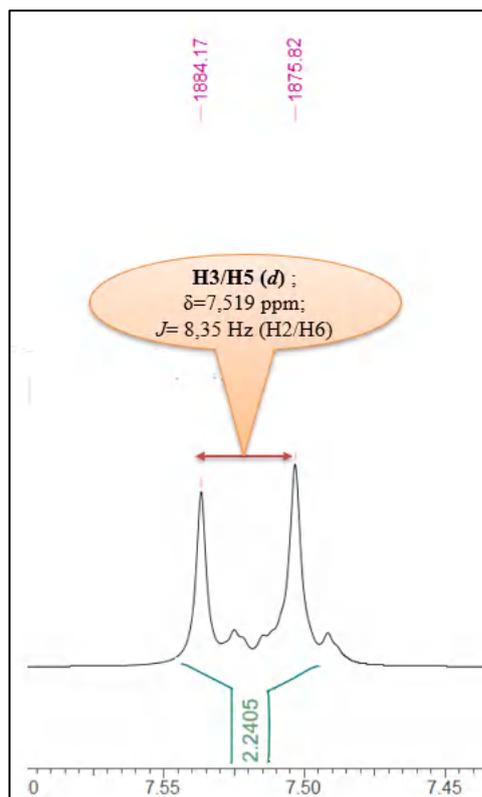


Figure IV-30: Étalement de la zone (7,503-7,536 ppm)

d1-3. Étalement de la zone (7,815-7,890 ppm)

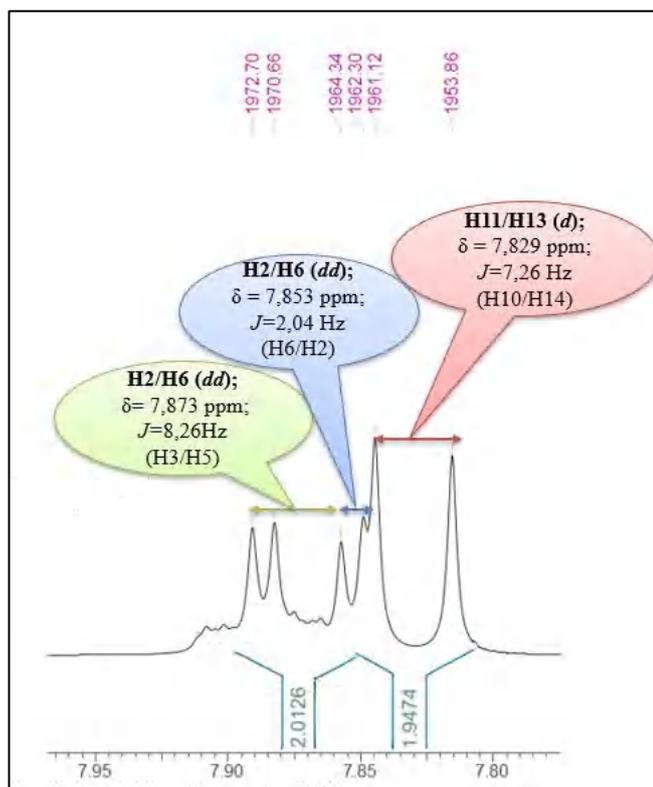


Figure IV-31: Étalement de la zone (7,815-7,890 ppm)

d1-4. Étalement de la zone (8,341-8,378 ppm)

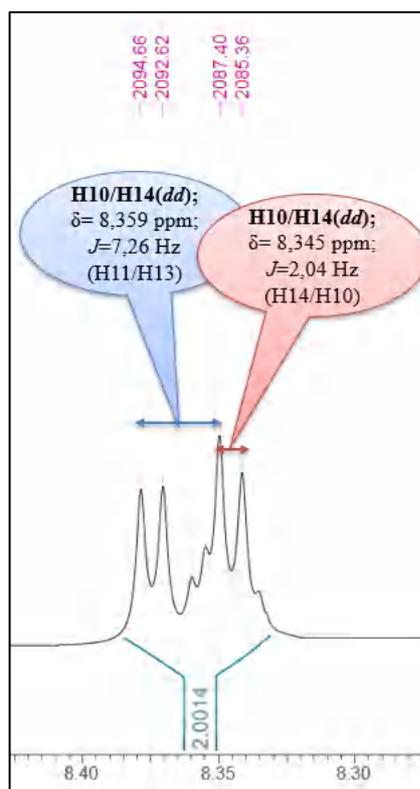


Figure IV-32: Étalement de la zone (8,341-8,378 ppm)

IV.4.1.4.2 Spectre RMN-¹³C

- **RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆):** δ ppm 20,38 (C-15); 21,82 (C-16); 122,79 (C2/C6); 123,72 (C10/C14); 129,15 (C3/C5); 129,68 (C11/C13); 135,98 (C4); 140,96 (C12); 142,77 (C1); 144,05 (C9).

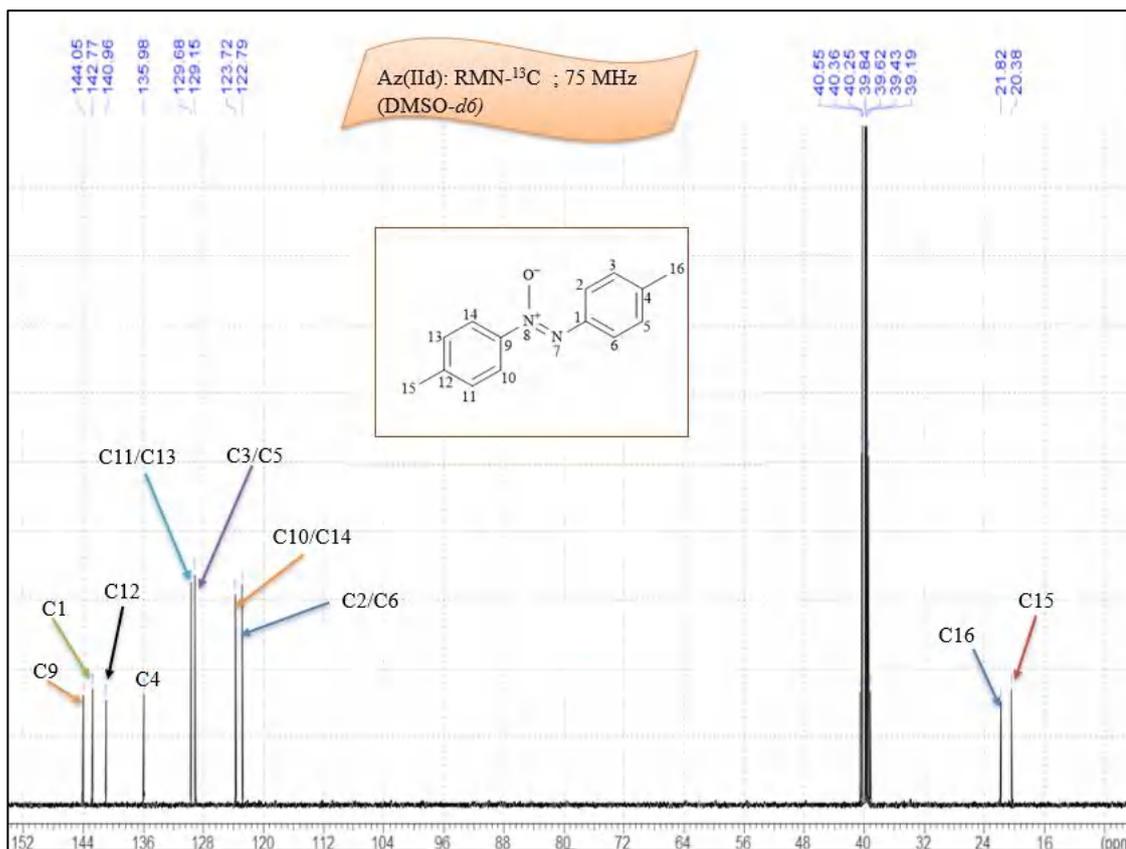


Figure IV-33: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *p,p'*-Diméthylazoxybenzène (IIId).

IV.4.1.4.3 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm^{-1} :

1603/1493/1458: caractéristiques des bandes de vibration d'élongation des C=C du cycle aromatique, ces bandes sont également chevauchées avec les bandes de vibrations de valence asymétrique du groupement N=O.

1415: caractéristique de la bande d'absorption de valence du groupement C-N.

1306: caractéristique de vibration de déformation du groupement CH₃ (Csp³-H).

787: caractéristique de vibration de déformation hors le plan du groupement Csp²-H d'un cycle aromatique *para*-disubstitué.

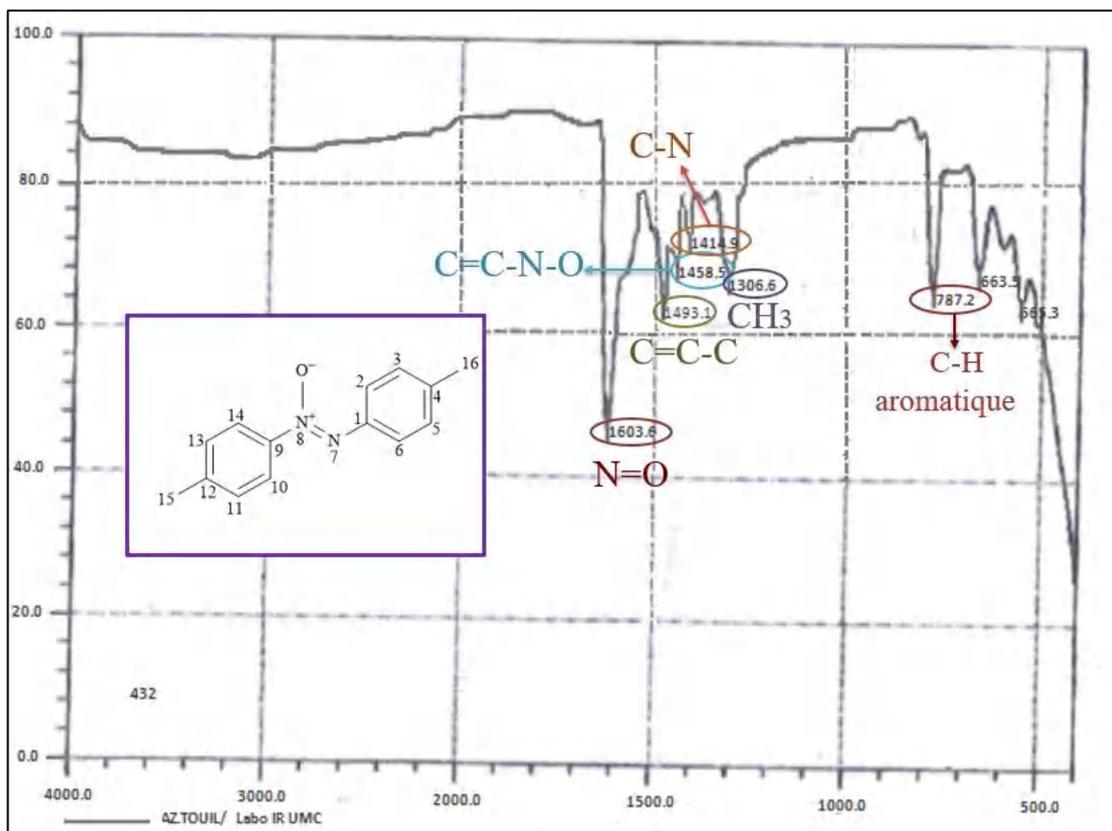


Figure IV-34: Spectre IR du produit *p,p'*-Diméthylazoxybenzène (IIId).

IV.4.1.5 *p,p'*-Dichloroazoxybenzène (IIe): recristallisé dans l'éthanol, p.f. 155-156 °C.

IV.4.1.5.1 Spectre RMN-¹H

- RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ ppm 7,60 (*d*, $J=8,6$ Hz, 2H-11/13); 7,64 (*d*, $J=9,4$ Hz, 2H-3/5); 8,07 (*dd*, $J=9,4-2,82$ Hz, 2H-2/6); 8,17 (*dd*, $J=8,7-2,83$ Hz, 2H-10/14).

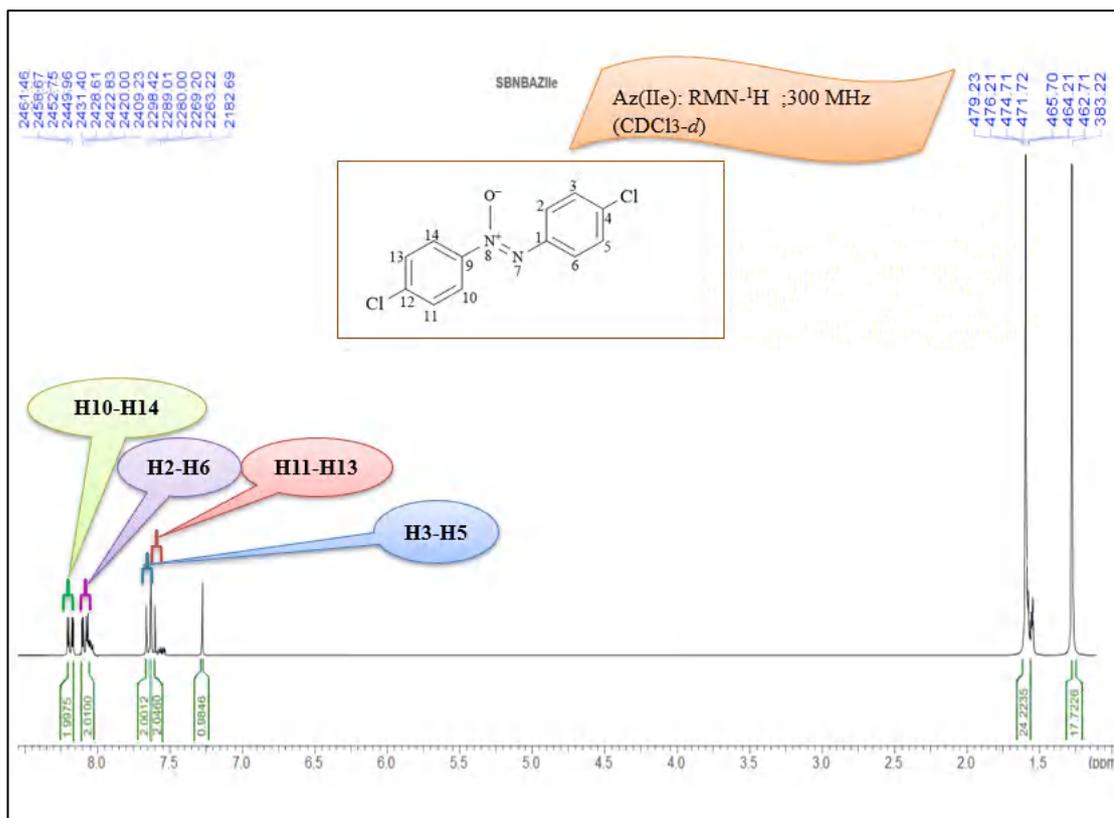


Figure IV-35: Spectre RMN-¹H (300 ppm, CDCl₃) du produit *p,p'*-Dichloroazoxybenzène (IIe)

e1-1.Étalement de la zone (7,603-7,663 ppm)

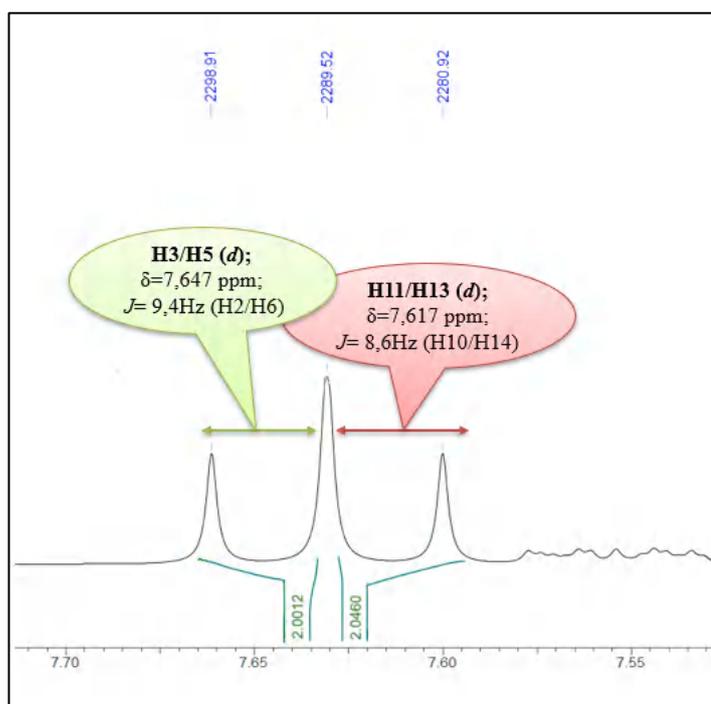


Figure IV-36: Étalement de la zone (7,603-7,663 ppm)

e1-2. Étalement de la zone (8,067-8,107 ppm)

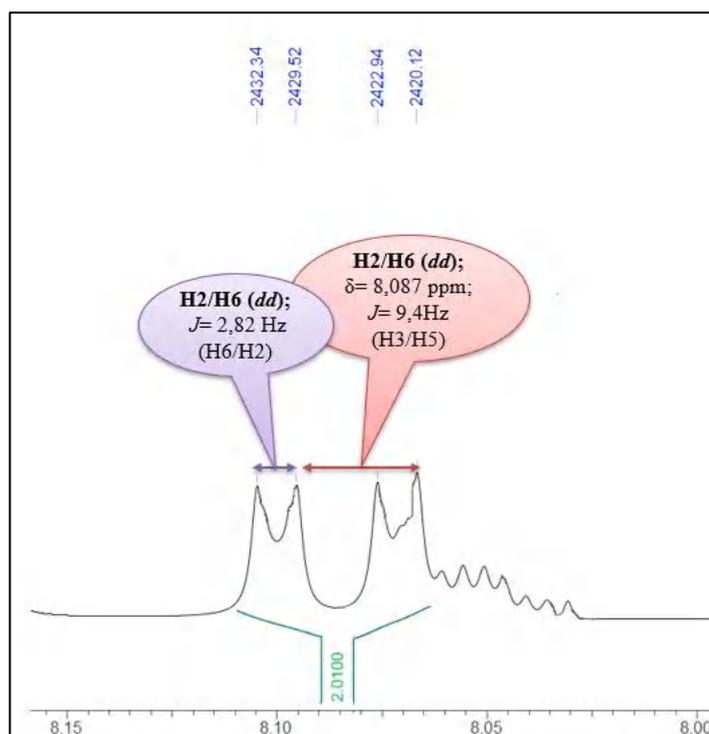


Figure IV-37: Étalement de la zone (8,067-8,107 ppm)

e1-3. Étalement de la zone (8,168-8,206 ppm)

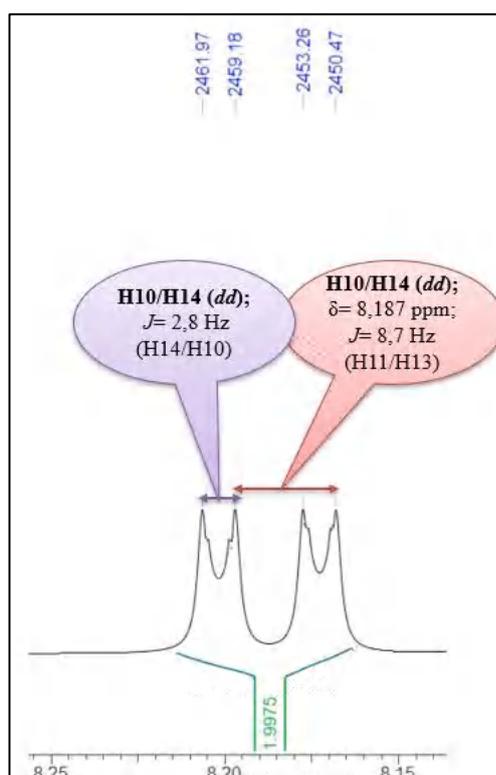


Figure IV-38: Étalement de la zone (8,168-8,206 ppm)

IV.4.1.5.2 Spectre RMN-¹³C

- RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ ppm 124.43 (C-10/14); 124.54 (C-2/6); 129.15 (C-3/5); 129.26 (C-11/13); 135.02 (C-12); 136.66 (C-4); 143.98 (C-1), 144.42 (C-9).

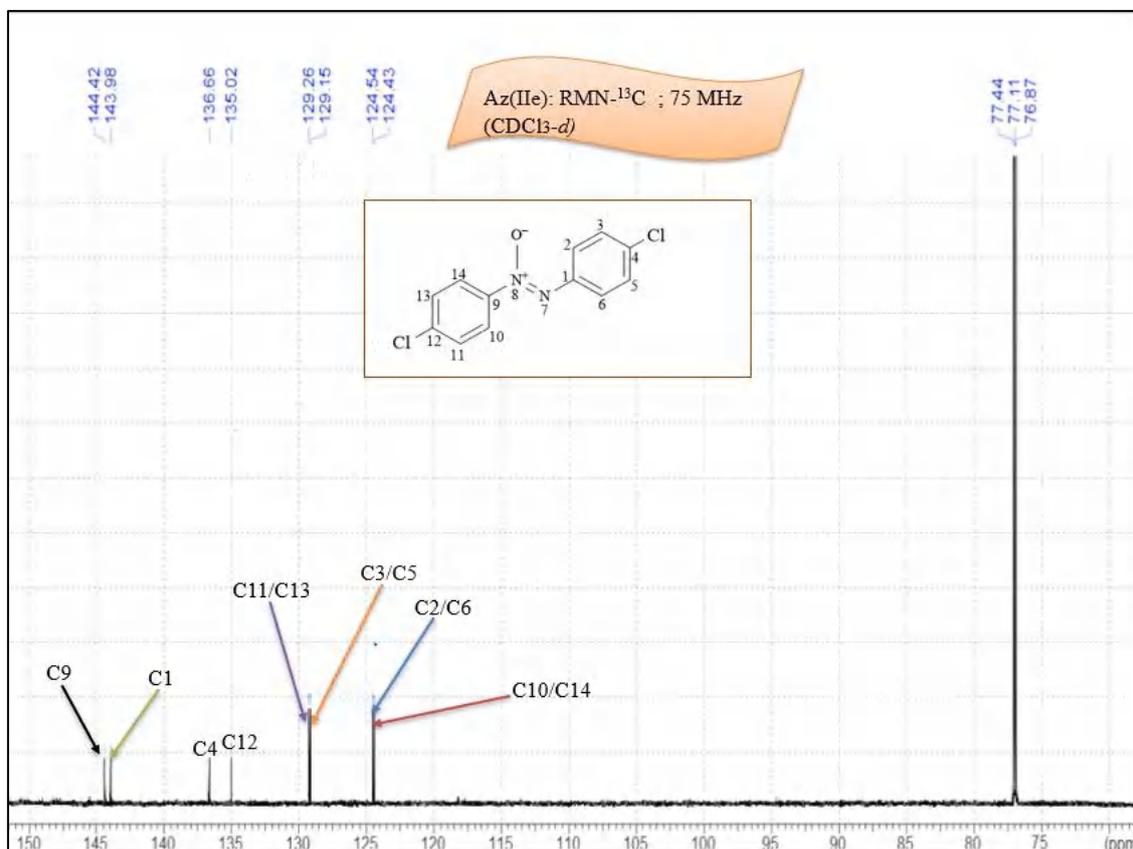


Figure IV-39: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, CDCl₃) du produit *p,p'*-Dichloroazoxybenzène (IIe)

e2-1.Étalement de la zone (124 et 130 ppm)

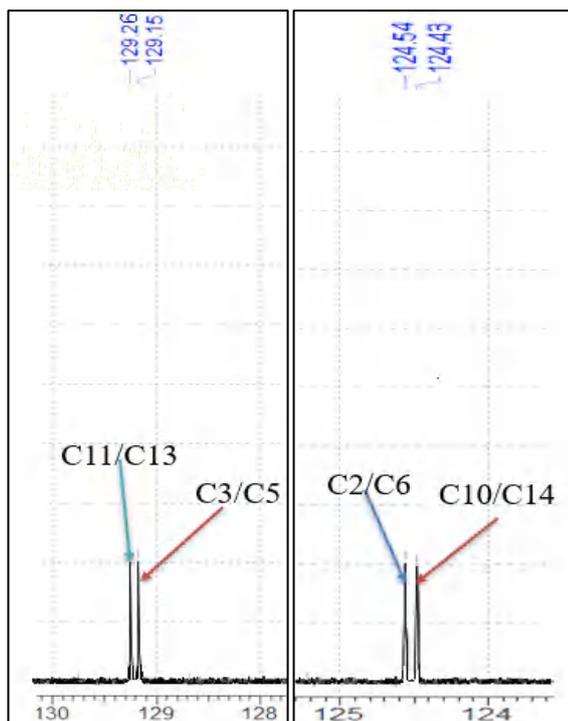


Figure IV-40 : Étalement de la zone (124 et 129 ppm).

IV.4.1.5.3 Spectre IR

1580: indique une bande de vibration de valence du groupement N=O.

1477/1402: caractéristique des bandes d'absorption de valence des C=C d'un cycle aromatique.

1325: caractéristique de la bande d'absorption de valence du groupement C-N et peut être également attribué à la bande d'absorption de valence du vibreur N-O.

827: caractéristique de vibration de déformation hors le plan du groupement C-H d'un cycle aromatique *para*-disubstitué.

687: cette bande caractérise une vibration de valence du groupement C-Cl.

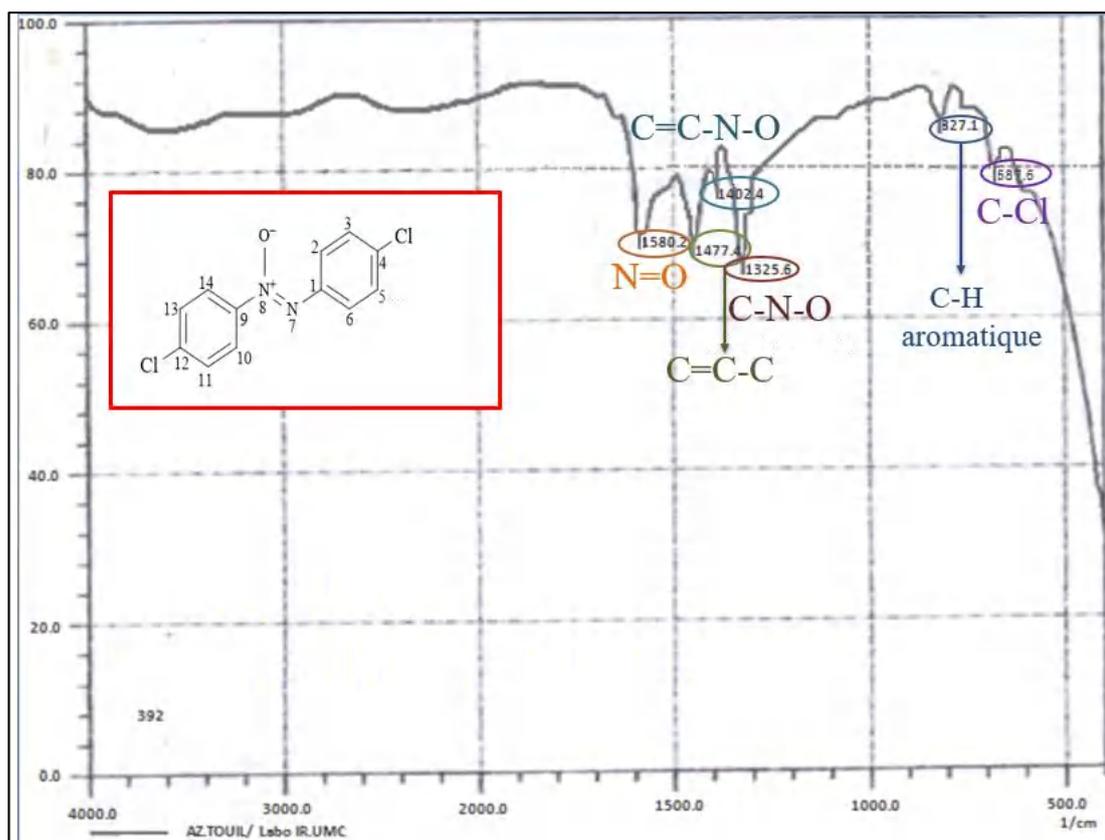


Figure IV-41: Spectre IR du produit *p,p'*-Dichloroazoxybenzène (IIe).

IV.4.1.6 *p,p'*- Dibromoazoxybenzène (IIf) : recristallisé dans l'éthanol, p.f.169-170 °C.

IV.4.1.6.1 Spectre RMN-¹H

- RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,66 (*d*, *J*=7,4 Hz, 2H-3/5); 7,68 (*d*, *J*=7,6 Hz, 2H-11/13); 7,80 (*dd*, *J*=7,4-2,83 Hz, 2H-2/6); 7,83 (*dd*, *J*=7,6-2,82 Hz, 2H-10/14).

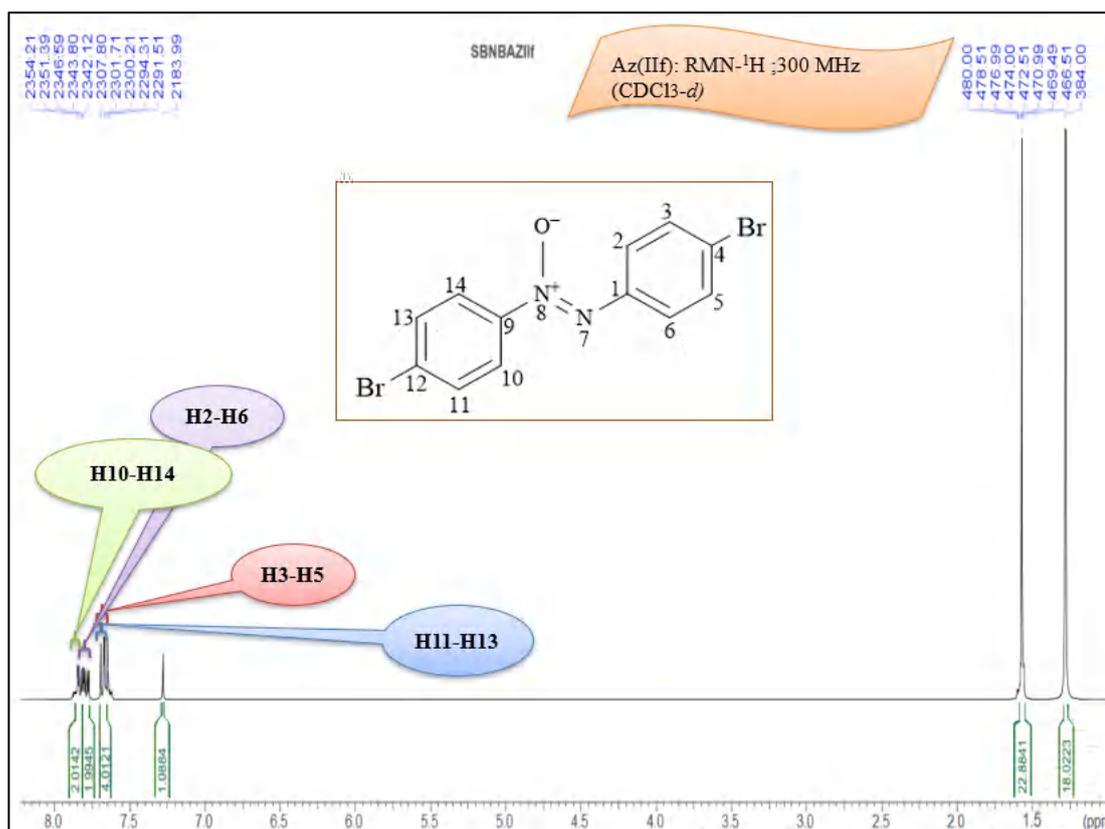


Figure IV-42: Spectre RMN-¹H (300 ppm, CDCl₃) du produit *p,p'*- Dibromoazoxybenzène (IIf).

f1-1.Étalement de la zone (7,65-7,69 ppm)

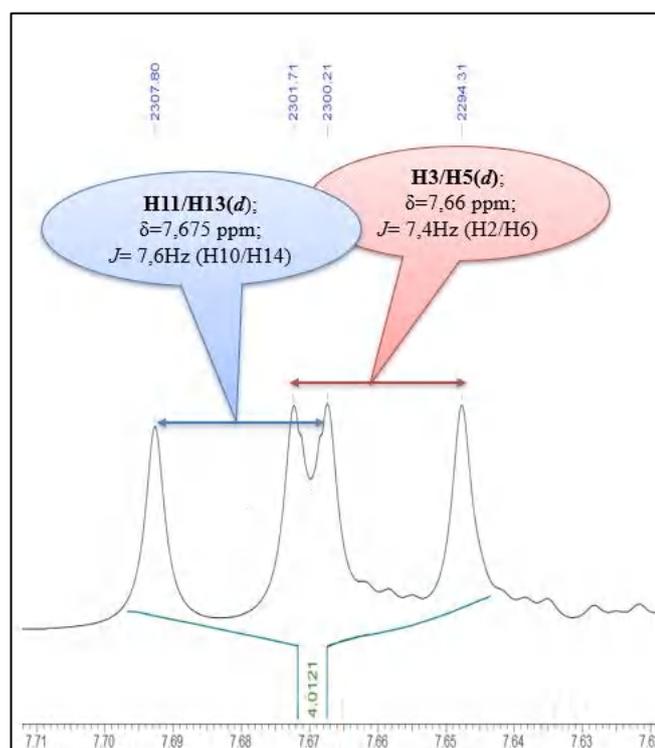


Figure IV-43: Étalement de la zone (7,65-7,69 ppm)

f1-2. Étalement de la zone (7,77-7,847 ppm)

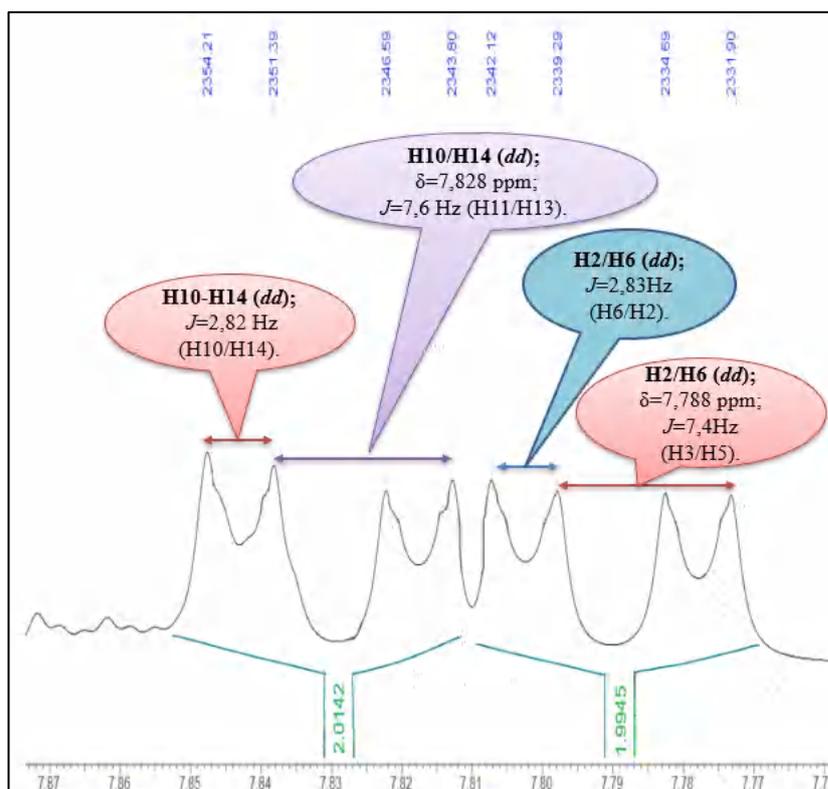


Figure IV-44: Étalement de la zone (7,77-7,847 ppm)

IV.4.1.6.2 Spectre RMN-¹³C

- RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ ppm 119.21 (C-1); 124.32 (C-3/5); 125.12 (C-13); 126.15 (C11/15); 132.36 (C-12/14); 132.71 (C-2/6); 144.61 (C-4); 145.24 (C-10).

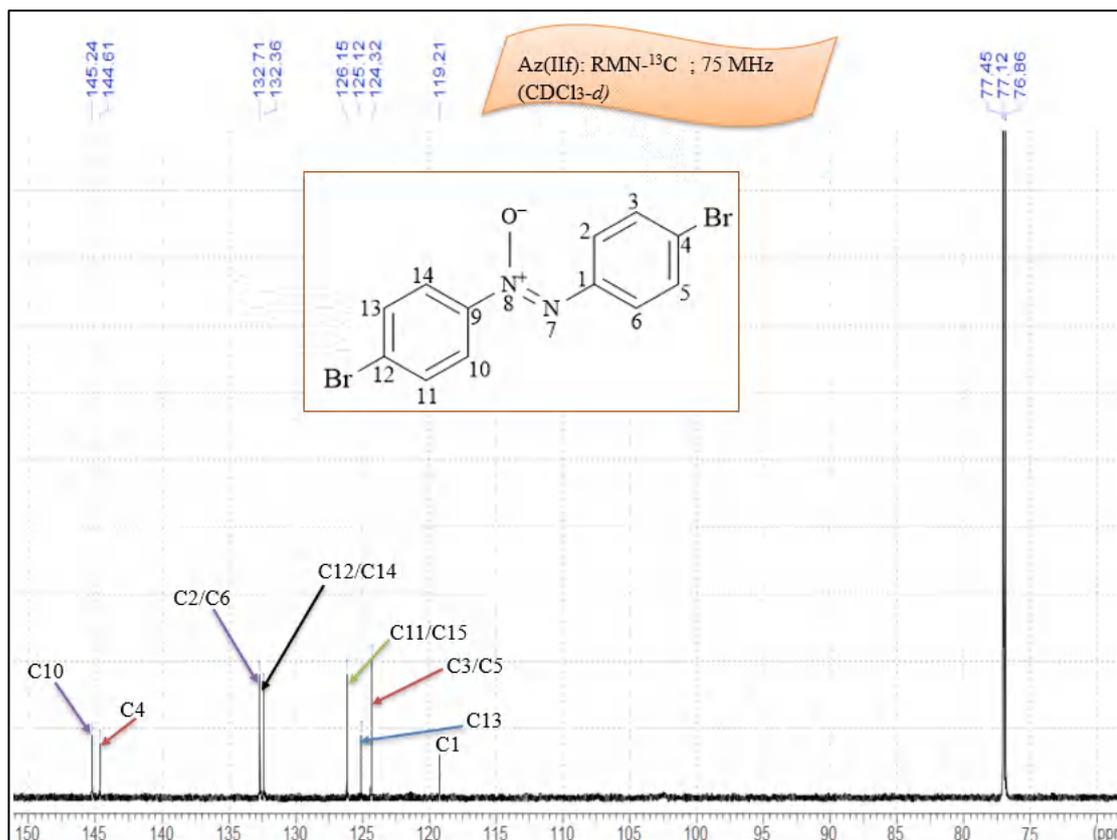


Figure IV-45: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, CDCl₃) du produit *p,p'*- Dibromoazoxybenzène (IIf).

IV.4.1.6.2 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm⁻¹:

1571: indique une bande de vibration de valence du groupement N=O.

1462/1389: caractéristiques des absorptions de valence des C=C du cycle aromatique.

1322: caractéristique de la bande d'absorption de valence du groupement C-N et peut être également attribué à la bande d'absorption de valence du vibreur N-O.

828: caractéristique de vibration de déformation hors le plan du groupement Csp²-H d'un cycle aromatique *para*-disubstitué.

667: cette bande caractérise une vibration de valence du groupement C-Br.

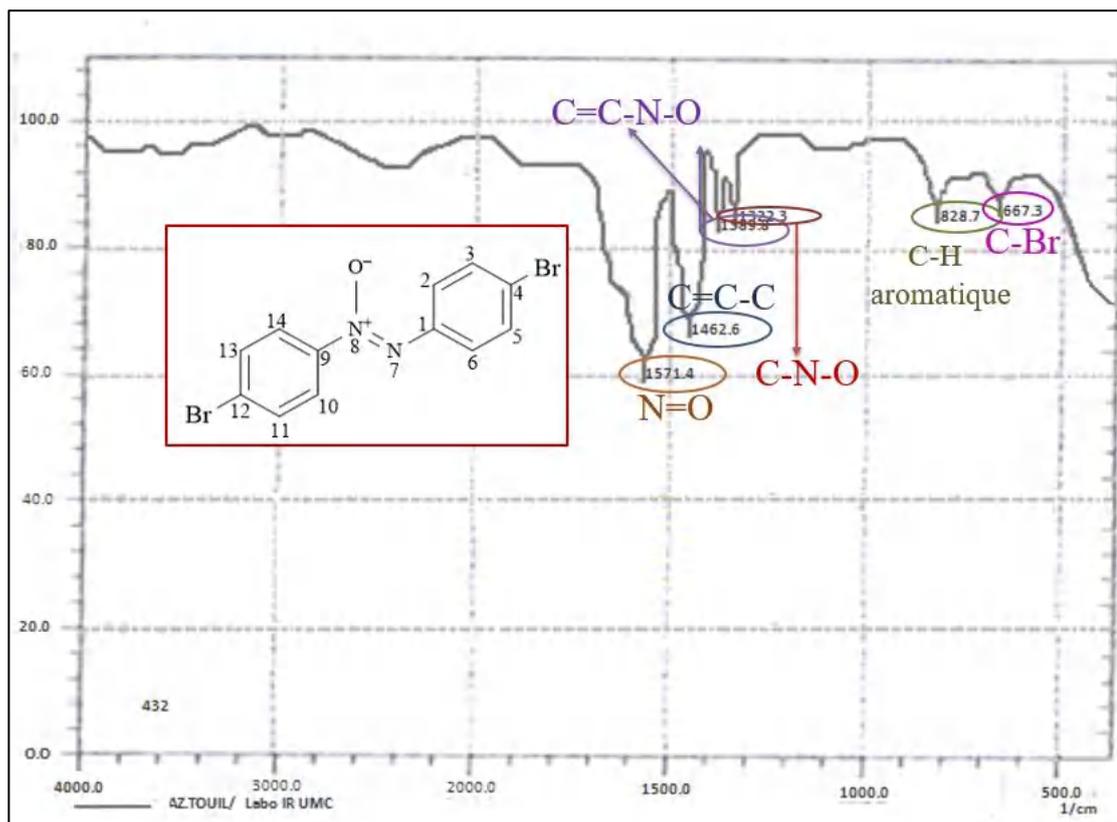


Figure IV-46: Spectre IR du produit *p,p'*- Dibromoazoxybenzène (IIf).

IV.4.1.7 *p,p'*- Diiodoazoxybenzène (IIg): recristallisé dans l'éthanol, p.f. 202-203 °C.

IV.4.1.7.1 Spectre RMN- ^1H

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,51 (*dd*, $J=6,6-2,0$ Hz, 2H-2/6); 7,54 (*d*, $J=6,6$ Hz, 2H-3/5); 8,17 (*d*, $J=6,2$ Hz, 2H-11/13); 8,48 (*dd*, $J=6,2-2,0$ Hz, 2H-10/14).

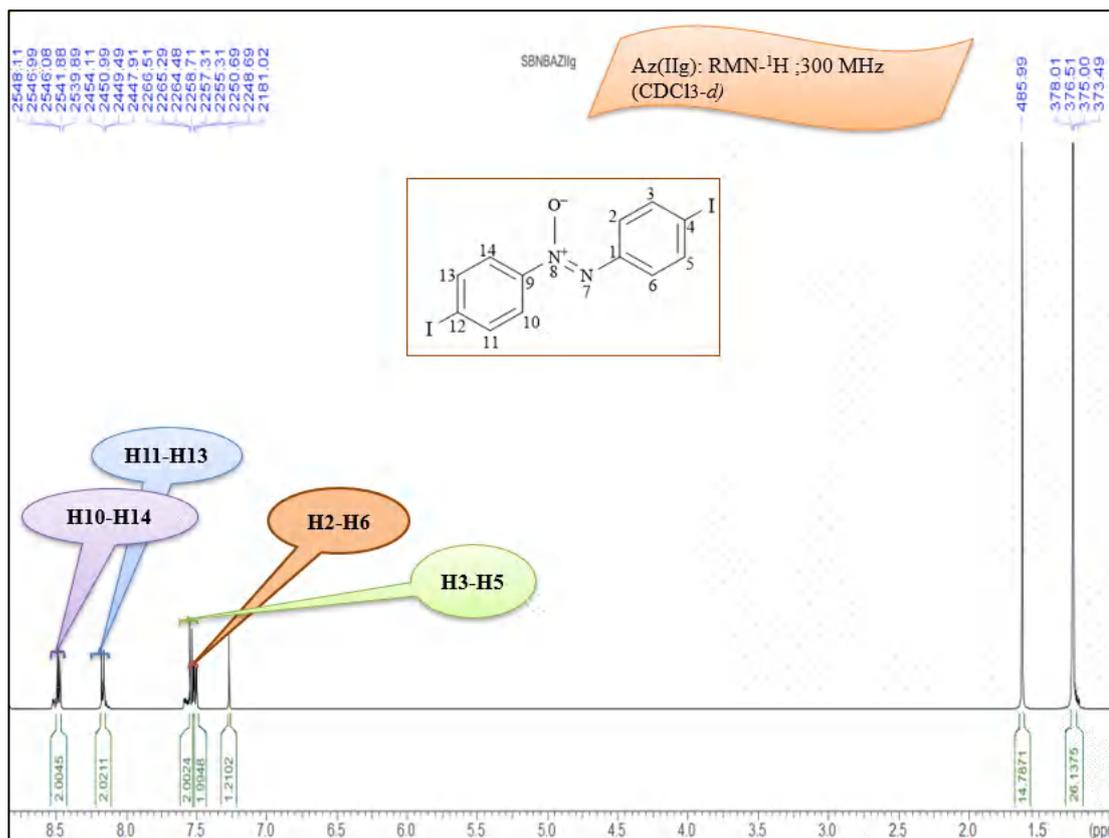


Figure IV-47: Spectre RMN- ^1H (300 ppm, CDCl_3) du produit p,p' -Diodoazoxybenzène (IIg)

g1-1.Étalement de la zone (7,65-7,69 ppm)

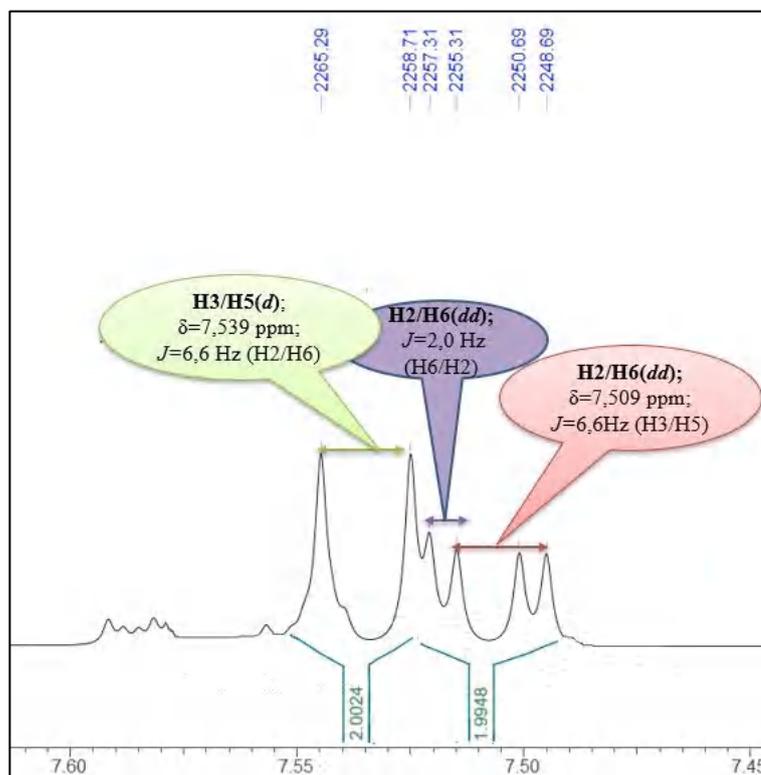


Figure IV-48: Étalement de la zone (7,65-7,69 ppm)

g1-2. Étalement de la zone (8,16-8,18 ppm)

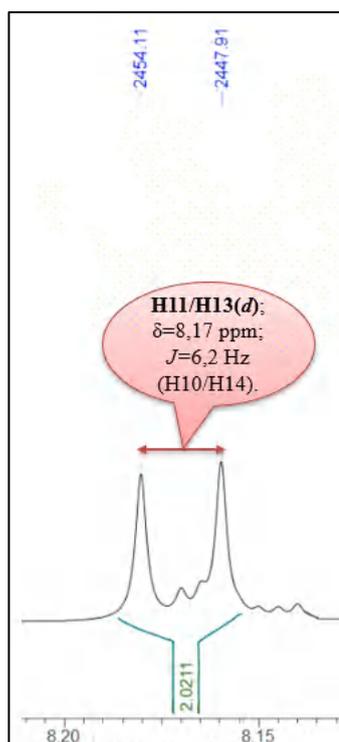


Figure IV-49: Étalement de la zone (8,16-8,18 ppm)

g1-3. Étalement de la zone (8,466-8,493ppm)

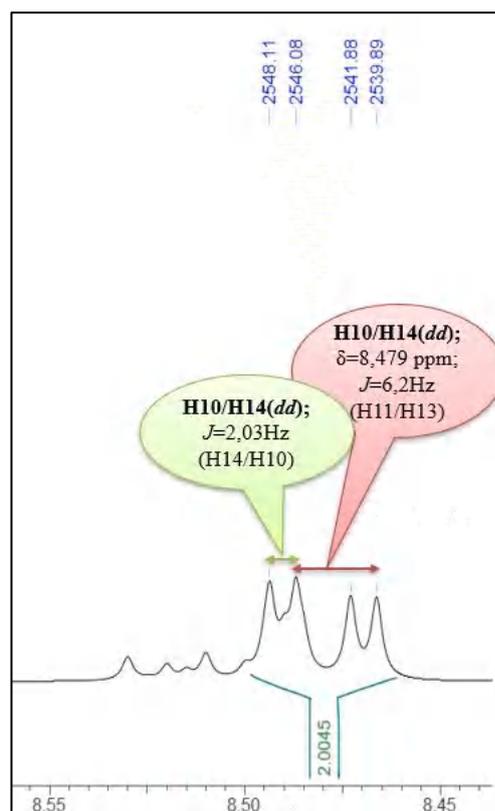


Figure IV-50: Étalement de la zone (8,466-8,493ppm)

IV.4.1.7.2 Spectre RMN-¹³C

- RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) : δ ppm 91.64 (C-4) ; 99.25 (C-12) ; 124.51 (C-2/6); 125.39 (C-10/14); 137.67 (C-3/5); 138.95 (C-11/13); 145.80 (C-1); 146.42 (C-9).

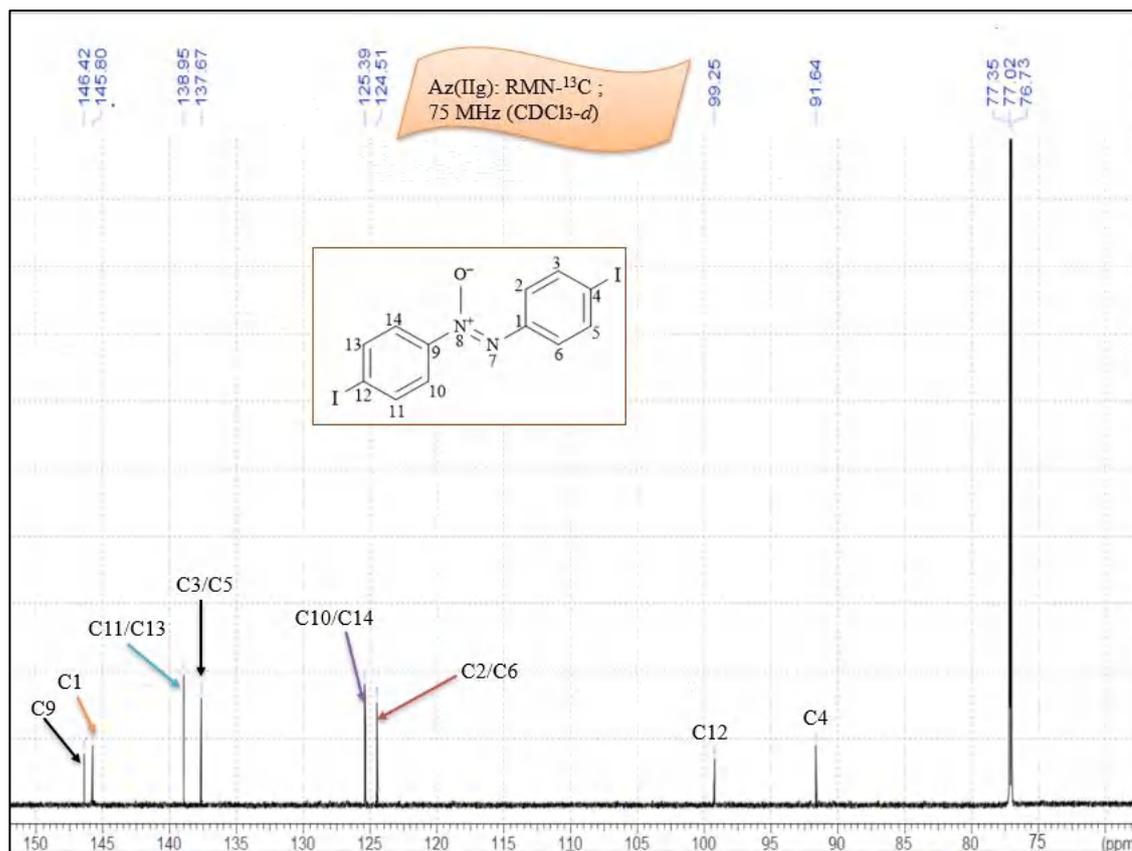


Figure IV-51: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, CDCl₃) du produit *p,p'*-Diodoazoxybenzène (IIg)

IV.4.1.7.3 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm⁻¹:

1570: indique une bande de vibration de valence du groupement N=O et également vibration de valence des C=C aromatique.

1470/1398: caractéristique les absorptions de valence des C=C d'un cycle aromatique.

1318: caractéristique de la bande d'absorption de valence du groupement C-N et peut être également attribué à la bande d'absorption de valence du vibreur N-O.

831: caractéristique de vibration de déformation hors le plan du groupement Csp²-H d'un cycle aromatique *para*-disubstitué.

605: cette bande caractérise une vibration de valence du groupement C-I.

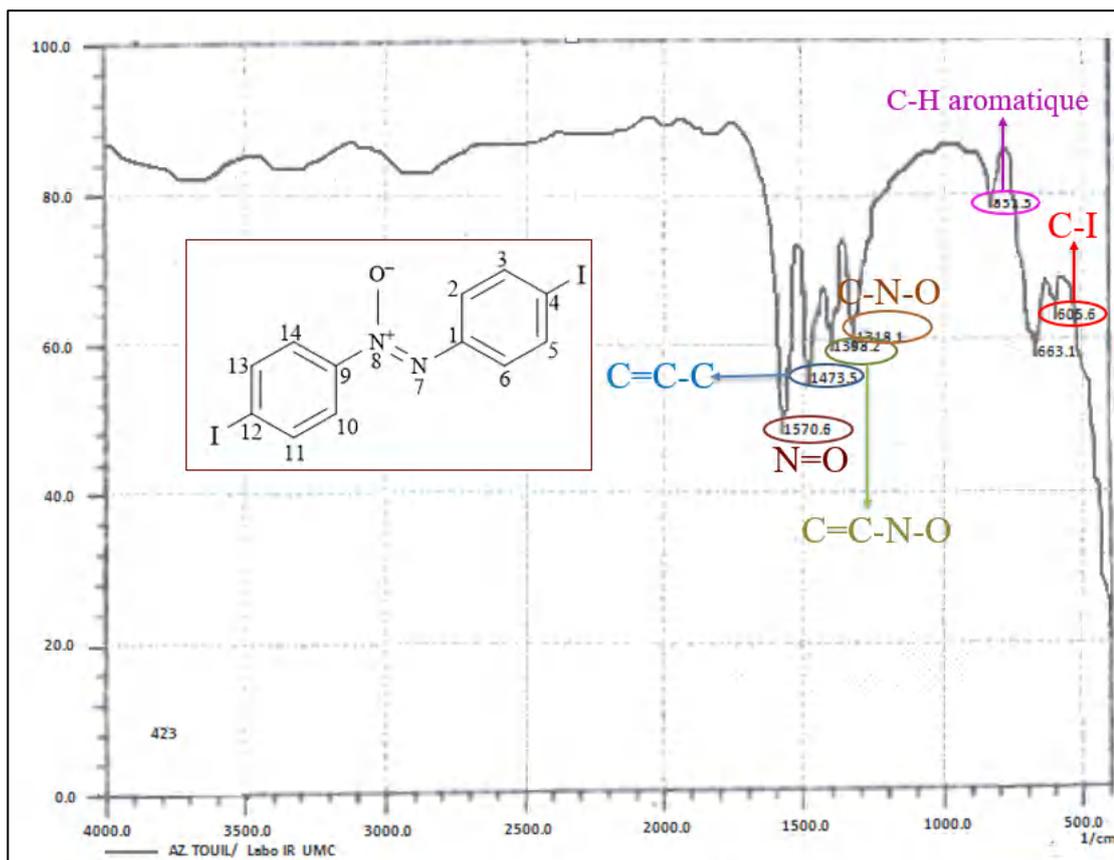


Figure IV-52: Spectre IR du produit *p,p'*- Diiodoazoxybenzène (IIg)

IV.4.1.8 *p,p'*- Dicarboxylazoxybenzène (IIh) : recristallisé dans DMF, p.f. 345-348 °C.

IV.4.1.8.1 Spectre RMN- ^1H

- RMN- ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm 6,20 (*dd*, $J=8,76-2,18$ Hz, 2H-2/6); 6,23 (*d*, $J=8,76$ Hz, 2H-3/5); 6,77 (*d*, $J=8,50$ Hz, 2H-11/13); 7,50 (*dd*, $J=8,50-2,18$, 2H-10/14); 12,5 (*s*, 2H).

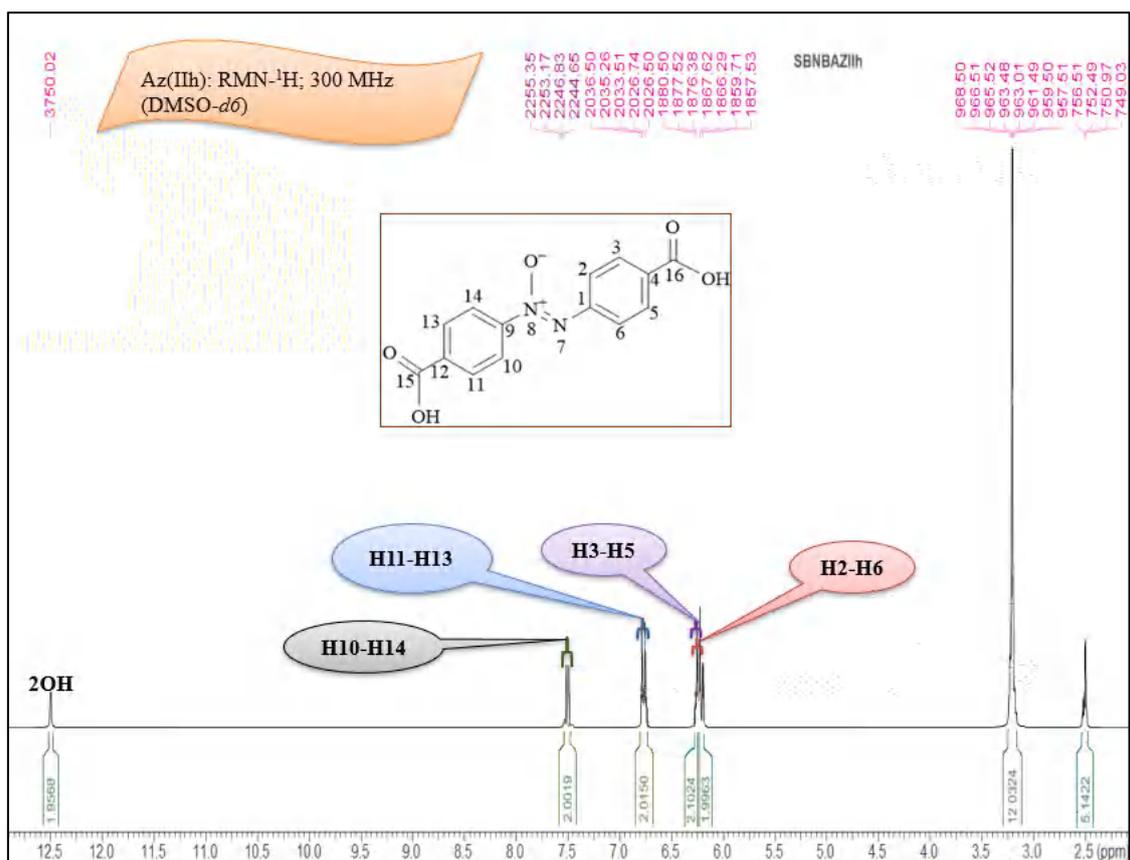


Figure IV-53: Spectre RMN-¹H (300 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *p,p'*-Dicarboxylazoxybenzène (IIh)

h1-1.Étalement de la zone (6,191-6,264 ppm)

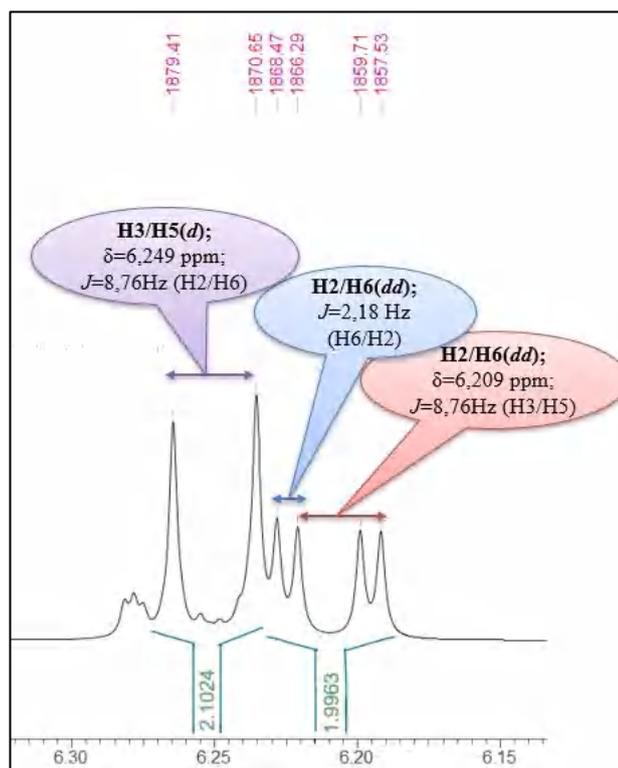


Figure IV-54: Étalement de la zone (6,191-6,264 ppm)

h1-2. Étalement de la zone (6,755-6,784 ppm)

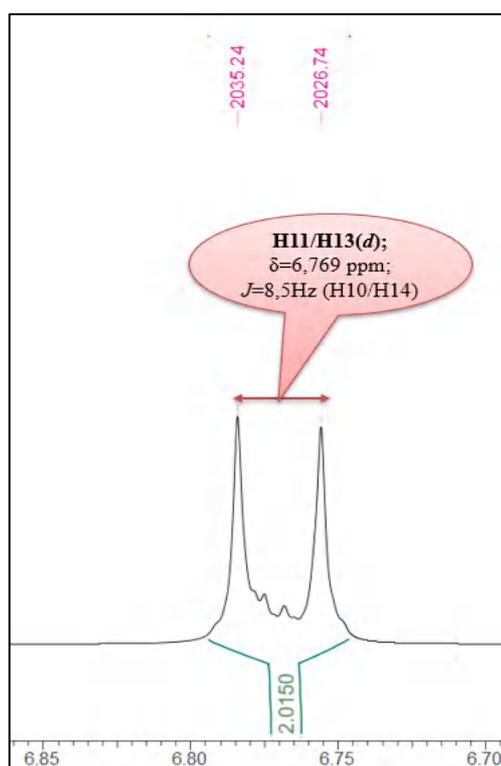


Figure IV-55: Étalement de la zone (6,755-6,784 ppm)

h1-3. Étalement de la zone (7,482-7,517 ppm)

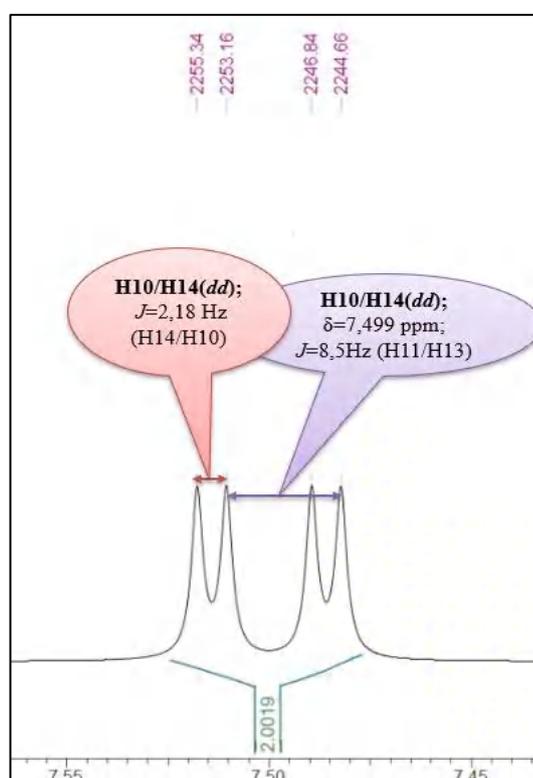


Figure IV-56: Étalement de la zone (7,482-7,517ppm).

IV.4.1.8.2 Spectre RMN-¹³C

- **RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆):** δ ppm 122,87 (C-2/6); 123,31 (C-10/14); 125,40 (C-4); 131,17 (C-3/5); 131,38 (C-11/13); 131,53 (C-12); 150,01 (C-9); 150,12 (C-1); 168,17 (C-15); 172,39 (C-16).

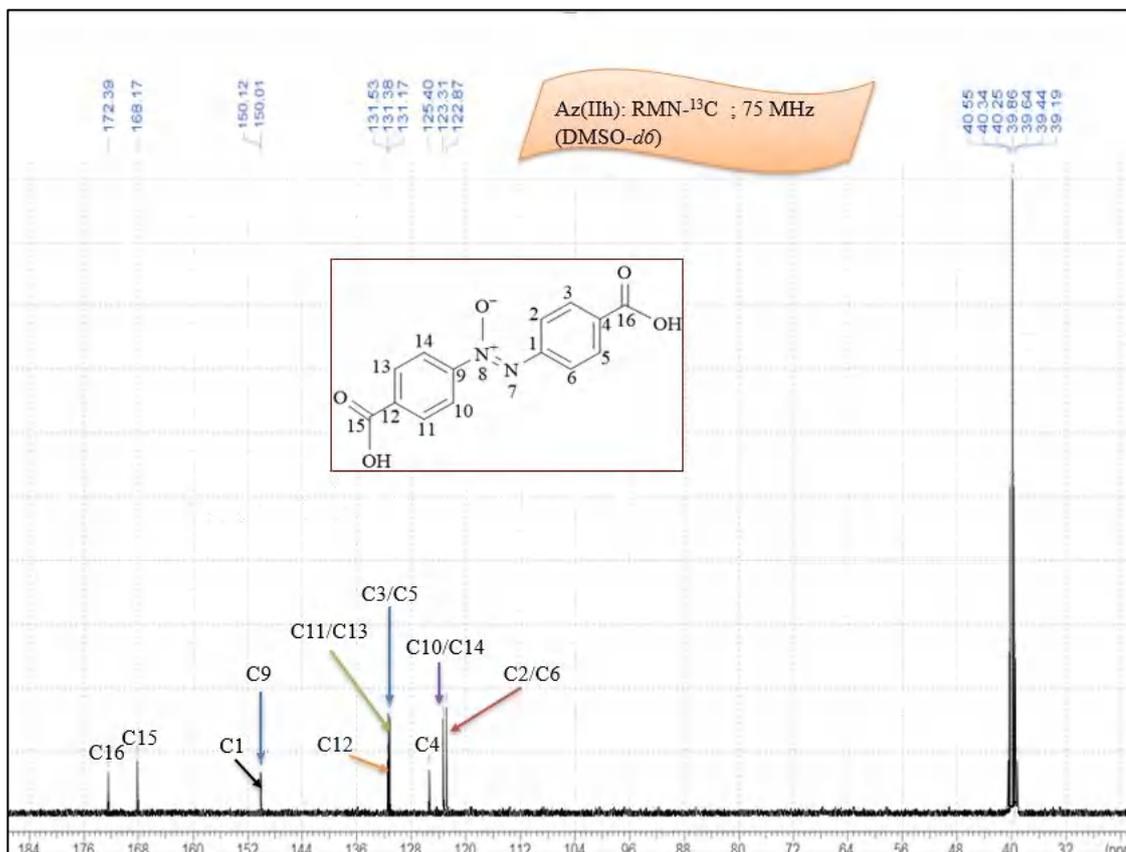


Figure IV-57: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *p,p'*-Dicarboxylazoxybenzène (IIh)

IV.4.1.8.3 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm⁻¹ :

3433: bande large et intense attribuable à une vibration de valence d'un groupement hydroxyle.

2361 (C=O): indique la présence d'un groupement carbonyle.

1674: caractéristique d'une vibration de valence d'un groupement carbonyle faisant partie d'une fonction acide carboxylique conjugué.

1572: indique une bande de vibration de valence du groupement N=O et également vibration de valence des C=C aromatique.

1265: caractéristique de la bande d'absorption de valence du groupement C-N.

1173: attribuable à la bande d'absorption de valence du vibreur C-O.

818: caractéristique de vibration de déformation hors le plan du groupement Csp²-H d'un cycle aromatique *para*-disubstitué.

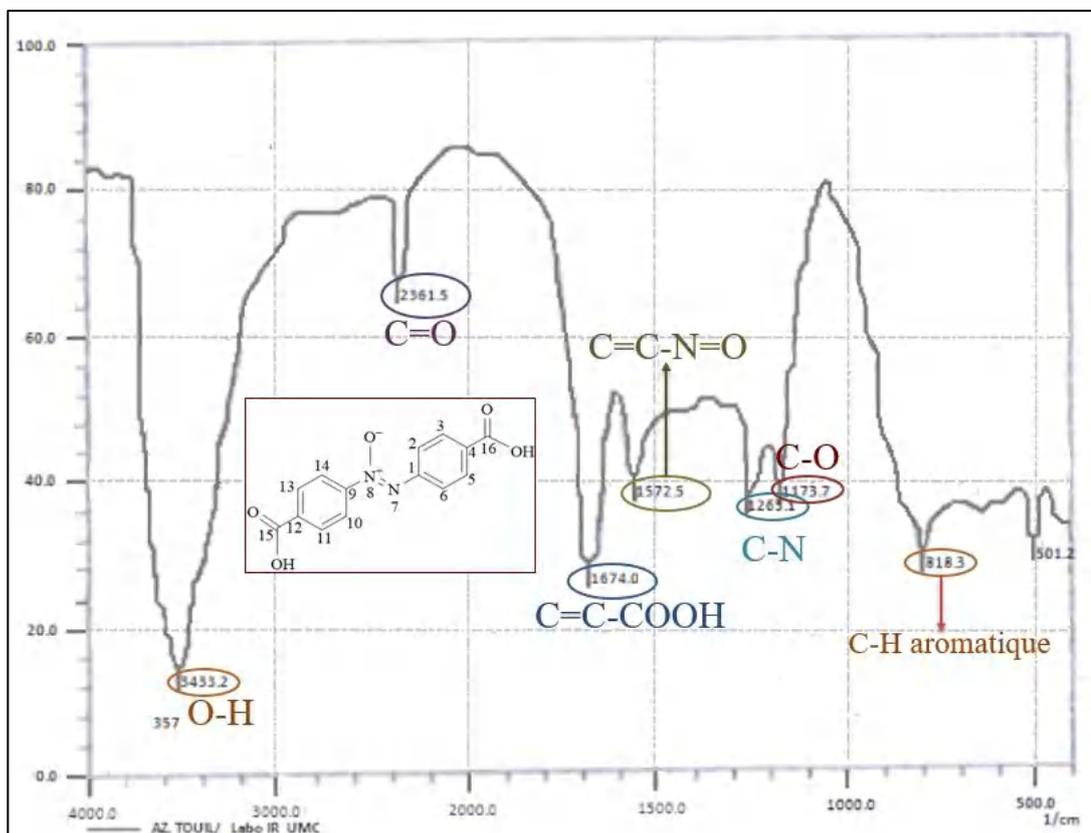


Figure IV-58: Spectre IR du produit *p,p'*-Dicarboxylazoxybenzène (IIh).

IV.4.1.9 *p,p'*-Diméthoxyazoxybenzène (IIi): recristallisé dans THF, p.f. 118-120 °C.

IV.4.1.9.1 Spectre RMN-¹H

- RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 3,45 (*s*, 3H-15) ; 3,46 (*s*, 3H-16); 7,15 (*d*, *J*=8,8 Hz, 2H-3/5); 7,19 (*d*, *J*=8,78 Hz, 2H-11/13); 8,75 (*dd*, *J*=8,78-2,2 Hz, 2H-10/14); 9,28 (*dd*, *J*=8,8-2,2 Hz, 2H-2/6).

