

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

UNIVERSITE FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE 1
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre :29/D3C/2018
Série :05/Ch/2018

THESE

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

Spécialité : Chimie Organique

Option : Analyses Physicochimiques, Contrôle de la Qualité et Synthèse de
Substances Bioactives

PAR

M^{elle} Widad OURZEDDINE

**Etude Chimique et Biologique de Plantes Médicinales
Algériennes, cas des Espèces *Zizyphus lotus* et *Fagonia
longispina***

Devant le jury :

Pr. MEKKIOU Ratiba	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Présidente
Pr. BENAYACHE Samir	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Directeur de thèse
Pr. BENAYACHE Fadila	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Rapporteuse
Pr. BOUMAZA Ouahiba	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Examinatrice
Pr. KHELLILI Smain	Université Mohammed Seddik Benyahia Jijel	Examineur
MCA. BOUBEKRI Cherifa	Université Hamma Lakhdar, Oued Souf	Examinatrice

16 Avril 2018

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

UNIVERSITE FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE 1
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre :

Série :

THESE

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

Spécialité : Chimie Organique

Option : Analyses Physicochimiques, Contrôle de la Qualité et Synthèse de
Substances Bioactives

PAR

M^{elle} Widad OURZEDDINE

**Etude Chimique et Biologique de Plantes Médicinales
Algériennes, cas des Espèces *Zizyphus lotus* et *Fagonia
longispina***

Devant le jury :

Pr. MEKKIOU Ratiba	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Présidente
Pr. BENAYACHE Samir	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Directeur de thèse
Pr. BENAYACHE Fadila	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Rapporteuse
Pr. BOUMAZA Ouahiba	Université Frères Mentouri, Constantine 1	Examinatrice
Pr. KHELLILI Smain	Université Mohammed Seddik Benyahia Jijel	Examineur
MCA. BOUBEKRI Cherifa	Université Hamma Lakhdar, Oued Souf	Examinatrice

16 Avril 2018

Remerciements

Tout d'abord, Je tiens à remercier Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce travail.

Je tiens particulièrement à remercier mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur **Samir BENAYACHE**, pour m'avoir accueillie au sein de son équipe et m'avoir donné la possibilité de mener à bien ce travail de thèse, ainsi que, pour ses efforts entrepris à résoudre les problèmes administratifs que j'ai rencontrés au début. Je le remercie également pour m'avoir accordé un stage dans le cadre de son projet PCI (Programme de Coopération Interuniversitaire Algéro-Espagnole), et pour sa gentillesse, ses précieux conseils, ses critiques constructives, ses encouragements et sa disponibilité.

J'adresse chaleureusement mes remerciements à madame la Professeure **Fadila BENAYACHE** la rapporteuse pour la soutenance, pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail, ses encouragements pour finir ce manuscrit, sa gentillesse, ses judicieux conseils, son aide précieuse, sa disponibilité pour tous ceux qui en exprime le besoin. Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.

J'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à la Professeure **Ratiba MEKKIOU** pour leur gentillesse et pour le grand honneur qu'elle me fait, en acceptant de présider le jury désigné pour ma thèse.

J'adresse également mes remerciements à Madame la Professeure **Ouahiba BOUMAZA** pour leur gentillesse, et pour l'honneur qu'elle me font en acceptant de juger ce travail.

Je tiens également à remercier Madame **Cherifa BOUBEKRI** Maître de conférences à l'université d'Oued Souf, et Monsieur **Smain KHELLILI** Professeur à l'université de Jijel, qui m'honorent en acceptant de faire partie du jury de ma thèse.

Je remercie sincèrement madame la professeure **Nunziatina De TOMMASI**, professeur à l'université Salerno, Italie, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire en m'offrant tous les moyens et les conditions pour réaliser mon travail ainsi son équipe, particulièrement **Nicola MALAFRONTI** que je tiens à remercier pour m'avoir constamment guidée et aidée et pour sa gentillesse et ses qualités humaines.

Je tiens également à adresser mes remerciements au docteur **Ignacio BROUARD** directeur de recherche et au professeur **BERMEJO Jaime** de «Institut de Productos Naturales y Agrobiologia-CSIC, Instituto Universitario de Bioorganica, Antonio Gonzalez. La Laguna, Tenerife, Espagne» pour m'avoir accueillie dans leur laboratoire durant mes séjours de stage et pour leur soutien et leurs encouragements.

J'aimerais également exprimer mes vifs remerciements au docteur **Francisco LEON** (Instituto de Productos Naturales y Agrobiologia-CSIC, Instituto Universitario de Bioorganica, Antonio

Gonzalez, la Laguna, Tenerife, Espagne) pour ses qualités humaines et scientifiques, sa gentillesse, et pour leur soutien durant mes séjours de stage.

Je remercie Madame **Djamila ZAMA**, Professeure à l'Université Frères Mentouri, et son équipe de recherche, pour la réalisation des essais biologiques.

Je tiens à remercier tous les membres de notre unité de recherche **VARENBIOMOL** pour leur disponibilité, leur soutien, leur encouragement et leur bonne humeur, qui assurent une atmosphère donnant envie de travailler plus. Je cite en particulier : Sihem, Nihed, Randa, Sara Aouabdia, Khawla, Nassima, Nawal, Chahrazad, Djihene, Imene, Houria, feryal, Hanane Aissaoui, Laila Hamoude, Hanene Belbache, Soumia, Halima, Yasmine, sarah boussaha, merieme, Hanane Achoube, wassila, Hichem, Omar, Tarek, Tamer

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

Dédicace

Je dédie ce travail et ma profonde reconnaissance à mon cher papa et ma chère maman pour leurs sacrifices, leur soutien, leurs prières et leur présence à chaque instant tout au long de mes études. Que ce travail est le fruit de votre soutien et vos sacrifices ; merci maman, merci papa, sans vous je n'en serais pas là aujourd'hui.

A la mémoire de ma tante Nour-El Houda, qui serait heureuse de constater ce succès, si elle était là.

A mes chères sœurs Ibtissem et Radia et leurs maris Taher et Fateh pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mes chers frères, Mohammed Lamine, Abd'El Djabar et Amir et leurs femmes Nawal et Yasmine pour leurs appui et leurs encouragements

A mes chers neveux et nièces, Louai, Ichrak, Darine, Abd'El Rahmene et Tasnime.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire. Je cite en particulier : Imene, Asma, Ines, Insaf, Chorouk et Ritedj...

A mes chères amies : Randa, Sihem, Nihed, Sara, Khawla, Nabila, et Houria.

Liste des abréviations

Solvants et réactifs

AcOEt	Acétate d'éthyle
AlCl₃	Chlorure d'aluminium
BuOH	<i>n</i> -Butanol
CDCl₃	Chloroforme deutéré
CD₃OD	Méthanol deutéré
CHCl₃	Chloroforme
CH₂Cl₂	Dichlorométhane
DMSO-d₆	Diméthylsulfoxyde deutéré
Et₂O	éther diéthylique
H₃BO₃	Acide borique
HCl	Acide chlorhydrique
H₂O	Eau distillée
MeOH	Méthanol
NaOAc	Acétate de sodium
NaOH	hydroxyle de sodium

Déterminations structurales techniques chromatographiques

Ara	arabinose
ax	Axiale
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CC	Chromatographie sur Colonne
Cq	carbone quaternaire
COSY	Correlated Spectroscopy
<i>d</i>	doublet
<i>dd</i>	doublet de doublets
<i>ddd</i>	doublet de doublets de doublets
<i>dl</i>	doublet large
<i>dt</i>	doublet de triplets
Da	Dalton (unité de masse moléculaire)
DPPH	1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyle.
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
ESI	ElectroSpray Ionization (ionisation par électrospray)
eq	Equatoriale.
Gal	Galactose
GC-FID	chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme

GC-MS	chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
Glc	Glucose
HR	haute résolution
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity.
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Connectivity.
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance.
IC₅₀	Concentration Inhibitrice à 50%.
J (Hz)	Constante de couplage exprimée en Hertz.
<i>m/z</i>	Masse sur charge.
<i>m</i>	Multiplet.
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy.
ppm	parties par million.
Rha	Rhamnose.
RMN ¹H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton.
RMN ¹³C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone treize.
ROESY	Rotational Frame Overhauser Effect Spectroscopy.
RP	Phase inverse.
SM	Spectrométrie de Masse.
<i>s</i>	Singulet.
<i>sl</i>	Singulet large.
TOF	Time Of Flight (Spectrométrie à temps de vol).
<i>t</i>	Triplet.
<i>td</i>	Triplet de doublets.
<i>tt</i>	Triplet de triplets.
TOCSY	Total Correlated Spectroscopy
<i>t_R</i>	Temps de rétention.
UV	Ultra- Violet.
Xyl	Xylose
δ_H	déplacement chimique du proton.
δ_C	déplacement chimique du carbone.
μg EQ/mg d'extrait	microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait.
μg EAG/mg d'extrait	microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

Sommaire

Introduction générale	1
Références	3

Partie I. Etude phytochimique et biologique de *Fagonia longispina* batt.

Chapitre I. synthèse bibliographique

I. Description botanique	4
I.1. la famille des Zygophyllaceae	4
I.2. Classification des Zygophyllaceae	5
I.3. Les Zygophylloideae	6
I.4. Le genre <i>Fagonia</i>	6
II. Propriétés biologiques et pharmacologique de la famille des Zygophyllaceae et le genre <i>Fagonia</i>	7
II.1. Utilisation en médecine traditionnelle	7
II.2. Activités biologique	9
II.2.1. Activité antioxydante	9
II.2.2. Activité anticancéreuse et antitumorale	11
II.2.3. Activité antimicrobienne	12
II.2.4. Activité antidiabétique	13
II.3.2.5. Activité anti-inflammatoire et d'autres activités	13
III. Les métabolites secondaires les plus fréquents de la famille des Zygophyllaceae et le genre <i>Fagonia</i>	14
III.1. la famille des Zygophyllaceae	14
III.2. Le genre <i>Fagonia</i>	19
III.2.1. Triterpènes et saponines	19
III. 2.2. Les stéroïdes	26
III.2.3. Les diterpènes	27
III.2.4. Les monoterpènes	29
III.2.5. Les sesquiterpènes	30
III.2.6. Les acides gras et leurs esters	30
III.2.7. Les flavonoïdes	32

III.2.7.1. Les flavonoles	32
III.2.7.2. Les flavones.....	39
III.2.8. Autres composés	39
Conclusion	40
Références.....	41

Chapitre II. Travaux personnels

I. Investigation phytochimique de <i>Fagonia longispina</i> Batt.	49
I.1. Les critères de choix de l'espèce	49
I.2. Place dans la systématique	49
I.3. Description botanique	49
I.4. Distribution géographique	50
I.5. Usages traditionnels	50
I.6. Les travaux antérieurs sur <i>Fagonia longispina</i>	50
I.7. Matériels et méthodes chromatographique utilisés pour l'étude phytochimique	52
I.8. Protocole Expérimental	53
I.8.1. Récolte du matériel végétal	53
I.8.2. Extraction	53
I.8.2.1. Extraction hydroalcoolique	53
I.8.2.2. Exsudat chloroformique	55
I.9. Etude chromatographique des extraits	55
I.9.1. Traitement de l'exsudat chloroformique.....	55
I.9.1.1. Séparation chromatographique	55
I.9.1.2. Purification des fractions de l'extrait chloroformique	57
I.9.2. Traitement de l'extrait acétate d'éthyle	60
I.9.2.1. Séparation chromatographique.....	60
I.9.2.2. Purification des fractions de l'extrait acétate d'éthyle.....	61
I.9.3. Traitement de l'extrait n-butanol	65
I.9.3.1. Séparation chromatographique	65
I.9.3.2. Purification des fractions de l'extrait n-butanol.....	66
II. Evaluation biologiques de <i>Fagonia longispina</i> Batt.	70
II.1. Activité antibactérienne	70
II.2. Activité antioxydante	71

II.3.Dosage des composés phénoliques totaux	71
II.4.Dosage des composés flavonoïdes totaux	72
Conclusion	72
Références	73

Chapitre III. Résultat et discussion

I. Identification des produits isolés de <i>Fagonia longispina</i> Batt.	74
I.1.Elucidation structurale du composé 1, 2	74
I.1.Elucidation structurale du composé 3.....	75
I.1.Elucidation structurale du composé 4.....	87
I.1.Elucidation structurale du composé 5.....	95
I.1.Elucidation structurale du composé 6.....	101
I.1.Elucidation structurale du composé 7.....	110
I.1.Elucidation structurale du composé 8.....	114
I.1.Elucidation structurale du composé 9.....	120
I.1.Elucidation structurale du composé 10	122
I.1.Elucidation structurale du composé 11.....	124
I.1.Elucidation structurale du composé 12.....	129
I.1.Elucidation structurale du composé 13.....	131
I.1.Elucidation structurale du composé 14.....	137
I.1.Elucidation structurale du composé 15.....	139
I.1.Elucidation structurale du composé 16.....	141
I.1.Elucidation structurale du composé 17.....	145
I.1.Elucidation structurale du composé 18.....	154
II. Activité biologique	157
II.1.Activité antibactérienne.....	157
II.2.Activité antioxydante.....	157
II.3.Dosage des composés phénoliques totaux	158
II.4.Dosage des composés flavonoïdes totaux.....	158
Conclusion.....	159
Références bibliographiques	161

**Partie II. Etude de la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles
essentielles des fruits de *Zizyphus lotus***

Chapitre I. Revue bibliographique

I. La famille des Rhamnaceae	163
I.1. Description de la famille des Rhamnaceae	163
I.2. Classification botanique des Rhamnaceae.....	164
II. Le genre <i>Zizyphus</i>	164
II.1. Description de genre <i>Zizyphus</i>	164
II.2. Propriétés biologiques et pharmacologique du genre <i>Zizyphus</i>	165
II.2.1. Utilisation en médecine traditionnelle.....	165
II.2.2. Activités biologiques.....	166
II.3. Les investigations phytochimique de genre <i>Zizyphus</i>	166
III. L'espèce <i>Zizyphus lotus</i> (L.) Desf	168
III.1. Description botanique.....	168
III.2. Synonymes.....	169
III.3. Place Dans La Systématique.....	169
III.4. Répartition géographique.....	169
III.5. Propriétés biologiques et pharmacologique de <i>Zizyphus lotus</i> (L.) Desf.....	170
III.5.1. Usage traditionnels.....	170
III.5.1.1. <i>Zizyphus lotus</i> et la nutrition.....	170
III.5.1.2. <i>Zizyphus lotus</i> et la santé.....	170
III.5.2. Activité biologique de <i>Zizyphus lotus</i>	170
III.6. La composition chimique de <i>Zizyphus lotus</i> (L.) Desf.....	172
IV. Les huiles essentielles	173
IV.1. Les travaux antérieurs sur les huiles essentielles du genre <i>Zizyphus</i>	173
IV.2. Les travaux antérieurs sur les huiles essentielles de <i>Zizyphus lotus</i>	174
Références bibliographiques.....	176

Chapitre II. description des travaux et discussion des résultats

I. Extraction de l'huile essentielle de <i>Zizyphus lotus</i>	180
I.1. La matière végétale.....	180
I.2. Extraction.....	180

II.1. Analyse GC-FID et GC/MS	180
II.1.1. Analyse GC-FID.....	180
II.1.2. Analyse GC/MS.....	180
III. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de <i>Zizyphus lotus</i>	181
IV. Résultats et discussion	182
IV.1. La composition chimique des huiles essentielles de <i>Zizyphus lotus</i>	182
IV.2. Activité antioxydante des huiles essentielles de <i>Zizyphus lotus</i>	184
Conclusion	185
Références bibliographiques.....	181

Conclusion générale

Résumé

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes constituent la base du système de médecine traditionnelle qui existe depuis des milliers d'années, et elles continuent de fournir à l'humanité des nouveaux remèdes [1]. Au cours des dernières années, l'intérêt de la recherche des médicaments naturels a été augmenté, et les plantes médicinales ont émergé comme alternative aux produits synthétiques [2,3]. En effet, les statistiques montrent que les produits naturels et leurs dérivés représentent plus de 50% des médicaments utilisés dans le monde, ainsi que la formulation d'un quart des prescriptions médicinales est fondée sur les substances extraites des plantes ou analogues synthétiques dérivés des plantes [1].

En Algérie, le traitement par les plantes médicinales fait partie intégrante de la culture locale [4], il constitue la plus importante et parfois la seule source thérapeutique pour près de 50% des humains et plus de 70% des peuples ruraux [5], la population indigène a une connaissance importante acquise empiriquement à travers les générations [4]. De par sa situation géographique et sa diversité climatique, l'Algérie est l'un des plus riches pays arabes avec 3164 espèces végétales [4,6]. Cette grande biodiversité floristique a contribué au développement de la recherche scientifique en Algérie, dans plusieurs domaines tels que : l'ethnomédecine, la pharmacopée traditionnelle et la valorisation des substances naturelles.

S'insérant dans le cadre du programme de recherche de notre unité sur les plantes médicinales algériennes, ce travail de thèse a pour objectif de réaliser une investigation chimique et une évaluation biologique de deux espèces appartenant à la flore algérienne, l'une appartenant à la famille des Zygophyllaceae et l'autre à la famille Rhamnaceae.

Les travaux reportés dans ce manuscrit sont présentés dans deux parties essentielles :

- ◆ La première partie consacrée à l'étude de *Fagonia longispina* Batt. (Zygophyllaceae), est composée dans trois chapitres :
 - ✓ Le premier chapitre renferme une synthèse bibliographique consacrée à la famille des Zygophyllaceae et au genre *Fagonia*. Elle donne un aperçu sur leur composition chimique, leur utilité pharmacologique et leurs usages phytothérapeutiques.
 - ✓ Le deuxième chapitre reporte l'étude phytochimique et biologique de l'espèce *Fagonia longispina* Batt., avec la présentation de toutes les étapes

expérimentales, à commencer par la macération, le fractionnement, la séparation et la purification des composés isolés par l'utilisation des diverses techniques chromatographique (CC, CCM, CLHP), ainsi que les protocoles utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante, l'évaluation de la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes et l'activité antibactérienne.

- ✓ Le troisième chapitre inclut les résultats obtenus suivis de discussions, en particulier l'élucidation structurale des composés isolés qui a été effectuée en utilisant diverses expériences de résonance magnétique nucléaire (^1H , ^{13}C . DEPT, COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY, ROESY), ainsi que l'utilisation de la spectrométrie de masse à haute résolution avec ionisation par électronébulisation (electrospray), et de la spectrophotométrie UV-visible.

- ◆ La deuxième partie est consacrée à l'étude de la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles des fruits de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae), répartis dans deux chapitres :
 - ✓ Le premier chapitre reporte les données bibliographiques sur la famille Rhamnaceae, le genre *Zizyphus* et l'espèce *Zizyphus lotus* (L.) Desf.

 - ✓ Le deuxième chapitre comprend la description des travaux et la discussion des résultats de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles des fruits de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. par l'utilisation des techniques d'analyse GC-FID et GC-MS. Ainsi que, l'évaluation de l'activité antioxydante de cette huile qui a été effectuée en utilisant le teste de blanchiment du β -carotène.

Références bibliographiques

- [1] Kumar, S.; Saini, M.; Kumar, V.; Prakash, O.; Arya, R.; Rana, M.; Kumar, D., Traditional medicinal plants curing diabetes: A promise for today and tomorrow. *Asian Journal of Traditional Medicines* **2012**, 7, 178-88.
- [2] Braithwaite, M. C.; Tyagi, C.; Tomar, L. K.; Kumar, P.; Choonara, Y. E.; Pillay, V., Nutraceutical-based therapeutics and formulation strategies augmenting their efficiency to complement modern medicine: An overview. *Journal of Functional Foods* **2014**, 6, 82-99.
- [3] Materska, M., Bioactive phenolics of fresh and freeze-dried sweet and semi-spicy pepper fruits (*Capsicum annuum L.*). *Journal of Functional Foods* **2014**, 7, 269-277.
- [4] Nouara, B.; Mourad, B.; Lakhdar, K.; Madjda, K.-S., Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale *Peganum harmala l.* dans la région de M'sila. *Revue Agriculture* **2016**, 38 – 42.
- [5] Hammadi, D.; Ahmed, M.; Boudjethia, KW.; Boukhalifa, AI.; Djebli, N., Ethnomedicinal Survey of Medicinal Plants Used in the Western Region of Algeria, *Medicinal & Aromatic Plants* **2015**, 5, 221.
- [6] Vasisht, K.; Kumar, V., Compendium of medicinal and aromatic plants, Vol. 1. *Africa: ICS-UNIDO, Trieste* **2004**.