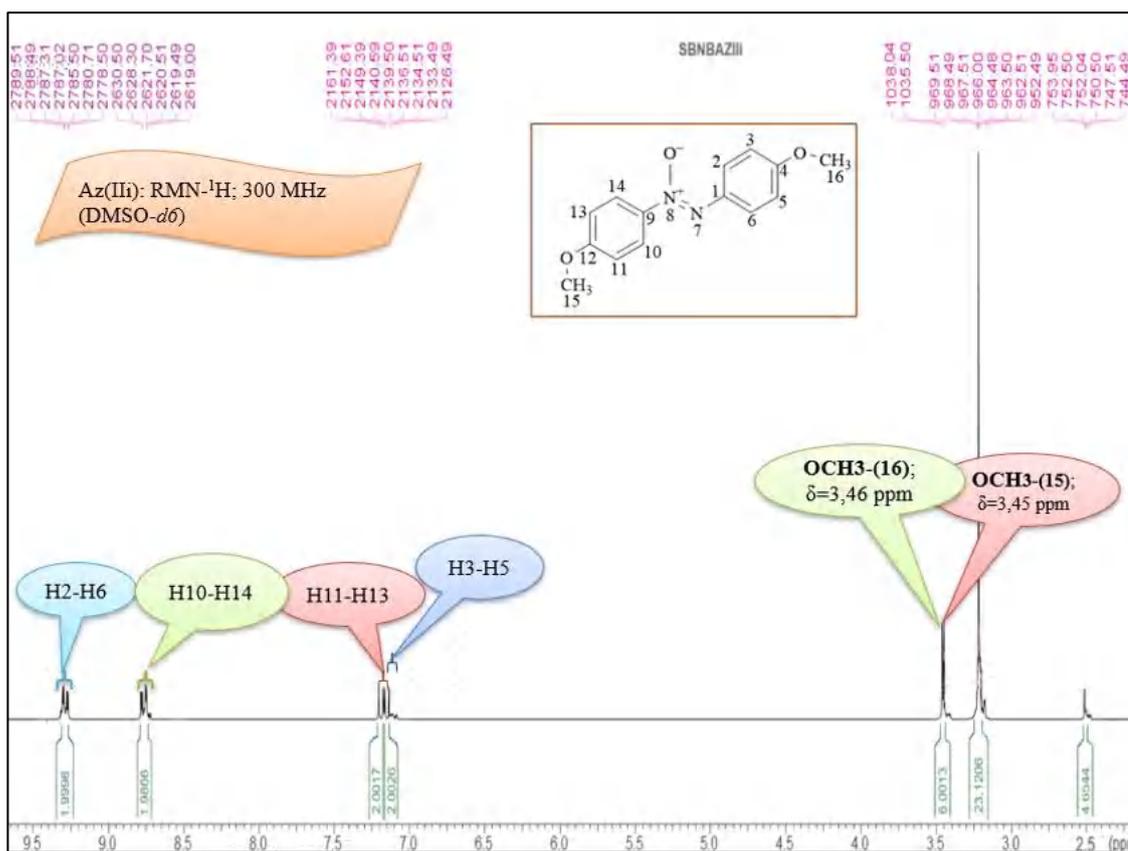


Figure IV-59: Spectre RMN-¹H (300 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *p,p'*- Diméthoxyazoxybenzène (IIi).

i1-1.Étalement de la zone (3,45-3,46 ppm)

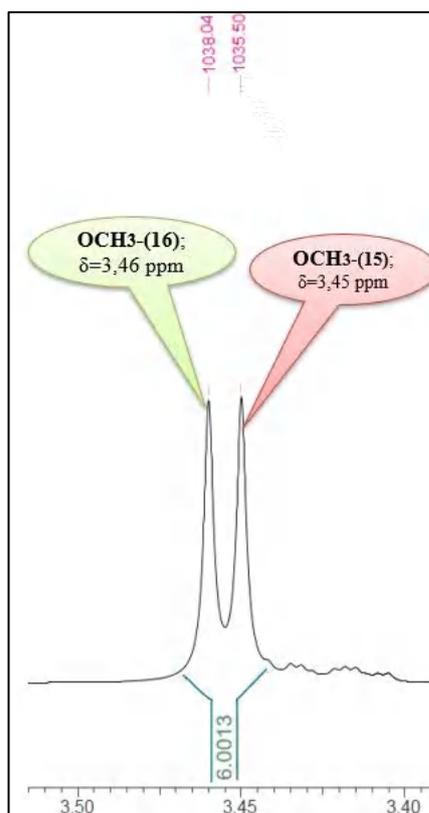


Figure IV-60: Étalement de la zone (3,45-3,46 ppm)

i1-2. Étalement de la zone (7,135-7,204 ppm)

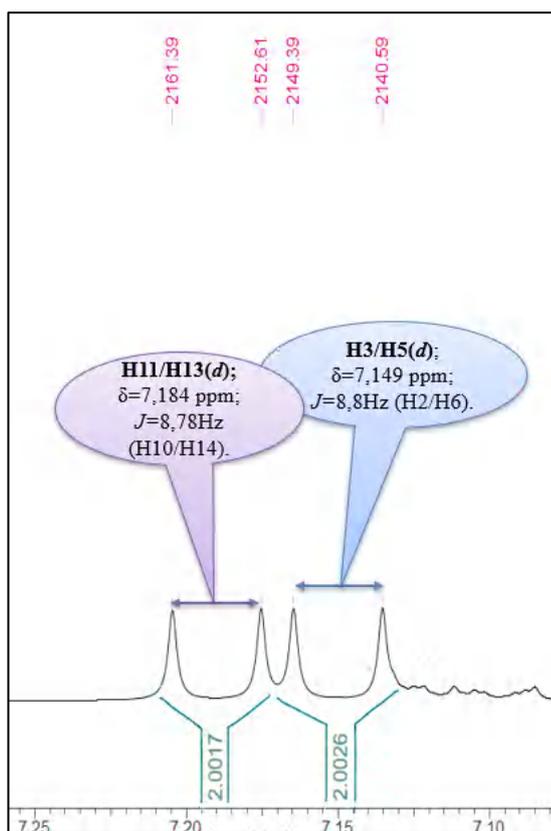


Figure IV-61: Étalement de la zone (7,135-7,204 ppm)

i1-3. Étalement de la zone (8,731-8,768 ppm)

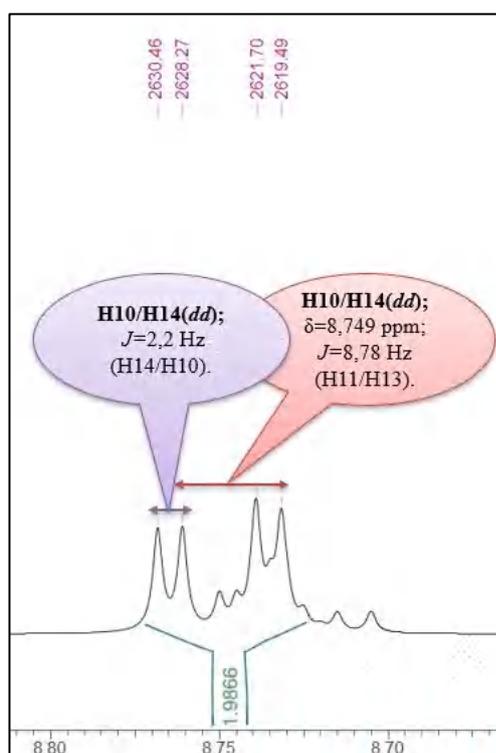


Figure IV-62: Étalement de la zone (8,731-8,768 ppm)

i1-4. Étalement de la zone (9,261-9,298 ppm)

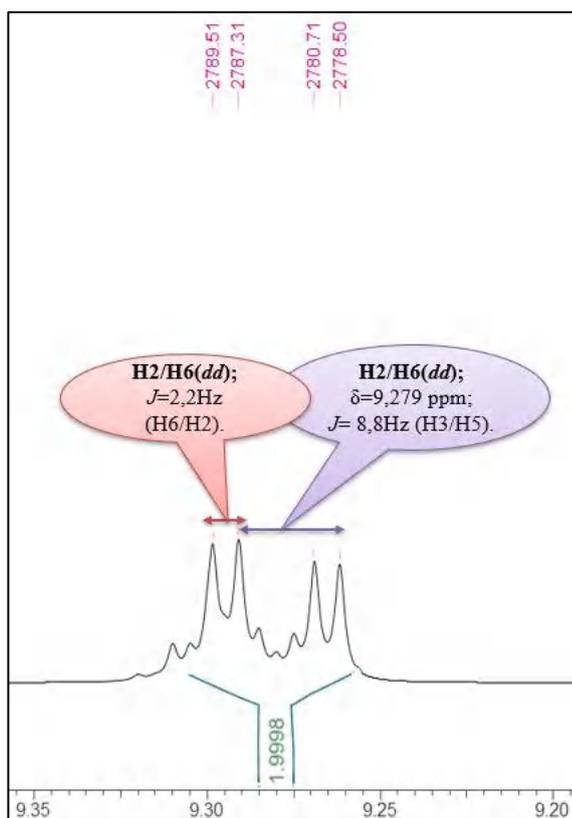


Figure IV-63: Étalement de la zone (9,261-9,298 ppm)

IV.4.1.9.2 Spectre RMN-¹³C

- **RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆):** δ ppm 55,41 (C-15); 55,43 (C-16) ;112,08 (C-11/13); 113,88 (C-3/5); 123,83 (C-2/6);127,47 (C-10/14) ;137,41 (C-1) 141,62 (C-9); 158,86 (C-4) ;161,82 (C-12).

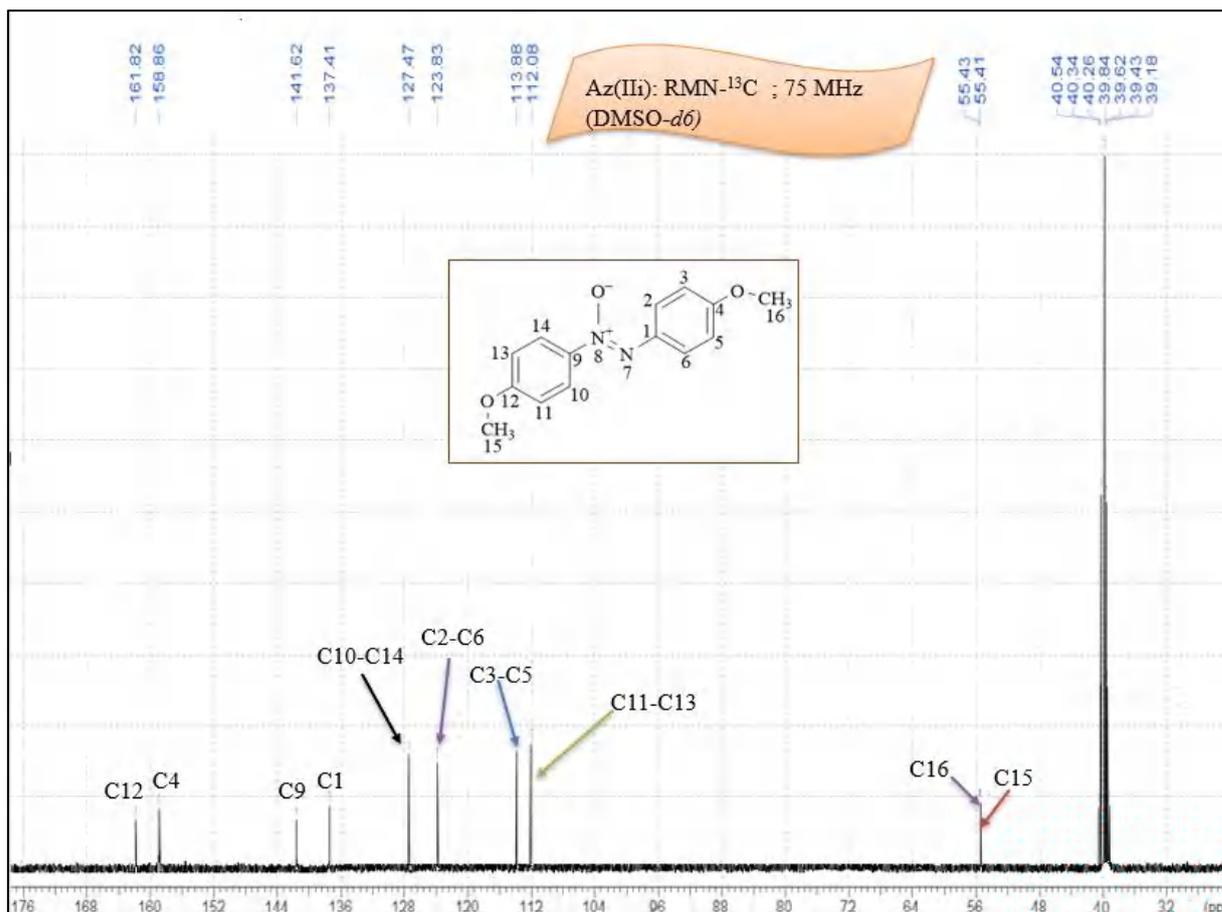


Figure IV-64: Spectre RMN-¹³C (75 ppm, DMSO-*d*₆) du produit *p,p'*- Diméthoxyazoxybenzène (IIi).

IV.4.1.9.3 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm^{-1} :

2800: cette valeur caractérise les bandes issues des vibrations de valence du groupement Csp³-H.

1635/1593/1504: ces bandes sont caractéristiques des vibrations de valence des C=C aromatiques et qui peuvent être également chevauchées avec les bandes d'absorption de valence asymétrique du groupement N=O.

1355: cette bande peut être attribuée d'une part au groupement N-O de la fonction azoxy et d'autre part le groupement C-O de la fonction éther.

1202: peut être attribué à la vibration de valence du groupement C-N.

852: attribuable à la vibration de déformation hors le plan (Csp²-H) d'un cycle aromatique *para*-disubstitué.

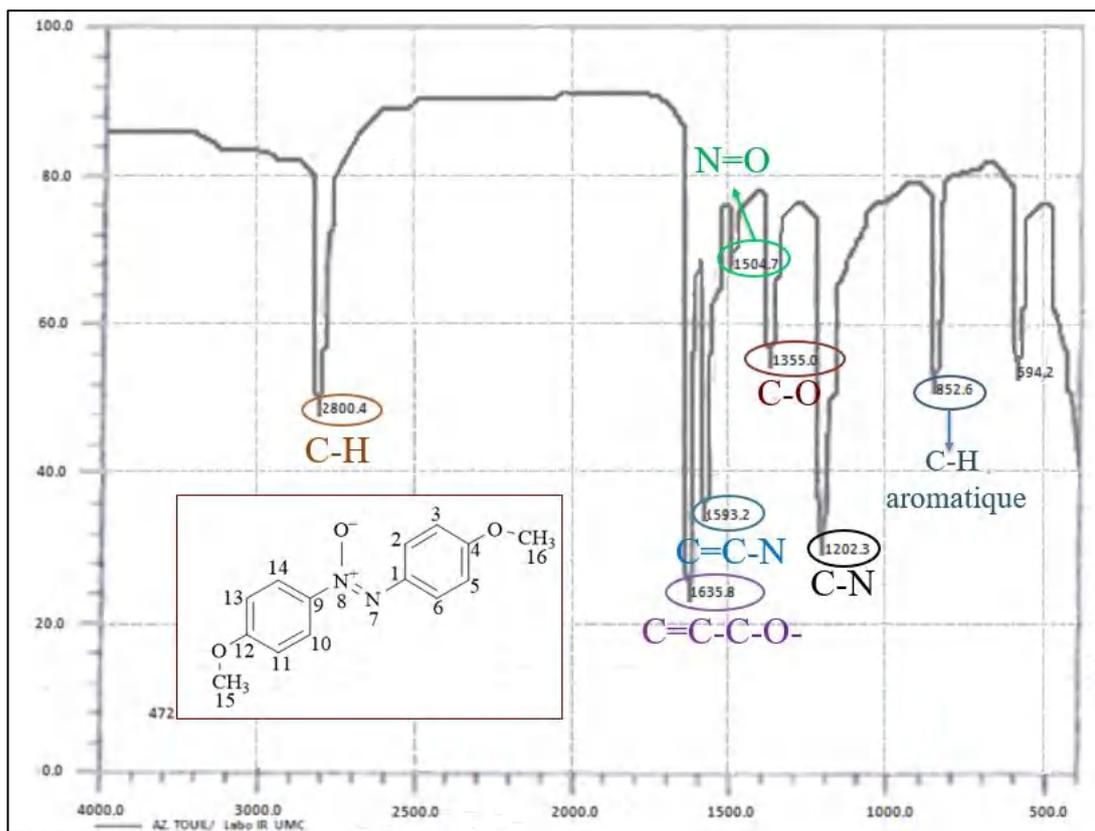


Figure IV-65: Spectre IR du produit *p,p'*- Diméthoxyazoxybenzène (IIi).

IV.4.1.10 *p,p'*- Diacétylazoxybenzène (IIj)

IV.4.1.10.1 Spectre RMN-¹H

- **RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆):** δ ppm 2,59 (s, 3H-15); 2,60 (s, 3H-16); 7,42 (dd, *J*= 7,54-2,81 Hz, 2H-2/6); 7,68 (d, *J*= 7,54 Hz, 2H-3/5) ; 7,92 (d, *J*= 6,72 Hz, 2H-11/13); 7,98 (dd, *J*=6,72-2,82 Hz, 2H-10/14).

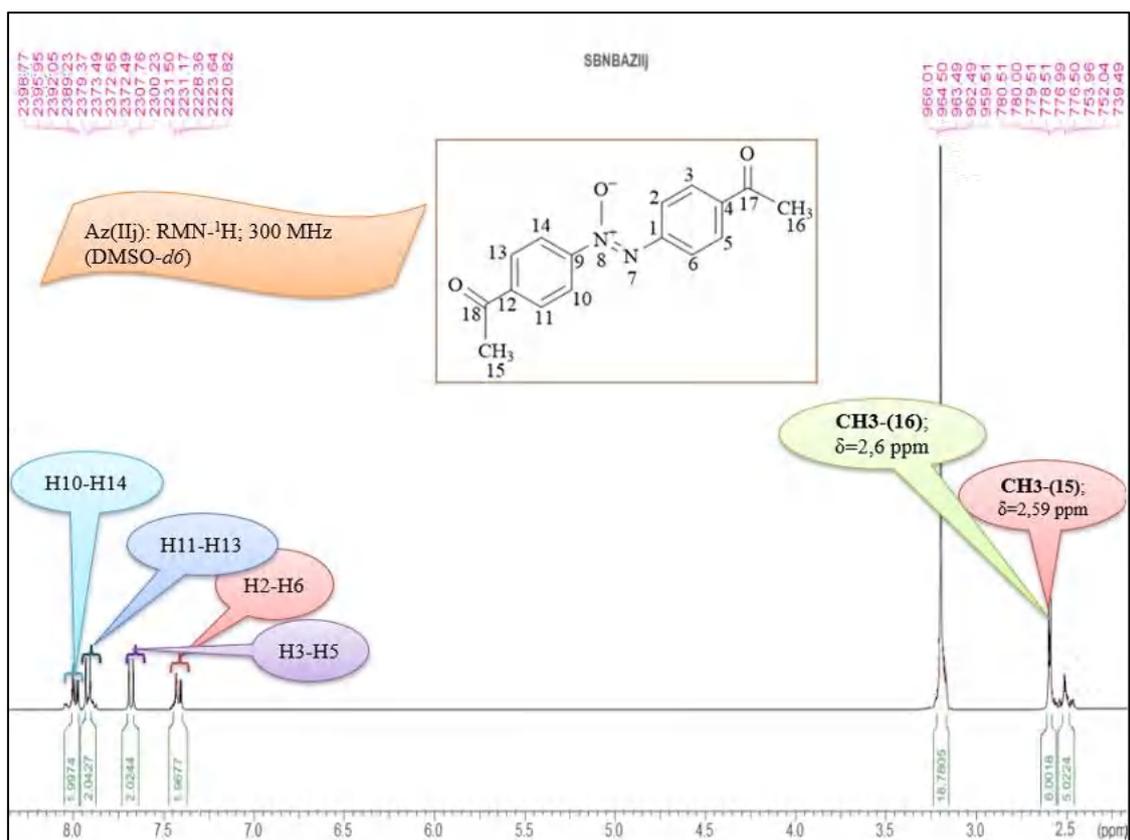


Figure IV-66: Spectre RMN- ^1H (300 ppm, $\text{DMSO-}d_6$) du produit *p,p'*-Diacétyloxybenzène (IIj).

j1-1.Étalement de la zone (2,59-2,6 ppm)

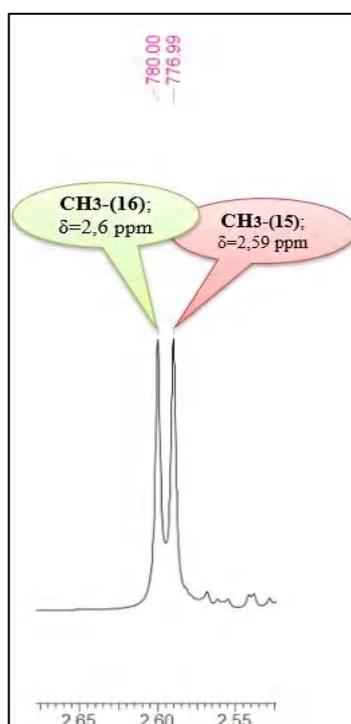


Figure IV-67: Étalement de la zone (2,59-2,6 ppm)

j1-2.Étalement de la zone (7,402-7,437 ppm)

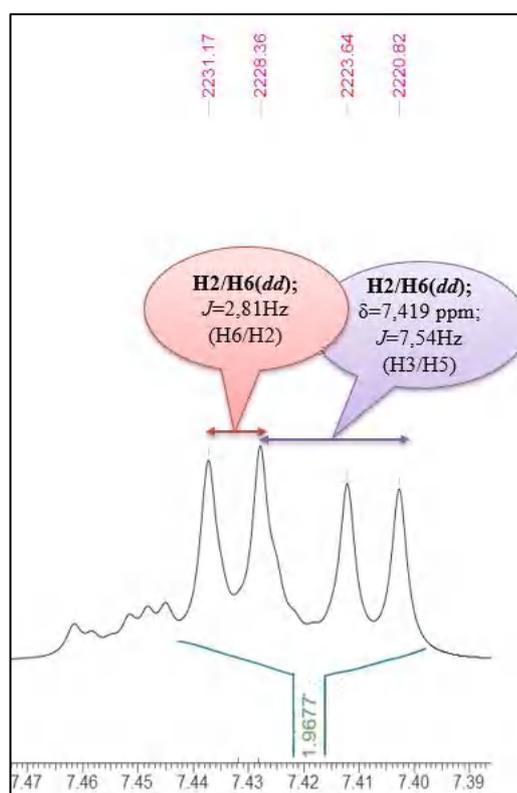


Figure IV-68: Étalement de la zone (7,402-7,437 ppm).

j1-3.Étalement de la zone (7,667-7,692 ppm)

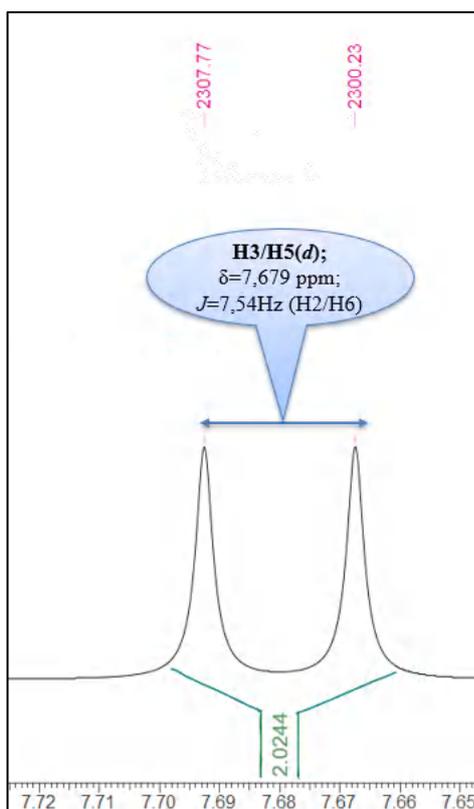


Figure IV-69: Étalement de la zone (7,667-7,692 ppm).

j1-4.Étalement de la zone (7,908-7,931 ppm)

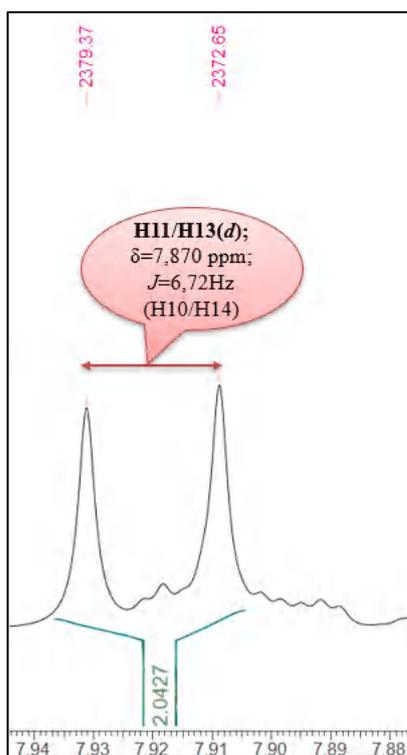


Figure IV-70: Étalement de la zone (7,908-7,931 ppm).

j1-5. Étalement de la zone (7,964-7,995ppm)

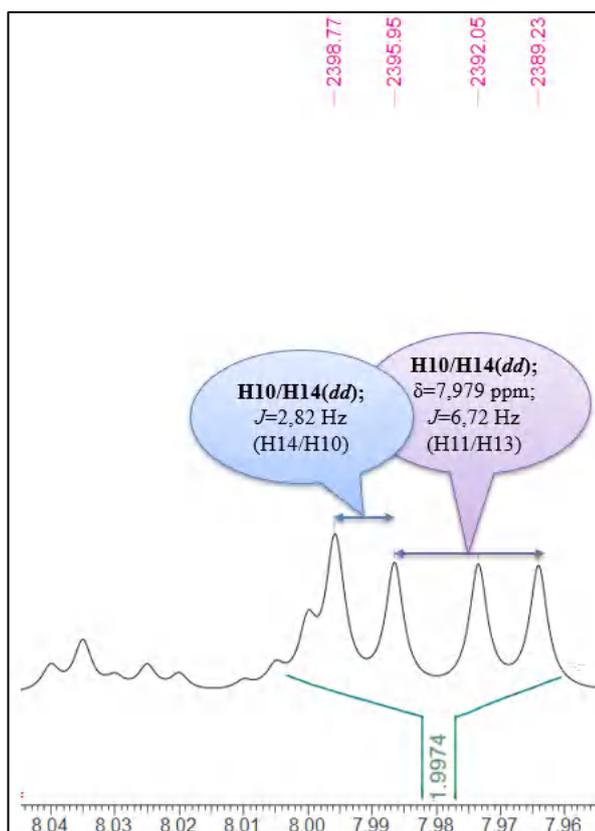


Figure IV-71: Étalement de la zone (7,964-7,995ppm).

IV.4.1.10.2 Spectre RMN-¹³C

- **RMN-¹³C (75MHz,DMSO-*d*₆):** δ ppm 26,49 (C-16); 26,71 (C-15); 122,72 (C-2/6); 124,21 (C-10/14); 130,16 (C-11/13); 130,24 (C-3/5); 132,05 (C-4); 137,98 (C-12); 150,22 (C-9); 150,87 (C-1); 195,71 (C-18); 198,74 (C-17).

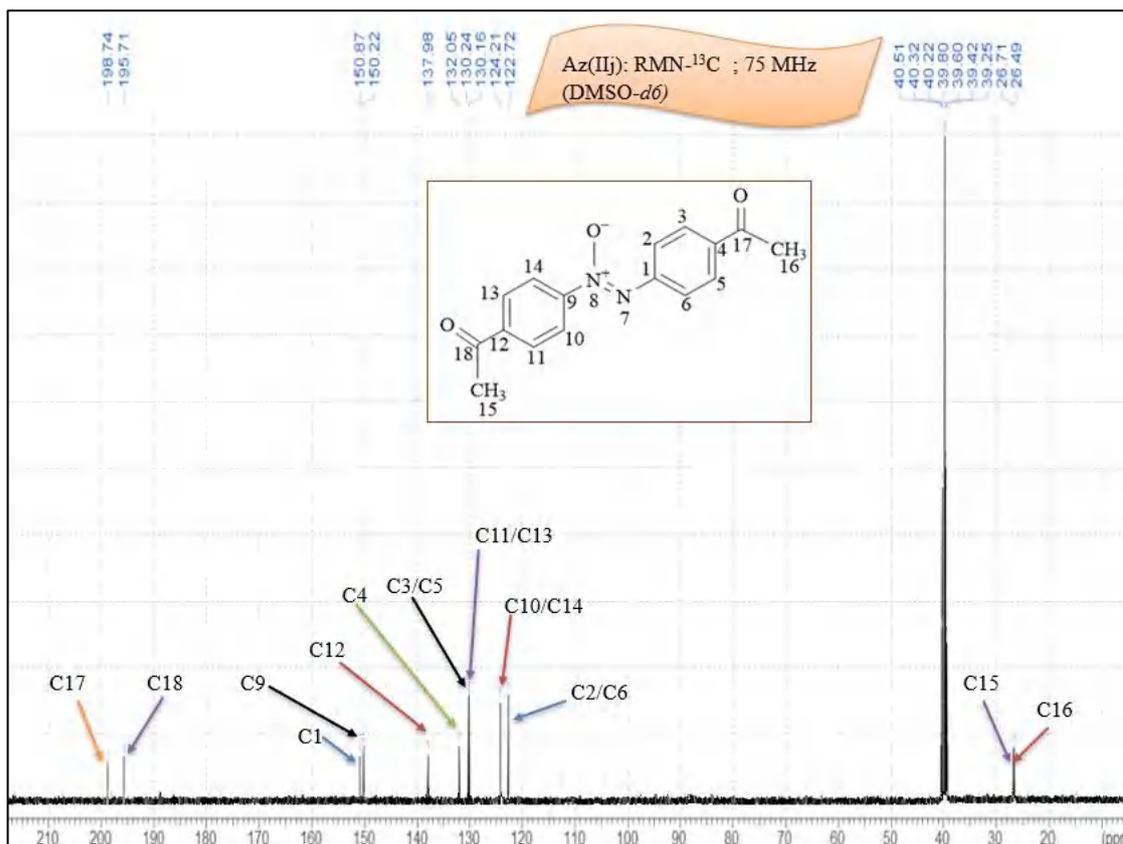


Figure IV-72: Spectre RMN- ^{13}C (75 ppm, DMSO- d_6) du produit p,p' -Diacétyloxybenzène (IIj).

IV.4.1.10.3 Spectre IR

IR, ν (KBr disc) cm^{-1} :

1710: attribuable à la bande d'absorption de valence du groupement carbonyle faisant partie d'une fonction cétone.

1602/1580/1572 et 1545 : ces bandes sont attribuales aux vibrations de valence des C=C aromatiques et qui peuvent être également chevauchées avec les bandes d'absorption de valence asymétrique du groupement N=O.

1331: attribuable à la vibration de déformation du vibreur $\text{Csp}^3\text{-H}$.

855: caractéristique de la bande de déformation hors le plan ($\text{Csp}^2\text{-H}$) d'un cycle aromatique *para*-disubstitué.

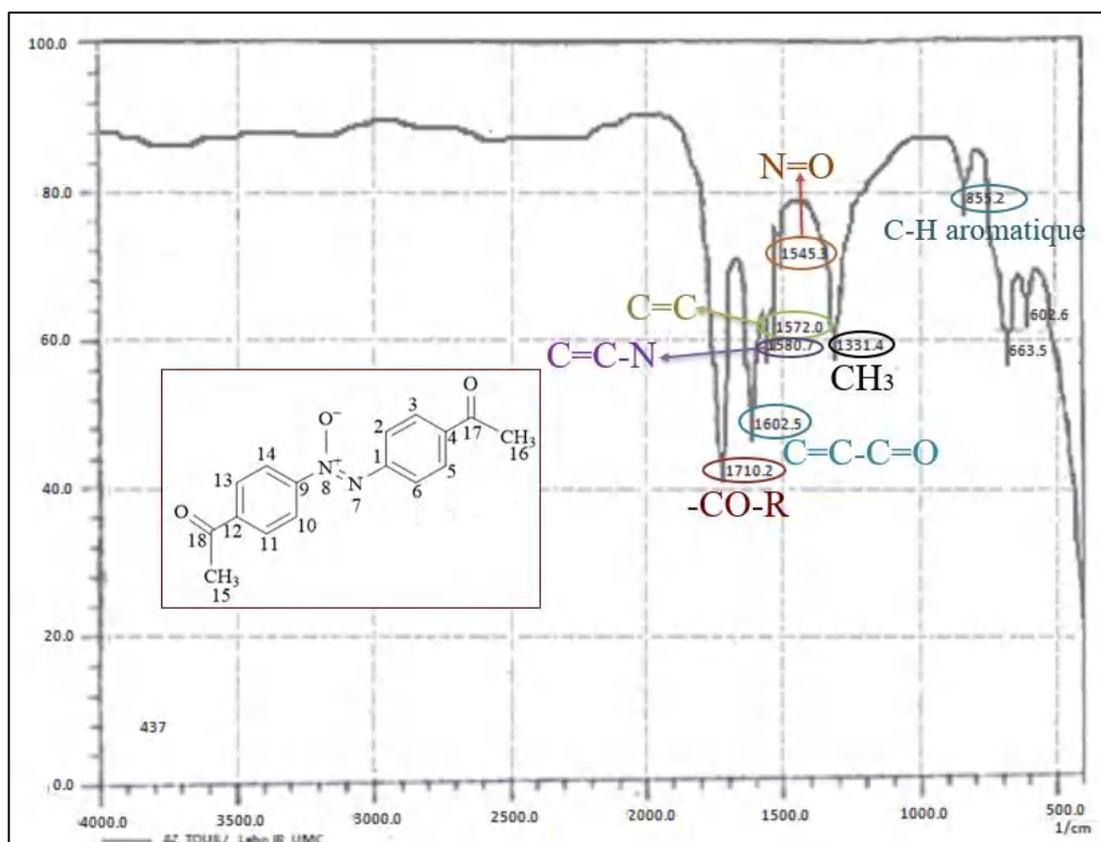


Figure IV-73: Spectre IR du produit *p,p'*-Diacétylazoxybenzène (IIj).

IV.5 Références bibliographiques

- [1] G. A. Russell, R. Konaka, E. T. Strom, W. C. Danen, K. Y. Chang, and G. Kaupp, "Electron-transfer reactions IX. Formation of azo radical anions and their vinylogs," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 90, no. 17, pp. 4646-4653, 1968.
- [2] S. Uemura and S. Fukuzawa, "New aspects of the telluroxide elimination: a facile elimination of sec-alkyl phenyl telluroxide leading to olefins, allylic alcohols, and allylic ethers," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 105, no. 9, pp. 2748-2752, 1983.

Conclusion

Plusieurs composés aromatiques nitrés peuvent être réduits dans une solution de borohydrure de sodium et d'éthanol alcalin en composés azo ou azoxyarènes correspondants en présence de diséléniure de diphényle comme catalyseur pour un transfert d'électrons. Il est intéressant de noter que les substituants électroattracteurs liés aux noyaux benzéniques de ces composés nitrés facilitent ces réductions.

Les résultats obtenus sont extrêmement corrélés à la localisation et plus particulièrement, à la nature de ces substituants dans la mesure où les groupements électroattracteurs favorisent la formation des composés azoxy ou azoarènes, tandis que les groupements électrodonneurs empêchent la réduction à différents degrés en fonction de leur capacité donatrice des électrons. Cependant, pour le même type de substituant, on trouve que le substituant en position *méta* est plus favorable que le substituant en position *para*, tandis que le substituant en position *ortho* est le plus défavorable pour la réduction. De plus, l'effet de la phase du transfert d'électrons sur la réduction de ces composés nitroarènes est nettement envisagée.

On peut déduire que la simplicité de la procédure expérimentale, le rendement élevé de ces réactions, et notamment les actions protectrices issues de diséléniure de diphényle vis-à-vis du stress oxydatif et pro-inflammatoire induit par des lésions neuro-cérébrales, sont les avantages du protocole rapporté.

Partie II:
Etude phytochimique et
Evaluation de l'activité
biologique

Chapitre I:
Aperçu bibliographique sur les plantes étudiées

I.1 Introduction

Depuis l'antiquité, la nature, en particulier le monde végétal, fournit des outils thérapeutiques à la pharmacopée. L'utilisation de nombreuses molécules, comme source principale de médicaments, s'avère être un défi majeur pour le monde pharmaceutique [1].

Les plantes jouent un rôle important dans la survie et la reproduction de toutes les espèces, animales, alors que la valeur médicinale des plantes a été scientifiquement démontrée, c'est pourquoi la valorisation des plantes médicinales est devenue, en peu de temps, une ressource inestimable de l'industrie pharmaceutique qui connaît une prompt progression, avec des taux annuels de 12 à 20 % [2].

Les produits végétaux naturels présentent les caractéristiques de leur origine, c'est-à-dire une grande variété de compositions leur confère une biodiversité étendue. Cela dépend de la richesse de ce que l'on appelle le "métabolisme secondaire", qui correspond à un ensemble de réactions impliquées dans la biogenèse de plusieurs molécules via des mécanismes spécifiques faisant intervenir des enzymes spécifiques [3].

Bien qu'ils ne semblent pas essentiels à la croissance des plantes, les métabolites secondaires sont des molécules bioactives jouant un rôle majeur lors des interactions extérieures de la plante avec son environnement. D'abord, ils sont synthétisés et destinés pour plusieurs fonctions biologiques telles que l'activation des sites de défense contre les prédateurs, et ainsi leur implication dans la pigmentation des plantes favorise l'absorption de l'énergie solaire, mais l'organisme de l'être vivant est doté d'une énorme protection contre les effets induits par les rayonnements solaires nocifs. Parmi les milliers de molécules synthétisées par ces plantes, l'homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus...) et de réguler ses désordres métaboliques [4]. Les produits naturels font l'objet de nombreuses études renfermant les trois classes de substances naturelles, y compris **les polyphénols** tels que les coumarines, les flavonoïdes, les tanins.... etc., **les terpènes** et **les alcaloïdes** [5].

I.2 Aperçu bibliographique sur l'espèce *Pelargonium graveolens* L'Hér

I.2.1 La famille des Géraniacées

La famille des Géraniacées ou la famille des plantes dicotylédones comprend 7 genres et 866 espèces apparaissant généralement sous forme d'arbustes ou sous forme d'herbes, ces derniers se caractérisent par leurs tiges prenant la forme de troncs épais (pachycaul) dans certains taxons. Les feuilles sont soit simples sous forme pennée, palmée ou spiralée, mais rarement opposées, soit des feuilles bourgeonnées en épines, avec des fascicules axillaires. Les fleurs sont solitaires ou apparaissent sous forme d'une cyme dont le calice se compose de cinq sépales imbriqués ou valvés, le sépale orienté vers l'axe de la tige représente un éperon nectarifère dans *Pelargonium*. La corolle renferme cinq pétales libres et imbriqués, mais rarement alambiqués. Des étamines se trouvent généralement au nombre de 10 en deux verticilles à la base, avec des étamines stériles présentes dans le verticille externe de certaines. Les anthères s'ouvrent d'eux-mêmes. Le gynécée contient cinq carpelles unis (rarement 2,3 ou 8). Les ovules s'entreposent souvent en deux par carpelle. Les nectaires se trouvent entre les pétales et les étamines (sauf chez *Pelargonium*). Généralement, le fruit est une capsule encastrée ou une graine unique (schizocarpe) de méricarpes (qui sont des carpelles dissociés d'un schizocarpe) se séparant généralement d'un bec persistant. Des trichomes multicellulaires, capités et glandulaires contiennent fréquemment des huiles aromatiques dans leurs glandes. La famille des Géraniacées se caractérise par ses fruits schizocarpiques à bec [1].

I.2.2 Le genre *Pelargonium*

Les genres *Geranium*, *Pelargonium* et *Erodium* se distinguent d'autres genres de la même famille par la morphologie de leurs fruits schizocarpes avec un bec allongé et persistant. Les plantes de ces genres poussent principalement dans des endroits tempérés tels que les régions tropicales. L'importance économique des espèces appartenant à ces genres se discerne dans leur utilisation comme plantes ornementales cultivées (*géranium* et *pélargonium*), comme plantes fourragères et comme sources des huiles essentielles [6]. Le genre *Geranium* comprend environ 300 espèces différentes, dont la majorité se répartit dans l'hémisphère nord dans les zones tempérées. D'autant plus, ces espèces sont herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, et certaines comportent des tubercules. Leurs bases sont parfois ligneuses. Le genre *Pelargonium* comprend environ 270 espèces différentes, dont la plupart se dispersent dans l'hémisphère sud, notamment en Afrique du Sud, mais un nombre limité pousse sur plusieurs îles d'Afrique de l'Est et d'Australie [7].

I.2.3 L'espèce *Pelargonium graveolens*

I.2.3.1 Description botanique et classification systématique

En vertu du fait que la forme du fruit ressemble à celle du bec droit et pointu de la cigogne, le nom "*Pelargonium*" est dérivé du grec *Pelargos*, qui signifie "cigogne" [7]. Les noms les plus utilisés de *Pelargonium graveolens* sont : géranium odorant, géranium rosat (nom de l'île de la Réunion) et *Pelargonium asperum* Ehrh. Ex Willd [8]. Cette espèce se caractérise par son arbuste ramifié, qui peut atteindre 1,4 m de haut et 1 m de diamètre au niveau de la cime, avec parfum de rose prononcé ; sa tige molle, poilue, colorée en gris-vert, qui devient plus foncée et ligneuse avec l'âge ; et ses feuilles opposées ou alternes, molles, parfumées, hirsutes avec des poils glandulaires et non glandulaires. Son inflorescence est éternelle, avec 5-10 fleurs dans une petite pseudo-ombelle compacte couvrant dix étamines. Les fleurs rose pâle montrent une symétrie bilatérale caractéristique du genre *Pelargonium*, tandis que les espèces du genre *Geranium* ont des fleurs asymétriques à cinq rayons [9] (**Figure I-1**).



Figure I-1: Photo de l'espèce *Pelargonium graveolens* L'Hér (photo réelle).

Selon le service de conservation des ressources naturelles (NRCS), ou agence du département de l'agriculture des États-Unis, la classification systématique de *Pelargonium graveolens* L'Hér. est présentée dans le **tableau I-1**.

Tableau I-1 : Place dans la systématique de l'espèce *P. graveolens* [10].

Règne	Plantae (plantes)
Sous-règne	Tracheobionta (trachéophytes)
Super division	Spermatophyta (plantes à graines)
Division	Magnoliophyta ou angiospermes (plantes à fleurs)
Classe	Magnoliopsida ou dicotylédones
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Geraniales
Famille	Geraniaceae
Genre	<i>Pelargonium</i>
Espèce	<i>Pelargonium graveolens</i> L'Hér.

I.2.3.2 Répartition géographique de *Pelargonium graveolens*

La plante est native d'Afrique du Sud, cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes (Maroc, Espagne, Tunisie et Italie), subtropicales (Égypte) et même aux frontières de l'Asie (Chine), ces deux derniers pays sont les plus gros producteurs [11]. *Pelargonium graveolens* a été introduite en Algérie dans les années 1850, les premières espèces de ce genre provenant de France. Des essais ont d'abord été réalisés à Chéraga (Alger) à des fins commerciales, avec des résultats encourageants [11], mais le prix des huiles essentielles était trop élevé, à tel point que l'huile de géranium se vendait 250 francs pour un kilogramme [12]. De grands parcs de géranium et une usine de production d'essence (Boufarik) sous la direction de Gros et Monk ont été fondés par A. Chiris en 1880 [11]. Après la guerre de l'indépendance, beaucoup de ces usines ont été figées dans les années 1960. Néanmoins, la région de Blida continue d'être une source mineure de production de *Pelargonium graveolens*. En outre, les jardins, les balcons et les cimetières ont été ornés de cette plante [13].

I.2.3.3 Intérêts thérapeutiques et socio-économiques de *Pelargonium graveolens*

Pelargonium graveolens, ou géranium rosat, est une source potentielle d'ingrédients actifs pour les industries alimentaires et pharmaceutiques [14]. Plusieurs études suggèrent que l'activité pharmacologique des espèces du genre *Pelargonium* est attribuée à leur richesse en composés phytochimiques bioactifs, notamment les flavonoïdes, les coumarines oxygénées, les dérivés de l'acide gallique et l'acide hydroxycinnamique [15], et plus particulièrement les composants volatils, de sorte que les phases acétate d'éthyle et éther diéthylique de cette plante sont dotées d'une bonne activité antioxydante à une concentration de 2 µg/mL avec des pourcentages d'inhibition de 53 % et 51,84 % respectivement [11]. *Pelargonium graveolens* est largement utilisée pour ses propriétés pharmacologiques dans le traitement de la bronchite, de la fièvre, de la diarrhée, de la toux, de la gastro-entérite et d'autres troubles respiratoires [16]. Des extraits de racines peuvent être également utilisés comme ingrédient principal d'un remède contre la tuberculose et le paludisme [17]. Les huiles essentielles de *Pelargonium* sont connues pour leurs effets antifongiques, antibactériens, anti-inflammatoires et spasmolytiques, et le géranium rosat en particulier, cultivé pour son parfum, s'est répandu sur les cinq continents grâce aux propriétés curatives de son huile essentielle [18], en usage externe, cette huile essentielle est utilisée comme agent hémostatique, tonique, antimicrobien et anti-inflammatoire. En cosmétologie, elle est appréciée par excellence pour ses effets thérapeutiques régénérateurs de la peau, à tel point qu'elle est largement utilisée dans le traitement de l'arthrose, pour calmer l'ankylose et soulager les inflammations musculaires [19], vasculaires et les crises hémorroïdaires [20], elle se caractérise également par ses propriétés antidépressives, analgésiques et antiseptiques, apaisant les douleurs gingivales [21], tandis que ses vertus internes sont relatives à ses effets stimulants hépato pancréatiques et antidiabétiques [22]. D'autant plus, l'huile de cette plante est utilisée comme expectorant sous forme d'eau aromatique, efficace pour traiter les angines et les gorges irritées [23].

I.2.4 Aperçu bibliographique sur l'espèce *Lavandula dentata* L.

I.2.4.1 La famille des Lamiacées (Lamiaceae)

La famille des Lamiacées ou Labiées (Labiatae est relatif à la forme des lèvres des fleurs et ainsi le terme *Lamium*, est dérivé d'œsophage, relatif à la forme du tube de la corolle) comprend 236 genres divisés en 7 ou 8 sous-familles contenant 7 280 espèces.

Les plantes de cette famille apparaissant sous forme d'arbustes, présentent souvent des tiges glandulaires courtes produisant des huiles éthérées aromatiques. Les tiges sont généralement quadrangulaires (section carrée), lorsqu'elles sont hâtives.

Les feuilles sont simples, rarement pennées, opposées, parfois verticillées, et rarement spiralées. Les fleurs se composent d'unités de cymes latérales en une paire de cymes très condensées, presque sessiles, disposées de fleurs axillaires solitaires autour d'un axe comme un véritable verticille. Le **périanthe** contient un calice prenant parfois la forme de deux lobes, mais il comprend généralement de cinq sépales unis de taille ou de forme inégale, de sorte que la fleur peut avoir l'allure de deux pièces essentiellement symétriques par un seul plan longitudinal passant par un axe principal ; la **corolle** se compose de 4 ou 5 pétales unis (s'il s'agit de 4 pétales, par la fusion de deux lobes). Les **étamines** sont verticillées et adnées au tube de la corolle, et chaque étamine, contenant 2 ou 4 staminodes fertiles, se termine par une anthère longitudinale déhiscente. Le **gynécée** comporte deux carpelles réunis et quatre loges dans un ovaire composé, dont les ovules déposés en deux par carpelle, ou un ovule par loge, sont soit renversés sur eux-mêmes, où les micropyles sont rapprochés du point d'insertion de l'appareil femelle (anatropé), soit régulièrement réunis par deux moitiés, mais dans le sens inverse de leur position normale (hémitropé). Les **nectaires** apparaissent généralement sous forme d'un disque ou d'un coussinet de tissu à la base de l'ovaire. Le fruit renfermant quatre drupes ou baies, se divise à maturité en plusieurs carpelles, chacun contenant une seule graine indéhiscente. Les plantes de cette famille produisent souvent des huiles éthérées et le stachyose glucidique (un sucre cristallin tétra-saccharide) [1].

I.2.4.2 Le genre *Lavandula*

Le genre *Lavandula* est extrêmement marqué par l'usage étendue de deux plantes dans le monde entier : la lavande fine (*Lavandula angustifolia* Miller.) et son lavandin hybride naturel (*Lavandula intermedia* Emeric ex Loisel.) comme plantes ornementales et médicinales. Ces deux espèces ont été cultivées depuis le début du 20^{ème} siècle pour l'extraction hydraulique de leurs huiles essentielles ainsi que pour l'extraction hydroalcooliques de leurs principes actifs [24][25]. Suite à une étude phylogénétique basée sur le polymorphisme de séquences d'ADN chloroplastique, la taxonomie du genre *Lavandula*, particulièrement décrite par Upson et Andrews [26], correspond à la tribu Labiatae [27]. Ce genre comprend plus de 39 espèces et 79 taxons intraspécifiques et hybrides, permettant une classification de trois sous-genres (*Fabricia*, *Sabaudia* et *Lavandula*) et huit sections.

Les principales espèces cultivées comprennent la lavande fine (*L. angustifolia*), la lavande aspique (*L. latifolia*), la lavande laineuse (*L. lanata*) et le lavandin (*L. intermedia*, un hybride stérile de *L. angustifolia* et *L. latifolia*) qui appartiennent toutes à *Lavandula*. Par ailleurs, le genre contient également des dizaines de sous-espèces et des centaines de variétés [28] .

Des études phytochimiques antérieures ont rapporté que le genre *Lavandula* est riche en métabolites secondaires, principalement les monoterpènes et les dérivés sesquiterpéniques présents dans les huiles essentielles, mais aussi les triterpénoïdes (37 triterpénoïdes, y compris les dérivés tétracycliques, pentacycliques et stéroïdiens, ont été identifiés dans le genre *Lavandula*) et les composés phénoliques [29].

En Algérie, certaines espèces, telles que *Lavandula stoechas* L., *L. multifida* L., *L. coronopifolia* Pott., *L. pubescens* Dec. et *L. dentata* L. poussent à l'état sauvage [30].

I.2.4.3 L'espèce *Lavandula dentata* L.

I.2.4.3.1 Description botanique et classification systématique

Lavandula dentata L., connue sous son nom arabe dialectal "Djaida" [31], s'étend à une hauteur d'environ 60 cm sur les sols rocailleux et les garrigues des régions méditerranéennes. C'est une plante vivace qui pousse généralement sous forme d'un pseudo-arbrisseau, ou arbuste buissonnant persistant, muni de longues tiges quadrangulaires florales, ligneuses à la base, et nues sous les épis floraux [32]. Ses feuilles sont vertes, linéaires, enroulées et dentelées, à bords crénelés [33]. Les fleurs sont courtes (2-5 cm), bleues en épis denses surmontés de bractées violacées [26]. Le fruit se compose de quatre drupes qui se séparent à maturité. Cette espèce fleurit deux fois par an, au printemps (entre février et juin) et en automne (entre septembre et novembre) (**Figure I-2**).



Figure I-2: Photo réelle de l'espèce *Lavandula dentata* L.

Selon une étude botanique menée par F. Harnist en 2013, la position systématique de *Lavandula dentata* L. est désignée comme suit (**Tableau I-2**) :

Tableau I-2 : Classification botanique de *Lavandula dentata* [34].

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridae plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula dentata</i> L.

I.2.4.3.2 Répartition géographique de *Lavandula dentata*

Lavandula dentata est une plante méditerranéenne qui se répartit largement dans l'Atlas Tellien occidental, native de sud-ouest de la méditerranée (Italie, Portugal, Espagne, Maroc et l'Algérie) [35].

Elle envahit les garrigues, les lieux arides et les sols siliceux (silicicole, calcifuge) contrairement à la lavande vraie qui ne pousse qu'en terrain calcaire, mais à l'état sauvage, cette espèce occupe les bords de la Méditerranée à climat tempéré et doux, dont le sol est pauvre et rocailleux [36].

En Algérie, elle est très répandue dans le Tell et pousse sur les sols secs et siliceux. Elle se dissémine sur les sommets arides, les prairies et les maquis [35].

I.2.4.3.3 Intérêts thérapeutiques et socio-économiques de *Lavandula dentata*

Lavandula dentata, connue comme plante mellifère, est dotée d'un effet attractif et nourrissant pour nombreux insectes. Des études pharmacologiques antérieures ont montré que les huiles essentielles ou les extraits hydroalcooliques de *lavandula* est propriétaire d'un large spectre d'activités pharmacologiques, notamment l'activité anti-inflammatoire, antioxydante, sédative, antimicrobienne, antifongique, insecticide et larvicide [37]. En **aromathérapie**, la lavande stimule les activités métabolique et intellectuelle, détend le système nerveux en traitant la dépression, favorise le sommeil en apaisant la fatigue, soulage les crampes, prévient les syncopes, ainsi qu'elle régule l'hypertension et la circulation sanguine, plus son utilité en **balnéothérapie** pour le traitement des maladies articulaires, du rhumatisme, de la goutte [38] et de l'hyperglycémie [39].

Certaines études ont montré que plusieurs composants de l'huile essentielle de lavande ont des effets anticancéreux et antimutagènes [40]. L'utilisation potentielle de cette huile et ses dérivés en biotechnologie [41] ou en tant qu'additifs alimentaires [25], a été également rapportée.

En cosmétologie, l'huile essentielle de cette plante est largement utilisée comme parfum, savon, lotion pour la peau, ou démaquillant, etc. En parfumerie, la lavande est utilisée pour lier et stabiliser toutes les essences florales entre elles, ce qui renforce la fragrance et prolonge la durée de vie des parfums [42].

I.3 Étude phytochimique de l'espèce *Arbutus unedo*

I.3.1 La famille des Éricacées (Ericaceae)

Le nom Ericaceae est dérivé du mot latin *Erica*. Cette famille cosmopolite appartenant aux dicotylédones [43], comprend 130 genres (tels que *Arbutus* (arbousier), *Calluna* (callune), *Erica* (bruyère) et *Rhododendron*) et environ 4100 espèces, dont la grande diversité est bien adaptée aux climats méditerranéens [44].

En général, les Éricacées sont extrêmement présentes en Arctique, dans les régions tempérées et les montagnes tropicales du sud-est de l'Amérique et de l'Asie, avec de fortes concentrations sur les montagnes d'Himalaya, d'Andes et de la Nouvelle-Guinée [44].

De nombreuses espèces de la famille Éricacée sont cultivées comme plantes ornementales. Cependant, cette famille est connue pour de nombreuses applications dans certaines pharmacopées traditionnelles, si bien que les espèces *Calluna vulgaris* L. et *Arctostaphylos uva-ursi* Spreng sont propriétaires des effets antiseptiques urinaires [45]. En outre, les feuilles de *Rhododendron molle*, *Vaccinium arctostaphylos* L. et *Gaultheria procunzhens* L. se sont avérées riches en acide salicylique.

I.3.2 Le genre *Arbutus*

Description et distribution géographique

Le genre *Arbutus* (Vaccinioideae) comporte 14 espèces qui poussent généralement dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère nord et en Amérique tropicale. Autour du bassin méditerranéen, on trouve quatre espèces et deux hybrides très répandus dans les régions suivantes : la région méditerranéenne orientale, dans laquelle poussent l'*Arbutus unedo* L. et l'*Arbutus andrachne* ; l'*A. pavarii* Pamp. sur les côtes de la Libye ; l'*A. canariensis* Veill. pousse dans les Îles Canaries ; l'*A. andrachnoides* Link. ou l'hybride entre l'*A. unedo* et l'*A. andrachne* se développe dans la région méditerranéenne orientale ; l'*A. androsterilis* Salas. ou l'hybride entre l'*Arbutus unedo* et l'*Arbutus canariensis* pousse dans les Îles Canaries [46].

I.3.2.1 Principaux métabolites secondaires isolés du genre *Arbutus*

Des études phytochimiques approfondies sur le genre *Arbutus* ont montré que les polyphénols représentent les molécules bioactives les plus abondantes du genre *Arbutus*, si bien que les tanins représentent 37% de la teneur en polyphénols, tandis que les composés phénoliques simples sont présents en quantités insignifiantes, comme le cas de l'arbutoside (3,2 %), une molécule hydrolysable par une enzyme en glucose et hydroquinone (cette dernière s'oxyde immédiatement en hydroquinone), le méthylarbutoside et les arbutoflavonols A et B. Les feuilles sont riches en iridoïdes (des hétérosides non phénoliques) tels que l'unédoside, l'aspéruloside et le gardénoside, ainsi que des dérivés terpéniques comme l'acide arbutolique [47].

I.3.2.2 L'espèce *Arbutus unedo* L.

I.3.2.2.1 Nom vernaculaire et synonymes

Le nom latin *Arbutus unedo* est dérivé de l'expression "celtarbois" ou bois de Sparte, reprise par Carl Linné en 1753, et puis Pline l'Ancien l'a décrit comme dérivé du mot "unum edo", qui renvoie à l'expression "mangeur d'un seul fruit".

Cette espèce a ensuite pris plusieurs noms au fil du temps : arbousier ou *arbutus* comme nom classique. David Antioch a rapporté dans son livre "Tazkira" que le nom arabe d'arbousier est « Djina », d'autre part, Ibn al-Bitar a également utilisé le terme "tueur de son père", qui fait référence à une branche déjà prête à fleurir en raison du fait que ses fruits ne sont pas susceptibles d'être secs [48]. Cette plante est connue en Algérie sous le nom de Lendj ou Sassenou [49].

I.3.2.2.2 Description botanique et classification systématique de l'*Arbutus unedo* L.

L'arbousier tire son nom de son fruit rouge, comestible, qui mûrit à l'automne au même temps que la floraison [50]. Cet arbuste ligneux, qui peut parfois atteindre 9 mètres de long et 8 mètres de large, pousse en plein soleil, et résiste aux basses températures (-15 °C). Il s'adapte même à une très large gamme de sols et d'expositions, bien qu'il puisse vivre sur le calcaire et se développe dans les sols argileux et les sols secs [51]. Généralement, la croissance de cette espèce est relativement lente avec un feuillage persistant.

Elle se caractérise par une écorce rougeâtre exfoliée en lamelles longues et fines, les feuilles sont vert foncé, elliptiques-lancéolées, légèrement dentées sur les bords, généralement coriaces, glabres et brillantes. Sa floraison aux mois de novembre et de décembre mène à la formation des clochettes blanches, parfois rosées, groupées en panicules terminales régulières et bisexuées. Généralement, la fleur possède un calice aux lobes triangulaires très courts, et une corolle sous forme de cloche qui se rétrécit jusqu'au sommet du tube [52]. Sa fructification donne des petites boules jaunes charnues qui se transforment en jolies baies sphériques rouges. Les fruits semblables à ceux des fraises sont de taille très variable, de 1 à 3 cm de diamètre, mais toujours hérissés de courts tubercules pyramidaux, d'une chair granuleuse et peu farineuse et d'une peau rugueuse couverte de petits épis coniques (**Figure I-3**) [53].



Figure I-3: Photo réelle de l'espèce *Arbutus unedo* L.

Selon les travaux de Guignard, 2001 [54]; Quezel et Santa, 1963 [55], la classification botanique de l'*Arbutus unedo* L. est désignée comme suit (**Tableau I-3**).

Tableau I-3 : Classification systématique de l'*Arbutus unedo* L. [54][55]

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Eudicots
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Ericales
Famille	Ericacées
Genre	<i>Arbutus</i>
Espèce	<i>Arbutus unedo</i> L.

I.3.2.2.3 Distribution géographique

La localisation géographique des zones les plus couvertes par l'*Arbutus unedo* L. dans le monde est envisagée dans les régions côtières et intérieures où le climat est doux et la sécheresse est estivale [46].

Cette espèce est largement répandue dans la région méditerranéenne de l'Europe occidentale, centrale et méridionale (Portugal, Espagne, France, Italie, Albanie, Monténégro, Grèce, Bosnie-Herzégovine, Croatie, Macédoine, Monténégro, Serbie, Slovénie et Turquie), en particulier dans les îles méditerranéennes (Baléares, Corse, Sardaigne, Sicile et Crète) [46] à une altitude d'environ (600 m) au-dessous du niveau de la mer [56][57]. L'arbousier s'adapte également aux conditions difficiles de la côte sud-ouest de l'Irlande et des îles Canaries [46][58][59], il pousse également en Afrique du Nord-Est (à l'exception de l'Égypte et de la Libye), en Amérique du Nord et dans quelques régions de l'est de l'Australie, où les conditions sont assez modérées (le froid est doux et la sécheresse estivale n'est pas forte) (**Figure I-4**).



Figure I-4: La répartition de l'espèce *Arbutus unedo* L. dans le monde (O Kirkardyella Boweri ; Siphoninus, 2000).

En Algérie, l'*Arbutus unedo* pousse largement dans le Tell algérien [60], en particulier dans les forêts de chênes-lièges des régions de Jijel, Skikda et El Tarf, si bien qu'elle préfère les substrats siliceux et carbonatés [46][61] et les sols alcalins relativement acides [50].

En outre, cette espèce procure une importance écologique considérable, car elle prévient l'érosion du sol et peut se régénérer immédiatement après les incendies, survivant mieux dans les sols pauvres [62][63]. Les fruits se caractérisent par une grande diversité génétique et donc une diversité morphologique et phénologique [62][63][50][64][65][66][67][68].

Certaines études ont montré que la sécheresse retarde la floraison et le développement des fruits chez l'*A. unedo*, de sorte que la sécheresse estivale et les basses températures pendant la période de la floraison réduisent les rendements en fruits [69][70].

I.3.2.2.4 Usages traditionnels

Une étude ethnobotanique décrivant les plantes sauvages comestibles de Biscaye (Espagne) a révélé que les fruits de l'arbousier revêtent une importance culturelle colossale pour les habitants de cette région, au même titre que 19 autres espèces sauvages comestibles [70].

Néanmoins, les fruits de cette plante sont rarement consommés à l'état frais, malgré leur agréable aspect, et leur goût n'est pas très apprécié par le consommateur. À ce jour, ces fruits sont souvent utilisés dans la préparation des boissons alcoolisées, des confitures, des gelées et des marmelades. Ils peuvent être également incorporés dans la production des yaourts, des arômes et des confiseries qui servent à garnir les tartes et les pâtisseries [56][71][72]. En médecine traditionnelle, l'espèce *A. unedo* est utilisée comme astringent et laxatif, dans le traitement des troubles digestifs tels que la diarrhée et la dysenterie, et comme agent antiseptique dans le traitement de la cystite et de l'urétrite, et plus particulièrement les racines sont très utiles pour leur effet diurétique et désinfectant sur les voies urinaires, grâce à leur teneur élevée en substances bioactives telles que l'arbutoside et l'arbutine [72]. De même, son infusion est extrêmement indiquée en gargarisme pour guérir les maux de gorge [73]. Les feuilles persistantes dentées et l'écorce rougeâtre sont utilisées comme agents antiagrégants plaquettaires humains [74][75] et comme inhibiteurs de l'engorgement du foie en raison de leur teneur relativement élevée en tanins. Elles sont également dotées d'autres activités : antioxydante [76][77][78], antiseptique [79], antispasmodique [78][80], astringente, antidiarrhéique [81], antihypertensive [82] et antidiabétique [82]. En outre, des études antérieures ont montré que les feuilles ont un effet relaxant important sur les vaisseaux sanguins, grâce à leur teneur élevée en tanins condensés, en oligomères et en gallate de catéchine [83]. Néanmoins, les doses consommées d'arbousier doivent être respectées, car elle présente un effet anti-diarrhéique à faibles doses, et devient purgative à doses importantes [73]. Le fruit est déconseillé pendant la grossesse et dans le cas des maladies rénales [74].

I.3.2.2.5 Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce *Arbutus unedo* L.

Plusieurs composants appartenant aux différents groupes phénoliques tels que les acides phénoliques, les flavonols, les dérivés de flavan-3-ol, de galloyle et les anthocyanes ont été rapportés [77][84][81][82][56][85][86][87].

L'acide gallique représente le composant essentiel le plus rapporté chez l'espèce *A. unedo* collectée à Samsun (Turquie) suivi de l'acide protocatéchique, l'acide gentisique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique et l'acide *m*-anisique [56].

I.3.2.2.5.a Les acides organiques

Les structures de quelques acides organiques tels que : l'acide fumarique [56][62][76][80][81][88]; l'acide malique [56][62][63][71][76][80]; l'acide citrique [62][56]; l'acide subérique [56][62]; l'acide lactique [56][62]; l'acide oxalique [77][80][81][88]; et l'acide quinique [63][71], sont présentées dans la **figure I-5**.

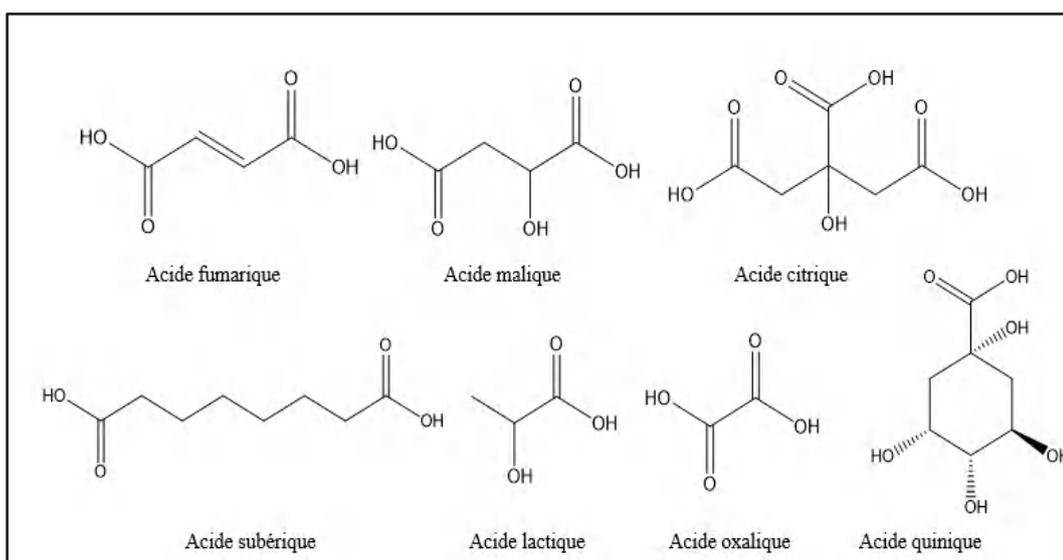


Figure I-5: Les structures de quelques acides organiques isolés de l'espèce *A.unedo*.

I.3.2.2.5.b Les composés phénoliques simples

Les structures de quelques composés phénoliques simples tels que: 6-*O*-*p*-hydroxybenzoylarbutine [89]; 6-*O*-galloylarbutine [89]; l'acide ellagique [85][87]; l'acide 2-(α -*L*-rhamnosyloxy) ellagique [81][83]; β -*D*-glucogalline [80] ; l'acide 3-*O*-galloylquinique [80] ; l'acide 5-*O*-galloylquinique [81] ; l'acide 3-*O*-galloylshikimique [81] ; l'acide 5-*O*-galloylquinique [81] ; l'arbutine [81][90][91] ; l'acide gentisique [56][81]; l'acide vanillique [56][88]; et l'acide protocatéchique [87][91], sont présentées dans la **figure I-6**.

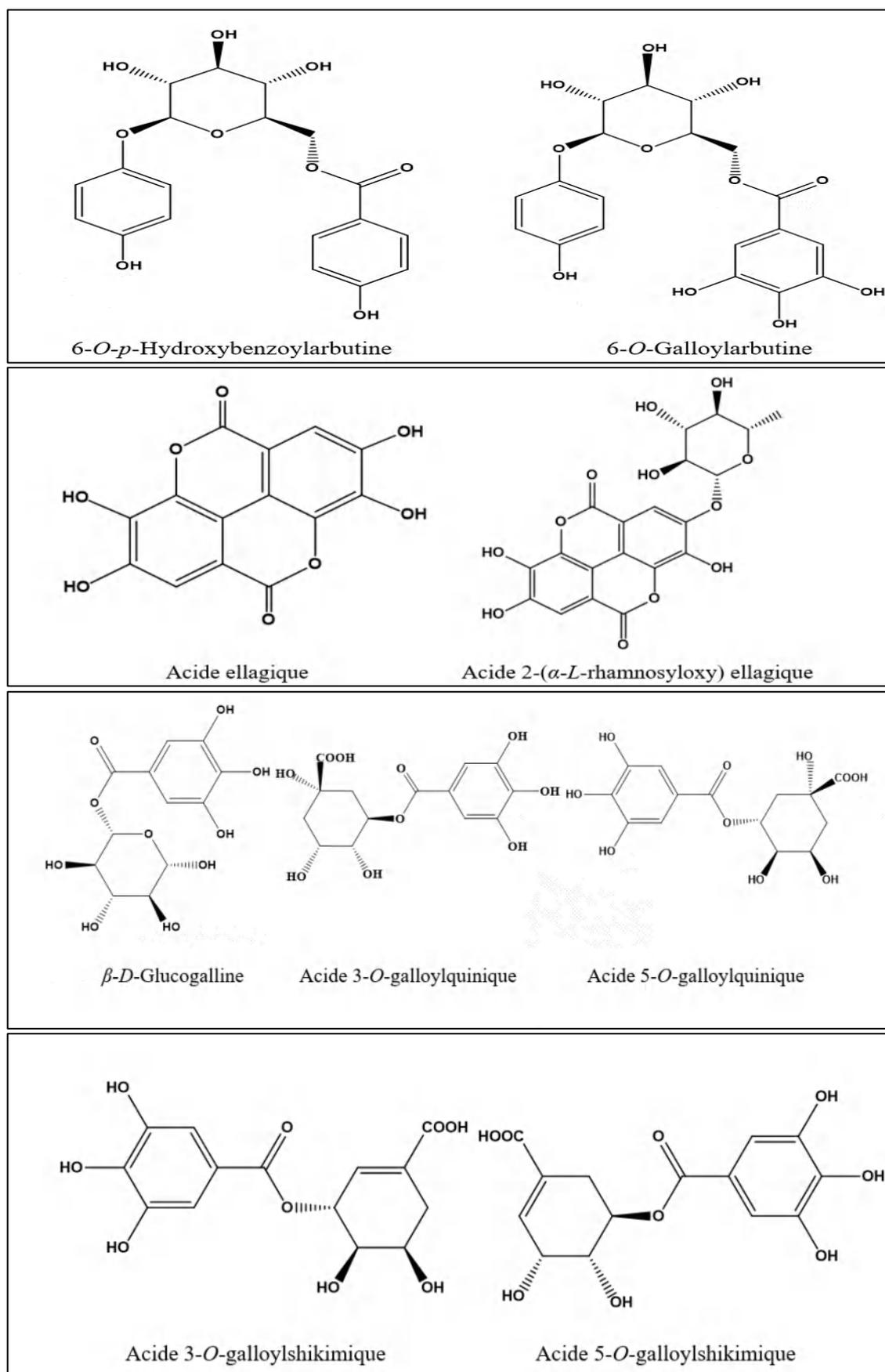


Figure I-6: Quelques composés phénoliques simples isolés de l'*A unedo*.

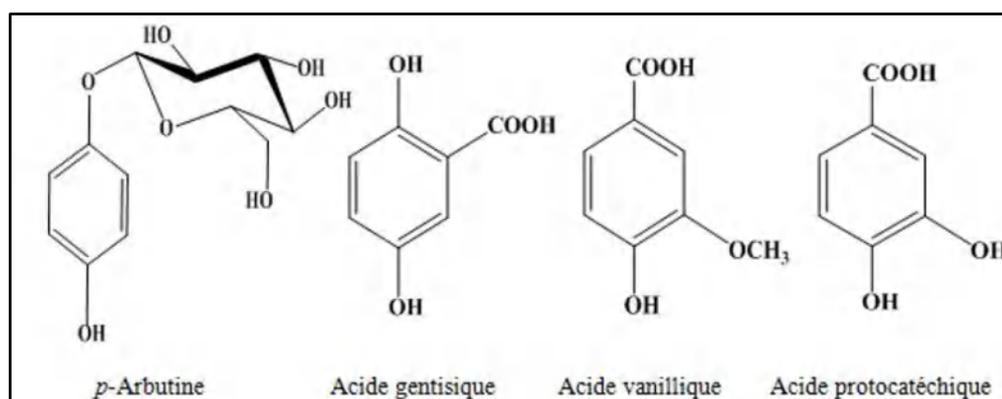


Figure I-6: Quelques composés phénoliques simples isolés de l'*A.unedo* (suite).

I.3.2.2.5.c Les polyphénols

I.3.2.2.5.c.i Les anthocyanines et les procyanidines

Les structures de quelques anthocyanines et procyanidines : 3-(galactosyloxy) délphinidine [81]; 3-(glucosyloxy) délphinidine [86]; 3-(glucosyloxy) cyanidine [81][86]; 3-(arabinosyloxy) cyanidine [81][86]; (+)-catéchine [43][81][82] [84][85][87]; (+) -épicatéchine [43][77]; (+) -gallocatéchine [77], 4-hydroxybenzoate de (3,4-dihydroxyphényl)-5,7-dihydroxychroman-3-yle [43], procyanidine B1 [77]; (+)-gallocatéchine-4,8-catéchine [77]; procyanidine B2 [77]; procyanidine B7 [77]; épicatéchine-4,8-épicatéchine-4,8-catéchine [77], sont présentées dans les **figures I-7; I-8 et I-9**.

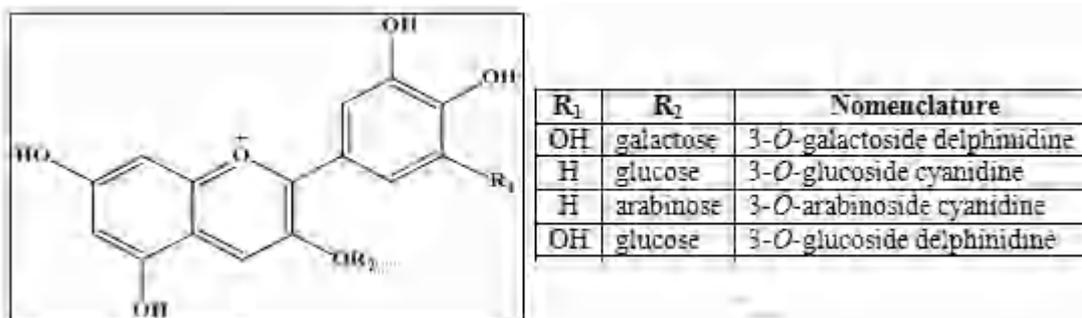


Figure I-7: Les anthocyanines isolées de l'espèce *A.unedo*.

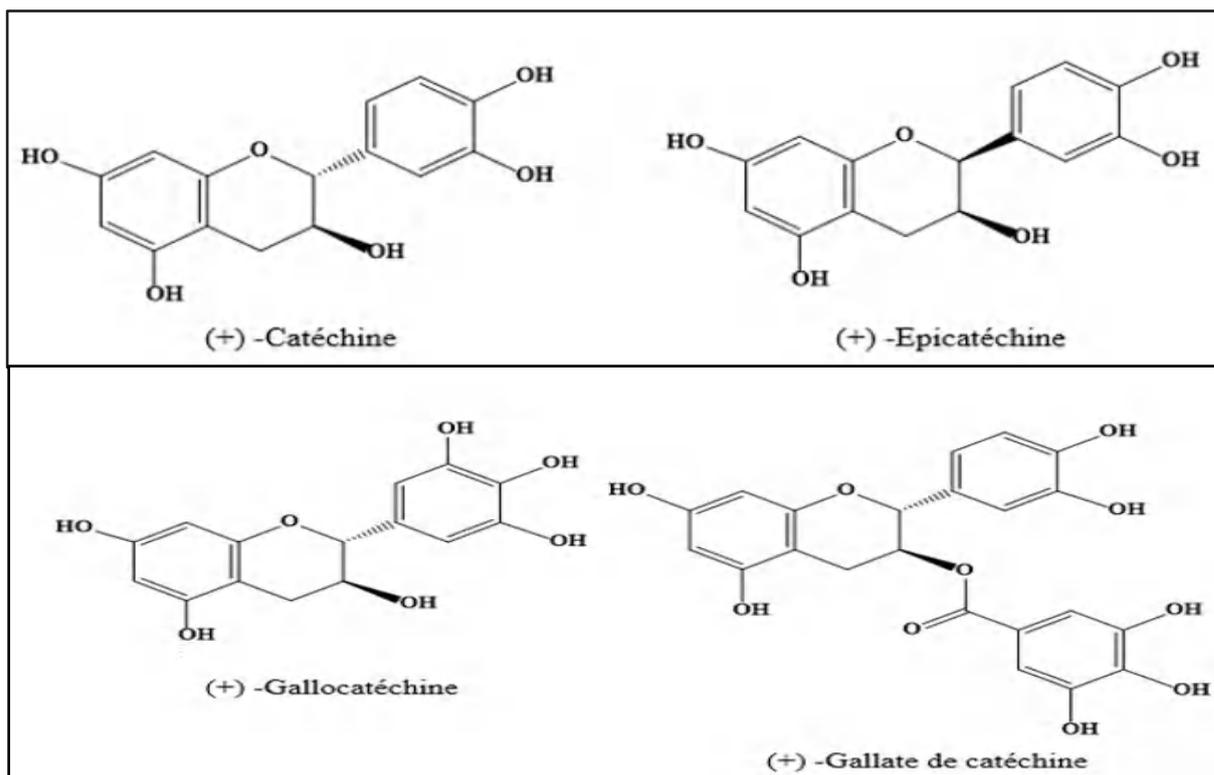


Figure I-8: Les monomères des procyanidines isolés de l'espèce *A.unedo*.

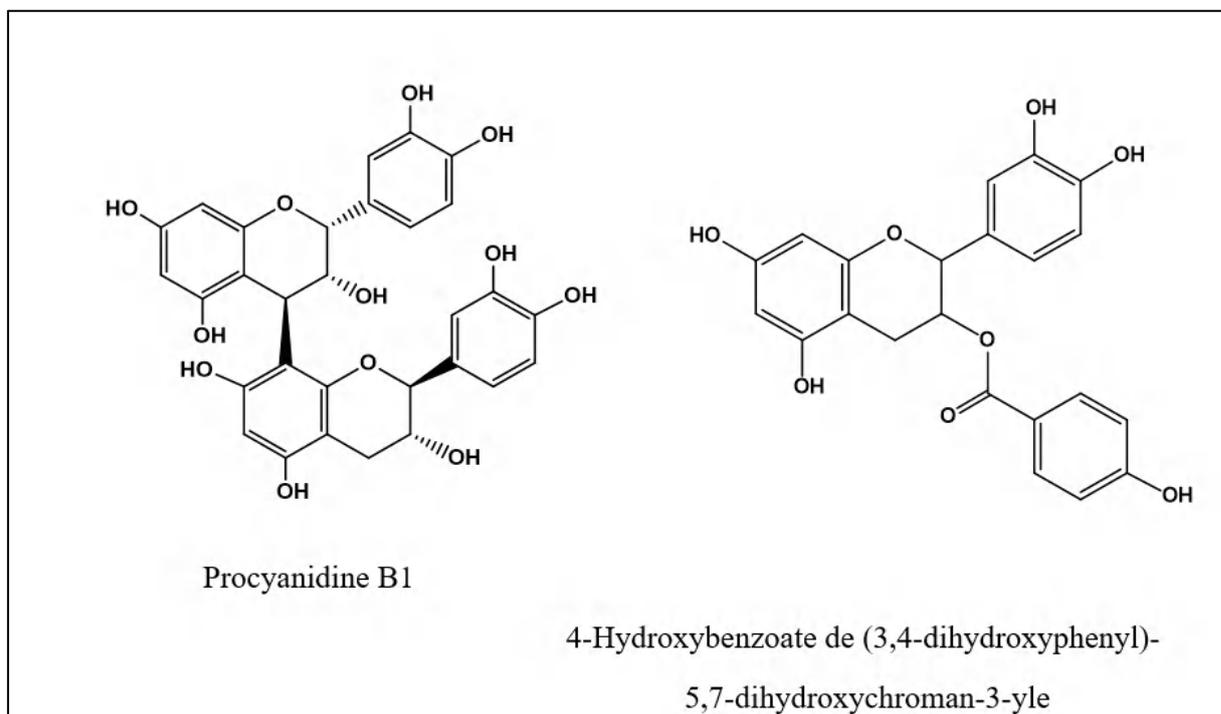


Figure I-9: Les procyanidines isolées de l'espèce *A.unedo*.

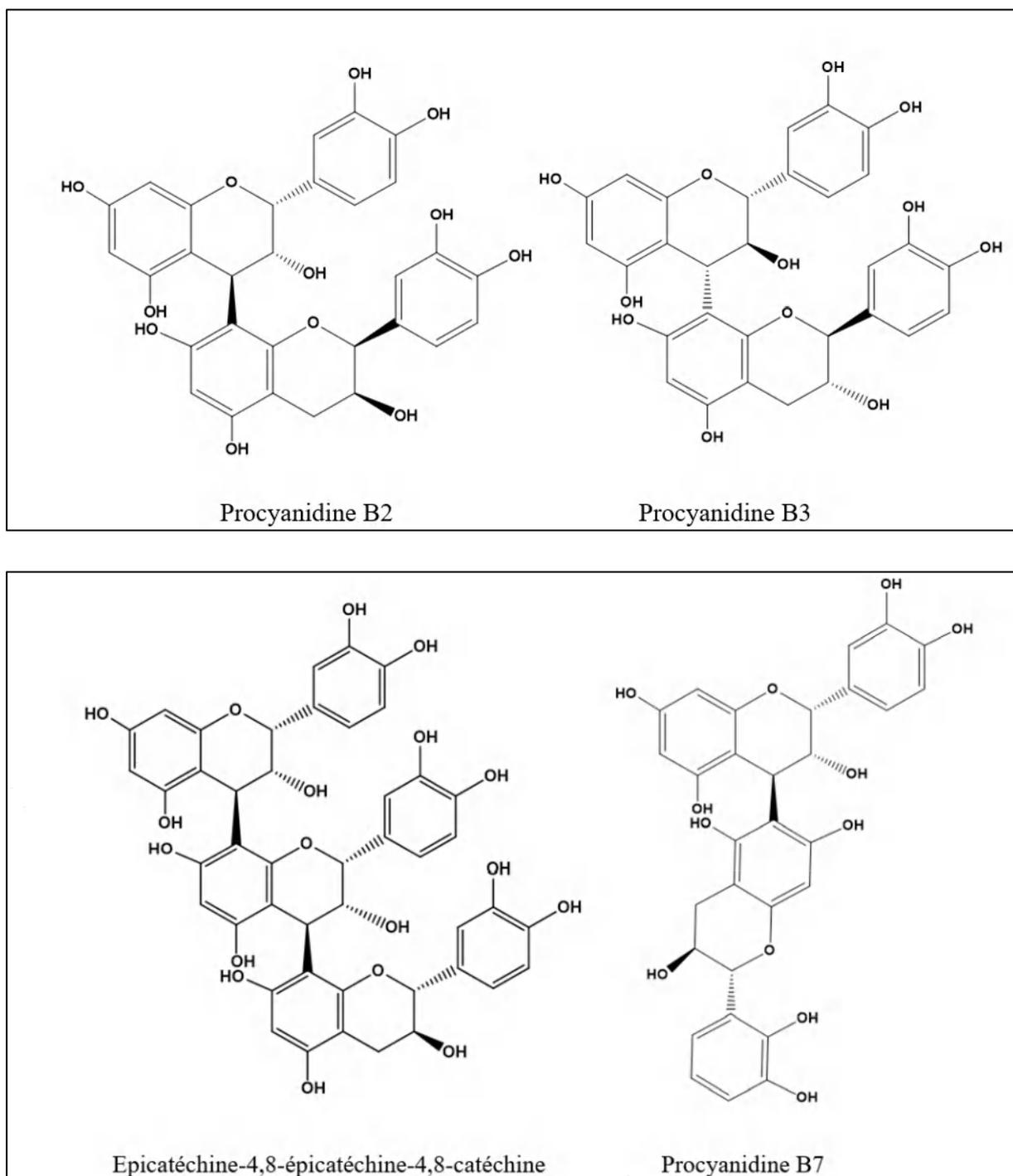


Figure I-9: Les procyanidines isolées de l'espèce *A.unedo* (suite).

I.3.2.2.5.c.ii Les dérivés d'acide gallique et les tanins

Les structures de différents dérivés de l'acide gallique et les tanins tels que : l'acide digalloylquiniquoshikimique, l'acide digalloylshikimique, l'acide trigalloylshikimique, l'acide trigalloylquinique et la strictinine [82][84], sont présentées dans la **figure I-10**.

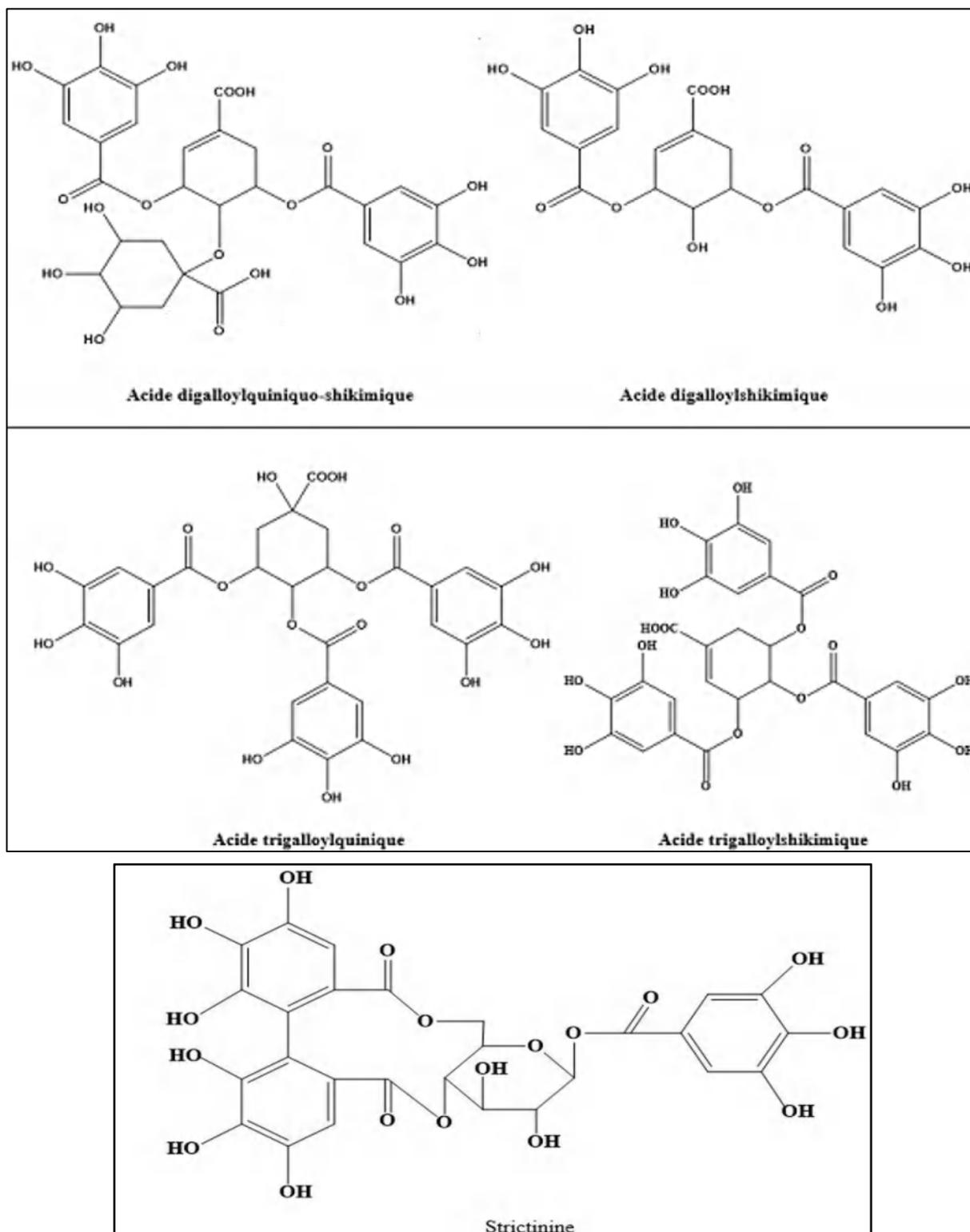


Figure I-10: Les dérivés de l'acide gallique et les tanins isolés de l'espèce *A.unedo* .

I.3.2.2.5.c.iii Les flavonoïdes

Les structures de différents flavonoïdes sont présentées dans la **figure I-11**, notamment: myricétine [79][87]; 3-(β -D-glucosyloxy) myricétine [82]; 3-(α -L-rhamnosyloxy) myricétine [82][84][91]; 3-(α -D-arabinosyloxy) myricétine [91]; 3-(β -D-xylosyloxy) myricétine [77]; quercitrine [77][86] ; rutine [77][86]; guaiavérine [86][91]; reynoutrine [77]; et hypérine [92][93].

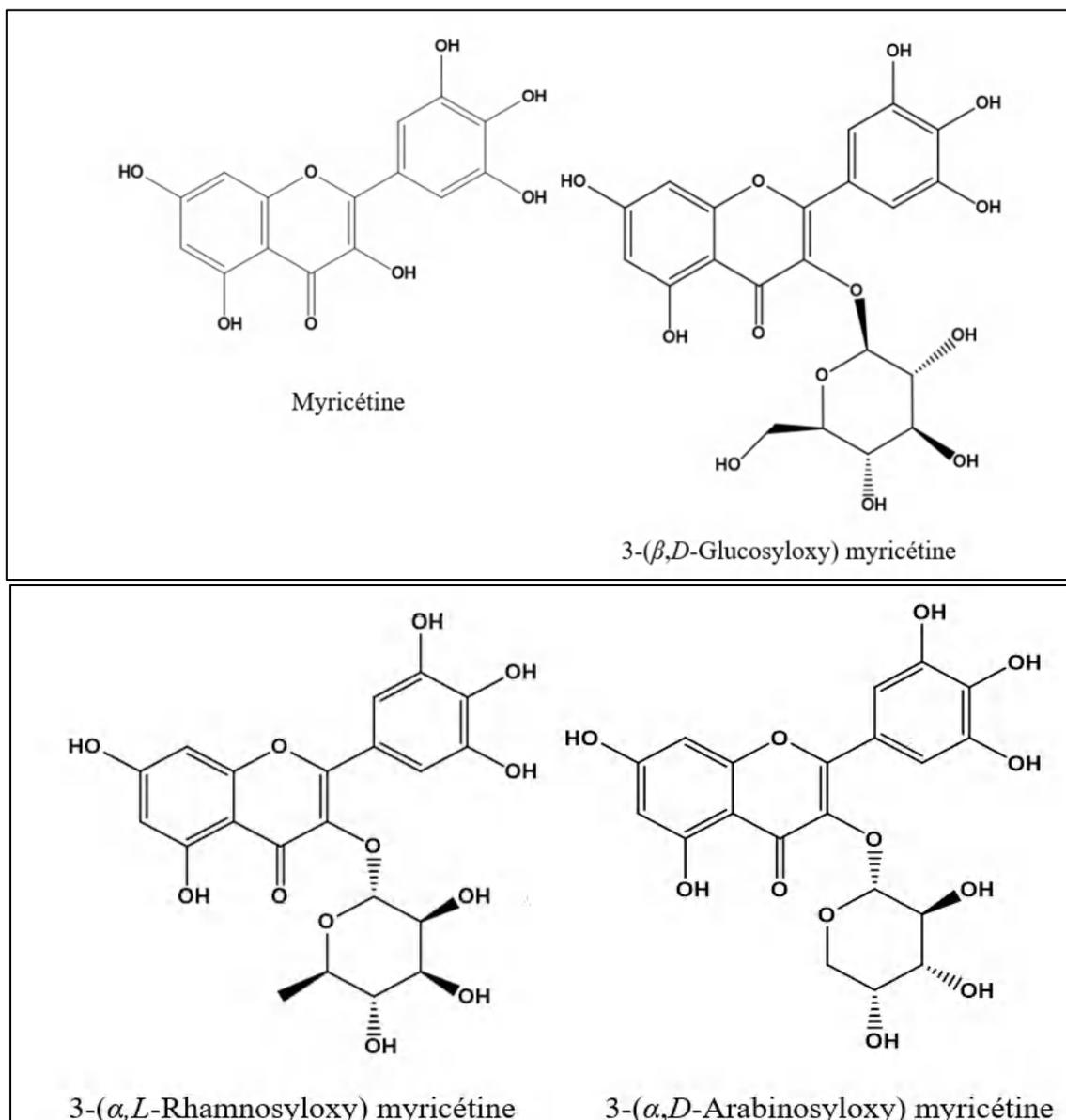


Figure I-11 : Les flavonoïdes isolés de l'espèce *A. unedo*.

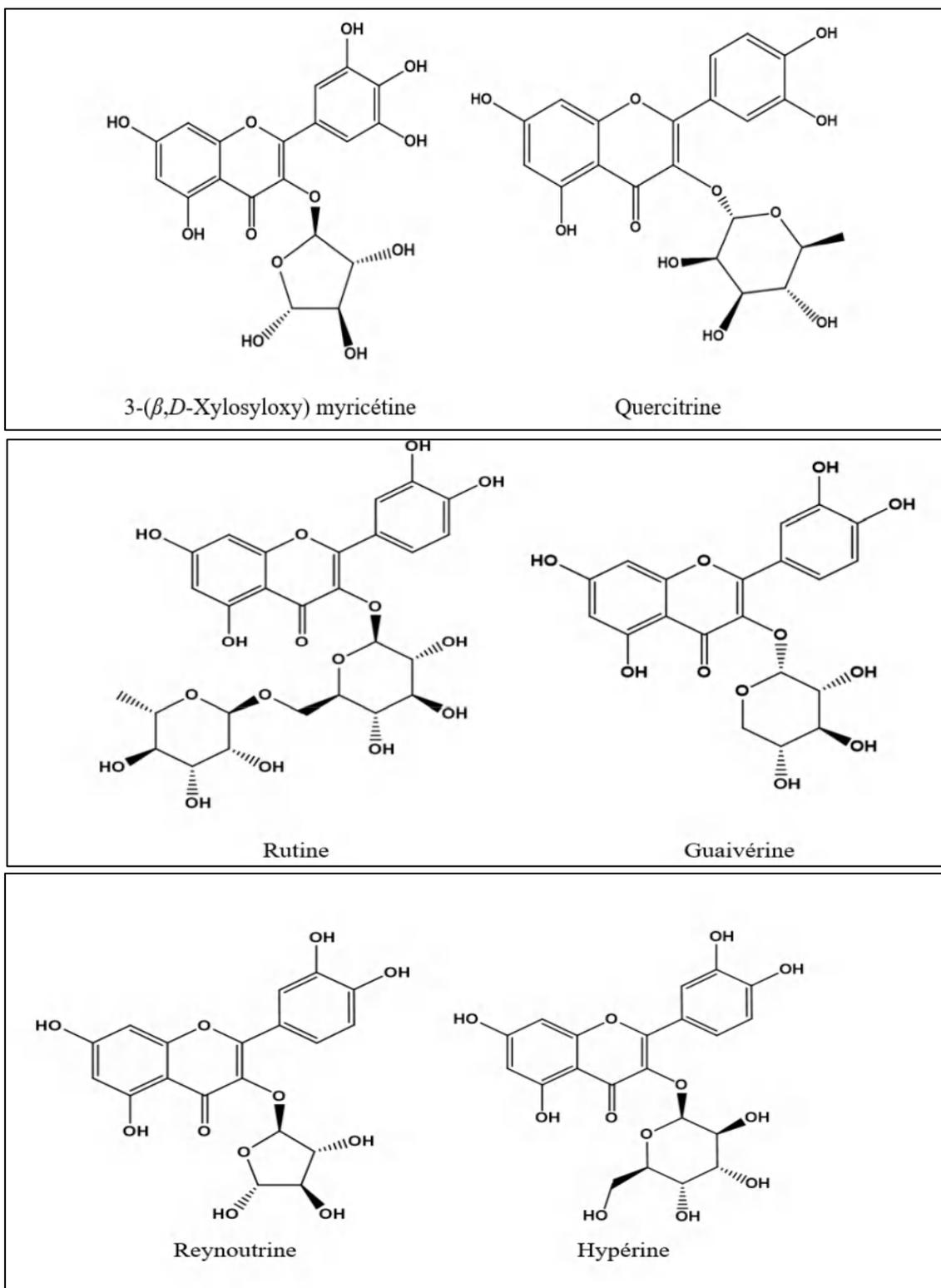


Figure I-11 : Les flavonoïdes isolés de l'espèce *A. unedo* (suite).

1.3.2.2.5.d Les terpènes

Les structures de différents terpènes: lupéol [94][95], α -amyrine [94], l'acide 3-*O*-acétylpomolique [95], 6 β -hydroxystigmast-4-èn-3-one [95], 7 β -hydroxystigmast-4-èn-3-one [95], oléan-12-èn-3 β , 24-diol [94], bétuline [95], l'acide bétulinique [95], l'acide platanique [95], et β -Sitostérol [95], sont présentées dans la **figure 1-12**.

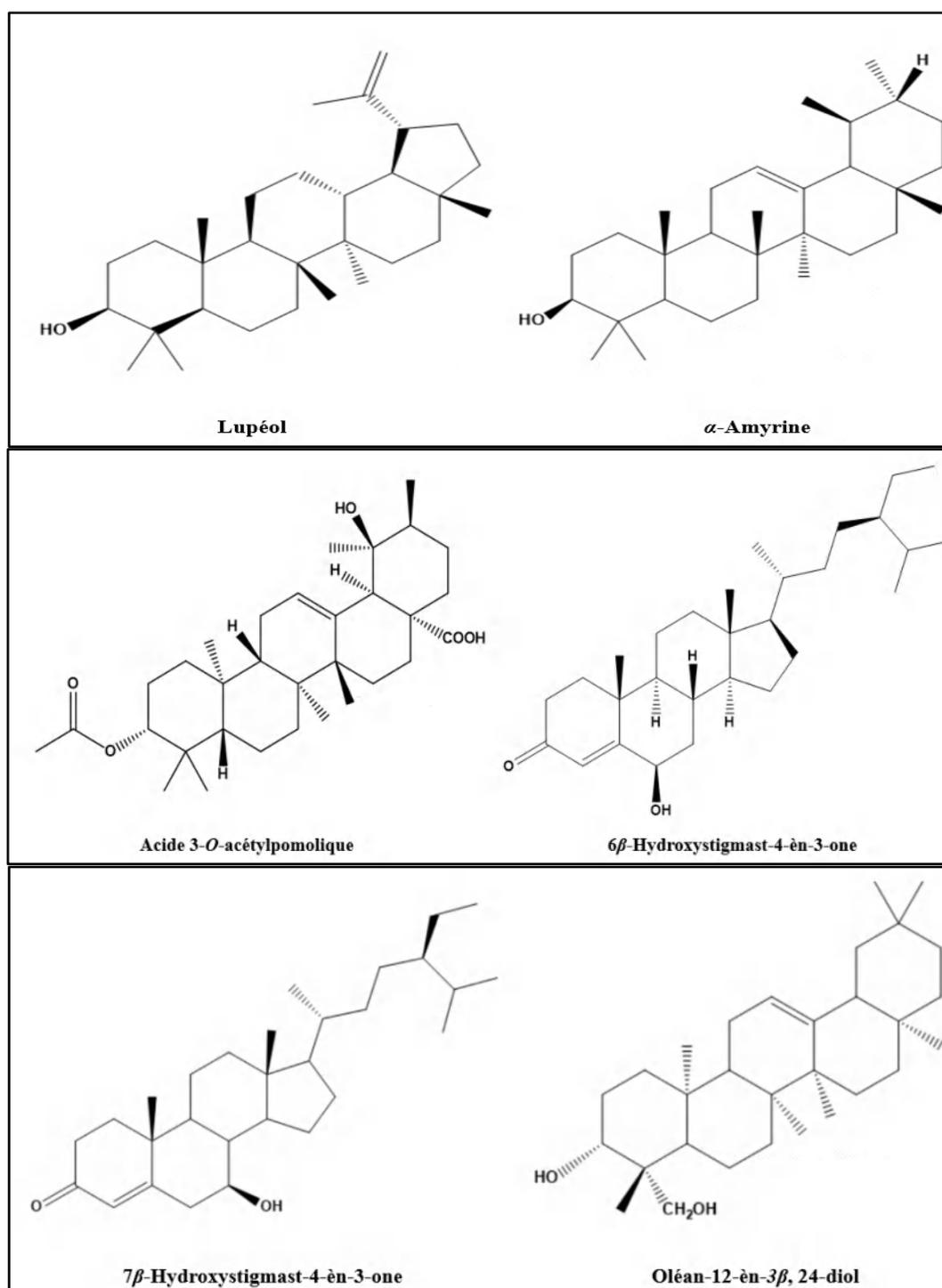


Figure I-12: Les terpènes isolés de l'espèce *A. unedo*.

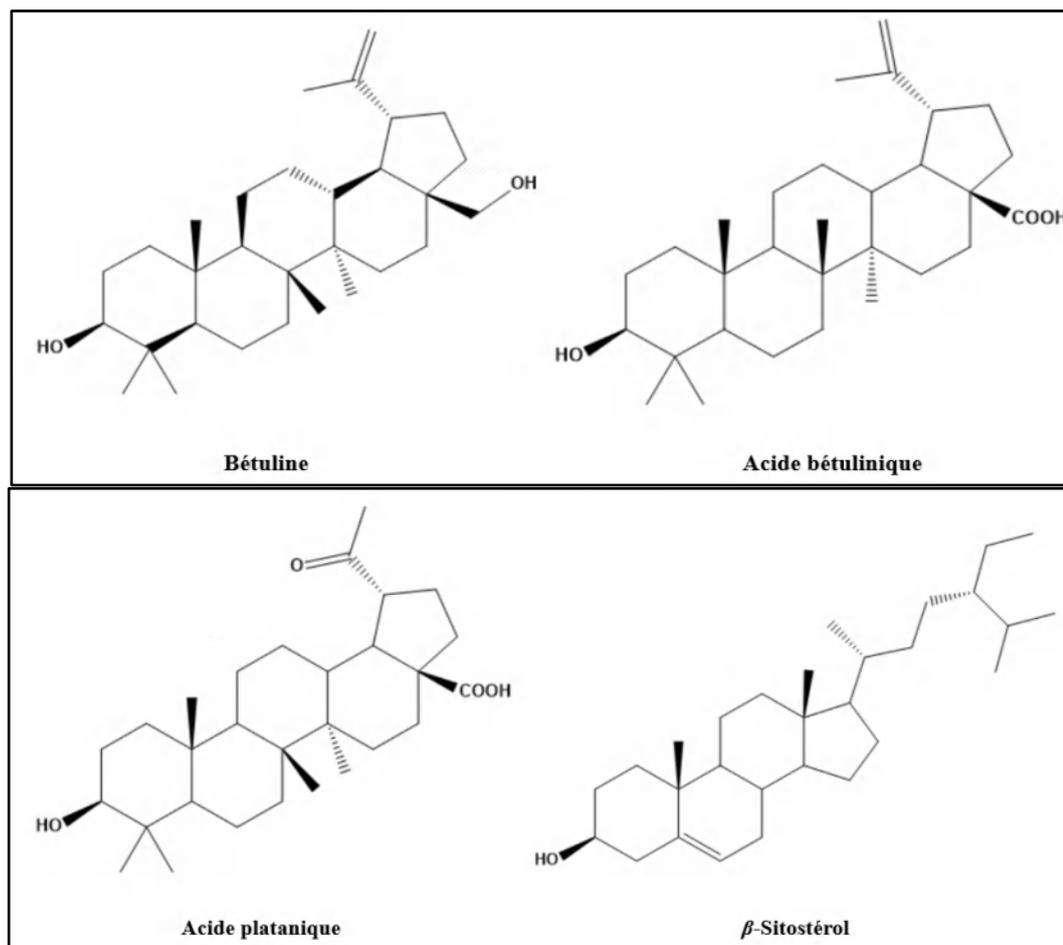


Figure I-12: Les terpènes isolés de l'espèce *A. unedo* (suite).

I.3.2.2.5.d.i *Les iridoïdes*

Les structures de différents iridoïdes : unédoside [96], monotropeine [97], galioside [98], stilbericoside [98], géniposide [98], unédide [96], gardénoside [96], brasoside [96], aspéruloside [96], et shanzhiside méthyle ester [96], sont présentées dans la **figure I-13**.

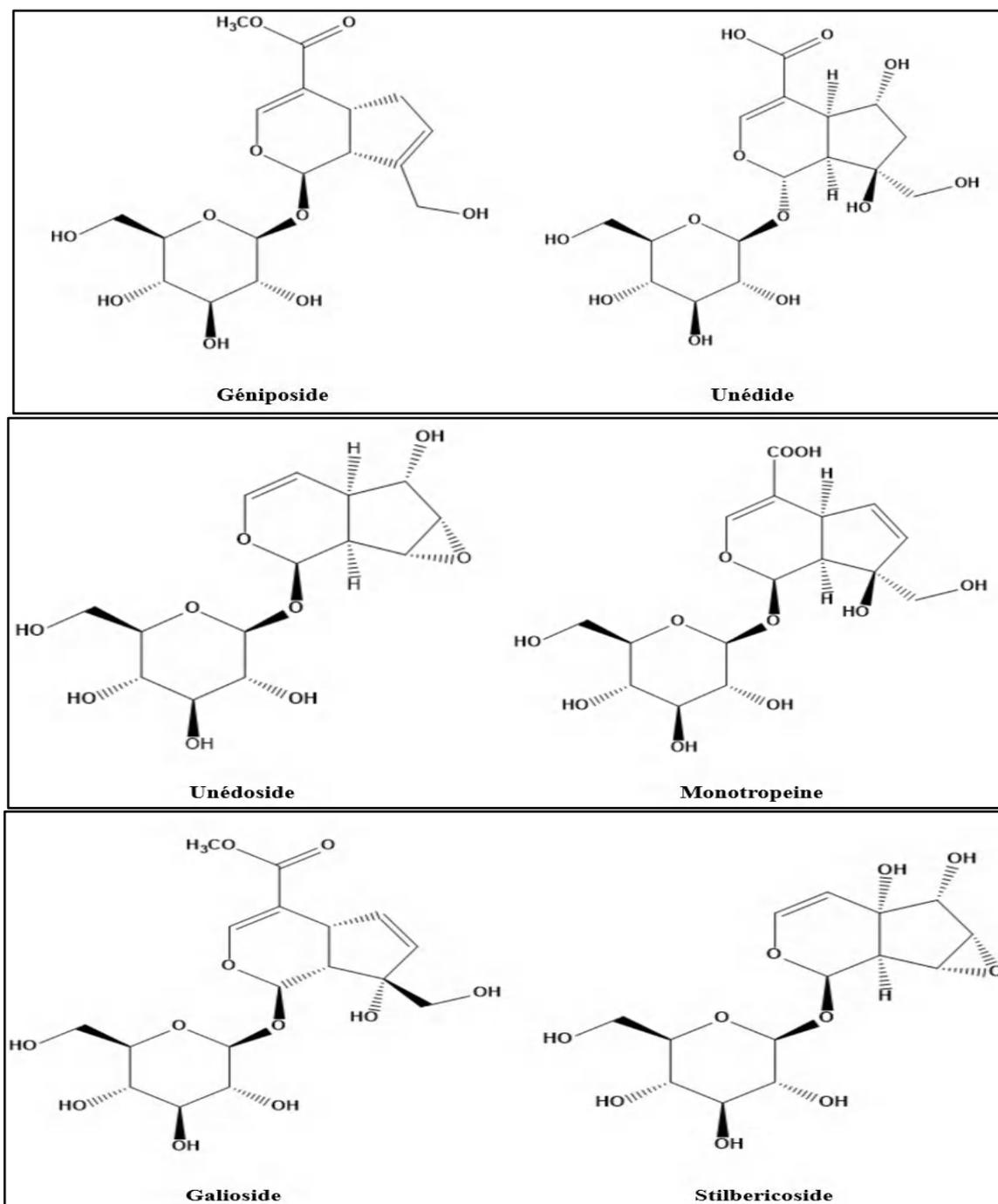


Figure I-13: Les iridoïdes isolés de l'espèce *A. unedo*.

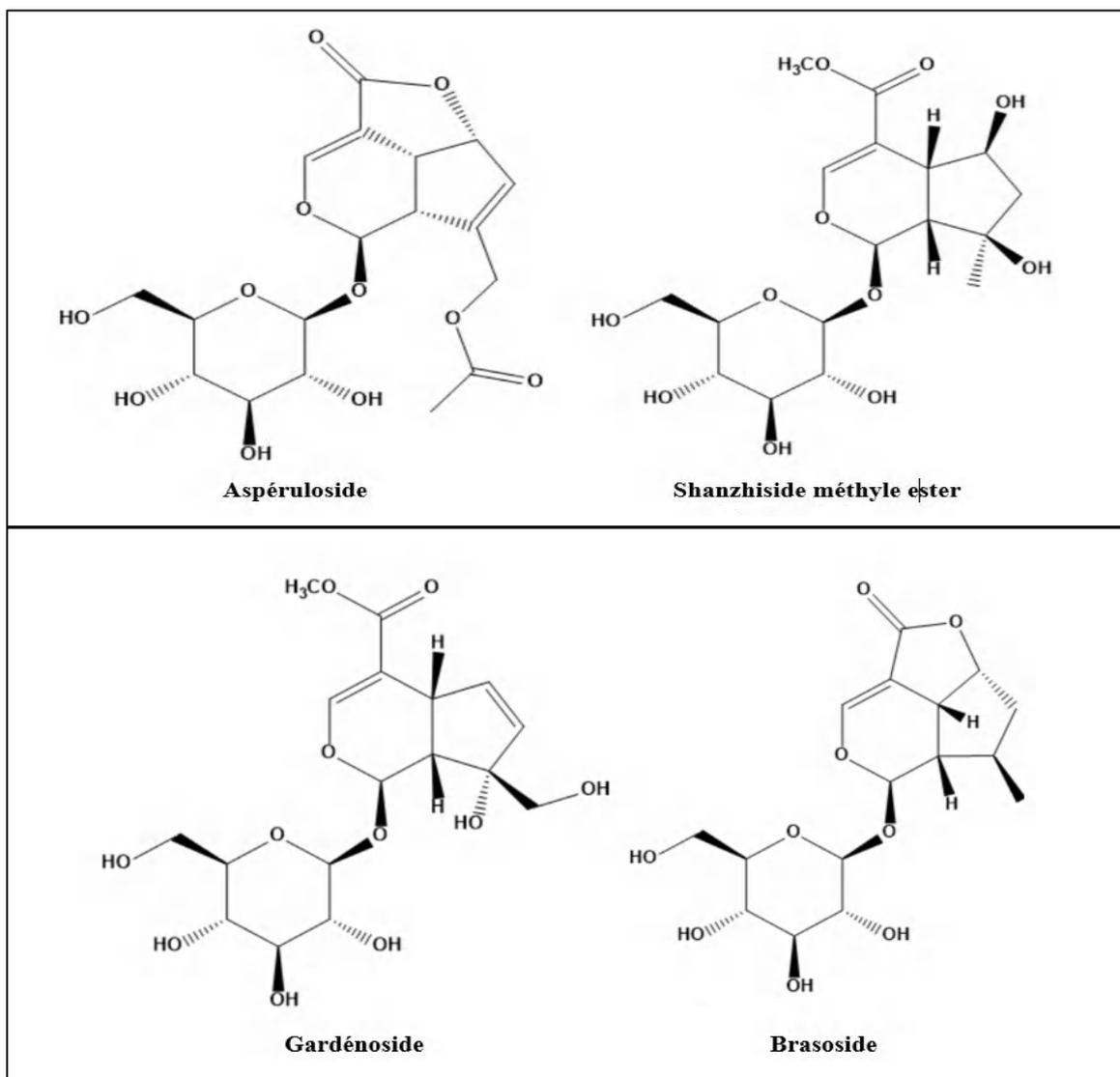


Figure I-13: Les iridoïdes isolés de l'espèce *A. unedo* (suite).

I.3.2.2.5.d.ii Les acides gras

Les structures de quelques acides gras tels que : l'acide linoléique [88][99][100]; l'acide α -linoléique [88][100][101][102]; l'acide oléique [88][101][103]; l'acide palmitique [100][101][104][105][106][107]; l'acide énanthique [107]; l'acide laurique [107]; l'acide tridécylique [107]; l'acide myristique [104][107]; l'acide pentadécanoïque [107]; l'acide margarique [107]; l'acide stéarique [107]; l'acide nonadécanoïque [107]; l'acide arachidique [107] et l'acide béhénique [107], sont présentées dans la **figure I-14**.

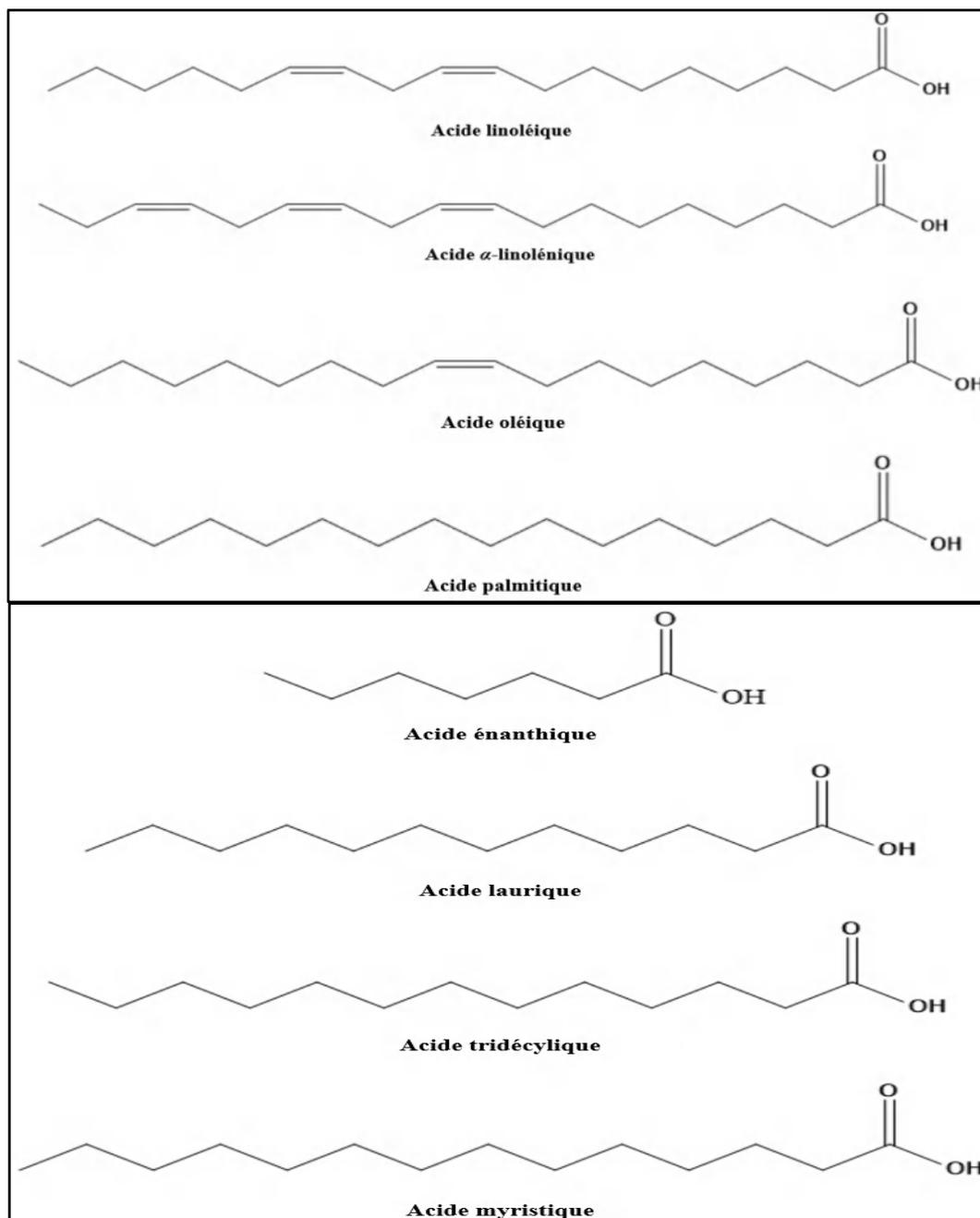


Figure I-14: Les acides gras isolés de l'espèce *A. unedo*.

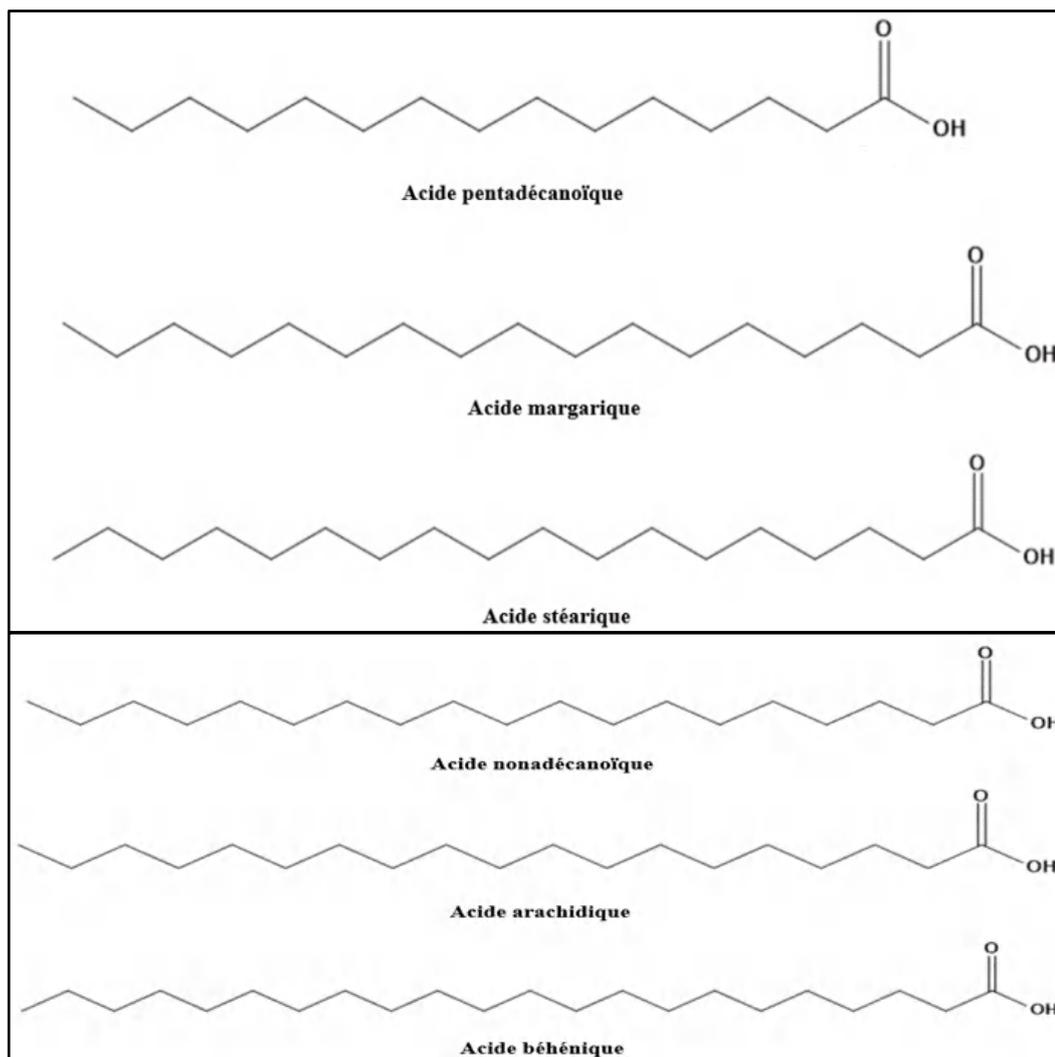


Figure I-14: Les acides gras isolés de l'espèce *A. unedo* (suite).

***I.3.2.2.5.d.iii* Autres produits isolés**

Les structures de différents produits isolés du miel de l'*A.unedo* tels que : α -isophorone [108][109], β -isophorone [108][109], 4-oxoisophorone [108][109], l'acide 2-*cis*,4-*trans*-abscisique [110], l'acide 2-*trans*,4-*trans*-abscisique [110], l'unédone [110], et l'acide homogentisique [111][112], sont présentées dans la **figure I-15**.

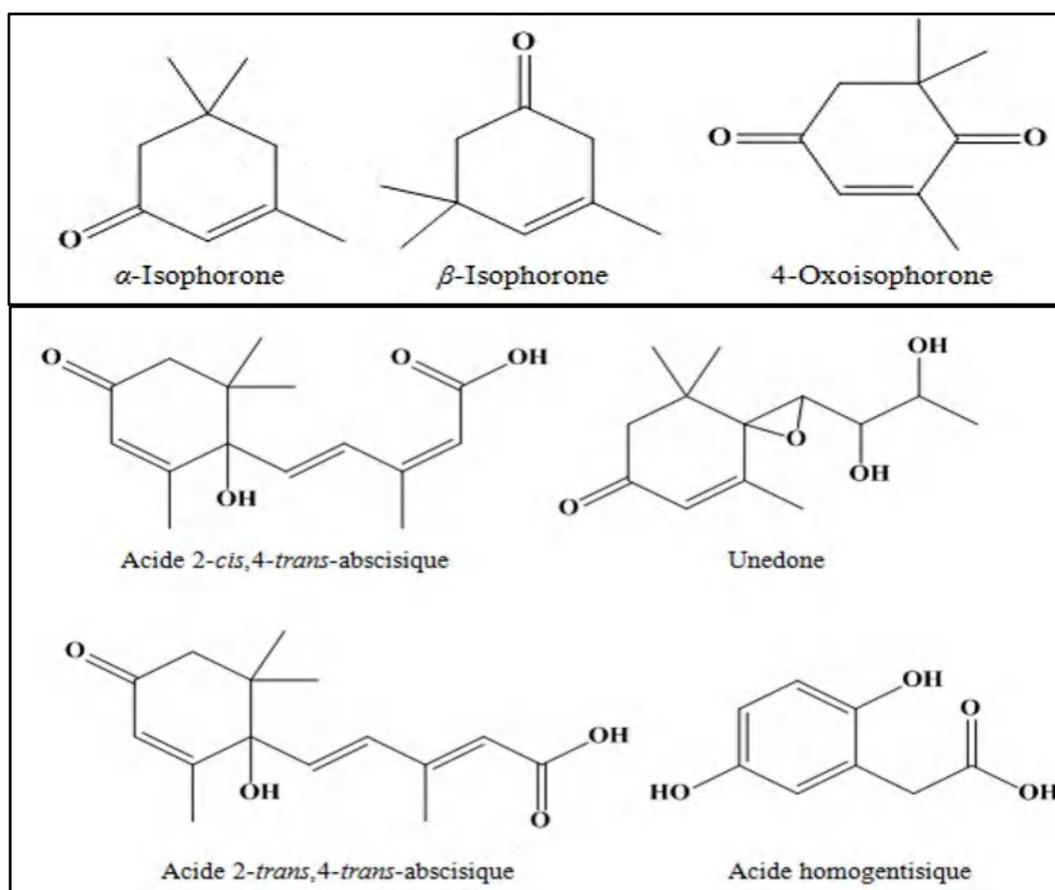


Figure I-15: Autres produits isolés du miel de l'espèce *A. unedo*.

I.3.2.2.5.d.iv La composition de l'huile essentielle

Les molécules séparées de l'huile essentielle de l'espèce *A. unedo* sont présentées dans le **tableau I-4**.

Tableau I-4: Les molécules identifiées de l'huile essentielle de l'espèce *A. unedo* L.

Nom du composé	Partie de la plante	Référence
<i>Trans</i> -carane	fruit	[104]
Dodécanoate d'éthyle	fruit	[104]
Linoléate d'éthyle	fruit	[104]
α -Terpinéol	fleur, feuille	[104][105][106]
Nonanal	fleur, feuille	[104][113][114]
Décanal	feuille	[113][114]
Acétate de 2-éthoxyéthyle	feuille	[113][114]
Linalool	fleur, feuille	[104][106]
(<i>E</i>)-2-Décénal	feuille	[105]

Nom du composé	Partie de la plante	Référence
(<i>E</i>)-2-Undécénal	feuille	[105]
2,6-Di- <i>tert</i> -butyl- <i>p</i> -crésol	feuille	[106]
β -Ionone	feuille	[105][106]
3,4-Diméthyl-5-pentylidène-2(5 <i>H</i>)-furanone (Bovolide)	feuille	[105]
2,2,6,8-Tétraméthyl-7-11- dioxatricyclo (6.2.1.0)- 1,6-undéc-4-ène	feuille	[106]
(<i>E</i>)-Géranylacétone	feuille	[106]
Hexahydroxifarnésylacétone	feuille	[105]
Ethylcyclohexane	tige	[107]
α -Pinène	feuille, tige	[107]
Limonène	feuille, tige	[107]
Benzoate de (<i>Z</i>)-3-hexényle	racine	[107]
α -Terpinène	tige	[107]
(<i>Z</i>)- β -Ocimène	feuille, tige	[107]
Élémol	feuille, tige	[107]
Cadina-3,9-diène	feuille	[107]
(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadiénal	feuille, fruit	[105][99]
(<i>E</i>)-2-Nonénal	feuille	[105]
1-Octanol	feuille	[105][107]
(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadiénal	feuille	[105]
Hexan-2-one	tige	[107]
2-Méthylheptane	tige	[107]
2,6-Diméthylheptane	tige	[107]
β -Myrcène	tige	[107]
2,4-Diméthylnonane	racine	[107]
Dodécanal	feuille, tige	[107]
Acétate de décyle	racine	[107]
Pentadécane	feuille, tige	[107]
Acétate de dodécyle	feuille, tige	[107]
Tétradécanol	feuille, tige	[107]
Heptadécane	feuille, tige	[107]

Nom du composé	Partie de la plante	Référence
Hexadécanal	feuille, tige	[107]
Cinnamate de benzyle	racine	[107]
α -Fenchone	feuille, fruit	[99]
<i>p</i> -Cymenène	feuille, fruit	[100]
Salvène	feuille, fruit	[99]
Acétate de fenchyle	feuille, fruit	[99]
(<i>Z,Z</i>)-2,4-Heptadiènal	feuille, fruit	[99]
Camphre	feuille, fruit	[99]
α -Ylangène	feuille, fruit	[99]
6-Méthyl-3,5-heptadièn-2-one	feuille	[105]
Myrténol	feuille	[105]
β -Damascone	feuille	[105]
Géranol	feuille	[105]
β -Caryophyllène	feuille	[105][106]
β -Cyclocitral	feuille	[105][106]
<i>p</i> -Cymèn-8-ol	feuille	[105]
α -Eudesmol	feuille	[106]
β -Eudesmol	feuille	[105]
γ -Eudesmol	feuille	[105]
Salicylate de méthyle	feuille	[105]
Bornéol	feuille	[106]
Vitispirane	feuille	[106]
β -Damascène	feuille	[106]
Hydroxydihydroédulan	feuille	[106]
α -Farnesène	feuille	[106]
2,4-Di- <i>tert</i> -butylphénol	feuille	[106]
Dihydroactinidiolide	feuille	[106]
<i>p</i> -Méthoxycinnamaldéhyde	feuille	[106]
Megastigmatriènone	feuille	[106]
Alloaromadendrène époxyde	feuille	[106]
Farnésylacétone	feuille	[106]

Nom du composé	Partie de la plante	Référence
2-Pentadécane	feuille	[106]
1,15-Hexadécadiène	feuille	[106]
Laurate de 2-éthylhexyle	feuille	[106]

Les structures de différentes molécules isolées de l'huile essentielle sont présentées dans la figure I-16 :

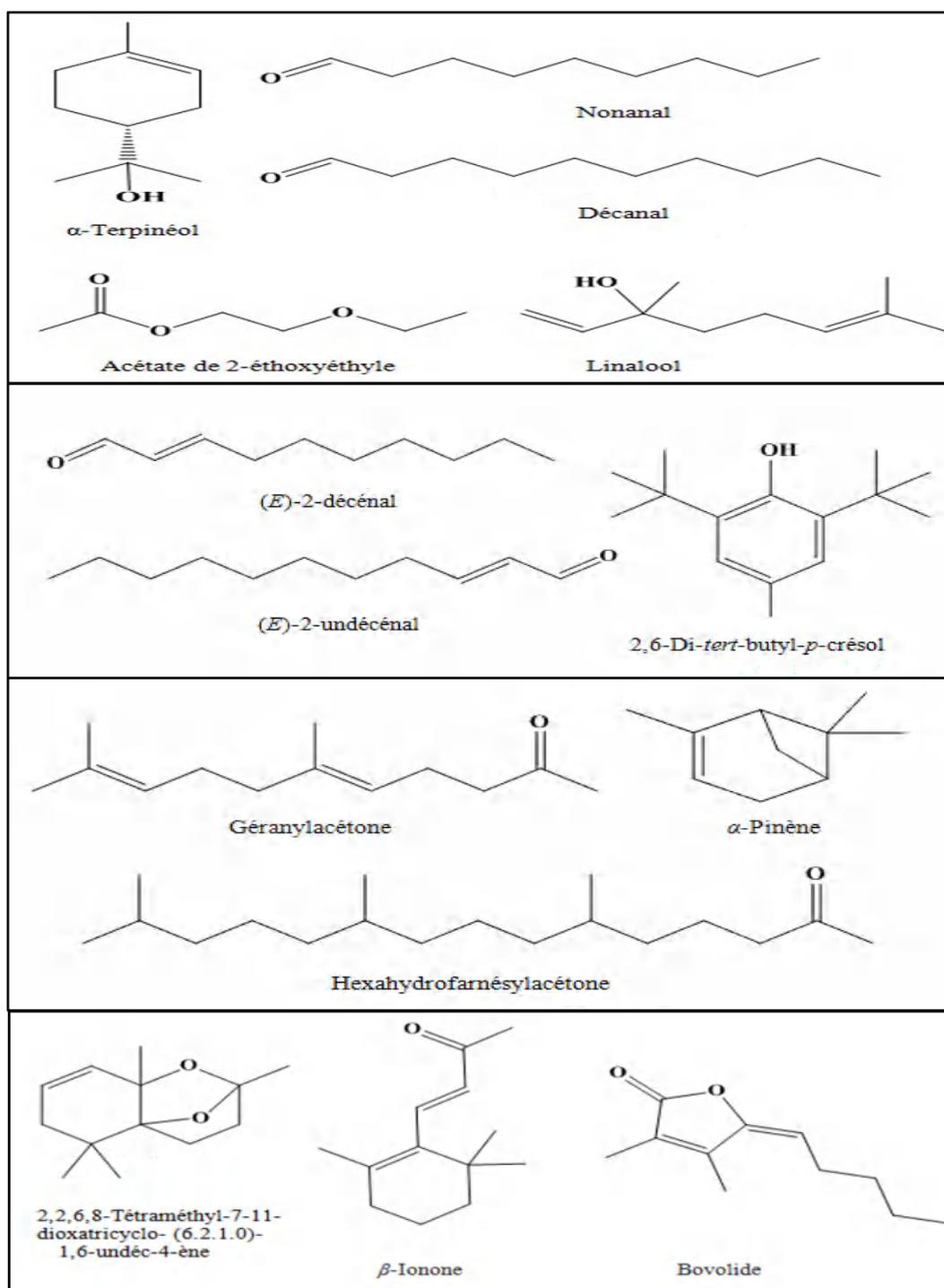


Figure I-16: Les structures de quelques molécules isolées de l'huile essentielle de l'espèce *A. unedo*.

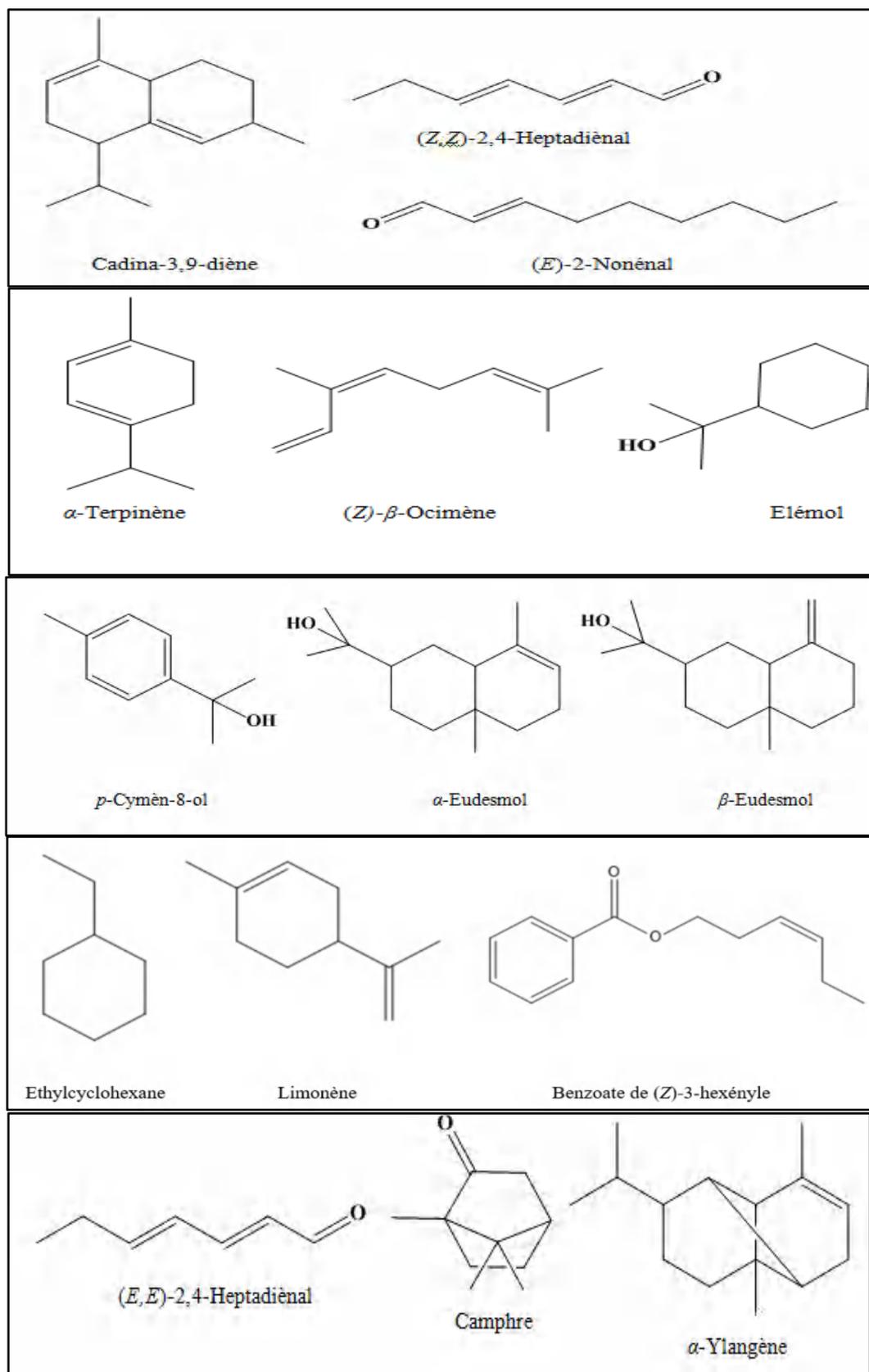


Figure I-16: Les structures de quelques molécules isolées de l'huile essentielle de l'espèce *A. unedo* (suite).

1.3.2.2.5.d.v Les méthodes d'identification et de quantification des huiles essentielles

Un mélange complexe d'huiles essentielles doit être analysé à l'aide de deux techniques chromatographiques, séparées par HPLC pour la fraction lourde et CG pour la fraction légère, avec une technique d'identification spectrale [115]. Conventionnellement, l'analyse est effectuée sur l'ensemble de l'huile essentielle ou de l'extrait brut. En raison des difficultés d'identification de certains constituants, la procédure nécessite un fractionnement de l'échantillon, qui peut se poursuivre jusqu'à ce que le composé soit purifié par des techniques de chromatographie préparative.

❖ Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS)

Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est l'une des techniques la plus utilisée en chimie analytique. Le principe de cette technique est de transférer les composés séparés par chromatographie gazeuse via la phase mobile (gaz vecteur) dans le spectromètre de masse, où la séparation est basée sur leurs masses, tandis qu'une série de fragments est enregistrée sous forme de pics correspondant à chaque ion de masse variable.

Néanmoins, cette procédure est appliquée dans des conditions présentant une grande différence entre la haute pression à laquelle la chromatographie en phase gazeuse a lieu et la basse pression requise par la spectrométrie de masse, ce qui rend difficile la combinaison de deux techniques. L'identification est ensuite réalisée en comparant les indices de rétention et les spectres de masse des constituants isolés avec ceux de produits de référence inclus dans la base de données (bibliothèques informatisées) contenant des milliers de spectres [115][116].

❖ Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide haute performance (CLHP) est une technique basée sur les mêmes principes que la chromatographie classique sur colonne, mais sans les inconvénients suivants : séparations plus lentes, absence de détecteurs et grand nombre d'échantillons requis. Selon la nature de la phase stationnaire, cet équipement plus sophistiqué peut être utilisé pour des phénomènes de partitionnement (le plus courant), d'adsorption, d'échange d'ions ou d'exclusion. Cette technique est généralement utilisée lors de la séparation et/ou de la purification chromatographique semi-préparative ou préparative des composés d'un mélange afin d'identifier et de quantifier les différents constituants. La méthode de séparation utilisée, exige les mêmes éléments de base que ceux utilisés dans la chromatographie sur colonne : un ou plusieurs solvants et une colonne remplie de phase stationnaire.

Dans ce cas, la colonne est précédée d'une pré-colonne (également en phase inverse C18), qui permet d'éviter le colmatage dû à l'accumulation de très grosses molécules. Ces colonnes en phase inverse (C18) sont idéales pour séparer les composés polaires solubles dans l'eau ou dans des mélanges hydroalcooliques. L'extrait ou le mélange à analyser est dissous dans la phase mobile (solvants) puis injecté sous haute pression en tête de la colonne (tube en acier inoxydable contenant la phase stationnaire). Un détecteur spectrophotométrique ou spectrométrique identifie les molécules à la sortie de la colonne et enregistre un signal qui est ensuite transformé par l'ordinateur en chromatogramme [117][118]. La principale différence avec la chromatographie conventionnelle réside dans le temps d'élution. Cette vitesse est obtenue en appliquant une pression élevée à l'éluant, à l'aide d'une pompe qui maintient le débit stable.

La combinaison d'une station HPLC avec un détecteur à barrettes de diodes (DAD) permet, d'une part, l'analyse qualitative d'un mélange par l'enregistrement des spectres UV des constituants isolés et, d'autre part, l'analyse quantitative basée sur l'aire de chaque pic chromatographique détecté sur une courbe d'étalonnage externe. Il est souvent difficile de trouver rapidement les conditions opératoires qui conduisent à une bonne séparation. Dans ce cas, la phase analytique permet de choisir les conditions expérimentales de séparation.

I.4 Conclusion

L'étude phytochimique de trois plantes *Pelargonium graveolens*, *lavandula dentata* et *Arbutus unedo*, est une étape nécessaire pour décortiquer le profil chromatographique correspondant à chaque plante, cette méthode consistante nous donne une idée globale sur les différents métabolites présents dans chaque espèce, et cela permet d'identifier les différentes familles de molécules biologiquement actives de chaque plante afin de procéder à leur séparation et ainsi leur purification. La composition chimique fonctionnelle des huiles essentielles (feuilles, fleurs et tiges) extraites des espèces *Pelargonium graveolens* et *lavandula dentata* est associée à la présence de monoterpènes et de sesquiterpènes, tandis que la teneur efficace des extraits (feuilles, les tiges et les fleurs) issus de l'espèce *Arbutus unedo* est corrélée à la richesse de cette plante en acides phénoliques, flavonoïdes, tanins et anthocyanes, si bien que toutes ces molécules sont à l'origine de plusieurs propriétés biologiques approuvant l'utilisation étendue de ces plantes dans le domaine pharmaceutique. D'autant plus, les fruits de l'espèce *Arbutus unedo* L. sont utilisés dans le domaine socio-économique (fabrication d'alcool, confitures, gelées et marmelades), mais ils sont majoritairement consommés à l'état frais.

L'étude de différentes méthodes et techniques de conservation des fruits de l'arbousier a récemment commencé dans le but d'augmenter leur valeur nutritionnelle et de concevoir leur effet bénéfique sur la santé humaine. Il convient de noter que l'exploitation des huiles et des extraits obtenus de ces plantes représente un potentiel inestimable et une démarche cruciale vers la découverte de nouvelles substances ayant des propriétés thérapeutiques.

I.5 Références bibliographiques

- [1] M. G. Simpson, "Plant Systematics," Academic press, *Elsevier*, 2019.
- [2] E. Small, and P. M. Catling, "Les cultures médicinales canadiennes," *NRC Research Press*, 2000.
- [3] K. Torrsell, and K. B. G. Torrsell, "Natural product chemistry: a mechanistic and biosynthetic approach to secondary metabolism," *Wiley*, 1983.
- [4] "Website." « [http //www.home.tiscali-be/jp.boseret/les-plantes...](http://www.home.tiscali-be/jp.boseret/les-plantes...) - Google Scholar ». https://scholar.google.com/scholar?hl=fr&as_sdt=0,5&q=http+//www.home.tiscali-be/jp.boseret/les+plantes+m%C3%A9dicinales.htm. (consulté le février. 27, 2021).
- [5] A. G. González , J. B. Barrera, H. J. M. Gijzen, A. G. González, A. de Groot, G. Prota, J. B. P. A. Wijnberg, W. Herz, G. W. Kirby, R. E. Moore, W. Steglich, and C. Tamm, "Chemistry and sources of mono- and bicyclic sesquiterpenes from *Ferula* species," *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Eds. Vienna: Springer Vienna, pp. 1-92, 1995.
- [6] M. Lis-Balchin, H. Steyrl, and E. Krenn, "The comparative effect of novel *Pelargonium* essential oils and their corresponding hydrosols as antimicrobial agents in a model food system," *Phytotherapy Research*, vol. 17, no. 1. pp. 60-65, 2003.
- [7] D.M. Miller, "The taxonomy of *Pelargonium* species and cultivars, their origins and growth in the wild: *geranium and pelargonium*," *Taylor & Francis Group*, New York, NY, 49-79, 2002.
- [8] J. Janin, "Intoxication volontaire par indigestion d'huile essentielle de géranium bourbon (*Pelargonium graveolens*): à propos d'un cas réunionnais," UHP - Université Henri Poincaré, 2006.
- [9] R. Lavergne, "Les plantes médicinales réunionnaises d'aujourd'hui," *Orphie*, 2004.
- [10] M. Hassler, "Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World in the Catalog of Life," 2019.
- [11] K. Ghedira, and P. Goetz, "Géranium rosat: *Pelargonium graveolens* L'Hér. (Geraniaceae)," *Phytothérapie*, vol. 13, no. 3, pp. 197-201, 2015.
- [12] M. Boukhris, C. B. Ahmed, I. Mezghani, M. Bouaziz, M. Boukhris, and S. Sayadi, "Biological and anatomical characteristics of the Rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*, L'Hér.) grown in the south of Tunisia," *Pak. J. Bot.*, vol. 45, no. 6, pp. 1945-1954, 2013. and S. Sayadi, "Biological and anatomical characteristics of the Rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*, L'Hér.) grown in the south of Tunisia," *Pak. J. Bot.*, vol. 45, no. 6, pp. 1945-1954, 2013.
- [13] M. Boukhris, M. S. J. Simmonds, S. Sayadi, and M. Bouaziz, "Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens*," *Phytother. Res.*, vol. 27, no. 8, pp. 1206-1213, 2013.
- [14] A. Ben Hsouna and N. Hamdi, "Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia," *Lipids Health Dis.*, vol. 11, p. 167, 2012.
- [15] J. Colling, J.H. Groenewald, and N. P. Makunga, "Genetic alterations for increased coumarin production lead to metabolic changes in the medicinally important *Pelargonium sidoides* DC (Geraniaceae)," *Metab. Eng.*, vol. 12, no. 6, pp. 561-572, 2010.
- [16] F. Tahan, and M. Yaman, "Can the *Pelargonium sidoides* root extract EPs® 7630 prevent asthma attacks during viral infections of the upper respiratory tract in children," *Phytomedicine*, vol. 20, no. 2, pp. 148-150, 2013.
- [17] J. Saraswathi, K. Venkatesh, B. Nirmala, and H. H. Majid, "Phytopharmacological importance of *Pelargonium* species," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5, no. 13, pp. 2587-2598, 2011.

- [18] M. N. Boukhatem, A. Kameli, M. A. Ferhat, F. Saidi, and M. Mekarnia, "Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs," *Libyan J. Med.*, vol. 8, no. 1, p. 22520, 2013.
- [19] N. Maruyama, Y. Sekimoto, H. Ishibashi, S. Inouye, H. Oshima, H. Yamaguchi, and S. Abe, "Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil," *J. Inflamm.*, vol. 2, no. 1, p. 1, 2005.
- [20] H.R Juliani, A. Koroch, J.E. Simon, N. Hitimana, A. Daka, L. Ranarivelo, and P. Langenhoven, "Quality of geranium oils (*Pelargonium* species): Case studies in southern and eastern Africa," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 18, no.1, pp. 116-121, 2006.
- [21] H. Lamendin, "De l'art dentaire à d'autres arts," *Editions Le Harmattan*, 2007.
- [22] M. Lis-Balchin, "Aromatherapy with Essential Oils," *Handbook of Essential Oils*. pp. 549-583, 2009.
- [23] L. Bosson, and G. Dietz, "L'hydrolathérapie: thérapie des eaux florales," *Ed. Amyris*, 2006.
- [24] M. Lis-Balchin, "Lavender: The Genus *Lavandula*," *CRC Press*, 2002.
- [25] B. Salehi, D. Mnayer, B. Özçelik, G. Altin, K.N. Kasapoğlu, C.D.Dikmen, M.S. Rad, Z. Selamoglu, K.Acharya, S.Sen, K.R. Matthews, P.V.T. Fokou, F.Sharopov, W.N. Setzer, M.Martorell, and J.S.Rad, "Plants of the genus *Lavandula*: from farm to pharmacy," *Natural Product Communications*, vol. 13, no. 10. p. 1934578X1801301, 2018.
- [26] T. Upson, S. Andrews, and G. Harriott, "The Genus *Lavandula*" *Timber Press*, 2004.
- [27] A. J. Paton, D.Springate, S. Suddee, D.Otieno, R.J.Grayer, M.M.Harley, F.Willis, M.S.J Simmonds, M.P. Powell, and V. Savolainen, "Phylogeny and evolution of basil and allies (Ocimeae, Labiatae) based on three plastid DNA regions," *Mol. Phylogenet. Evol.*, vol. 31, no. 1, pp. 277-299, 2004.
- [28] N. G. Passalacqua, R. Tundis, and T. M. Upson, "A new species of *Lavandula* sect. *Lavandula* (Lamiaceae) and review of species boundaries in *Lavandula angustifolia*," *Phytotaxa*, vol. 292, no. 2, pp. 161-170, 2017.
- [29] M. del M. Contreras, F. Algeri, A. Rodriguez-Nogales, J. Gálvez, and A. Segura-Carretero, "Phytochemical profiling of anti-inflammatory *Lavandula* extracts via RP-HPLC-DAD-QTOF-MS and -MS/MS: Assessment of their qualitative and quantitative differences," *Electrophoresis*, vol. 39, no. 9-10, pp. 1284-1293, 2018.
- [30] A. Beloued, "Encyclopédie des plantes utiles: flore d'Algérie et du Maghreb; substances végétales des régions d'Afrique, d'orient et d'occident," *Libraires Modernes: Rouïba, Algérie*, 1999.
- [31] L. Bousmaha, J. B. Boti, F. A. Bekkara, V. Castola, and J. Casanova, "Infraspecific chemical variability of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria," *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 21, no. 2. pp. 368-372, 2006.
- [32] C. Giuliani, M.Bottoni, R.Ascrizzi, F.Milani, A.Papini, G.Flamini, and G.Fico, "*Lavandula dentata* from Italy: Analysis of Trichomes and Volatiles," *Chem. Biodivers.*, vol. 17, no. 11, p. e2000532, 2020.
- [33] K. Rolli, "Plantes d'Afrique du nord," *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH: Eschborn*, 1991.
- [34] F. Harnist, "L'huile essentielle de lavande officinale : état des connaissances sur ses potentialités thérapeutiques," Mémoire pour l'obtention du diplôme docteur d'état en pharmacie, Université de Strasbourg, juin 2013.
- [35] M. Habiba, and M. Ferial, "Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques (*lavandula* Sp., *Origanum* Sp., *Salvia Officinalis* et *Thymus* Sp.) vis-à-vis du champignon *Fusarium* Sp," Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem, 2020.