*Etude chimique et biologique
de Fagonia longispina batt.*

Partie I

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Description botanique

I.1. la famille des Zygophyllaceae

La famille des Zygophyllaceae comporte environ 27 genres et 285 espèces qui se subdivisent en cinq sous-familles [1,2]. Les Zygophyllaceae sont une famille hétérogène de plantes arbustives, arborescentes ou herbacées vivaces, parfois annuelles, elles sont largement distribuées dans les régions arides et semi-arides et dans les régions tropicales et subtropicales [2, 3, 4]. Les feuilles sont généralement simples, composées (2, 3 ou multi-foliole) ou pennatiséquées, elles sont opposées, parfois alternes ou opposées au-dessous et alternes au-dessus, avec ou sans pétioles. Leur forme est linéaire, oblongue, lancéolée, elliptique, cylindrique, ovale ou obovale. Leur apex est aigu, obtus, retusé ou mucroné. Les fleurs sont toujours bisexuées, actinomorphes ou zygomorphes. Elles sont terminales ou axillaires, solitaires ou regroupées en racèmes ou en cymes. Les 4 ou 5 sépales, valvaires ou imbriqués, sont lancéolés, oblongue, ovale ou obovale, avec un apex aigu ou obtus, et une surface glabre ou velu. Les pétales sont généralement 4 ou 5, valvaires ou imbriqués. Ils sont blancs, crèmes, jaunes, roses, mauves ou violets. Leur forme est oblongue, spatulée ou spatulée avec longues griffes, et leur apex est apiculé ou obtus. On trouve 4-5 étamines jusqu'à 3 fois le plus grand nombre de pétales, avec ou sans appendices. L'ovaire est ordinairement supère, loculaire, carpelles soudées, parfois reposant sur un disque nectarifère. Le fruit est une capsule, un schizocrape ou une drupe, tanné ou fragile, avec ou sans ailes. Il est obovale, obconique, oblong, ellipsoïde, sphérique, sous sphérique, pyramidal ou sous forme de disque. Les semences sont ellipsoïdes, oblongues, obovoïde, ovoïde ou plat, lisses, tuberculeuses ou crustacées [4, 5,6]. Le Tableau 1 présente les sous-familles et les genres de cette famille [2,7].

Tableau 1 : Classification de la famille Zygophyllaceae :

Sous-famille	Genres
Zygophylloideae	<i>Zygophyllum</i> (50 espèces) <i>Fagonia</i> (34 espèces) <i>Augea</i> (monotypique) <i>Roepera</i> (60 espèces) <i>Tetraena</i> (40 espèces) <i>Melocarpum</i> (deux espèces)
Tribuloideae	<i>Balanites</i> <i>Kallstroemia</i> <i>Kelleronia</i> <i>Neoluederitzia</i> <i>Sisyndite</i> <i>Tribulopsis</i>

	<i>Tribulus</i>
Seetzenioideae	<i>Seetzenia</i>
Larreoideae	<i>Bulnesia</i> <i>Guaiaacum</i> <i>Larrea</i> <i>Pintoa</i> <i>Plectrocarpa</i> <i>Porlieria</i>
Morkillioideae	<i>Morkillia</i> <i>Sericodes</i> <i>Viscainoa</i>

I.2. Classification des Zygophyllaceae

En raison d'hétérogénéité de la famille des Zygophyllaceae, les études antérieures ont placés les Zygophyllaceae dans différents ordres, par exemple Sapindales, Rutales, Poygalales ; Linales et Geraniales (Cronquist 1968, Takhtajan 1969, 1980, 1983, 1986, Thorne 1992). Soltis et al. (2000) ont mis les Zygophyllaceae et Krameriaceae ensemble dans leur propre commandé Zygophyllales au sein du groupe eurosid I. Cette position a été modifiée dans APG III (2009). Ils l'ont mis au sein du groupe Fabids [4]. Le Tableau 2 présente quelques positions systématiques de la famille au fil du temps [1,8].

Tableau 2 : Position de la famille Zygophyllaceae dans les systèmes de classifications évolutives

	Engler	Cronquist	Thorne	Dahlgren	Takhtajan	APG II
Super-classe						Tricolpées (Eudicots)
classe	Dicotyledonae	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Tricolpées évoluées
Sous-classe	Archichlamydeae	Rosidae	Magnoliidae	Magnoliidae	Rosidae	Rosidae
Super-ordre			Geraniae	Rutanae	Geraniae	Eurosidées I
ordre	Geraniales	Sapindales	Linales	Geraniales	Zygophyllales	
Sous-ordre	Geraniineae					
Famille	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae

Classification APG III (2009) :

Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Rosidées
Clade	Fabidées
Ordre	Zygophyllales
Famille	Zygophyllaceae

I.3. Les Zygophylloideae

La sous famille Zygophylloideae, de la famille Zygophyllaceae comporte 6 genres et environ 180 espèces, distribués dans les zones chaudes, arides et semi-arides du monde entier. Il s'agit de plantes herbacées ou arbustives, annuelles. Les tiges sont glabres, pubescentes ou glandulaires, cylindriques ou angulaires. Les stipules sont ordinairement membraneuses, herbacées ou épineuses, fusionnées ou libres. Les feuilles sont opposées, simples ou composées (1,2 ou parfois jusqu'à 10 folioles), sessiles ou pétiolées, le limbe est linéaire ou orbiculaire, cylindrique ou plat, souvent être mucroné. On trouve 4 ou 5 sépales triangulaires ou oblongs, glabres ou pubescents, caducs ou persistants. Les pétales sont généralement 4 ou 5, griffus, étalés ou connivents, ils sont blancs, jaunes, oranges, rouges ou violets. Le fruit est une capsule loculicide ou un schizocrape. Les semences sont ovoïdes ou plats, noirs ou brunâtres [7].

I.4. Le genre *Fagonia*

Le genre *Fagonia* comprend approximativement 34 espèces. Plantes arbustives ou herbacées pouvant atteindre jusqu'à 60 cm de hauteur avec des tiges glabres, pubescentes ou glandulaires. Les feuilles sont opposées, simples ou composés (1-, 2- ou 3-foliolées, rarement jusqu'à 7 folioles). Les folioles sont largement linéaires à ovales ou obovales, souvent mucronées, avec ou sans pétiole. Les stipules sont libres et épineuses. Les cinq sépales ont un apex aigu-atténué. Les cinq pétales sont obovales, pourpre ou violet. On trouve 10 étamines, filaments sans appendices de basal. L'ovaire est (5-) loculaire, glandulaire et pubescent. Le fruit est une capsule loculicide, le testa extérieur de graine est mucilagineux sans structures internes, le hile est beaucoup plus court que les semences, l'arille est absent [7, 9].

Distribution géographique

Les espèces de *Fagonia* sont principalement des plantes de régions chaudes et arides, on les trouve avec une distribution disjointe dans le nouveau et l'ancien monde. Ils poussent au Mexique, au sud-ouest des USA, au Chili et au Pérou dans le nouveau monde, alors que dans l'ancien monde *Fagonia* est réparti en Afrique du sud, en Macaronésie, au nord d'Afrique jusqu'au sud du Sahel, dans la corne d'Afrique y compris au Kenya dans la partie méridionale de l'Europe, y compris les îles de la Méditerranée et en Asie occidentale notamment au Liban, en Turquie, dans la péninsule arabique, dans l'est de l'Afghanistan et dans l'ouest de l'Inde [9].

En Algérie, il existe 17 espèces de ce genre parmi lesquelles : *F. longispina*, *F. bruguieri*, *F. olivieri*, *F. kahirina* et *F. arabica* [10].

II. Propriétés biologiques et pharmacologiques

II.1. Utilisation en médecine traditionnelle

II.1.1. La famille des Zygophyllaceae

De nombreuses espèces de la famille des Zygophyllaceae sont utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés biologiques notamment : antidiabétique [11], antirhumatismale [12], antitumeur [13], antithrombotique, diurétique [14, 15, 16], antipyrétiques [17], ainsi que pour le traitement des maladies des reins, l'estomac, les maladies de la peau [13]. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples :

Balanites aegyptiaca Del est principalement distribué dans l'Afrique tropicale, ces fruits sont utilisés en médecine traditionnelle égyptienne comme hypoglycémiant par voie orale [11], alors que dans la médecine traditionnelle Indienne l'espèce a été utilisée afin de traiter la psychose, l'épilepsie, et le rhumatisme [12]. Elle est également employée dans le traitement des maladies de l'estomac : la constipation et l'indigestion, la jaunisse, l'affection de la rate, les helminthiases et les maladies de la peau : dermatose, herpès, vitiligo, plaies malignes, gonorrhée, syphilis et contre les poux [13].

Fagonia arabica L est une espèce Saharo-arabique, utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de la jaunisse, la fièvre, les abcès et les aphtes [13].

Peganum harmala L est une espèce connue dans la médecine traditionnelle iranienne sous les noms "Esfand", "Espand" et "Harmal". Elle possède des propriétés carminatives, vermifuges, aphrodisiaques, galactagogues, diurétiques, emménagogues, antithrombotiques [14, 15, 16]. Ainsi que pour le traitement du rhumatisme, des douleurs au dos, de la fièvre, maux de bouche, des herpès, du diabète, de la jaunisse, des helminthiases, des troubles nerveux, de l'eczéma et des tumeurs [13].

Tribulus terrestris L est utilisée traditionnellement pour traiter les maladies des reins, les douleurs intercostales, les rhumatismes, les aphtes, les mycoses, les palpitations, les helminthiases, la dysménorrhée, les affections de la rate, comme aphrodisiaque et contre la baisse de moral [13].

Zygophyllum album L espèce Saharo-Méditerranée, est utilisée pour combattre les maladies du diabète, de la myalgie, des rhumatismes, des douleurs gastriques, crise de foie, des coliques, de la dysménorrhée et de l'eczéma [13].

Larrea divaricata Cav répandue en Argentine, est utilisée traditionnellement pour ces propriétés anti-inflammatoires, antirhumatismales, antipyrétiques et antifongiques [17].

II.1.2. Le genre *Fagonia*

On a attribué la guérison d'une longue liste de maladies et de troubles à plusieurs espèces de *Fagonia* [13,18]. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples :

Fagonia schweinfurthii espèce connue sous le nom «Dhamasha», largement distribuée dans la région désertique de l'Inde [19,20] est utilisée traditionnellement pour combattre le diabète, la jaunisse, la douleur, l'hydropisie, la toux, l'asthme, la variole, contre l'empoisonnement [19, 21,22] et les éruptions cutanées [19,23]. Une décoction aqueuse de la plante a aussi été utilisée pour guérir la bile par les communautés locales en Tapkeshwari colline de Bhuj Taluka, Kachchh, Inde [24]. En outre, elle a été utilisée comme tonique hépatique pour de nombreuses affections du foie par les populations locales [19,21,22].

Fagonia cretica est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter la fièvre, la soif, les vomissements, la dysenterie, l'asthme, les rejets urinaires, les troubles du foie, la typhoïde, les maux de dents, les maux d'estomac et des maladies de la peau [25,26]. De même les résidus obtenus après ébullition dans l'eau sont utilisés comme abortifs. Ces résidus sont appliqués extérieurement comme une pâte pour traiter les tumeurs et autres gonflements du cou. Par

ailleurs la décoction aqueuse est un remède populaire contre le cancer par les populations locales [26,27].

Fagonia arabica L est une plante à goût amer, aigre ou doux selon les différentes étapes de leur croissance. C'est la principale ressource populaire des peuples vivant dans les zones montagneuses pour guérir plusieurs troubles tels que : la soif, les vomissements, les furoncles, les leucodermes, la dysenterie, la typhoïde et l'asthme. De même leurs infusions sont efficaces contre la douleur de la bouche et la stomatite et agit comme un désobstruant [28,29]. Les personnes vivantes à Khyber Pakhtunkhwa utilisent *Fagonia arabica L* pour traiter les maladies de la peau, la petite vérole et les réactions endothermiques du corps [27,28]. Les rameaux de la plante sont utilisés pour traiter les morsures de serpent et sont appliqués extérieurement comme une pâte sur les tumeurs et les gonflements [28-30].

L'extrait de *Fagonia olivieri* a été largement utilisé pour la gestion du diabète et de la toux, décrit comme un agent de refroidissement et purificateur de sang [31,32]. En médecine traditionnelle, la décoction aqueuse des parties aériennes de *F. olivieri* est un remède populaire contre le cancer à un stade précoce et pour le traitement des troubles vasculaires et du système digestif [32,33].

Fagonia bruguieri espèce Saharo-arabique, est également employée traditionnellement dans le traitement de la jaunisse, l'insuffisance hépatique, les palpitations et l'anxiété [13]. Les feuilles sont utilisées comme tonique cardiaque par la population d'Al-Rass en Arabie Saoudite [34]. Leur décoction a été utilisée en usage interne par la population du désert de Nara, au Pakistan pour traiter l'éruption cutanée [23].

II.2. Activités biologique

En plus de l'utilisation des Zygophyllaceae et le genre *Fagonia* en pharmacopées traditionnelles, plusieurs études ont été effectuées pour valider leurs usages traditionnels et rechercher des nouvelles potentialités biologiques.

II.2.1 Activité antioxydante

De nombreuses études ont confirmé l'importance des substances antioxydantes sur la santé humaine par l'incidence sur certaines maladies notamment le cancer, [35], les maladies cardiovasculaires [36] et les troubles inflammatoires [37],... etc. Il y a actuellement un regain d'intérêt pour la recherche de nouvelles sources d'antioxydants naturels en vue de leur utilisation dans l'industrie alimentaire et dans les préparations pharmaceutiques afin de remplacer les

antioxydants synthétiques, en raison de leur incidence potentielle sur la santé et leur toxicité [38].

❖ La famille des Zygophyllaceae

Dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels, les études récentes ont révélé le potentiel antioxydant de plusieurs espèces de la famille des Zygophyllaceae telles que : *Zygophyllum album Desf* [39], *Tribulus terrestris* [40], *Peganum harmala L* [41], *Larrea tridentata* [10] *Fagonia schweinfurthii* [19], *Guaiacum officinale* [42], *Balanites aegyptiaca (L.)* [43].

❖ Le genre *Fagonia*

Plusieurs études ont été effectuées sur les espèces de *Fagonia* pour évaluer leur activité antioxydante notamment :

Une étude a été menée sur l'extrait total de *Fagonia arabica* pour déterminer leur potentiel antioxydant et le mécanisme associé à l'action antioxydante dans les cellules phéochromocytome de rat (PC12), qui ont été soumis à l'ischémie chimique. Dans ce test, les altérations des activités des enzymes antioxydantes cellulaires (SOD, CAT, GSH-Px et GSH-R), le potentiel antioxydant d'herbe (ABTS), la peroxydation lipidique (MDA and 4-HAE), le statut antioxydant total (TAS) et le glutathion total, ont été évalués. Les résultats ont montré que *Fagonia arabica* possède un effet sur l'ischémie chimique induite dans les cellules PC12 : l'amélioration du système de défense antioxydant native des cellules, diminuant la peroxydation lipidique et un effet scavenger des radicaux libres au cours de l'ischémie / reperfusion [44].

Les niveaux relatifs de l'activité antioxydante et la teneur totale des composés phénoliques des extraits aqueux et méthanoliques de *Fagonia arabica* et *Fagonia bruguieri* ont été déterminés, en utilisant la méthode ABTS + améliorée et la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Les résultats ont montré que les extraits de *F. arabica* ont une activité plus important que ceux de *F. bruguieri* et que l'extrait aqueux est plus efficace que le méthanolique [38].

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait éthanolique de *Fagonia schweinfurthii* a été déterminée par l'utilisation des radicaux DPPH, ABTS et par la méthode de dosage du peroxyde d'hydrogène. La même étude a montré une corrélation entre l'activité antioxydante et l'activité hepatoprotective de *F. schweinfurthii*, qui ont été effectuées sur une lignée cellulaire HepG2 et des rats qui ont été soumis à hepatotoxicité au CCl4. D'après les résultats obtenus, l'extrait éthanolique possède une forte activité antioxydante *in vitro*. Il a été

stipulé que l'apparition significative de l'effet hépatoprotecteur, était peut être dû à la capacité de l'extrait à inhiber la peroxydation lipidique et augmenter l'activité antioxydante enzymatique [19].

En outre, d'autres travaux ont confirmé le potentiel antioxydant des espèces *Fagonia indica* [45], *Fagonia longispina* [46], *Fagonia glutinosa* et *Fagonia mollis* [47].

II.2.2. Activité anticancéreuse et antitumorale

Les produits naturels jouent un rôle très important dans la médecine et en particulier dans le domaine du cancer. Beaucoup de médicaments sont actuellement utilisés dans la chimiothérapie du cancer. Ces médicaments provenaient ou étaient inspirés de la nature [48].

❖ La famille des Zygophyllaceae

Dans le cadre de la recherche des molécules anticancéreuses et antitumorales, deux espèces de la famille des Zygophyllaceae : *Zygodium album* Desf, et *Peganum harmala* L ont été étudiées et ont montré un effet anticancéreux [39,41]. Une autre étude effectuée sur *Larrea tridentata* a permis d'isoler des lignanes caractérisés par un effet inhibiteur sur le cancer du sein humain, le cancer du côlon humain et des lignées cellulaires de mélanome humain [49].

❖ Le genre *Fagonia*

Traditionnellement, *Fagonia cretica* a un potentiel médicinal, en particulier contre divers types de cancer. Cette connaissance a été confirmée par des études récentes. Dans ce contexte une étude de l'activité anticancéreuse de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *F. cretica* a été réalisée par différents tests. Les résultats globaux confirment le potentiel anticancéreux puissant de cette plante [26].

Selon des études récentes, *Fagonia tenuifolia* possède un fort potentiel anticancéreux qui a été révélé par une étude de l'extrait méthanolique de la plante sur trois lignées cellulaires tumorales humaines (cancer du sein, du poumon et le cancer du système nerveux central). Cet extrait a montré un effet inhibiteur de la croissance du cancer du sein et du système nerveux central, mais beaucoup moins contre les cellules cancéreuses du poumon [50].

L'extrait alcoolique de *Fagonia indica*, ainsi que ses fractions ont présenté une activité antitumorale significative contre deux lignées cellulaires : les cellules du carcinome mammaire (MCF 7) et les cellules tumorales du côlon humain (HCT). Ces résultats ont également fournis

une justification pharmacologique de l'utilisation traditionnelle antitumorale de la plante dans la médecine populaire [51].

Une autre étude sur *Fagonia taekholmiana* a montré une activité cytotoxique de la plante contre les tumeurs mammaires humaines MCF7 [52].

II.2.3. Activité antimicrobienne

Le développement de la résistance microbienne envers les antibiotiques a renforcé l'importance de la recherche des nouvelles ressources naturelles antimicrobiennes [53,54]. En général les chercheurs dans le domaine des maladies infectieuses s'intéressent toujours aux ressources végétales bioactives. Au cours de la dernière décennie, il y a un intérêt grandissant vis-à-vis de l'activité antimicrobienne des produits naturels notamment l'activité antibactérienne et antifongique [54,55].

❖ La famille des Zygophyllaceae

Plusieurs travaux ont montré un effet antimicrobien important de plusieurs espèces de la famille des Zygophyllaceae telles que : *Larrea tridentata* [56], *Peganum harmala* L [57], *Zygophyllum album* [58], *Zygophyllum fabago* L [59], *Tribulus terrestris* L [60].

❖ Le genre *Fagonia*

D'après les études récentes qui ont été effectuées sur les espèces du genre *Fagonia*, ces dernières possèdent un effet antimicrobien et anti-infectieux.

Une étude a été effectuée pour évaluer l'activité antimicrobienne des différents extraits de *Fagonia indica*, contre plusieurs agents pathogènes fongiques et bactériens. Les résultats ont montré que tous les extraits possèdent des propriétés antifongiques et antibactériennes. Cette étude conforte l'utilisation de *Fagonia indica* en médecine traditionnelle comme traitement efficace pour traiter diverses maladies de la peau [61].

L'évaluation biologique de l'extrait méthanolique de *Fagonia olivieri*, a montré que la plante constitue une source d'agent thérapeutique contre certains microbes pathogènes. En outre, l'effet de *Fagonia olivieri* sur les microbes qui sont associés à diverses maladies infectieuses, constitue une justification scientifique de l'utilisation ethnomédicale de la plante [33].

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits (aqueux, méthanolique, éthanolique) de *Fagonia cretica*, a montré que cette espèce utilisée en médecine traditionnelle

peut constituer une nouvelle source d'agents antimicrobiens et permet d'établir une base scientifique pour l'utilisation de la plante dans la médecine moderne [62].

D'autres espèces de *Fagonia* telles que : *Fagonia arabica* [63], *Fagonia longispina* [46], *Fagonia luntii* [64] possèdent également un effet antimicrobien.

II.2.4. Activité antidiabétique

❖ La famille des Zygophyllaceae

Les travaux entrepris sur certaines espèces de la famille des Zygophyllaceae telles que *Balanites aegyptiaca* [65], *Peganum harmala* [66], *Tribulus terrestris* [67] et *Zygodhylum album* [68], a fin de la recherche de nouveaux médicaments a base des plante, ont permis de révéler la puissance de l'effet antidiabétique de cette famille.

❖ Le genre *Fagonia*

L'activité hypoglycémique de *Fagonia indica* a été évaluée par l'étude de l'effet de la plante sur l'hyperglycémie induite par l'alloxane chez la souris. D'après les résultats obtenus, *Fagonia indica* peut être utilisée comme agent naturel hypoglycémiant [69].

Fagonia cretica a été citée comme médicament traditionnel naturel pour le traitement du diabète [70]. La confirmation de cette utilisation a été effectuée par une étude moderne in vitro de l'effet des composés isolés à partir de cette plante sur le dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). Les résultats ont révélé que ces composés étaient tout à fait inhibiteurs de DPP-4 [71].

II.2.5. Activité anti-inflammatoire et d'autres activités

L'inflammation est une réaction de défense locale du corps contre les infections microbiennes, les brûlures, les allergènes, les blessures mécaniques et d'autres stimuli nocifs [72].

❖ La famille des Zygophyllaceae

Les travaux de recherche entrepris sur les espèces de la famille des Zygophyllaceae ont montré que ces derniers sont des sources naturelles des produits anti-inflammatoires, notamment : *Zygodhylum album* Desf [39], *Peganum harmala* L [41], *Balanites aegyptiaca* (L.) [43], *Tribulus terrestris* [73] et *Larrea divaricata* Cav [74].

Plusieurs autres études effectuées sur des espèces de cette famille ont montré diverses activités biologiques telles que : antihyperglycémique (*Zygodhylum album* L), antihyperlipidémique

(*Zygophyllum album* L) [75], anticonvulsivant (*Balanites aegyptiaca* (L.) Del) [12], antinociceptive (*Balanites aegyptiaca* L.) [43], anti-hypertenseur (*Tribulus terrestris*) [76], cytotoxique (*Larrea tridentata*) [43].

❖ Le genre *Fagonia*

L'investigation biologique de *Fagonia schweinfurthii* a montré des effets anti-inflammatoires et cicatrisants, sans toxicité. Ces résultats fournissent donc des rationalisations de l'utilisation folklorique de la plante dans plusieurs communautés pour traiter l'inflammation, les furoncles, éruptions cutanées et d'autres maladies de la peau [77].

Les essais biologiques effectués sur le mélange de saponines de *Fagonia cretica* et *Fagonia mollis* ont montré que les deux plantes possèdent des effets anti-inflammatoires et analgésiques et antipyrétiques [78].

Ainsi que, *Fagonia arabica* est un agent thrombolytique [79] ; *Fagonia cretica* possède un potentiel antihémorragique [80] ; *Fagonia luntii* possède un potentiel antiviral [81]...etc.

III. Métabolites secondaires les plus fréquents de la famille des Zygophyllaceae et le genre *Fagonia*

III.1. La famille des Zygophyllaceae

Dans le règne végétal, les espèces de la famille des Zygophyllaceae constituent une source importante de divers composés naturels tels que : les alcaloïdes, les triterpènes, les saponines, les flavonoïdes, les lignanes. Dans ce qui suit nous allons citer quelques exemples.

Tableau 3: Quelques composés isolés de la famille des Zygophyllaceae.

Métabolites secondaires	Composés	Espèces	Références
Alcaloïdes	harmine 1	<i>Peganum harmala</i> et <i>Peganum nigellastrum</i>	[82, 57, 83, 84]
	harmaline 2	<i>Peganum harmala</i>	[82,83]
	vasicine 3	<i>Peganum harmala</i>	[82, 85]
	vasicinone 4	<i>Peganum harmala</i>	[85]
	harmol 5	<i>Peganum harmala</i>	[83]
	harmalol 6	<i>Peganum harmala</i>	[83]
	harman 7	<i>Peganum harmala</i>	[83]
	tetrahydroharmine 8	<i>Peganum harmala</i>	[86]
	tetrahydroharman 9	<i>Peganum harmala</i>	[86]
	6-méthoxy-tetrahydro-1-norharmanone 10	<i>Peganum harmala</i>	[86]

Tableau 3 : Quelques composés isolés de la famille des Zygophyllaceae (suite).

Métabolites secondaires	Composés	Espèces	Références
	luotonins C 11 luotonins D 12 3-phényl quinoline 13 3-(4-hydroxyphényl) quinoline 14 3-(1H-indol-3-yl) quinoline 15 deoxypeganine 16 peganine 17 N-trans-feruloyltyramine 18 N-cis-feruloyltyramine 219 tribulusamide A 20 tribulusamide B 21	<i>Peganum nigellastrum</i> <i>Peganum nigellastrum</i> <i>Peganum nigellastrum</i> <i>Peganum nigellastrum</i> <i>Peganum nigellastrum</i> <i>Peganum nigellastrum</i> <i>Peganum nigellastrum</i> <i>Balanites aegyptiaca</i> <i>Balanites aegyptiaca</i> <i>Tribulus terrestris</i> <i>Tribulus terrestris</i>	[87] [87] [87] [87] [87] [84] [84] [88] [88] [89] [89]
Triterpènes	3-[(α -L-arabinopyranosyl oxy] acide 30-noroleana-12,20(29)-dièn-28-oïque β -D-glucopyranosyl ester 22 3-[(β -D-xylopyranosyl oxy] acide oléan-12-ène-28,29-dioïque 28- β -D-glucopyranosyl ester 23 3-[(O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl)oxy] acide 30-noroleana-12,20(29)- dièn-28-oïque 24 3 β , 19, 21-trihydroxy-20(29)-lupène 25 , nommé Faganilin (1) 11 α ,12 α ,13 β ,28-diepoxyoléanane-3 β -yl trans-cafféate 26 3 β -hydroxy-11 α ,12 α -epoxyoléanane-28-al 27	<i>Larrea tridentata</i> <i>Larrea tridentata</i> <i>Larrea tridentata</i> <i>Fagonia indica</i> <i>Tetraena mongolica</i> <i>Tetraena mongolica</i>	[90] [90] [90] [91] [92] [92]
Saponines	3-O-sulfonyl- acide 27-hydroxyoléanolique 28 3-O- β -D-glucopyranosyl- acide quinovique 29 3-O- α -L-arabinopyranosyl- acide ursolique-28-O- β -D-glucopyranoside 30 3-O-[α -L-arabinopyranosyl (1 \rightarrow 2)- β -D-quinovopyranosyl]- acide quinovique -27-O-[β -D-glucopyranosyl] 31 3-O-[β -D-2-O-sulphonylquinovopyranosyl]- acide quinovique -27-O-[β -D-glucopyranosyl] ester (zygophyloside F) 32 26-O- β -D-glucopyranosyl-(25R)-furost-4-èn-2 α ,3 β ,22 α ,26-tetrol-12-one (terrestrinin C) 33 26-O- β -D-glucopyranosyl-(25R)-furost-5,20-diene-3,26-diol-3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-	<i>Fagonia arabica</i> <i>Fagonia cretica</i> <i>Fagonia glutinosa</i> <i>Zygophyllum propinquum</i> <i>Zygophyllum album</i> et <i>Zygophyllum dumosum</i> <i>Tribulus terrestris</i> <i>Balanites aegyptiaca</i>	[93] [71] [94] [95] [96] [97] [98]

Tableau 3 : Quelques composés isolés de la famille des Zygophyllaceae (suite).

Métabolites secondaires	Composés	Espèces	Références
	glucopyranosyl-(1→2)]-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranoside 34 3-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→3)-β-D-glucopyranosyl -(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-α-L-arabinopyranoside]- acide akebonique-28-O-[β-D-glucopyranosyl]-ester 35 , nommé guaianin R (1)	<i>Guaiacum Officinale L</i>	[99]
Flavonoïdes	isorhamnétine-3-rutinoside 36 herbacétine 8-méthyl éther 3-rutinoside 37 herbacétine-8-O-rutinoside 38 isorhamnétine-3-7-diglucoside 39 acacétine 7-O-rhamnoside 40 acacétine 7-O- [6 "-O-glucosyl-2" -O- (3 '" -acetylramnosyl) glucoside 41 acacétine 7-O- (2 '" O-rhamnosyl-2"-O-glucosylglucoside) 42 glycoflavone 2'" O-rhamnosyl-2"-O-glucosylcytisoside 43 quercétine 44 isorhamnétine-3-O-robinoside 45 isorhamnétine-3-O-β-glucopyranoside-7-O-α-rhamnopyranoside 46 isorhamnetine-3-O-β-galactopyranoside 47 quercétine 3-O-glycoside 48 kaempferol 3-O-glycoside 49	un bon marqueur chimiotaxonomique de la famille Zygophyllaceae <i>Fagonia thebaica</i> <i>Peganum harmala</i> <i>Peganum harmala</i> <i>Peganum harmala</i> <i>Peganum harmala</i> <i>Peganum harmala</i> <i>Peganum harmala</i> <i>Zygophyllum album</i> , <i>Zygophyllum decumbens</i> et <i>Zygophyllum simplex</i> <i>Tribulus terrestris L</i> <i>Tribulus terrestris L</i>	[100] [101] [102] [102] [102] [102] [102] [102] [103] [103] [103] [103] [104] [104]
Lignanes	3,4'-dihydroxy-3',4-dimethoxy-6,7'-cycloignane 50 (7S,8S,7'S,8'S)-3,3',4'-trihydroxy-4-méthoxy-7,7'-époxyignane 51 méso-(rel 7S,8S,7'R,8'R)-3,4,3',4'-tétrahydroxy-7,7'-époxyignane 52 (E)-4,4'-dihydroxy-7,7'-dioxolign-8(8')-ène 53 acide nordihydroguaiarétique 54 ramonanine A 55 ramonanine B 56 ramonanine C 57 ramonanine D 58	<i>Larrea tridentata</i> <i>Larrea divaricata</i> <i>Guaiacum officinale et</i> <i>Guaiacum sanctum</i>	[49] [10] [105,106] [107]

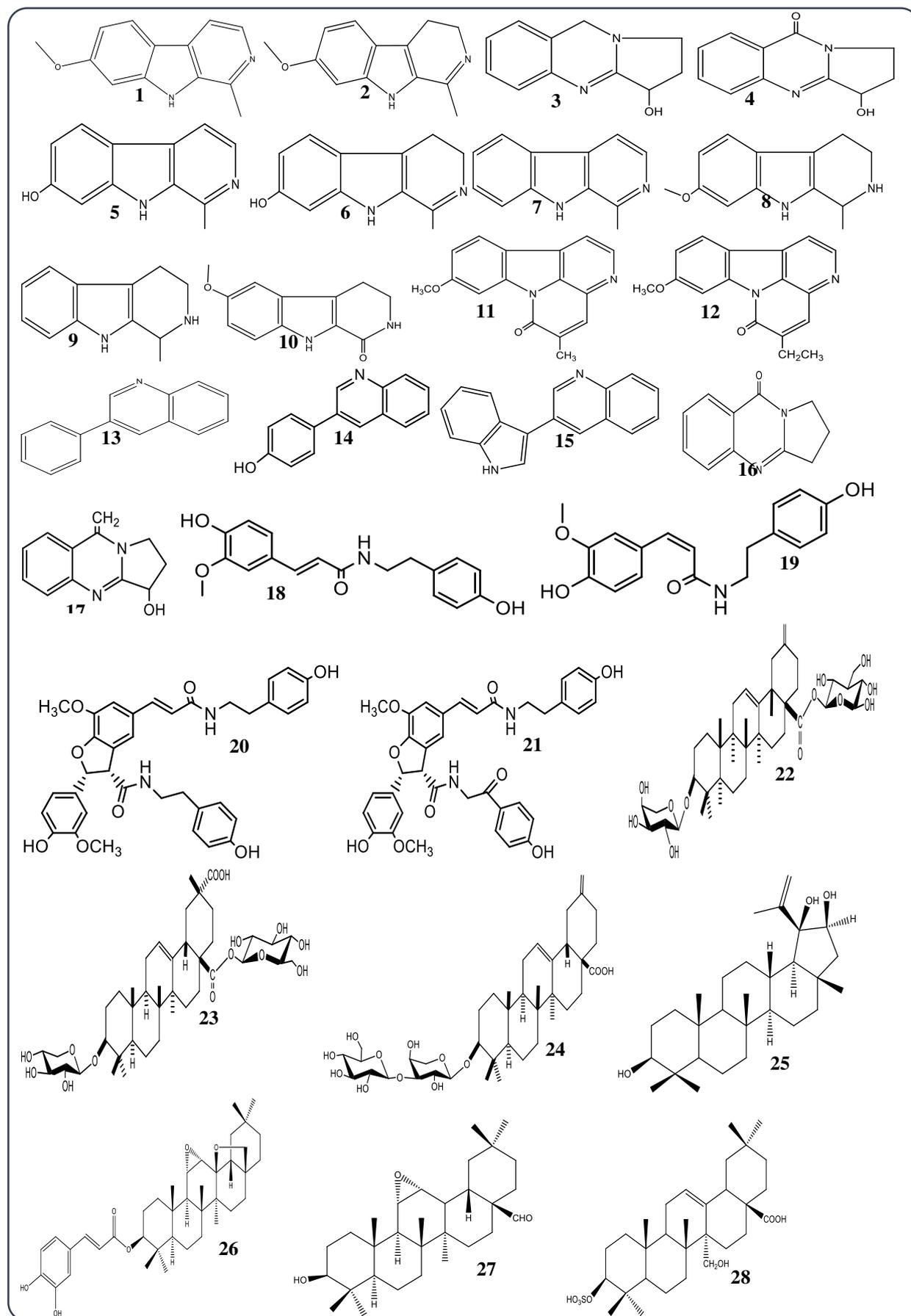


Figure 1 : Quelques composés isolés de la famille des Zygothylaceae.

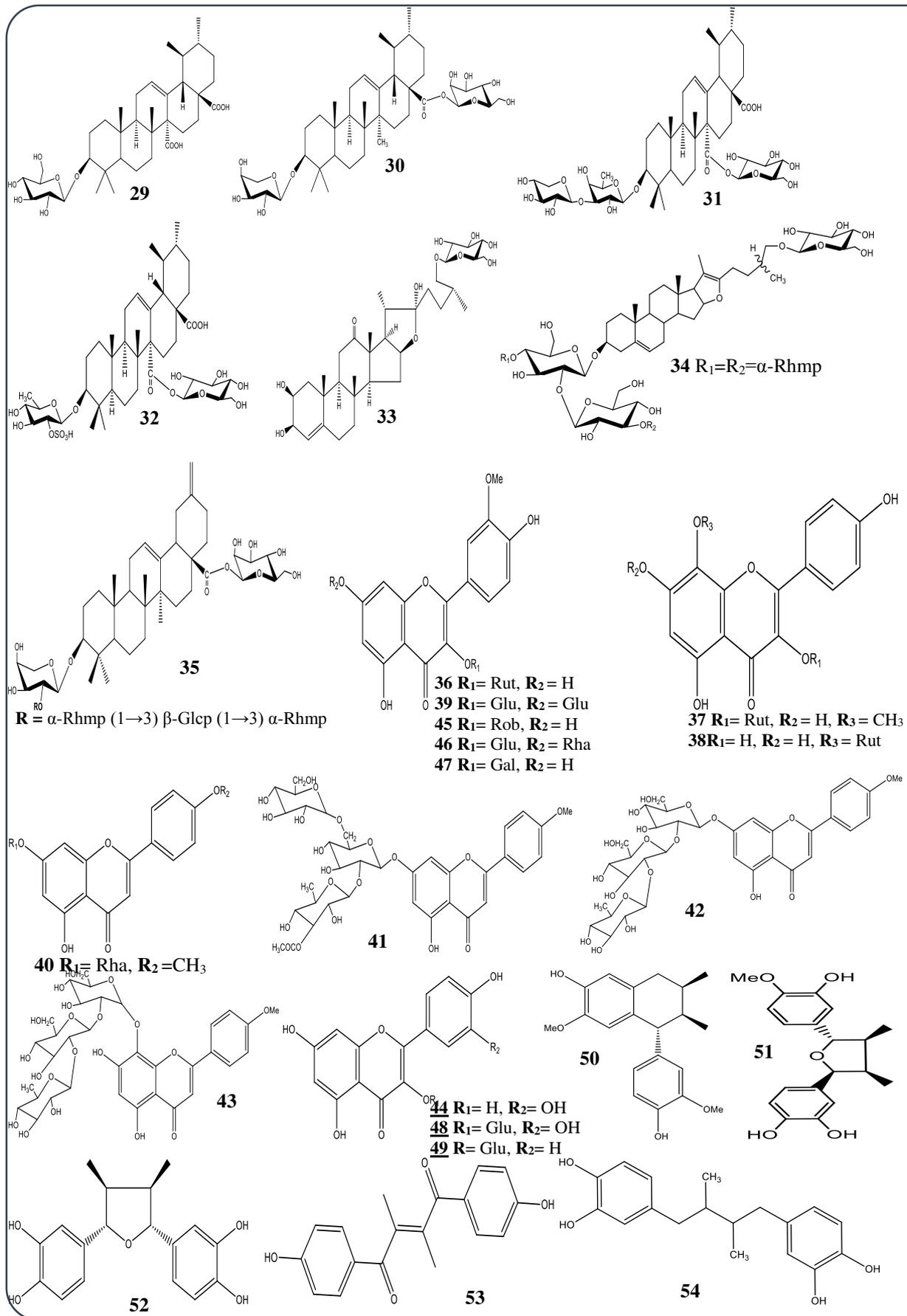


Figure 1 : Quelques composés isolés de la famille des Zygophyllaceae (suite).

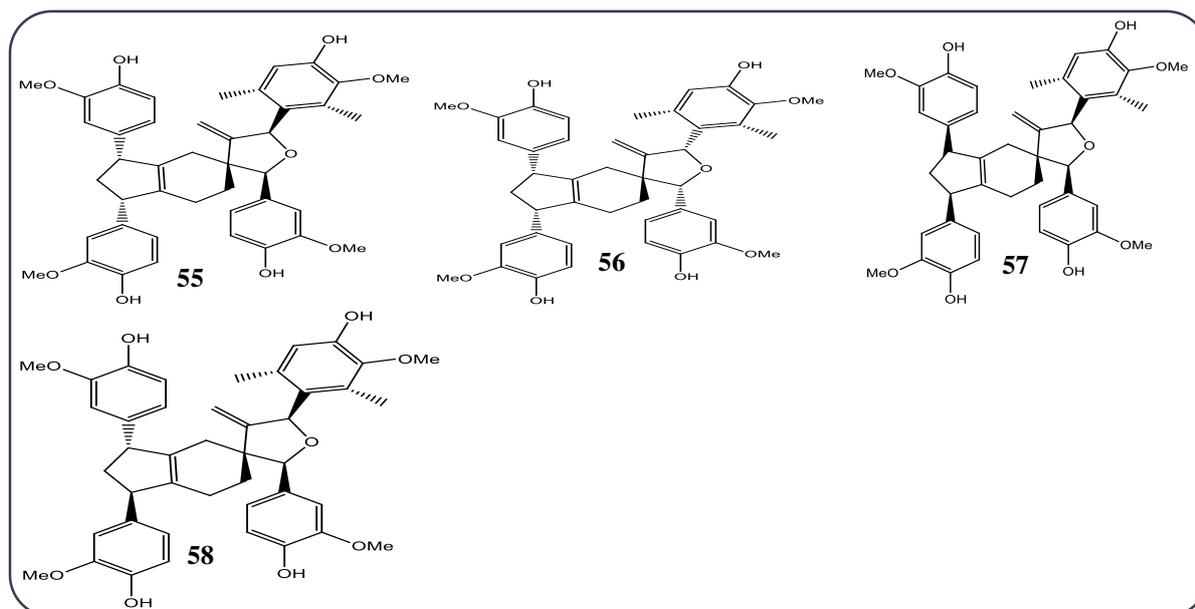


Figure 1 : Quelques composés isolés de la famille des Zygophyllaceae (suite).

III.2. Le genre *Fagonia*

D'après l'étude bibliographique que nous avons menée, les travaux phytochimiques effectuées sur ce genre ont montré sa richesse en divers métabolites secondaire avec une nette domination des flavonoides, des triterpènes et des saponines.

III.2.1. Triterpènes et saponines

Il s'agit de l'une des classes de métabolites secondaires la plus caractéristique de *Fagonia*. Plus de 40 nouveaux triterpénoids et saponines ont été isolés à partir des espèces de ce genre. La plupart d'entre eux sont des saponines des monodesmosides ou bisdesmoside caractérisé par un α -L- arabinopyranosyl en position 3 attaché à des structures de type oléanane, ursane et taraxastane.

❖ *Oléananes*

Les triterpènes et les saponines de type oléanane monodesmosides de 3-*O*-glycosides et bisdesmosides de 3,28-di-*O*-glycosides sont très répandus dans le genre *Fagonia*, en particulier les saponines dont la genine est un acide oléanolique.