- [36] C. Mourre, "lavande française [microform]," 1923.
- [37] Y. Ez zoubi, D. Bousta, and A. Farah, "A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L.," *Clinical Phytoscience*, vol. 6, no. 1, p. 9, 2020.
- [38] L. Bachiri, N. Labazi, A. Daoudi, J. Ibjijien, L. Nassiri, G. Echchegadda, and F. Mokhtari, "Etude ethnobotanique de quelques lavandes marocaines spontanées," *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 9, no. 3, pp. 1308-1318, 2015.
- [39] M. J. Gamez, A. Zarzuelo, S. Risco, P. Utrilla, and J. Jimenez, "Hypoglycemic activity in various species of the genus *Lavandula*. Part 2: *Lavandula dentata* and *Lavandula latifolia*," *Pharmazie*, vol. 43, no. 6, pp. 441-442, 988.
- [40] G. Woronuk, Z. Demissie, M. Rheault, and S. Mahmoud, "Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents," *Planta Med.*, vol. 77, no. 1, pp. 7-15, 2011.
- [41] L. L. Meessen, M. Bou, J. C. Sigoillot, C. B. Faulds, and A. Lomascolo, "Essential oils and distilled straws of lavender and lavandin: a review of current use and potential application in white biotechnology," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 99, no. 8, pp. 3375-3385, 2015.
- [42] C. Abdelli, and S. Chaabane, "Evaluation de la toxicité d'huile essentielle de *lavandula dentata* sur un modèle biologique *Drosophila melanogaster*," Mémoire de master, Université Larbi Tébessi - Tébessa, 2022.
- [43] M. A. Dib, H. Allali, B. Tabti, and A. Bendiabdellah, "A new proanthocyanidins from *Arbutus unedo* L. stems," *J. Chem. Chem. Eng.*, 2008.
- [44] D. J. Mabberley, "The Plant-Book first edition," Cambridge University Press: UK, 1987.
- [45] R. E. Spichiger, M. Figeat-Hug, and D. Jeanmonod, "Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales," *PPUR presses polytechniques*, 2002.
- [46] J. A. Torres, F. Valle, C. Pinto, A. García-Fuentes, C. Salazar, and E. Cano, "*Arbutus unedo* L. communities in southern Iberian Peninsula mountains," *Plant Ecol.*, vol. 160, no. 2, pp. 207-223, 2002.
- [47] J. Bellakhdar, "Plantes médicinales au Maghreb et soins de base: précis de phytothérapie moderne," *Éditions le Fennec*, 2004.
- [48] F. Baba Aissa, "Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident," *Ed Librairie moderne*, Rouiba, 46, 2000.
- [49] A. Didi, "Étude de l'activité antioxydante des flavonoïdes de l'*Arbutus unedo* et du *Dapline gaudium* L. de la région de Tlemcen," 2009.
- [50] G. Celikel, L. Demirsoy, and H. Demirsoy, "The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey," *Sci. Hortic.*, vol. 118, no. 2, pp. 115-119, 2008.
- [51] K. Fern, "Plants for a Future: Edible & Useful Plants for a Healthier World," Permanent Publications, 1997.
- [52] F. Bourlière, "Quezel, P. et Santa, S. nouvelle flore de l'Algérie et de ses régions désertiques méridionales. Tome II. Paris, Editions du centre national de la recherche scientifique, 1963," *Revue d'Écologie (La Terre et La Vie)*, vol. 18, no. 2, pp. 238-238, 1964.
- [53] T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, P. W. Ball, A. O. Chater, and R. A. DeFilipps, "Flora Europaea: Diapensiaceae to Myoporaceae," *Cambridge University Press*, 1972.
- [54] J. L. Guignard, "Abrégés en botanique, 10^{ème} édition," *Masson*, 1996.
- [55] P. Quezel, S. Santa, O. Schotter, and L. Emberger, "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales II," 2^{ème} édition du centre de recherche national -Paris, pp. 643-666, 1962.
- [56] F. A. Ayaz, M. Kucukislamoglu, and M. Reunanen, "Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits," *J. Food Compost. Anal.*, vol. 13, no. 2, pp. 171-177, 2000.

- [57] C.M. Papoff, I. Floris, V. Vacca, and G. Langiu, “Dehydrating strawberry tree (*Arbutus unedo*) honey in a small dehumidifier,” *Apicoltore Moderno*, 84 (3), 97-103,1993.
- [58] I. Bento and J. A. Pereira, “*Arbutus unedo* L. and its benefits on human health,” *J. Food Nutr. Res.*, vol. 50, pp. 73-85, 2011.
- [59] T. K. Lim, “Edible medicinal and non-medicinal plants: Volume 8, flowers,” *Netherlands: Springer*,2014.
- [60] Union internationale pour la conservation de la nature et de ses ressources, « A guide to medicinal plants in North Africa,”*IUCN*,2005.
- [61] P. Godinho-Ferreira, A. Azevedo, and F. Rego, “Carta da tipologia florestal de Portugal Continental,” *Silva Lusit.*, 2005.
- [62] M. F. F. N. Gomes, “Strategies for the improvement of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree): *in vitro* propagation, mycorrhization and diversity analysis,” Doctoral dissertation, Universidade de Coimbra, Portugal, 2011.
- [63] M. M. Takrouni, I. Ben El Haj Ali, C. Messaoued, and M. Boussaid, “Genetic variability of Tunisian wild strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) populations interfered from isozyme markers,” *Sci. Hortic.* , vol. 146, pp. 92-98,2012.
- [64] F. Gomes, and J. M. Canhoto, “Micropropagation of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) from adult plants,” *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, vol. 45, no. 1, pp. 72-82, 2009.
- [65] M. M. Takrouni, and M. Boussaid, “Genetic diversity and population’s structure in Tunisian strawberry tree (*Arbutus unedo* L.),” *Sci. Hortic.* , vol. 126, no. 3, pp. 330-337,2010.
- [66] L. Lopes, O. Sá, J. A. Pereira, and P. Baptista, “Genetic diversity of Portuguese *Arbutus unedo* L. populations using leaf traits and molecular markers: An approach for conservation purposes,” *Sci. Hortic.* , vol. 142, pp. 57-67, 2012.
- [67] F. Gomes, R. Costa, M. M. Ribeiro, E. Figueiredo, and J. M. Canhoto, “Analysis of genetic relationship among *Arbutus unedo* L. genotypes using RAPD and SSR markers,” *Res. J. For.*, vol. 24, no. 2, pp. 227-236, 2013.
- [68] R. Ogaya and J. Peñuelas, “Phenological patterns of *Quercus ilex*, *Phillyrea latifolia*, and *Arbutus unedo* growing under a field experimental drought,” *Écoscience*, vol. 11, no. 3, pp. 263-270, 2004.
- [69] M. Molina, M. Pardo-De-Santayana, L. Aceituno, R. Morales, and J. Tardío, “Fruit production of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) in two Spanish forests,” *Forestry*, vol. 84, no. 4, pp. 419-429, 2011.
- [70] G. Menendez-Baceta, L. Aceituno-Mata, J. Tardío, V. Reyes-García, and M. Pardo-de-Santayana, “Wild edible plants traditionally gathered in Gorbeialdea (Biscay, Basque Country),”*Genet. Resour. Crop Evol.*, vol. 59, no. 7, pp. 1329-1347, 2012.
- [71] M. L. C. M. M. Alarcão-E-Silva, A. E. B. Leitão, H. G. Azinheira, and M. C. A. Leitão, “The *Arbutus* berry: studies on its color and chemical characteristics at two mature stages,” *J. Food Compost. Anal.*, vol. 14, no. 1, pp. 27-35, 2001.
- [72] B. Boullard, “Plantes médicinales du monde: croyances et réalités,”*De Boeck Secundair*, 2001.
- [73] P. Iserin, M. Masson, and J.P. Restellini, “Encyclopédie des plantes médicinales,”*Larousse*, 2007.
- [74] A. Ziyat, A. Legssyer, H. Mekhfi, A. Dassouli, M. Serhrouchni, and W. Benjelloun, “Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 58, no. 1, pp. 45-54, 1997.

- [75] M. El Haouari, J. J. López, H. Mekhfi, J. A. Rosado, and G. M. Salido, "Antiaggregant effects of *Arbutus unedo* extracts in human platelets," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 113, no. 2, pp. 325-331, 2007.
- [76] A. Pabuçcuoğlu, B. Kivçak, M. Baş, and T. Mert, "Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves," *Fitoterapia*, vol. 74, no. 6, pp. 597-599, 2003.
- [77] K. Pallauf, J. C. Rivas-Gonzalo, D. Castillo, M. P. Cano, and S. de Pascual-Teresa, "Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 21, no. 4, pp. 273-281, 2008.
- [78] D. Andrade, C. Gil, L. Breitenfeld, F. Domingues, and A. P. Duarte, "Bioactive extracts from *Cistus ladanifer* and *Arbutus unedo* L.," *Ind. Crops Prod.*, vol. 30, no. 1, pp. 165-167, 2009.
- [79] D. R. Pavlović, S. Branković, N. Kovačević, D. Kitić, and S. Veljković, "Comparative study of spasmolytic properties, antioxidant activity and phenolic content of *Arbutus unedo* from Montenegro and Greece," *Phytother. Res.*, vol. 25, no. 5, pp. 749-754, 2011.
- [80] B.M. Ruiz-Rodríguez, P. Morales, V. Fernández-Ruiz, M.C. Sánchez-Mata, M. Cámara, C.D. Marqués, M. Pardo-de-Santayana, M. Molina, and J. Tardío, "Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data," *Food Res. Int.*, vol. 44, no. 5, pp. 1244-1253, 2011.
- [81] A. M. Pawlowska, M. De Leo, and A. Braca, "Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: identification of anthocyanins and gallic acid derivatives," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 26, pp. 10234-10238, 2006.
- [82] L. Mendes, V. de Freitas, P. Baptista, and M. Carvalho, "Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 49, no. 9, pp. 2285-2291, 2011.
- [83] A. Legssyer, A. Ziyat, H. Mekhfi, M. Bnouham, C. Herrenknecht, V. Roumy, C. Fourneau, A. Laurens, J. Hoerter, and R. Fischmeister, "Tannins and catechin gallate mediate the vasorelaxant effect of *Arbutus unedo* on the rat isolated aorta," *Phytother. Res.*, vol. 18, no. 11, pp. 889-894, 2004.
- [84] E. Sanjust, G. Mocci, P. Zucca, and A. Rescigno, "Mediterranean shrubs as potential antioxidant sources," *Nat. Prod. Res.*, vol. 22, no. 8, pp. 689-708, 2008.
- [85] R. Ganhão, M. Estévez, P. Kylli, M. Heinonen, and D. Morcuende, "Characterization of selected wild Mediterranean fruits and comparative efficacy as inhibitors of oxidative reactions in emulsified raw pork burger patties," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, no. 15, pp. 8854-8861, 2010.
- [86] R. Guimarães, L. Barros, M. Dueñas, A. M. Carvalho, M. J. R. P. Queiroz, C. Santos-Buelga, and I. C. F. R. Ferreira, "Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal," *Food Chem.*, vol. 141, no. 4, pp. 3721-3730, 2013.
- [87] R. C. Pimpão, T. Dew, P. B. Oliveira, G. Williamson, R. B. Ferreira, and C. N. Santos, "Analysis of phenolic compounds in Portuguese wild and commercial berries after multienzyme hydrolysis," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 61, no. 17, pp. 4053-4062, 2013.
- [88] P. Morales, I. C. F. R. Ferreira, A. M. Carvalho, V. Fernández-Ruiz, M. C. Sánchez-Mata, M. Cámara, R. Morales, and J. Tardío, "Wild edible fruits as a potential source of phytochemicals with capacity to inhibit lipid peroxidation," *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 115, no. 2, pp. 176-185, 2013.
- [89] A. Fiorentino, S. Castadeli, B. D'Abrosca, A. Natale, A. Carfora, A. Messere, and P. Monaco, "Polyphenols from the hydroalcoholic extract of *Arbutus unedo* living in a monospecific Mediterranean woodland," *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 35, no. 11, p. 809, 2007.

- [90] R. D. Pavlović, B. Lakusić, Z. Doslov-Kokorus, and N. Kovacević, "Arbutin content and antioxidant activity of some Ericaceae species," *Pharmazie*, vol. 64, no. 10, pp. 656-659, 2009.
- [91] M. A. Dib, N. Djabou, H. Allali, and B. Tabti, "Identification of phenolic compounds and antimicrobial activity of roots of *Arbutus unedo* L.," *Asian J. Chem.*, vol. 22, no. 5, p. 4045, 2010.
- [92] Z. Males, M. Plazibat, V. B. Vundać, and I. Zuntar, "Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree - *Arbutus unedo* L. (Ericaceae)," *Acta Pharm.*, vol. 56, no. 2, pp. 245-250, 2006.
- [93] Z. Maleš, D. Sarić, and M. Bojić, "Quantitative determination of flavonoids and chlorogenic acid in the leaves of *Arbutus unedo* L. using thin layer chromatography," *J. Anal. Methods Chem.*, vol. 2013, p. 385473, 2013.
- [94] E. M. S. M. Gaspar, H. J. C. das Neves, and J. P. Noronha, "Application of HPLC-PBMS to the identification of unknown components in a triterpenoid fraction of *Arbutus unedo* fruits," *J. High Resolut. Chromatogr.*, vol. 20, no. 8, pp. 417-420, 1997.
- [95] E. J. Carcache-Blanco, M. Cuendet, E. J. Park, B. N. Su, J. F. Rivero-Cruz, N. R. Farnsworth, J. M. Pezzuto, and A. D. Kinghorn, "Potential cancer chemopreventive agents from *Arbutus unedo*," *Nat. Prod. Res.*, vol. 20, no. 4, pp. 327-334, 2006.
- [96] E. Davini, P. Esposito, C. Iavarone, and C. Trogolo, "Structure and configuration of unedide, an iridoid glucoside from *Arbutus unedo*," *Phytochemistry*, vol. 20, no. 7, pp. 1583-1585, 1981.
- [97] P. Esposito, and M. Nicoletti, "Isolation of Monotropein, an iridoid glucoside from *Arbutus unedo*," *Atti. Accad. Naz. Lincei Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. Rend.*, vol. 68, pp. 71-73, 1980.
- [98] G. A. Karikas, M. R. Euerby, and R. D. Waigh, "Constituents of the Stems of *Arbutus unedo*," *Planta Med.*, vol. 53, no. 2, pp. 223-224, 1987.
- [99] N. Asmaa, G. Abdelaziz, B. Boulanouar, Á. A. Carbonell-Barrachina, M. Cano-Lamadrid, and L. Noguera-Artiaga, "Chemical composition, antioxidant activity and mineral content of *Arbutus unedo* (Leaves And Fruits)," *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 8, no. 6, p. 1335, 2019.
- [100] R. Vidrih, J. Hribar, Ž. Prgomet, and N. Poklar Ulrih, "The physico-chemical properties of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits," *Croat. J. Food Sci. Technol.*, vol. 5, no. 1, pp. 29-33, 2013.
- [101] L. Barros, A. M. Carvalho, J. S. Morais, and I. C. F. R. Ferreira, "Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties," *Food Chem.*, vol. 120, no. 1, pp. 247-254, 2010.
- [102] I. Oliveira, P. Baptista, R. Malheiro, S. Casal, A. Bento, and J. A. Pereira, "Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity," *Food Res. Int.*, vol. 44, no. 5, pp. 1401-1407, 2011.
- [103] M. S. Simonetti, F. Damiani, L. U. C. I. A. N. A. Gabrielli, L. Cossignani, F. Blasi, F. Marini, D' Montesano, A. Maurizi, F. Ventura, A. Bosi, P. Damiani, "Characterization of triacylglycerols in *arbutus unedo* L. seeds," *Ital. J. Food Sci.*, vol. 20, no. 1, 2008.
- [104] N. Kahriman, C. G. Albay, N. Dogan, A. Usta, S. A. Karaoglu, and N. Yayli, "Volatile constituents and antimicrobial activities from flower and fruit of *Arbutus unedo* L.," *Asian J. Chem.*, vol. 22, no. 8, p. 6437, 2010.
- [105] B. Kivcak, T. Mert, B. Demirci, and K. H. C. Baser, "Composition of the essential oil of *Arbutus unedo*," *Chem. Nat. Compo.*, vol. 37, no. 5, pp. 445-446, 2001.
- [106] R. Bessah, and E. H. Benyoussef, "Essential oil composition of *Arbutus unedo* L. leaves from Algeria," *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 15, no. 4, pp. 678-681, 2012.

- [107] M. A. Dib, J. Paolini, M. Bendahou, L. Varesi, H. Allali, J. M. Desjobert, B. Tabti, and J. Costa, "Chemical composition of fatty acid and unsaponifiable fractions of leaves, stems and roots of *Arbutus unedo* and *in vitro* antimicrobial activity of unsaponifiable extracts," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 5, no. 7, pp. 1085-1090, 2010.
- [108] F. Bianchi, M. Careri, and M. Musci, "Volatile norisoprenoids as markers of botanical origin of Sardinian strawberry-tree (*Arbutus unedo* L.) honey: Characterisation of aroma compounds by dynamic headspace extraction and gas chromatography-mass spectrometry," *Food Chem.*, vol. 89, no. 4, pp. 527-532, 2005.
- [109] E. de la Fuente, M. L. Sanz, I. Martínez-Castro, J. Sanz, and A. I. Ruiz-Matute, "Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain," *Food Chem.*, vol. 105, no. 1, pp. 84-93, 2007.
- [110] C. I. G. Tuberoso, E. Bifulco, P. Caboni, F. Cottiglia, P. Cabras, and I. Floris, "Floral markers of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, no. 1, pp. 384-389, 2010.
- [111] P. Cabras, A. Angioni, C. Tuberoso, I. Floris, F. Reniero, C. Guillou, and Stefano Ghelli, "Homogentisic acid: a phenolic acid as a marker of strawberry-tree (*Arbutus unedo*) honey," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, no. 10, pp. 4064-4067, 1999.
- [112] R. Scanu, N. Spano, A. Panzanelli, M. I. Pilo, P. C. Piu, G. Sanna, and A. Tapparo, "Direct chromatographic methods for the rapid determination of homogentisic acid in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honey," *J. Chromatogr. A.*, vol. 1090, no. 1-2, pp. 76-80, 2005.
- [113] S. Owen, C. Boissard, R. A. Street, S. C. Duckham, O. Csiky, and C. N. Hewitt, "Screening of 18 Mediterranean plant species for volatile organic compound emissions, Atmos," *Environ.*, vol. 31, pp. 101-117, 1997.
- [114] J. Peñuelas, and J. Llusà, "Seasonal patterns of non-terpenoid C6-C10 VOC emission from seven Mediterranean woody species," *Chemosphere*, vol. 45, no. 3, pp. 237-244, 2001.
- [115] J. M. Desjobert, A. Bianchini, P. Tomi, J. Costa, and A. F. Bernardini, "Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore corse," *Analysis*, vol. 6, no. 25, pp. M13-M16, 1997.
- [116] P. Longevialle, and F. W. McLafferty, "Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques," *Masson*, 1981.
- [117] L. R. Snyder, J. J. Kirkland, and J. W. Dolan, "Introduction to Modern Liquid Chromatography," *John Wiley & Sons*, 2011.
- [118] A. Rosset, M. Caude, and A. Jardey, "Chromatographies en phases liquide et supercritique," *Masson*, 1991.

Chapitre II: Partie expérimentale

Ce chapitre consacré à la partie expérimentale de notre travail comprend deux grands volets : le premier volet consiste en l'extraction de l'huile essentielle des trois espèces algériennes, à savoir *Pelargonium graveolens* L'Hér., *Lavandula dentata* L. et *Arbutus unedo* L., ainsi que l'analyse de leur composition chimique en utilisant la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

En outre, une étude phytochimique approfondie basée sur l'extraction, la séparation, la purification et l'identification structurelle de certains produits isolés de l'extrait d'acétate d'éthyle de l'espèce *Arbutus unedo* a été réalisée.

Le deuxième volet présente les différentes méthodes et matériels utilisés lors de la réalisation des activités biologiques, impliquant l'évaluation de l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles des espèces *P. graveolens* et *L. dentata*, ainsi que les activités antibactérienne, antioxydante, anti-Alzheimer et antidiabétique des extraits de l'espèce *A. unedo*.

II.1 Travaux de la partie chimique

II.1.1 Les espèces *Pelargonium graveolens* et *Lavandula dentata*

II.2.1.1.1 Récolte de la matière végétale

La plante *P. graveolens* a été récoltée au mois de juin 2021 dans les environs de la wilaya de Mila (Algérie), alors que l'espèce *L. dentata* a été collectée au mois de juillet de la même année dans la région de Marechou. Les deux plantes ont été authentifiées par Dr. Mohammad Moussaoui (botaniste au CRSP). Un spécimen de chaque espèce a été déposé dans l'herbier de l'unité de recherche VARENBIOMOL à l'université Frères Mentouri-Constantine-1 sous les codes GPG/06/21 et LLD/07/21, respectivement.

II.1.1.1 Extraction de l'huile essentielle

Les parties aériennes fraîches (feuilles, fleurs et tiges) de deux espèces : *P. graveolens* (m=500 g) et de *L. dentata* (m=680 g) ont été épuisées par entraînement à la vapeur (**Figure II-1**) ; Cette technique consiste à faire bouillir de l'eau distillée dans un ballon, à partir duquel la vapeur traverse le matériel végétal et fait éclater les cellules de la plante, libérant les molécules odorantes incorporées dans la plante. La vapeur chargée d'huile essentielle formant un mélange azéotropique dans le condenseur, se décante en deux phases dans le séparateur après condensation où l'huile essentielle s'accumule dans la phase supérieure. Dans notre expérience, la phase huileuse a été récupérée dans un tube à hémolyse, pesée pour déterminer le rendement final. L'huile essentielle obtenue, de couleur jaunâtre et d'odeur parfumée, a été conservée à 4°C et analysée par la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

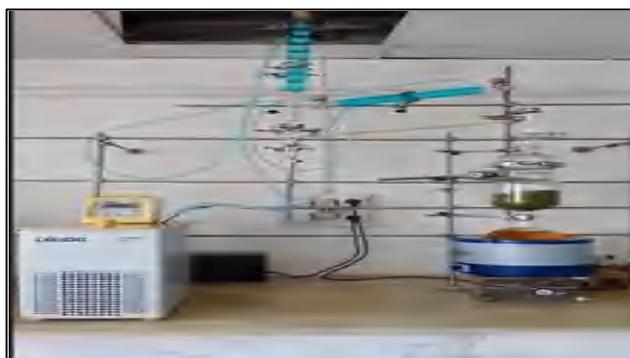


Figure II-1: Montage d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur.

II.1.1.2 Analyse par CG/SM

L'analyse CG a été réalisée, au niveau du centre de recherche des analyses physico-chimiques (CRAPC), à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent technologies GC 17A équipé d'une colonne HP-5MS à liaison grossière (30 m* 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm). La température du four a été programmée en isotherme à 60°C pendant 8 min, l'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 0,5 mL/min. La GC/MS a été réalisée à l'aide d'un détecteur sélectif de masse HP Agilent technologies 6800 plus, les conditions opératoires étaient les mêmes que celles de la GC analytique et les paramètres de fonctionnement MS étaient les suivants : le potentiel d'ionisation : 70 eV; le courant d'ionisation : 2 A; la température de la source d'ions: 280 °C ; la résolution : 1000, le temps de balayage : 5 s ; la plage de masse de balayage: 34-450 u ; le rapport du crachat: (50:1) ; le volume injecté : 1,0 µL. L'identification de différents composants de l'huile essentielle a été basée sur la comparaison de leurs temps de rétention, de leurs indices de rétention et de leurs spectres de masse avec ceux qui sont disponibles dans les bibliothèques NIST et Wiley, ainsi que par comparaison avec les données de la littérature [1] .

II.2.1.2 L'espèce *Arbutus unedo*

II.1.1.3 Récolte de la matière végétale

Cette espèce, qui pousse dans la forêt d'El Milia (Wilaya de Jijel), a été choisie comme spécimen pour une étude comparative basée sur sa composition chimique. Sa répartition dans cette région méditerranéenne en conditions humides lui confère un potentiel reproducteur de divers métabolites secondaires nécessaires à sa survie et à son adaptation au milieu.

La plante (feuilles, fleurs et tiges) a été récoltée au mois d'octobre 2017 dans la région d'El Milia (Jijel), puis identifiée et authentifiée par le Dr. Djamel Sarri. Un spécimen de référence (EAS 10/17) a été déposé dans le stock des plantes de l'unité de recherche VARENBIOMOL à l'université Frères Mentouri Constantine-1.

II.1.1.4 Extraction de l'huile essentielle

Une quantité de 500 g des parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de l'espèce *A. unedo* a subi une hydrodistillation relative à une distillation hétérogène.

Dans un dispositif de type Clevenger (**Figure II-2**), le matériel végétal a été immergé dans le ballon rempli d'eau, placé sur un chauffe-ballon dont la température a été fixée à 100°C pour permettre la rupture des cellules végétales, afin que les molécules odorantes retenues à l'intérieur soient susceptibles d'être libérées.

Après une demi-heure, la solution hydraulique contenant le matériel végétal a été mise en ébullition dans un système à reflux, et la vapeur chargée de l'huile essentielle s'est condensée avec les molécules d'eau sous le refroidissement du reflux pour atteindre un mélange azéotropique dans le condenseur, de sorte que le distillat contenant le mélange de deux composants avec différentes densités s'est déposé dans le séparateur. Après 3 heures, l'huile essentielle récupérée dans la phase supérieure, de couleur jaunâtre et d'odeur agréable, a été recueillie dans un tube à hémolyse, pesée puis conservée à 4°C pour analyse CG/MS.



Figure II-2: Montage d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (Clevenger).

II.1.1.5 Analyse par CG/SM

L'huile essentielle résultante a été dissoute dans du *n*-hexane et analysée par la technique CG/SM à l'université de Jijel. L'appareil utilisé était de type CG/SM à régulation électronique de pression de type Shimadzu (série CG-MS-OP 2010), équipée d'une colonne capillaire SE-30 (30 m x 0,25 mm) avec une épaisseur du film de 0,25 μm , d'un détecteur MS réglé à 260 °C et un injecteur split réglé à 250 °C. Le mode d'injection est par fractionnement split (rapport de fuite : 1/20). Le gaz utilisé est l'azote avec un débit de 1,5 mL.min⁻¹. La température de la colonne est programmée de 55 à 250 °C à raison de 4°C.min⁻¹. L'appareil est piloté par un système informatique de type HP Station, gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques. La fragmentation est effectuée par

impact électronique à 70 eV. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse NIST 05.

II.1.1.6 Macération à froid et préparation des phases

Les parties aériennes de l'espèce *Arbutus unedo* (477g) ont subi une macération dans un système hydroalcoolique (MeOH/H₂O, v/v : 80/20) pendant 3 x 48 heures. Après filtration, le solvant des macérats récupérés a été évaporé à sec sous pression réduite pour obtenir l'extrait MeOH (128,3 g). Ce dernier a été ajouté à 500 mL d'eau distillée et la solution a été filtrée après une nuit de repos. Le filtrat a été soumis à une extraction liquide-liquide avec différents solvants, en commençant par l'éther de pétrole pour éliminer la chlorophylle, puis le chloroforme, l'acétate d'éthyle et enfin le *n*-BuOH.

La concentration des phases organiques à sec a permis l'obtention des extraits suivants :

- Éther de pétrole de masse 2,23 g.
- Chloroforme de masse 2,38 g.
- Acétate d'éthyle de masse 2,86 g.
- *n*-BuOH de masse 2,94 g.

La **figure II-3** résume les étapes de l'extraction à froid de l'espèce *Arbutus unedo*.

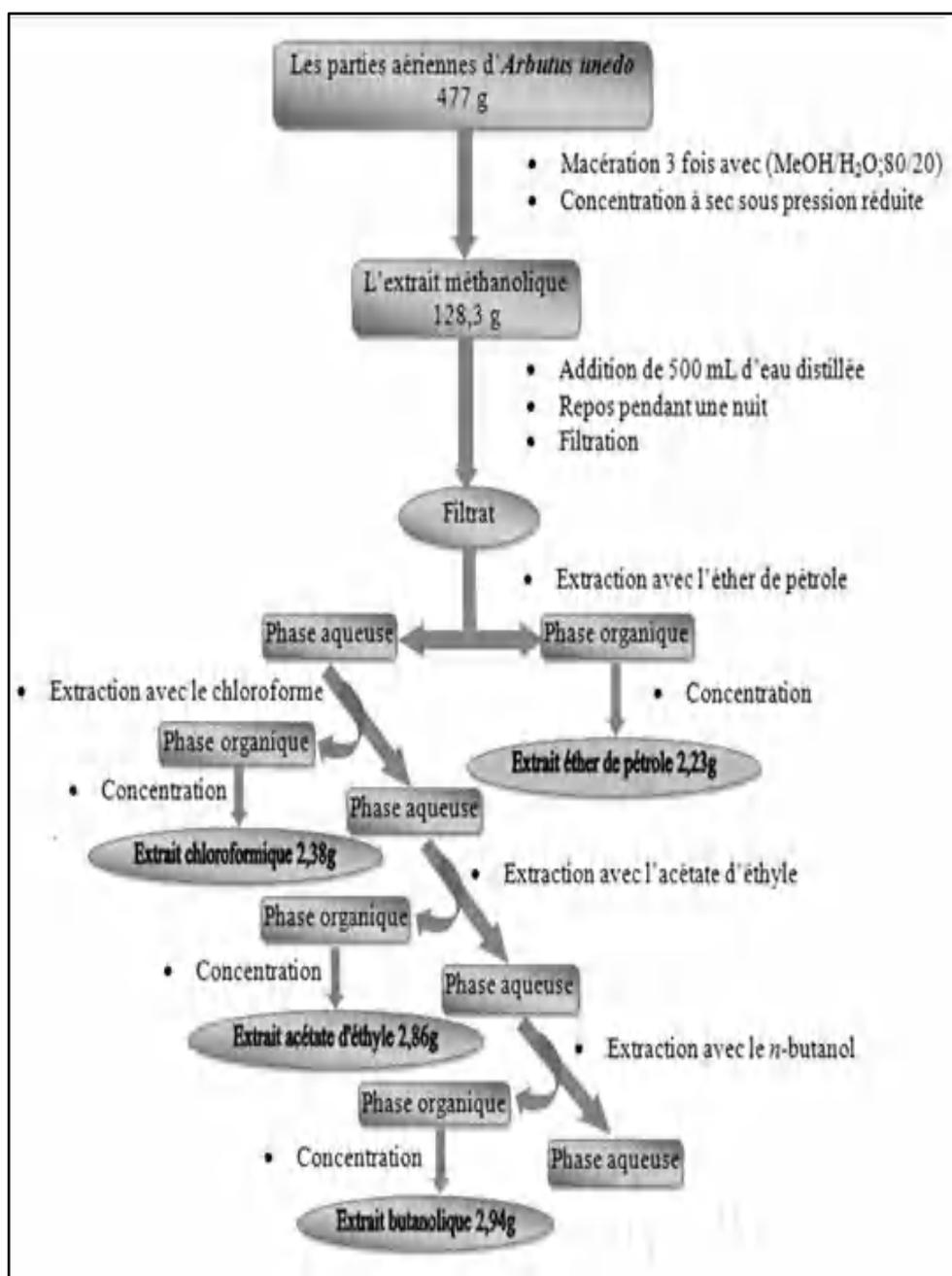


Figure II-3: Organigramme d'extraction à froid de l'espèce *Arbutus unedo* L.

II.1.1.7 Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative dans laquelle la composition chimique de l'extrait MeOH doit être investiguée via des réactions de précipitation et/ou de coloration spécifiques à chaque type de molécules tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les stérols, les saponines, les tanins et les terpénoïdes.

II.1.1.7.1 Recherche des alcaloïdes

Le test a été mené sur 1 g d'extrait MeOH préalablement dissous dans 10 mL de HCl (1,5 %). Après filtration, la solution obtenue a été répartie en quatre volumes égaux dans quatre tubes à essai [2] :

- **Le test de Dragendorff:** dans le premier tube, on a ajouté quelques gouttes du réactif de Dragendorff (iodobismuthate de potassium) préparé selon le protocole suivant : 0,85 g de nitrate de bismuth dissous dans un mélange d'eau distillée et d'acide acétique (40 mL et 10 mL), et 8 g d'iodure de potassium dissous dans 20 mL d'eau distillée ont été mélangés et bien agités.

Une autre méthode de préparation qui consiste à mélanger les deux solutions :

- **Solution A** : contenant 1,7 g de nitrate de bismuth et 30 g d'acide tartrique concentré dissous dans 100 mL d'eau distillée
- **Solution B** : comportant 10 g de l'iodure de potassium dissous dans 100 mL de l'eau distillée.

Caractérisation : la présence des alcaloïdes est indiquée par l'apparition d'un précipité rouge-orange.

- **Le test de Mayer :** dans le deuxième tube à essai, on a ajouté quelques gouttes du réactif de Mayer, préalablement préparé selon le protocole suivant : à 1,35 g de HgCl_2 dissous dans 60 mL d'eau distillée, 5 g de KI dissous dans (10 mL) H_2O distillée ont été additionnés, puis le volume a été complété par l'ajout de l'eau distillée jusqu'à 100 mL.

Caractérisation : la présence des alcaloïdes se caractérise par l'apparition d'un précipité blanc-jaunâtre.

- **Le test de Wagner :** dans le troisième tube à essai, on a ajouté quelques gouttes du réactif de Wagner, préparé selon le protocole suivant : 1,27 g de I₂ dissous dans 10 mL d'eau distillée, et 2 g de KI ont été mélangés, puis le volume a été complété par l'ajout de l'eau distillée jusqu'à 100 mL.

Caractérisation : l'apparition d'un précipité brun indique la présence des alcaloïdes.

- **Le test de Hager :** dans le quatrième tube à essai, on a ajouté quelques gouttes du réactif de Hager, préparé à partir d'une solution saturée d'acide picrique.

Caractérisation : la présence des alcaloïdes est indiquée par l'apparition d'un précipité jaune-orange.

II.1.1.7.2 Recherche des stérols et des terpènes

Généralement, les stérols sont mis en évidence par la réaction de **Liebermann-Burchard** sur l'extrait MeOH selon le protocole suivant [3] :

➤ **Recherche des stérols**

Un volume de 1 mL de l'extrait MeOH a été placé dans deux verres de montre pendant un certain temps. Après séchage à l'air libre, l'un des deux a été repris par deux gouttes d'anhydride acétique puis une goutte d'acide sulfurique concentré a été versée dans les deux verres de montre.

Caractérisation : l'apparition d'une couleur violette virant au vert au bout d'un certain temps, uniquement sur l'extrait traité avec l'anhydride acétique, indiquant la présence de stérols.

Si l'extrait traité avec l'acide H₂SO₄ seul prend d'autres couleurs, cela indique la présence d'autres composés comme des dérivés terpéniques si la couleur vire au rouge et des caroténoïdes si la couleur vire au bleu.

➤ **Recherche des triterpènes**

Une masse de 1g de l'extrait MeOH a été dissoute dans 0,5 mL d'anhydride acétique et 0,5 mL de chloroforme. Après quelques minutes d'agitation, la solution a été transférée dans un tube à essai. À l'aide d'une pipette pasteur, 1 mL d'acide sulfurique concentré a été soigneusement ajouté.

Caractérisation : l'apparition d'un anneau marron entre les deux phases organiques indique la présence des triterpènes.

II.1.1.7.3 Identification des flavonoïdes

Dans un tube à essai, 2 mL de l'extrait MeOH et 1 mL de HCl concentré ont été placés. Après l'agitation de la solution, des copeaux de magnésium ont été ajoutés.

Caractérisation : Une effervescence intense a été observée dans la zone de contact des copeaux de magnésium avec la solution, suivie de l'apparition d'une couleur rose, indiquant la présence de flavonoïdes [4].

II.1.1.7.4 Identification des coumarines

Dans un tube à essai, un volume de 0,5 mL d'ammoniaque (25 %) a été additionné à 1 mL d'extrait MeOH. Après agitation de la solution, celle-ci a été examinée sous une lampe UV à 365 nm.

Caractérisation : la fluorescence émise par la solution indique la présence de coumarines [5].

II.1.1.7.5 Identification des saponines

Quelques milligrammes de l'extrait MeOH ont été dissous dans 1 mL d'eau distillée bouillante sous agitation pendant quelques minutes.

Caractérisation : la formation d'une mousse dense indique la présence de saponines.

Une autre méthode, dans laquelle l'extrait était trempé dans une solution composée de quelques milligrammes de Na_2CO_3 dissous dans 1 mL d'eau distillée, a confirmé la présence de saponines après la formation d'un nid d'abeilles [6].

II.1.1.7.6 Identification des tanins

➤ Tanins catéchiques

Dans un tube à essai, 1 g de l'extrait MeOH a été dissous dans 2 mL d'eau distillée bouillante, puis quelques gouttes de chlorure ferrique FeCl_3 (1%) ont été ajoutées.

Caractérisation : l'apparition d'une couleur vert-noirâtre indique la présence de tanins catéchiques [7].

➤ **Tanins galliques**

Un volume de 1 mL de l'infusion méthanolique a été mis dans un tube à essai saturé d'acétate de sodium, puis quelques gouttes de chlorure ferrique (1 %) ont été ajoutées.

Caractérisation : l'apparition d'une couleur bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques [8].

Trois autres méthodes de caractérisation des tanins ont été mises en place en faisant dissoudre 1g de l'extrait MeOH dans un tube à essai contenant de l'eau distillée bouillante. Après filtration, le filtrat obtenu a subi trois tests.

➤ **Test avec FeCl₃**

Quelques gouttes de FeCl₃ (5 %, dilué dans le MeOH 95 %) ont été ajoutées au filtrat. Après agitation, la formation d'un précipité vert foncé ou bleu indique la présence des tanins galliques [9].

➤ **Test avec Acétate de plomb**

Le même filtrat a été mis dans une solution d'acétate de plomb basique à 10 %, dissoute dans de l'eau distillée. La formation d'un précipité indique la présence de tanins condensés [10].

➤ **Test avec K₂Cr₂O₇**

Le filtrat a été placé dans une solution de K₂Cr₂O₇ alors qu'une couleur vert foncé a été observée [11].

II.1.1.7.7 Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle

La séparation et la purification des produits de l'extrait acétate d'éthyle ont été réalisées dans notre laboratoire en utilisant des colonnes chromatographiques de gel de silice (230-400 Mesh) et de Sephadex LH-20 et des plaques CCM analytiques selon le protocole suivant :

Dans le but de trouver un système permettant une bonne séparation, plusieurs tests ont été effectués sur plaques CCM afin que notre choix se soit porté sur le système (CHCl₃/MeOH). Une masse de 2,3 g de l'extrait AcOEt a été dissoute dans un minimum de MeOH avec l'ajout d'une petite quantité de gel de silice. Après évaporation du solvant, l'extrait a été réduit en poudre fine et placé dans une colonne de gel de silice (76 g) préparé dans le chloroforme, suivi d'une élution de l'extrait dans le système (CHCl₃/MeOH) en gradient de polarité. Le volume récupéré dans chaque tube était de 20 mL. Les fractions ont été collectées sur la base des profils chromatographiques, visualisées sur des plaques CCM de gel de silice et révélées sous lampe UV aux longueurs d'onde 254 nm et 365 nm. Les résultats du fractionnement de l'extrait AcOEt sont présentés dans le **tableau II-1**.

Tableau II-1: Résultat du fractionnement de l'extrait AcOEt sur colonne de gel de silice avec le système d'élution CHCl₃/MeOH en gradient de polarité.

Lots	N° Fr.	CHCl ₃ (%)	MeOH %	Poids (mg)	Observation
1-11	F1	100	0	149,5	Matière jaune grasseuse
12-19	F2	99	1	20,2	Matière jaune grasseuse
20-30	F3	95	5	2,3	Mélange complexe
31-70	F 4	95	5	9,2	Mélange complexe
71-196	F 5	95	5	5,3	Mélange complexe
197-250	F6	95	5	1,1	Mélange complexe
251-264	F7	95	5	0,6	Mélange complexe
265-270	F8	95	5	2,6	Mélange complexe
271-335	F9	95	5	13,1	Mélange complexe
336-350	F10	95	5	572,9	Mélange complexe
351-380	F11	95	5	8,6	Mélange complexe
381-400	F12	95	5	6,3	Mélange complexe
401- 482	F13	93	7	228,8	Précipité blanc
483- 487	F14	90	10	38,5	Mélange complexe
488- 495	F15	90	10	32	Mélange complexe
496-513	F16	90	10	163,7	Mélange complexe
514	F17	90	10	27,8	Mélange séparable
515-523	F18	85	15	120,4	Mélange séparable
524-525	F19	80	20	65,5	Précipité jaune
526-528	F20	75	25	88,5	Mélange séparable
529	F21	70	30	7,6	Mélange séparable
530-534	F22	65	35	77,1	Mélange complexe
535	F23	60	40	10,4	Mélange complexe

Tableau II-1: Résultat du fractionnement de l'extrait AcOEt sur colonne de gel de silice avec le système d'éluant CHCl₃/MeOH en gradient de polarité (suite).

Lots	N° Fr.	CHCl ₃ (%)	MeOH %	Poids (mg)	Observation
536-540	F24	55	45	37,3	Mélange complexe
541-544	F25	50	50	18,4	Mélange complexe
545-555	F26	45	55	140	Mélange séparable
556-560	F27	40	60	5	Mélange complexe
561-580	F28	35	65	34,4	Mélange complexe
581-600	F29	30	70	17,1	Mélange complexe
601-625	F30	25	75	10,8	Mélange complexe
626-695	F31	20	80	6,8	Mélange complexe
696-700	F32	10	90	0,7	Mélange complexe
701-740	F33	0	100	2,3	Mélange complexe

Parmi les fractions obtenues, on a procédé à la séparation des fractions F1, F2, F13, F18 et F19 à cause soit de leur simplicité, soit de leurs poids relativement importants.

II.1.1.7.8 Étude des fractions issues de la colonne de séparation de l'extrait AcOEt

Fraction (1-11) : cette fraction a été rincée avec du MeOH, la partie soluble dans ce dernier a été testée sur plaque CCM en utilisant l'éluant MeOH avec quelques gouttes de CHCl₃. Ceci a permis d'obtenir le produit **Nm1** à l'état pur dont le R_f = 0,59. L'examen du produit **Nm1** sous UV montre qu'il a une fluorescence bleue sous la lumière de Wood (365 nm), alors qu'il est de couleur brune sous la lampe à 254 nm et présente une couleur vert-orangé après révélation à l'anisaldéhyde.

La deuxième partie étant soluble dans le CHCl₃ a subi un test de purification sur plaque CCM en utilisant le système CHCl₃/MeOH (9,5:0,5) comme éluant. Cette étape a permis d'obtenir le produit **Nc1** pur avec R_f = 0,19. L'examen de ce produit montre qu'il n'absorbe pas la lumière UV, mais qu'il est de couleur violette après révélation à l'anisaldéhyde.

➤ **Fraction (12-19)** : cette fraction a été rincée avec du MeOH, la partie soluble dans ce dernier a été testée sur plaque CCM en utilisant le système CHCl₃ / MeOH (9,5 : 0,5). Ceci a permis d'obtenir le produit **Nm2** à l'état pur dont le R_f = 0,5. L'examen de ce produit sous UV montre qu'il n'absorbe ni sous la lampe 365 nm (la lumière de Wood) ni sous la lampe 254 nm, mais il présente une couleur violette après révélation à l'anisaldéhyde.

La deuxième partie étant soluble dans le CHCl_3 a subi un test de purification sur plaque CCM en utilisant l'éluant $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9,5:0,5). Ceci a permis l'obtention du produit **Nc2** à l'état pur dont $R_f = 0,75$. L'examen de ce produit sous UV montre qu'il n'absorbe pas sous la lampe 365 nm (la lumière de Wood), alors qu'il montre une tache brune sous la lampe 254 nm, cette dernière disparaît après révélation à l'anisaldéhyde.

➤ **Fraction (401-482)** : cette fraction a subi une purification supplémentaire à l'aide d'une colonne Sephadex LH-20. La collecte des sous-fractions sous forme de lots (de 1 à 38) est basée sur leurs profils chromatographiques, visualisés sur plaque CCM sous lampe UV (254 nm et 365 nm).

La sous-fraction (**8-16**) a permis l'obtention d'une poudre blanche à l'état pur, noté **N3** dont le R_f est de 0,84 en utilisant le système ($\text{AcOEt}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$) (8:1:1). L'examen du produit **N3** sous lampe UV montre qu'il n'absorbe pas la lumière de Wood (365 nm), alors qu'il présente une couleur brune sous la lampe 254 nm, mais la révélation de ce produit à l'anisaldéhyde présente une tache noir-violet.

➤ **Fraction (515-523)** : cette fraction a également subi une purification supplémentaire en utilisant une colonne de Sephadex LH-20, et les sous-fractions sont regroupées en lots (de 1 à 40) en fonction de leurs profils chromatographiques sur une plaque CCM et sous la lampe UV (254 nm et 365 nm).

La sous-fraction (**17-19**) a permis l'obtention d'un produit jaune à l'état pur, noté **N4** dont le R_f est de **0,65** en utilisant le système ($\text{AcOEt}/\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{Acétone}$) (13:2:2:3). L'examen du produit **N4** sous UV montre qu'il absorbe sous la lampe 365 nm (lumière de Wood) donnant une fluorescence violette, alors qu'il présente une couleur noire sous la lampe 254 nm, mais la révélation de ce produit à l'anisaldéhyde montre une tache rouge.

➤ **Fraction (524-525)** : cette fraction a subi une purification supplémentaire sur une colonne de Sephadex LH-20. Les sous-fractions ont été rassemblées en lots (de 1 à 36) sur la base de leurs profils chromatographiques, visualisés sur plaque CCM et sous la lampe UV (254 nm et 365 nm).

La sous-fraction (**8-16**) a permis l'obtention d'un produit jaune soluble dans MeOH à l'état pur, noté **N5** dont le $R_f = 0,7$ dans le système ($\text{AcOEt}/\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{Acétone}$) (13:2:2:3).

L'examen du produit **N5** sous lampe UV montre qu'il absorbe la lumière de Wood (365 nm) donnant une fluorescence violette, et qu'il présente une couleur noire sous la lampe (254 nm), mais la révélation de ce produit à l'anisaldéhyde montre une tache brune.

❖ **Hydrolyse acide du produit N5**

Cette technique repose sur le protocole suivant :

1-Préparation de l'acide chlorhydrique dilué

- 3,35 mL de l'acide HCl ($d=1,17$ et 37%) concentré ont été pris pour préparer 20 mL d'une solution de HCl (2N).
- 1 mL de cette solution a été pris et ajouté à 1 mL du produit glycosylé, puis la solution a été portée à ébullition au bain-marie.
- Après refroidissement, la partie aglycone a été extraite de la solution acide une fois avec de l'éther de pétrole et reprise par le MeOH et une fois avec du *n*-BuOH.
- L'aglycone obtenu a été identifié sous la lampe UV.
- La phase aqueuse a été évaporée à sec puis reprise avec une goutte d'eau pour analyse des sucres.

2-Préparation des témoins

- Une CCM en présence du rhamnose et glucose a été effectuée sur une plaque de gel de silice imprégnée d'une solution de NaH_2PO_4 (0,2 M), l'élution a été faite en utilisant le système Acétone / H_2O (9/1).
- La révélation des sucres a été faite par pulvérisation d'une solution de malonate d'aniline préalablement préparée à partir de 1g d'acide malonique, 1 cm^3 d'aniline, 3 cm^3 d'acide phosphorique et 100 cm^3 de l'EtOH.
- Après 10 minutes de séchage à 100°C, les taches se sont révélées brunes à l'œil nu.
- Le calcul du rapport frontal du sucre a donné une valeur de $R_f= 0,89$.

II.1.2 Conclusion

La mise à profit des techniques chromatographiques sur les fractions les moins complexes a permis d'obtenir sept produits à l'état pur. Ce nombre a été réduit à cinq en raison des faibles quantités de **Nc1** et **Nc2**. L'identification de deux d'entre elles sera développée dans le **chapitre III** tandis que les trois autres sont en cours d'identification.

II.2 Travaux de la partie biologique

Dans ce volet, nous présentons les différents moyens et méthodes utilisés dans cette étude pour évaluer l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles des espèces *P. graveolens* et *L. dentata*, ainsi que les activités antibactérienne, antioxydante, anti-Alzheimer et antidiabétique de l'espèce *A. unedo*.

II.2.1 Activité antibactérienne des HEs de *P. graveolens* et *L. dentata*

Afin de tester la sensibilité d'un certain nombre de bactéries aux huiles essentielles des deux espèces (*P. graveolens* et *L. dentata*) prises comme agents antibactériens, nous avons utilisé deux méthodes : la méthode de dilution, qui est très utile pour tester l'efficacité de différentes huiles sur les bactéries pathogènes, et la méthode de diffusion sur gélose comme étape préliminaire pour tester l'effet inhibiteur de nos huiles.

II.2.1.1 Microorganismes utilisés et conditions de croissance

Dans cette étude, cinq souches bactériennes de référence ATCC (American Type Culture Collection) ont été utilisées : des bactéries à Gram-positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), ainsi que des bactéries à Gram-négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25953). Ces micro-organismes ont été isolés à partir de cultures microbiennes conservées au Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques (CRSP)-Constantine, Algérie. La gélose nutritive a été utilisée comme milieu de croissance.

II.2.1.2 Méthodes utilisées

II.2.1.2.1 Méthode de diffusion sur gélose

La méthode de diffusion sur gélose ou méthode de disque a été utilisée pour tester la sensibilité des souches bactériennes à nos huiles essentielles [12].

Dans des boîtes de Pétri préalablement stérilisées, l'inoculum (DO : 0,08-0,1/ λ = 625 nm) a été strié sur la gélose Muller Hinton (MH) solide à l'aide d'un écouvillon stérile et des disques stériles de 6 mm de diamètre (papier Whatman N°3) ont été placés sur la surface de la gélose, puis imprégnés d'huiles essentielles (20 μ L) de deux espèces (HE brute et celle diluée dans du DMSO à une concentration de 1 mg/mL), et laissés à l'air libre pendant 30 min à température ambiante pour permettre la diffusion de l'agent antibactérien. Les boîtes ont été incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif, tandis que la gentamicine a été utilisée comme contrôle positif. L'efficacité inhibitrice des HEs a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour du disque et en notant le diamètre en (mm). Une zone d'inhibition (≥ 3 mm) induite par l'HE autour du disque représente une activité antibactérienne. Tous les tests ont été repris trois fois.

II.2.1.2.2 Méthode de microdilution

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus faible concentration d'HE à laquelle le micro-organisme ne présente aucune croissance visible [13][14], tandis que la concentration minimale bactéricide (CMB) représente la plus faible concentration d'HE nécessaire pour tuer une bactérie particulière. Le test a été réalisé dans des microplaques à 96 puits stériles avec un volume final de 100 μ L dans chaque puits de microplaque.

Deux solutions mères (50 mg/mL) des HEs des deux espèces ont été préparées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Chaque huile a été correctement préparée et transférée dans chaque puits afin d'obtenir une série de dilution de rapport 1/2 de l'échantillon d'origine afin d'obtenir une gamme de concentrations allant de 0,39 à 25 mg/mL. Dans chaque puits, 50 μ L de suspension bactérienne ont été ajoutés à des concentrations finales d'inoculum de 10^6 UFC/mL. Après 24 heures d'incubation, la croissance bactérienne a été analysée en mesurant l'absorbance à 625 nm. La croissance bactérienne a été également déterminée par la présence d'une turbidité et d'un culot au fond du puits. Pour établir l'efficacité des CMIs et donc les CMBs, 10 μ L de chaque milieu de culture sans croissance visible ont été prélevés dans chaque puits et inoculés sur gélose Mueller Hinton (MH) préalablement placée dans des boîtes de Pétri. Après 24 heures d'incubation, le nombre d'organismes survivants a été déterminé. La CMB est définie comme la concentration la plus faible d'HE à laquelle 99,9 % des bactéries sont tuées.

II.2.2 L'espèce *Arbutus unedo*

Dans notre travail, les activités antibactérienne et antioxydante des extraits de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de *n*-BuOH de l'espèce *A. unedo* ont été évaluées.

II.2.2.1.1 Méthode de dilution

Selon le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) [15], cette méthode consiste à préparer une série de dilutions d'agents antimicrobiens, chacune mélangée à un milieu gélosé dans des boîtes de Pétri. Après avoir agité le contenu de chaque boîte de Pétri, une suspension standardisée de la bactérie à tester est inoculée.

Après une incubation de 24 heures à $35 \pm 2^\circ\text{C}$, les tests sont examinés pour déterminer la CMI qui inhibe complètement la croissance microbienne, sans tenir compte de la légère turbidité causée par l'inoculum.

II.2.2.1.2 Les souches bactériennes utilisées

L'activité antibactérienne des extraits *n*-BuOH, AcOEt et CHCl_3 a été testée contre six souches bactériennes : une bactérie Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213) ; et d'autres bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Salmonella typhimurium*; *Morganella morganii*; *Acinetobacter baumannii*). Les trois souches de référence ont été obtenues auprès de l'institut Pasteur d'Alger, tandis que les autres souches ont été isolées des cas cliniques au centre hospitalo-universitaire - Ibn-Badis (CHU)-Constantine. Grâce à leur résistance aux conditions difficiles et à leur adaptation à de multiples habitats environnementaux, ces micro-organismes peuvent provoquer de graves infections chez l'homme.

En outre, selon le livre des normes de performance correspondant aux tests de sensibilité aux antimicrobiens, l'examen de la résistance bactérienne indique que :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: est sensible aux β -lactames, mais présente une résistance homogène au méticilline.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213: est sensible au sulfisoxazole (128 $\mu\text{g/mL}$), mais présente une résistance homogène aux β -lactames, qui correspond à sa résistance aux aminoglycosides.
- *Escherichia coli* ATCC 25922: elle est sensible à l'azlocilline, au sulfisoxazole et à la trospectomycine (32 $\mu\text{g/mL}$), mais présente une résistance à l'aminopénicilline, la carboxypénicilline et l'uréidopénicilline.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853: elle est sensible à la carbénicilline, le ceftizoxime, la ceftriaxone et la rifampicine, mais présente une résistance à la pefloxacine.

II.2.2.1.3 Préparation des extraits

➤ Essai qualitatif

Un test préliminaire a confirmé la solubilité de différents extraits dans le méthanol (96 %), et ainsi, la toxicité de méthanol a été testée contre les souches bactériennes par la méthode de diffusion sur gélose. De même, un contrôle négatif (gélose + MeOH) a été ajouté pour tester également son effet sur les bactéries mises en étude [16].

➤ Essai quantitatif

Les solutions mères ont été préparées en dissolvant 200 mg de chaque extrait dans 20 mL de MeOH (96%), alors qu'une série de dilutions de différents extraits a été réalisée pour obtenir une gamme de concentrations comprise entre 500 µg/mL et 1000 µg/mL [16].

II.2.2.1.4 Préparation des suspensions bactériennes ou l'inoculum

L'inoculum standardisé doit être préparé en cultivant les bactéries de telle sorte que la culture microbienne soit ajustée à la norme 0,5 McFarland, contenant environ $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ unités formant colonie (UFC)/mL, tandis que l'inoculum final à placer sur la gélose contiendra environ 10 UFC par spot.

II.2.2.1.5 Préparation des milieux antibactériens

Dans des boîtes de Pétri stériles, 18 mL de gélose Mueller Hinton (MH) stérile ont été ajoutés à 2 mL de chaque dilution préparée à partir de la solution mère, en commençant par la concentration la plus faible, et une boîte témoin contenant 2 mL de MeOH a été également préparée. Après avoir agité le contenu de chaque boîte, un inoculum ajusté à une turbidité standard de 0,5 McFarland a été strié sur la gélose. Les plaques préparées ont été incubées pendant 24 heures à 37°C. Chaque essai a été repris deux fois.

II.2.3 Évaluation de l'activité antioxydante

Avant d'entreprendre des expériences visant à évaluer le pouvoir antioxydant des différents extraits, nous avons procédé à quantifier leurs teneurs en flavonoïdes et polyphénols.

II.2.3.1 Détermination de la teneur totale en polyphénols

La teneur phénolique des trois extraits de l'*A. unedo* a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (FCR) sur microplaques 96 puits, suivie d'une investigation colorimétrique à l'aide d'un lecteur spectrophotométrique [17].

En effet, dans notre expérience, la courbe d'étalonnage correspondant à l'acide gallique a été réalisée en préparant six dilutions (175-150-125-100-50-25 µg/mL) à partir de la solution mère (200 µg/mL). 20 µL de chaque dilution ont été déposés sur la microplaque, et mélangés à 100 µL du réactif Folin-Ciocalteu dilué (1/10) (2M) et 75 µL de Na₂CO₃ (7,5%), la microplaque a été maintenue à l'abri de la lumière pendant deux heures. Toutes les solutions mères des extraits (1 mg dissous dans 1 mL de MeOH) ont été préparées de la même manière. Les valeurs d'absorbance d'acide gallique et les extraits étudiés ont été mesurées à 765 nm par rapport à un blanc préparé comme contrôle.

La teneur en composés phénoliques totaux a été calculée à l'aide de l'équation $Y = 0,0034 X + 0,1044$; en utilisant le logiciel Microsoft Office Excel 2013, et les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$) [18].

II.2.3.2 Détermination de la teneur totale en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode de Topçu [19]. La courbe d'étalonnage a été réalisée après la préparation d'une série de dilutions de quercétine (175-150-125-100-50-25 $\mu\text{g/mL}$) à partir de la solution mère (200 $\mu\text{g/mL}$). Dans une microplaque 96 puits, 50 μL de chaque dilution ont été mélangés à 130 μL de MeOH, 10 μL de CH_3COOK (acétate de potassium) (1M) et 10 μL de nitrate d'aluminium (10%). Les solutions mères des extraits (1 mg dissous dans 1 mL de MeOH) ont été également préparées de la même manière. Après incubation de 40 min à l'obscurité, les valeurs d'absorbance de la quercétine et des extraits étudiés ont été mesurées à 415 nm par rapport à un blanc préparé comme contrôle. La teneur des flavonoïdes totaux a été calculée à l'aide de l'équation $Y = 0,0047 X + 0,0165$; effectuée sur Microsoft Office Excel 2013, et les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$) [18].

II.2.3.3 Méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante

Au sein de notre organisme, certaines molécules ayant un pouvoir réducteur important permettent d'empêcher le développement des radicaux libres, ces derniers sont des molécules ayant perdu un ou plusieurs électrons et deviennent instables ou plutôt nocives à notre organisme provoquant le vieillissement ou la destruction des cellules saines, et à long terme l'apparition des cellules cancéreuses. De plus, ces altérations morphologiques des cellules sont responsables de dommages irréversibles et de nombreuses pathologies telles que les troubles articulaires (artériosclérose, arthrite) et cardiaques, les affections respiratoires chroniques (asthme), la maladie de Parkinson, le mongolisme, la neurodégénérescence, etc.

En particulier, l'accumulation de ces radicaux libres dans l'organisme peut contribuer à démolir l'ADN en bloquant ses fonctions génétiques [20].

Un agent antioxydant est une substance qui, à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable peut empêcher de manière significative l'oxydation de ce substrat, et est donc susceptible de neutraliser et de réduire les dommages causés par les radicaux libres [22].

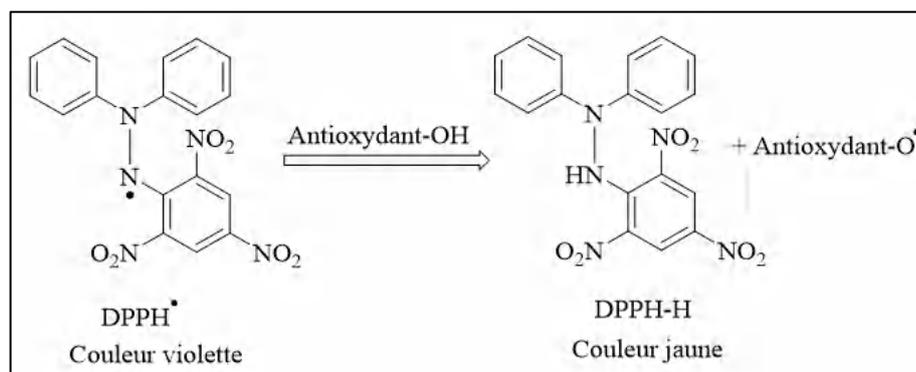
Le mécanisme d'action d'un antioxydant dépend notamment de la source de l'antioxydant, ce qui est relatif aux réactions d'inactivation des radicaux libres telles que la réaction d'addition covalente, la réduction des radicaux libres ou des peroxydes, la chélation des métaux de transition et le piégeage d'oxygène singulet [22].

II.2.3.3.1 La méthode du piégeage DPPH

➤ Principe de la méthode

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH[•]) est un radical stable prenant une coloration violette.

Il se caractérise par une bande d'absorbance spécifique dans l'intervalle 512- 517 nm [23], et particulièrement la réduction de l'électron impair de l'atome d'azote par réception d'un proton et la formation de l'hydrazine correspondante en font un bon indicateur du pouvoir inhibiteur des composés phénoliques vis-à-vis des radicaux libres, car sa couleur violette devient jaune lorsqu'il est réduit en (DPPH-H) par ces composés antioxydants [24]. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité donatrice de protons des antioxydants présents dans le milieu réactionnel [25] (**Schéma II-1**).



l'obscurité pendant 20 minutes, puis l'absorbance du DPPH restant a été mesurée à 517 nm sur le lecteur de microplaques (Perkin Elmer Multimode Plate Reader EnSpire). Le méthanol a été utilisé comme contrôle négatif et les résultats obtenus ont été comparés à ceux de BHA (hydroxyanisole butylé), utilisé comme antioxydant standard. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé à l'aide de **l'équation (1)** suivante :

$$\text{Capacité de piégeage du DPPH \%} = [A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}] / (A_{\text{contrôle}}) \times 100 \dots (1)$$

$A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du DPPH en présence de MeOH.

A_{extrait} est l'absorbance en présence de l'échantillon.

L'activité antioxydante des extraits est déterminée par la concentration inhibitrice de 50 % (CI₅₀) du radical DPPH, cette concentration est calculée à partir du pourcentage d'inhibition (% I) par rapport à la courbe de concentration à l'aide de Microsoft Office Excel 2013. La valeur CI₅₀ indique la concentration (µg/mL) de l'extrait nécessaire pour piéger 50 % des radicaux libres DPPH.

II.2.3.3.2 Le pouvoir capteur des radicaux ABTS^{•+}

➤ Principe de la méthode

ABTS^{•+} (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) est un radical cationique qui se forme après l'oxydation d'ABTS (incolore) avec certains composés comme le phosphate de potassium (KH₂PO₄), le persulfate de potassium (K₂S₂O₈) et le dihydrochlorure de 2,2'-azo-azobis (2-amidino-propane) (AAPH). Ainsi, la réaction se déroule en deux étapes : lors de la première étape, le radical ABTS^{•+} se forme après qu'un électron soit retiré de l'atome d'azote dans la molécule ABTS. La deuxième étape nécessite la présence d'un agent antioxydant donneur de protons où le radical d'azote piège un proton conduisant à la génération de ABTSH⁺, ce qui conduit à la décoloration de la solution [26] (**Schéma II-2**).

La diminution de l'absorbance causée par l'antioxydant représente la capacité de piégeage des radicaux libres.

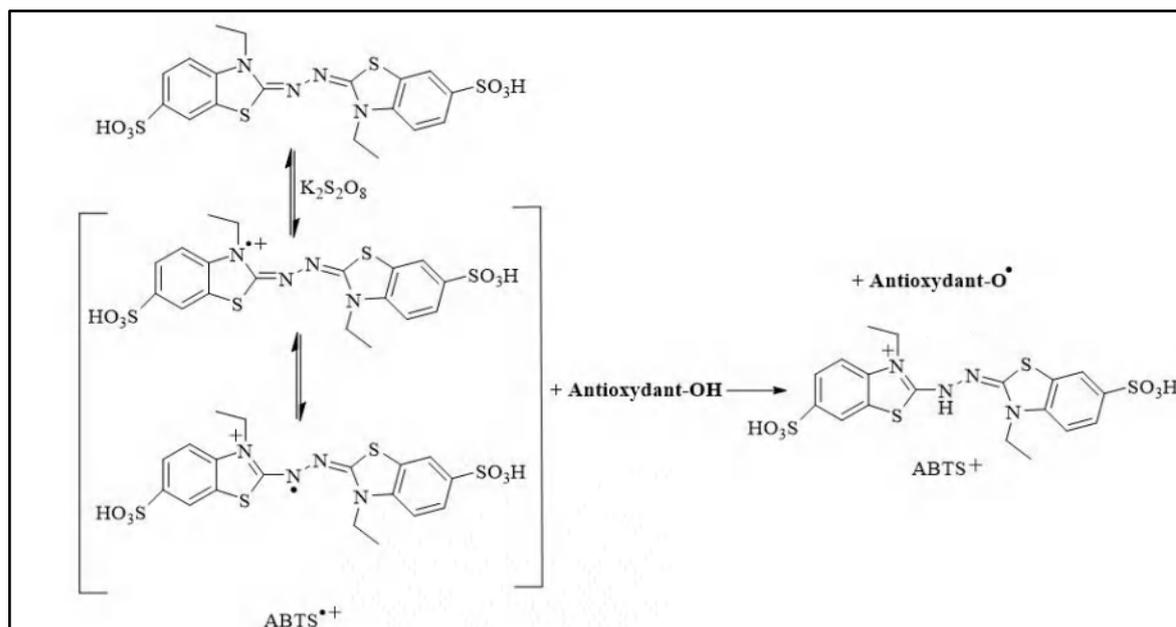


Schéma II-2: Mécanisme proposé de piégeage des radicaux cationiques $ABTS^{\bullet+}$ par des agents antioxydants [27].

➤ Le mode opératoire

La capacité de piégeage du cation $ABTS^{\bullet+}$ (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), indiquée par la décoloration de la solution ABTS, a été déterminée selon la méthode de Re et *al.* (1999) [26]. La solution $ABTS^{\bullet+}$ a été préparée en dissolvant ABTS (7 mM) et persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) (2,45 mM) dans H_2O et en ajustant l'absorbance à 734 nm sur le lecteur de microplaques 96 puits (Perkin Elmer Multimode Plate Reader EnSpire), puis la solution a été conservée dans l'obscurité pendant 16 heures.

Une série de dilutions (500-250-125-62,5-31,25-15,625 $\mu\text{g/mL}$) de chaque extrait a été préparée à partir de la solution mère (1 mg d'extrait dissous dans 1 mL de MeOH), ensuite 40 μL de chaque dilution ont été ajoutés à 160 μL de la solution $ABTS^{\bullet+}$. Après 10 min, l'absorbance de chaque solution a été mesurée à 734 nm. Le MeOH a été utilisé comme contrôle négatif et le BHA comme contrôle positif pour la comparaison. De plus, le pourcentage d'inhibition des radicaux $ABTS^{\bullet+}$ a été calculé à l'aide de l'équation (1).

II.2.3.3.3 L'activité réductrice CUPRAC

➤ Principe de la méthode

La méthode CUPRAC (Copper Ion Antioxidant Reducing Capacity) est basée sur la mesure de l'absorption du complexe chélaté: Cu(I)-néocuproïne formé lors de la réduction du complexe Cu(II)-néocuproïne par transfert d'électrons (**Schéma II-3**) [28].

La diminution de l'absorbance est suivie en utilisant la spectrophotométrie à $\lambda = 450 \text{ nm}$ en fonction de la réduction du complexe Cu(II)-néocuproïne en présence d'un antioxydant [29].

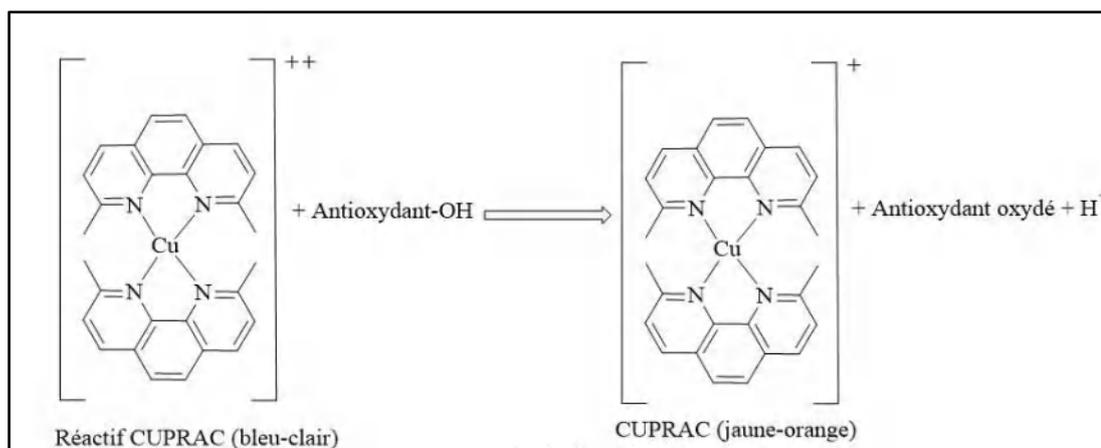


Schéma II-3: Réduction du complexe Cu (II)-néocuproïne [28]

➤ Le mode opératoire

La capacité réductrice du cuivre a été évaluée selon la méthode d'Apak *et al.* (2004) [29]. Dans une microplaque 96 puits, 40 μL de chaque dilution, préparée à partir de la solution mère (1 mg de chaque extrait dissous dans 1 mL de MeOH), 50 μL de solution de CuCl_2 (0,01M) (chlorure de cuivre (II) dissous dans l'eau distillée), 50 μL de solution éthanolique de néocuproïne (0,007M), et 60 μL du tampon aqueux d'acétate d'ammonium (1M), ont été mélangés à $\text{pH} = 7$. Après 60 min, l'absorbance de chaque solution a été mesurée à 450 nm sur le lecteur de microplaques (Perkin Elmer Multimode Plate Reader EnSpire) contre un témoin blanc (50 μL de la solution CuCl_2 , 50 μL de solution éthanolique de néocuproïne, et 60 μL de tampon aqueux d'acétate d'ammonium et 40 μL de MeOH). Les résultats ont été enregistrés en termes de valeurs d'absorbance comparées à celles du BHA utilisé comme antioxydant standard.

II.2.3.3.4 L'activité réductrice de la phénanthroline

L'activité de la phénanthroline a été déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniak *et al.* (2008) [30]. 10 μL de chaque dilution préparée à partir de la solution mère (1 mg de chaque extrait dissous dans 1 mL de MeOH), 50 μL de solution de FeCl_3 (chlorure ferrique) (0,2 %) et 30 μL de la solution phénanthroline (0,5 %) et 110 μL de MeOH ont été placés dans une microplaque 96 puits. Les solutions ont été maintenues à température ambiante (30°C) dans l'obscurité.

Après 20 min, l'absorbance de chaque solution a été lue à 510 nm vis-à-vis du contrôle à blanc (50 µL de la solution FeCl₃ (0,2 %), 30 µL de la solution phénanthroline (0,5 %) et 120 µL de MeOH). Les résultats ont été enregistrés en termes de valeurs d'absorbance comparées à celles du BHA utilisé comme antioxydant standard.

❖ **Les analyses statistiques**

Les résultats sont présentés sous forme de valeur moyenne ± SD de triples à l'aide du logiciel XLSTAT. Les valeurs CI₅₀ et A_{0,50} ont été déterminées par une analyse de régression linéaire et une analyse unidirectionnelle de variance ANOVA pour détecter des différences significatives (p < 0,05).

II.2.4 Evaluation de l'activité anti-acétylcholinestérase (AChE)

II.2.4.1 Introduction

La maladie d'Alzheimer est une physiopathologie qui représente un type courant de démence liée à l'âge. Ce trouble cérébral se caractérise par une réduction des niveaux de la jonction neurotransmetteur-acétylcholine, due à la dégénérescence des neurones cholinergiques dans le cortex et l'hippocampe [31], ce qui entraîne une perte neuronale et une accumulation d'agrégats de protéines dans certaines régions du cerveau des personnes âgées, provoquant un déclin progressif des fonctions cognitives telles que la perte de la mémoire, du langage, du raisonnement ou de l'orientation temporelle et spatiale [32]. Cette hypothèse cholinergique a conduit au développement des inhibiteurs de la cholinestérase, qui agissent sur les deux enzymes responsables de la dégradation de l'acétylcholine :

➤ **L'acétylcholinestérase (AChE) ou la butyrylcholinestérase (BuChE).**

L'amélioration des niveaux d'acétylcholine dans le cerveau est l'une des cibles les plus importantes dans le traitement de la maladie afin d'améliorer les capacités cognitives, tandis que les inhibiteurs de la cholinestérase (ChE) constituent actuellement une intervention symptomatique pour la maladie d'Alzheimer.

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEI) ont tendance à augmenter l'acétylcholine, conduisant à une optimisation de la neurotransmission cholinergique qui modifie les activités de la vie quotidienne, le comportement et les performances cognitives, tandis que les médicaments synaptiques utilisés dans le traitement de la maladie provoquent des troubles gastro-intestinaux [33].

Au début du 21^{ème} siècle, l'organisation mondiale de la santé a désigné trois agents pour le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer, dont la galantamine (Reminyl®, Janssen, New Jersey, États-Unis), qui n'a pas d'inhibition fonctionnelle de la BuChE et est considérée comme sélective de l'AChE. Son efficacité a été évaluée dans le cadre d'essais cliniques à grande échelle, en double aveugle et contrôlés par placebo, d'une durée allant jusqu'à six mois.

Les produits naturels contribuent à l'inhibition du stress oxydatif via divers mécanismes qui réduisent la présence d'espèces réactives de l'oxygène, de sorte que l'inhibition de l'oxydation des biomolécules entraînant des dommages cellulaires et jouant un rôle pathogène clé dans le système neuro-cérébral prévient le processus de vieillissement et les maladies neurodégénératives. Des études ont suggéré la présence de diverses molécules inflammatoires, notamment des cytokines pro-inflammatoires, comme facteurs, compléments et protéines impliqués dans la phase aiguë de la maladie d'Alzheimer (**Figure II-4**) [34].

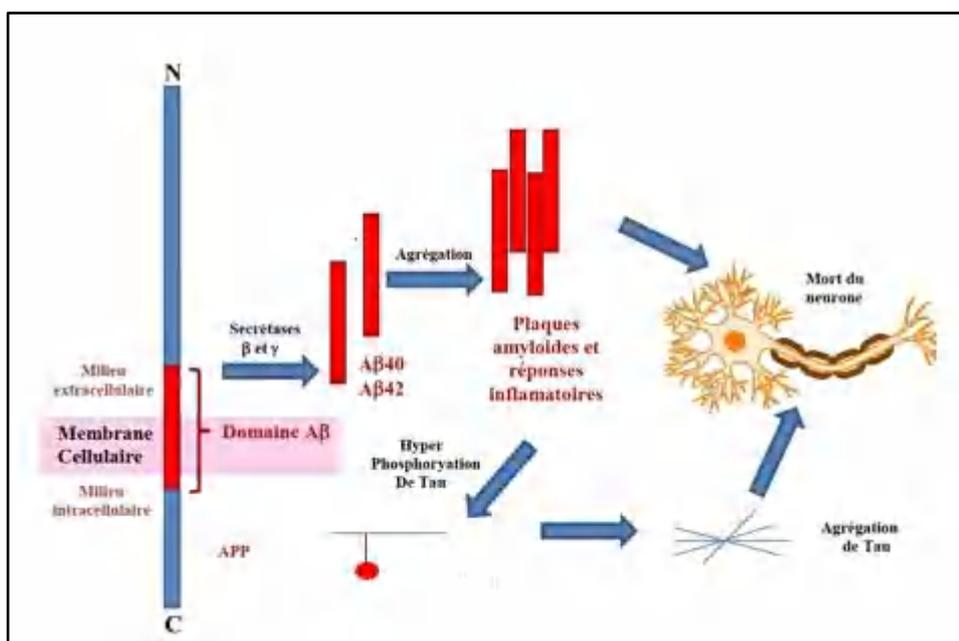


Figure II-4: la neuro-inflammation et la cascade amyloïde.

II.2.4.2 Les cholinestérases

Le terme cholinestérase a été proposé en 1932 pour décrire une enzyme capable d'hydrolyser l'acétylcholine [35]. Quelques années plus tard, des commissions internationales de nomenclature biochimique ont entériné l'existence de deux formes distinctes de ChE qui diffèrent par leur origine, leur structure, leur spécificité d'action et leur fonction physiologique [46].

La cholinestérase qui est une enzyme responsable de la métabolisation d'un ester de choline (acétylcholine, butyrylcholine), appartenant à la famille des hydrolases, représente un biorécepteur qui, en termes de reconnaissance moléculaire du composé à détecter, doit avoir une bonne affinité et une bonne sélectivité pour réagir et répondre rapidement [37].

II.2.4.3 Rôle physiologique et structure

Dans les jonctions neuromusculaires et les interneurons, les terminaisons nerveuses libèrent un médiateur chimique, l'acétylcholine, qui permet la transmission de l'influx nerveux. Lors d'une activité nerveuse, l'acétylcholine, sécrétée par certains neurones via ces terminaisons nerveuses dans l'espace synaptique, stimule les récepteurs cholinergiques post-synaptiques. L'interaction de l'acétylcholine avec le récepteur provoque une dépolarisation de la membrane postsynaptique, générant un potentiel d'action qui assure la transmission du signal nerveux. L'hydrolyse de l'acétylcholine par l'enzyme acétylcholinestérase permet au système de revenir à son état de repos [38]. Le biorécepteur est la partie du biocapteur qui assure la reconnaissance moléculaire du composé à détecter. Par rapport à la substance cible, il présente une bonne affinité et une bonne sélectivité, ainsi qu'une réponse rapide [37]. Au moins trois types de molécules spécifiques peuvent jouer le rôle de biorécepteurs : les espèces immunogènes (anticorps, antigène), les enzymes et les acides nucléiques (ADN, ARN), qui servent respectivement à concevoir des immunocapteurs, des capteurs enzymatiques et des biopuces. Il est également possible de concevoir des biocapteurs basés sur des cellules entières. Dans notre étude, deux types de biorécepteurs appartenant à la famille des hydrolases ont été visés : l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase.

➤ Acétylcholinestérase ou cholinestérase globulaire

L'acétylcholinestérase a une affinité presque exclusivement spécifique pour son substrat naturel, l'acétylcholine. Elle est synthétisée dans les globules rouges et le tissu nerveux. Elle est surtout présente au niveau des synapses, dans le tissu nerveux et à la jonction neuromusculaire, dans la matière grise, les poumons et la rate. Son rôle physiologique est d'assurer le fonctionnement des synapses acétylcholinergiques, en inhibant l'accumulation du neurotransmetteur. Elle est également présente de façon irrégulière dans le liquide amniotique lors des anomalies de fermeture du tube neural [39].

➤ **Butyrylcholinestérase ou cholinestérase sérique (pseudocholinestérase)**

La butyrylcholinestérase a une affinité beaucoup plus large et peut hydrolyser un grand nombre d'esters synthétiques et naturels, y compris l'acétylcholine et la succinylcholine. Elle est synthétisée dans le foie et se retrouve dans le plasma ou le sérum, le pancréas, l'intestin et d'autres tissus. Son rôle physiologique est actuellement inconnu.

Chacune de ces enzymes est dosée par une technique colorimétrique, mesurant la cinétique d'hydrolyse avec un substrat défini : la butyrylthiocholine pour la cholinestérase sérique (très stable à température ambiante), et d'acétylthiocholine pour la cholinestérase globulaire [39].

Les molécules polaires avec des groupements hydroxyles se lient de manière covalente aux acétylcholinestérases dans la jonction synaptique des fibres du système nerveux central, qui ne peuvent pas être mesurées dans la pratique quotidienne. Elles se lient également aux pseudocholinestérases ou "butyrylcholinestérases" dans le foie et le plasma. Ces dernières sont très sensibles, mais peu spécifiques.

Il s'agit d'une véritable lésion biochimique, puisque les molécules actives de l'extrait étudié occupent le site d'estérase, inhibant l'hydrolyse physiologique de l'acétylcholine en choline et en acide acétique. Le résultat de l'inhibition de la cholinestérase est l'accumulation d'acétylcholine, qui est l'intermédiaire chimique responsable de la transmission de l'influx nerveux dans les ganglions du système nerveux autonome et la jonction neuromusculaire (récepteurs nicotiniques), dans les fibres post-ganglionnaires du système parasympathique (récepteurs muscariniques, inhibés par l'atropine) et dans le système nerveux central [40].

II.2.4.4 Évaluation *in vitro* de l'activité anti-Alzheimer des extraits

➤ **Le principe chimique du pouvoir inhibiteur vis-à-vis de l'acétylcholinestérase (AChE)**

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) a été mesurée en utilisant la méthode spectrophotométrique rapportée par Ellman avec de légères modifications [41].

L'enzyme AChE extraite de l'anguille électrique a été utilisée pour l'hydrolyse du substrat ATCI (l'iodure d'acétylthiocholine). Le DTNB (acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)) a été choisi comme réactif pour mesurer l'activité anticholinestérase, et la galantamine a été utilisée comme standard [42]. Le **schéma II-5** montre le principe de la réaction du DTNB avec la thiocholine, qui résulte de l'hydrolyse du substrat ATCI par l'enzyme acétylcholinestérase. Cette réaction donne une coloration jaune [43].

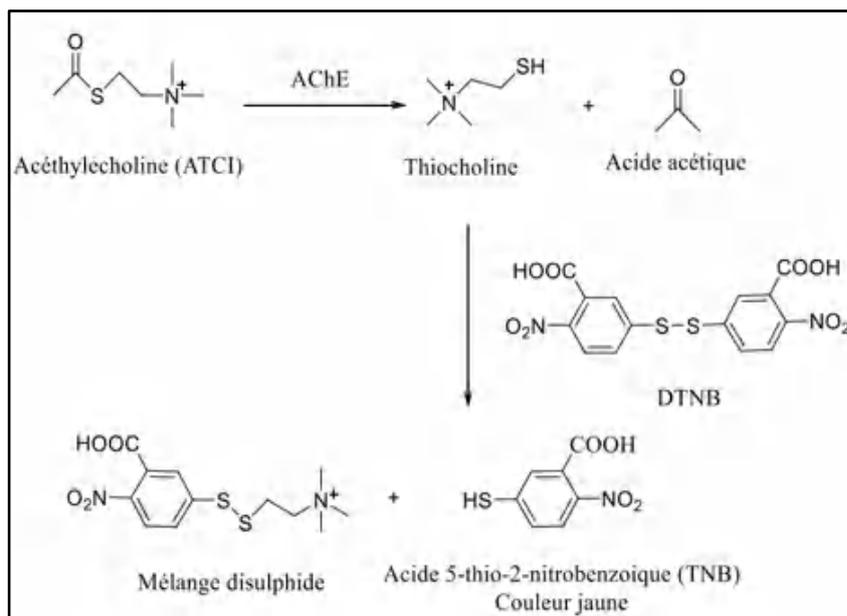


Schéma II-5: Mécanisme chimique de la réaction de DTNB avec thiocholine (la méthode d'Ellman).

➤ Détermination de la capacité inhibitrice de l'AChE

La capacité inhibitrice des extraits a été déterminée selon la procédure suivante : 10 μL de chaque extrait à différentes concentrations préparées à partir des solutions mères (4 mg de l'extrait dissous dans 1 mL de MeOH) ont été additionnés à 50 μL du tampon phosphate de sodium (100 mM, pH = 8), et 20 μL de l'enzyme AChE ($5,32 \times 10^{-3}$ U), puis incubés pendant 15 min à 25°C. La réaction est ensuite initiée par l'addition de 20 μL d'iodure d'acétylthiocholine (0,2 mM), et 10 μL de DTNB (0,5 mM).

L'hydrolyse du substrat a été contrôlée en utilisant la spectrophotométrie et indiquée par la coloration jaune de l'acide 5-thio-2-nitrobenzoïque résultant de la réaction du DTNB avec la thiocholine libérée après l'hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques 96 puits à une longueur d'onde de 412 nm.

Le pourcentage d'inhibition de l'AChE a été déterminé en comparant les taux de réaction des échantillons par rapport au contrôle (MeOH dans un tampon phosphate de sodium, pH = 8) en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Produit}} / A_{\text{Contrôle}}) \times 100.$$

$A_{\text{Contrôle}}$: est l'activité de l'enzyme sans échantillon d'essai.

A_{Produit} : est l'activité de l'enzyme avec l'échantillon de test.

La galantamine a été utilisée comme référence.

II.2.5 Évaluation de l'activité antidiabétique

II.2.5.1 Introduction

Le diabète est un trouble métabolique chronique caractérisé par une hyperglycémie et des perturbations du métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. La maladie provoque un désordre dans la production d'insuline ou affecte l'action de l'insuline ou les deux à la fois. Selon l'organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 422 millions de personnes souffrent de diabète dans le monde et ce nombre doublera d'ici 20 ans (OMS, 2016) [44].

Le diabète de type 2 est plus répandu que le diabète de type 1, puisque plus de 90 % des patients diabétiques en souffrent (Malek et *al.* 2012). Ce type de diabète est causé par un déséquilibre entre l'absorption du sucre dans le sang et l'utilisation inefficace de l'insuline par l'organisme (OMS, 2016) [44].

Le traitement du diabète de type 2 reste compliqué, en raison de plusieurs facteurs inhérents au processus pathologique, notamment la résistance à l'insuline, l'hyperinsulinémie, l'altération de la sécrétion d'insuline, une diminution de l'absorption et de l'utilisation du glucose, introduite par l'insuline [45]. Ce type est traité en utilisant des médicaments hypoglycémiques tels que : la metformine, le glibenclamide, ou des inhibiteurs de α -glucosidase et de α -amylase sont extrêmement revendiqués. Des études antérieures rapportent que plus de 3 000 plantes médicinales peuvent être utilisées comme remèdes contre le diabète dans le monde entier. Les plantes antidiabétiques et leurs composants actifs peuvent constituer une source prometteuse de nouveaux médicaments pour traiter le diabète [46][47].

Notre étude est consacrée à l'évaluation de l'activité inhibitrice de l'enzyme α -amylase, impliquée dans le processus digestif chez l'homme. Cette enzyme joue un rôle important dans l'homéostasie glucidique, et son inhibition représente une stratégie importante dans la régulation de la glycémie. Les inhibiteurs naturels de α -glucosidase et de α -amylase provenant de sources végétales constituent une approche intéressante pour contrôler l'hyperglycémie postprandiale [48].

II.2.5.2 Principe de la réaction

Les activités inhibitrices de α -amylase et de α -glucosidase sont réalisées en utilisant la méthode iodo-iodure de potassium (IKI) [49] avec quelques modifications.

Un volume de (25 µL) de la solution d'inhibiteur à tester a été additionné à (50 µL) de solution α -amylase ou α -glucosidase et incubés pendant 10 min à 37 °C. Ensuite, 50 µL de solution d'amidon (0,1 %) ont été ajoutés et le mélange a été à nouveau incubé durant 10 minutes supplémentaires à 37 °C et la réaction a été désactivée en ajoutant (25 µL) d'une solution préparée de HCl (1 M). Ceci a été suivi par l'ajout de (100 µL) de solution d'iodo-iodure de potassium (IKI). De même, une solution à blanc a été préparée en ajoutant la solution d'inhibiteur à tous les réactifs utilisés sans solution enzymatique. Les absorbances de l'inhibiteur et du blanc ont été mesurées à 630 nm. L'acarbose a été utilisé comme contrôle positif. L'activité inhibitrice est exprimée à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ I} = (\text{As}-\text{Ab})/(\text{Ac}-\text{Ae}).$$

As: absorbance (enzyme+extrait+amidon+IKI+HCl)

Ab: absorbance (extrait+amidon+IKI+tampon+HCl)

Ac: absorbance (solvant d'extrait+amidon+IKI+tampon+HCl)

Ae: absorbance (solvant d'extrait+enzyme+amidon+IKI+HCl)

II.3 Références bibliographiques

- [1] R. P. Adams, "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectrometry," *Allured Publishing Corporation*, 2007.
- [2] B. Jean, "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4^{ème} ed.)," *Lavoisier*, 2009.
- [3] W. G. Hopkins, "Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier SA," Paris, p. 514.
- [4] J. B. Harborne, "The Handbook of Natural Flavonoids," 1999.
- [5] K. Koudougou, "Etude de la chimie et de l'activité antimycosique des extraits de *Biophytum petersianum*," Mémoire de DEA, Université de Ouagadougou-Burkina Faso, 2000.
- [6] P. M. Dewick, *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. John Wiley & Sons, 2002.
- [7] Y. Kongo-Nzuzi, "Evaluation *in vitro* des pouvoirs antifongiques des extraits des feuilles de papayer sur des souches de *Candida albicans*," Mémoire de fin de cycle, Institut Supérieur des Techniques Médicales, Kinshasa, 2009.
- [8] A. M. Mouellet, "Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *crotalaria retusa* L (Papilionaceae) et *hallea ciliata* Aubrev et Pellegr. (Rubiaceae) récoltées au Gabon," pp. 88-88, 2004.
- [9] M. König, E. Scholz, R. Hartmann, W. Lehmann, and H. Rimpler, "Ellagitannins and complex tannins from *Quercus petraea* bark," *J. Nat. Prod.*, vol. 57, no. 10, pp. 1411-1415, 1994.
- [10] A. E. Hagerman, "Chemistry of Tannin-Protein Complexation," in *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*, Eds. Boston, MA: Springer US, pp. 323-333, 1989.
- [11] O. Dangles, C. Stoeckel, M. C. Wigand, and R. Brouillard, "Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion," *Tetrahedron Lett.*, vol. 33, no. 36, pp. 5227-5230, 1992.
- [12] B.D.Vandenand A.J.Vlietinck, "Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants," *Methods in Plant Biochemistry*, pp. 47-69, 1991.
- [13] A. W. Matthew, E.L.Donald, R.C. Franklin, J.S.Daniel, A.C.William, and C.T. Fred, "NCCLS, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard, M7-A7." Wayne, PA: CLSI, 2006.
- [14] M. J. Ferraro, "Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twelfth informational supplement," Wayne, Pa.: NCCLS, 2002.
- [15] J. Alder, M. N. Dudley, G. M. Eliopoulos, and M. J. Ferraro, "Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically ; approved standard ninth edition," *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 12, pp.1-88, 2012.
- [16] N. Segueni, Ş. Keskin, B. Kadour, S. Kolayli, and A. Salah, "Comparison between Phenolic Content, Antioxidant, and Antibacterial Activity of Algerian and Turkish Propolis," *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, vol. 24, no. 10, pp. 1679-1687, 2021.
- [17] M. Al-Duais, L. Müller, V. Böhm, and G. Jetschke, "Antioxidant capacity and total phenolics of *Cyphostemma digitatum* before and after processing: use of different assays," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 228, no. 5, pp. 813-821, 2009.
- [18] V. L. Singleton and J. A. Rossi, "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents," *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 16, no. 3, pp. 144-158, 1965.
- [19] G. Topçu, M. Ay, A. Bilici, C. Sarıkürkcü, M. Öztürk, and A. Ulubelen, "A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*," *Food Chem.*, vol. 103, no. 3, pp. 816-822, 2007.
- [20] A. Favier, "Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique," *Actual. Chim.*, 108, 115, 2003.

- [21] C. Boubekri, "Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques," Thèse de doctorat, Université Mohamed Khider Biskra-Algérie, 2014.
- [22] F. Beddou, "Etude phytochimique et activités biologiques de plantes médicinales du Sahara Algérien." PhD diss., Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid, 2015.
- [23] S. B. Kedare and R. P. Singh, "Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 48, no. 4, pp. 412-422, 2011.
- [24] I. Chevalley, A. Marston, and K. Hostettmann, "New phenolic radical scavengers from *saxifraga cuneifolia*," *Pharm. Biol.*, vol. 38, no. 3, pp. 222-228, 2000.
- [25] C. Sanchez-Moreno, "Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems," *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 8, no. 3, pp. 121-137, 2002.
- [26] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, no. 9-10, pp. 1231-1237, 1999.
- [27] A. Kivrak, C. Yilmaz, M. Konuş, H. Koca, S. Aydemir, and J. Ali Oagaz, "Synthesis and biological properties of novel 1-methyl-2-(2-(prop-2-yn-1-yloxy)benzylidene) hydrazine analogues," *Turk. J. Chem.*, vol. 42, no. 2, pp. 306-316, 2018.
- [28] R. Apak, M. Özyürek, K. Güçlü, and E. Çapanoğlu, "Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 64, no. 5, pp. 997-1027, 2016.
- [29] R. Apak, K. Güçlü, M. Ozyürek, and S. E. Karademir, "Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, no. 26, pp. 7970-7981, 2004.
- [30] A. Szydłowska-Czerniak, C. Dianoczki, K. Recseg, G. Karlovits, and E. Szlyk, "Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods," *Talanta*, vol. 76, no. 4, pp. 899-905, 2008.
- [31] P. Davies and A. J. Maloney, "Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease," *Lancet*, vol. 2, no. 8000, p. 1403, 1976.
- [32] S. Hauptmann, U. Keil, I. Scherping, A. Bonert, A. Eckert, and W. E. Müller, "Mitochondrial dysfunction in sporadic and genetic Alzheimer's disease," *Exp. Gerontol.*, vol. 41, no. 7, pp. 668-673, 2006.
- [33] M. L. Onor, M. Trevisiol, and E. Aguglia, "Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update," *Clin. Interv. Aging*, vol. 2, no. 1, pp. 17-32, 2007.
- [34] C. Fleau, "Maladie d'Alzheimer et polyphénols : effet des tanins sur la phosphorylation de la protéine Tau," Thèse de doctorat, Université de Bordeaux-France, Decembre 2017.
- [35] C. Lejus, Y. Blanlœil, P. Burnat, and R. Souron, "Les cholinestérases," *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, vol. 17, no. 9, pp. 1122-1135, 1998.
- [36] J. Marchini, P. Donnelly, and L. R. Cardon, "Genome-wide strategies for detecting multiple loci that influence complex diseases," *Nat. Genet.*, vol. 37, no. 4, pp. 413-417, 2005.
- [37] C. Déjous, M. Savart, D. Rebière, and J. Pistré, "A shear-horizontal acoustic plate mode (SH-APM) sensor for biological media," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 27, no. 1, pp. 452-456, 1995.
- [38] G. Bocquéné, A. Roig, and D. Fournier, "Cholinesterases from the common oyster (*Crassostrea gigas*)," *FEBS Lett.*, vol. 407, no. 3, pp. 261-66, 1997.
- [39] B. R. Lauwerys, J. C. Renauld, and F. A. Houssiau, "Synergistic proliferation and activation of natural killer cells by interleukin 12 and interleukin 18," *Cytokine*, vol. 11, no. 11, pp. 822-830, 1999.

- [40] M. Jokanović and M. P. Stojiljković, “Current understanding of the application of pyridinium oximes as cholinesterase reactivators in treatment of organophosphate poisoning,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 553, no. 1-3, pp. 10-17, 2006.
- [41] G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres Jr, and R. M. Feather-Stone, “A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 7, pp. 88-95, 1961.
- [42] G. Tel, M. Oztürk, M. E. Duru, M. Harmandar, and G. Topçu, “Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 48, no. 11, pp. 3189-3193, 2010.
- [43] M. S. Ali-Shtayeh, R. M. Jamous, S. Y. Abu-Zaitoun, A. I. Khasati, and S. R. Kalbouneh, “Biological Properties and Bioactive Components of *Mentha spicata* L. Essential Oil: Focus on Potential Benefits in the Treatment of Obesity, Alzheimer’s Disease, Dermatophytosis, and Drug-Resistant Infections,” *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.*, vol. 2019, p. 3834265, 2019.
- [44] T. Madhusudhan, H. Wang, W. Dong, S. Ghosh, F. Bock, V. R. Thangapandi, S. Ranjan, J. Wolter, S. Kohli, K. Shahzad, F. Heidel, M. Krueger, V. Schwenger, M. J. Moeller, T. Kalinski, J. Reiser, T. Chavakis, and B. Isermann, “Defective podocyte insulin signalling through p85-XBP1 promotes ATF6-dependent maladaptive ER-stress response in diabetic nephropathy,” *Nat. Commun.*, vol. 6, p. 6496, 2015.
- [45] A. K. Tiwari and J. M. Rao, “Diabetes mellitus and multiple therapeutic approaches of phytochemicals: Present status and future prospects,” *Curr. Sci.*, vol. 83, no. 1, pp. 30-38, 2002.
- [46] M. Bnouham, A. Legssyer, and H. Mekhfi, “Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco,” *International Journal of Diabetes and Metabolism*, vol. 10, no. 1, pp. 33-50, 2002.
- [47] A. Kar, B. K. Choudhary, and N. G. Bandyopadhyay, “Comparative evaluation of hypoglycemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 84, no. 1, pp. 105-108, 2003.
- [48] R. Subramanian, M. Zaini Asmawi, and A. Sadikun, “*In vitro* α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide.” *Acta biochimica polonica*, vol. 55, no. 2, pp. 391-398, 2008.
- [49] G. Zengin, C. Sarikurkcu, A. Aktumsek, R. Ceylan, and O. Ceylan, “A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 53, pp. 244-251, 2014.

Chapitre III: Résultats et discussion

Ce chapitre qui sera consacré à la présentation des résultats obtenus, est divisé en deux grands volets dont le premier volet traitera la partie chimique présentant les résultats de la composition chimique des huiles essentielles des trois espèces *P. graveolens*, *L. dentata* et *A. unedo* avec l'étude phytochimique des extraits de cette dernière, alors que le deuxième volet sera basé sur la présentation des résultats des activités antibactériennes des huiles essentielles des deux premières espèces (*P. graveolens* et *L. dentata*) qui sont suivis de ceux des activités antibactérienne, antioxydante, anti-Alzheimer et antidiabétique des extraits de l'espèce *A. unedo*.

III.1 Résultats et discussion de la partie chimique

III.1.1 La composition chimique de l'huile essentielle de *P. graveolens*

L'huile obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de l'espèce *P. graveolens* est de couleur jaunâtre et d'une odeur parfumée avec un rendement estimé à 0,02236 %.

Le chromatogramme obtenu pour cette huile est présenté dans la **figure III-1**, tandis que les résultats de l'analyse par CG/MS sont rassemblés dans le **tableau III-1**. En effet, cinquante-six composants représentant 96,49% de l'huile totale ont été identifiés. Nos résultats ont montré que cette huile essentielle est riche en monoterpènes oxygénés avec un pourcentage de (48,3%), suivis d'hydrocarbures sesquiterpéniques (30,78%), de sesquiterpènes oxygénés (12,18%) et enfin d'hydrocarbures monoterpéniques (1,74%). Alors que les principaux composés sont le β -citronellol (14,46 %), le δ -sélinène (12,32%), le *trans*-géraniol (11,73%), le formiate de citronellol (6,97%), le *p*-menthan-3-one (4,82%), le pentanoate de géranyle (4,24%) et le (-)-germacrène D (3,41%).

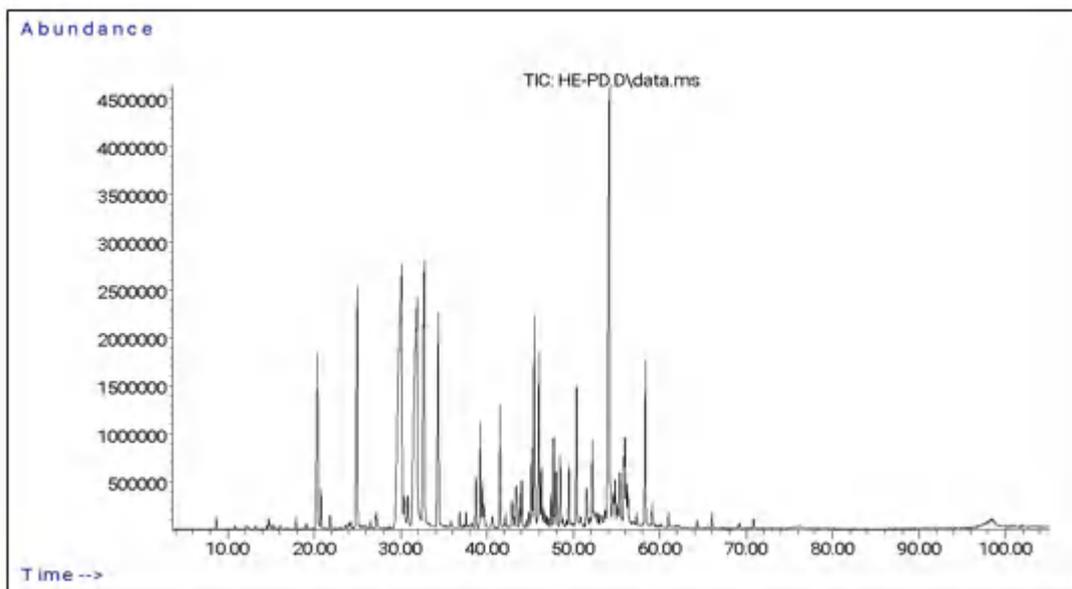
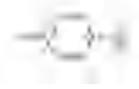
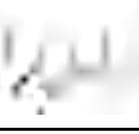
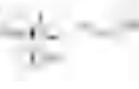
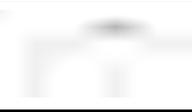
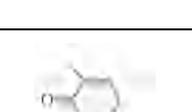
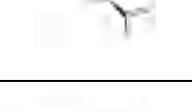
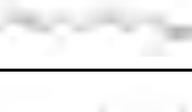
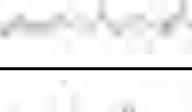
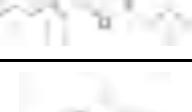
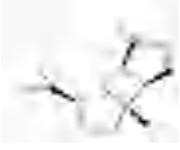
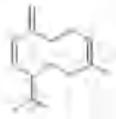
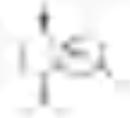


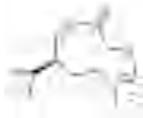
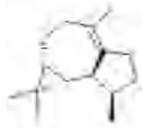
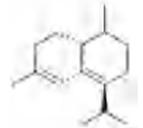
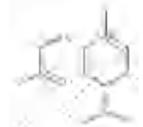
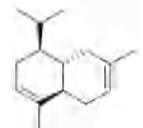
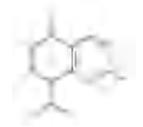
Figure III-1: Chromatogramme de l'huile essentielle de *P. graveolens*.

Tableau III-1: Les temps de rétention et les pourcentages de chaque composant présent dans l'huile essentielle de l'espèce *P. graveolens* L'Hér.

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
1	2,6,6-Triméthylbicyclo [3.1.1] hept-2-ène [α -Pinène]		8,64	0,12
2	(4 <i>R</i>)-4-Isopropényl-1-méthylcyclohexène [<i>D</i> -(+)-Limonène]		14,75	0,13
3	2-[(2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>) -5-Méthyl-5-vinyltétrahydro-2-furanyl]-2-propanol [<i>trans</i> -Linalool oxyde]		17,90	0,17
4	3,7-Diméthyl-1,6-octadién-3-ol [Linalool]		20,38	3,54
5	(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Méthyl-2-(2-méthyl-1-propèn-1-yl) tétrahydro-2 <i>H</i> -pyrane [<i>cis</i> -Rose oxyde]		20,78	0,45
6	(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-Méthyl-2-(2-méthyl-1-propèn-1-yl) tétrahydro-2 <i>H</i> -pyrane [<i>trans</i> -Rose oxyde]		21,852	0,18

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
7	<i>p</i> -Menthan-3-one		24,99	4,82
8	(+)-1- <i>p</i> -Menthène		26,521	0,10
9	α -Terpinéol		27,184	0,32
10	3,7-Diméthyl-6-octén-1-ol [β -Citronéolol]		30,122	14,46
11	3,7-Diméthyl-1,2,6-octadiénal [<i>Z</i> -Citral]		30,436	0,71
12	(5 <i>R</i>)-5-Isopropényl-2-méthyl-2-cyclohexèn-1-one [<i>L</i> -Carvone]		30,842	0,59
13	(2 <i>E</i>)-3,7-Diméthyl-2,6-octadièn-1-ol [<i>trans</i> -Géraniol]		31,917	11,73
14	Formiate de 3,7-diméthyl-6-octèn-1-yle [Formiate de citronellol]		32,745	6,97
15	Valérate de (2 <i>E</i>)-3,7-diméthyl-2,6-octadièn-1-yle [Pentanoate de géranyle]		34,386	4,24
16	(3 <i>aS</i> ,3 <i>bR</i> ,4 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-Isopropyl-3,7-diméthyl-3 <i>a</i> ,3 <i>b</i> ,4,5,6,7-hexahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzène [α -Cubébène]		36,832	0,22
17	Acétate de 3,7-diméthyl-6-octén-1-yle [Acétate de citronellyle]		37,558	0,20
18	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)-8-Isopropyl-1,3-diméthyltricyclo[4.4.0.0 ^{2,7}] déc-3-ène [α -Copaène]		38,684	0,66

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
19	(1 <i>S</i> ,3 <i>aS</i> ,3 <i>bR</i> ,6 <i>aS</i> ,6 <i>bR</i>)-1-Isopropyl-3 <i>a</i> -méthyl-6-méthylène-décahydrocyclopenta[3,4]cyclobuta[1,2]cyclopentène. [β-Bourbonène]		39,21	1,39
20	(2 <i>Z</i>)-3,7-Diméthyl-2,6-octadién-1-ol [(<i>Z</i>)-Nérol]		39,49	0,99
21	(1 <i>aR</i> ,4 <i>R</i> ,4 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,4,7-Tétraméthyl-1 <i>a</i> ,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,7 <i>b</i> -octahydro-1 <i>H</i> -cyclopropa[<i>e</i>]azulène [α-Gurjunène]		40,61	0,22
22	(1 <i>R</i> ,9 <i>S</i>)-4,11,11-Triméthyl-8-méthylène-bicyclo[7.2.0]undéc-4-ène [<i>trans</i>-Caryophyllène]		41,502	1,69
23	(1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> ,8 <i>S</i>)-8-Isopropyl-1-méthyl-5-méthylène-1,6-cyclodécadiène [Germacrène D]		42,153	0,27
24	4-Isopropyl-1,6-diméthyl-1,2,3,7,8,8 <i>a</i> -hexahydronaphthalène [Epizonarène]		43,353	0,83
25	(1 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ,8 <i>E</i>)-2,6,6,9-Tétraméthyl-1,4,8-cycloundécatriène [α-Humulène]		3,771	0,46
26	(1 <i>aR</i> ,4 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,7-Triméthyl-4-méthylènedécahydro-1 <i>H</i> -cyclopropa[<i>e</i>]azulène [(+)-Aromadendrène]		43,999	0,65
27	Naphthalène		44,536	0,11
28	Propionate de (2 <i>E</i>)-3,7-diméthyl-2,6-octadién-1-yle. [Propionate de géranyle]		45,171	1,11

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
29	(1Z,6Z,8S)-8-Isopropyl-1-méthyl-5-méthylène-1,6-cyclodécadiène [(-)-Germacrène D]		45,457	3,41
30	(1aR,7R,7aS,7bR)-1,1,4,7-Tétraméthyl-1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1H-cyclopropa[e]azulène [Lédène]		46,022	2,75
31	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tétraméthylbicyclo[8.1.0]undéca-2,6-diène [Bicyclogermacrène]		46,303	0,89
32	(1S,4aS,8aR)-1-Isopropyl-4,7-diméthyl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydronaphtalène [α-Muuroolène]		46,537	0,30
33	(1R,4aS,8aR)-1-Isopropyl-4,7-diméthyl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydronaphtalène [α-Amorphène]		47,394	0,43
34	(1S,4aR,8aS)-1-Isopropyl-4,7-diméthyl-1,2,4a,5,8,8a-hexahydronaphtalène [β-Cadinène]		47,709	1,23
35	(1S,4S)-4-Isopropyl-1,6-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène [(1S)-cis-Calamenène]		47,994	0,87
36	(1S,2S,3R,4S,6R,7R,8S)-8-Isopropyl-1,2-diméthyltétracyclo [4.4.0.0 ^{2,4} .0 ^{3,7}] décane [(+)-Cyclosativène]		48,44	1,05
37	(1aS,4aS,7S,7aS,7bR)-1,1,7-Triméthyl-4-méthylènedécahydro-1H-cyclopropa[e]azulène [(-)-Aromadendrène]		48,772	0,19
38	(1R,6S,9R)-2,6,10,10-Tétraméthyl-11-oxatricyclo [7.2.1.0 ^{1,6}] dodéc-2-ène [α-Agarofuran]		49,492	0,95

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
39	(2Z)-3,7-Diméthyl-2,6- octadién-1-ol [β -Nérol]		50,349	2,01
40	7-Isopropényl-1,4-diméthyl-1,2,3,3a,4,5,6,7- octahydroazulène [(+)- γ -Gurjunène]		50,846	0,28
41	1,2-Dihydro-4-(4-méthylphényl) naphthalène		51,509	0,92
42	Acide but-2-énoïque		52,195	1,81
43	(4R)-4-Isopropényl-1- méthylcyclohexène [R(+)-Limonène]		52,652	0,29
44	6,8,8-Triméthyl-2-méthylèn-tricyclo [5.2.2.0 ^{1,6}] undécane [β -Néoclovène]		52,904	0,23
45	(1R,6S,7S)-2,6,8,8-Tétraméthyltricyclo [5.2.2.0 ^{1,6}] undéc-2-ène [α -Néoclovène]		53,275	0,38
46	(8aR)-6-Isopropyl-4,8a-diméthyl-1,2,3,7,8,8a- hexahydronaphtalène [δ -Sélinène]		54,138	12,32
47	2-(6,10-Diméthylspiro [4.5] déc-6-én-2-yl) -2- propanol [Agarospinol]		54,801	0,81
48	(1S,8aR)-1-Isopropyl-4,7-diméthyl-1,2,3,5,6,8a- hexahydronaphtalène [δ -Cadinène]		55,064	0,42
49	2-[(2R,4aR,8aS)-4a-Méthyl-8-méthylèn- décahydro-2-naphtalényl]-2-propanol [β -Sélinénol]		55,939	3,61

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
50	Acétate de 3,7-diméthyl-6-octén-1-yle [Acétate de citronellyle]		57,316	0,20
51	(2E)-2-Méthyl-2-buténoate de (2E)-3,7-diméthyl-2,6-octadièn-1-yle [Tiglate de géranyle]		58,334	2,57
52	3,7,7-Triméthylbicyclo [4.1.0] hept-3-ène [3-δ-Carène]		59,111	0,47
53	6,6-Diméthyl-2-méthylèn-bicyclo [3.1.1] heptane. [β-Pinène]		61,008	0,20
54	cis-2,6-Diméthyl-2,6-octadiène.		64,306	0,13
55	(1S,5R)-6,6-Diméthylbicyclo [3.1.1] heptan-2-one. [Nopinone]		66,027	0,25
56	(3E)-3,7-Diméthyl-1,3,6-octatriène [trans-β-Ocimène]		70,845	0,19
Total				96,49 %

^a Composés répertoriés par ordre d'élution à partir d'une colonne HP-5 MS.

^b tr, temps de rétention (en minutes).

Les résultats obtenus sont plus au moins en accord avec d'autres travaux portant sur les huiles essentielles provenant de cette espèce provenant de différentes régions. En effet, le citronellol s'est avéré être le constituant principal de l'huile essentielle de *P. graveolens* provenant de Sfax, Beja et Chebba de Tunisie avec les proportions 21,93%, 25,64% et 27,53% respectivement [1][2][3], alors qu'il est de l'ordre de 36,4% de l'huile provenant d'Isfahan en Iran [4]. En outre, on note une variabilité importante de ce composé pour les huiles provenant de la région de Blida en Algérie dans des périodes de récolte différentes, il a un pourcentage de 19,22% pour l'échantillon récolté au mois de mai et 30,2% pour l'échantillon récolté au mois de juin [5][6]. La comparaison de la composition de notre huile à celle de la même espèce dans divers lieux géographiques est rapportée dans le **tableau III-2**.

Tableau III-2: La teneur des principaux constituants présents dans l'huile essentielle de *P.graveolens* provenant de différentes régions.

Composé	Algérie (Blida) Chiffa Mai (%) [5]	Algérie (Blida) Chiffa Juin (%) [6]	Égypte (Beni-Suef) Mai (%) [7]	Tunisie (Sfax) Mars (%) [1]	Tunisie (Beja) Avril (%) [2]	Tunisie (Chebba) Avril (%) [3]	Iran (Isfahan) Juin (%) [4]	Région (Mila) Marechou Juin (%)
Citronellol	19,22	30,2	5,53	21,93	25,64	27,53	36,4	14,46
δ -Sélinène	/	/	/	/	0,21	8,15	/	12,32
Géraniol	14,03	7,6	6,16	11,07	21,23	25,85	10,7	11,73
Formiate de Citronellyle	10,02	9,3	4,76	13,24	8,15	/	12,1	6,97
Guai-6,9-diène	0,18	5,4	/	/	/	/	/	/
Acétate de Citronellyle	0,3	0,4	0,27	/	0,13	/	0,6	0,2

III.1.2 La composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula dentata*

Les résultats d'analyse de l'HE de l'espèce *L. dentata*, obtenue par entraînement à la vapeur sont présentés dans le **tableau III-3** et le chromatogramme dans la **figure III-2**. Le rendement de l'extraction de cette huile, de couleur jaunâtre et une odeur aromatique agréable, a été estimé à 0,1543 %.

L'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis d'identifier cinquante-cinq composants représentant 85,73 % de l'huile totale dont les principaux composants sont le 1,8-cinéole (34,84%), le *L*-camphre (11,78%), le fenchone (5,44%), l'acétate de *L*-bornyle (4,76%) et le α -gurjunène (4,17%). Cette HE renferme quatre classes de constituants chimiques dont les monoterpènes oxygénés sont les plus présents (56,39%) suivis des hydrocarbures sesquiterpéniques (14,63%) et des hydrocarbures monoterpéniques (6,95%) et en dernier les sesquiterpènes oxygénés (2,15 %).

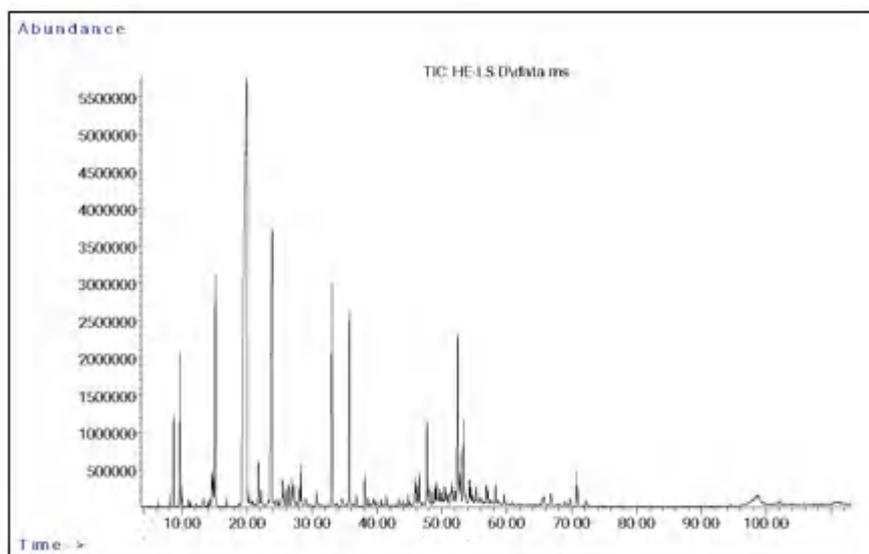
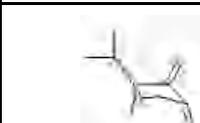
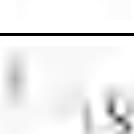
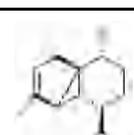
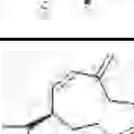


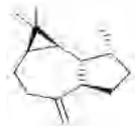
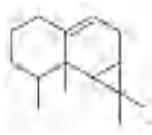
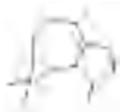
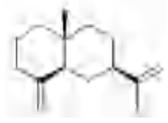
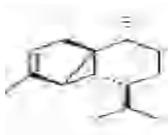
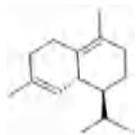
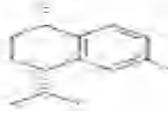
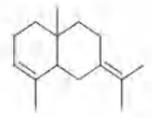
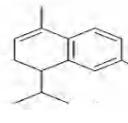
Figure III-2: Chromatogramme de l'huile essentielle de *L. dentata*.

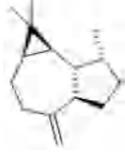
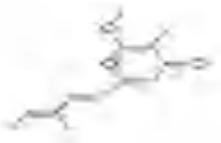
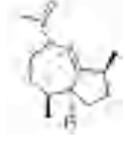
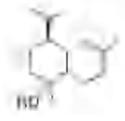
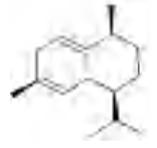
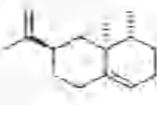
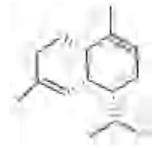
Tableau III-3: Les temps de rétention et les pourcentages des composants chimiques présents dans l'huile essentielle de l'espèce *Lavandula dentata* L.

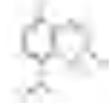
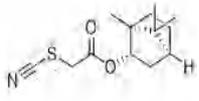
N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
1	3,7,7-Triméthylbicyclo [4.1.0] hept-3-ène [δ -3-Carène]		8,06	0,21
2	2,6,6-Triméthylbicyclo [3.1.1] hept-2-ène [α -Pinène]		8,65	1,32
3	2,2-Diméthyl-3-méthylène-bicyclo [2.2.1] heptane [Camphène]		9,64	2,53
4	6,6-Diméthyl-4-méthylène-bicyclo [3.1.1] hept-2-ène [Verbenène]		9,87	0,29
5	1-Isopropyl-4-méthylbenzène [<i>p</i> -Cymène]		10,98	0,13
6	1-Isopropyl-3-méthylbenzène [<i>m</i> -Cymène]		14,20	0,19
7	1-Isopropyl-2-méthylbenzène [<i>o</i> -Cymène]		26,52	0,10

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
8	(4 <i>S</i>)-4-Isopropényl-1-méthylcyclohexène [<i>L</i> -Limonène]		14,77	0,61
9	1,3,3-Triméthyl-2-oxabicyclo [2.2.2] octane [1,8-Cinéole]		15,12	34,84
10	1-Isopropyl-4-méthyl-1,3-cyclohexadiène [α -Terpinène]		16,82	0,17
11	1,3,3-Triméthylbicyclo [2.2.1] heptan-2- one [Fenchone]		19,91	5,44
12	1,3,3-Triméthylbicyclo [2.2.1] heptan-2-ol [α -Fenchol]		21,73	0,99
13	(1 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-1,7,7-Triméthylbicyclo [2.2.1] heptan-2-one [<i>L</i> -Camphre]		23,84	11,78
14	6,6-Diméthyl-2-méthylèn-bicyclo [3.1.1] heptan-3-one [Pinocarvone]		24,66	0,14
15	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-Triméthylbicyclo [2.2.1] heptan-2-ol [Bornéol]		25,42	0,80
16	1-Isopropyl-4-méthyl-3-cyclohexèn-1-ol [Terpèn-4-ol]		25,92	0,30
17	(4-Isopropylphényl) méthanol [<i>p</i> -Cymèn-7-ol]		26,37	0,42
18	1-Isopropényl-4-méthyl benzène [α -Diméthylstyrène]		26,84	0,5
19	6,6-Diméthylbicyclo [3.1.1] hept-2-èn-2- carbaldéhyde [Myrténal]		27,08	0,74

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
20	(1 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-4,6,6-Triméthylbicyclo [3.1.1] hept-3- èn-2-one [(<i>L</i>)-(+)- Verbénone]		28,08	0,32
21	Acétate de 1,3,3-triméthylbicyclo [2.2.1] hept- 2-yle [Acétate de fenchyle]		28,30	0,75
22	1-Isopropényl-4-méthyl-1,3-cyclohexadiène [1,3,8-p-Menthatriène]		28,99	0,29
23	(5 <i>R</i>)-5-Isopropényl-2-méthyl-2-cyclohexén-1- one [<i>L</i> -(-)- Carvone]		30,65	0,33
24	Acétate de (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-1,7,7-triméthylbicyclo [2.2.1] hept-2-yle [Acétate de L-bornyle]		34,60	4,76
25	5-Isopropyl-2-méthylphénol [Carvacrol]		34,60	0,29
26	Acétate de [(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-6,6-diméthylbicyclo [3.1.1] hept-2-èn-2-yl]méthyle [Acétate de (-)-myrtényle]		35,76	4,08
27	(3 <i>aS</i> ,3 <i>bR</i> ,4 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-Isopropyl-3,7- diméthyl-3 <i>a</i> ,3 <i>b</i> ,4,5,6,7-hexahydro-1 <i>H</i> - cyclopenta[1,3] cyclopropa[1,2]benzène [α-Cubebène]		36,79	0,18
28	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-8-Isopropyl-1,2- diméthyltétracyclo [4.4.0.0 ^{2,4} .0 ^{3,7}] décane [(+)- Cyclosativène]		38,11	0,67
29	(1 <i>E</i> ,6 <i>E</i> ,8 <i>S</i>)-8-Isopropyl-1-méthyl-5-méthylèn- 1,6-cyclodécadiène [Germacrène D]		39,49	0,07
30	(1 <i>R</i> ,9 <i>S</i>)-4,11,11-Triméthyl-8-méthylèn-bicyclo [7.2.0] undéc-4-ène [<i>trans</i> - Caryophyllène]		41,43	0,17

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
31	(1 <i>aR</i> ,4 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,7-Triméthyl-4-méthylène-décahydro-1 <i>H</i> -cyclopropa [<i>e</i>] azulène [Aromadendrène]		43,32	0,15
32	Aristol-9-ène [Aristolène]		43,96	0,14
33	1,1,4,7-Tétraméthyl-1 <i>a</i> ,2,3,4,5,6,7,7 <i>b</i> -octahydro-1 <i>H</i> -cyclopropa[<i>e</i>]azulène [Isoledène]		44,78	0,18
34	(4 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,8 <i>aS</i>)-7-Isopropényl-4 <i>a</i> -méthyl-1-méthylène-décahydronaphtalène [β-Sélinène]		45,86	0,64
35	(3 <i>aS</i> ,3 <i>bR</i> ,4 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-Isopropyl-7-méthyl-3-méthylène-octahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta [1,3] cyclopropa[1,2]benzène [β-Cubébène]		46,01	0,32
36	(2 <i>R</i> ,4 <i>aR</i> ,8 <i>aR</i>)-2-Isopropényl-4 <i>a</i> ,8-diméthyl-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -octahydronaphtalène [α-Sélinène]		46,26	0,40
37	(1 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-1-Isopropyl-4,7-diméthyl-1,2,3,5,6,8 <i>a</i> -hexahydronaphtalène [δ-Cadinène]		47,70	1,68
38	(1 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-Isopropyl-1,6-diméthyl-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène [1 <i>S</i> , <i>cis</i> -Calamenène]		47,97	0,52
39	(4 <i>aR</i> ,8 <i>aR</i>)-2-Isopropylidène-4 <i>a</i> ,8-diméthyl-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -octahydronaphtalène [Séline-3,7(11)-diène]		48,97	0,42
40	1-Isopropyl-4,7-diméthyl-1,2-dihydronaphtalène [α-Calacorène]		49,15	0,64
41	Cédrane		49,63	0,38

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
42	3-Méthylène-4-(prop-1-èn-2-yl) cyclohex-1-ène [1(7),5,8- <i>o</i> -Menthatriène]		49,93	0,37
43	Pentalène		50,59	0,31
44	(1 <i>aR</i> ,4 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,7-Triméthyl-4-méthylène-décahydro-1 <i>H</i> -cyclopropa[<i>e</i>]azulène [Aromadendrène]		52,02	0,52
45	(1 <i>aR</i> ,4 <i>R</i> ,4 <i>aR</i> ,7 <i>bS</i>)-1,1,4,7-Tétraméthyl-1 <i>a</i> ,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,7 <i>b</i> -octahydro-1 <i>H</i> -cyclopropa[<i>e</i>]azulène [α -Gurjunène]		52,44	4,17
46	2-Méthoxy-3-méthyl-6-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i>)-3-méthyl-1,3-pentadién-1-yl]-4 <i>H</i> -pyran-4-one [12-Norcyercène B]		52,70	0,55
47	7-Isopropényl-1,4-diméthyl-1,2,3,3 <i>a</i> ,4,5,6,7-octahydroazulène [γ -Gurjunène]		52,91	1,11
48	(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,4 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i>)-4-Isopropyl-1,6-diméthyl-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,7,8,8 <i>a</i> -octahydro-1-naphtalèneol [Torreyol]		53,32	2,15
49	(1 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,4 <i>aR</i>)-4-Isopropyl-1,6-diméthyl-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,7-hexahydronaphtalène [Cadina-1,4-diène]		54,23	0,63
50	(3 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>R</i>)-3-Isopropényl-4 <i>a</i> ,5-diméthyl-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,7-octahydronaphtalène [Valencène]		54,68	0,26
51	(1 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>aR</i>)-1-Isopropyl-4,7-diméthyl-1,2,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -hexahydronaphtalène [α -Amorphène]		55,30	0,70

N°	Composé ^a	Structure chimique	tr ^b	(%)
52	4-Isopropyl-1,6-diméthyl-naphtalène [Cadalène]		56,86	0,45
53	(1 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-2,2,7,7-Tétraméthyltricyclo[6.2.1.0 ^{1,6}]undéc-5-ène [Isolongifolène]		59,63	0,23
54	Thiocyanatoacétate de (1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-1,7,7-triméthylbicyclo [2.2.1] hept-2-yle [Thiocyanoacétate de isobornyle]		69,72	0,18
55	Dibenzo [<i>b,d</i>] thiophène-2-ol [2-Hydroxydibenzothiophène]		98,29	0,95
Total				85,73 %

^a Composés répertoriés par ordre d'élution à partir d'une colonne HP-5 MS.

^b tr, temps de rétention (en minutes).

De même que précédemment, il convient de noter que les composants de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* pourraient être comparés avec ceux de la même espèce provenant de différentes régions géographiques.

A titre d'exemple, le 1,8-cinéole est présent dans notre échantillon avec une proportion de 34,84%, valeur comparable à celles trouvées dans les échantillons algériens (38,4% pour l'huile de Cherchel [8] et 36,3 % pour l'huile provenant de Tlemcen [9]), alors qu'elle s'avère faible par rapport aux valeurs trouvées pour la même huile provenant du Maroc 49,82 % [10] et de la Tunisie 53,39 % [11], respectivement. En outre, il est important de noter l'absence totale de l'acétate de *L*-bornyle et le α -gurjunène dans les échantillons algériens [8][9][12], tunisiens [11] et marocains [10][13], alors qu'ils sont présents dans notre huile avec les proportions de 4,76 % et 4,17 % respectivement. Le **tableau II-4** récapitule ces différences.

Tableau III-4: Les teneurs des principaux constituants présents dans l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L. de différentes régions.

Composé	Algérie -Cherchel Mai (%) [8]	Algérie - Tlemcen Benisaf Juin (%) [9]	Algérie -Tlemcen Honaïne Mai (%) [9]	Algérie -Tebessa Avril (%) [12]	Tunisie Mars (%) [11]	Maroc - Taounate Avril (%) [10]	Maroc -Taforalt Juin (%) [13]	Mila - Marechou Juin (%) Notre HE
1,8-cinéole	38,4	1,5	36,3	3,62	53,39	49,82	11	34,84
L-Camphor	1,6	0,9	0,2	13,43	42,22	4,21	2,32	11,78
Fenchone	2,3	0,5	0,3	/	15,487	0,21	/	5,44
Acétate de L-bornyle	/	/	/	/	/	/	/	4,76
α -Gurjunène	/	/	/	/	/	/	/	4,17

III.1.3 L'espèce *Arbutus unedo*

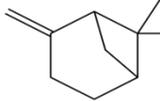
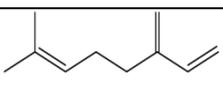
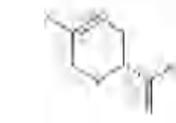
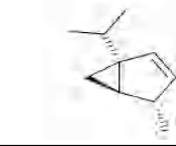
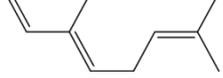
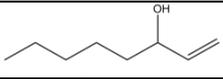
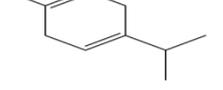
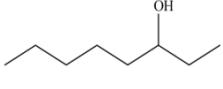
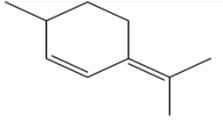
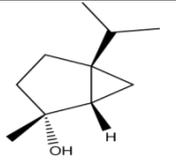
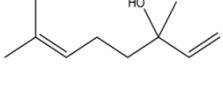
III.1.3.1 La composition chimique de l'huile essentielle

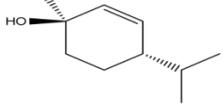
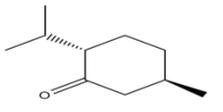
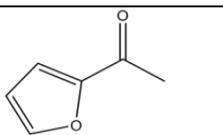
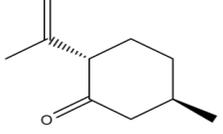
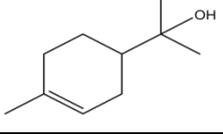
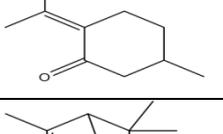
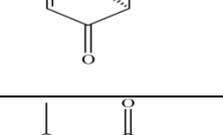
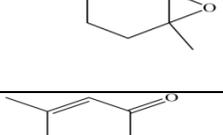
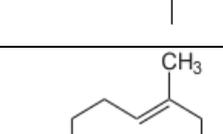
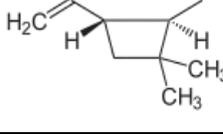
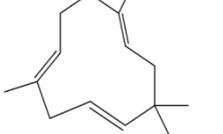
Le rendement d'extraction a été estimé à 0,012 % de la matière brute. L'analyse CG-MS de l'huile essentielle de l'espèce *A.unedo*, obtenue par hydrodistillation, a permis d'identifier 38 composés. Ce nombre représente 98,69% de la composition chimique de l'huile totale. Sur les 98,69% de composés identifiés, 89,01% sont des monoterpénoïdes, suivis de 6,57% qui sont des monoterpènes, tandis que les sesquiterpènes ne sont présents qu'à avec 1,71% et les sesquiterpénoïdes avec la proportion 0,06% seulement.

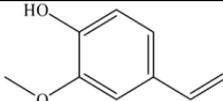
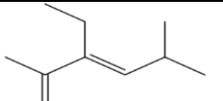
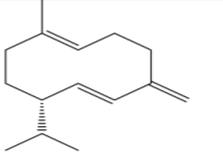
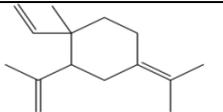
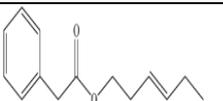
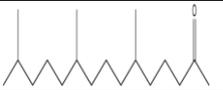
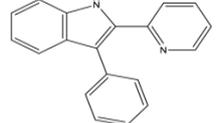
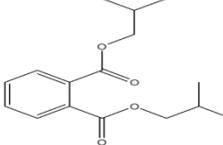
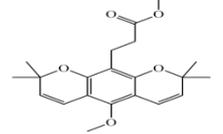
Les composés majoritaires sont : le (2*S*, *trans*) -5-méthyl-2-(1-méthyléthyl) - cyclohexanone ou (2*S*, *trans*) menthone (67,13 %); le 5-méthyl-2-(1-méthyléthylidène) cyclohexanone ou pulégone (15,38 %) et le *D*-limonène (2,84 %) (**Tableau III-5**).

Tableau III-5: Les temps de rétention et les pourcentages des composants chimiques présents dans l'huile essentielle de l'espèce *Arbutus unedo*.

N°	Nom de composé	tr (mn)	Structure	m/z	(%)
1	5-Isopropyl-2-méthylbicyclo [3.1.0] hex-2-ène.	3,375		93,00	0,04

N°	Nom de composé	tr (mn)	Structure	m/z	(%)
2	2,6,6-triméthylbicyclo [3.1.1] hept-2-ène [α -Pinène]	3,479		93,00	0,55
3	1-Hex-2-èneal	3,754		41,00	0,02
4	6,6-Diméthyl-2 méthylèn-bicyclo [3.1.1] heptane [β -Pinène]	4,539		93,00	1,21
5	7-Méthyl-3-méthylèn-1,6-octadiène [β -Myrcène]	4,987		41,00	0,47
6	(1 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-4,7,7-Triméthylbicyclo [4.1.0] hept-2-ène [(+)-4-Carène]	5,666		121,05	0,13
7	(4 <i>R</i>)-4-Isopropényl-1-méthylcyclohexène [(+)-(<i>R</i>)-Limonène]	5,921		68,00	2,84
8	(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-1-Isopropyl-4-méthylbicyclo[3.1.0]hex-2-ène [β -Thujène]	6,155		93,00	0,03
9	(<i>E</i>)-3,7-diméthyl-1,3,6-octatriène [(<i>E</i>)- β -Ocimène]	6,368		93,05	0,95
10	Oct-1-èn-3-ol	6,788		56,95	0,13
11	1-Isopropyl-4-méthyl-1,4-cyclohexadiène [γ -Terpinène]	6,912		93,00	0,23
12	3-Octanol	7,038		59,00	0,14
13	3-Méthyl-6-(1-méthyléthylidèn) -cyclohexène [<i>cis-p</i> -Mentha-2,4(8)-diène]	7,840		121,05	0,07
14	(1 <i>α</i> , 2 <i>β</i> , 5 <i>α</i>) -Bicyclo [3.1.0] hexan-2-ol, 2-méthyl-5-(1-méthyléthyle) [<i>cis</i> -4-Thujanol]	9,597		43,00	0,89
15	3,7-Diméthyl-1,6-octadièn-3-ol	10,933		71,00	0,07

N°	Nom de composé	tr (mn)	Structure	m/z	(%)
16	(1 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Isopropyl-1-méthyl-2-cyclohexèn-1-ol	11,695		43,00	0,03
17	(2 <i>S</i> , <i>trans</i>)-5-Méthyl-2-(1-méthyléthyl)-cyclohexanone [(2 <i>S</i> , <i>trans</i>) Menthone]	13,89		112,05	67,13
18	1-(2-Furanyl) éthanone [2-Acétylefurane]	14,39		95,00	0,03
19	(2 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-2-Isopropényl-5-méthylcyclohexanone [<i>trans</i> -Isopulégone]	14,596		109,00	0,94
20	2-(4-Méthyl-3-cyclohexèn-1-yl) -2-propanol [α -Terpinéol]	15,01		93,00	0,45
21	2-Isopropylidèn-5-méthylcyclohexanone [Pulégone]	17,06		81,00	15,38
22	(1 <i>S</i>)-4,6,6-Triméthylbicyclo [3.1.1] hept-3-èn-2-one [<i>S</i> -Verbénone]	17,53		107,05	0,05
23	3-Isopropyl-6-méthyl-7-oxabicyclo [4.1.0] heptan-2-one [Pipéritoneépoxyde]	18,48		69,00	2,83
24	6-Isopropyl-3-méthyl-2-cyclohexèn-1-one [Pipéritone]	18,68		82,00	1,22
25	(1 <i>R</i> ,9 <i>S</i>)-4,11,11-Triméthyl-8-méthylèn-bicyclo [7.2.0] undéc-4-ène [β -Caryophyllène]	21,27		41,00	0,60
26	(1 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ,8 <i>E</i>)-2,6,6,9-Tétraméthyl-1,4,8-cycloundécatriène [α -Caryophyllène/ α -humulène]	22,82		93,00	0,19

N°	Nom de composé	tr (mn)	Structure	m/z	(%)
27	2-Méthoxy-4-[(1Z)-1-propén-1-yl] phénol [<i>cis</i> -Isoeugénol]	23,33		164,05	0,02
28	(3E)-3-Éthyl-2,5-diméthyl-1,3-hexadiène	23,77		138,05	0,05
29	[S-(E,E)]-8-Isopropyl-1-méthyl-5-méthylène-1,6-cyclodécadiène [D-Germacrène]	24,13		161,10	0,38
30	1-Méthyl-4-(1-méthyléthylidène)-2-(1-méthylvinyl)-1-vinylcyclohexane [γ-Elemène]	24,84		121,05	0,54
31	6-Méthylspiro [4.5] décan-6-ol	27,01		135,05	0,07
32	3,7,11-Triméthyl-1-dodécanol [Hexahydrofarnésol]	34,08		70,05	0,06
33	Phénylacétate de (3Z)-3-hexén-1-yle	34,73		82,05	0,02
34	6,10,14-Triméthyl-2-pentadécane	39,65		43,00	0,04
35	3-Phényl-2-(2'-pyridyl)-1H-indole	40,38		268,90	0,32
36	Phtalate de diisobutyle	41,89		149,00	0,07
37	3-(5-Méthoxy-2,2,8,8-tétraméthyl-2H,8H-pyrano[3,2-g] chromén-10-yl) propionate de méthyle	42,61		342,95	0,10
38	n-Nonacosane	52,00		57,00	0,40
Total				98,69 %	

L'huile essentielle des parties aériennes de l'arbusier contient donc une fraction importante de **(2*S*, trans) menthone** et de **pulégone**, ce qui lui confère des propriétés anti-infectieuses. Par ailleurs, Morgado et *al.* (2018)[14] constatent que la composition de l'huile essentielle et les proportions de chaque composant varient en fonction de la saison et de la localisation géographique [14]. Selon les études antérieures réalisées sur l'huile essentielle issue d'*A. unedo* provenant de l'Algérie, la teneur principale montre une forte proportion des deux acides, palmitique et linoléique, mais peu de (*E*)-2-décénal (0,6%) et de α -terpinéol (0,3%) [15]. Le **tableau III-6** résume les résultats de comparaison de la composition de cette huile avec celle de la même espèce provenant de différentes régions.

Tableau III-6: Étude comparative entre les huiles essentielles de l'espèce *A. unedo* de différentes régions.

Composé	Alger (Baïnem) (%) [15]	(Tlemcen) (%) [16]	Anatolia (%) [17]	(Jijel) El Milia (%) notre étude
Pinène	/	2,6	/	1,21
<i>D</i> -Limonène	/	3,2	/	2,84
(<i>E</i>) - β -Ocimène	/	22,4	/	0,95
α -Terpinéol	0,3	/	8,8	0,45
β -Caryophyllène	0,1	/	0,7	0,6
Nonacosane	4,0	/	/	0,4
Octanol	/	/	1,9	0,19

III.1.3.1.1 Conclusion

La différence de composition chimique qualitative et quantitative des trois huiles essentielles est due, d'une part, à la différence de leur origine botanique (phénotype) et, d'autre part, à l'influence de certains paramètres tels que les conditions climatiques et les zones géographiques dans lesquelles pousse chaque espèce, la période de récolte, la durée de stockage de la plante et les conditions de séchage. Ces paramètres dépendent eux-mêmes des méthodes utilisées et du temps d'extraction.

III.1.4 Les rendements d'extraction

Après concentration et séchage, les différentes phases obtenues à partir de l'extrait MeOH ont été pesées et le **tableau III-7** ci-dessous résume les rendements obtenus.

Tableau III-7: Résultat des rendements de l'extraction.

Extraits	MeOH	Ether de pétrole	CHCl ₃	AcOEt	<i>n</i> -BuOH
Rd %	26,89	1,74	1,85	2,23	2,29

Le rendement total de l'extrait MeOH s'est avéré être de 26,89%, les rendements les plus élevés étant observés avec les phases *n*-BuOH et AcOEt (2,29% et 2,23% respectivement), tandis que les rendements les plus faibles ont été enregistrés avec les phases CHCl₃ (1,85%) et éther de pétrole (1,74%).

III.1.5 Le criblage phytochimique

Les résultats du criblage de l'extrait MeOH ont conduit à l'identification d'un certain nombre de métabolites secondaires, rassemblés dans le **tableau III-8** ci-dessous.

Tableau III-8 : Les différents métabolites présents dans l'extrait MeOH de l'espèce *A. unedo*.

Métabolites secondaires	Observation	Résultat
Flavonoïdes		+
Stérols		+
Triterpènes		+
Saponines		-
Alcaloïdes	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  Test de Wagner </div> <div style="text-align: center;">  Test de Dragendorff </div> <div style="text-align: center;">  Test de Mayer </div> <div style="text-align: center;">  Test de Hager </div> </div>	+
Tanins catéchiques		+
Tanins galliques		+
Coumarines		+

+ Présent - absent.

Les données préliminaires ont révélé la présence de la plupart des familles chimiques dans l'extrait brut, indiquant la richesse de l'espèce *A. unedo* en métabolites secondaires, notamment en flavonoïdes, tanins et terpènes.

III.1.6 Identification des produits isolés de l'extrait AcOEt

Comme indiqué précédemment, nous présentons ci-après l'élucidation de la structure des deux composés **N4** et **N5** sur la base de données spectroscopiques RMN unidimensionnelle et bidimensionnelle, ainsi que de la spectrophotométrie UV pour le produit **N5**.

III.1.6.1.1 Identification du composé **N4** (515-523)

Le composé **N4** a été séparé sous forme d'une poudre jaune montrant une fluorescence noire sous la lampe UV (254 nm), violette sous la lumière de Wood et rouge après révélation à l'anisaldéhyde.

L'analyse simultanée des spectres RMN-¹H (**Figure III-3** et **Figure III-4**), RMN-¹³C (**Figure III-5**) et HSQC (**Figure III-6**) permet de relever les informations suivantes :

- Un doublet ($J = 8,7$ Hz) d'intégration 2H à δ_H 7,83 ppm montre une tache de corrélation sur le spectre HSQC avec le signal à δ_C 131,9 ppm.
- Un doublet ($J = 8,7$ Hz) d'intégration 2H à δ_H 6,89 ppm montre une tache de corrélation sur le spectre HSQC avec le signal à δ_C 115,9 ppm.
- Un doublet ($J = 8,9$ Hz) d'intégration 2H à δ_H 6,86 ppm corréle sur le spectre HSQC avec le signal à δ_C 117,9 ppm.
- Un doublet ($J = 8,9$ Hz) d'intégration 2H à δ_H 6,59 ppm corréle sur le spectre HSQC avec le signal à δ_C 115,8 ppm.

Les valeurs des déplacements chimiques de ces protons et carbones ainsi que celles des constantes de couplages indiquent clairement la présence de deux cycles aromatiques disubstitués dans les positions 1 et 4.

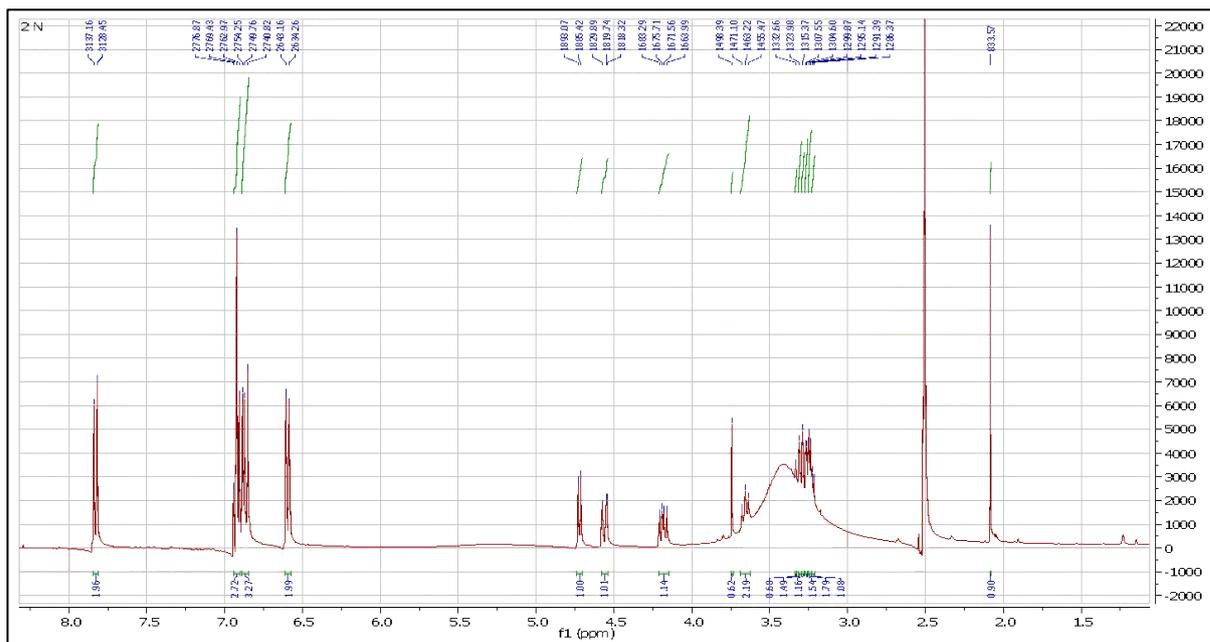


Figure III-3 : Spectre de RMN- ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé N4 .

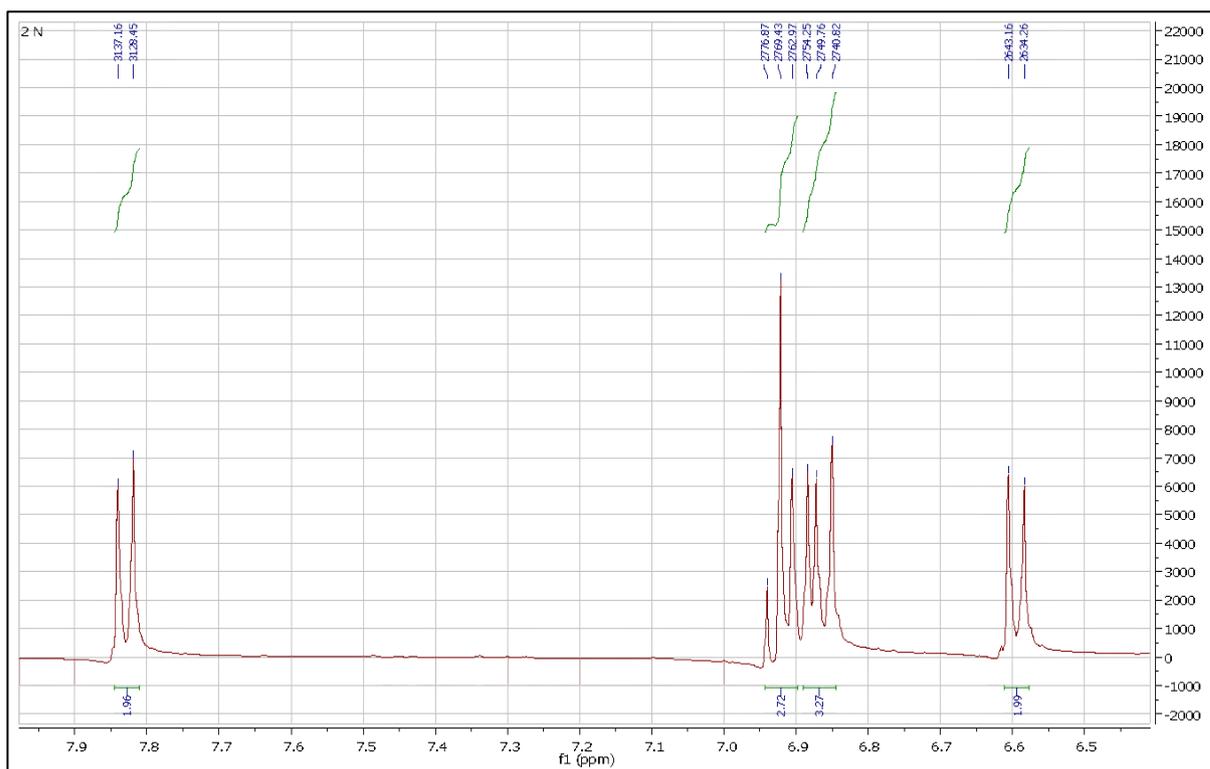


Figure III-4: Spectre de RMN- ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) étalé (6,5 à 8 ppm) du composé N4.