Les travaux entrepris sur *Fagonia* ont permis d'isoler et caractériser treize saponines de génine acide oléanolique, il s'agit des acides oléanoliques : 3-*O*- β -D-xylopyranosyl (1 \rightarrow 2) -[β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- α - L-arabinopyranosyl **59** [108], 3-*O*- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L- arabinopyranosyl **60** [108, 109], le 3-*O*- β -D-glucopyranosyl

(1→3)- α -L- arabinopyranoside **61** [109], le 3-*O*- β -D-glucopyranosyl- **62** [110], 3-*O*- β -D-xylopyranosyl (1→2)-[β -D-glucopyranosyl (1→3)]- α -L- arabinopyranosyl 28-*O*- β -D-glucopyranoside **63** et 3-*O*- β -D-glucopyranosyl (1→2)-[β -D-glucopyranosyl (1→3)]- α -L-arabinopyranosyl 28-*O*- β -D-glucopyranoside **64** [110] ont été isolés à partir de *F. arabica*, 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl (1 → 2)- α -L-arabinopyranosyl] acide oléanolique 28-*O*-[β -D-glucopyranosyl (1 → 6)- β -D-glucopyranosyl] ester **65** de *F. cretica* [111], 28-*O*-[β -D-glucopyranosylester-(1→3)- β -D-glucopyranosyl] **66** [112] 3-*O*-{[β -D-glucopyranosyl-(1→2)]-[α -L-arabinopyranosyl-(1 → 3)]- α -L-arabinopyranosyl}- 28-*O*-[β -D-glucopyranosyl] ester nommé indicasaponin B **67** et 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl-(1 →3)- α -L-arabinopyranosyl]-acide oléanolique -28-*O*-[β -D-glucopyranosyl] ester **68** [113] ont été identifiés à partir de *F. indica*, -3-*O*-6'-*O*-methyl- β -D-glucuronopyranoside **69**, 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1→3)-6'-*O*-methyl- β -D-glucuronopyranoside **70** et 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl (1→3)-6'-*O*-methyl- β -D-glucuronopyranosyl 28-*O*- β -D-glucopyranoside **71** [114] de *F. mollis*. Notons que les composés **59**, **60**, **63**, **64**, **65**, **66**, **67**, **69**, **70**, **71**, ont été décrits pour la première fois dans la littérature. Ainsi que le β -amyrine **72** et acide oléanolique **73** qui ont été détectés dans *F. indica* [115, 91, 51].

Un dérivé rare d'un oléanene disulfaté caractérisé par la présence d'une double liaison 13-18 : 3,23-*O*-disulfonyl- acide olean-13(18)-èn-28-oïque -28-*O*- β -D-glucopyranoside **74** a été décrit pour la première fois dans la littérature à partir de *F. arabica* [93].

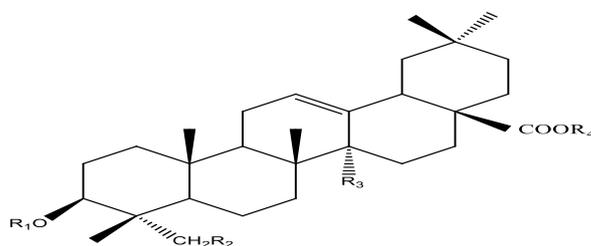
Le composé 3-*O*- β -D-xylopyranosyl(1→2)-[β -D-glucopyranosyl (1→3)]- α -L-arabinopyranosyl acide 27- hydroxyoléanolique 28-*O*- β -D-glucopyranoside **75** de *F. arabica* a été décrit comme la première saponine de la génine acide 27- hydroxyoléanolique [108]. Ses dérivés sulfatés: 3-*O*-sulfonyl- acide 27-hydroxyoléanolique **28** et 3-*O*-sulfonyl- acide 27-hydroxyoléanolique-28-*O*- β -D-glucopyranoside **76**, ont également été identifiés dans *F. arabica* [93]. Les études sur *F. cretica* ont également montré la présence de saponines de la génine acide 27- hydroxyoléanolique, il s'agit du : 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl (1 → 2)- α -L-arabinopyranosyl] acide 27- hydroxyoléanolique 28-*O*-[β -D-glucopyranosyl (1 →6)- β -D-glucopyranosyl] ester **77** [111] et 3-*O*-[β -D-xylopyranosyl (1→2)- α -L-arabinopyranosyl] acide 27- hydroxyoléanolique 28-*O*-[β -D-glucopyranosyl (1→6)- β -D-glucopyranosyl] ester **78** [116]. Ces produits ont été isolés pour la première fois dans la littérature. Un seul nouveau triterpénoïde saponine oléanane a été identifié dans *F. glutinosa*, il s'agit de 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl (1→2)] [β -D-glucopyranosyl (1→3)]- α -L-arabinopyranosyl- acide 27-hydroxy oléanolique-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester **79** [94]. Dans une autre investigation

phytochimique, le triterpénoïde glycosylé 3-oxo-12-en-23-O- β -D-glucopyranosyl acide 27-hydroxyoléan-28-oïque (indicacin) **80** a été isolé pour la première fois dans la littérature à partir de *F. indica* [115].

La génine acide 3 β hydroxy oléan-12-èn-27-al-28-oïque a été détectée pour la première fois dans *F. cretica* par l'isolement de la nouvelle saponine ester 3 β -O-[β -D- glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl]- acide oléan-12-èn-27-al-28-oïque 28-O-[β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester **81** [111], ainsi que le 3 β -O-[β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 2) α -L-arabinopyranosyl] acide oléan-12-èn-27-al-28-oïque 28-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 6) β -D-glycopyranosyl] ester **82** a été isolé à partir de la même espèce [116].

Un autre type de génine «hédéragenine» est présent dans le genre *Fagonia* dans les nouvelles saponines 3-O- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl hédéragenine 28-O- β -D-glucopyranosyl ester **83** [111], hédéragenine 3-O- β -D-glucopyranosyl **84**, hédéragenine 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl **85** et hédéragenine 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 5)- α -L-arabinofuranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl **86** de *F. cretica* [117].

Tableau 4 : les saponines de type oléanane isolés du genre *Fagonia*



composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	espèce	Référence
59	β -D-xylyl ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₃	H	<i>F.arabica</i>	[108]
60	β -D-Glc ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₃	H	<i>F.arabica</i>	[108, 109]
61	β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₃	H	<i>F.arabica</i> <i>F. indica</i>	[109,113]
62	β -D-Glc	H	CH ₃	H	<i>F.arabica</i>	[110]
63	β -D-xylyl ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₃	β -D-Glc	<i>F.arabica</i>	[108]
64	β -D-Glc ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₃	β -D-Glc	<i>F.arabica</i>	[108]
65	β -D-Glc ² - α -L-Ara	H	CH ₃	β -D-Glc ⁶ - β -D-Glc	<i>F. cretica</i>	[111]

Tableau 4 : les saponines de type oléane isolés du genre *Fagonia*
(suite)

composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	espèce	Référence
66	H	H	CH ₃	β -D-Glc ³ - β -D-Glc	<i>F. indica</i>	[112]
67	β -D-Glc ² - α -L-Ara ³ - α -L-Ara	H	CH ₃	H	<i>F. indica</i>	[113]
68	β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₃	β -D-Glc	<i>F. indica</i>	[113]
69	6'-O-Me- β -D-GlcA	H	CH ₃	H	<i>F. mollis</i>	[114]
70	α -L-Rha ³ -6'-O-Me- β -D-GlcA	H	CH ₃	H	<i>F. mollis</i>	[114]
71	α -L-Rha ³ -6'-O-Me- β -D-GlcA	H	CH ₃	β -D-Glc	<i>F. mollis</i>	[114]
73	H	H	CH ₃	H	<i>F. indica</i>	[115,91,51]
75	β -D-xyl ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₂ OH	β -D-Glc	<i>F. arabica</i>	[108]
28	SO ₃ H	H	CH ₂ OH	H	<i>F. arabica</i>	[93]
76	SO ₃ H	H	CH ₂ OH	β -D-Glc	<i>F. arabica</i>	[93]
77	β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₂ OH	β -D-Glc ⁶ - β -D-Glc	<i>F. cretica</i>	[111]
78	β -D-xyl ² - α -L-Ara	H	CH ₂ OH	β -D-Glc ⁶ - β -D-Glc	<i>F. cretica</i>	[116]
79	β -D-Glc ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	H	CH ₂ OH	β -D-Glc	<i>F. glutinosa</i>	[94]
81	β -D-Glc ² - α -L-Ara	H	CHO	β -D-Glc ⁶ - β -D-Glc	<i>F. cretica</i>	[111]
82	β -D-xyl ² - α -L-Ara	H	CHO	β -D-Glc ⁶ - β -D-Glc	<i>F. cretica</i>	[116]
83	β -D-Glc ² - α -L-Ara	OH	CH ₃	β -D-Glc	<i>F. cretica</i>	[111]
84	β -D-Glc	OH	CH ₃	H	<i>F. cretica</i>	[117]
85	β -D-Glc ⁴ - α -L-Rha	OH	CH ₃	H	<i>F. cretica</i>	[117]
86	β -D-Glc ⁴ - α -L-Ara ^f - α -L-Rha	OH	CH ₃	H	<i>F. cretica</i>	[117]

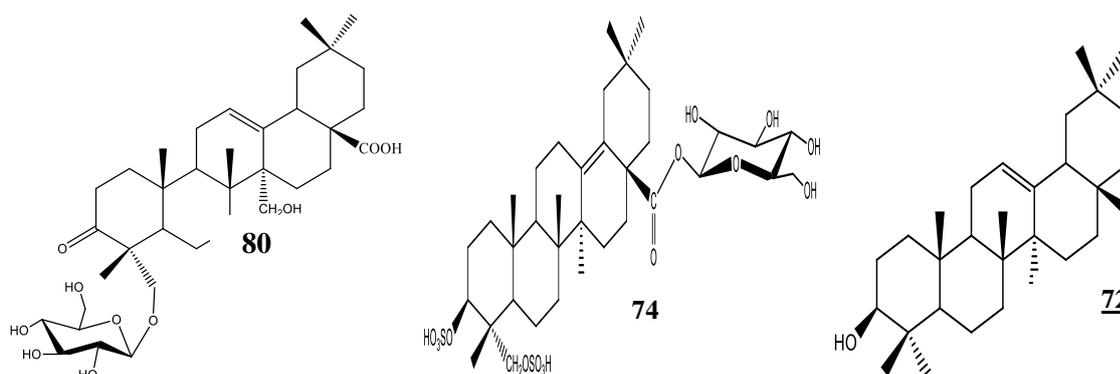


Figure 5 : Les triterpènes et les saponines de type oléane isolés du genre *Fagonia*

❖ Ursanes

Les triterpènes et les saponines de type ursane 3-*O*-glycosides ou 3,28-di-*O*-glycosides sont bien commun dans le genre *Fagonia*, représentés par les génines : acide ursolique, acide 27-hydroxyursolique, acide quinovique.

Plusieurs saponines de génine acide ursolique ont été rapportées dans le genre *Fagonia*, il s'agit des acides: 3-*O*- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl ursolique-28-*O*- β -D-glucopyranoside **87** de *F. arabica* [108], 3-*O*-{ $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- $[\alpha$ -L-arabinopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl} ursolique-28-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl] ester (indicasaponin A) **88** [113], 3-*O*- $[\beta$ -D-4-*O*-sulfonylglucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl ursolique-28-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl] ester (indicasaponin C) **89**, 3-*O*-{ $[\beta$ -D-4-*O*-sulfonylglucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- $[\beta$ -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranosyl} ursolique-28-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl] ester (indicasaponin D) de *F. indica* **90** [118], ursolique 3-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl **91**, 3-*O*- α -L-arabinopyranosyl ursolique-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester **30**, ursolique 3-*O*- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl **92** et 3-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)] $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl ursolique-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester **93** de *F. glutinosa* [94]. Tous ces produits ont été isolées pour la première fois dans la littérature, ainsi que les triterpènes saponines acides : 3-*O*- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl ursolique-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester nommé matesaponin 1 **94** a été identifié dans *F. indica* [113].

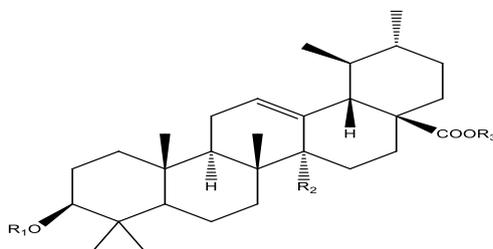
Les études sur *Fagonia* ont montré la présence de seulement quatre nouveau dérivées de sapog nine rare l'acide 3 β ,27-dihydroxyurs-12- n-28-oique, il s'agit des acides 3-*O*- β -D-xylopyranosyl (1 \rightarrow 2)- $[\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl -27-hydroxy ursolique 28-*O*- β -D-glucopyranoside **95** [108], 3-*O*-[2-*O*-sulfo- α -L-arabinopyranosyl] -27-hydroxyursolique **96**, 3-*O*-[2-*O*-sulfo- α -L-arabinopyranosyl] 27-hydroxyursolique 28-*O*- β -D-glucopyranoside **97** [93], qui ont été détecté dans *F. arabica* et l'acide 3-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)] $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl -27-hydroxyursolique 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester **98** de *F. glutinosa* [94].

Le triterpène glycoside 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-22-hydroxyursane 12- ne (fagonoside A) **99** a été isolé pour la première fois dans la littérature à partir de *F. cretica* [119].

Un autre type de génine de l'acide quinovique est également présente dans le genre *Fagonia*, avec les deux saponines acides : 3-*O*- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl quinovique 28-*O*- β -D-glucopyranoside **100** et 3-*O*- α -L-arabinopyranosyl quinovique 28-*O*- β -D-glucopyranoside **101** ont été isolé à partir de *F. arabica* [109]. Par ailleurs, une étude antidiabétique de *F. cretica* a montré que deux triterpènes connus : les acides 3-*O*- β -D-glucopyranosyl quinovique **29** et 3-*O*- β -D-glucopyranosyl quinovique 28-*O*- β -D-glucopyranoside **102**, possèdent une activité importante d'inhibition de la DPP-4 [71]. D'autres

études ont montré la présence des acides 3-*O*-[α -L-rahmnoypyranosyl] quinovique 28-*O*-[β -D-glucopyranosyl] ester **103** dans *F. indica* [112] et 3-*O*- β -D-2-*O*-sulfonyl glucopyranosyl quinovique **104** dans *F.mollis* [120] et quinovique **105** dans *F.cretica* [71].

Tableau 5 : les saponines de type ursane isolés du genre *Fagonia*



composé	R ₁	R ₂	R ₃	espèce	Référence
87	β -D-xyl ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	CH ₃	β -D-Glc	<i>F.arabica</i>	[108]
88	β -D-Glc ² - α -L-Ara ³ - α -L-Ara	CH ₃	β -D-Glc	<i>F.indica</i>	[113]
89	β -D-4-Sulfonyl-Glc ³ - α -L-Ara	CH ₃	β -D-Glc	<i>F.indica</i>	[118]
90	β -D-4-Sulfonyl-Glc ³ - β -D-xyl ² - α -L-Ara	CH ₃	β -D-Glc	<i>F.indica</i>	[118]
91	β -D-Glc ³ - α -L-Ara	CH ₃	H	<i>F. glutinosa</i>	[94]
30	α -L-Ara	CH ₃	β -D-Glc	<i>F. glutinosa</i>	[94]
92	β -D-xyl ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	CH ₃	H	<i>F. glutinosa</i>	[94]
93	β -D-Glc ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	CH ₃	β -D-Glc	<i>F. glutinosa</i>	[94]
94	β -D-Glc ³ - α -L-Ara	CH ₃	β -D-Glc	<i>F.indica</i>	[113]
95	β -D-xyl ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	CH ₂ OH	β -D-Glc	<i>F.arabica</i>	[108]
96	2- <i>O</i> -Sulfonyl- α -L-Ara	CH ₂ OH	H	<i>F.arabica</i>	[93]
97	2- <i>O</i> -Sulfonyl- α -L-Ara	CH ₂ OH	β -D-Glc	<i>F.arabica</i>	[93]
98	β -D-Glc ² - β -D-Glc ³ - α -L-Ara	CH ₂ OH	β -D-Glc	<i>F. glutinosa</i>	[94]
100	β -D-Glc ³ - α -L-Ara	COOH	β -D-Glc	<i>F.arabica</i>	[109]
101	α -L-Ara	COOH	β -D-Glc	<i>F.arabica</i>	[109]
29	β -D-Glc	COOH	H	<i>F.cretica</i> <i>F.mollis</i>	[71] [120]
102	β -D-Glc	COOH	β -D-Glc	<i>F.cretica</i>	[71]
103	α -L-Rha	COOH	β -D-Glc	<i>F. indica.</i>	[112]
104	2- <i>O</i> -Sulfonyl- β -D-Glc	COOH	H	<i>F.mollis.</i>	[120]
105	H	COOH	H	<i>F.cretica</i>	[71]

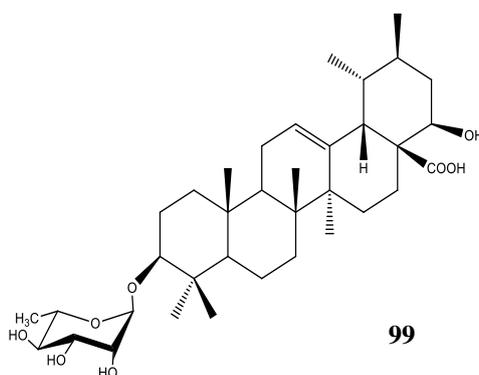


Figure 6 : Les triterpènes type ursane isolés du genre *Fagonia*

❖ *Taraxastane*

Les saponines de type taraxastane ne sont pas très répandues dans le genre *Fagonia*. On les rencontre particulièrement dans l'espèce *F. indica*. Les acides 3β , O - β -D-glucopyranosyl-23-hydroxytaraxer-20-en-28-oïque **106**, 23,28-di- O - β -D-glucopyranosyl taraxer-20-en-28-oïque **107** [121, 115], 3β , 28-di- O - β -D-glucopyranosyl-23-hydroxytaraxer-20-en-28-oïque **108** [121] et 21,22 α -epoxy-23- O - β -D-glucopyranosyl-nahagenin **109** [122] ont été détectés pour la première fois dans la littérature à partir de *F. indica*. Notons que les composés **106** et **107** ont été également isolés à partir de *F. cretica* [123].

Le composé 3β ,23-disulfonyl-nahagenine **110** isolé de *F. indica* est le premier triterpène pentacyclique saturé et sulfaté de la série taraxastane avec une unité C-20,28-lactone d'origine naturelle [93]. Le triterpène 3β , 20 S -dihydroxytaraxastane-28-al, nommé fagonicin **111** a été également identifié à partir de *F. indica* ainsi que les l'acides 3β -hydroxy-23- O - β -D-glucopyranosyl- taraxer-20-en-28-carboxy- O - β -D-glucopyranosyl **112** et le 3β -hydroxy-23,28-di- O - β -D-glucopyranosyl-acide taraxer-20-en-28-oïque **113** [115].