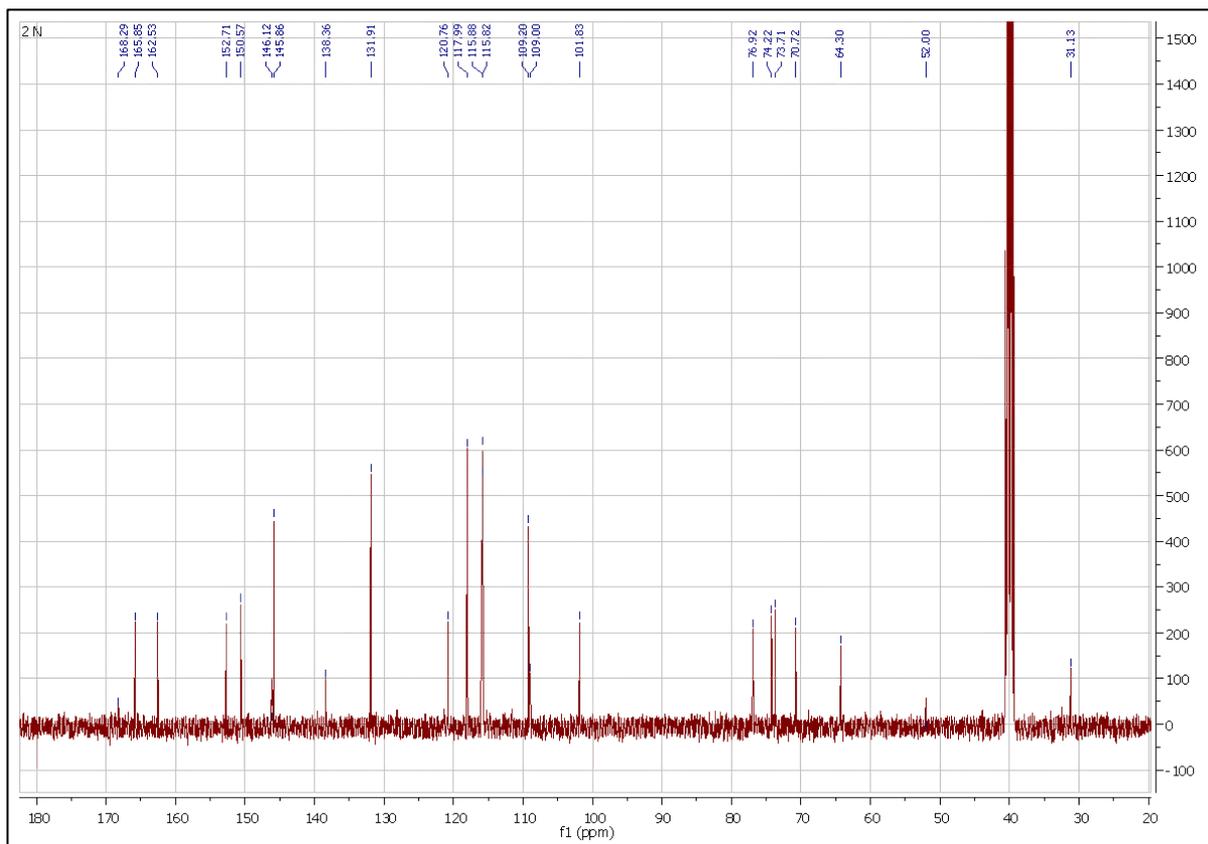


Figure III-5: Spectre de RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) du composé N4.

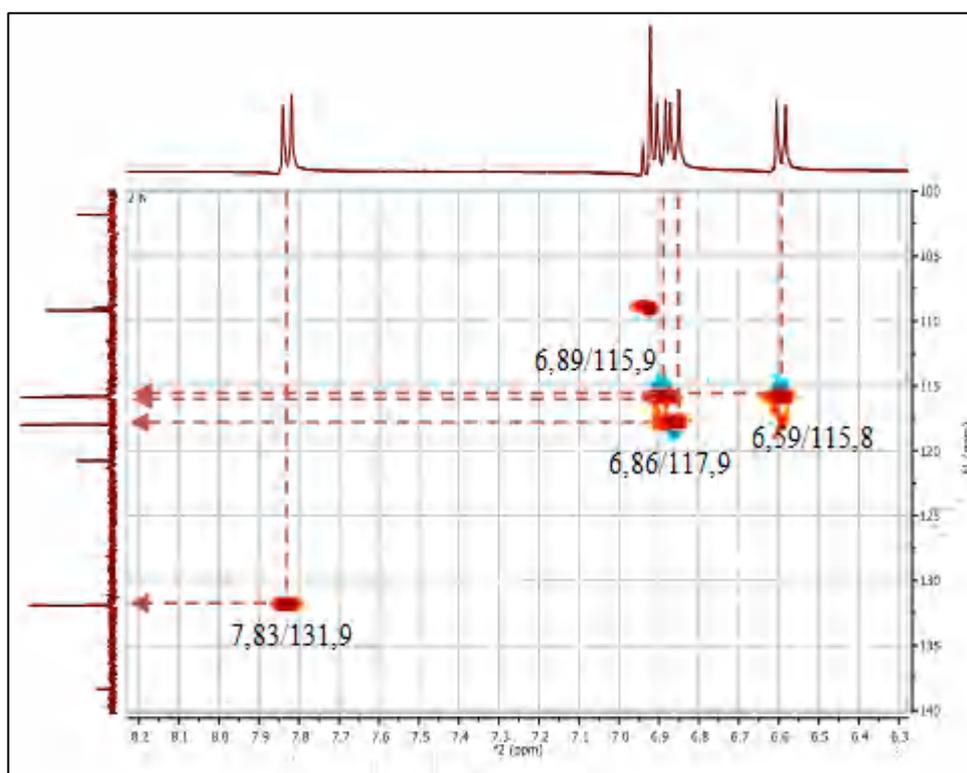


Figure III-6 : Spectre HSQC du composé N4 (zone aromatique).

L'analyse du spectre COSY (**Figure III-7**) permet de lier les signaux des deux cycles aromatiques comme suit :

- Le signal à δ_H 7,83 ppm (2H, *d* ; $J= 8,7$ Hz); δ_C (131,9 ppm) corrèle avec le signal à δ_H 6,89 ppm (2H, *d* ; $J= 8,7$ Hz); δ_C (115,9 ppm).
- Le signal à δ_H 6,86 ppm (2H, *d* ; $J= 8,9$ Hz); δ_C (117,9 ppm) corrèle avec le signal δ_H 6,59 ppm (2H, *d* ; $J= 8,9$ Hz); δ_C (115,8 ppm).

Ces informations permettent d'écrire les deux portions de structures présentées dans la **figure III-8** ci-dessous.

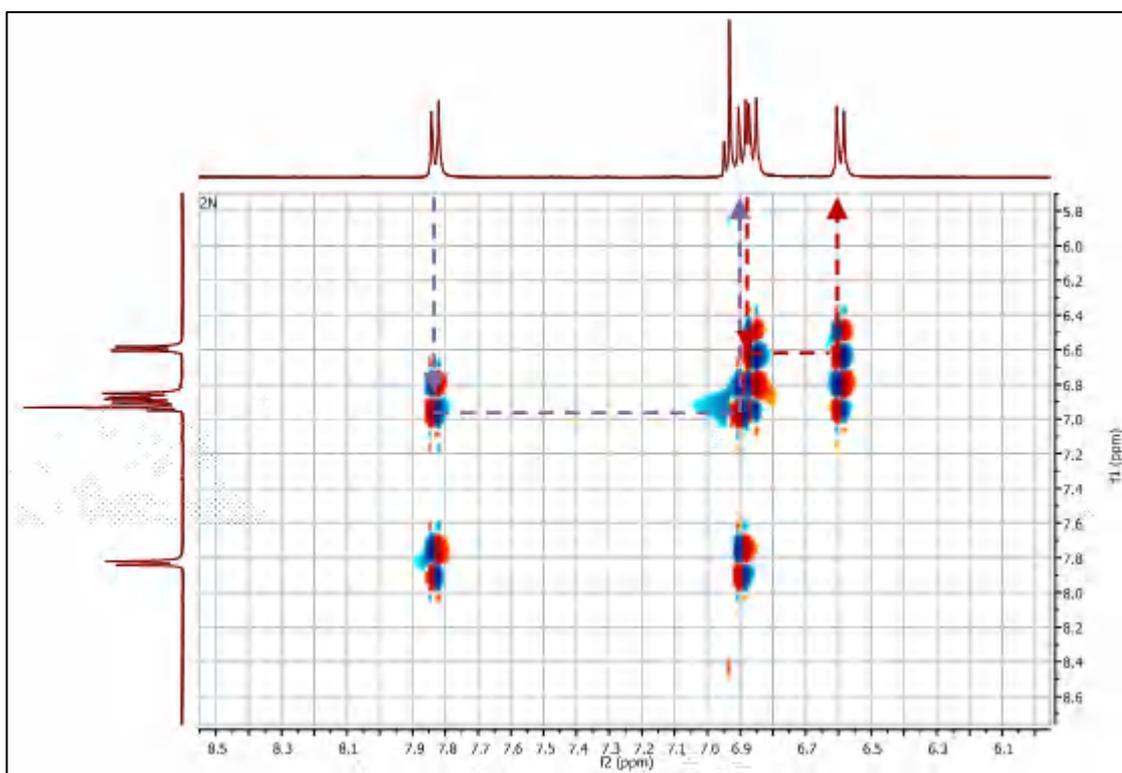


Figure III-7: Spectre COSY du composé N4 (zone aromatique).

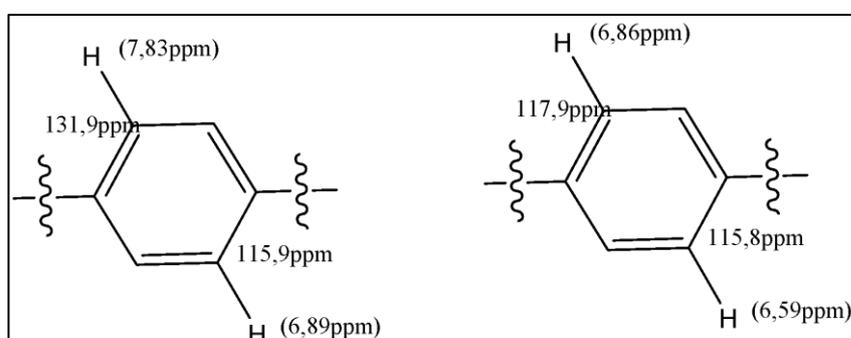


Figure III-8: Portions de structures proposées du composé N4

Un retour aux spectres RMN- ^1H (**Figure III-9**), RMN- ^{13}C (**Figure III-5**) et HSQC (**Figure III-10**) permet de relever également les signaux caractéristiques d'une entité glycosylée reconnaissable par :

- Un doublet ($J=7,6$ Hz) d'intégration 1H résonant à δ_{H} 4,72 ppm corrèle sur le spectre HSQC avec le signal à δ_{C} 101,8 ppm. Ce signal est typique du proton anomérique d'une entité sucre et la valeur de la constante de couplage ($J = 7,6$ Hz), indique que cette entité peut être un groupement glucosyle ou galactosyle avec une configuration β entre le sucre et l'aglycone.
- Un premier signal sous forme d'un doublet de doublet ($J= 11,6$ Hz ; 1,42 Hz) d'intégration 1H résonant à δ_{H} 4,56 ppm et un second sous forme également d'un doublet de doublet ($J= 11,6$ Hz ; 7,6 Hz) d'intégration 1H résonant à δ_{H} 4,18 ppm, ces signaux corrèlent tous les deux avec le signal du carbone se trouvant à δ_{C} 64,3 ppm sur le spectre HSQC et sont attribuables par conséquent aux protons H-6'a et H-6'b de la position-6 du sucre respectivement.

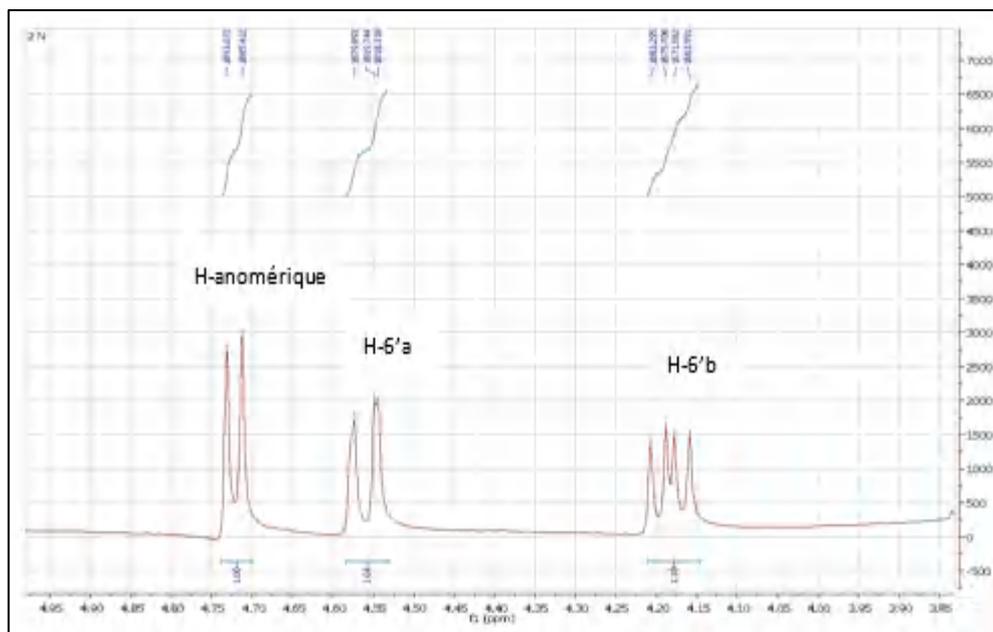


Figure III-9: Spectre RMN- ^1H étalé (4 à 5 ppm) (400 MHz, DMSO- d_6) du composé N4 .

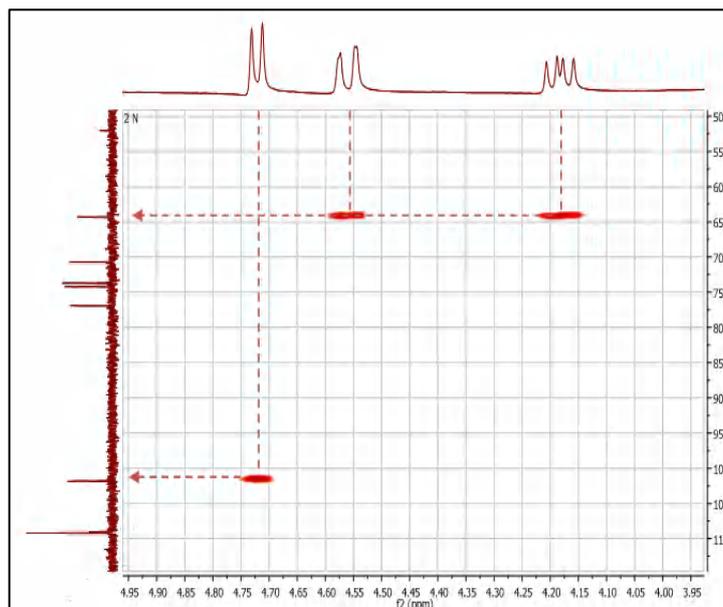


Figure III-10: Spectre HSQC (400 MHz, DMSO- d_6) du composé N4 .

Ces signaux indiquent clairement la présence d'une entité glycosylée dans la molécule. L'analyse simultanée des spectres COSY (**Figure III-11**) et HSQC (**Figure III-12**) permet de tirer les informations suivantes :

- Le proton anomérique à δ_H 4,72 ppm (1H, *d* ; $J = 7,6$ Hz); δ_C (101,8 ppm) corrèle sur le spectre COSY avec le proton à δ_H 3,22 ppm résonant sous forme d'un multiplet que l'on peut attribuer à H-2'. Ce signal corrèle sur le spectre HSQC avec son carbone à δ_C 70,7 ppm (C-2').
- Le H-2' (δ_H 3,22 ppm) corrèle sur le spectre COSY avec le signal sous forme de multiplet à δ_H 3,25 ppm attribuable à H-3', celui-ci corrèle sur le spectre HSQC avec le signal 73,7 ppm (C-3').
- Le H-3' (δ_H 3,25 ppm) corrèle sur le spectre COSY avec le signal à δ_H 3,65 ppm attribuable à H-4', celui-ci corrèle sur le spectre HSQC avec le signal 74,7 ppm.
- Le spectre COSY montre également une tache de corrélation entre le proton H-4' et le proton à δ_H 3,29 ppm (couvert par le signal du solvant) qui ne peut être attribué qu'au proton H-5'. Ce dernier corrèle sur le spectre HSQC avec le signal à δ_C 76,3 ppm.

- Le proton H-5' mène à l'attribution du H-6'b à δ_H 4,18 ppm résonnant sous forme de doublet de doublet ($J= 11,6\text{Hz} ; 7,6\text{ Hz}$) et H-6'a à δ_H 4,56 ppm résonnant également sous forme de doublet de doublet ($J= 11,6\text{ Hz} ; 1,42\text{ Hz}$), tous deux corrélant avec le signal résonnant à δ_C 64,3 ppm.

Les valeurs des déplacements chimiques observées pour les carbones du sucre, et par comparaison avec la littérature, permettent de confirmer que l'entité glycosylée n'est autre que le glucose [18].

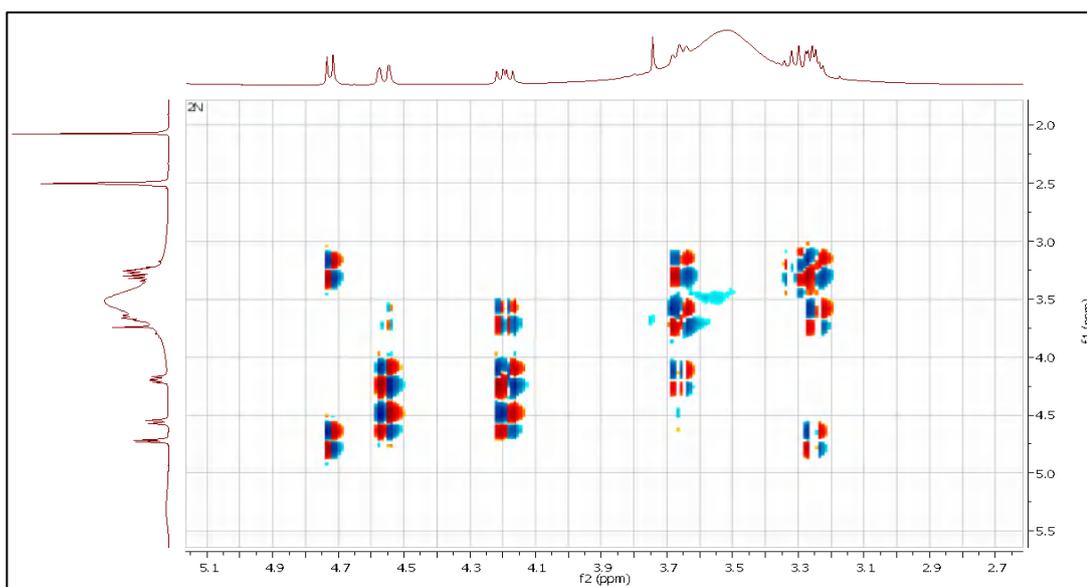


Figure III-11: Spectre COSY du composé N4 (zone correspondant aux protons du sucre).

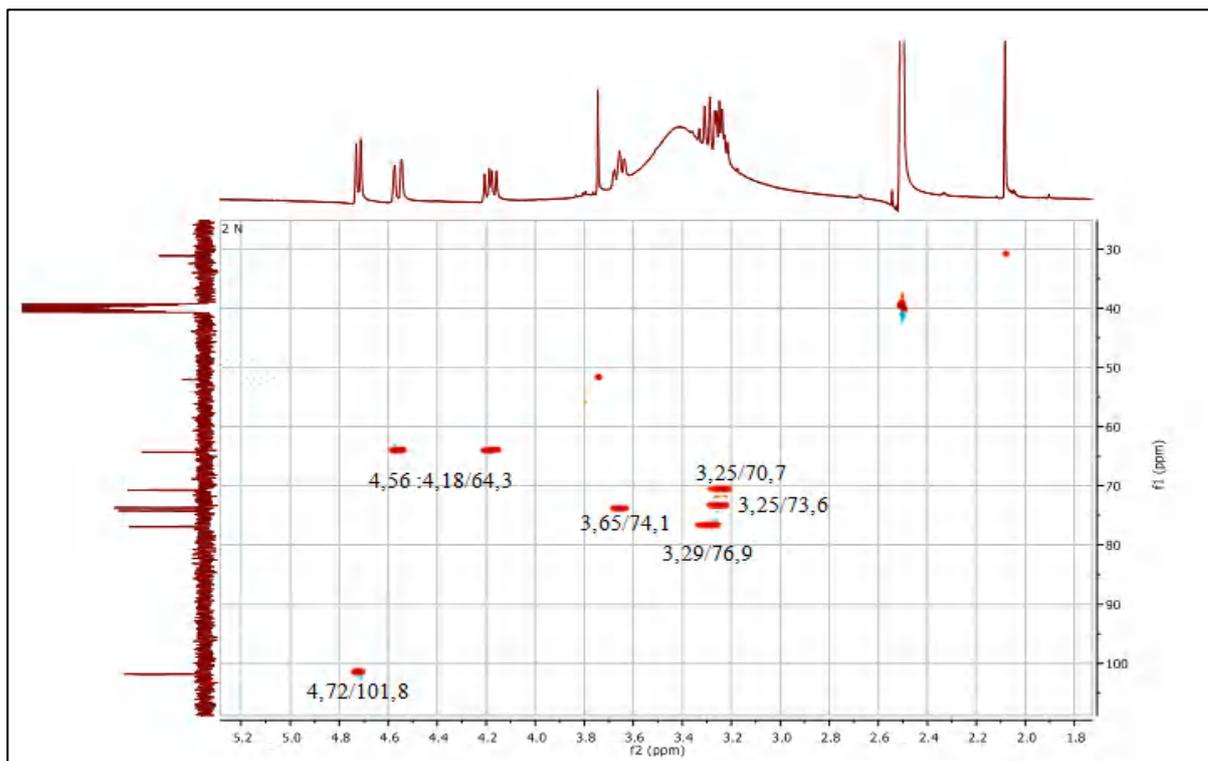


Figure III-12: Spectre HSQC du composé N4 (zone correspondant aux protons du sucre).

L'analyse du spectre HMBC (**Figure III-13**) permet de relier facilement les entités structurales mentionnées précédemment, à savoir deux cycles aromatiques *para*-substitués et un glucose, et de déduire facilement toutes les valeurs des déplacements chimiques de tous les carbones quaternaires grâce aux corrélations à longue distance.

En effet, ce spectre montre une tache de corrélation entre le proton anomérique H-1' (δ_H 4,72 ppm) et le signal à δ_C 150,7 ppm qui ne peut être que le carbone aromatique porteur de l'entité sucre et par conséquent le carbone se trouvant en position *para* par rapport à celui-ci est porteur d'un groupement hydroxyle.

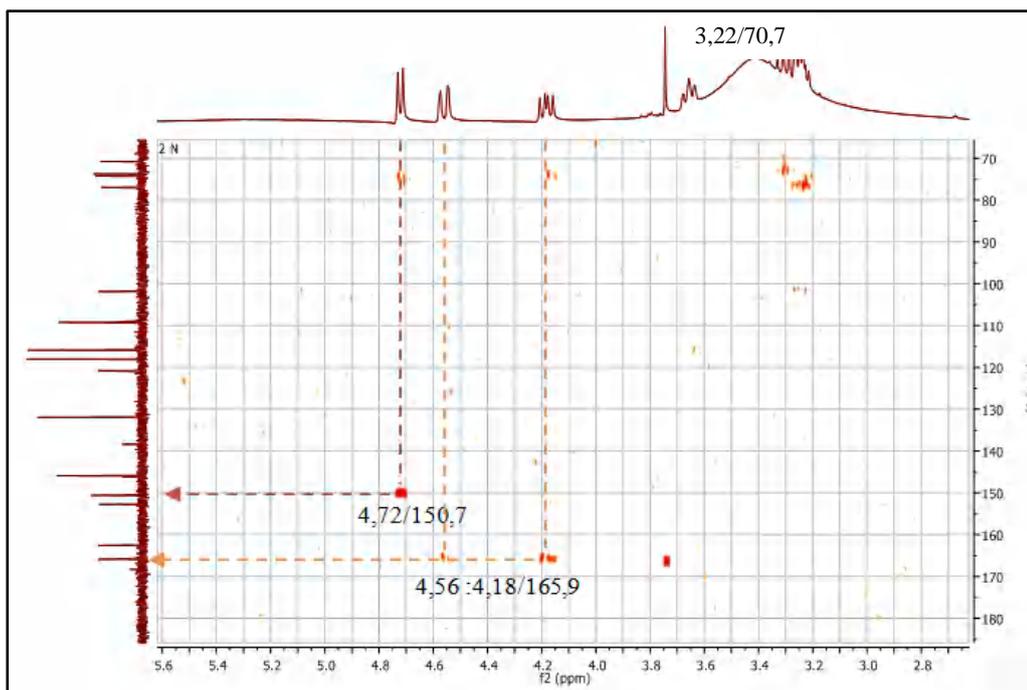


Figure III-13: Spectre HMBC du composé N4 étalé (3 à 5 ppm).

Ces observations permettent de déduire la portion suivante de la structure chimique (**Figure III-14**).

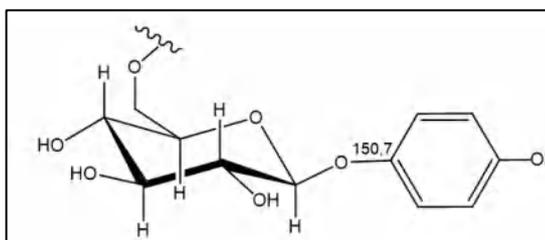


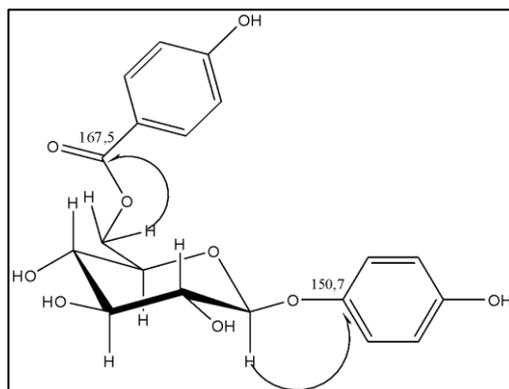
Figure III-14: Structure partielle du composé N4.

Cette structure est en faveur de la molécule 4-hydroxyphényl- β -D-glucopyranoside connue sous le nom de l'arbutine, une molécule isolée précédemment de l'espèce *Arbutus unedo* [19].

Il est important de signaler que cette molécule a été également isolée d'autres espèces [20][21].

Le même spectre HMBC (**Figure III-15**) montre également une autre tache de corrélation entre les deux protons H-6'a et H-6'b du glucose et le carbone quaternaire à δ_c 165,9 ppm, ce qui permet de relier le deuxième cycle aromatique au glucose à travers une fonction ester.

L'ensemble de ces données mène à trancher la structure finale rapportée dans la **figure III-16**, connue sous le nom de *p*-hydroxybenzoylarbutine.


Figure III-15: Structure finale du composé N4.

Toutes ces données comparées avec celles de la littérature indiquent que ce produit dont le nom est *p*-hydroxybenzoylarbutine a été déjà isolé de l'espèce *Arbutus unedo* [19]. Les données spectrales de ce produit sont rassemblées dans le **tableau III-12**.

Tableau III-9: Tableau des données spectrales du composé N4.

N° de la chaîne	Intégration	Multiplicité, <i>J</i> (Hz)	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)
Entité arbutine				
1	/	/	/	150,7
H-2 ; H-6	2H	<i>d</i> (8,9 Hz)	6,59	115,9
H-3 ; H-5	2H	<i>d</i> (8,9 Hz)	6,86	117,9
4	/	/	/	152,6
H-1'	1H	<i>d</i> (7,65 Hz)	4,72	101,8
H-2'	1H	<i>m</i>	3,23	70,7
H-3'	1H	<i>m</i>	3,25	73,7
H-4'	1H	<i>m</i>	3,65	74,7
H-5'	1H	<i>dd</i> (1,42 Hz; 7,6 Hz)	3,29	76,3
H-6 _a '	1H	<i>dd</i> (11,6 Hz; 1,42 Hz)	4,56	64,3
H-6 _b '	1H	<i>dd</i> (11,6 Hz; 7,6 Hz)	4,18	64,3
Entité benzoyle				
1''	/	/	/	145,9
H-2'' ; H-6''	2H	<i>d</i> (8,7 Hz)	7,83	131,9
H-3'' ; H-5''	2H	<i>d</i> (8,7 Hz)	6,89	115,8
4''	/	/	/	162,5
Benzoyle (C=O)	/	/	/	167,5

III.1.6.1.2 Identification du composé N5 (524-525)

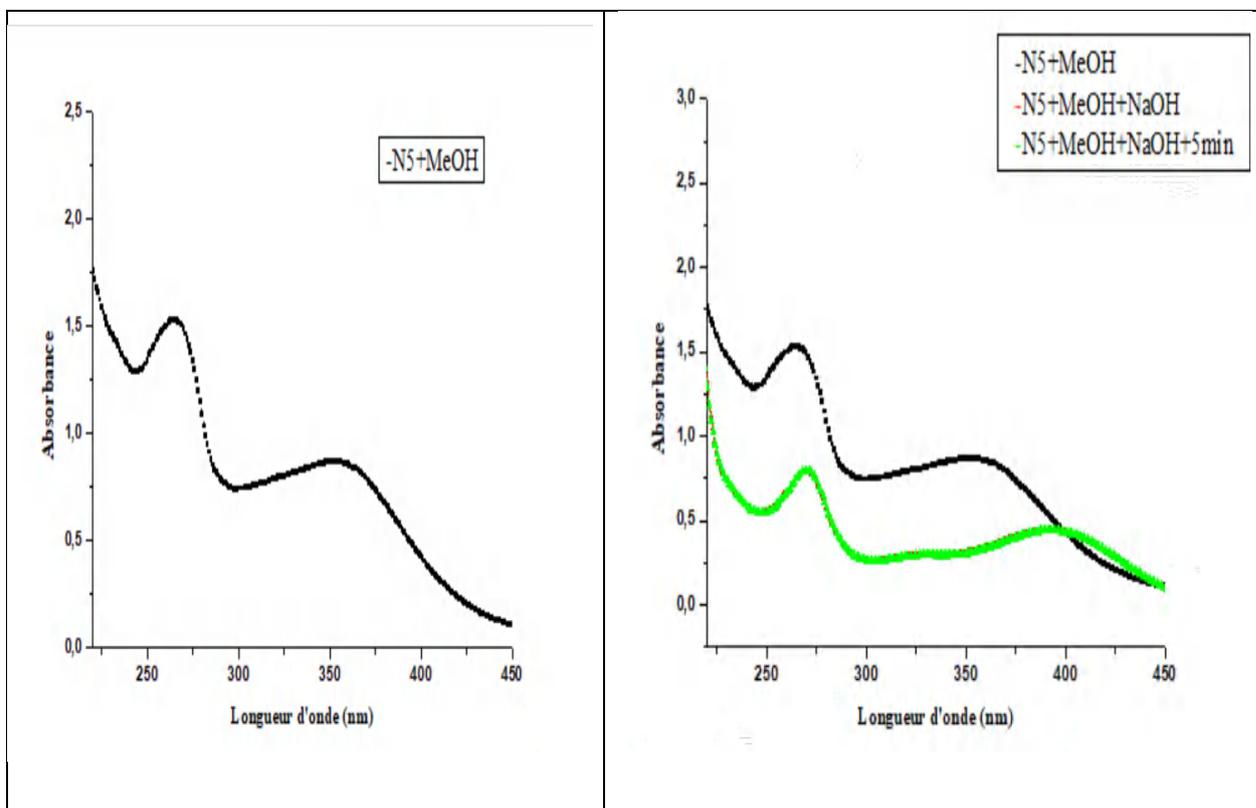
Le composé **N5** se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le MeOH. Ce composé émet une fluorescence noir-violet sous lampe UV à 365 nm laissant envisager une structure de type flavone ou flavonol substitué en 3 (3-OR).

L'analyse des données de la série spectrale UV (**Tableau III-10** et **Figure III-16**) permet de tirer les indications suivantes :

- Le spectre enregistré dans le méthanol présente deux bandes d'absorption, une à $\lambda_{\max} = 265$ nm (bande II) et l'autre à $\lambda_{\max} = 352$ nm (bande I) orientant vers une structure flavonique de type flavonol substitué en position C-3.
- Le déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +43$ nm) provoqué par l'addition de la base forte NaOH par rapport à celui enregistré dans le MeOH laisse supposer la présence d'un OH libre en position 4' (4'-OH). Ce même spectre montre l'apparition d'une nouvelle bande à $\lambda = 327$ nm, laissant supposer la présence d'un OH libre en position C-7.
- Cette hypothèse (7-OH) est confirmée par le déplacement bathochrome de la bande II ($\Delta\lambda = +5$ nm) observé sur le spectre enregistré en présence de la base faible NaOAc par rapport à celui enregistré dans le MeOH.
- L'addition de l'acide borique H_3BO_3 sur la solution précédente (produit **N5** dans le MeOH plus la base faible NaOAc) induit un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +15$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, indiquant ainsi la présence d'un système *ortho*-dihydroxylé sur le cycle B (3',4' di-OH), cette information est confirmée par l'apparition d'un effet hypsochrome enregistrée sur la bande I ($\Delta\lambda = -33$ nm) dans le spectre enregistré en présence de $AlCl_3 + HCl$ comparativement au spectre enregistré dans le $AlCl_3$ confirmant ainsi la présence du système *ortho*-di-OH sur le cycle B (3',4' di-OH).
- L'effet bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +39$ nm) observé dans le spectre UV enregistré dans la solution ($AlCl_3 + HCl$) comparativement à celui enregistré dans le MeOH, indique la présence d'un OH libre en position C-5 (5-OH).

Tableau III-10: Données spectrales des résultats de la série spectrale UV du composé N5

RÉACTIFS	BANDE I	AUTRES BANDES	BANDE II	COMMENTAIRES
MeOH	352	/	265	Flavonol 3-OR
+ NaOH	395	327	270	OH libre en 4' et 7
+AlCl ₃	424	/	270	OH libre en 5 <i>ortho</i> di-OH sur le cycle B
+AlCl ₃ +HCl	391	351	268	
+NaOAc	369	/	270	OR en 7
+NaOAc+H ₃ BO ₃	367	/	262	<i>ortho</i> di-OH sur le cycle B
Spectre stable avec NaOH après 5 mn				



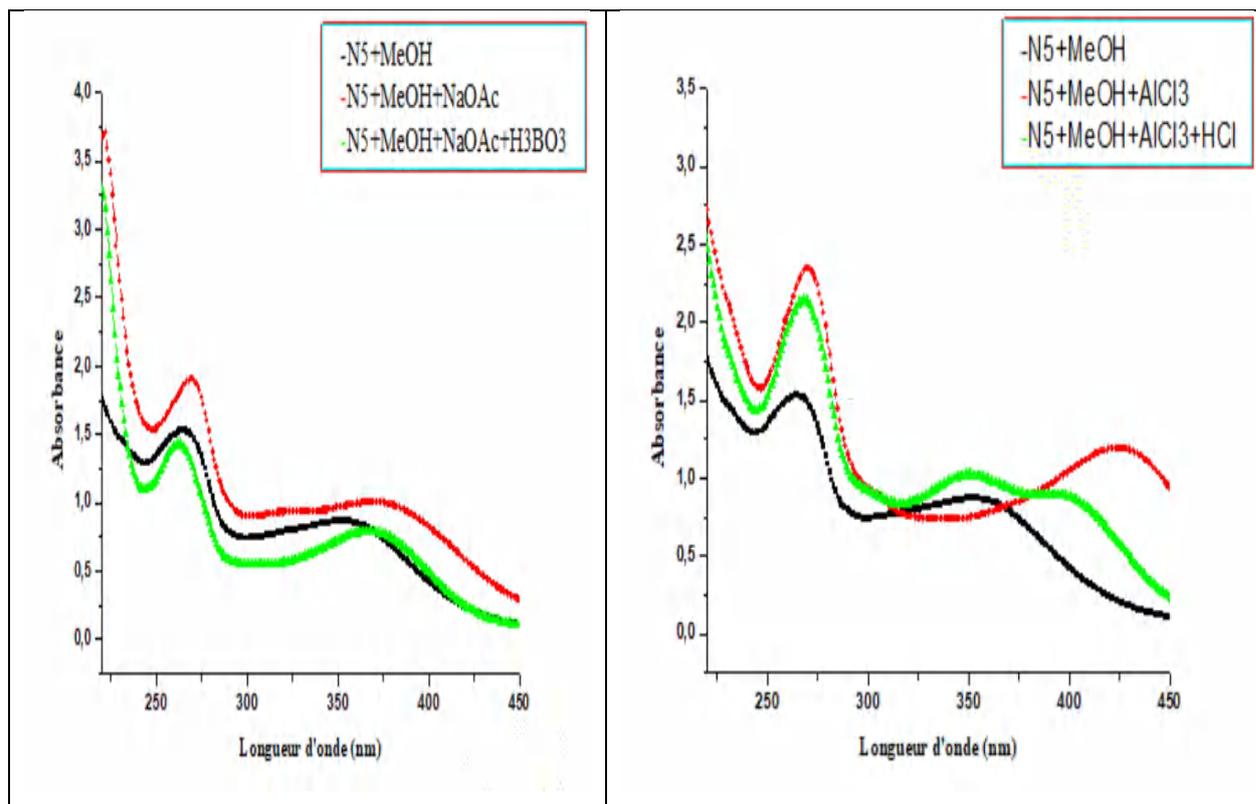


Figure III-16: Série spectrale UV avec différents réactifs du composé N5.

L'ensemble de ces données, rassemblées dans le **tableau III-11**, nous mène à proposer la structure partielle suivante pour le composé **N5** (**Figure III-17**).

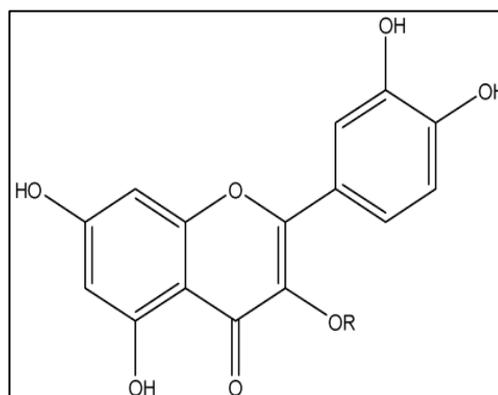


Figure III-17: Structure partielle du composé N5.

L'examen du spectre RMN-¹H (**Figure III-18**) et le spectre étalé (**Figure III-19**) montre que son allure confirme bien qu'il s'agit d'un squelette de type flavonol substitué en position 3. En effet, un examen attentif à ce spectre permet de tirer les informations suivantes :

- ❖ Un singlet large d'intégration 1H résonant à δ_H 7,28 ppm attribuable au proton H-2' du cycle B.

- ❖ Un doublet de doublet ($J=8,4 ; 2,0$ Hz) d'intégration 1H résonant à δ_H 7,23 ppm attribuable au proton H-6' du cycle B.
- ❖ Un doublet ($J=8,4$ Hz) d'intégration 1H résonant à δ_H 6,48 ppm attribuable au proton H-5' du cycle B.

Ces trois signaux confirment la di-substitution du cycle B dans les positions 3' et 4'.

- ❖ Un doublet ($J=1,84$ Hz) d'intégration 1H résonant à δ_H 6,36 ppm attribuable au proton H-8 du cycle A.
- ❖ Un doublet ($J=1,84$ Hz) d'intégration 1H résonant à δ_H 6,19 ppm attribuable au proton H-6 du cycle A.

Ces deux signaux confirment également la substitution du cycle A en positions 5 et 7.

- ❖ Un autre doublet ($J=1,22$ Hz) d'intégration 1H résonant à δ_H 5,36 ppm caractéristique d'un proton anomérique d'une entité sucre. La petite valeur de la constante de couplage ($J=1,22$ Hz) est en faveur d'un groupement glycosylé de type α -rhamnose. Cette supposition est appuyée par la présence d'un signal sous forme d'un doublet ($J=5,87$ Hz) d'intégration 3H résonant à δ_H 0,95 ppm.

Un ensemble de multiplets dans l'intervalle 3,2- 3,7 ppm attribuable par conséquent aux autres protons du sucre.

L'ensemble des données relatives à la RMN- 1H de ce composé est indiqué dans le **tableau III-11**.

Tableau III-11: Données de la spectrométrie RMN- 1H (250 MHz) du composé N5

Déplacement chimique (δ_{ppm})	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7,48	1H	<i>S</i> (large)	H-2'
7,44	1H	<i>dd</i> (8,3 - 2,1)	H-6'
6,91	1H	<i>d</i> (8,3)	H-5'
6,36	1H	<i>d</i> (1,84)	H-8
6,19	1H	<i>d</i> (1,84)	H-6
5,36	1H	<i>d</i> (1,22)	H-1''
0,95	3H	<i>d</i> (5,87)	CH ₃ du rhamnose
3,2-3,7	-	<i>m</i>	Protons du sucre

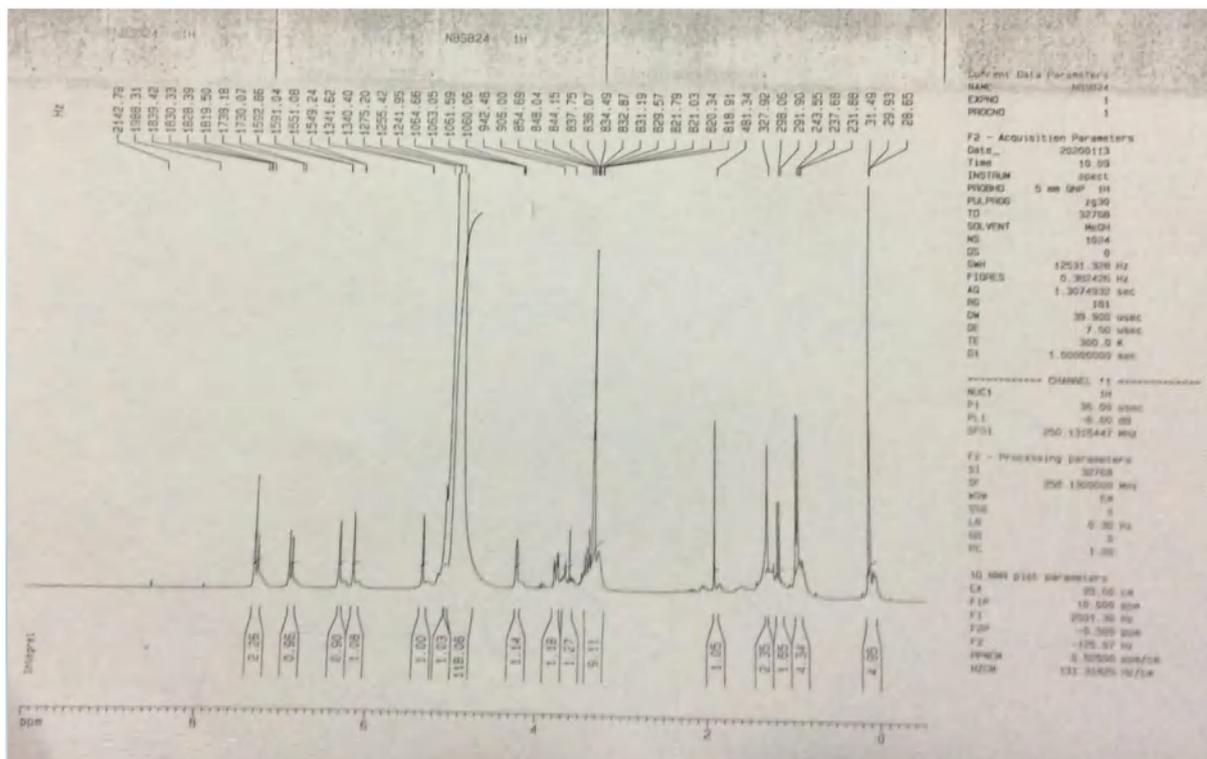


Figure III-18: Spectre de RMN-¹H (250 MHz, CD₃OD) du composé N5.

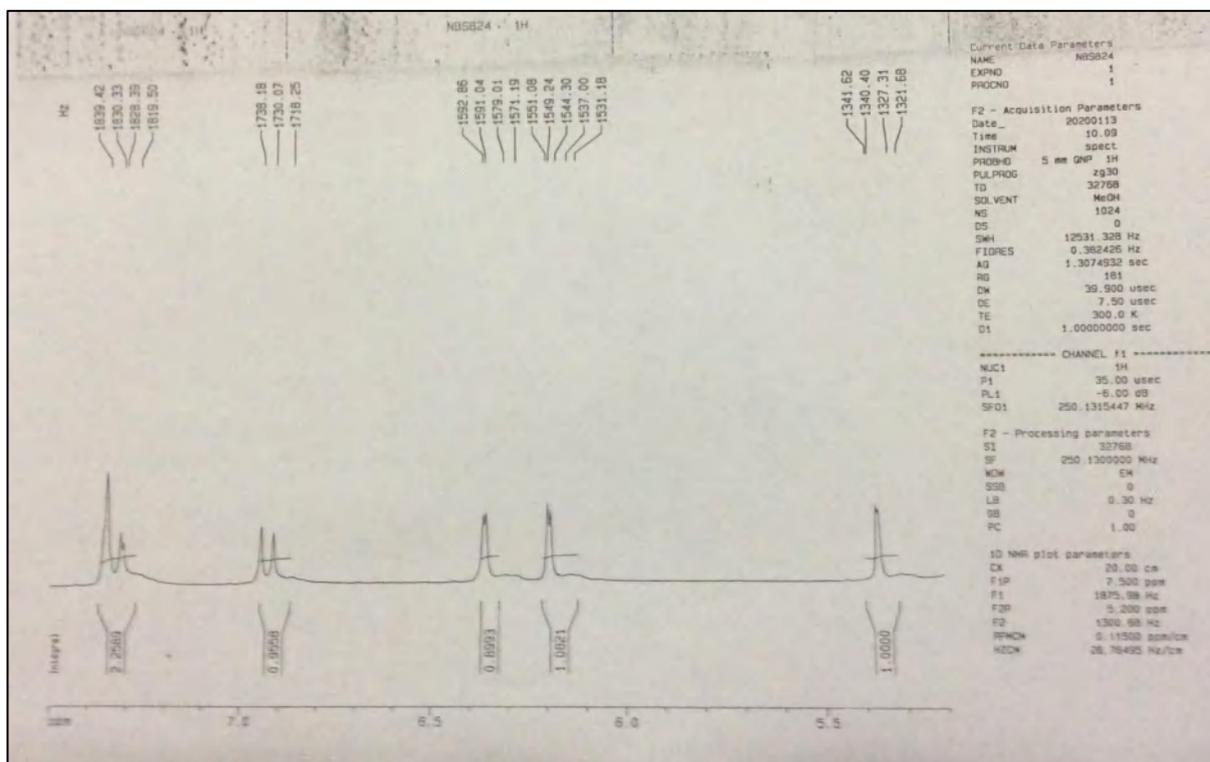


Figure III-19: Spectre de RMN-¹H (250 MHz, CD₃OD) étalé (4,25 à 8 ppm) du composé N5.

L'ensemble de ces données montre que la structure du composé **N5** est de type quercétine substitué en trois par le rhamnose (**Figure III-20**).

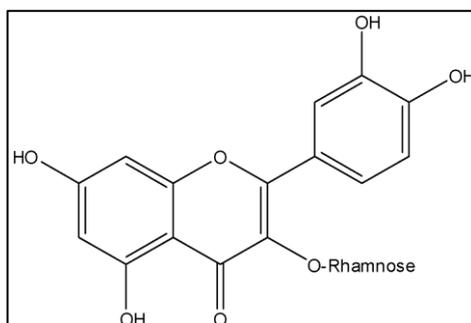


Figure III-20: Structure du composé N5

Pour confirmer la nature et la position du sucre de ce composé, on a eu recours à l'hydrolyse acide. Après concentration des phases organiques et aqueuses, nous avons procédé, d'une part, à une co-chromatographie sur plaque analytique recouverte de terre siliceuse F254 et éluée par le système (acétone-eau) (9:1) de la phase aqueuse en présence d'échantillons authentiques des sucres, il est apparu que le sucre en question est bien le rhamnose et d'autre part, nous avons visualisé la phase organique sous lumière de Wood qui a donné une fluorescence jaune confirmant ainsi la position du sucre sur le C-3.

Toutes ces données permettent de confirmer la structure du composé **N5** qui n'est autre que la quercétine-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside connue sous le nom de quercitrine. Cette molécule a été déjà isolée de l'espèce *A. unedo* [19].

- ✓ L'hydrolyse acide du composé **N5** et la co-chromatographie en présence de témoins ont confirmé la structure du sucre rhamnose, alors que la fluorescence jaune de la partie aglycone obtenue sous la lampe 365 nm (la lumière de Wood) indique que la position occupée par ce sucre est le C-3.

III.2 Résultats et discussion de la partie biologique

III.2.1 Activité antibactérienne de deux huiles de *P. graveolens* et *L. dentata*

Les extraits de plantes sont largement réputés pour leur activité antibactérienne à large spectre et sont considérés comme une source principale de composés actifs.

Cette étude a été réalisée pour évaluer l'effet des huiles essentielles extraites de *Pelargonium graveolens* et de *Lavandula dentata* vis-à-vis des bactéries de référence. Dans notre travail, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été évaluée par les méthodes de diffusion sur

gélose et de microdilution, et les résultats sont présentés dans le **tableau III-12**. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sont comprises entre 3,12 et 12,5 mg/mL.

Tableau III-12: L'activité antibactérienne *in vitro* des huiles essentielles des espèces *Pelargonium graveolens* et *Lavandula dentata*

Souches bactériennes références (ATCC)	Halo d'inhibition (mm)							Conc. minimales (mg/mL)			
	HE diluée (1 mg/mL)		HE brute		Contrôle négatif (DMSO)	Contrôle positif		CMI		CMB	
	<i>P.G</i>	<i>L.D</i>	<i>P.G</i>	<i>L.D</i>		GEN	AMP	<i>P.G</i>	<i>L.D</i>	<i>P.G</i>	<i>L.D</i>
<i>K. pneumoniae</i> 700603	-	-	10	-	-	11	-	3,12	-	6,25	-
<i>E. coli</i> 25922	-	-	10	11	-	20	-	3,12	3,12	3,12	3,12
<i>S. aureus</i> 25923	-	10	17	18	-	23	-	6,25	3,12	12,5	12,5
<i>P. aeruginosa</i> 25953	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> 29212	10	10	32	26	-	20	-	3,12	6,25	6,25	6,25

ATCC: American Type Culture collection, **HE:** Huile essentielle, **P.G :** *Pelargonium graveolens*, **L.D :** *Lavandula dentata*, **Contrôle positif** (Antibiotiques: Gentamicine et ampicilline), **Contrôle négatif** (DMSO: Dimethylsulfoxyde), (-): Pas d'effet. **CMI :** Concentration minimale inhibitrice, **CMB :** Concentration minimale bactéricide.

Généralement, si on compare l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles brutes à celles des huiles essentielles diluées, on constate que ces dernières sont inactives à la concentration utilisée (1 mg/mL) car elles n'ont présenté aucun effet inhibiteur contre les bactéries testées, à l'exception de la souche *E. faecalis* dans le cas de *P. graveolens* ; tandis que l'huile diluée de *L. dentata* a présenté une activité modérée contre *S. aureus* et *E. faecalis*.

Nos résultats indiquent que l'huile essentielle de *L. dentata* est dotée d'une activité antibactérienne avec l'ordre de résistance suivant : *E. coli* > *S. aureus* > *E. faecalis*.

L'huile essentielle de cette plante a montré une activité antibactérienne plus élevée contre *E. faecalis* (26 mm) en exécrant un effet plus performant que celui de l'antibiotique testé, la gentamicine (20 mm). De plus, l'huile essentielle de *L. dentata* a induit de bonnes zones

d'inhibition contre *S. aureus* et *E. coli* avec les valeurs 18 mm et 11 mm, respectivement. En revanche, les souches testées restantes : *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* se sont avérées résistantes à cette huile essentielle. Le **tableau III-13** récapitule les pouvoirs antibactériens de l'espèce *Lavandula dentata*, récoltée dans différentes régions :

Tableau III-13: Comparaison de l'activité antibactérienne de notre huile essentielle de *L.dentata* avec celles de diverses régions.

Souche	Référence (ATCC)	Halo d'inhibition (mm)	Région de récolte de <i>L. dentata</i>	Référence
<i>K. pneumoniae</i>	700603	-	Algérie (Mila)	Cette étude
<i>E.coli</i>	25922	11		
<i>S. aureus</i>	25923	18		
<i>P. aeruginosa</i>	25953	-		
<i>E. faecalis</i>	29212	26		
<i>K. pneumoniae</i>	ESBL	9,3	Algérie (Oran)	[22]
<i>S. aureus</i>	NCTC 6571	23,66	Tunisie	[23]
<i>E. faecalis</i>	29212	22,16		
<i>E.coli</i>	JW 1772	21,33		
<i>P. aeruginosa</i>	SH 38	20,83		
<i>S. aureus</i>	25923	25,25		
<i>P. aeruginosa</i>	27853	13,5	Maroc	[24]
<i>E. coli</i>	8739	8,8		
<i>S. aureus</i>	6538	11,2		
<i>S. aureus</i>	25923	14,4		
<i>S. aureus</i>	*	6,7		
<i>K. pneumoniae</i>	*	10	Arabie Saoudite	[26]
<i>P. aeruginosa</i>	*	21		
<i>E.coli</i>	*	-		
<i>K. pneumoniae</i>	*	8,3		
			Maroc	[27]

Souche	Référence (ATCC)	Halo d'inhibition (mm)	Région de récolte de <i>L. dentata</i>	Référence
<i>E.coli</i>	*	12		
<i>P. aeruginosa</i>	*	-		
<i>E. coli</i>	*	12	Maroc	[28]
<i>S. aureus</i>	*	30		
<i>K. pneumoniae</i>	*	12		

ESBL: Extended-spectrum beta-lactamase; NCTC: National Collection of Type Cultures; (*): Souche clinique; (-): Pas d'effet; les données sont exprimées en (mm).

Conformément à nos résultats, l'huile essentielle de *L. dentata* du Maroc a montré une activité antimicrobienne contre 22 souches bactériennes testées, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* [13]. De même, l'huile isolée d'une autre variété marocaine de *L. dentata* s'est avérée inactive contre *Pseudomonas aeruginosa* [27].

D'autre part, *E. coli* semble être résistante à l'HE provenant de *L. dentata* poussant en Arabie Saoudite, par rapport aux autres souches testées [26], tandis qu'une autre étude algérienne a rapporté que l'HE de *L. dentata* est active contre *K. pneumoniae* BLSE (bêta-lactamase à spectre étendu), une bactérie très résistante aux antibiotiques en raison de la présence de cette enzyme (BLSE) [29]. En outre, la meilleure activité de l'HE de la lavande tunisienne a été observée contre *S. aureus* et *E. faecalis* [23]. De nombreuses autres études ont montré également que la composition chimique des huiles essentielles affecte leur action antibactérienne, en particulier des principaux composés tels que le 1,8-cinéole peuvent être des agents inhibiteurs efficaces pour cette huile essentielle [30]. Selon des études antérieures, l'huile essentielle dans son ensemble a un impact antibactérien plus fort que lorsque ses principaux constituants individuels sont combinés [31]. Cependant, l'application de ce type de produits naturels est suggestive pour le développement de nouveaux antibiotiques.

III.2.1.1 Conclusion

Cette étude chimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles de deux espèces *Pelargonium graveolens* et *Lavandula dentata* suggèrent la possibilité de leur utilisation thérapeutique contre les troubles infectieux. En outre, d'autres recherches sont nécessaires pour identifier les composés actifs dans les autres extraits. Les résultats obtenus contribuent à améliorer la valorisation du *Pelargonium graveolens* et de *Lavandula dentata*. A la lumière de

cette étude, il est possible d'utiliser ces plantes comme agents antibactériens naturels pour traiter un certain nombre de maladies infectieuses. D'autres essais biologiques seront utiles pour explorer d'autres utilisations potentielles de ces plantes, cribler leurs principes actifs et déterminer leur toxicité.

III.2.2 Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de l'espèce *A. unedo*

Les phases *n*-BuOH, AcOEt et CHCl₃ obtenues de l'espèce *Arbutus unedo* ont été également testées pour leurs activités antibactériennes et sont considérées comme une source principale de composés actifs. Cette étude a été réalisée pour évaluer l'effet de chaque phase contre les bactéries de référence : *S. aureus* ATCC 29213 ; *E. coli* ATCC 25922; *P.aeruginosa* ATCC 27853, et les bactéries cliniquement isolées : *Salmonella typhimurium*, *Morganella morganii*, *Acinetobacter baumannii*. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'activité antibactérienne en déterminant les valeurs CMI correspondant à une réduction de la croissance de 80 % ou plus par rapport au contrôle. Cette valeur représente la plus faible concentration d'agent antimicrobien qui inhibe complètement la croissance microbienne.

Les résultats, rassemblés dans le **tableau III-14** ont été présentés sous forme des histogrammes (**Figure III-21** ; **Figure III-22** et **Figure III-23**) dont les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) sont comprises entre 500 et 900 µg/mL.

Tableau III-14: Les CMIs des trois phases vis-à-vis de différentes souches bactériennes

La souche bactérienne	Phase <i>n</i> -BuOH CMI (µg/mL)			Phase AcOEt CMI (µg/mL)			Phase CHCl ₃ CMI (µg/mL)		
	CMI ₁	CMI ₂	Moy	CMI ₁	CMI ₂	Moy	CMI ₁	CMI ₂	Moy
<i>S.aureus</i> ATCC 29213	540	630	585 ± 63,64	891	920	905,5 ± 20,51	864	900	882 ± 25,46
<i>E.coli</i> ATCC 25922	1000<	1000<	1000<	810	819	814,5 ± 6,36	900	930	915 ± 21,21

<i>P.aeruginosa</i> ATCC27853	693	738	715,5 ± 31,82	702	666	684 ± 25,46	720	855	787,5 ± 95,46
<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i>	630	639	634,5 ± 6,36	810	792	801 ± 12,73	855	900	877,5 ± 31,82
<i>Morganella</i> <i>morganii</i>	720	810	765 ± 63,64	837	891	864 ± 38,18	810	774	792 ± 25,46
<i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i>	630	657	643,5 ± 19,09	612	738	675 ± 89,10	576	603	589,5 ± 19,09

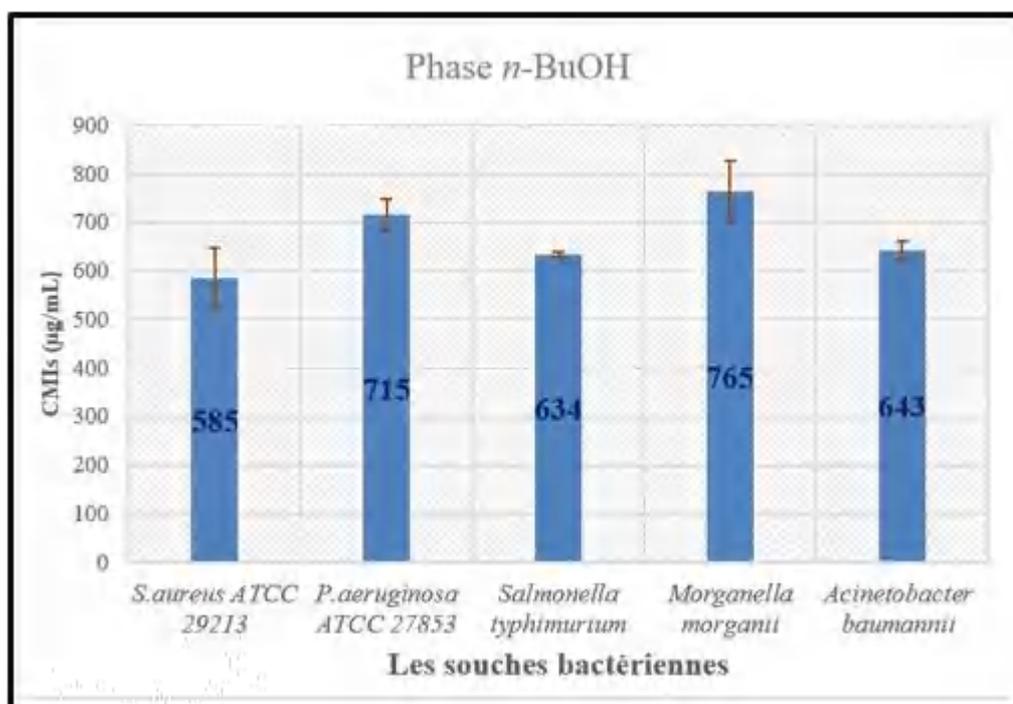


Figure III-21: Les histogrammes présentant les CMI_s de la phase *n*-BuOH contre différentes souches.

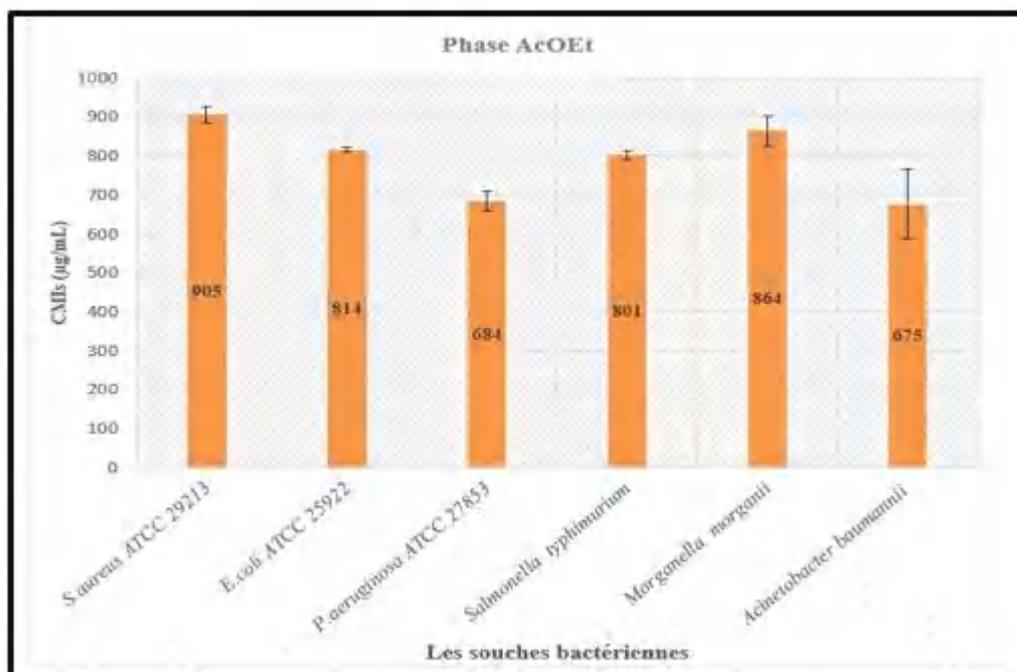


Figure III-22: Les histogrammes présentant les CMI de la phase AcOEt contre différentes souches.

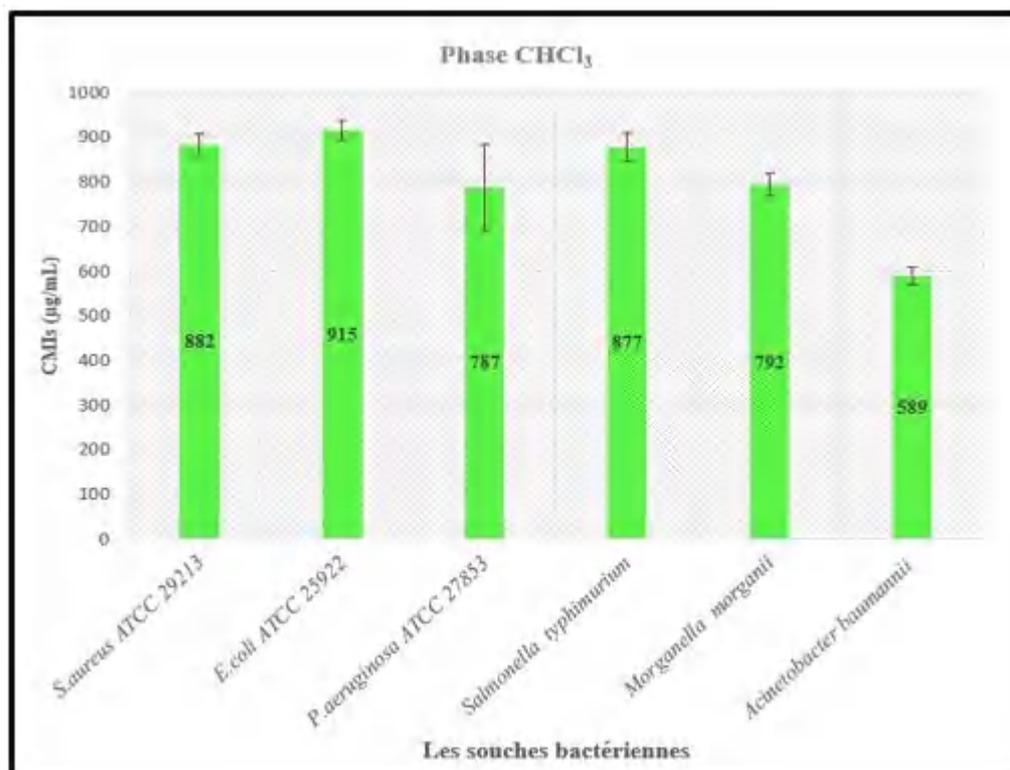


Figure III-23: Les histogrammes présentant les CMI de la phase CHCl_3 contre différentes souches.

Nos résultats ont révélé une activité antibactérienne de l'extrait *n*-BuOH avec l'ordre de résistance suivant : *E.coli* > *Morganella morganii* > *P.aeruginosa* > *Acinetobacter baumannii* > *Salmonella typhimurium* > *S. aureus*, et la capacité d'inhibition de cet extrait correspond aux concentrations d'inhibition des différentes souches bactériennes, de sorte que l'inhibition de cet extrait s'est avérée excellente contre la bactérie *S.aureus* ATCC 29213 avec une valeur de CMI= $585 \pm 63,64 \mu\text{g/mL}$. Ces données indiquent que l'extrait *n*-BuOH de l'espèce *A. unedo* a un effet inhibiteur sur la croissance des quatre autres souches bactériennes.

L'extrait AcOEt a montré une activité antibactérienne avec l'ordre de résistance suivant : *S. aureus* > *Morganella morganii* > *E.coli* > *Salmonella typhimurium* > *P.aeruginosa* > *Acinetobacter baumannii*, et le pouvoir inhibiteur de cet extrait correspond aux valeurs de CMI contre différentes souches bactériennes, de sorte que l'inhibition de cet extrait contre la bactérie *Acinetobacter baumannii* s'est avérée supérieure avec une valeur de CMI= $675 \pm 89,10 \mu\text{g/mL}$. Ces données indiquent que l'extrait AcOEt peut inhiber de manière significative la croissance des cinq autres bactéries.

L'extrait CHCl_3 s'est également avéré efficace contre toutes les bactéries testées dans l'ordre de résistance suivant : *E.coli* > *S.aureus* > *Salmonella typhimurium* > *Morganella morganii* > *P.aeruginosa* > *Acinetobacter baumannii*, si bien que l'inhibition de cet extrait a été trouvée meilleure contre la souche *Acinetobacter baumannii* avec une valeur de CMI = $589,5 \pm 19,09$ $\mu\text{g/mL}$. Ces données indiquent que l'extrait CHCl_3 peut inhiber la croissance des cinq autres bactéries testées (de la **figure III-24** à la **figure III-33**).

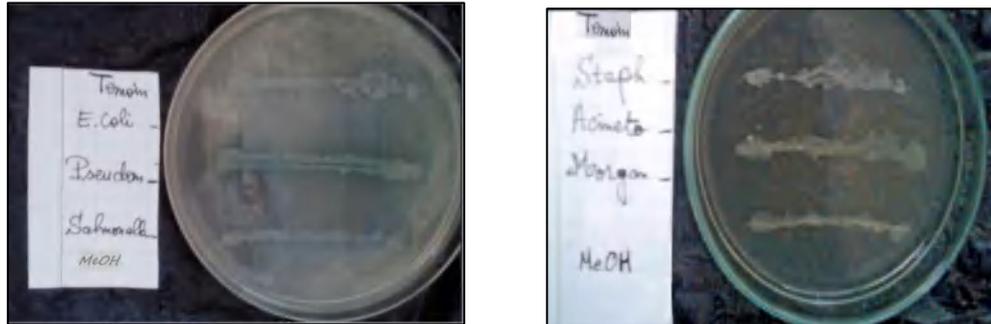


Figure III-24: Contrôle négatif (MeOH).



Figure III-25: Inhibition des bactéries : *S.aureus* ; *A.baumannii* ; *M.morganii* ; *P. aeruginosa* et *S.typhimurium* par la phase *n*-BuOH.



Figure III-26: Inhibition des bactéries : *S. aureus* ; *A.baumannii* ; *M.morganii* ; *E.coli* ; *P.aeruginosa* et *S.typhimurium* par la phase AcOEt.



Figure III-27: Inhibition des bactéries : *S.aureus*; *A.baumannii*; *M.morganii* ; *E.coli*; *P.aeruginosa* et *S.typhimurium* par la phase CHCl_3 .

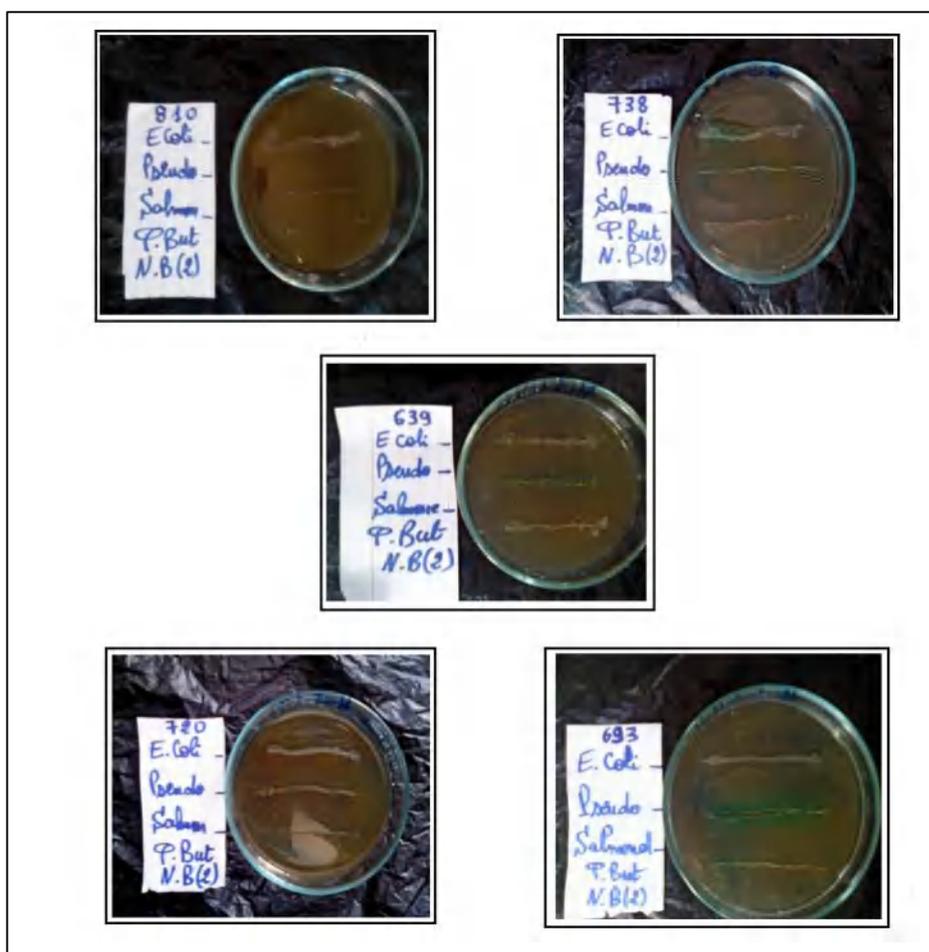


Figure III-28: Inhibition des bactéries : *E.coli*; *P.aeruginosa* et *S.typhimurium* par la phase *n*-BuOH.

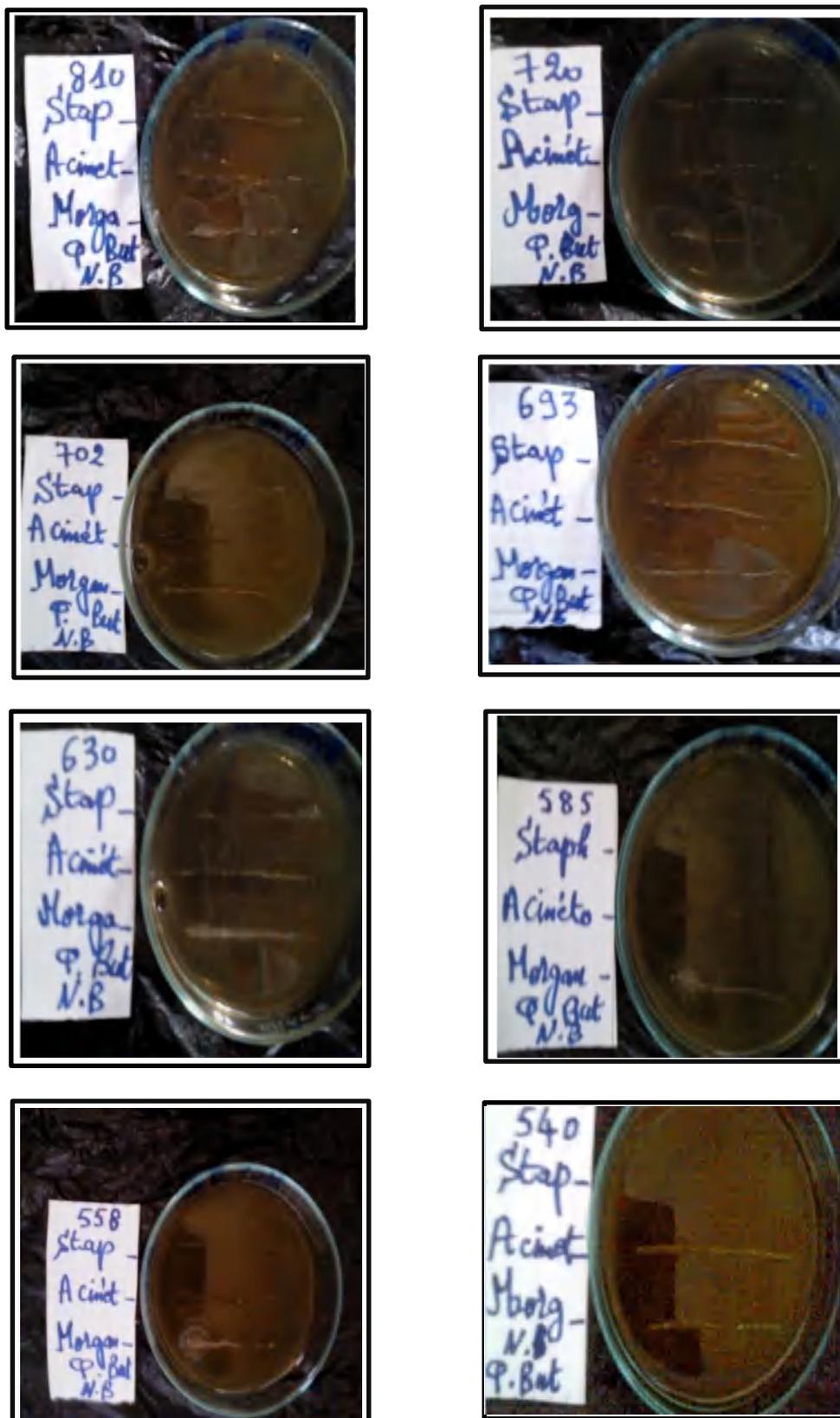


Figure III-29: Inhibition des bactéries : *S.aureus* ; *A.baumannii* et *M.morganii* par la phase *n*-BuOH.



Figure III-30: Inhibition des bactéries : *E. coli* ; *P.aeruginosa* et *S.typhimurium* par la phase AcOEt.



Figure III-31: Inhibition des bactéries : *S.aureus*; *A.baumannii* et *M.morganii* par la phase AcOEt.



Figure III-32: Inhibition des bactéries : *E.coli*; *P.aeruginosa* et *S.typhimurium* par la phase CHCl₃.

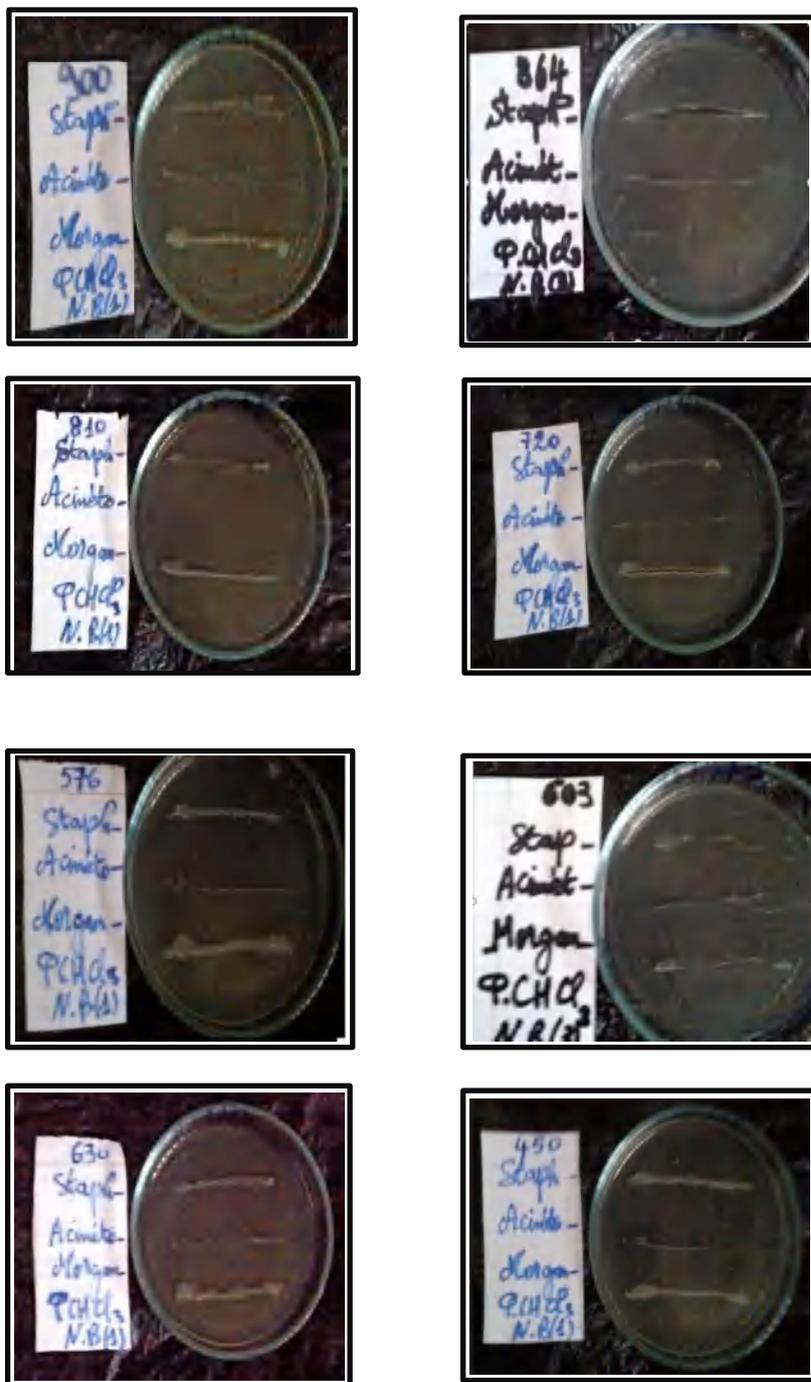


Figure III-33: Inhibition des bactéries : *S.aureus*; *A.baumannii* et *M.morganii* par la phase CHCl_3 .

La méthode de dilution en gélose décrite dans une étude collaborative internationale sur l'antibiogramme [32] a été soigneusement appliquée afin d'évaluer l'activité antibactérienne *in vitro* des extraits contre les espèces bactériennes suivantes : *Staphylococcus aureus* , *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, en déterminant les valeurs CMI de chaque extrait dans la mesure où leur capacité d'inhibition dépend notamment de leurs effets enzymatiques spécifiques. Il est important de noter que le pouvoir inhibiteur varie selon les espèces étudiées, et en fonction de la concentration.

En général, les valeurs de CMI ont été trouvées comprises entre 500 µg / mL et 1000 µg / mL dans les mêmes conditions, et la concentration la plus efficace étant CMI=585 ± 63,64 µg / mL correspondant à l'extrait *n*-BuOH vis-à-vis de l'espèce *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, tandis que cet extrait n'a montré aucune activité à des CMIs inférieures ou égales à 1000 µg / mL vis-à-vis de l'espèce *Escherichia coli*. Des CMIs assez actives des trois extraits (entre 500 et 600 µg / mL) ont été rapportées vis-à-vis de l'espèce *Acinetobacter baumannii*, une bactérie à Gram-négatif sensible à deux antibiotiques l'imipénème et la colistine.

La comparaison des CMIs et de la résistance des bactéries testées aux antibiotiques correspondants confirme l'influence de la variété des bactéries à Gram-positif et Gram-négatif sur l'activité inhibitrice. Cette stratégie nous permet de déduire une relation entre la sensibilité bactérienne aux différents extraits et la résistance aux antibiotiques.

On note que l'effet antibactérien des trois extraits est lié à leurs compositions chimiques, et plus particulièrement aux groupes fonctionnels inclus dans leurs molécules principales (tanins, flavonoïdes, terpènes et alcaloïdes), de sorte que les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes pour se protéger contre les infections microbiennes [33] car ils sont de puissants inhibiteurs de l'ADN gyrase. Une étude récente a montré l'effet bactéricide des flavanones sur *Staphylococcus aureus* [34]. Les tanins catéchiques et épicatechiques ont été rapportés comme des agents antimicrobiens efficaces [35].

Les trois phases : *n*-BuOH, AcOEt et CHCl₃ se sont révélées avoir une activité antimicrobienne efficace contre certaines bactéries testées à différentes valeurs de CMI.

Il convient de noter que les trois extraits ont montré des degrés d'activité antibactérienne différentes contre toutes les souches bactériennes testées, à l'exception de l'espèce à Gram négatif : *E. coli* ATCC 25922 qui a révélé une résistance significative à l'effet antiseptique de la phase BuOH à la concentration élevée (900 µg/mL), tandis que cette phase a montré une forte activité contre *S.aureus* ATCC 29213 à une concentration minimale inhibitrice de $585 \pm 63,64$ µg/mL, suivie de la phase CHCl₃ avec une CMI de $589,5 \pm 19,09$ µg/mL.

Il a été rapporté que les valeurs de CMI sont affectées par la composition des extraits bruts comprenant une combinaison de phytoconstituants. En effet, le pouvoir antibactérien est notamment lié à la nature de ces composants chimiques et à leurs proportions, plus précisément aux groupes fonctionnels des composés majeurs (phénol, alcool, aldéhyde et cétone, etc.) [36], qui peuvent influencer, d'une part, le mode de dispersion des principes actifs responsables de la lyse cellulaire en introduisant une brèche dans la membrane bactérienne, et d'autre part, le degré de tolérance intrinsèque des souches bactériennes aux agents antimicrobiens [37].

En outre, les différences structurelles entre les bactéries à Gram-positif et Gram-négatif, qui sont attribuées aux différentes variantes morphologiques de ces micro-organismes, entraînent une détérioration de la perméabilité de la paroi cellulaire, ce qui constitue un facteur majeur de la sensibilité bactérienne [38].

III.2.2.1 Conclusion

Les phases *n*-BuOH, AcOEt et CHCl₃, extraites de l'espèce *Arbutus unedo*, une plante algérienne destinée au traitement de certaines maladies, ont été étudiées pour leurs activités antibactériennes en déterminant leurs concentrations minimales inhibitrices.

Les résultats ont montré que ces phases ont un effet inhibiteur sur certaines souches bactériennes. En effet, cette étude a prouvé que cette plante possède des propriétés antibactériennes et pourrait être utilisée dans le développement de nouveaux agents antibactériens. L'étude de la capacité d'inhibition *in vitro* par la méthode de dilution sur gélose a montré que les trois extraits CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH possèdent un effet bactériostatique remarquable en déterminant leurs CMI pour chaque espèce bactérienne.

Une exploration plus approfondie devrait être consacrée à un large éventail de bactéries et de champignons pour évaluer l'activité des extraits étudiés.

D'autres études complémentaires visant à identifier les molécules actives responsables de ces effets sont nécessaires pour leur application dans le traitement de diverses infections causées par des bactéries pathogènes souvent multirésistantes.

L'effet inhibiteur de ces extraits est dû à la contribution d'un ensemble de molécules bioactives pouvant endommager l'enveloppe bactérienne, une composante essentielle de la vie bactérienne. Nous pensons que la composition qualitative et quantitative de ces extraits permettra une meilleure classification des produits naturels et donc la standardisation de ces molécules bioactives pour une éventuelle utilisation thérapeutique. Nous constatons que la composition qualitative et quantitative de ces extraits permettra une meilleure classification des produits naturels et donc la standardisation de ces molécules bioactives pour une éventuelle utilisation thérapeutique. De plus, nos résultats indiquent que les molécules actives incluses dans ces extraits pourraient avoir des applications thérapeutiques importantes. En effet, ces molécules sont synthétisées par les plantes dans des conditions spécifiques et des études complémentaires sont nécessaires pour mettre en évidence l'influence de la structure cellulaire et la perméabilité à ces molécules bioactives, voire les cibles spécifiques dans les systèmes enzymatiques cellulaires, sur la sensibilité microbienne. Sur le plan socio-économique, ces extraits et leurs composants peuvent être exploités dans la formulation de produits d'hygiène (shampooing, savon, dentifrice...etc.), de produits de soin (crèmes, baumes, lotions pour la peau) ou de préparations cosmétiques sous forme de pommades ou pour traiter les infections cutanées sous forme des lotions antiseptiques, mais ce procédé est lié à la combinaison de certains excipients (lanoline et vaseline) à des concentrations différentes.

III.2.3 Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'espèce *A. unedo*

III.2.3.1 Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits ont été déterminées à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu. La quantification des polyphénols totaux dans un extrait a été faite sur l'équation de régression de la gamme étalon établie avec l'acide gallique utilisé comme référence à différentes concentrations et dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les lectures ont été effectuées à l'aide du spectrophotomètre à 765 nm. Chaque valeur est la moyenne de trois lectures.

La **figure III-34** présente la courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations.

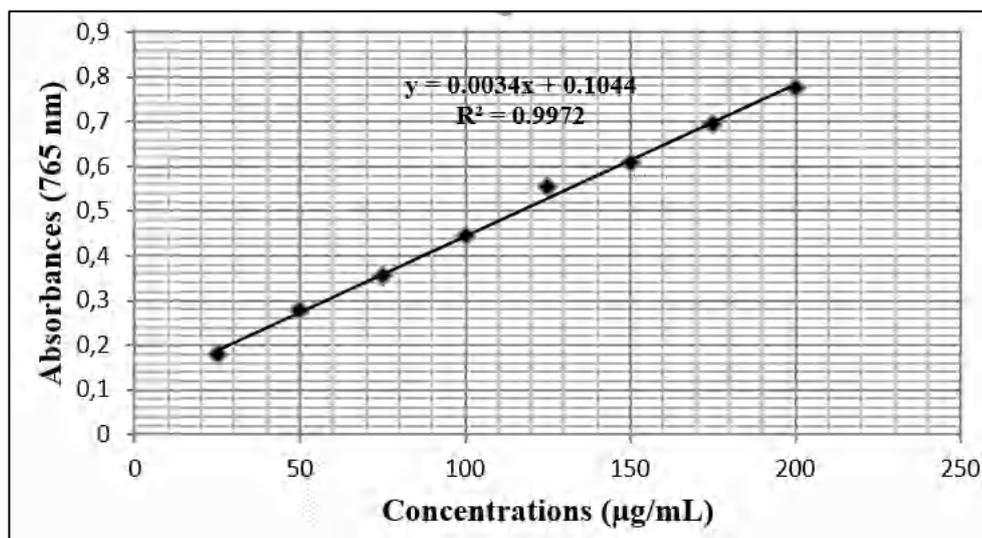


Figure III-34: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

III.2.3.2 Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits ont été déterminées au moyen du réactif trichlorure d'aluminium (AlCl_3). La quantification des flavonoïdes totaux dans un extrait a été faite à partir de l'équation de régression de la gamme étalon établie avec la quercétine utilisée comme référence à différentes concentrations et dans les mêmes conditions que l'échantillon. La lecture a été effectuée à l'aide du spectrophotomètre à 415 nm. Chaque valeur est la moyenne de trois lectures.

La **figure III-35** présente la courbe d'étalonnage de la quercétine à différentes concentrations.

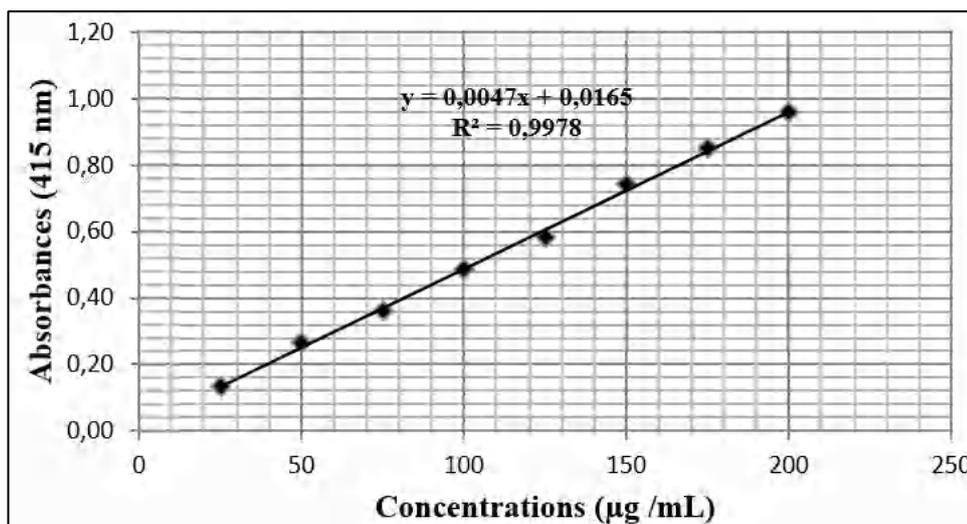


Figure III-35 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits *n*-BuOH, AcOEt et CHCl₃ sont rassemblées dans le **tableau III-15**. Les quantités les plus élevées des polyphénols et des flavonoïdes ont été observées dans la phase *n*-BuOH ($746,73 \pm 0,63 \mu\text{g EAG/mg}$; $87,04 \pm 0,29 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait) suivie de la phase AcOEt ($323,97 \pm 1,10 \mu\text{g EAG/mg}$; $73,12 \pm 0,19 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait), puis l'extrait MeOH ($253,41 \pm 0,83 \mu\text{g EAG/mg}$; $28,66 \pm 0,23 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait), alors que la phase CHCl₃ s'est avérée pauvre en polyphénols et en flavonoïdes ($149,85 \pm 1,29 \mu\text{g EAG/mg}$; $13,81 \pm 0,20 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

Tableau III-15: Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans différents extraits.

Extraits	Teneurs des polyphénols ($\mu\text{g EAG/mg}$)	Teneurs des flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mg}$)
MeOH	$253,41 \pm 0,83$	$28,66 \pm 0,23$
CHCl ₃	$149,85 \pm 1,29$	$13,81 \pm 0,20$
AcOEt	$323,97 \pm 1,10$	$73,12 \pm 0,19$
<i>n</i> -BuOH	$746,73 \pm 0,63$	$87,04 \pm 0,29$

Les polyphénols sont les métabolites secondaires les plus répandus dans le règne végétal et les plus identifiés chez l'homme. La quantité et les positions de substitution des groupements hydroxyles discernent les différences structurales entre les composés flavonoïdes.

III.2.3.2.1 Détermination de l'activité antioxydante

Quatre tests (DPPH, ABTS, CUPRAC et Phénanthroline) ont été adoptés afin de déterminer le pouvoir antioxydant des différents extraits de l'espèce *A. unedo*. Le **tableau III-16** résume les valeurs des CI_{50} (concentration correspondant à 50 % d'inhibition) et $A_{0,5}$ (concentration correspondant à l'absorbance 0,5) des tests *in vitro* liés au pouvoir antioxydant.

Toutes les méthodes utilisées dans cette étude ont révélé que le MeOH est le plus actif que les autres phases, de même que cet extrait est doté d'une efficacité antioxydante importante ou modérée, par rapport à celle du BHA utilisé comme standard.

Tableau III-16: Les CI_{50} et $A_{0,5}$ de différents extraits et de BHA dans les tests *in-vitro* de l'activité antioxydante

Agent antioxydant	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (Moy \pm SD)		$A_{0,5}$ ($\mu\text{g/mL}$) (Moy \pm SD)	
	DPPH	ABTS	CUPRAC	Phénanthroline
BHA	5,73 \pm 0,41	1,81 \pm 0,10	3,64 \pm 0,19	0,93 \pm 0,07
MeOH	4,74 \pm 0,07	5,30 \pm 0,18	4,02 \pm 0,10	0,92 \pm 0,06
AcOEt	8,87 \pm 0,33	10,02 \pm 0,26	4,74 \pm 0,43	1,02 \pm 0,03
<i>n</i> -BuOH	9,19 \pm 0,13	10,37 \pm 0,52	4,79 \pm 0,36	1,31 \pm 0,06
CHCl ₃	16,35 \pm 0,26	30,18 \pm 0,69	27,40 \pm 0,44	8,11 \pm 0,3

Les résultats du pouvoir piégeur des radicaux DPPH ont montré que l'activité de l'extrait MeOH ($CI_{50} = 4,74 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$) est plus élevée que celles des autres phases, suivie de l'activité de la phase AcOEt ($CI_{50} = 8,87 \pm 0,33 \mu\text{g/mL}$) dont la valeur est presque similaire à celle de la phase *n*-BuOH ($CI_{50} = 9,19 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$) alors que la phase CHCl₃ a montré une $CI_{50} = 16,35 \pm 0,26 \mu\text{g/mL}$. De plus, l'extrait MeOH est plus actif que le BHA utilisé comme antioxydant standard ($CI_{50} = 5,73 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$), alors que les phases AcOEt et *n*-BuOH sont moins actives que le standard (**Figure III-36**).

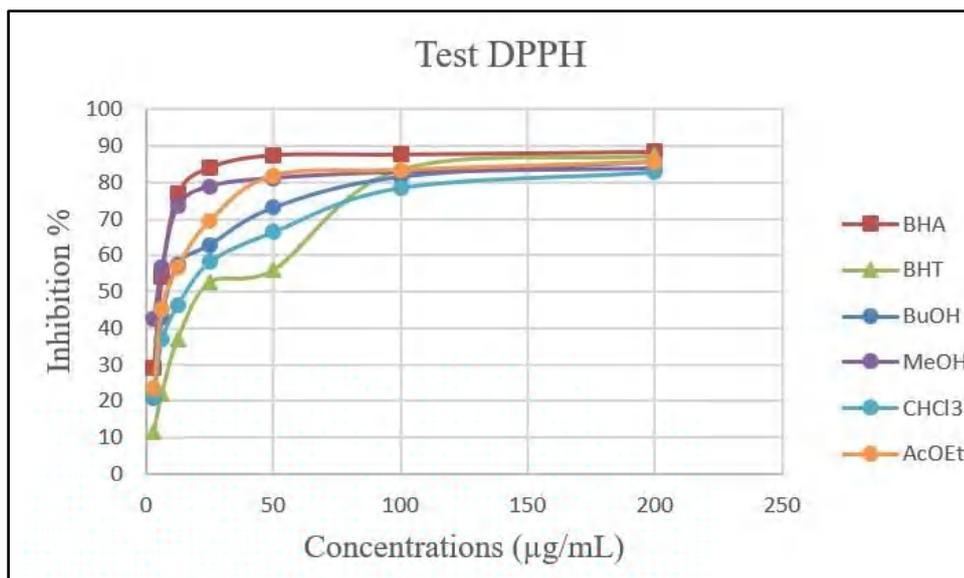


Figure III-36: Les courbes des pourcentages d'inhibition des extraits MeOH, CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH selon le test DPPH.

L'activité du piégeage des radicaux ABTS a également montré que l'extrait MeOH est plus actif ($CI_{50} = 5,30 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$) que les autres phases, suivi de la phase AcOEt ($CI_{50} = 10,02 \pm 0,26 \mu\text{g/mL}$) dont l'effet inhibiteur est presque similaire à celui de la phase *n*-BuOH ($CI_{50} = 10,37 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$) mais trois fois supérieur à celui de la phase CHCl₃ ($CI_{50} = 30,18 \pm 0,69 \mu\text{g/mL}$). Il est à noter que toutes ces phases et même l'extrait MeOH ont une activité relativement plus faible, comparée à celle du standard BHA ($CI_{50} = 1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$) (**Figure III-37**).

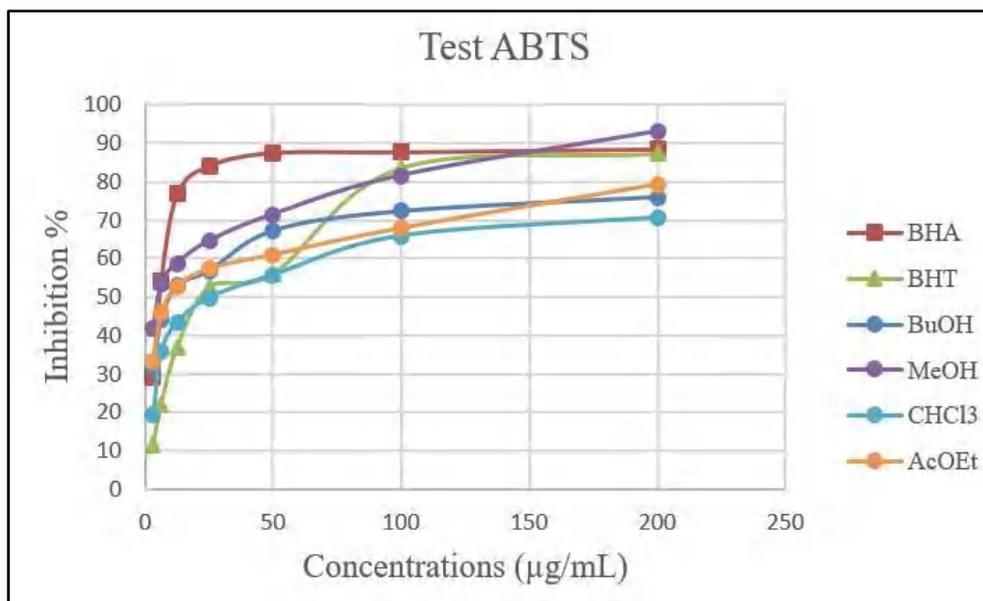


Figure III-37: Les courbes des pourcentages d'inhibition des extraits MeOH, CHCl₃, AcOEt, *n*-BuOH selon le test ABTS.

Les résultats de test du pouvoir réducteur CUPRAC ont également montré que l'extrait MeOH représente un agent antioxydant puissant ($A_{0,50} = 4,02 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$), suivi de la phase AcOEt ($A_{0,50} = 4,74 \pm 0,43 \mu\text{g/mL}$), et la phase *n*-BuOH ($A_{0,50} = 4,79 \pm 0,36 \mu\text{g/mL}$) puis la phase CHCl₃ ($A_{0,50} = 27,40 \pm 0,44 \mu\text{g/mL}$).

Ces résultats indiquent que l'extrait MeOH et ses phases AcOEt et *n*-BuOH sont plus actifs que le BHA ($A_{0,50} = 3,64 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$), tandis que la phase CHCl₃ est moins active que les autres phases testées et même que le standard (**Figure III-38**).

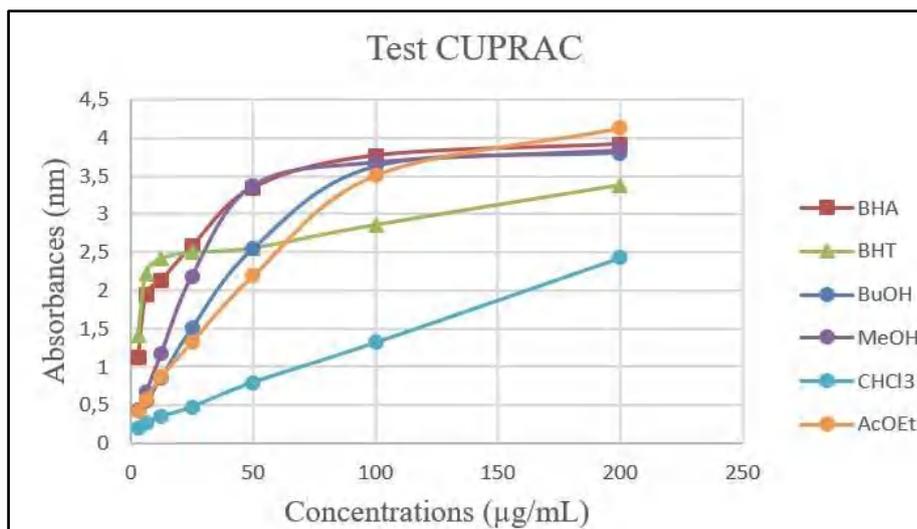


Figure III-38: Les courbes d'inhibition des extraits MeOH, CHCl₃, AcOEt, *n*-BuOH selon le test CUPRAC.

Les résultats du pouvoir réducteur de phénanthroline ont révélé que l'activité de l'extrait MeOH est supérieure ($A_{0,50} = 0,92 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$) à celles de la phase AcOEt ($A_{0,50} = 1,02 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$), et la phase *n*-BuOH ($A_{0,50} = 1,31 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$) puis la phase CHCl₃ ($A_{0,50} = 8,11 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$), ainsi l'activité du piégeage de l'extrait MeOH est meilleure que celle du standard BHA ($A_{0,50} = 0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$) et même les activités des phases AcOEt et *n*-BuOH sont proches de celle du standard BHA, tandis que la phase CHCl₃ est moins active (**Figure III-39**).

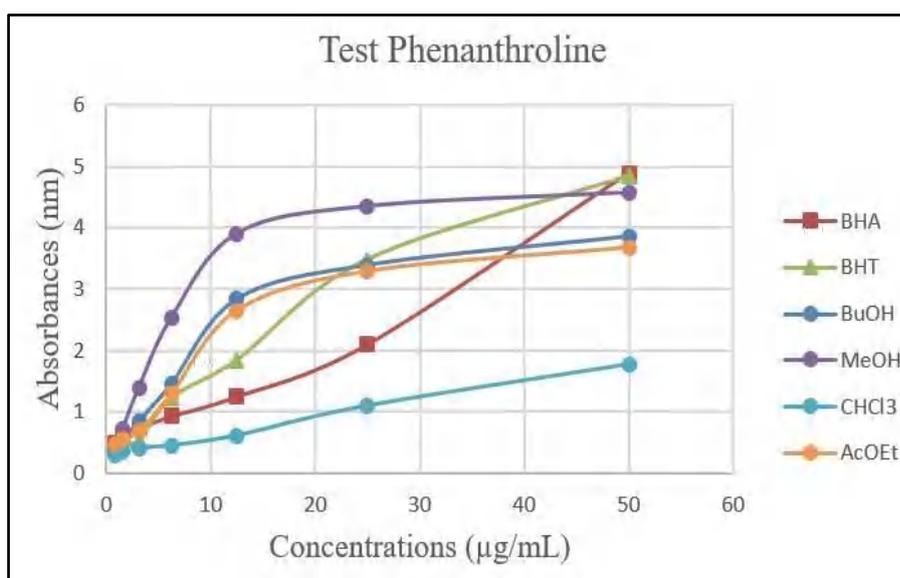


Figure III-39: Les courbes d'inhibition des extraits MeOH, CHCl₃, AcOEt, *n*-BuOH selon le test phénanthroline.

La détermination quantitative de nos extraits semble être en accord avec l'évaluation de leur activité antioxydante, de sorte que les teneurs de nos extraits en polyphénols et en flavonoïdes totaux affectent leur capacité à piéger les radicaux libres.

Le test de piégeage des radicaux (DPPH) des extraits de feuilles et de fruits, examiné par Asmaa et al. (2019) [101] en utilisant des méthodes d'extraction par macération et par ultrasons (sonication), a conduit à une $CI_{50} = 2,5 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ en macération et à une $CI_{50} = 52,4 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ en sonication pour les feuilles, alors que l'extrait de fruit s'est révélé moins actif, mais le test ABTS a montré que l'extrait de fruit est doté d'une activité antioxydante plus élevée ($CI_{50} = 0,10 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ en macération et $CI_{50} = 0,03 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ en sonication) que l'extrait de feuille ($CI_{50} = 0,90 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ en macération et $CI_{50} = 0,03 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ en sonication).

III.2.3.2 Conclusion

Les extraits obtenus à partir de cette espèce peuvent être utiles dans la production de nouveaux agents antioxydants en raison de leur teneur élevée en polyphénols et de leur activité antioxydante importante. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre l'intérêt de cet effet antioxydant chez les animaux et les humains, et c'est pourquoi des études *in vivo* et cliniques sont nécessaires pour examiner les propriétés anti-Alzheimer et antidiabétiques de différents extraits de cette plante.

III.2.3.3 Évaluation de l'activité anticholinestérase des extraits

Les résultats du test *in vitro* de l'inhibition de l'acétylcholinestérase sont présentés dans la **figure III-41** et résumés dans le tableau ci-dessous (**Tableau III-17**).

Tableau III-17: Mesure de la capacité inhibitrice de l'acétylcholinestérase par les extraits



Extrait	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
MeOH	$8,40 \pm 0,18$
CHCl ₃	$13,51 \pm 0,85$
AcOEt	$11,53 \pm 0,10$
n-BuOH	$11,23 \pm 0,22$
Galantamine	$6,27 \pm 1,15$

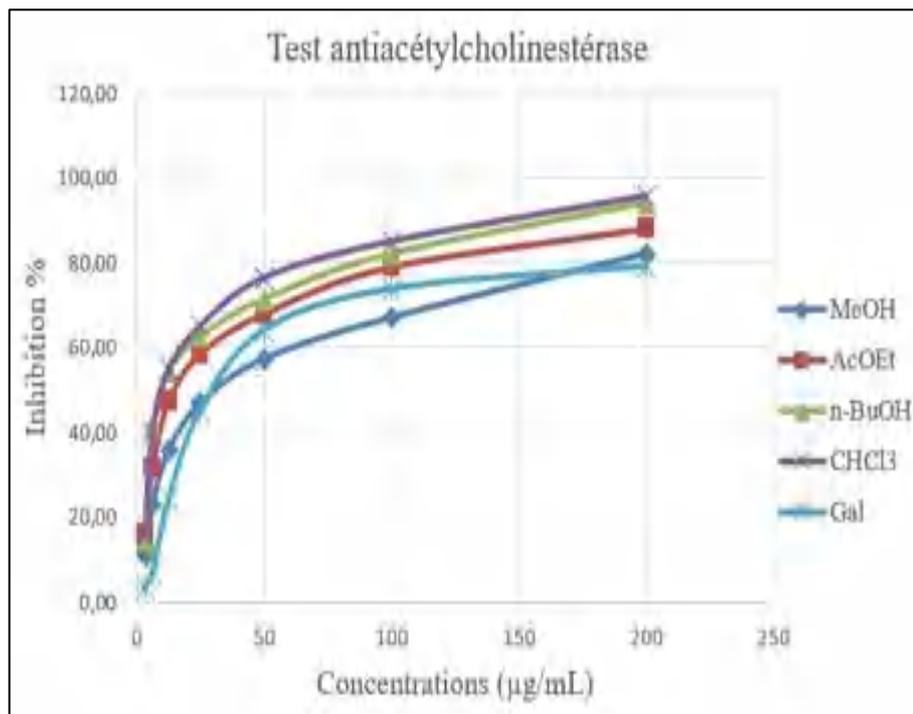


Figure III-40: Les courbes d'inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits MeOH, CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH.

D'après les résultats de la **figure III-40**, on constate que :

- Le test anticholinestérase a montré que tous les extraits ont un effet inhibiteur contre l'enzyme acétylcholinestérase à différents degrés, mais cet effet est trouvé inférieur à celui de la galantamine utilisé comme médicament de référence dont la valeur de sa concentration inhibitrice $CI_{50} = 6,27 \pm 1,15 \mu\text{g/mL}$, à l'exception de l'extrait MeOH qui montre une activité proche de celle de la galantamine avec une $CI_{50} = 8,40 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$.
- Le pouvoir inhibiteur des deux phases AcOEt et *n*-BuOH ($CI_{50} = 11,53 \pm 0,10$; $11,23 \pm 0,22 \mu\text{g/mL}$) contre l'enzyme acétylcholinestérase s'est avéré meilleur que celui de la phase CHCl₃.

III.2.3.4 Évaluation de l'activité antidiabétique des extraits de l'espèce *A. unedo*

Les résultats du pouvoir inhibiteur, obtenus du test α -amylase *in vitro* sont présentés dans la **figure III-41** et résumés dans le **tableau III-18** ci-dessous :

Tableau III-18: Mesure de la capacité inhibitrice de α -amylase par les extraits

	Extrait	CI₅₀ (µg /mL)
	MeOH	10,57 ± 0,59
	CHCl₃	36,78 ± 1,92
	AcOEt	23,18 ± 1,20
	<i>n</i>-BuOH	16,59 ± 1,38
	Acarbose	3650,93 ± 10,70

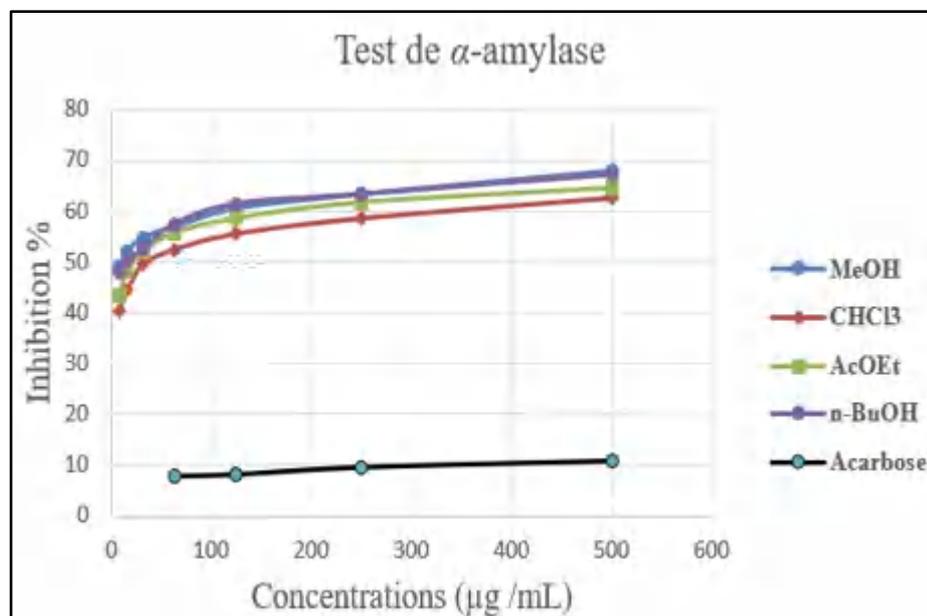


Figure III-41: Les courbes d'inhibition de α -amylase par les extraits MeOH, CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH.

D'après les résultats de la figure III-41, on constate que :

- Tous les extraits testés ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis de l'enzyme α -amylase qui se trouve supérieure à celle de l'acarbose (CI₅₀ = 3650,93 ± 10,70 µg/mL) qui est un médicament utilisé pour traiter le diabète de type 2.
- Le pouvoir inhibiteur de l'extrait MeOH (CI₅₀ = 10,57 ± 0,59 µg/mL) contre α -amylase s'est avéré meilleur que ceux des autres extraits étudiés, tandis que la phase *n*-BuOH a montré une bonne activité par rapport à celles des phases AcOEt et CHCl₃.

- Ces résultats nous ont encouragés à tester également *in vitro*, l'activité inhibitrice de α -amylase et de α -glucosidase par deux molécules connues de la plante.
- ❖ Le résultat du dosage de polyphénols et de flavonoïdes de l'extrait MeOH utilisé pour l'évaluation de l'activité antidiabétique a montré que les polyphénols de ce dernier sont riches en flavonoïdes (**11,31%**).
- ❖ Les résultats du test d'inhibition de α -glucosidase ont indiqué que l'extrait MeOH (**CI₅₀ = 49,05 ± 0,23 µg/mL**) est un inhibiteur puissant de cette enzyme en vertu du fait que son pouvoir inhibiteur est supérieur à celui des molécules testées : la catéchine (**CI₅₀ = 70,42 ± 0,14 µg/mL**) et l'arbutine (4-hydroxyphényl- β -D-glucopyranoside) (**CI₅₀ = 241,6 ± 0,56 µg/mL**) et même les activités inhibitrices de cet extrait et ses composants sont meilleures que celle de l'acarbose (**CI₅₀ = 275,43 ± 1,59 µg/mL**).
- ❖ Le test d'inhibition de α -amylase ont montré également que l'extrait MeOH (**CI₅₀ = 10,57 ± 0,59 µg/mL**) est doté d'une activité plus forte que toutes les autres molécules testées : la catéchine (**CI₅₀ = 56,17 ± 0,82 µg/mL**) et l'arbutine (4-hydroxyphényl- β -D-glucopyranoside) (**CI₅₀ = 743,44 ± 0,51 µg/mL**) et même les activités de cet extrait et ses composants sont meilleures que celle de l'acarbose (**CI₅₀ = 3650,93 ± 10,70 µg/mL**).
- ❖ Des études antérieures ont rapporté que la catéchine [39] et l'arbutine [40] isolées de l'extrait d'*A. unedo* ont une forte capacité à inhiber l'activité de α -amylase mieux que celle de l'acarbose.
- ❖ Merabti et al. (2018)[39] ont trouvé que l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux des racines d'*A. unedo* vis-à-vis de α -glucosidase (**CI₅₀ = 94,81 ± 5,99 µg/mL**) est plus important que celui de α -amylase (**CI₅₀ = 730,15 ± 0,25 µg/mL**) et significativement plus puissant que celui de l'acarbose vis-à-vis des deux enzymes (**CI₅₀ = 199,53 ± 1,12 µg / mL**) ; (**CI₅₀ = 396,42 ± 5,16 µg / mL**) respectivement. Par ailleurs, la catéchine s'est avérée avoir une activité inhibitrice de α -glucosidase (**CI₅₀ = 87,55 ± 2,23 µg/mL**) supérieure à celle de l'acarbose (**CI₅₀ = 199,53 ± 1,12 µg/mL**).
- ❖ Il est à noter que l'effet inhibiteur de la catéchine vis-à-vis de l'enzyme α -glucosidase a été évalué dans des études précédentes indiquant que la catéchine inhibe sélectivement la maltase plutôt que la sucrase dans un système d'inhibition de α -glucosidase immobilisée [41][42].

- ❖ Ceci indique que l'inhibition de α -glucosidase par la catéchine soit étroitement liée à la présence d'un groupe hydroxyle libre en position-3 [43] .
- ❖ La catéchine est un métabolite très abondant dans le règne végétal, donc son utilisation, en tant qu'agent antidiabétique, peut être associée à d'autres phytoconstituants.
- ❖ Yousefi *et al.* (2013)[40] ont étudié l'effet inhibiteur de l'arbutine et ont constaté que cette molécule n'a inhibé que 75 % de l'enzyme α -glucosidase et 81 % de l'enzyme α -amylase à la concentration la plus élevée (100 mg/mL). Les résultats de cette expérience *in vitro* ont révélé que l'arbutine entraîne une forte inhibition de α -amylase et de α -glucosidase, mais moins puissante que celle de l'extrait MeOH, de sorte que cet effet peut être attribué à la contribution d'autres molécules présentes dans l'extrait tels que les flavonoïdes, les terpènes et les tanins [44]. La **figure III-42** résume les résultats obtenus pour les tests d'inhibition des deux enzymes α -glucosidase et α -amylase.

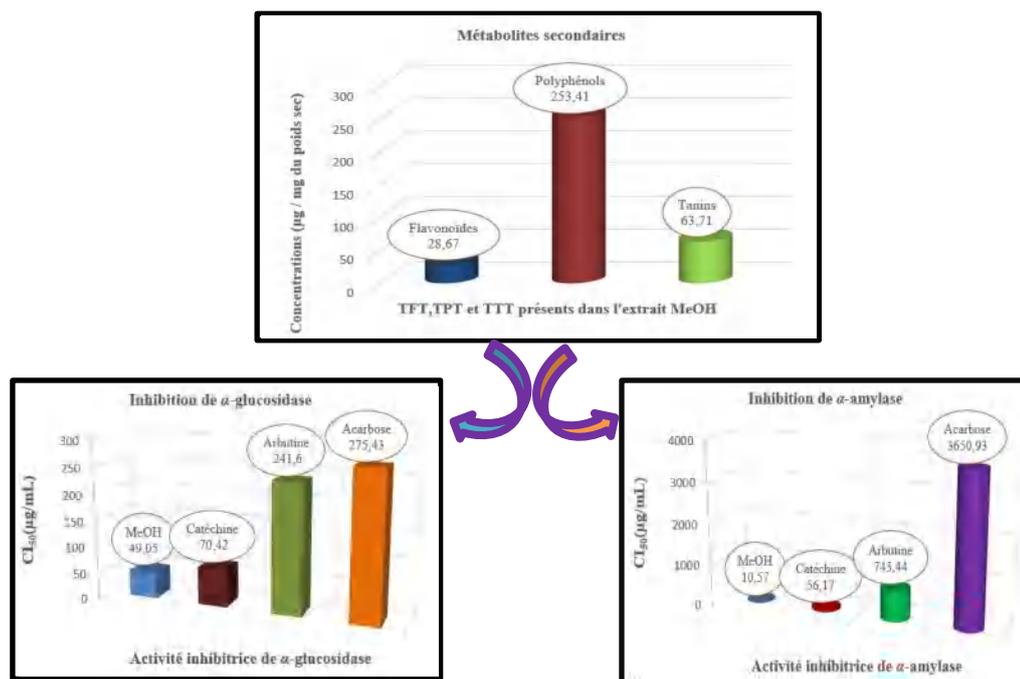


Figure III-42: Histogrammes présentant l'activité antidiabétique de l'extrait MeOH, la catéchine, l'arbutine et l'acarbose (standard).

III.2.3.4.1 Investigation *in silico* de l'activité antidiabétique

Notre étude *in silico* a révélé que les enzymes hydrolysant les glucides, telles que α -amylase et α -glucosidase, renferment des cibles principalement liées au diabète sucré.

L'étude cinétique et l'application des simulations computationnelles des enzymes dans le but de tester le potentiel inhibiteur des produits naturels contre les enzymes α -glucosidase et α -amylase pourrait être d'un grand avantage dans le domaine thérapeutique.

En raison de la carence d'expériences *in silico* visant à établir les changements significatifs de conformation des protéines provoqués par ces inhibiteurs, nous avons utilisé une combinaison de docking moléculaire et de simulation de dynamique moléculaire pour élargir le champ des options thérapeutiques, réduire les effets secondaires indésirables et faciliter la conception computationnelle des médicaments.

L'exploitation des simulations de dynamique moléculaire peut améliorer le choix des outils thérapeutiques, éradiquer les effets secondaires indésirables et aider à la conception computationnelle des médicaments. L'objectif de notre étude est de déterminer l'effet des produits naturels sur les enzymes α -glucosidase et α -amylase en utilisant la méthode *in silico*.

Les cibles **2ZE0** et **1HNY** jouent un rôle critique lors des activités enzymatiques et sont importantes dans l'inhibition des enzymes hydrolysant les glucides : **α -glucosidase** (enzyme présente sur la bordure en brosse de l'intestin grêle, responsable de la décomposition des polysaccharides, des oligosaccharides et des disaccharides en monosaccharides pour faciliter leur absorption) et **α -amylase** (enzyme digestive constitue le suc pancréatique et la salive, requise pour le catabolisme des glucides à longue chaîne comme l'amidon en unités plus petites), respectivement.

Les scores énergétiques de différentes interactions introduites par la catéchine et l'arbutine et ainsi les types d'interaction molécule/complexe α -glucosidase ou α -amylase, enregistrés à l'aide du logiciel AutoDock Vina, sont présentés dans le **tableau III-19**, le docking de ces molécules et l'acarbose, utilisé comme référence, est appliqué dans les sites actifs de α -glucosidase (**PDB ID : 2ZE0**) [45] et de α -amylase (**PDB ID: 1HNY**) [46].

Tableau III-19: Les résultats du docking moléculaire, issus du logiciel AutoDock Vina dans les sites actifs de α -glucosidase (2ZE0) et α -amylase (1HNY).

Molécule	α -Glucosidase (2ZE0)		α -Amylase (1HNY)	
	Score d'énergie (kcal/mol)	Type de liaisons et acides aminés impliqués dans le site d'interaction	Score d'énergie (kcal/mol)	Type de liaisons et acides aminés impliqués dans le site d'interaction
Acarbose	-9,1	<p><u>Liaisons H:</u> VAL(383) ;ARG(411/381) ;ASP(382/199) ;GLU(256) ;GLN(167).</p> <p><u>Liaisons Van Der Waals:</u> ASP(60/98); PHE (144/163/282);TYR(63); TRP (49/430); HIS(103);ASN(58).</p>	-7,8	<p><u>Liaisons H:</u> HIS(305); ASP(300/197) ;GLN(63).</p> <p><u>Liaisons Van Der Waals :</u> HIS(299/101);ASP(356); TRP(357/58/59);THR(163); LEU(165/162);TYR(62); ALA(198/307);GLU(233);I LE(235);GLY(306);ARG (195).</p>
Catéchine	-9	<p><u>Liaisons H:</u> TYR(63). <u>Liaisons π-π :</u> ARG (197); HIS(325);ASP(326); GLU(256) ;PHE(163);TYR(63). <u>Liaisons Van Der Waals :</u> ASN (61) ; ASP(60) ; PHE(144);GLN(167);HIS (103);ALA(200);ASP(199);ASP(98);TRP(49) ;ASN(324);PHE(282).</p>	-8,6	<p><u>Liaisons H:</u> ASP(197/300); ARG(195);HIS(299);GLU (233). <u>Liaisons π-π :</u> TYR (62); TRP(59). <u>Liaisons Van Der Waals:</u> ALA(198); LEU(162);GLN (63); THR(163); LEU(165);HIS(101);TRP (58).</p>
Arbutine	-6,9	<p><u>Liaisons H :</u> GLU(256);ARG(197),ASP (199);TYR(63);ALA(200). <u>Liaisons Van Der Waals:</u> ASN(258);PHE(282);ASP (326);ASN(324);HIS(325);TRP(49);ASP(98),PHE(144);GLN(167);PHE(163);HIS (103); ASP(60).</p>	-6,6	<p><u>Liaisons H:</u> GLU(233);ASP(300). <u>Liaisons π-π :</u> TRP(59). <u>Liaisons Van Der Waals :</u> LEU(162);ILE(235);ALA(198);HIS(201);ASP(197);ARG(195);HIS(299);TRP(58); TYR(62);THR(163);LEU(165);GLN(63).</p>

- ❖ Le docking moléculaire de la catéchine et l'arbutine avec le site actif (**2ZE0**) de la cible α -glucosidase a montré que les interactions moléculaires sont introduites par différentes liaisons importantes: les liaisons hydrogènes, les liaisons hydrophobes et les liaisons électrostatiques, ainsi que l'affinité d'interaction de la catéchine (**-9kcal/mol**) s'est avérée meilleure par rapport à celle de l'arbutine (**-6,9 kcal/mol**), mais similaire à celle de l'acarbose (**-9,1 kcal/mol**) utilisée comme référence. De plus, cette molécule induit des interactions via des liaisons hydrogène avec l'acide aminé : TYR(63); des liaisons de Van Der Waals (électrostatiques) avec les acides aminés : ASN (61) ; ASP(60) ; PHE(144); GLN(167); HIS(103); ALA(200); ASP(199); ASP (98); TRP(49); ASN(324); PHE(282); et les liaisons hydrophobes de type empilement (π - π): ARG(197); HIS(325); ASP(326); GLU(256); PHE(163); TYR(63) (**Figure III-43**), tandis que l'arbutine entraîne des interactions via des liaisons hydrogène avec les acides aminés : GLU(256); ARG(197), ASP (199); TYR(63); ALA(200), des liaisons Van Der Waals avec les acides aminés : ASN(258); PHE(282); ASP(326); ASN(324); HIS(325); TRP(49); ASP(98), PHE(144); GLN(167); PHE(163); HIS (103); ASP(60) (**Figure III-45**).

- ❖ Le docking moléculaire de la catéchine et l'arbutine avec le site actif (**1HNY**) de la cible α -amylase a montré que les interactions moléculaires sont également effectuées par différentes liaisons importantes: les liaisons hydrogènes, les liaisons hydrophobes et les liaisons électrostatiques, ainsi que l'affinité d'interaction de la catéchine (**-8,6 kcal/mol**) s'est retrouvée meilleure par rapport à celle de l'arbutine (**-6,6 kcal/mol**), et même supérieure à celle de l'acarbose (**-7,8 kcal/mol**) utilisée comme référence. De plus, cette molécule induit des interactions via des liaisons hydrogène avec les acides aminés : ASP(197); ASP(300); ARG(195); HIS(299); GLU(233); des liaisons de Van Der Waals (électrostatiques) avec les acides aminés : ALA(198); LEU(162); GLN(63); THR(163); LEU(165); HIS(101); TRP(58); et des liaisons hydrophobes de type empilement (π - π) avec les acides aminés : ALA(198); LEU(162); GLN(63); THR(163); LEU(165); HIS(101); TRP(58) (**Figure III-44**) alors que l'arbutine entraîne des interactions via

des liaisons hydrogène avec les acides aminés : GLU(233); ASP(300), des liaisons Van Der Waals avec les acides aminés : LEU(162); ILE(235); ALA (198); HIS(201); ASP(197); ARG(195); HIS(299); TRP (58); TYR(62); THR(163); LEU(165); GLN(63), et des liaisons hydrophobes de type empilement (π - π) avec l'acide aminé :TRP(59) (Figure III-46).

III.2.3.4.1.a Les interactions de la catéchine

III.2.3.4.1.a.i α -Glucosidase

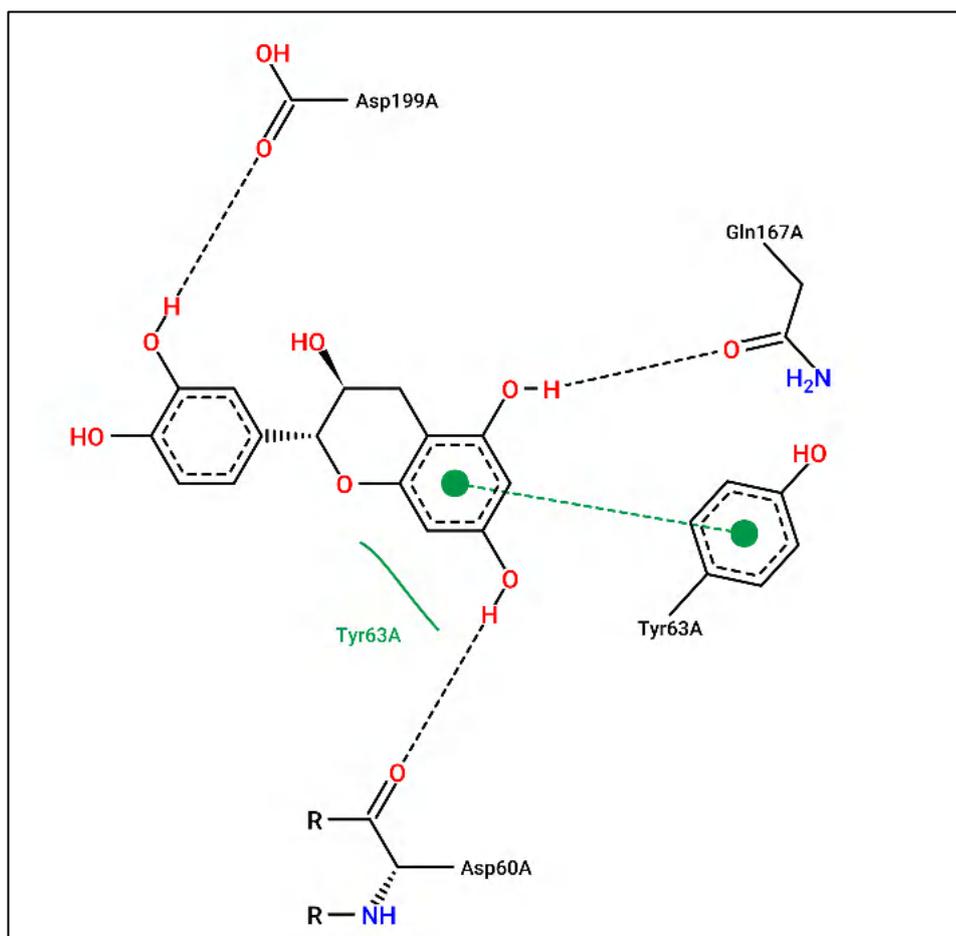


Figure III-43: Les interactions de la catéchine avec le site actif de α -glucosidase (2ZE0).

III.2.3.4.1.a.ii α -Amylase

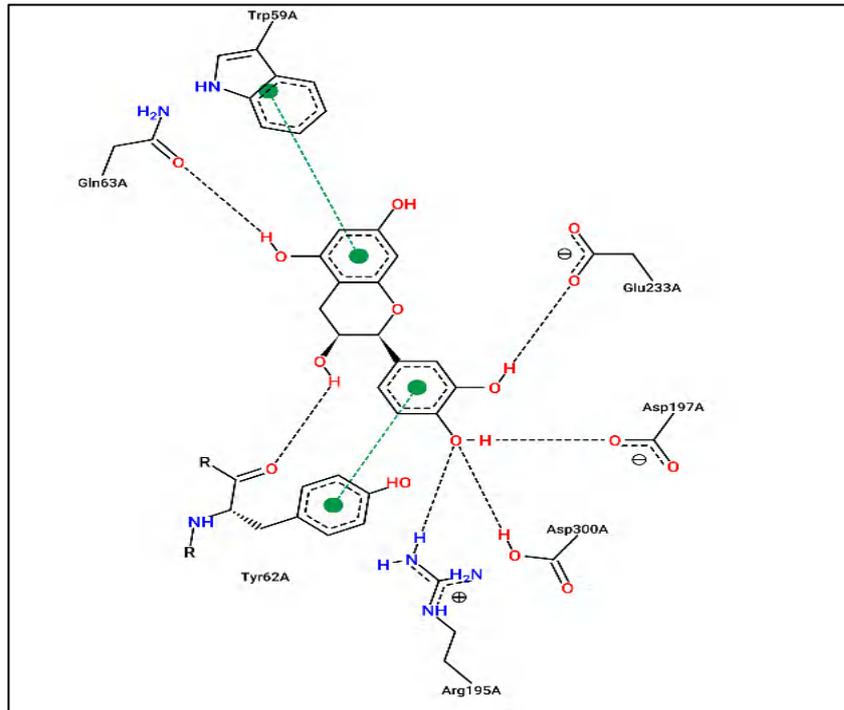


Figure III-44: Les interactions de la catéchine avec le site actif de α -amylase (1HNY).

III.2.3.4.1.b Les interactions de l'arbutine

III.2.3.4.1.b.i α -Glucosidase

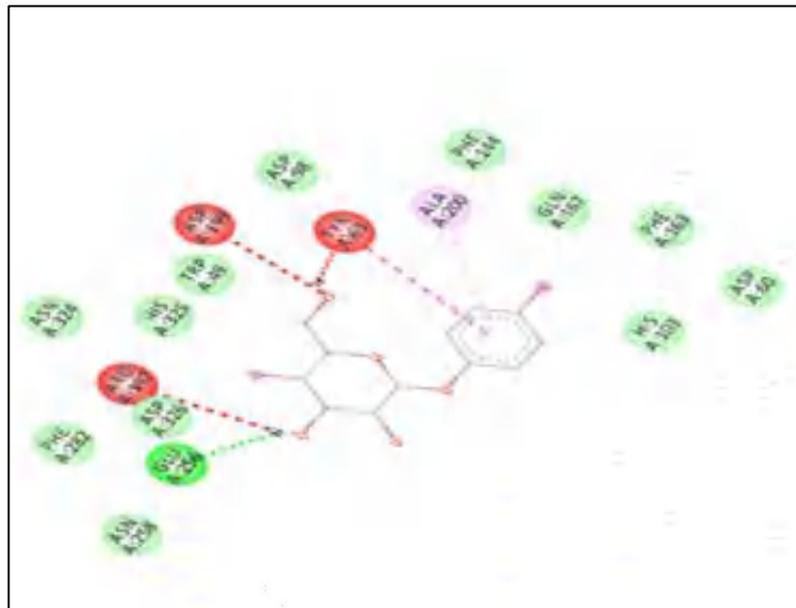


Figure III-45: Les interactions de l'arbutine avec le site actif de α -glucosidase (2ZE0).

III.2.3.4.1.b.ii α -Amylase

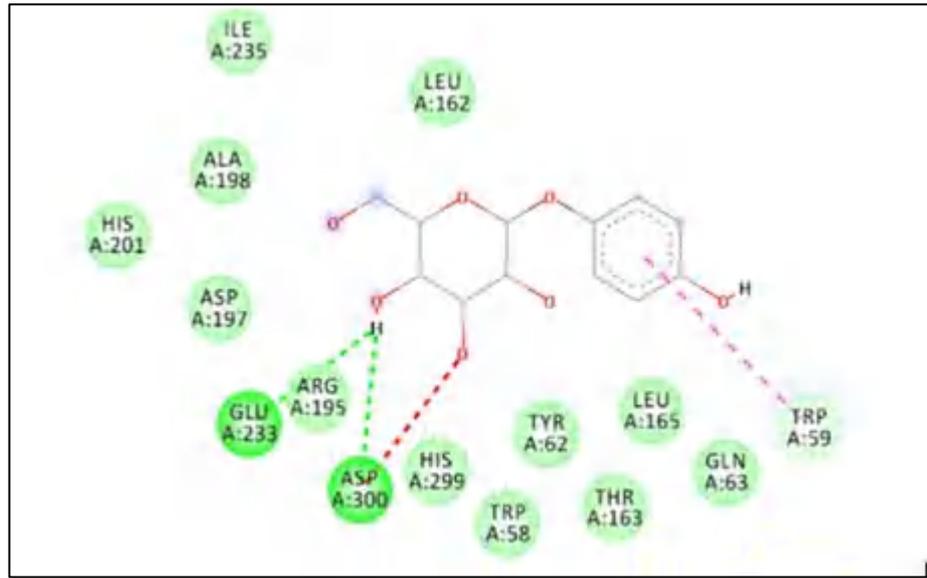


Figure III-46: Les interactions de l'arbutine avec le site actif de α -amylase (1HNY).

III.2.3.4.1.c Les interactions de l'acarbose

III.2.3.4.1.c.i α -Glucosidase

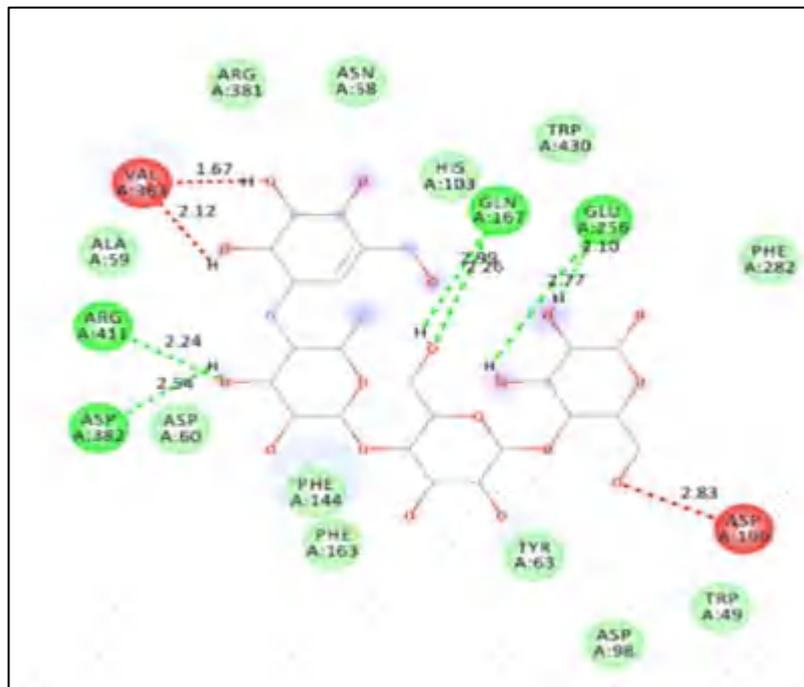


Figure III-47: Les interactions de l'acarbose avec le site actif de α -glucosidase (2ZE0).

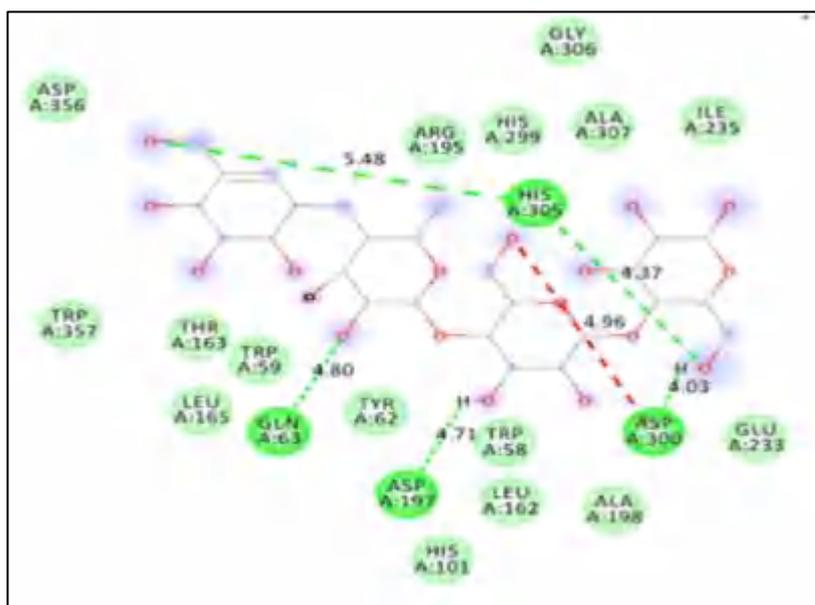
III.2.3.4.1.c.ii α -Amylase

Figure III-48: Les interactions de l'acarbose avec le site actif de α -amylase (1HNY).

III.2.3.4.2 Conclusion

Des tests *in vitro* de l'activité inhibitrice de α -amylase responsable du diabète de type 2 ont révélé un pouvoir inhibiteur causé par l'extrait MeOH et ainsi par les phases BuOH, AcOEt et CHCl_3 à différentes concentrations.

À l'égard de l'extrait MeOH, la phase *n*-BuOH s'est avérée plus active, suivie de la phase AcOEt, puis la phase CHCl_3 (moyennement active). Les tests *in vitro* de l'activité antidiabétique des molécules, la catéchine et l'arbutine isolées de l'extrait MeOH de l'espèce *Arbutus unedo* ont constaté que la catéchine est dotée d'une capacité importante à inhiber les activités de α -glucosidase et de α -amylase, supérieure à celle de l'acarbose, un médicament qui interagit localement dans l'intestin en réduisant l'absorption des glucides issus de certaines molécules.

En outre, les extraits de l'espèce *A. unedo* peuvent être impliqués dans la préparation de régimes thérapeutiques riches en antioxydants et de suppléments nutritionnels présentant un effet inhibiteur efficace sur les enzymes responsables du trouble métabolique, en tant que stratégie ciblée pour le traitement de l'hyperglycémie.

III.2.4 Conclusion générale

Nos perspectives seront destinées vers la réalisation des essais *in vivo* pour corroborer les effets inhibiteurs exercés par ces extraits et leurs composants sur un modèle animal pour mieux comprendre les mécanismes d'action de toutes les voies thérapeutiques.

Il serait intéressant de proposer des formulations à base de plantes médicinales déjà évaluées pour leurs différentes activités biologiques, afin de déterminer un effet synergique ou potentialisateur qui serait utile à la production de complément alimentaire ou d'un phytomédicament.

Ces résultats nous ont encouragés à examiner le pouvoir inhibiteur de molécules bioactives, isolées de ces phases, sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), et ainsi d'autres molécules, en plus de la catéchine et de l'arbutine, sur l'activité de α -amylase et de α -glucosidase.

III.3 Références bibliographiques

- [1] M. Boukhris, M. S. J. Simmonds, and S. Sayadi, “Chemical Composition and Biological Activities of Polar Extracts and Essential Oil of Rose-scented Geranium, *Pelargonium graveolens*,” *Phytotherapy research*, vol.27, no.8, pp. 1206-1213, 2013.
- [2] I. B. E. Ali *et al.*, “Bioactive compounds from Tunisian *Pelargonium graveolens* L’Hér. essential oils and extracts: α -amylase and acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant, antibacterial and phytotoxic activities,” *Industrial Crops and Products*, vol. 158, p. 112951, 2020.
- [3] A. Ben Hsouna and N. Hamdi, “Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia,” *Lipids Health Dis.*, vol. 11, p. 167, 2012.
- [4] F. E. Kamari , A. M. AlTaroq, El Atki, Y. Aouam, B. Lyoussi, and , A. Abdellaoui, “Chemical composition of essential oils from vitex agnus-castus l. growing in morocco and its *in vitro* antibacterial activity against clinical bacteria responsible for nosocomial infections” *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 11, no. 10, p. 365-368, 2018.
- [5] I. Atailia and A. Djahoudi, “Composition chimique et activité antibactérienne de l’huile essentielle de géranium rosat (*Pelargonium graveolens* l’Hér.) cultivé en Algérie,” *Phytothérapie*, vol. 13, no. 3, pp. 156-162, 2015.
- [6] M. N. Boukhatem, A. Kameli, and F. Saidi, “Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens,” *Food Control*, vol. 34, no. 1, pp. 208-213, 2013.
- [7] N. Fekri, D. El Amir, A. Owis, and S. AbouZid, “Studies on essential oil from rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens* L’Hér it. (Geraniaceae),” *Natural Product Research*, vol. 35, no. 15, pp. 2593-2597, 2021.
- [8] T. Dob, D. Dahmane, B. Tayeb, and C. Chelghoum, “Chemical composition of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria,” *Int. J. Aromather.*, vol. 15, no. 2, pp. 110-114, 2005.
- [9] L. Bousmaha, F. A. Bekkara, F. Tomi, and J. Casanova, “Advances in the Chemical Composition of *Lavandula dentata* L. Essential Oil from Algeria,” *J. Essent. Oil Res.*, vol. 17, no. 3, pp. 292-295, 2005.
- [10] F. El-Akhal, A. Ramzi, A. Farah, Y. Ez Zoubi, M. Benboubker, K. Taghzouti, and A. El Ouali Lalami, A., “Chemical composition and larvicidal activity of *Lavandula angustifolia* Subsp. *angustifolia* and *Lavandula dentata* Spp. essential oils against *Culex pipiens* larvae, vector of West Nile virus,” *Psyche: A Journal of Entomology.*, vol. 2021, pp. 1-7, 2021.
- [11] B. Touati, H. Chograni, I. Hassen, M. Boussaïd, L. Toumi, and N. B. Brahim, “Chemical composition of the leaf and flower essential oils of Tunisian *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae),” *Chem. Biodivers.*, vol. 8, no. 8, pp. 1560-1569, 2011.
- [12] D. Dris, F. Tine-Djebbar, and N. Soltani, “*Lavandula dentata* essential oils: Chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae),” *Afr. Entomol.*, vol. 25, no. 2, pp. 387-394, 2017.
- [13] B. Imelouane, A. El Bachiri, J.P. Wathelet, J. Dubois, and H. Amhamdi, “Chemical Composition, Cytotoxic and Antioxydant Activity of The Essential Oil of *Lavandula dentata*,” *World J. Biol. Chem.*, vol. 5, no. 2, 2010.
- [14] S. Morgado, M. Morgado, A. I. Plácido, F. Roque, and A. P. Duarte, “*Arbutus unedo* L.: From traditional medicine to potential uses in modern pharmacotherapy,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 225, pp. 90-102, 2018.

- [15] R. Bessah and E.H. Benyoussef, "Essential Oil Composition of *Arbutus unedo* L. Leaves from Algeria," *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 15, no. 4, pp. 678-681, 2012.
- [16] M. A. Dib, J. Paolini, M. Bendahou, L. Varesi, H. Allali, J. M. Desjobert, B. Tabti, and J. Costa., "Chemical composition of fatty acid and unsaponifiable fractions of leaves, stems and roots of *Arbutus unedo* and *in vitro* antimicrobial activity of unsaponifiable extracts," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 5, no. 7, pp. 1085-1090, 2010.
- [17] B. Kivcak, T. Mert, B. Demirci, and K. H. C. Baser, "Composition of the essential oil of *Arbutus unedo*," *Chem. Nat. Compo.*, vol. 37, no. 5, pp. 445-446, 2001.
- [18] P. K. Agrawal, "NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides," *Phytochemistry*, vol. 31, no. 10, pp. 3307-3330, 1992.
- [19] A. Fiorentino, S. Castaldi, B. D'Abrosca, A. Natale, A. Carfora, A. Messere, A. Monaco, "Polyphenols from the hydroalcoholic extract of *Arbutus unedo* living in a monospecific Mediterranean woodland," *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 35, no. 11, p. 809, 2007.
- [20] S. Khan, M. N. Kardar, and B. S. Siddiqui, "Arbutin derivatives from the seeds of *Madhuca latifolia*," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 6, no. 11, pp. 1661-1664, 2011.
- [21] X.N. Zhong, H. Otsuka, T. Ide, E. Hirata, A. Takushi, and Y. Takeda, "Hydroquinone glycosides from leaves of *Myrsine seuginii*," *Phytochemistry*, vol. 49, no. 7, pp. 2149-2153, 1998.
- [22] C. Benbrahim, M.S. Barka, A. Basile, V. Maresca, G. Flamini, S. Sorbo, S. Preprints, F. Carraturo, R. Notariale, M. Piscopo, A. Khadir, A. Zatout, and S. Mechaala, "Chemical composition and biological activities of oregano and lavender essential oils," *Appl. Sci.*, vol. 11, no. 12, p. 5688, 2021.
- [23] D. Imen, H.H. Soumaya, C. Imed, M. B. J. Jouda, L. Ahmed, and C. Rym, "Essential oil from flowering tops of *Lavandula dentata* (L): Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and insecticidal activities," *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, vol. 24, no. 3, pp. 632-647, 2021.
- [24] S. Bouazama, H. Harhar, J. Costa, J. M. Desjobert, A. Talbaoui, M. Tabyaoui, "Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Lavandula pedunculata* and *Lavandula dentata*," *Journal of Materials and Environmental Sciences*, vol. 8, no. 6, pp. 2154-2160, 2017.
- [25] T. C. Reis, M. C. Pereira, C. P. Gonçalves, and F. E. de Carvalho Costa, "Evaluation of the antibacterial and antifungal potential of organic hydrolate and organic essential oil from *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae)," *RSD*, vol. 11, no. 14, pp. e95111436076-e95111436076, 2022.
- [26] M.M. Aly1, M. Al-Ghamdi, S.O. Bafeel, and A.M. Khedr, "Antimicrobial Activities and Phytochemical Analysis of the Essential Oil of *Lavandula dentata* and *Plectranthus tenuiflorus*, Collected From Al Baha Region, Saudi Arabia," *Life Sci. J.*, vol. 10, no. 4, pp. 3302-3309, 2013.
- [27] N.K. Soro, K. Maajdouli, Y. Khaabbal, and T. Zaïr, "Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula* species *L. dentata* L., *L. pedunculata* Mill and *Lavandula abrialis* essential oils from Morocco against food-borne and nosocomial pathogens," *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 7, no. 2, pp. 774-781, 2014.
- [28] L. Bachiri, G. Echchegadda, J. Ibjibijen, and L. Nassiri, "Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.»," *Eur. Sci. J.*, vol. 12, no. 30, p. 313, 2016.