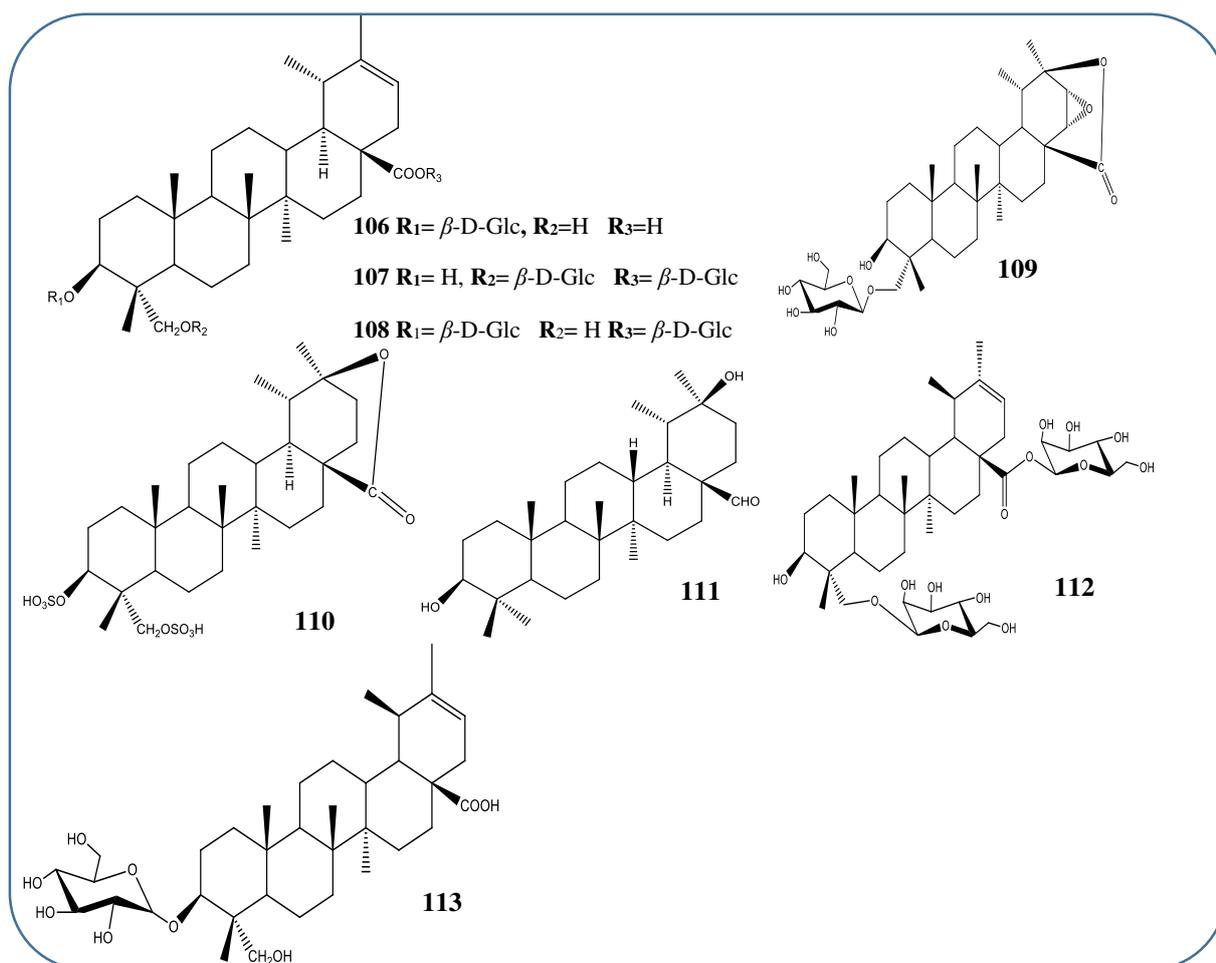


Figure 7 : Les triterpènes et les saponines de type taraxastane isolés du genre *Fagonia*

❖ *Lupane*

Seulement deux triterpènes de type lupane ont été rapporté dans le genre *Fagonia* à partir de *F. indica*, il s'agit de : 3β , 19, 21-trihydroxy-20(29)-lupène **114** nommé Faganilin (1) et lupeol **115**. Le produit **114** a été détecté pour la première fois dans la littérature [91].

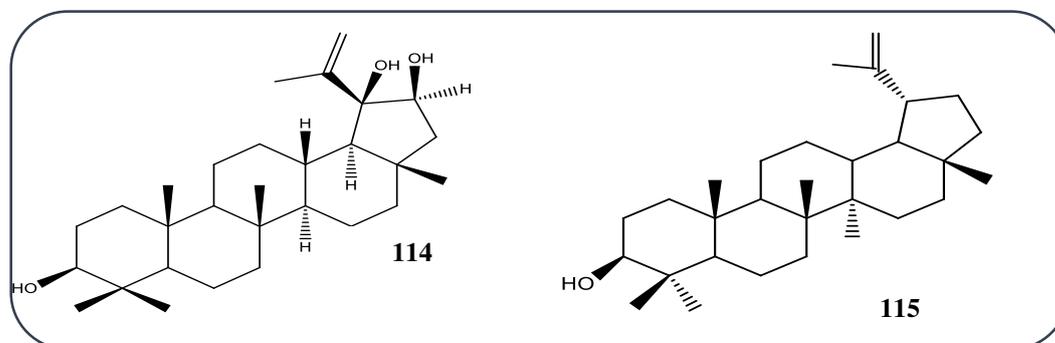


Figure 8 : Les triterpènes de type Lupane isolés à partir de *Fagonia*

❖ *Stéroïde saponine*

Une recherche concernant l'effet anticancéreux de *F. indica* a abouti à l'isolement d'un nouveau stéroïde saponine glycosylé dans le genre *Fagonia*, il s'agit de 12-(4-méthyl-pent-3-enoyloxy)-20-(4-méthyl-pent-3-enoyloxy)- $3\beta, 12\beta, 20\beta$ -trihydroxypregnane-3-yl-O- β -D-cymapyranosyl-(1→4)-3-méthoxy-6-deoxy- β -D-glucopyranoside **116**, qui est capable d'induire l'apoptose ou la nécrose dans des cellules cancéreuses [124].

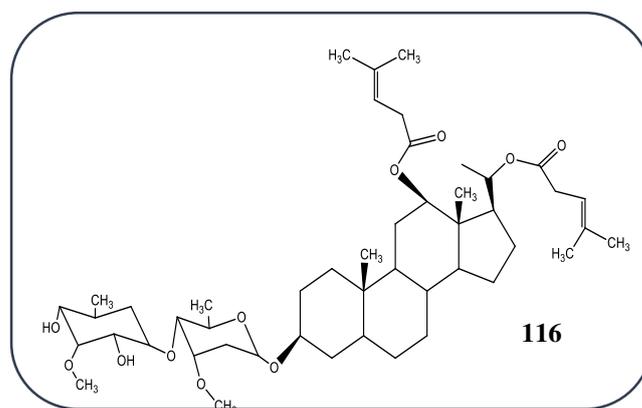


Figure 9 : Le stéroïde saponine isolée à partir de *Fagonia*

III.2.2. Les stéroïdes

Les études effectuées sur *Fagonia* ont mené à l'isolement de quelques stéroïdes : le β -sitosterol **117** [115,91,125], le β -sitostérol-3-O- β -D-glucoside **118**, le stigmastérol-3-O- β -D-glucoside **119** [51] de *F.indica*, le stigmastérol **120** [71, 125] de *F.indica* et *F.cretica* et le cholestérol **121** et le campestérol **122** de *F.arabica* [126].

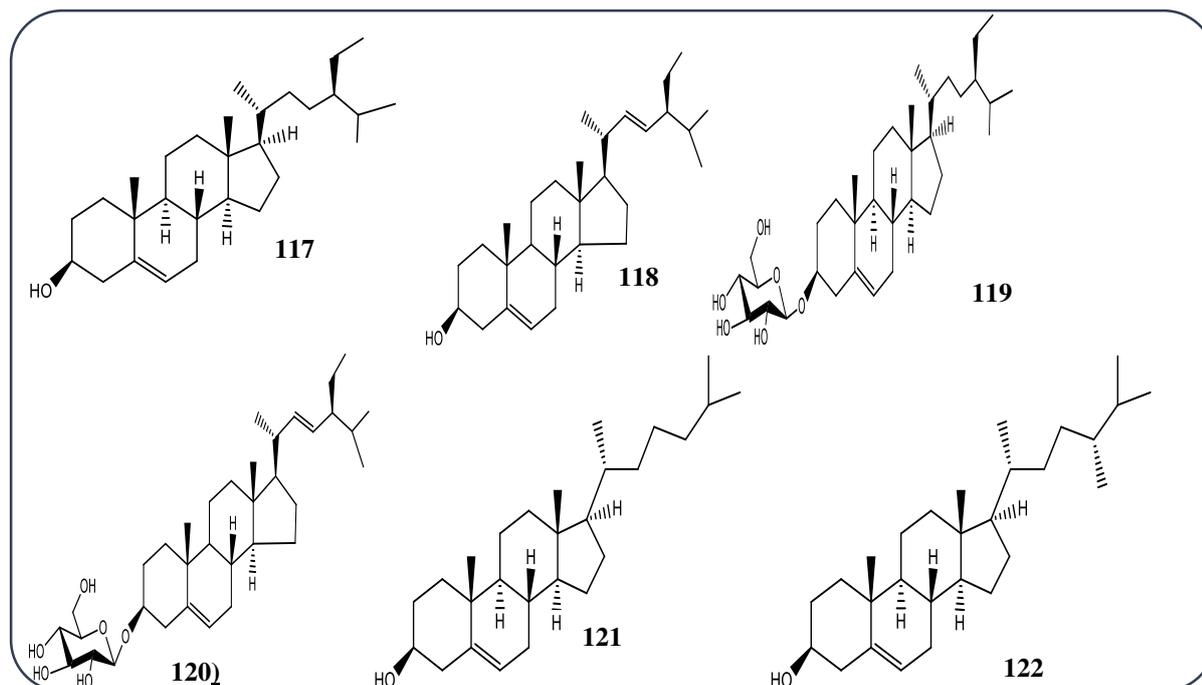


Figure 10 : Les stéroïdes isolés à partir de *Fagonia*

III.2.3. Les diterpènes

Le genre *Fagonia* renferme des diterpènes de type erythroxane, ces derniers ne sont pas très répandus dans ce genre. Ils sont présents dans seulement quatre espèces. Il s'agit des diterpènes 15,16-dihydroxy-7-oxo-cis-ent-erythro-3-ene (fagonone) **123** et 16-*O*-acetylfagonone **124** isolés à partir de *F. bruguieri* en 1993. Cette étude rapporte l'isolement des premiers diterpènes chez les Zygophyllaceae et les troisièmes diterpènes de type erythroxane dans la littérature [127].

Dans le but d'identifier d'autres diterpènes erythroxane, une étude réalisée sur deux espèces *F. bruguieri* et *F. glutinosa* a permis d'isoler pour la première fois dans la littérature sept composés, il s'agit de 15,16-dihydroxy-7-hydroxy-cis-ent-erythro-3-ene nommé 7- β -hydroxyfagonene **125** de *F. bruguieri*, le 7- α -hydroxyfagonene **126**, 2,7-Dioxofagonene **127**, 16-*O*-acetyl-2,7-dioxofagonene **128**, 15,16-di-*O*-Acetyl-2,7-dioxofagonene **129**, 7-*O*-acetyl-2-oxo-5-epi-fagonene **130**, et 2-oxo-5-epi-fagonene **131** de *F. glutinosa* [128]. Une autre investigation faite sur l'extrait éther de *F. glutinosa* a abouti à l'isolement de deux diterpènes erythroxane cytotoxiques : le 1 α ,10 α -epoxy-2-oxofagonene **132**, 1 β ,10 β -epoxy-2-oxofagonene **133**, ainsi que le 2-oxofagonene **134** [129].

D'autres nouveaux diterpènes erythroxane ont été détectés dans *F. boveana* : le 3 β ,15,16-trihydroxy-erythro-4(18)-ene **135**, le 15, 16-dihydroxy-cis-ent-erythro-3-ene (fagonene) **136**, ainsi que les composés **124**, **125**. Par ailleurs, la même étude a montré l'activité

cytotoxique des composés **135**, **136**, **124** contre des cellules cancéreuses et l'activité antivirale du composé **125** [130].

Seulement un diterpène acyclique : le geranylinalool-3-*O*- β -D-glucopyranoside **137** a été isolé pour la première fois à partir de *F.mollis*, avec le nouveau erythroxane : 7 β -Hydroxy-5-epi-fagonene **138** [120].

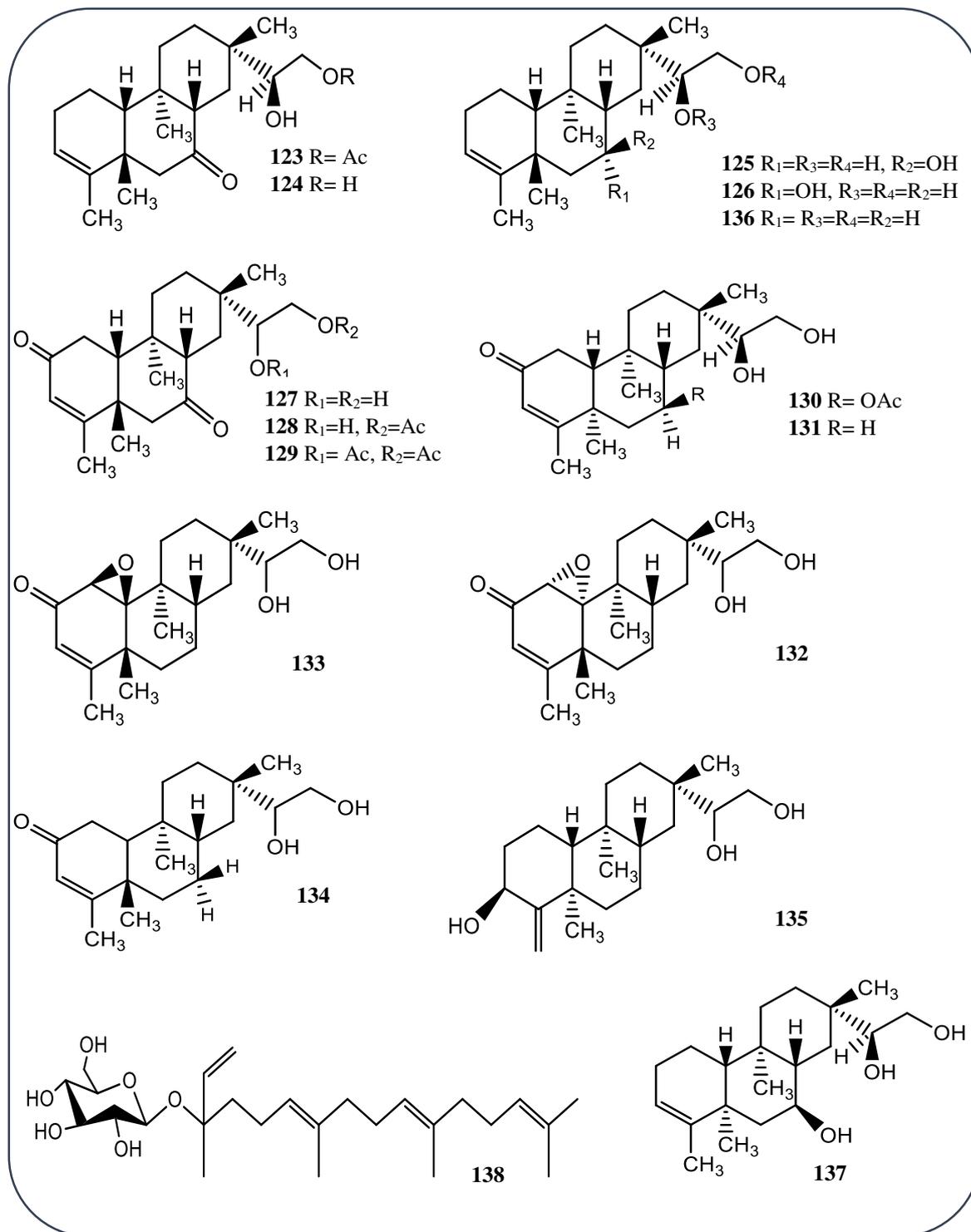


Figure 11 : Les diterpènes isolés à partir de *Fagonia*

III.2.4. Les monoterpènes

Des études par GC-MS ont montré la présence des monoterpènes dans le genre *Fagonia*, en particulier les monoterpènes oxygénés : le Camphre **139**, l'*o*-Cymène **140**, le cinéole **141**, le trans-géraniol **142**, l' α -citral **143**, l'acétate de géraniol **144** dans l'espèce *F.cretica* [131] et le linalool **145**, géraniol **142** dans l'espèce *F. arabica* [126]. Ainsi que les monoterpènes hydrocarbures : l' β -phellandrène **146**, l' α -limonène diepoxide **147** et le citronellyl propionate **148** dans l'espèce *F.cretica* [130].

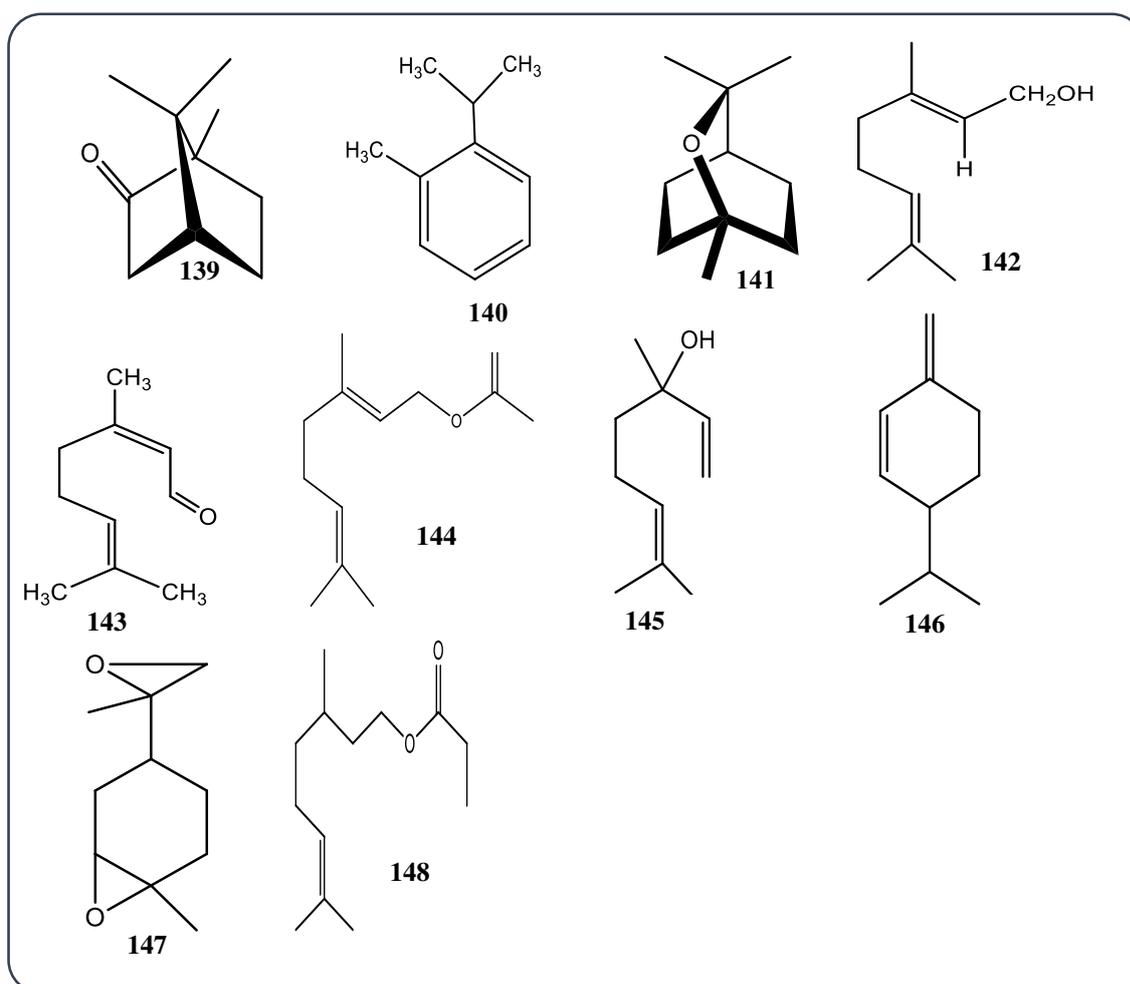


Figure 12 : Les monoterpènes isolés à partir de *Fagonia*

III.2.5. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes ne sont pas très communs dans le genre *Fagonia*, seulement le 6,10-epoxy-4 α -hydroxy guaiane **149** a été isolé pour la première fois dans la littérature à partir de *F. boveana* [130], ainsi que l' α -cedrol **150** et l' α -curcumène **151** de *F. cretica* [131], le β -eudesmol **152**, le δ -cadinène **153** et le β -guaïène **154** de *F. arabica* ont été identifiés par GC-MS [126].

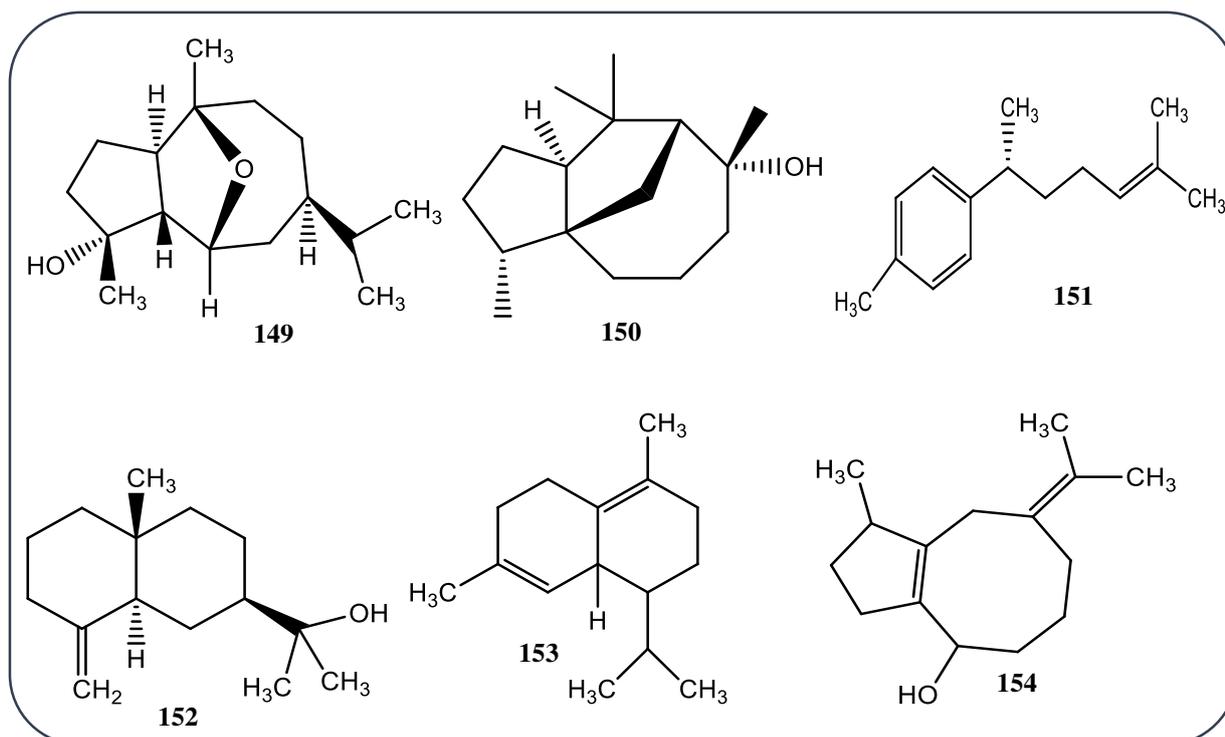


Figure 13 : Les sesquiterpènes du genre *Fagonia*

III.2.6. Les acides gras et leurs esters

Les analyses phytochimiques effectués par les techniques GC-MS ou GLC sur les espèces *F. longispina*, *F. indica*, *F. arabica* ont montré la présence d'acide gras, la plupart d'entre eux sont saturés tels que : l'acide décanoïque **155** [132, 125], l'acide laurique **156**, l'acide 12-méthyl tridécanoïque **157**, l'acide myristique **158** [125], l'acide palmitique **159** [132, 125], l'acide 10,13-diméthyl-tétradécanoïque **160**, l'acide stéarique **161**, l'acide 9-Méthyl-octadécanoïque **162**, l'acide 18-méthyl-nonadécanoïque **163**, l'acide arachidique **164**, l'acide lignocérique **165**, l'acide 15-méthyl hexadécanoïque **166**, l'acide 21-méthyl docosanoïque **167**, l'acide cérotique **168**, l'acide montanique **169**, l'acide 14-méthyl icosanoïque **170** [125], l'acide heptadécanoïque **171** [126], l'acide tridécanoïque **172** [132]. On trouve également des acide

gras insaturés: l'acide palmitoléique **173**, l'acide (Z) –hexadéc-11-énoïque **174**, l'acide (Z) –octadéc-13-énoïque **175**, l'acide (Z) –octadéc-6-énoïque **176**, l'acide oléique **177** [125], l'acide linoléique **178** [125,126] et l'acide cyclopentaneundécanoïque **179** [125].

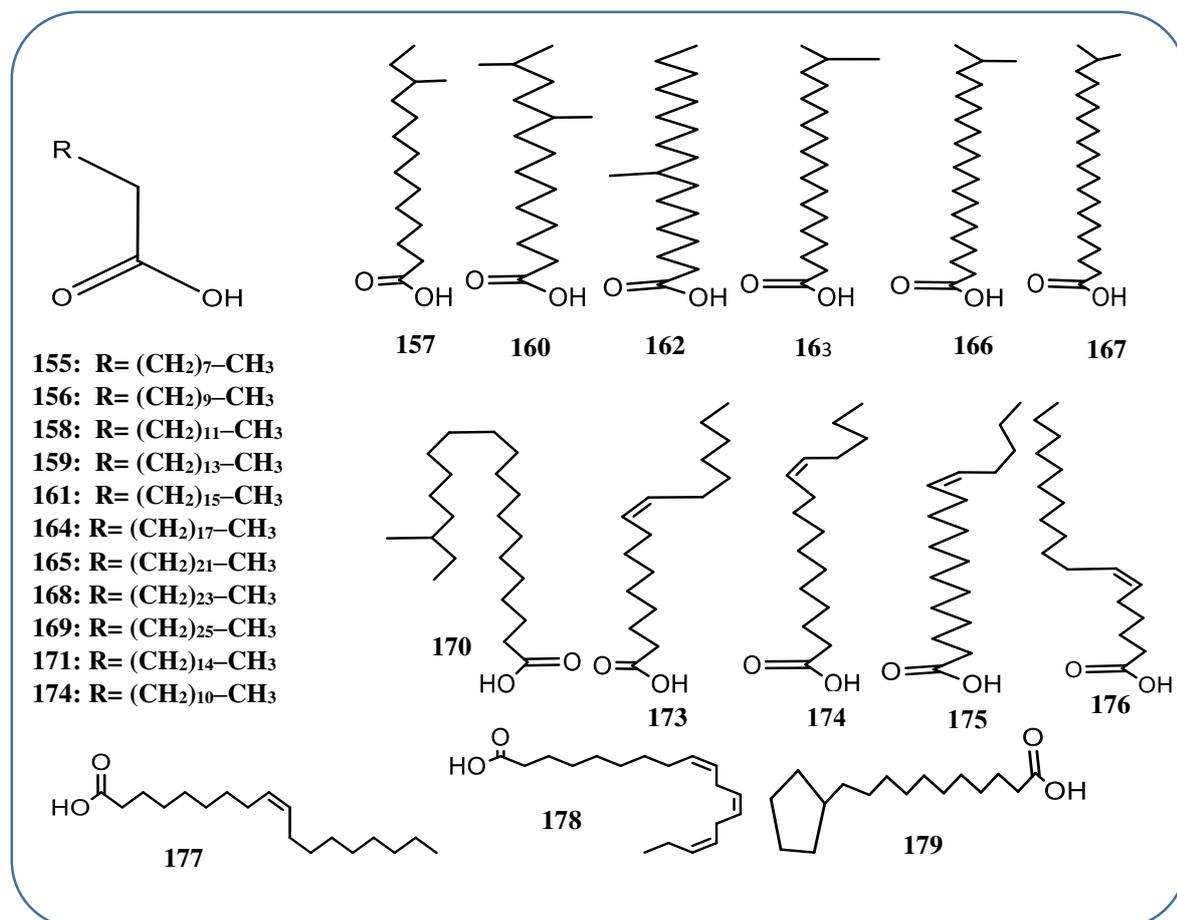


Figure 14 : Les acides gras détectés dans le genre *Fagonia*

Les mêmes études ont montré la présence d'esters tels que : le palmitate d'éthyle **180**, le linoléate d'éthyle **181** [125,132], le linoléate d'éthyle **182**, le linoléate de méthyle **183**, le méthyl (cis-11,14,17) eicosatriénoate **184** [132] et l'oléate d'éthyle **185** [125].

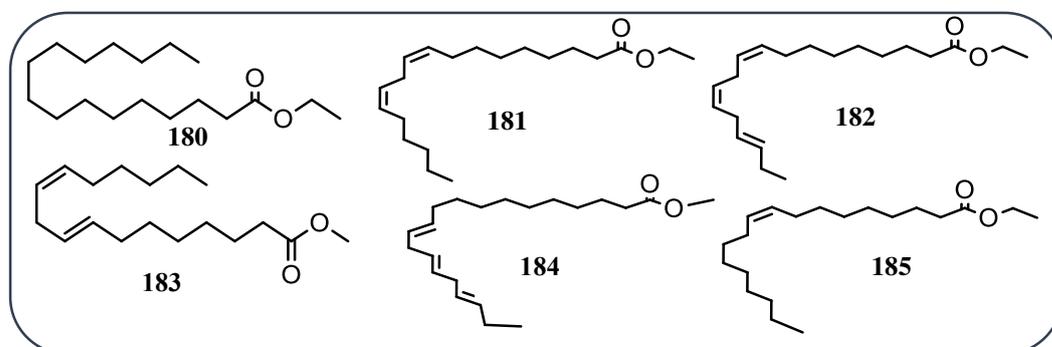


Figure 15 : les esters d'acides gras détectés dans le genre *Fagonia*

III.2.7. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont la classe des métabolites secondaires la plus dominante dans le genre *Fagonia*, il s'agit en grande partie de flavonoles *O*-glycosylés en position 3 et/ou 7, notamment, la quercétine, le kaempférol, l'isorhamnétine, herbacétine et herbacétine 8-méthyl éther.

III.2.7.1. Les flavonoles

❖ Quercétine

La quercétine **44** et ses dérivées *O*-glycosylés en position 3 et/ou 7 sont bien connus dans les espèces de *Fagonia* (Figure .16 ; Tableaux : 6-1 , 6-2), trouvés sous forme aglycone dans *F. taekholmiana* [52] et *F. indica* [51]. Tandis que ses dérivés la quercétine-3-*O*-galactoside ou hyperoside **186** et la quercétine-3-*O*-rhamnogalactoside **187** ont été isolés pour la première fois dans la famille des Zygophyllaceae à partir du complexe de *F. bruguieri* qui contient les espèces *F. bruguieri* var. *bruguieri*, *F. kassasii*, *F. olivieri*, *F. schimperi* [133]. Une autre étude a montré la présence de la quercétine-3-*O*-gentiobioside **188** pour la première fois dans le genre *Fagonia* à partir de *F. glutinosa*, *F. microphylla*, *F. isotricha* et *F. latifolia*, aussi bien que la quercétine-3-gentiobioside-7-*O*-glucoside **189** qui a été reportée pour la première fois dans le genre *Fagonia*, dans les espèces : *F. glutinosa* et *F. microphylla* [134]. Une étude récente sur l'espèce *F. indica* a permis l'isolement de la quercétin 3-*O*- β -D-galactopyranosyl -(1 \rightarrow 6)- α -L-2 acetyl rhamnose-(1 \rightarrow 3) β -D-glucopyranoside **190** décrite pour la première fois chez le genre *Fagonia* [51]. Un autre dérivé : la quercétine-3-*O*-rutinoside nommé rutoside **191**, a été détecté dans treize espèces, telles que *F. indica* [135,136] et *F. boulosii* [136,101]. La quercétine-3,7-*O*-diglucoside **192** est l'un des deux flavonoïdes majoritaires de *F. tenuifolia* [136,137]. Elle est également présente dans plusieurs autres espèces de *Fagonia*, et la quercétine-3-*O*-glucoside ou isoquercitine **48** a été détecté dans *F. taekholmiana* [52], *F. paulayana*, *F. indica* (*F. indica* var. *nov*, *F. indica* var. *indica*) [135,136], *F. cretica* [136,137] et *F. scabra* Forsskal [136].

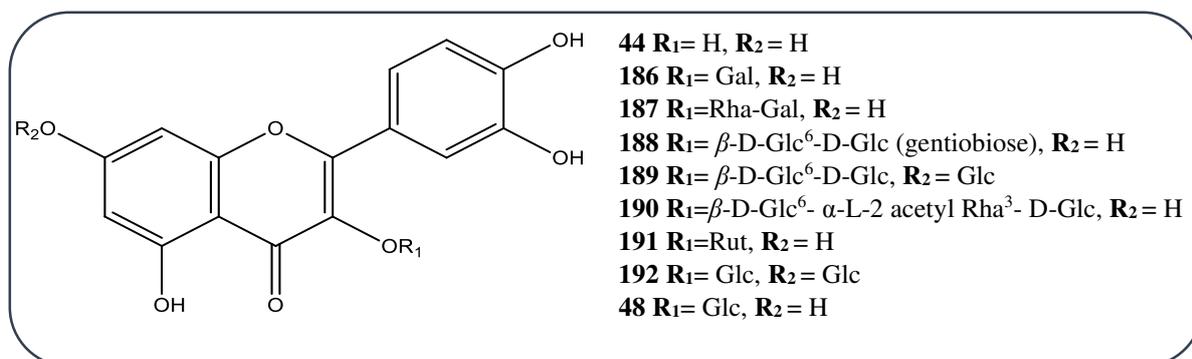


Figure 16 : Les dérivés de la quercétine du genre *Fagonia* .

Tableau 6: Les dérivés de la quercétine isolé à partir du genre *Fagonia*

Composé	Espèce	Référence
Quercétine 44	<i>F. taeckholmiana</i>	[52]
	<i>F. indica</i>	[51]
Quercétine 3- <i>O</i> -galactoside ou hyperoside 186	<i>F. bruguieri</i>	[133,136]
	<i>F. kassasii</i>	[133]
	<i>F. olivieri</i>	[133,136]
	<i>F. schimperi</i>	[133,136]
	<i>F. isotricha</i>	[134]
	<i>F. latifolia</i>	[134]
Quercétine 3-rhamnogalactoside 187	<i>F. bruguieri</i>	[133,136]
	<i>F. kassasii</i>	[133]
	<i>F. olivieri</i>	[133,136]
	<i>F. schimperi</i>	[133,136]
	<i>F. glutinosa</i>	[134]
	<i>F. microphylla</i>	[134]
	<i>F. isotricha</i>	[134]
	<i>F. latifolia</i>	[134]
Quercétine 3- <i>O</i> -gentiobioside 188	<i>F. glutinosa,</i>	[134]
	<i>F. microphylla,</i>	[134]
	<i>F. isotricha</i>	[134]
	<i>F. latifolia</i>	[134]
	<i>F. indica</i>	[51]
Quercétine 3- <i>O</i> -gentiobioside-7- <i>O</i> -glucoside 189	<i>F. glutinosa,</i>	[134]
	<i>F. microphylla</i>	[134]
quercetin 3- <i>O</i> - β -D-galactopyranosyl -(1 \rightarrow 6)- α -L-2 acetyl rhamnose-(1 \rightarrow 3) β -D-glucopyranoside 190	<i>F. indica</i>	[51]
Quercétine 3- <i>O</i> -rutinoside ou rutoside 191	<i>F. bruguieri</i>	[133,136]
	<i>F. kassasii</i>	[133]
	<i>F. olivieri</i>	[133,136]
	<i>F. schimperi</i>	[133,136]
	<i>F. glutinosa</i>	[134]
	<i>F. microphylla</i>	[134]
	<i>F. isotricha</i>	[134]
	<i>F. latifolia</i>	[134]
	<i>F. indica</i>	[133,136]
	<i>F. thebaica</i>	[136,101]
	<i>F. boulosii</i>	[136,101]
	<i>F. cretica</i>	[136,137]
<i>F. tenulfolia</i>	[136,137]	
Quercétine-3,7- <i>O</i> -diglucoside 192	<i>F. glutinosa,</i>	[134]
	<i>F. microphylla</i>	[134]
	<i>F. isotricha</i>	[134]
	<i>F. latifolia</i>	[134]
	<i>F. paulayana</i>	[135,136]
	<i>F. thebaica</i>	[136,101]
	<i>F. boulosii</i>	[136,101]
	<i>F. cretica</i>	[136,137]
	<i>F. tenulfolia</i>	[136,137]
Quercétine-3- <i>O</i> -glucoside ou isoquercitrine ou isoquercitrine 48	<i>F. taeckholmiana, F. paulayana</i>	[52]
	<i>F. indica</i>	[135,136]
	<i>F. cretica</i>	[136,137]
	<i>F. sinaica</i>	[136,137]
	<i>F. scabra</i>	[136,137]
	<i>Forsskal</i>	[136,137]

❖ Kaempferol

Le kaempferol **193** et ses dérivés *O*-glycosylés sont également très répandus dans les espèces de *Fagonia*. Il est isolé sous forme libre à partir de *F. paulayana*, *F. indica* (*F. indica* var. nov/ *F. indica* var. indica) et *F. schweinfurthii* [135,136]. Ses dérivés 3-*O*-glycosylés (Figure 17 ; Tableau 7-1, 7-2) représentés par le kaempférol-3-*O*-glucoside **49** et le kaempférol-3-*O*-rutinoside **194** nommés astragaline et nicotiflorine respectivement, ont été détectés dans plusieurs espèces telles que : *F. bruguieri* [199] et *F. mollis* [136,138], le kaempférol 3-*O*-rhamnogalactoside **195** a été isolé pour la première fois chez les Zygophyllaceae à partir du complexe de *F. bruguieri* qui contient les espèces *F. bruguieri* var. *bruguieri*, *F. kassasii*, *F. olivieri*, *F. schimperi* [133], et le 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-kaempferol **196** de *F. indica* [112]. Deux kaempférol 7-*O*-glycosylés ont été identifiés dans *Fagonia*, il s'agit du kaempférol-7-*O*-rhamnoside **197** de *F. arabica* [109], et le kaempférol-7-*O*-glucoside **198** de *F. glutinosa* et *F. microphylla*, ce dernier a été détecté pour la première fois dans le genre *Fagonia* [134]. D'autres kaempférol sous forme hétérosides diglycosylés en position 3 et 7 ont été trouvés chez *Fagonia*, il s'agit du kaempférol-3,7-di-*O*-rhamnoside ou kaempféritrine **199** de *F. taekholmiana* [52], le kaempférol-3,7-*O*-diglucoside **200** de *F. isotricha* [134], le kaempferol-3-gentiobioside-7-*O*-glucoside **201** ont été identifiés pour la première fois dans le genre *Fagonia* à partir de *F. glutinosa* et *F. microphylla* [134], et le kaempférol 3-*O*- β -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- α -L-rhamnopyranoside **205** de *F. taekholmiana* a été décrit pour la première fois dans la littérature [52].

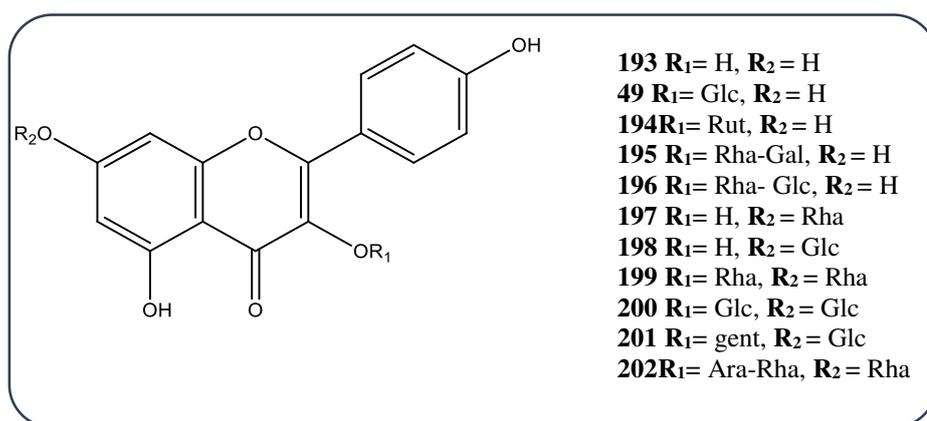


Figure 17 : Les dérivés du kaempférol du genre *Fagonia*

Tableau 7 : Les dérivés du kaempférol détecté dans le genre *Fagonia*

Composé	Espèces	Références
kaempférol 193	<i>F. paulayana</i> <i>F. indica</i> , <i>F. schweinfurthii</i>	[135,136] [135,136] [135,136]
kaempférol-3- <i>O</i> -glucoside ou astragaline 49	<i>F. taekholmiana</i> <i>F. bruguieri</i> <i>F. kassasii</i> <i>F. olivieri</i> <i>F. schimperi</i> <i>F. paulayana</i> <i>F. indica</i> <i>F. schweinfurthii</i> <i>F. sinaica</i> <i>F. cretica</i> <i>F. scabra</i> Forsskal	[52] [133,136] [133] [133,136] [133,136] [135,136] [135,136] [135,136] [136,137] [136,137] [136]
kaempférol-3- <i>O</i> -rutinoside ou nicotiflorine 194	<i>F. bruguieri</i> <i>F. kassasii</i> <i>F. olivieri</i> <i>F. schimperi</i> <i>F. latifolia</i> <i>F. isotricha</i> <i>F. indica</i> , <i>F. schweinfurthii</i> <i>F. mollis</i> <i>F. boveana</i> <i>F. tristis</i>	[133,136] [133] [133,136] [133,136] [134] [134] [135,136] [135,136] [136,138] [136] [138]
kaempférol-3- <i>O</i> -rhamnogalactoside 195	<i>F. bruguieri</i> <i>F. kassasii</i> <i>F. olivieri</i> <i>F. schimperi</i> <i>F. isotricha</i> <i>F. latifolia</i>	[133,136] [133] [133,136] [133,136] [134] [134]
le 3- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl]-kaempferol 196	<i>F. indica</i>	[112]
kaempférol-7- <i>O</i> -rhamnoside 197	<i>F. arabica</i>	[109]
kaempférol-7- <i>O</i> -glucoside 198	<i>F. glutinosa</i> <i>F. microphylla</i>	[134] [134]
kaempférol 3,7-di- <i>O</i> -rhamnoside ou kaempféritrine 199	<i>F. taekholmiana</i>	[52]
kaempférol-3,7- <i>O</i> -diglucoside 200	<i>F. isotricha</i> <i>F. latifolia</i> <i>F. schweinfurthii</i> <i>F. scabra</i> Forsskal	[134] [134] [136] [136]
kaempferol-3-gentiobioside-7- <i>O</i> -glucoside 201	<i>F. glutinosa</i> <i>F. microphylla</i>	[134] [133]
le kaempférol 3- <i>O</i> - β -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranoside-7- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside 202	<i>F. taekholmiana</i>	[52]

❖ Isorhamnétine

Seulement quatre dérivés de l'isorhamnétine ont été trouvés dans le genre *Fagonia* et dans plusieurs espèces (Figure 18 ; Tableau 8), il s'agit de : l'isorhamnétine-3,7-*O*-diglucoside **39** un produit majoritaire dans *F.cretica*, *F. tenulfolia*, *F. sinaica* [136,137] et *F.scabra Forsskal* [136], l'isorhamnétine-3-glucoside **203** a été trouvé avec des concentrations variables dans sept espèces tel que *F. indica* [134,135], *F. sinaica* [136,137], l'isorhamnetin-3-*O*-rhamnoside **204** de *F. indica* [112]. Il est le marqueur chimiotaxonomique de la famille des Zygophyllaceae, l'isorhamnétine-3-*O*-rutinoside **36** [100] puisqu'il a été détecté dans onze espèces y compris *F. thebaica* [136,101], *F. arabica* [136,139], *F. kassasii* [133,136].