- [29] M. Chraibi, M. Fadil, A. Farah, S. Lebrazi, and K. Fikri-Benbrahim, "Antimicrobial combined action of *Mentha pulegium*, *Ormenis mixta* and *Mentha piperita* essential oils against *S. aureus*, *E. coli* and *C. tropicalis*: Application of mixture design methodology," *LWT*, vol. 145, p. 111352, 2021.
- [30] V. Teixeira, M. J. Feio, and M. Bastos, "Role of lipids in the interaction of antimicrobial peptides with membranes," *Prog. Lipid Res.*, vol. 51, no. 2, pp. 149-177, 2012.
- [31] R. Ribeiro-Santos, M. Andrade, and A. Sanches-Silva, "Application of encapsulated essential oils as antimicrobial agents in food packaging," *Current Opinion in Food Science*, vol. 14, pp. 78-84, 2017.
- [32] H. M. Ericsson and J. C. Sherris, "Antimicrobial sensitivity testing. Report of an International Collaboration Study," *Acta Pathol. Microbiol., Stand. Section B, Suppl.* 217., 1971.
- [33] R. A. Dixon, P. M. Dey, and C. J. Lamb, "Phytoalexins: enzymology and molecular biology," *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, vol. 55, pp. 1-136, 1983.
- [34] M. Sato, H. Tsuchiya, I. Takase, H. Kureshiro, S. Tanigaki, and M. Iinuma, "Antibacterial activity of flavanone isolated from *Sophora exigua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its combination with antibiotics," *Phytother. Res.*, vol. 9, no. 7, pp. 509-512, 1995.
- [35] P. C. Ho, D. J. Saville, and S. Wanwimolruk, "Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds," *J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 4, no. 3, pp. 217-227, 2001.
- [36] S. A. Burt and R. D. Reinders, "Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7," *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 36, no. 3, pp. 162-167, 2003.
- [37] I. Ahmad and F. Aqil, "In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ES β L-producing multidrug-resistant enteric bacteria," *Microbiol. Res.*, vol. 162, no. 3, pp. 264-275, 2007.
- [38] A. Nostro, M. P. Germanò, V. D'angelo, A. Marino, and M. A. Cannatelli, "Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity," *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 30, no. 5, pp. 379-384, 2000.
- [39] N. M. Hanae, "Étude Pharmacologique Toxicologique de l'*Arbutus unedo* L. au Maroc," Thèse de doctorat, Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat-Maroc, Décembre 2018.
- [40] F. Yousefi, S. Mahjoub, M. Pouramir, and F. Khadir, "Hypoglycemic activity of *Pyrus brossieriana* Buhse leaf extract and arbutin: Inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase," *Caspian J Intern Med*, vol. 4, no. 4, pp. 763-767, 2013.
- [41] M. R. Bhandari, N. Jong-Anurakkun, G. Hong, and J. Kawabata, " α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.)," *Food Chem.*, vol. 106, no. 1, pp. 247-252, 2008.
- [42] A. B. Justino, N. C. Miranda, R. R. Franco, M. M. Martins, N. M. da Silva, and F. S. Espindola, "*Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with in vitro antidiabetic and inhibitory potential against α -amylase, α -glucosidase, lipase, non-enzymatic glycation and lipid peroxidation," *Biomed. Pharmacother.*, vol. 100, pp. 83-92, 2018.
- [43] T. Matsui, T. Tanaka, S. Tamura, A. Toshima, K. Tamaya, Y. Miyata, K. Tanaka, and K. Matsumoto, " α -Glucosidase inhibitory profile of catechins and theaflavins," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, no. 1, pp. 99-105, 2007.
- [44] A. Andrade-Cetto, J. Becerra-Jiménez, and R. Cárdenas-Vázquez, " α -Glucosidase-inhibitory activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 116, no. 1, pp. 27-32, 2008.

[45] K.F. Huang, Y.R. Wang, E.C. Chang, T.L. Chou, A.H. Wang, “ Crystal structure of the human glutaminyl cyclase mutant D305E at 1.66 angstrom resolution,” 2008. <https://doi.org/10.2210/pdb2zeo/pdb>.

[46] Y. Luo, G.D. Brayer, “The structure of human pancreatic α -amylase at 1.8 angstroms resolution and comparisons with related enzymes,” 1996. <https://doi.org/10.2210/pdb1hny/pdb>.

Chapitre IV : Etude in silico des molécules
bioactives de l'espèce *A. serratifolia* Salisb. et
l'activité anti-SARS-CoV-2

IV.1 Introduction

La pandémie de COVID-19, une complication respiratoire infectieuse qui a touché principalement 215 pays, a provoqué un désastre socio-économique et sanitaire important à l'échelle mondiale. Au 27 janvier 2022, plus de 360 578 392 cas ont été recensés dans le monde et 5 620 865 décès cumulés ont été enregistrés [1].

Par conséquent, la majorité des cas ne présentent que des frissons, de la fièvre, une toux sèche, une faiblesse et une respiration difficile avec perte du goût et de l'odorat, tandis qu'une petite minorité (0,2 % à 5 %) des cas développent une pneumonie et une défaillance multiviscérale qui peut être fatale, en particulier en l'absence d'une assistance médicale secondaire [2][3].

Le motif viral du SARS-CoV-2 est généralement créé par la combinaison de quatre protéines structurales : la nucléocapside (N), la membrane (M), l'enveloppe (E) et la pointe (S). Seules les protéines (E), (M) et (S) sont visibles sur la surface extérieure de la particule virale, et en particulier la protéine de la pointe apparaissant comme un bouton plus gros que les autres protéines structurales, bien que toutes ces protéines contribuent à la production virale [4].

En outre, la protéine spike du SARS-CoV-2 renforce l'adhérence et l'invasivité en incitant le virus à se lier aux récepteurs et à traverser les cellules de l'hôte. Comme elle représente la fenêtre la plus exposée de l'architecture virale, la protéine spike sert d'immunogène, car elle est nécessaire à la réplication virale médiée par les récepteurs.

Les nouvelles variantes alpha [5] et bêta [6] du SARS-CoV-2 ont été découvertes fin 2020, suivies de la variante gamma [7] et de la récente variante delta/delta⁺ du SARS-CoV-2 apparue en 2021 (B.1.617/AY.1) [7][8][9] entraînant une nouvelle infection mondiale. De nouvelles vaccinations doivent être mises au point, même si, avec des technologies de pointe telles que l'assimilation de l'ARNm, le facteur temps est encore considérable [10].

Par conséquent, il est crucial d'améliorer de nouvelles stratégies pharmacologiques et d'autres modalités thérapeutiques pour faciliter le contrôle de la pandémie à l'avenir [11][12]. En raison du besoin urgent de promouvoir et de sélectionner une substance efficace capable de prévenir l'épidémie de SRAS-CoV-2, de nombreuses molécules font actuellement l'objet d'essais cliniques afin d'examiner leur potentiel thérapeutique.

Le nirmatrelvir a été utilisé comme médicament contre le SRAS-CoV-2 dans certains pays au début de la pandémie, mais son utilisation a diminué avec le développement des vaccins.

Le ritonavir, le saquinavir, le darunavir, l'indinavir et l'ASC 09 ne sont que des médicaments supplémentaires, qui ont été étudiés dans le cadre d'essais cliniques [13][14].

Pour renforcer leur système immunitaire contre la pandémie COVID-19, la société algérienne utilise plusieurs préparations à base de plantes médicinales, parmi lesquelles l'espèce *Arbutus serratifolia* Salisb, appartenant à la famille Ericaceae est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter une variété de maladies et de problèmes, y compris les rhumes, la toux et les difficultés respiratoires.

Les travaux en cours visent à identifier les composés actifs contre la principale protéase virale en utilisant l'analyse du docking moléculaire après avoir testé leurs propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Pour cette raison, les produits naturels suivants :

Pr(1): (*1S,5R,6R,8S,9S*)-6,8-Dihydroxy-8-méthyl-1,5,6,7,8,9-hexahydrocyclopenta[*c*]pyran-1-yl- β -*D*-glucopyranoside.

Pr(2): (*1S,5R,6S,8S,9S*)-6,8-Dihydroxy-8-méthyl-1,5,6,7,8,9-hexahydrocyclopenta[*c*]pyran-1-yl- β -*D*-glucopyranoside.

Pr(3): Carboxylate de méthyl ((*1R,5R,6S,8R,9R*)-6,8-Dihydroxy-8-méthyl-1-(β -*D*-glucopyranosyloxy)-1,5,6,7,8,9-hexahydrocyclopenta [*c*] pyran-4-yle).

Pr(4): Carboxylate de méthyl ((*1S,5S,8S,9S*)-1-(β -*D*-glucopyranosyloxy)-8-hydroxy-8-(hydroxyméthyl)-1,5,8,9-tétrahydrocyclopenta [*c*] pyran-4-yle).

Pr(5): Carboxylate de méthyl ((*1S,5S,8S,9S*)-1-(β -*D*-glucopyranosyloxy)-8-hydroxy-8-(hydroxyméthyl)-1,5,6,7,8,9-hexahydrocyclopenta [*c*] pyran-4-yle).

Pr(6):(*1S,5S,6S,8S,9R*)-8-Méthyl-11-oxo-1,5,6,7,8,9-hexahydro-4*H*-2,12-dioxacyclopenta [*cd*] indèn-1-yl- β -*D*-glucopyranoside.

Pr(7): Acétate de méthyl ((*1S,5S,6S,9S*)-1-(β -*D*-Glucopyranosyloxy)-14-oxo-1,5,6,9-tétrahydro-1*H*-2,15-dioxacyclopenta [*cd*] indèn-8-yle).

Pr(8): Carboxylate de méthyl ((*1S,5S,9S*)-1-(β -*D*-glucopyranosyloxy)-8-(hydroxyméthyl)-1,5,6,9-tétrahydrocyclopenta [*c*] pyran-4-yle).

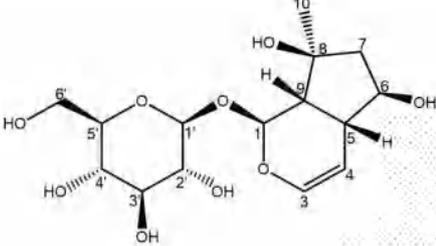
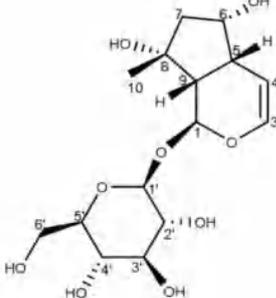
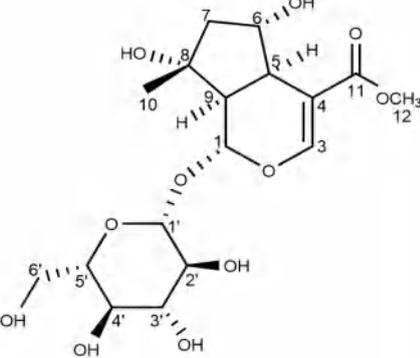
Pr(9):((1*R*,5*S*,6*R*,7*R*,8*S*,9*R*)-6-Hydroxy-1-(β -*D*-glucopyranosyloxy)-1,5,6,7,8,9 hexahydrooxirène[2'',3'':4''',5'''] cyclopenta [c] pyrane.

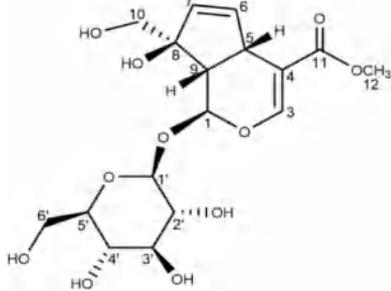
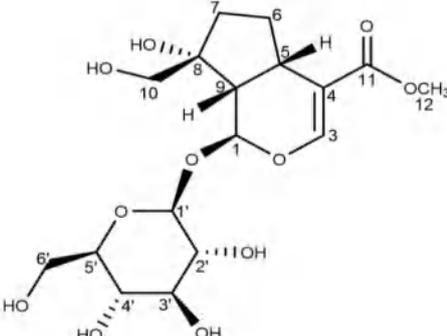
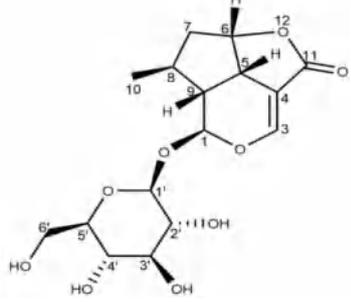
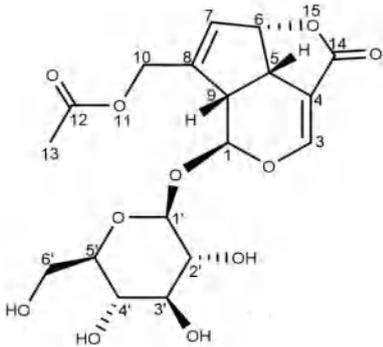
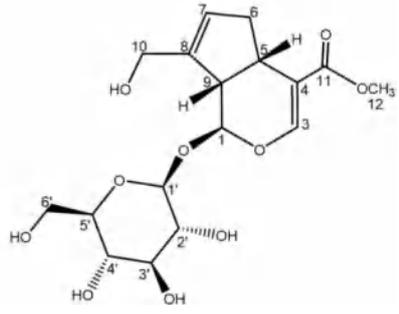
Pr(10):Acide((1*S*,5*S*,8*R*,9*S*)-1-(β -*D*-Glucopyranosyloxy)-8-hydroxy-8-(hydroxyméthyl)-1,5,8,9-tétrahydrocyclopenta [c] pyran-4-yl) carboxylique.

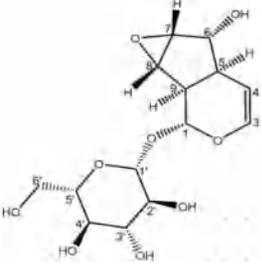
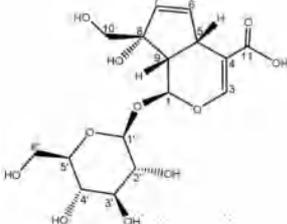
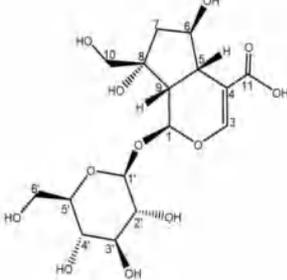
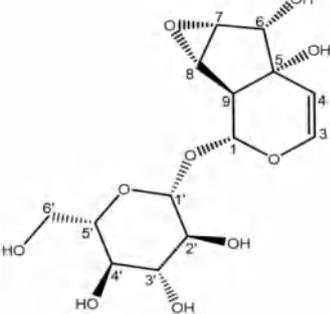
Pr(11): Acide ((1*S*,5*S*,6*R*,8*R*,9*S*)-6,8-Dihydroxy-8-(hydroxyméthyl)-1-(β ,*D*-glucopyranosyloxy)-1,5,6,7,8,9-hexahydrocyclopenta [c] pyran-4-yl) carboxylique.

Pr(12): ((1*R*,5*R*,6*S*,7*R*,8*S*,9*S*)-5,6-Dihydroxy-1-(β -*D*-glucopyranosyloxy)-1,5,6,7,8,9-hexahydrooxirène [2'',3'':4''',5'''] cyclopenta [c] pyrane (**Tableau IV-1**) ont été sélectionnés pour l'application du docking moléculaire dans la protéase principale du SRAS-CoV-2 sur (PDB ID:6Y84), en utilisant les logiciels Autodock Vina et UCSF Chimera.

Tableau IV-1: Les structures chimiques de différentes molécules mises en étude

La molécule	La structure chimique
Pr(1)	
Pr(2)	
Pr(3)	

La molécule	La structure chimique
Pr(4)	
Pr(5)	
Pr(6)	
Pr(7)	
Pr(8)	

La molécule	La structure chimique
Pr(9)	
Pr(10)	
Pr(11)	
Pr(12)	

IV.1.1 Évaluation *in-silico* des molécules

Le docking moléculaire est l'une des approches les plus cruciales pour la découverte et la conception de médicaments, utilisée pour analyser les types d'interactions du ligand et de son récepteur enzymatique, ainsi que la méthode de docking en aveugle consiste à examiner toute la surface de la macromolécule (protéine) et trouver des sites actifs consistants pour ces interactions.

Des expériences de docking moléculaire à l'aveugle ont été réalisées et testées sur la protéase principale du SARS-CoV-2 en utilisant des médicaments spécifiques et certaines substances bioactives.

IV.1.2 Optimisation des ligands

Les structures 2D des molécules isolées de l'espèce *Arbutus serratifolia* Salisb. : Pr(1), Pr(2), Pr(3), Pr(4), Pr(5), Pr(6), Pr(7), Pr(8), Pr(9), Pr(10), Pr(11) et Pr(12) ont été dessinées en utilisant MarvinSketch [15] et pré-optimisées en utilisant l'algorithme Steepest Descent avec un critère de convergence de $10 E^{-6}$ au niveau de théorie du champ de force MMFF94s. Ensuite, le meilleur conformère a été enregistré après une recherche conformationnelle et après cela, une optimisation a été effectuée au même niveau de théorie que celle implémentée dans le logiciel Avogadro version 1.0.1 [16].

Le format de fichier SDF 2D obtenu a été transformé au format SDF 3D à l'aide du convertisseur SMILES et du générateur de structures [17].

IV.1.2.1 La similitude médicamenteuse et les calculs des propriétés ADMET

Les propriétés pharmacocinétiques et l'efficacité pharmacologique des molécules mises en test ont été vérifiées en utilisant l'application Pre ADMET version 2.0 [18]. Parallèlement, Pre ADMET prédit les principaux paramètres ADME correspondant aux propriétés : absorption, distribution, métabolisme, extraction (élimination), et même la toxicité. Les paramètres de similitude médicamenteuse (Adme-Tox) des molécules présélectionnées ont été établis en utilisant Web Suisse ADME [19] et de Pro-Tox II [20].

Selon les règles de Lipinski, Egan, Ghose, Muegge et Veber [18], les propriétés de similitude médicamenteuse des molécules d'*Arbutus serratifolia* Salisb : Pr(1), Pr(2), Pr(3), Pr(4), Pr(5), Pr(6), Pr(7), Pr(8), Pr(9), Pr(10), Pr(11) et Pr(12) ont été examinées pour confirmer qu'elles n'enfreignent pas les règles précédentes.

IV.1.2.2 Préparation du récepteur et de son site liant

Les composants viraux essentiels impliqués dans l'attachement, la réplication et la reproduction des particules virales dans les cellules hôtes, y compris la protéase principale, la protéine de pointe, la protéine liante à l'ARN et le domaine liant à l'ARN N-terminal ont été visualisés dans la structure 3D du SARS-CoV-2. Ces entités protéiques ont été découvertes comme des cibles pratiques pour l'inhibition du cycle de vie virale dans les cellules hôtes humaines.

En général, la structure 3D de la protéase principale du SARS-CoV-2 (PDB ID : 6Y84) a été extraite de la base de données PDB du RCSB. Les affinités de liaison résultant des interactions entre le ligand et le récepteur ont été mesurées en utilisant les acides aminés estimés avec leurs poches de liaison à partir du serveur Q-sitefinder [21].

IV.1.3 Docking moléculaire

À l'aide de l'AutoDock Vina 1.1.2, une procédure de docking à l'aveugle (blind docking) a été appliquée pour soumettre les structures SDF préparées des molécules isolées d'*Arbutus serratifolia* à l'assimilation du docking moléculaire. Le logiciel Discovery Studio Visualizer a été utilisé pour visualiser les résultats [22]. Cette procédure consiste à trouver la poche d'interaction de ces ligands dans la protéine principale. Par conséquent, le site d'interaction prédit de la cible protéique spécifique a été mis en docking avec les produits naturels suivants : Pr(1), Pr(2), Pr(3), Pr(4), Pr(5), Pr(6), Pr(7), Pr(8), Pr(9), Pr(10), Pr(11) et Pr(12). Les étapes suivantes, mettent en évidence la méthodologie la plus utilisée dans la procédure de docking moléculaire.

IV.1.4 Préparation des protéines

Les interactions des molécules mises en étude avec les cibles du coronavirus ont été établies via la protéine (**PDB ID : 6Y84**). Dans notre travail, le logiciel UCSF Chimera a été utilisé pour minimiser l'énergie de la structure cristalline et ainsi tous les hétéroatomes et les molécules d'eau des protéines ont été éliminés en utilisant l'AutoDock Vina [23].

Par conséquent, l'optimisation de la liaison H et l'insertion des charges de Kollmann ont été effectuées et enregistrées sous forme de charges pdbqt. Dans cette étape, un fichier pdbqt (Protein Data Bank, Partial Charge (Q), and Atom Type (T)) sera créé, y compris les atomes et les charges partielles.

IV.1.5 Détermination du site actif et de la grille

1000 pas du champ de force MMFF94 ont été appliqués, avec un facteur d'échelle de Van Der Waals de 1,00 et une coupure de charge de 0,25. Une boîte de grille de taille (X, Y, Z) : (33,42 Å; 63,72 Å; 60,08 Å) a été utilisée comme boîte restreinte pour l'étude conformationnelle et la recherche de différents éventuels positions des molécules mises en docking, avec des paramètres centraux (X, Y, Z) : (12,9 Å; 1,31 Å; 5,8 Å). L'analyse critique et le docking moléculaire sont deux mots techniques utilisés pour indiquer le type et l'énergie du processus d'interaction.

Généralement, la version du Drug Discovery Studio détermine les sites actifs qui seront utilisés comme coordonnées du ligand dans les grilles originales de la protéine cible (BIOVIA Dassault Systems), et à l'aide du logiciel Discovery Studio, le chercheur doit localiser les interactions non covalentes [24].

IV.1.6 Interactions ligand-récepteur

La visualisation de la pose de la molécule dite "Lead" représentant la molécule principale ayant une activité pharmacologique susceptible d'être utile sur le plan thérapeutique a été utilisée pour examiner la façon et les sites d'interaction des molécules de l'*A. serratifolia* avec leurs cibles protéiques du SARS-CoV-2 dans le complexe mis en docking [25]. Ces molécules ont été établies en vue des poses 2D et 3D, et leur optimisation géométrique a été examinée. Les résultats des interactions de ces molécules traitées par le logiciel LigPLOT⁺ dans la cible protéique, sont présentés dans le **tableau IV-4**.

IV.2 Résultats et discussion

IV.2.1 Similitude médicamenteuse (Druglikness) et calculs ADMET

Les résultats des calculs de similitude médicamenteuse des molécules suivantes : Pr(1), Pr(2), Pr(3), Pr(4), Pr(5), Pr(6), Pr(7), Pr(8), Pr(9), Pr(10), Pr(11) et Pr(12) à l'aide du serveur ADME suisse ont montré que Pr(6) possède un poids moléculaire de 358,34 Da, le nombre d'accepteurs et de donneurs de liaison hydrogène est 9 et 4 respectivement. Le produit **Pr(6)** est également doté d'une excellente TPSA (surface polaire topologique) de l'ordre de 134,91 Å², d'une lipophilie (iLog P) et d'une solubilité dans l'eau (Log S ESOL) estimées à 2,12 et -1,28 respectivement. Ces résultats sont entièrement cohérents avec les règles de Lipinski, Veber et Muegge pour optimiser les propriétés médicamenteuses. Les propriétés de similitude médicamenteuse des Pr(8) et Pr(9) se sont révélées conformes à la règle de Lipinski (**Tableau IV-2**).

Tableau IV-2: Les propriétés physicochimiques prédites des molécules mises en étude

Molécule	MW (Da)	nHA	nRB	nHBA	nHBD	MR m ³ /mol	TPSA (Å ²)	iLogP
Pr(1)	348,35	24	3	9	6	77,67	149,07	1,61
Pr(2)	348,35	24	3	9	6	77,67	149,07	1,34
Pr(3)	406,38	28	5	11	6	88,57	175,37	2,26
Pr(4)	404,37	28	6	11	6	88,09	175,37	1,4
Pr(5)	392,36	27	5	11	7	84,25	186,37	0,59
Pr(6)	358,34	25	3	9	4	79,28	134,91	2,12
Pr(7)	414,36	29	6	11	4	89,71	161,21	1,86
Pr(8)	388,37	27	6	10	5	86,89	155,14	2,11
Pr(9)	332,3	23	3	9	5	70,63	141,37	2,01
Pr(10)	390,34	27	5	11	7	83,77	186,37	1,28
Pr(11)	390,34	27	5	11	7	83,77	186,37	1,18
Pr(12)	348,3	24	3	10	6	71,83	161,6	1,15

MW : masse moléculaire ; **nHA** : nombre des atomes lourds ; **nRB** : nombre des liaisons rotatoires ; **nHBA** : nombre des accepteurs d'hydrogène ; **nHBD** : nombre des donneurs d'hydrogène ; **MR** : réfractivité molaire ; **TPSA** : surface topologique polaire ; **i LogP** : lipophilicité (lipophilie).

D'autre part, les caractéristiques ADME de ces molécules calculées à partir de l'application Web preADMET ont révélé que **Pr(6)** présente de bonnes propriétés pharmacocinétiques correspondant aux paramètres d'absorption, de biodisponibilité et de distribution tels que **HIA** avec une valeur de 38,89 %, la **solubilité dans l'eau pure** avec une valeur de 18,79 mg/mL, et **l'association aux protéines plasmatiques** avec une valeur de 34,98 % (**Tableau IV-3**).

Tableau IV-3: Les propriétés ADMET des molécules étudiées.

Molécule	Absorption				Biodisponibilité		Distribution	
	HIA (%)	Caco-2 CP nm/s	MDCK CP nm/s	SP (logKp) cm/s	BS mg/mL	PWS mg/mL	PPB (%)	Pénétration BBB
Pr(1)	17,77	6,35	0,53	- 4,97	96,02	247,92	22,08	0,05
Pr(2)	17,77	6,35	0,53	- 4,97	96,02	247,92	22,08	0,05
Pr(3)	10,52	14,34	0,51	- 4,94	28,38	386,60	21,55	0,03
Pr(4)	12,20	14,65	0,51	- 4,89	26,34	337,98	20,69	0,03
Pr(5)	10,51	14,66	0,51	- 4,98	7,1	237,51	24,15	0,03
Pr(6)	38,89	14,71	0,51	- 5,14	5,35	18,79	34,98	0,03
Pr(7)	27,13	12,95	0,61	- 5,14	4,78	73,53	31,31	0,02

Chapitre IV : Etude *in silico* des molécules bioactives de l'espèce *A. serratifolia* Salisb et l'activité anti-SARS-CoV-2

Pr(8)	25,1	17,05	0,5	- 5,04	2,19	142,71	29,09	0,03
Pr(9)	23,62	4,43	0,53	- 5,19	106,21	150,78	25,61	0,33
Pr(10)	6,93	13,27	0,51	- 4,9	315,24	719,48	17,70	0,03
Pr(11)	3,03	10,58	0,52	- 5,06	536,45	2837,86	10,44	0,04
Pr(12)	11,61	2,27	0,52	- 5,20	84,92	177,38	14,57	0,28

HIA: human intestinal absorption; **Caco-2 CP**: cancer coli or colon cancer cell permeability (<https://en.wikipedia.org/wiki/Caco-2>); **MDCK CP**: Madin-Darby Canine Kidney cell permeability; **SP (logKp)**: skin permeability; expressed as logarithmic skin permeability (logKp) predicted by quantitative structure-activity relationship (predicted logKp) against values experimentally observed (observed logKp); **BS**: buffer solubility; **PWS**: pure water solubility; **PPB**: plasma protein binding; **BBB**: blood-brain barrier.

IV.2.2 Étude du docking moléculaire

Les résultats du docking moléculaire de différentes molécules avec une cible principale de protéase à l'aide du logiciel AutoDock Vina ont montré que les affinités de liaison sont comprises entre (- 6,5 et - 8,0 kcal/mol) (**Tableau IV-4**).

Le Pr(7) présente l'affinité la plus élevée (-8,0 kcal/mol) avec la protéase principale du SARS-CoV-2, qui est nécessaire à la réplication et à la reproduction du virus SARS-CoV-2, et ses interactions sont induites par différents résidus, dont les acides aminés suivants: His-163; Arg-188; Gln-192; Thr-190; Glu-166 forment des interactions liantes à l'hydrogène et autres acides aminés : Cys-145 ; Asn-142; Ser-46 ; Gln-189; Pro-168; Leu-167; Met-49/165 et Phe-140 donnent lieu à des interactions non liantes (**tableau IV-5**). Les résultats des interactions du docking de toutes les molécules étudiées et les orientations de leurs poses sur le site actif (**PDB ID : 6Y84**) sont présentés dans le **tableau IV-4**.

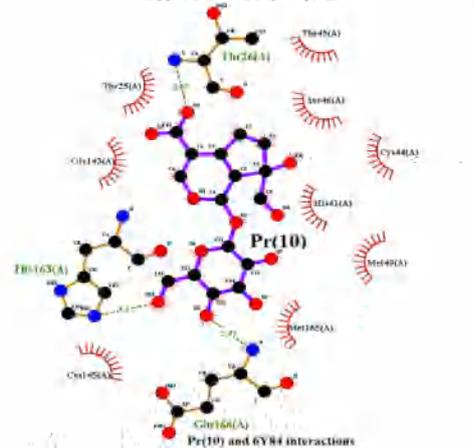
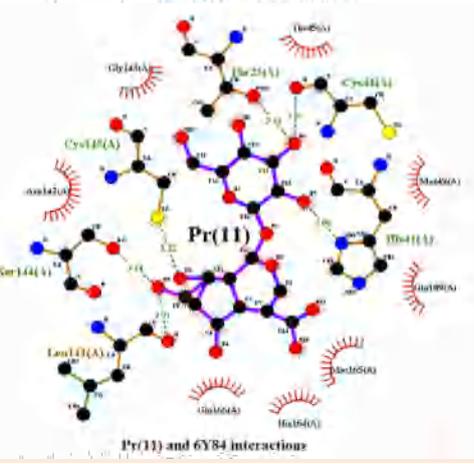
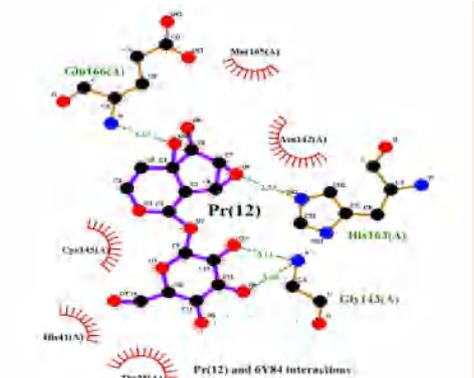
Pr(9)	-6,4	 <p>Pr(9) and 6Y84 interactions</p>
Pr(10)	-7,4	 <p>Pr(10) and 6Y84 interactions</p>
Pr(11)	-7,0	 <p>Pr(11) and 6Y84 interactions</p>
Pr(12)	-7,3	 <p>Pr(12) and 6Y84 interactions</p>

Tableau IV-5: Les différents acides aminés responsables des interactions des molécules étudiées avec la cible protéique principale de COVID-19.

Molécule	ΔG (kcal / mol)	Les interactions via les liaisons H (Å)	Les interactions non liantes
Pr(1)	-6,7	His-163(3,25) ; His-164(3,03) ; Glu-166(2,94) ; Thr-26(2,8 /2,96) ;	His-41 ; Cys-145 ; Thr-25 ; Asn-142 ; Gly-143 ; Met-165
Pr(2)	-7,7	Glu-166(2,84) ; His-163(3,21) ;	Met-49 ; Met-165 ; Ser-46 ; Cys-44 ; Cys-145 ; Thr-25 ; Gly-143 ; His-41 ;
Pr(3)	-7,1	His-41(2,76/3,05) ; His-163(2,8) ; Glu-166(2,93/3,14) ; Thr-25(3,27) ;	Met-49 ; Met-165 ; Asn-142 ; Cys-44 ; Cys-145 ; Thr-45 ; Phe-140 ; Leu-141 ; Gly-143 ;
Pr(4)	-7,0	His-163(3,29) ; His-41(3,02/3,10) ; Glu-166(3,00/3,16) ; Thr-26(3,06) ; Gly-143(2,98) ; Asn-142(3,15) ; Leu-141(2,87) ;	Met-49 ; Met-165 ; Cys-44 ; Ser-46 ; Thr-45 ; Thr-25 ; Cys-145 ;
Pr(5)	-7,4	His-163(3,26) ; Glu-166(2,98) ; Thr-26(3,15) ;	Thr-45 ; Met-49 ; Met-165 ; Ser-46 ; His-41 ; Cys-44 ;

Chapitre IV : Etude *in silico* des molécules bioactives de l'espèce *A. serratifolia* Salisb et l'activité anti-SARS-CoV-2

Molécule	ΔG (kcal / mol)	Les interactions via les liaisons H (Å)	Les interactions non liantes
			Thr-25; Cys-145; Asn-142; Gly-143;
Pr(6)	-7,2	Thr-26(2,95/3,15) ; Glu-166(2,93) ; Gly-143(3,21) ;	Thr-25 ; Thr-45 ; His-41 ; His-164 ; Met-49 ; Met-165 ; Cys-44 ; Cys-145 ; Leu-141 ; Leu-27 ; Asn-142 ; Ser-46 ;
Pr(7)	-8,0	His-163(2,97) ; Arg-188(3,02/3,19) ; Gln-192(3,00) ; Thr-190(3,02/3,10) ; Glu-166(3,02) ;	Cys-145 ; Asn-142 ; Ser-46 ; Gln-189 ; Pro-168 ; Leu-167 ; Met-165 ; Met-49 ; Phe-140 ;
Pr(8)	-7,4	His-41(2.81/3.3) ; Cys-44(3.19) ; Glu-166(2.85/3.14) ; Asn-142(2.98) ; Gly-143(2.9) ;	Thr-25 ; Thr-26 ; Thr-45 ; Met-49 ; Met-165 ; Cys-145 ; Leu-141 ;
Pr(9)	-6,4	Cys-44(3,12) ; Thr-25(3,11) ; Asn-142(3,05/3,11/3,14) ;	Glu-166 ; Cys-145 ; Met-49 ; Met-165 ; His-41 ; His-164 ;
Pr(10)	-7,4	His-163(3,27) ;	Met-49 ;

Molécule	ΔG (kcal / mol)	Les interactions via les liaisons H (Å)	Les interactions non liantes
		Glu-166(2,97) ; Thr-26(2,97) ;	Met-165 ; His-41 ; Cys-44 ; Cys-145; Ser-46; Thr-45; Thr-25; Gly-143;
Pr(11)	-7,0	His-41(2,98) ; Cys-145(3,32) ; Cys-44(2,87) ; Thr-25(3,18) ; Ser-144(3,14) ; Leu-141(2,91) ;	Glu-166 ; His-164 ; Met-49 ; Met-165 ; Gln-189 ; Thr-45 ; Gly-143 ; Asn-142 ;
Pr(12)	-7,3	His-163(3,33) ; Glu-166(3,12) ; Gly-143(3,08/3,11) ;	His-41; Thr-25; Asn-142; Met-165; Cys-145;

IV.2.3 Conclusion

Des recherches récentes ont été consacrées à l'identification d'inhibiteurs efficaces du SRAS-CoV-2 parmi ces produits naturels de Pr(1) à Pr(12), qui ont été isolés à partir de l'espèce *Arbutus serratifolia* Salisb.

Les produits suivants : Pr(6):(*1S,5S,6S,8S,9R*)-8-Méthyl-11-oxo-1,5,6,7,8,9-hexahydro-4*H*-2,12-dioxacyclopenta [*cd*] indèn-1-yl- β -*D*-glucopyranoside, suivi de Pr(8):Carboxylate de méthyl ((*1S,5S,9S*)-1-(β -*D*-glucopyranosyloxy)-8-(hydroxyméthyl)-1,5,6,9-tétrahydrocyclopenta [*c*] pyran-4-yle) et Pr(9): (*1R,5S,6R,7R,8S,9R*)-6-Hydroxy-1-(β -*D*-glucopyranosyloxy)-1,5,6,7,8,9-hexahydrooxirène [2'',3'':4''',5'''] cyclopenta [*c*] pyrane sont dotés d'une excellente similitude médicamenteuse avec de bonnes propriétés pharmacocinétiques ADME avec non-violation de différentes règles d'authentification.

Pr(7):Acétate de méthyl (*1S,5S,6S,9S*)-1-(β -*D*-Glucopyranosyloxy)-14-oxo-1,5,6,9-tétrahydro-*1H*-2,15-dioxacyclopenta [*cd*] indèn-8-yle) et Pr(2): (*1S,5R,6S,8S,9S*)-6,8-Dihydroxy-8-méthyl-1,5,6,7,8,9-hexahydrocyclopenta[*c*]pyran-1-yl- β -*D*-glucopyranoside se sont révélés être les meilleurs inhibiteurs de la protéase principale du SARS-CoV-2, montrant des meilleures affinités d'interaction de -8,0 kcal/mol et -7,70 kcal/mol, respectivement.

En outre, ces molécules ont induit de bonnes interactions via les liaisons hydrogène avec le site actif de la protéine en provoquant un réarrangement conformationnel significatif dans le site liant au ligand. Ces résultats qui ont été comparés à ceux des médicaments antiviraux : **Ritonavir** et **Nirmatrelvir** (-1,73 et -1,93 kcal/mol), respectivement [26] [21] ont conduit à suggérer ces composés phytochimiques comme inhibiteurs prometteurs de la protéase du SARS-CoV-2. Cependant, d'autres tests expérimentaux *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires pour améliorer leurs activités pharmacologiques.

IV.3 Références bibliographiques

- [1] M. Allan, M. Lièvre, H. Laurenson-Schafer, S. de Barros, Y. Jinnai, S. Andrews, T. Stricker, J.P. Formigo, C. Schultz, A. Perrocheau, and J. Fitzner, "The World Health Organization COVID-19 surveillance database," *Int. J. Equity Health.*, vol. 21, no. Suppl 3, p. 167, 2022.
- [2] M.O'Driscoll M,G.R.Dos Santos,L.Wang,A.T.C.Derek, S.A.Andrew , J.Paireau, A. Fontanet, S.Cauchemez, and H.Salje,"Age-specific mortality and immunity patterns of SARS-CoV-2,"*Nature*, vol. 590,no. 844, pp. 140-145,2021.
- [3] M.Jukič, K.Kores, D.Janežič,and U.Bren," Repurposing of drugs for SARS-CoV-2 using inverse docking fingerprints,"*Front Chem.*, vol.9,p. 757826,2021.
- [4] A.Sternberg and C.Naujokat,"Structural features of coronavirus SARS-CoV-2 spike protein: Targets for vaccination," *Life Sci.*,vol.257,p.118056,2020.
- [5] E. Volz, S. Mishra, M. Chand, E. Volz, S. Mishra, M. Chand, J. C. Barrett, R. Johnson, L. Geidelberg, W. R Hinsley, D.J. Laydon, G. Dabrera, Á. O'Toole, and R. Amato, "Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England," *Nature*, vol. 593, no.7858, pp.266-269, 2021.
- [6] H. Tegally, E. Wilkinson, M. Giovanetti, A. Iranzadeh, V. Fonseca, J. Giandhari, D. Doolabh, S. Pillay, E.J. San, N. Msomi, and K. Mlisana,"Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa," *Nature*, vol.592, no.7854, pp. 438-443,2021.
- [7] N.R. Faria, T.A. Mellan, C. Whittaker, I.M. Claro, D.D.S Candido, S. Mishra, M.A. Crispim, F.C. Sales, I. Hawryluk, J.T. McCrone, and R.J. Hulswit, "Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil, " *Science*, vol.372, no.6544, pp. 815-821,2021.
- [8] N.R.Faria ,T.A.Mellan ,C.Whittaker, I.Claro,D. da Candido, S.Mishra, M. Crispim, F.Sales, I.Hawryluk,J. McCrone, and R. Hulswit, "Genomics and epidemiology of a novel SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil," WHO database on COVID-19, *Pesquisa. bvsalud .org.*, 2021.
- [9] K.Moelling,"Within-Host and Between-Host Evolution in SARS-CoV-2-New Variant's Source,"*Viruses*, vol.13, no.5,p 751, 2021.
- [10] K.C.Badgujar,V.C. Badgujar,S.B. Badgujar,"Vaccine development against coronavirus (2003 to present): An overview, recent advances, current scenario, opportunities and challenges,"*Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* ,vol.14,no.5,pp. 1361-1376, 2020.
- [11] M. Kaddoura, M. Al Ibrahim, G. Hijazi G,N.Soudani, A.Audi, H.Alkalamouni, S.Haddad, A. Eid, and H. Zaraket, " COVID-19 therapeutic options under investigation,"*Frontiers in Pharmacology*,vol.11, p. 1196,2020.
- [12] V.Pooladanda, S.Thatikonda, and C.Godugu, "The current understanding and potential therapeutic options to combat COVID-19,"*Life sciences*, vol.254, p.117765,2020.

- [13] H.M. Mengist, T.Dilnessa, T. Jin, "Structural basis of potential inhibitors targeting SARS-CoV-2 main protease," *Frontiers in Chemistry*, vol.12, no.9, p.622898,2021.
- [14] E. Mahase,"Covid-19: Pfizer's paxlovid is 89 % effective in patients at risk of serious illness, company reports,"*BMJ* 2021,vol.375,no.2697,2021.
- [15] D.Yadav and M.M.Gupta," Isolation and HPTLC analysis of iridoids in *Premnain tegrifolia*, an important ingredient of ayurvedic drug Dashmool,"*JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, vol. 26, no.3, pp. 260-266,2013.
- [16] H.M. Berman, J. Westbrook, Z.Feng , G. L. Gilliland, T.N. Bhat, H.Weissig, I.N. Shindyalov, and P.E. Bourne,"The Protein Data Bank, 1999,"*International Tables for Crystallography*,vol.24, no.5,pp.675-684,2006.
- [17] A.T.Lauriea and R.M. Jackson," Q-SiteFinder: an energy-based method for the prediction of protein-ligand binding sites," *Bioinformatics*,vol.21,no.9,pp.1908-1916,2005.
- [18] D.S.Goodsel, G.M.Morris, and A.J.Olson,"Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock,"*Journal of molecular recognition*,vol.9,no.1,pp.1-5,1996.
- [19] D.S.Biovia, "Discovery Studio Modeling Environment," 2017-Release. (accessed on 25 January 2022, at <https://www.3ds.com/products-services/biovia>).
- [20] A.Sharma, J. Vora,D. Patel,S. Sinha,P.C. Jha, and N. Shrivastava,"Identification of natural inhibitors against prime targets of SARS-CoV-2 using molecular docking, molecular dynamics simulation and MM-PBSA approaches,"*Journalof Biomolecular Structure and Dynamics*, vol. 40, no.7,pp.3296-3311,2022.
- [21] B. S. Kumar, S. Anuragh, A. K. Kammala, and K.Ilango," Computer Aided Drug Design Approach to Screen Phytoconstituents of *Adhatoda Vasica* as Potential Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease Enzyme," *Life*, vol. 2,no.2 ,p.315,2022.

Conclusion générale

Les nitroarènes sont une classe de composés nitrés ayant un large éventail d'applications dans le domaine de la synthèse organique, ce qui leur confère une valeur de production élevée dans les industries pharmaceutiques et commerciales. Cependant, la plupart des réactions, y compris les composés nitrés, sont effectuées à l'aide de solvants organiques volatils et inflammables et, plus particulièrement, les réactifs utilisés sont hautement toxiques, difficiles à préparer et à stocker afin d'éviter les agents responsables de la pollution, ce qui rend la préparation des composés très délicate et leurs applications assez restreintes.

Compte tenu des caractéristiques précédentes, l'étude de la chimie verte correspondant aux réactions des composés nitroarènes avec l'éthanol en milieu alcalin devient l'un des sujets de recherche les plus importants en chimie organique.

Une gamme de composés nitroarènes différemment substitués a été réduite avec succès en milieu alcalin à l'aide de borohydrure de sodium sous catalyse de diséléniure de diphenyle, qui est considéré comme un bon transmetteur d'électrons pour obtenir les produits: azoxybenzène; 2,2'-diméthylazoxybenzène; 3,3'-diméthylazoxybenzène; 4,4'-diméthylazoxybenzène; 4,4'-dichloroazoxybenzène; 4,4'- dibromoazoxybenzène; 4,4'-diiodoazoxybenzène; 4,4'-dicarboxylazoxybenzène; 4,4'- diméthoxyazoxybenzène et 4,4'- diacétylazoxybenzène avec différents rendements. Il est à noter que les produits 3,3'-diméthylazoxybenzène et 4,4'-diacétylazoxybenzène ont été favorablement synthétisés (73 % et 79 %), respectivement.

Les résultats obtenus au cours de notre étude dépendent notamment de la position et de la nature des substituants liés au nitroarène dans la mesure où les groupes électroattracteurs facilitent la formation des composés azo ou azoxy, bien que les groupes électrodonneurs empêchent la réduction à des différents degrés correspondant au pouvoir électroattracteur.

Les espèces *Pelargonium graveolens* L'Hér, *Lavandula dentata* L. récoltées dans la région Marechou (Mila) et l'*Arbutus unedo* L. collectée dans la région d'El Milia (Jijel) ont subi une extraction hydraulique pour obtenir leurs huiles essentielles qui se sont révélées riches en monoterpénoïdes après l'analyse chromatographique et l'identification structurale de leurs composants en utilisant CG/MS.

Sept produits ont été isolés et purifiés de l'extrait AcOEt issu de l'espèce *A. unedo* dont deux ont été identifiés comme étant *p*-hydroxybenzoylarbutine et la quercitrine.

La détermination des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits MeOH, *n*-BuOH, AcOEt et CHCl₃ des espèces d'*A. unedo* a révélé que l'extrait *n*-BuOH suivi de l'extrait AcOEt sont riches en flavonoïdes et en polyphénols, de sorte que leur activité antioxydante, testée en utilisant les méthodes DPPH, ABTS, CUPRAC et Phenanthroline, s'est avérée meilleure que celles des extraits MeOH et CHCl₃.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles des deux espèces, *P. graveolens* et *L. dentata* a été évaluée en déterminant les diamètres des zones d'inhibition, les concentrations minimales inhibitrices (CMIs) et bactéricides (CMBs).

Les extraits CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH de l'espèce *A.unedo* ont été également testés pour leur activité antibactérienne contre les souches : *E.coli* ; *S.aureus* ; *Salmonella typhimurium* ; *Morganella morganii* ; *P.aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* en utilisant la méthode de diffusion en gélose et ont montré un effet bactériostatique important en déterminant leurs CMIs contre chaque espèce bactérienne, et plus particulièrement le pouvoir inhibiteur s'est avéré meilleur dans le cas des extraits *n*-BuOH et CHCl₃ vis-à-vis des souches : *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (Gram positif) et *Acinetobacter baumannii* (Gram négatif) ,une souche cliniquement isolée à des CMIs = **585 ± 63,64 µg/mL** et **589,5 ± 19,09 µg/mL**, respectivement.

Les activités d'inhibition enzymatique testées sur les extraits obtenus de l'espèce *A. unedo*, sont également liées à leur effet antioxydant, agissant sélectivement au niveau cellulaire.

Il convient de noter que ces extraits et leurs composants peuvent renforcer le système de défense enzymatique antioxydant et jouer un rôle important dans la prévention des maladies causées par des infections parasitaires telles que le psoriasis et l'eczéma, ou de certains troubles métaboliques tels que le diabète sucré et la maladie d'Alzheimer.

La catéchine et l'arbutine, deux molécules isolées de l'espèce *A. unedo*, ont donné des scores énergétiques importants dans leurs interactions avec les sites actifs (**2ZE0**) et (**1HNY**) des cibles α -glucosidase et α -amylase respectivement par le biais de différentes liaisons importantes avec des résidus clés. En particulier, la catéchine (**-9 kcal/mol** avec le site actif de α -glucosidase et **-8,6 kcal/mol** avec le site actif de α -amylase) a entraîné des affinités avec des scores énergétiques meilleurs que ceux donnés par l'arbutine (**-6,9 kcal/mol** avec le site actif de α -glucosidase et -

6,6 kcal/mol avec le site actif de α -amylase). En outre, le score énergétique de la catéchine s'est avéré meilleur que celui de l'acarbose (**-7,8 kcal/mol**) utilisé comme référence.

Cette molécule naturelle pourrait être utilisée comme composant d'un médicament candidat prometteur pour le traitement du diabète.

Les composés phytochimiques, séparés de l'espèce *A. serratifolia* Salisb. à partir de Pr(1) jusqu'à Pr(12) ont été testés pour leurs propriétés pharmacocinétiques et ainsi une simulation en appliquant le docking moléculaire a été réalisée au site liant principal de la protéase (**PDB ID : 6Y84**) en utilisant les logiciels AutoDock Vina et UCSF Chimera, ainsi que les propriétés ADMET et la similitude médicamenteuse de ces molécules ont été calculées respectivement à l'aide de l'application Web preADMET et du serveur ADME suisse respectivement, afin d'identifier lesquels de ces produits naturels sont potentiellement responsables de cette activité inhibitrice. Toutes les molécules testées ont induit des affinités dans la poche d'interaction (PDB ID : 6Y84), avec des scores énergétiques allant de modérés à meilleurs (de -6,4 à -8,00 kcal/mol).

Le produit Pr(6) suivi de Pr(8) et Pr(9) présentent une excellente similitude médicamenteuse et de bonnes propriétés pharmacocinétiques ADMET sans aucune violation des différentes règles conformes aux normes internationales. Il convient de noter que les molécules Pr(2) et Pr(7) ont été repérées comme des meilleurs inhibiteurs avec des affinités de liaison (-7,7 kcal/mol et -8,0 kcal/mol), respectivement.

Résumés

Résumé

Les composés aromatiques contenant des fonctions azo ou azoxy sont largement utilisés dans l'industrie chimique comme pigments de coloration, additifs alimentaires, indicateurs, initiateurs de réactions radicalaires et agents thérapeutiques.

Le traitement des nitroarènes avec du borohydrure de sodium dans de l'éthanol alcalin en présence de quantités catalytiques de diséléniure de diphenyle à température ambiante conduit à la formation des composés azoxyarènes correspondants par la réaction des nitroarènes avec du phénylséléniure de sodium engendré *in situ*. À des températures plus élevées, une réduction supplémentaire en composés azoarènes peut avoir lieu.

Une étude phytochimique a été menée sur les parties aériennes de trois plantes médicinales algériennes : *Pelargonium graveolens* L'Hér, *Lavandula dentata* L. récoltées dans la région Marechou (Mila) et l'espèce *Arbutus unedo* L. collectée dans la région d'El Milia (Jijel) en matière d'extraction hydraulique des huiles essentielles (HE) dont leurs compositions ont été analysées et identifiées en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). Les rendements d'extraction ont été estimés comme suit : (0,02236%) de l'HE obtenue de l'espèce *P. graveolens* L'Hér. (0,1543%) de l'HE obtenue de l'espèce *L. dentata* L. et (0,012%) de l'HE obtenue de l'espèce *A. unedo* L., si bien que les molécules majoritaires isolées sont le β -citronellol (14,46%); δ -sélénène (12,32%); *trans*-géraniol (11,73%) issues de *P. graveolens*, puis le 1,8-cinéole (34,84%), *L*-camphre(11,78%), fenchone (5,44%) isolées de *L. dentata* et le menthone (67,13%); pulégone (15,38%); *D*-limonène (2,84%) isolées de *A. unedo*. Il est intéressant de noter que ces trois espèces sont riches en monoterpénoïdes: *A. unedo* (90,29%); *L. dentata* (56,39%) et *P. graveolens* (48,3%).

La séparation et la purification de sept produits de l'extrait AcOEt de l'espèce *A. unedo* ont été effectuées par la combinaison des méthodes chromatographiques (CC de gel de silice et de sephadex, CCM et papier Whatman), alors que l'identification structurale de deux produits : le *p*-hydroxybenzoylarbutine et la quercitrine a été effectuée en utilisant les techniques spectroscopiques : UV ; RMN 1D (¹H, ¹³C) et RMN 2D (HSQC, HMBC et COSY) et par comparaison avec des données de la littérature.

L'extrait *n*-BuOH de l'espèce *A. unedo* présente des teneurs en flavonoïdes et en polyphénols plus élevés, suivi de l'extrait AcOEt, puis l'extrait MeOH, alors que l'extrait CHCl₃ en contient des quantités moyennes, de sorte que les taux d'inhibition des radicaux libres et ainsi le pouvoir réducteur exercé par les extraits **AcOEt** et ***n*-BuOH** sont proches de ceux de l'antioxydant standard **BHA** du fait que les fractions polaires renferment des groupes donneurs d'atomes d'hydrogène.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des deux espèces ***P. graveolens*** et ***L. dentata*** vis-à-vis de cinq souches de référence ATCC: *Staphylococcus aureus* 25923 et *Enterococcus faecalis* 29212 (Gram positif); *Escherichia coli* 25922, *Klebsiella pneumoniae* 700603 et *Pseudomonas aeruginosa* 25953 (Gram négatif) en utilisant la méthode de diffusion sur gélose avec la détermination des CMI se sont avérés être en faveur pour les deux extraits huileux contre *Enterococcus faecalis* 29212 avec des zones d'inhibition de 32 mm et 26 mm respectivement, en constatant un effet plus performant que l'antibiotique testé, **la gentamicine** (20 mm). De plus, l'huile de *L. dentata* a induit des zones d'inhibition importantes contre *S. aureus* 25923 et *E. coli* 25922 avec les valeurs suivantes de 18 mm et 11 mm, respectivement, tandis que la concentration minimale inhibitrice a été estimée à 3,12 mg/mL.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits AcOEt, *n*-BuOH CHCl₃ de l'espèce *A. unedo* contre onze souches bactériennes, a montré un effet inhibiteur significatif exercé par les deux extraits *n*-BuOH et CHCl₃ vis-à-vis des souches : *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (Gram positif) et *Acinetobacter baumannii* (Gram négatif) isolée cliniquement avec des **CMI**s = **585 ± 63,64 µg/mL** et **589,5 ± 19,09 µg/mL**) respectivement.

La mesure de la capacité inhibitrice envers l'acétylcholinestérase (activité anti-Alzheimer), réalisée sur les extraits MeOH, *n*-BuOH, AcOEt et CHCl₃ a révélé que tous ces extraits ont un effet inhibiteur contre l'enzyme acétylcholinestérase à différents degrés, mais cet effet a été trouvé inférieur à celui de la galantamine utilisé comme médicament de référence dont la valeur sa concentration inhibitrice **CI₅₀ = 6,27 ± 1,15 µg/mL**, à l'exception de l'extrait MeOH qui a présenté une activité proche de celle de la galantamine (**CI₅₀ = 8,40 ± 0,18 µg/mL**), et ainsi l'activité inhibitrice des deux phases AcOEt et *n*-BuOH (**CI₅₀ = 11,53 ± 0,10 ; 11,23 ± 0,22 µg/mL**) contre l'enzyme acétylcholinestérase s'est avérée meilleure que celle de la phase CHCl₃.

Les résultats des tests d'inhibition de α -glucosidase et α -amylase (activité antidiabétique) ont montré que l'extrait MeOH avec ses concentrations inhibitrices ($CI_{50} = 49,05 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de α -glucosidase et $CI_{50} = 10,57 \pm 0,59 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de α -amylase) est doté d'un pouvoir inhibiteur supérieur à ceux des autres molécules testées : la catéchine ($CI_{50} = 70,42 \pm 0,14 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de α -glucosidase et $CI_{50} = 56,17 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de α -amylase) et l'arbutine ($CI_{50} = 241,6 \pm 0,56 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de α -glucosidase et $CI_{50} = 743,44 \pm 0,51 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de α -amylase), et même les activités inhibitrices de cet extrait et ses composants se sont révélées meilleures que celle de l'acarbose ($CI_{50} = 275,43 \pm 1,59 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de α -glucosidase et $CI_{50} = 3650,93 \pm 10,70 \mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de α -amylase). Le docking moléculaire de la catéchine et l'arbutine avec les sites actifs (**2ZE0**) et (**1HNY**) des cibles α -glucosidase et α -amylase respectivement, a montré que les interactions moléculaires sont principalement introduites par différentes liaisons importantes en induisant des affinités avec de meilleurs scores énergétiques pour la catéchine (**-9 kcal/mol**) avec le site actif de α -glucosidase et (**-8,6 kcal/mol**) avec le site actif de α -amylase) par rapport à celles de l'arbutine (**-6,9 kcal/mol** avec le site actif de α -glucosidase et (**-6,6 kcal/mol**) avec le site actif de α -amylase). De plus, le score énergétique de la catéchine s'est avéré meilleur que celui de l'acarbose (**-7,8 kcal/mol**) utilisée comme référence. Cette molécule naturelle pourrait être utilisée comme composant d'un médicament candidat prometteur pour le traitement du diabète.

L'étude *in silico* et la simulation moléculaire en appliquant le docking et les propriétés ADMET sur les molécules bioactives de l'espèce *A. serratifolia* a été réalisée sur douze produits naturels de Pr(1) jusqu'à Pr(12) afin d'examiner leur pouvoir inhibiteur envers SARS-CoV-2.

Les produit **Pr(6)**, suivi de **Pr(8)** et **Pr(9)**, présentent une excellente similitude médicamenteuse et de bonnes propriétés pharmacocinétiques ADMET sans aucune violation des différentes règles liées aux normes internationales. De plus, les molécules **Pr(7)** et **Pr(2)** se sont avérées être de bons inhibiteurs de la principale protéase du SRAS-CoV-2, conduisant à de meilleures affinités avec des scores énergétiques de (-8,0 kcal/mol) et (-7,70 kcal /mol) respectivement, et sont même plus efficaces que les antiviraux de référence : **Ritonavir** et **Nirmatrelvir** (-1,73 et -1,93 kcal/mol) respectivement.

Les mots clés : Fonctions azo ou azoxy, nitroarènes, diséléniure de diphenyle, *Pelargonium graveolens* L'Hér, *Lavandula dentata* L, *Arbutus unedo* L, huile essentielle, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité anti-Alzheimer, activité antidiabétique, étude *in-silico*.

Abstract

Aromatic compounds containing azo or azoxy functions are widely used in the chemical industry as color pigments, food additives, indicators, initiators of free-radical reactions and therapeutic agents. The treatment of nitroarenes with sodium borohydride in alkaline ethanol in the presence of catalytic amounts of diphenyldiselenide at room temperature leads to the formation of the corresponding azoxyarene compounds through the reaction of nitroarenes with sodium phenylselenide generated *in situ*. At higher temperature, further reduction to azoarene compounds can take place.

A phytochemical study was carried out on the aerial parts of three Algerian medicinal plants: *Pelargonium graveolens* L'Hér, *Lavandula dentata* L. collected from the Marechou region (Mila) and the species *Arbutus unedo* L. collected from the El Milia (Jijel) region, for hydraulic extraction of essential oils (EO), whose compositions were analyzed and identified using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Extraction yields were estimated as follows: (0.02236%) of the EO obtained from the species *P. graveolens* L'Hér. (0.1543%) of the EO obtained from the species *L. dentata* L. and (0.012%) of the EO obtained from the species *A. unedo* L., so that the majority molecules isolated are β -citronellol (14.46%); δ -selinene (12.32%); *trans*-geraniol (11.73%) from *P. graveolens*, followed by 1,8-cineole (34.84%), *L*-camphor (11.78%), fenchone (5.44%) from *L. dentata* and menthone (67.13%); pulegone (15.38%); *D*-limonene (2.84%) from *A. unedo*. Interestingly, all three species are rich in monoterpenoids, with *A. unedo* (90.29%), *L. dentata* (56.39%) and *P. graveolens* (48.3%).

Separation and purification of four products from the EtOAc extract of *A. unedo* were carried out using a combination of chromatographic methods (silica gel and sephadex CC, TLC and Whatman paper), while the structural identification of two products: *p*-hydroxybenzoylarbutin and quercitrin, was carried out using the following techniques: UV; 1D NMR (¹H, ¹³C) and 2D NMR (HSQC, HMBC and COSY) and by comparison with literature data.

The *n*-BuOH extract of *A. unedo* species shows higher flavonoid and polyphenol contents, followed by the EtOAc extract, then the MeOH extract, while the CHCl₃ extract contains average quantities, so that the free radical inhibition rates and thus the reducing power exerted by the EtOAc and *n*-BuOH extracts are close to those of the standard antioxidant BHA, as the polar fractions contain hydrogen atom donor groups.

The results of the evaluation of the antibacterial activity of essential oils from the two species *P. graveolens* and *L. dentata* against five ATCC reference strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (Gram-positive) and *Acinetobacter baumannii* (Gram-negative) clinically isolated with MICs = 585 ± 63.64 µg/mL and 589.5 ± 19.09 µg/mL respectively.

The assessment of the inhibitory capacity towards acetylcholinesterase (anti-Alzheimer activity), carried out on MeOH, *n*-BuOH, EtOAc and CHCl₃ extracts revealed that all these extracts have an inhibitory effect against the acetylcholinesterase enzyme to varying degrees, but this effect was found to be lower than that of galantamine used as a reference drug, whose inhibitory concentration value IC₅₀ = 6.27 ± 1.15 µg/mL, except for the MeOH extract which showed an activity close to that of galantamine (IC₅₀ = 8.40 ± 0.18 µg/mL), and thus the inhibitory activity of both EtOAc and *n*-BuOH phases (IC₅₀ = 11.53 ± 0.10 ; 11.23 ± 0.22 µg/mL) against the enzyme acetylcholinesterase was better than that of the CHCl₃ phase.

The results of the α-glucosidase and α-amylase inhibition tests (anti-diabetic activity) showed that the MeOH extract with its inhibitory concentrations (IC₅₀ = 49.05 ± 0.23 µg/mL for α-glucosidase inhibitory activity and IC₅₀ = 10.57 ± 0.59 µg/mL for α-amylase inhibitory activity) has a higher inhibitory power than the other molecules tested: catechin (IC₅₀ = 70.42 ± 0.14 µg/mL for α-glucosidase inhibitory activity and IC₅₀ = 56.17 ± 0.82 µg/mL for α-amylase inhibitory activity) and arbutin (IC₅₀ = 241.6 ± 0.56 µg/mL for α-amylase inhibitory activity), and even the inhibitory activities of this extract and its components were found to be better than those of acarbose (IC₅₀ = 275.43 ± 1.59 µg/mL for α-glucosidase inhibitory activity and IC₅₀ = 3650.93 ± 10.70 µg/mL for α-amylase inhibitory activity).

Molecular docking of catechin and arbutin with the active sites (**2ZE0**) and (**1HNY**) of the α-glucosidase and α-amylase targets respectively, showed that molecular interactions are introduced by different important bonds inducing affinities with good energy scores for catechin ((-9 kcal/mol) with the α-glucosidase active site and (-8.6 kcal/mol) with the α-amylase active site) compared with those for arbutin (-6.9 kcal/mol with the α-glucosidase active site and (-6.6 kcal/mol) with the α-amylase active site).

In addition, the energy score of catechin was found to be better than that of acarbose (-7.8 kcal/mol) used as a reference. This natural molecule could be used as a component of a promising drug candidate for the treatment of diabetes.

The *in silico* study by applying molecular docking and ADMET properties of bioactive molecules from *A. serratifolia* species was carried out on twelve natural products from Pr(1) to Pr(12) to examine their inhibitory potency towards SARS-CoV-2.

The products Pr(6) followed by Pr(8) and Pr(9) show excellent drug similarity and good ADMET pharmacokinetic properties, without any violation of various standard rules. In addition, Pr(7) and Pr(2) were proved to be good inhibitors of the main SARS-CoV-2 protease, resulting in better affinities with energy scores of (-8.0 kcal/mol) and (-7.70 kcal/mol) respectively, and even more effective than the reference antivirals **Ritonavir** and **Nirmatrelvir** (-1.73 and -1.93 kcal/mol) respectively.

Keywords: Azo or azoxy functions, nitroarenes, diphenyldiselenide, *Pelargonium graveolens* L'Hér, *Lavandula dentata* L, *Arbutus unedo* L, essential oil, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antibacterial activity, anti-Alzheimer activity, antidiabetic activity, *in silico* study.

ملخص

تُستخدم المركبات العطرية التي تحتوي على وظائف أزو وأزوكسي على نطاق واسع في الصناعة الكيميائية مثل أصباغ التلوين والمضافات الغذائية والمؤشرات ومسببات التفاعل الجذري والعوامل العلاجية. تؤدي معالجة مركبات النيترو العطرية مع بوروهيدريد الصوديوم في الإيثانول القلوي مع وجود كميات محفزة من ثنائي الفينيل ثنائي السيليني في درجة حرارة الغرفة إلى تكوين مركبات الأروكسيارين المقابلة عن طريق التفاعل مع فينيل سلينيديوم المتولد في الموقع في درجات حرارة أعلى، يمكن أن يحدث مزيد من الاختزال لمركبات الأزو العطرية. تم إجراء دراسة كيميائية نباتية على الأجزاء الهوائية لثلاث نباتات طبية جزائرية: *graveolens* L'Hér، *Lavandula dentata* L. و *Pelargonium* تم قطعها من منطقة Marechou (ميلة) و *Arbutus unedo* L تم جمعها من منطقة El Milia (جيجل) من أجل استخلاص الزيوت العطرية التي تم تحليل تركيباتها وتحديد استخدامها باستخدام كروماتوجرافيا الغاز إلى جانب قياس الطيف الكتلي (CG/MS). تم تقدير محصول الاستخلاص على النحو التالي: (0.02236%) من الزيت العطري المستخرج من نوع *P. graveolens* L'Hér ؛ (0.1543%) من الزيت العطري المستخرج من نوع *Lavandula dentata* L. و (0.012%) من زيت عطري تم الحصول عليه من نوع *A. unedo*، بحيث كانت معظم الجزيئات المعزولة هي: سيترونيولول بيتا (14.46%)، سيلينين دلتا (12.32%) و جيرانيول ترونس (11.73%) من *P. graveolens* L'Hér. سيينول-1، 8 (34.84%)، ل-كافور (11.78%) و فنشون (5.44%) معزولة عن *Lavandula dentata* L. منتون (67.13%)، بوليغون (15.38%)، د- الليمونين (2.84%) معزول من *Arbutus unedo* L. من المثير للاهتمام أن نلاحظ أن هذه الأنواع الثلاثة غنية بمونوتربينويدات حيث تأتي في المقام الأول

. 48.3% *P. graveolens* L'Hér. و 56.39% *Lavandula dentata* L. ثم 90.29% *Arbutus unedo*

يحتوي مستخلص البيوتانول من فصيلة *Arbutus unedo* L. على محتوى أعلى من الفلافونويد والبولىفينول، يليه مستخلص الأسيئات الإيثيلي، ثم المستخلص الميثانولي، بينما يحتوي مستخلص الكلوروفورم على كميات متوسطة، بحيث تكون معدلات تثبيط الجذور الحرة وبالتالي القدرة المختزلة المبذولة من طرف مستخلص الأسيئات الإيثيلي ومستخلص البيوتانول قريبة من تلك المبذولة من طرف مضادات الأكسدة القياسية BHA لأن الشقوق المستقطبة تحتوي على مجموعات مانحة لذرات الهيدروجين.

تم فصل وتنقية أربع مركبات من مستخلص الأسيئات الإيثيلي لنوع *Arbutus unedo* L. من خلال إستعمال الطرق الكروماتوجرافية (كروماتوجرافيا العمود من السيليكا جال و sephadex و كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة و ورق Whatman) ، في حين تم الفصل في تحديد البنية الكيميائية للمركبات باستخدام تقنيات التحليل الطيفي: الأشعة فوق البنفسجية، طيف الرنين المغناطيسي النووي للبروتون-1 والكربون-13، NMR أحادي وثنائي البعد (HMBC، HSQC، COSY) وبالمقارنة مع المعطيات المرجعية.

تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لنوعين *P. graveolens* L'Hér و *Lavandula dentata* L. ضد خمس سلالات مرجعية من *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* ATCC (موجبة الجرام) ؛ *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* ATCC و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (سالبة الجرام) من خلال تطبيق طريقة الانتشار على أجار من أجل تحديد التركيزات المثبطة الدنيا ، وأثبتت النتائج أنها في صالح المستخلصين الزيتين ضد *Enterococcus faecalis* مع مناطق التثبيط : 32 مم و 26 مم على التوالي ، مع ملاحظة تأثير أكثر كفاءة من المضاد الحيوي الذي تم اختباره ، جنتاميسين (20 مم). بالإضافة إلى ذلك، تسبب زيت *Lavandula dentata* L في إحداث مناطق تثبيط جيدة ضد *S.aureus* و *E. coli* بالقيم التالية: 18 مم و 11 مم على التوالي ، في حين وجد أن أقل تركيز مثبط 3.12 مغ / مل.

أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات الأسيئات الإيثيلي، مستخلص البيوتانول والكلوروفورم من النوع *Arbutus unedo* أن تأثيراً مثبطاً كبيراً يمارسه مستخلصي البيوتانول والكلوروفورم ضد السلالات: *Staphylococcus aureus* (موجبة الجرام) و *Acinetobacter baumannii* (سلبية الجرام) معزولين سريريًا مما مسببة تركيزات مثبطة دنيا 585 ± 63.64 ميكروغرام / مل و 589.5 ± 19.09 ميكروغرام / مل، على التوالي.

أظهر تقييم القدرة التثبيطية تجاه أستيل كولين استراز (نشاط مضاد للزهايمر) ، الذي تم إجراؤه على مستخلصات الميثانول، البيوتانول ، الأسيئات الإيثيلي والكلوروفورم، أن كل هذه المستخلصات لها تأثير مثبط ضد إنزيم أستيل كولين استراز بدرجات مختلفة ، ولكن فعالية هذا التأثير كانت أقل من فعالية الجالانتامين المستخدم كدواء مرجعي ، حيث قيمة تركيزه المثبط الدنيا 6.27 ± 1.15 ميكروغرام / مل ، باستثناء مستخلص الميثانول الذي أظهر نشاطاً قريباً من نشاط الجالانتامين حيث وجدت قيمة تركيزه المثبط الدنيا 8.40 ± 0.18 ميكروغرام / مل ، في حين وجد أن النشاط المثبط لمستخلصي الأسيئات الإيثيلي 11.53 ± 0.10 ميكروغرام / مل والبيوتانول 11.23 ± 0.22 ميكروغرام / مل ضد إنزيم أستيل كولين استراز أفضل من النشاط المثبط لمستخلص $CHCl_3$.

أظهرت نتائج اختبارات تثبيط الألفا غلوكوزيداز و الألفا أميلاز α -glucosidase و α -amylase للنشاط المضاد لمرض السكر أن مستخلص الميثانول بتركيزاته المثبطة (49.05 ± 0.23 ميكروغرام / مل في النشاط المثبط لألفا غلوكوزيداز و 10.57 ± 0.59 ميكروغرام / مل في النشاط المثبط لألفا أميلاز) له قدرة تثبيط أكبر من الجزينات الأخرى المختبرة: catéchine الكاتشين (70.42 ± 0.14 ميكروغرام / مل في النشاط المثبط لألفا غلوكوزيداز و 56.17 ± 0.82 ميكروغرام / مل في النشاط المثبط لألفا أميلاز) و أربيتين (241.6 ± 0.56 ميكروغرام / مل في النشاط المثبط لألفا غلوكوزيداز و 743.44 ± 0.51 ميكروغرام / مل في النشاط المثبط لألفا أميلاز) ، وكذلك وجد أن الأنشطة المثبطة لهذا المستخلص ومكوناته أفضل من نشاط أكاربوز (275.43 ± 1.59 ميكروغرام / مل في النشاط المثبط لألفا غلوكوزيداز و 3650.93 ± 10.70 ميكروغرام / مل في النشاط المثبط لألفا أميلاز).

أظهر الالتحام الجزيئي للكاتشين و أربيتين بالمواقع النشطة (2ZE0) و (1HNY) لإنزيمات الألفا غلوكوزيداز و الألفا أميلاز على التوالي ، أن التفاعلات الجزيئية تتم بواسطة روابط مهمة مختلفة عن طريق تحفيز التفاعلات الطاقوية بدرجات أفضل بالنسبة للكاتشين (-9.0 كيلو كالوري / مول) مع الموقع النشط لألفا غلوكوزيداز و (-8.6 كيلو كالوري / مول) مع الموقع النشط لألفا أميلاز مقارنة بأربيتين (-6.9 كيلو كالوري / مول) مع الموقع النشط لألفا غلوكوزيداز و (-6.6 كيلو كالوري / مول) مع الموقع النشط لألفا أميلاز

بالإضافة إلى ذلك ، وجد أن درجة الطاقة لكاتشين أفضل من تلك المبذولة من طرف أكاربوز (-7.8 كيلو كالوري / مول) المستخدم كمرجع.

أجريت الدراسة *in silico* باستخدام الالتحام الجزيئي وخصائص ADMET للجزيئات النشطة بيولوجيًا للنوع *A. serratifolia* على اثني عشر منتجًا طبيعيًا من Pr(1) إلى Pr(12) من أجل فحص قدرتها التثبيطية تجاه SARS-CoV-2. وجد أن المركبات Pr (6) متبوعة بـ Pr (8) و Pr (9) تتميز بتشابه دوائي ممتاز وخصائص حركية دوائية جيدة ADMET دون أي انتهاك للقواعد القياسية المختلفة. بالإضافة إلى ذلك، لقد تم إثبات أن المركبات Pr (7) و Pr (2) مثبطات جيدة للبروتياز الرئيسي لـ SARS-CoV-2 من خلال إحداهن تفاعلات طاقوية أفضل بدرجات طاقوية تقدر بـ (-8.0 كيلو كالوري / مول) و (-7.70 كيلو كالوري / مول) على التوالي، بل وقد ثبت أنها أكثر فعالية من مضادات الفيروسات المرجعية: ريتونافير ونيرماتريلفير (-1.73 و -1.93 كيلو كالوري / مول) على التوالي.

الكلمات الدالة

وظائف أزو أوكسي، مركبات النيترووالعطرية، ثنائي الفينيل ثنائي السيليني *A. unedo*، *L. dentata*، *P. gavalens* L'Hér، زيت أساسي، بوليفينول، فلافونويد، نشاط مضاد للأوكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للزهايمر، نشاط مضاد لمرض السكر، دراسة *in silico*.