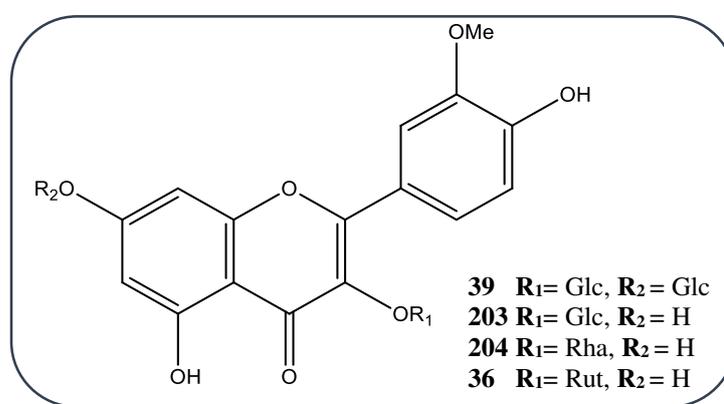


Figure 18 : Les dérivés de l'isorhamnétine du genre *Fagonia*.

Tableau 8 : Les dérivés de l'isorhamnétine détecté dans le genre *Fagonia*

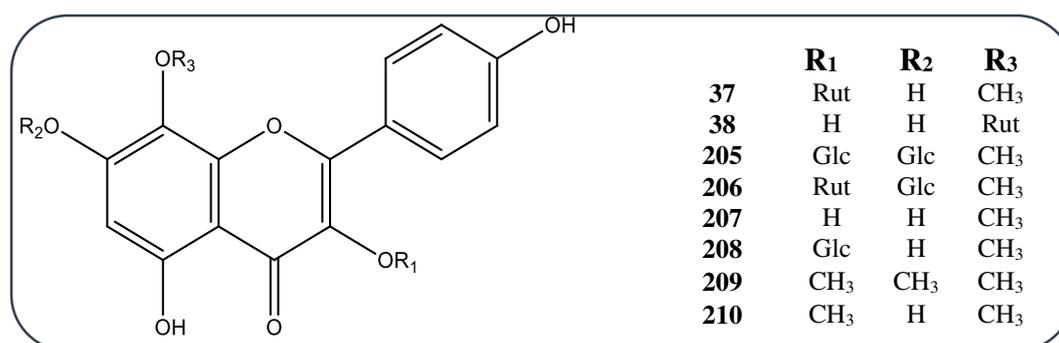
Composé	Espèce	Référence
isorhamnétine-3,7-diglucoside 39	<i>F. sinaica</i>	[136,137]
	<i>F.cretica</i>	[136,137]
	<i>F.scabra Forsskal</i>	[136]
	<i>F. tenulfolia</i>	[136,137]
	<i>F. paulayana</i>	[135,136]
	<i>F.thebaica</i>	[136,101]
l'isorhamnétine-3-glucoside 203	<i>F. arabica</i>	[136,139]
	<i>F. taeckholmiana</i> ,	[136,139]
	<i>F.thebaica</i>	[136,137]
	<i>F. indica</i>	[135,136]
	<i>F. sinaica</i>	[136,137]
	<i>F.cretica</i>	[136,137]
	<i>F.scabra Forsskal</i>	[136]
isorhamnetin-3- <i>O</i> -rhamnoside 204	<i>F. indica</i>	[112]

Tableau 8 : Les dérivés de l'isorhamnétine détecté dans le genre *Fagonia* (suite)

Composé	Espèce	Référence
isorhamnétine-3-rutinoside 36	<i>F. bruguieri</i>	[133,136]
	<i>F. schimperi</i>	[133,136]
	<i>F. olivieri</i>	[133,136]
	<i>F. kassasii</i>	[133]
	<i>F. thebaica</i>	[136,101]
	<i>F. boulosii</i>	[136,101]
	<i>F. mollis</i>	[136,139]
	<i>F. boveana</i>	[136]
	<i>F. tristis</i>	[139]
	<i>F. arabica</i>	[136,139]
	<i>F. taeckholmiana</i>	[136,139]

❖ Herbacétine

L'Herbacétine est représentée (Figure 19 ; Tableau 9) dans le genre *Fagonia* par ses dérivés, en particulier l'herbacétine 8-méthyl éther *O*-glycosylés. En 1977, Nabil A. M. Saleh et Mohamed N. El-Hadidi ont étudié la chimiotaxonomique de la famille des Zygophyllaceae et montré une présence dominante des nouveaux dérivés herbacétine 8-méthyl éther-3-rutinoside **37** et herbacétine-8-*O*-rutinoside **38** dans *F. arabica* [100]. Cette présence a été confirmée par S.I. El-Negoumy et al qui ont également trouvé des traces des herbacétine 8-méthyl éther-3,7-diglucoside **205** et herbacétine 8-méthyl éther-3-rutinoside-7-glucoside **206** dans *F. arabica* et *F. taeckholmiana*, ces produits ont été décrits pour la première fois dans la littérature [139]. L'étude de complexe de *F. mollis* qui contient *F. mollis* var. *mollis* et *F. tristis* Sickenb a révélé la présence de 8-*O*-méthylherbacétine **207** dans douze échantillons de *F. tristis* avec une différence des concentrations selon la variation des conditions écologiques [138]. De même, l'herbacétine 8-méthyl éther-3- glucoside **208** a été détecté dans le complexe de *F. thebaica* (*F. boulosii* Hadidi var. *boulosii*, *F. thebaica* var. *thebaica* et *F. thebaica* var. *violacea* Boulos) [101] et l'étude phytochimique de *F. bruguieri* a montré la présence de l'herbacétine-3,7,8-triméthyl éther **209** et de l'herbacétine-3,8- diméthyl éther **210** [127], ce dernier est un agent de prévention du cancer [130].

Figure 19 : Les dérivés de herbacétine du genre *Fagonia*Tableau 9 : Les dérivés de herbacétine détecté dans le genre *Fagonia*

Composé	Espèce	Référence
herbacétine 8-méthyl éther-3-rutinoside 37	<i>F. arabica</i> <i>F. taeckholmiana</i> <i>F. thebaica</i> <i>F. boulosii</i>	[136, 139, 100] [136,139] [136,101] [202,122]
herbacétine-8- <i>O</i> -rutinoside 38	<i>F. arabica</i> <i>F. taeckholmiana</i> <i>F. thebaica</i>	[136, 139, 100] [136,139] [133,101]
herbacétine 8-méthyl éther-3,7-diglucoside 205	<i>F. arabica</i> <i>F. taeckholmiana</i>	[136,139] [136,139]
herbacétine 8-méthyl éther-3-rutinoside-7-glucoside 206	<i>F. arabica</i> <i>F. taeckholmiana</i>	[136,139] [136,139]
8- <i>O</i> -méthylherbacétine 207	<i>F. tristis</i>	[136,138]
herbacétine 8-méthyl ether-3- glucoside 208	<i>F. thebaica</i> <i>F. boulosii</i>	[136,101] [136,101]
herbacétine-3,7,8-triméthyl éther 209	<i>F. bruguieri</i>	[127]
herbacétine-3,8- diméthyl éther 210	<i>F. bruguieri</i> <i>F. boveana</i>	[127] [130]

❖ Autres flavonols

L'investigation phytochimique de *F. bruguieri* a conduit à l'identification du 5,7,4'-trihydroxy-3,8,3'-triméthoxyflavone **211**, la gossepétine-3,8,3', 4'-tétraméthyl éther **212** et le 8-methoxy-quercetine 3, 7, 3'-trimethyl ether **213** [127]. Ces deux derniers ont été également identifiés dans *F. boveana*, avec le composé **214** qui a montré une activité cytotoxique significative contre le cancer [130]. (Figure 20)

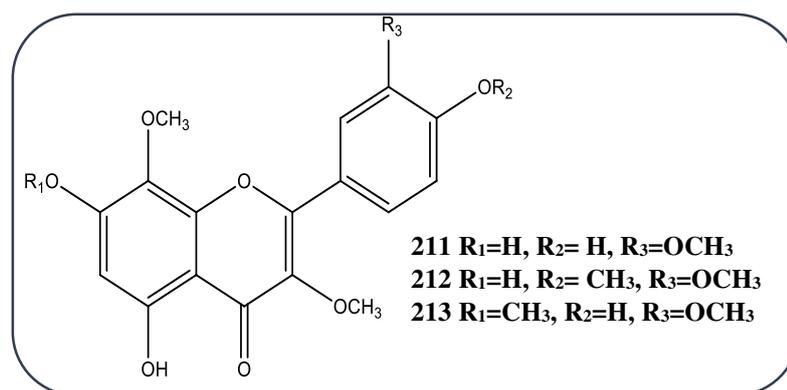


Figure 20 : flavonols isolés du genre *Fagonia*

III.2.7.2. Les flavones

Les flavones ne sont pas très répandues dans le genre *Fagonia*. Elles sont seulement représentées par l'apigénine **214** et l'apigénine 7-*O*-glucoside nommé apigétrine **215** isolées de *F. taeckholmiana* [52], acacétine 7-*O*-rhamnoside **40** et de *F. arabica* [109]. (Figure 21)

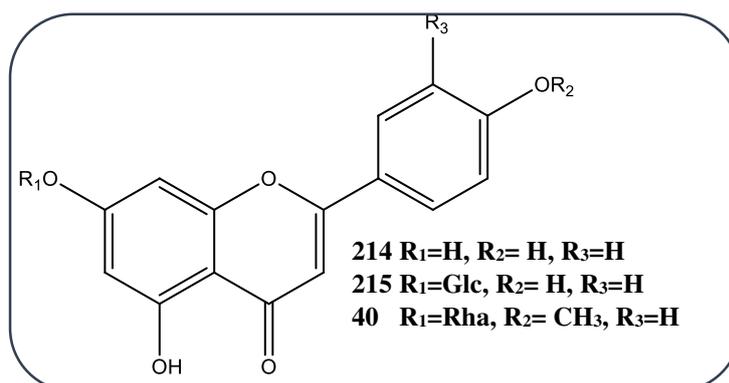


Figure 21 : flavones isolés du genre *Fagonia*

III.2.8. Autres composés

Les études effectuées sur *Fagonia* ont révélé la présence d'autres classes des composés comme les alcools tel que : 2-méthyl-Z, Z-3,13-octadécadiénol **216**, 9-méthyl-bicyclo [3.3.1] nonan-9-ol **217**, 2-hexyl-1-décanol **218**, 2-octyl-1-décanol **219** qui ont été détecté dans *F. indica*, des composés aromatique tel que : 1-benzyl-1H-benzimidazole **220** de *F. indica* [125], Hydroxytoluène butylé **221** de *F. longispina* [132], les composés organiques hétérocycliques : 5-oxotétrahydrofuran-2-carboxylate d'éthyle **222**, 2-méthyl-5-pentyl-tétrahydrofurane **223**, les hydrocarbures: 2,6,10-triméthyl-tétradécane **224**, 2- méthyl-hexacosane **225** ont été identifiés à partir de *F. indica* [125].(Figure.22)

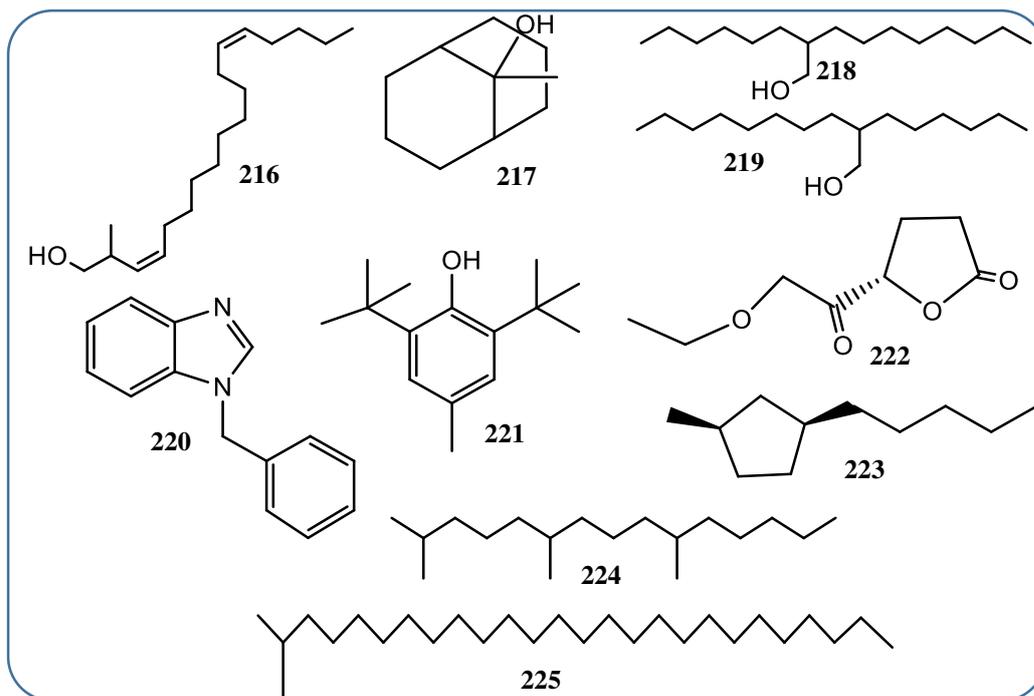


Figure 22 : autres composés détectés dans le genre *Fagonia*

IV. Conclusion

L'étude bibliographique de la famille des Zygophyllaceae et du genre *Fagonia* a montré la richesse de ces derniers en divers métabolites secondaires, ainsi que leur large variété d'activités biologiques. Ce qui nous a encouragé à sélectionner une espèce appartenant au genre *Fagonia*, avec pour objectif de réaliser une investigation phytochimique et une évaluation biologique sur cette espèce.

Références bibliographiques

- [1] SHEAHAN, M. C.; CHASE, M. W., A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae R. Br. based on morphological, anatomical and rbc L DNA sequence data. *Botanical Journal of the Linnean Society* **1996**, 122, 279-300..
- [2] Sheahan, M. C.; Chase, M. W., Phylogenetic relationships within Zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on Zygophylloideae. *Systematic Botany* **2000**, 25, 371-384.
- [3] Quezel P, Santa S. Nouvelle Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Paris **1962**, Vol. **7**. Tome1 Editions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- [4] Khalik, K. N. A., A numerical taxonomic study of the family Zygophyllaceae from Egypt. *Acta Botanica Brasilica* **2012**, 26, 165-180.
- [5] Liu, Y.; Zhou, L., *Flora of China* **2008**,11, 41-45.
- [6] Liou Yingxin. Zygophyllaceae (excluding Nitraria and Peganum). In: Xu Langran & Huang Chengchiu, eds., Fl. Reipubl. Popularis Sin. **1998**, 43(1): 116-145.9
- [7] Beier, B.-A.; Chase, M.; Thulin, M., Phylogenetic relationships and taxonomy of subfamily Zygophylloideae (Zygophyllaceae) based on molecular and morphological data. *Plant Systematics and Evolution* **2003**, 240, 11-39.
- [8] http://erick.dronnet.free.fr/belles_fleurs_de_france/zygophyllaceae.htm (29/04/2018)
- [9] Beier, B.-A.; Nylander, J.; Chase, M. W.; Thulin, M., Phylogenetic relationships and biogeography of the desert plant genus *Fagonia* (Zygophyllaceae), inferred by parsimony and Bayesian model averaging. *Molecular phylogenetics and evolution* **2004**, 33, 91-108.
- [10] Abou-Gazar, H.; Bedir, E.; Takamatsu, S.; Ferreira, D.; Khan, I. A., Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* **2004**, 65, 2499-2505.
- [11] Kamel, M., A furostanol saponin from fruits of *Balanites aegyptiaca*. *Phytochemistry* **1998**, 48, 755-757.
- [12] Kasture, S. B.; Gupta, S. C.; Kotecha., M., Anticonvulsant activity of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Stem bark. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* **2014**, 14, 25-29.
- [13] Hammiche, V.; Maiza, K., Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of ethnopharmacology* **2006**, 105, 358-367.
- [14] Aghili, M.H. Makhzan-al-Advia (Persian). Tehran: Tehran University of Medical Sciences, **2009**, 328.
- [15] Tonkaboni, M.M. Tohfeh al-Momenin (Persian). Tehran: Shahid Beheshti University of Medical Sciences Publication, **2007**, 150.
- [16] Ibn Sina. Al Qanun Fi al-Tibb (Persian). Tehran: Soroush Publication **2005**, 152.
- [17] Goleniowski, M. E.; Bongiovanni, G.; Palacio, L.; Nuñez, C.; Cantero, J., Medicinal plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina. *Journal of ethnopharmacology* **2006**, 107, 324-341.
- [18] Ageely, H. M.; Gupta, S.; Patil, B. R., Review of Ethnomedicinal Plant *Fagonia*. *International Journal of Pharmaceutical Applications* **2014**, 5, 22-28.
- [19] Pareek, A.; Godavarthi, A.; Issarani, R.; Nagori, B. P., Antioxidant and hepatoprotective activity of *Fagonia schweinfurthii* (Hadidi) Hadidi extract in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in HepG2 cell line and rats. *Journal of ethnopharmacology* **2013**, 150, 973-981.
- [20] Bhandari, M.M., Flora of the Indian Desert Scientific **1990**.
- [21] Singh, V., Pandey, R.P., Ethnobotany of Rajasthan, Scientific **1998**.

- [22] Kirtikar, K.R., Basu, B.D., Indian Medicinal Plants, third ed **2000**.
- [23] Qureshi, R.; Bhatti, G. R., Ethnobotany of plants used by the Thari people of Nara Desert, Pakistan. *Fitoterapia* **2008**, *79*, 468-473.
- [24] Patel, Y.; Joshi, E.; Joshi, P., Ethnobotanical study of Tapkeshwari Hill, Bhuj, Kachchh, India. *Life Sci Leaflets* **2010**, *2*, 22-31.
- [25] Baquar SR. Medicinal and Poisonous Plants of Pakistan **1989**, 198-199.
- [26] Hussain, A.; Zia, M.; Mirza, B., Cytotoxic and Antitumor Potential of *Fagonia cretica* L. *Turkish journal of biology* **2007**, *31*, 19-24.
- [27] Watt, G., Dictionary of the Economic Products of India. Periodical Experts, 42-D, Vivek Vihar, Shahdara, Delhi, India, **1972**, *1*, 444-446.
- [28] Shad, A. A.; Shah, H.; Khattak, F.; Dar, N. G.; Bakht, J., Proximate and mineral constituents of medicinal herb *Fagonia arabica*. *Asian Journal of Plant Sciences* **2002**, *1*, 710-711.
- [29] Khattak, K. F., Evaluation of microbial loads, physical characteristics, chemical constituents and biological properties of radiation processed *Fagonia arabica*. *Radiation Physics and Chemistry* **2012**, *81*, 679-685.
- [30] Rizvi, M.; Ahmed, L.; Sarwar, G., Wild medicinal plants of Madinat al-Hikmah and its adjacent areas: part 2. *Hamdard Med* **1996**, *39*, 8-10.
- [31] Ibrar, M.; Hussain, F., Ethnobotanical studies of plants of Charkotli hills, Batkhela district, Malakand, Pakistan. *Frontiers of Biology in China* **2009**, *4*, 539.
- [32] Rashid, U.; Khan, M. R.; Jan, S.; Bokhari, J.; Shah, N. A., Assessment of phytochemicals, antimicrobial and cytotoxic activities of extract and fractions from *Fagonia olivieri* (Zygophyllaceae). *BMC complementary and alternative medicine* **2013**, *13*, 167.
- [33] Saeed MA. Hamdard Pharmacopoeia of eastern medicine. Karachi, Pakistan: Hamdard Academy **1969**. 41-43.
- [34] El-Ghazali, G. E.; Al-Khalifa, K. S.; Saleem, G. A.; Abdallah, E. M., Traditional medicinal plants indigenous to Al-Rass province, Saudi Arabia. *Journal of Medicinal Plants Research* **2010**, *4*, 2680-2683.
- [35] Kawanishi, S.; Hiraku, Y.; Murata, M.; Oikawa, S., The role of metals in site-specific DNA damage with reference to carcinogenesis 1, 2. *Free Radical Biology and Medicine* **2002**, *32*, 822-832.
- [36] Sachidanandam, K.; Fagan, S. C.; Ergul, A., Oxidative stress and cardiovascular disease: antioxidants and unresolved issues. *Cardiovascular Therapeutics* **2005**, *23*, 115-132.
- [37] Bodamyali, T.; Stevens, C. R.; Blake, D. R.; Winyard, P. G., Reactive oxygen/nitrogen species and acute inflammation: a physiological process. *Free Radicals and inflammation* **2000**, 11-16.
- [38] Tawaha, K.; Alali, F. Q.; Gharaibeh, M.; Mohammad, M.; El-Elimat, T., Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry* **2007**, *104*, 1372-1378.
- [39] Ksouri, W. M.; Medini, F.; Mkadmini, K.; Legault, J.; Magné, C.; Abdelly, C.; Ksouri, R., LC-ESI-TOF-MS identification of bioactive secondary metabolites involved in the antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of the edible halophyte *Zygophyllum album* Desf. *Food chemistry* **2013**, *139*, 1073-1080.
- [40] Hammoda, H. M.; Ghazy, N. M.; Harraz, F. M.; Radwan, M. M.; ElSohly, M. A.; Abdallah, I. I., Chemical constituents from *Tribulus terrestris* and screening of their antioxidant activity. *Phytochemistry* **2013**, *92*, 153-159.

- [41] Khelifi, D.; Sghaier, R. M.; Amouri, S.; Laouini, D.; Hamdi, M.; Bouajila, J., Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and chemical toxicology* **2013**, *55*, 202-208.
- [42] Sarkar, A.; Datta, P.; Das, A. K.; Gomes, A., Anti-rheumatoid and anti-oxidant activity of homeopathic *Guaiacum officinale* in an animal model. *Homeopathy* **2014**, *103*, 133-138.
- [43] Speroni, E.; Cervellati, R.; Innocenti, G.; Costa, S.; Guerra, M.; Dall'Acqua, S.; Govoni, P., Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *Journal of ethnopharmacology* **2005**, *98*, 117-125.
- [44] Satpute, R. M.; Kashyap, R. S.; Deopujari, J. Y.; Purohit, H. J.; Taori, G. M.; Daginawala, H. F., Protection of PC12 cells from chemical ischemia induced oxidative stress by *Fagonia arabica*. *Food and chemical toxicology* **2009**, *47*, 2689-2695.
- [45] Anil, P.; Nikhil, B.; Manoj, G.; Prakash, N., Phytochemicals and biological activities of *Fagonia indica*. *International Research Journal of Pharmacy* **2012**, *3*, 56-59.
- [46] Hamidi, N.; Lazouni, H.; Moussaoui, A.; Ziane, L.; Djellouli, M.; Belabbesse, A., Ethnopharmacology, antibacterial and antioxidant activities, phytochemical screening of bioactive extracts from the aerial parts of *Fagonia longispina*. *Asian Journal of Natural and Applied Sciences* **2014**, *3*, 53-63.
- [47] Alali, F. Q.; Tawaha, K.; El-Elimat, T.; Syouf, M.; El-Fayad, M.; Abulaila, K.; Nielsen, S. J.; Wheaton, W. D.; III, J. O. F.; Oberlies, N. H., Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: an ICBG project. *Natural Product Research* **2007**, *21*, 1121-1131
- [48] Qazzaz, M. E.; Raja, V. J.; Lim, K.-H.; Kam, T.-S.; Lee, J. B.; Gershkovich, P.; Bradshaw, T. D., *In vitro* anticancer properties and biological evaluation of novel natural alkaloid jerantinine B. *Cancer letters* **2016**, *370*, 185-197.
- [49] Lambert, J. D.; Sang, S.; Dougherty, A.; Caldwell, C. G.; Meyers, R. O.; Dorr, R. T.; Timmermann, B. N., Cytotoxic lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 811-815.
- [50] Albalawi, M. A. D.; Bashir, N. A. O.; Tawfik, A., Anticancer and Antifolate Activities of Extracts of Six Saudi Arabian Wild Plants Used in Folk Medicine. *Journal of Life Sciences* **2015**, *9*, 334-340.
- [51] Shehab, N. G.; Mahdy, A.; Khan, S. A.; Nouredin, S. M., Chemical constituents and biological activities of *Fagonia indica* Burm F. *Research Journal of Medicinal Plants* **2011**, *5*, 531-546.
- [52] Ibrahim, L. F.; Kawashty, S. A.; El-Hagrassy, A. M.; Nassar, M. I.; Mabry, T. J., A new kaempferol triglycoside from *Fagonia taekholmiana*: cytotoxic activity of its extracts. *Carbohydrate research* **2008**, *343*, 155-158.
- [53] Ahmad, I.; Aqil, F.; Ahmad, F.; Owais, M., *Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants Into Drugs* **2006**.
- [54] Shakeri, A.; Hazeri, N.; Vlizadeh, J.; Ghasemi, A.; Tavallaei, F. Z., Phytochemical screening, Antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. extracts. *Kragujevac Journal of Science* **2012**, *34*, 71-78.
- [55] Clark, A. M.; Hufford, C. D., Discovery and development of novel prototype antibiotics for opportunistic infections related to acquired immunodeficiency syndrome. ACS Publications **1993**.
- [56] Martins, S.; Amorim, E. L.; Sobrinho, T. J. P.; Saraiva, A. M.; Pisciotano, M. N.; Aguilar, C. N.; Teixeira, J. A.; Mussatto, S. I., Antibacterial activity of crude methanolic extract and fractions obtained from *Larrea tridentata* leaves. *Industrial Crops and Products* **2013**, *41*, 306-311.
- [57] Nenaah, G., Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia* **2010**, *81*, 779-782.
- [58] Bouabdelli, F.; Djelloul, A.; Kaid-Omar, Z.; Semmoud, A.; Addou, A., Antimicrobial activity of 22 plants used in urolithiasis medicine in western Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* **2012**, *2*, S530-S535.

- [59] Zaidi, M. A.; Crow, S. A., Biologically active traditional medicinal herbs from Balochistan, Pakistan. *Journal of ethnopharmacology* **2005**, *96*, 331-334.
- [60] Zhang, J.-D.; Xu, Z.; Cao, Y.-B.; Chen, H.-S.; Yan, L.; An, M.-M.; Gao, P.-H.; Wang, Y.; Jia, X.-M.; Jiang, Y.-Y., Antifungal activities and action mechanisms of compounds from *Tribulus terrestris* L. *Journal of ethnopharmacology* **2006**, *103*, 76-84.
- [61] Kouser, R.; Qureshi, R., Antimicrobial activity of *Fagonia indica* from Thal Desert, Punjab, Pakistan. *International Journal of Phytomedicine* **2013**, *5*, 113-118.
- [62] Sajid, B.; Alia, E.; Rizwana, K.; Uzma, S.; Alamgeer, H. M., Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Fagonia cretica* plant extracts against selected microbes. *Journal of Pharmacy Research* **2011**, *4*, 962-963.
- [63] Syed, F.; Jahan, R.; Ahmed, A.; Khan, S., *In vitro* antimicrobial activities of Glycyrrhiza glabra and *Fagonia arabica*. *Journal of Medicinal Plants Research* **2013**, *7*, 2265-2270.
- [64] Al-Fatimi, M.; Wurster, M.; Schröder, G.; Lindequist, U., Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. *Journal of Ethnopharmacology* **2007**, *111*, 657-666.
- [65] Ezzat, S. M.; Abdel Motaal, A.; El Awdan, S. A. W., In vitro and in vivo antidiabetic potential of extracts and a furostanol saponin from *Balanites aegyptiaca*. *Pharmaceutical biology* **2017**, *55*, 1931-1936.
- [66] Komeili, G.; Hashemi, M.; Bameri-Niafar, M., Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic effects of *Peganum harmala* seeds in diabetic rats. *Cholesterol* **2016**, *2016*.
- [67] Li, M.; Qu, W.; Wang, Y.; Wan, H.; Tian, C., Hypoglycemic effect of saponin from *Tribulus terrestris*. *Zhong yao cai= Zhongyao cai= Journal of Chinese medicinal materials* **2002**, *25*, 420-422.
- [68] Jaouhari, J.; Lazrek, H.; Jana, M., The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* **2000**, *69*, 17-20.
- [69] Mahdy, A.; Shehab, N. G., Hypoglycemic Activity of *Fagonia indica* and Aloe vera in Alloxan-Induced Hyperglycemia in Mice. *EC Pharmaceutical Science* **2015**, *2*, 239-244.
- [70] Ahmad, M.; Khan, M. A.; Arshad, M.; Zafar, M., Ethnophytotherapical approaches for the treatment of diabetes by the local inhabitants of district Attock (Pakistan). *Ethnobotanical leaflets* **2006**, *2004*, 7.
- [71] Saleem, S.; Jafri, L.; ul Haq, I.; Chang, L. C.; Calderwood, D.; Green, B. D.; Mirza, B., Plants *Fagonia cretica* L. and *Hedera nepalensis* K. Koch contain natural compounds with potent dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory activity. *Journal of ethnopharmacology* **2014**, *156*, 26-32.
- [72] Lawrence, T.; Willoughby, D. A.; Gilroy, D. W., Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nature Reviews Immunology* **2002**, *2*, 787-795.
- [73] Mohammed, M. S.; Alajmi, M. F.; Alam, P.; Khalid, H. S.; Mahmoud, A. M.; Ahmed, W. J., Chromatographic finger print analysis of anti-inflammatory active extract fractions of aerial parts of *Tribulus terrestris* by HPTLC technique. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* **2014**, *4*, 203-208.
- [74] Pedernera, A. M.; Guardia, T.; Calderón, C. G.; Rotelli, A. E.; de la Rocha, N. E.; Di Genaro, S.; Pelzer, L. E., Anti-ulcerogenic and anti-inflammatory activity of the methanolic extract of *Larrea divaricata* Cav. in rat. *Journal of ethnopharmacology* **2006**, *105*, 415-420.
- [75] El Ghoul, J.; Smiri, M.; Ghrab, S.; Boughattas, N. A.; Ben-Attia, M., Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of traditional aqueous extract of *Zygophyllum album* in streptozotocin diabetic mice. *Pathophysiology* **2012**, *19*, 35-42.

- [76] Sharifi, A. M.; Darabi, R.; Akbarloo, N., Study of antihypertensive mechanism of *Tribulus terrestris* in 2K1C hypertensive rats: role of tissue ACE activity. *Life sciences* **2003**, *73*, 2963-2971
- [77] Alqasoumi, S. I.; Yusufoglu, H. S.; Alam, A., Anti-inflammatory and wound healing activity of *Fagonia schweinfurthii* alcoholic extract herbal gel on albino rats. *African Journal of pharmacy and Pharmacology* **2011**, *5*, 1996-2001.
- [78] El-Shabrawy, O.; El-Gindi, O.; Melek, F.; Abdel-Khalik, S.; Haggag, M., Biological properties of saponin mixtures of *Fagonia cretica* and *Fagonia mollis*. *Fitoterapia* **1997**, *68*, 219-222.
- [79] Prasad, S.; Kashyap, R. S.; Deopujari, J. Y.; Purohit, H. J.; Taori, G. M.; Dagainawala, H. F., Effect of *Fagonia Arabica* (Dhamasa) on in vitro thrombolysis. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **2007**, *7*, 36.
- [80] Tahir Razi, M.; Asad, M. H. H. B.; Khan, T.; Zabta Chaudhary, M.; Tayyab Ansari, M.; Arshad, M. A.; Saqib, Q. N.-u., Antihaemorrhagic potentials of *Fagonia cretica* against *Naja naja karachiensis* (black Pakistan cobra) venom. *Natural product research* **2011**, *25*, 1902-1907.
- [81] Mothana, R. A.; Mentel, R.; Reiss, C.; Lindequist, U., Phytochemical screening and antiviral activity of some medicinal plants from the island Soqotra. *Phytotherapy research* **2006**, *20*, 298-302.
- [82] Shang, X.; Guo, X.; Li, B.; Pan, H.; Zhang, J.; Zhang, Y.; Miao, X., Microwave-assisted extraction of three bioactive alkaloids from *Peganum harmala* L. and their acaricidal activity against *Psoroptes cuniculi* in vitro. *Journal of ethnopharmacology* **2016**, *192*, 350-361.
- [83] Bensalem, S.; Soubhye, J.; Aldib, I.; Bournine, L.; Nguyen, A. T.; Vanhaeverbeek, M.; Rousseau, A.; Boudjeltia, K. Z.; Sarakbi, A.; Kauffmann, J. M., Inhibition of myeloperoxidase activity by the alkaloids of *Peganum harmala* L.(Zygophyllaceae). *Journal of ethnopharmacology* **2014**, *154*, 361-369.
- [84] Ivanova, A.; Serly, J.; Christov, V.; Stamboliyska, B.; Molnar, J., Alkaloids derived from genus *Veratrum* and *Peganum* of Mongolian origin as multidrug resistance inhibitors of cancer cells. *Fitoterapia* **2011**, *82*, 570-575.
- [85] Liu, W.; Wang, Y.; He, D.-d.; Li, S.-p.; Zhu, Y.-d.; Jiang, B.; Cheng, X.-m.; Wang, Z.-t.; Wang, C.-h., Antitussive, expectorant, and bronchodilating effects of quinazoline alkaloids (\pm)-vasicine, deoxyvasicine, and (\pm)-vasicinone from aerial parts of *Peganum harmala* L. *Phytomedicine* **2015**, *22*, 1088-1095.
- [86] Sassoui, D.; Seridi, R.; Azin, K.; Usai, M., Evaluation of phytochemical constituents by GC-MS and antidepressant activity of *Peganum harmala* L. seeds extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* **2015**, *5*, 971-974.
- [87] Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J., Alkaloids and phenylpropanoids from *Peganum nigellastrum*. *Phytochemistry* **2000**, *53*, 1075-1078.
- [88] Sarker, S.; Bartholomew, B.; Nash, R., Alkaloids from *Balanites aegyptiaca*. *Fitoterapia* **2000**, *71*, 328-330.
- [89] Li, J.-X.; Shi, Q.; Xiong, Q.-B.; Prasain, J. K.; Tezuka, Y.; Hareyama, T.; Wang, Z.-T.; Tanaka, K.; Namba, T.; Kadota, S., Tribulusamide A and B, new hepatoprotective lignanamides from the fruits of *Tribulus terrestris*: indications of cytoprotective activity in murine hepatocyte culture. *Planta medica* **1998**, *64*, 628-631.
- [90] Jitsuno, M.; Mimaki, Y., Triterpene glycosides from the aerial parts of *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* **2010**, *71*, 2157-2167.
- [91] Farheen, R.; Mahmood, I.; Siddiqui, B. S.; Mahmood, T.; Wahab, A., FAGONILIN: a new triterpene from *Fagonia indica* burm. F. VAR. INDICA. *Fuuast Journal of Biology* **2014**, *4*, 261.
- [92] Tang, S.-A.; Ding, L.-L.; Zhai, H.-Y.; Qin, N.; Duan, H.-Q., Four new triterpenes from the endemic relict shrub *Tetraena mongolica*. *Journal of Asian natural products research* **2012**, *14*, 838-843.

- [93] Perrone, A.; Masullo, M.; Bassarello, C.; Hamed, A. I.; Belisario, M. A.; Pizza, C.; Piacente, S., Sulfated triterpene derivatives from *Fagonia arabica*. *Journal of natural products* **2007**, *70*, 584-588.
- [94] Melek, F.; Miyase, T.; El-Gindy, M.; Abdel-Khalik, S.; Ghaly, N.; El-Kady, M., Saponins from *Fagonia glutinosa*. *Die Pharmazie* **2000**, *55*, 772-776.
- [95] Ahmad, V. U.; Uddin, S., A triterpenoid saponin from *Zygophyllum propinquum*. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1051-1054.
- [96] Hani, M.; Elgamal, A.; Shaker, K. H.; Pollmann, K.; Seifert, K., Triterpenoid saponins from *zygophyllum* species. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1233-1236.
- [97] Su, L.; Chen, G.; Feng, S.-G.; Wang, W.; Li, Z.-F.; Chen, H.; Liu, Y.-X.; Pei, Y.-H., Steroidal saponins from *Tribulus terrestris*. *Steroids* **2009**, *74*, 399-403.
- [98] Motaal, A. A.; El-Askary, H.; Crockett, S.; Kunert, O.; Sakr, B.; Shaker, S.; Grigore, A.; Albulescu, R.; Bauer, R., Aldose reductase inhibition of a saponin-rich fraction and new furostanol saponin derivatives from *Balanites aegyptiaca*. *Phytomedicine* **2015**, *22*, 829-836.
- [99] Ahmad, V. U.; Saba, N.; Khan, K. M., Triterpenoid saponin from the bark of *Guaiacum Officinale* L. *Natural product research* **2004**, *18*, 111-116.
- [100] Saleh, N. A.; El-Hadidi, M. N., An approach to the chemosystematics of the Zygophyllaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* **1977**, *5*, 121-128.
- [101] Al-Wakeel, S.; El-Garf, I.; Saleh, N., Distribution of flavonoids in *Fagonia thebaica* complex. *Biochemical systematics and ecology* **1988**, *16*, 57-58.
- [102] Sharaf, M.; El-Ansari, M. A.; Matlin, S. A.; Saleh, N. A., Four flavonoid glycosides from *Peganum harmala*. *Phytochemistry* **1997**, *44*, 533-536.
- [103] Hussein, S. R.; Marzouk, M. M.; Ibrahim, L. F.; Kawashty, S. A.; Saleh, N. A., Flavonoids of *Zygophyllum album* Lf and *Zygophyllum simplex* L.(Zygophyllaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **2011**, *39*, 778-780.
- [104] Alavia, S. H. R.; Matin Yekta, M.; Hadjiaghaee, R.; Ajani, Y., Flavonoid Glycosides from *Tribulus terrestris* L. orientalis. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2008**, *4*, 231-236.
- [105] Konigheim, B.; Goleniowski, M.; Contigiani, M., Cytotoxicity and antiviral activity of a lignan extracted from *Larrea divaricata*. *Drug Design Reviews-Online* **2005**, *2*, 81-83.
- [106] Vogt, V.; Cifuentes, D.; Tonn, C.; Sabini, L.; Rosas, S., Antifungal activity *in vitro* and *in vivo* of extracts and lignans isolated from *Larrea divaricata* Cav. against phytopathogenic fungus. *Industrial crops and products* **2013**, *42*, 583-586.
- [107] Chavez, K. J.; Feng, X.; Flanders, J. A.; Rodriguez, E.; Schroeder, F. C., Spirocyclic lignans from *Guaiacum* (Zygophyllaceae) induce apoptosis in human breast cancer cell lines. *Journal of natural products* **2011**, *74*, 1293-1297.
- [108] Miyase, T.; Melek, F.; El-Gindi, O.; Abdel-Khalik, S.; El-Gindi, M.; Haggag, M.; Hilal, S., Saponins from *Fagonia arabica*. *Phytochemistry* **1996**, *41*, 1175-1179.
- [109] El-Wakil, E. A., Phytochemical and molluscicidal investigations of *Fagonia arabica*. *Zeitschrift für Naturforschung C* **2007**, *62*, 661-667.
- [110] Shoeb, H.; Sharada, M.; El-Sayed, L.; El-Wakeel, E., Triterpenoid and Sterol glycosides from *Fagonia arabica* L. *Al-Azhar Journal of Pharmaceutical Sciences* **1994**, *13*, 41-48.

- [111] Khalik, S. A.; Miyase, T.; El-Ashaal, H. A.; Melek, F., Triterpenoid saponins from *Fagonia cretica*. *Phytochemistry* **2000**, *54*, 853-859.
- [112] Shaker, K. H.; Al Jubiri, S. M.; El-Hady, F. A.; Al-Sehemi, A. G., New compounds from *Bassia muricata* and *Fagonia indica*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **2013**, *23*, 231-236.
- [113] Shaker, K. H.; Bernhardt, M.; Elgamal, M. H. A.; Seifert, K., Triterpenoid saponins from *Fagonia indica*. *Phytochemistry* **1999**, *51*, 1049-1053.
- [114] Melek, F.; Miyase, T.; El-Gindi, O.; Abdel-Khalik, S.; Haggag, M., Saponins from *Fagonia mollis*. *Phytochemistry* **1996**, *42*, 1405-1407.
- [115] Farheen, R.; Siddiqui, B. S.; Mahmood, I.; Simjee, S. U.; Majeed, S., Triterpenoids and triterpenoid saponins from the aerial parts of *Fagonia indica* Burm. *Phytochemistry Letters* **2015**, *13*, 256-261.
- [116] Abdel-Khalik, S.; Miyase, T.; Melek, F.; El-Ashaal, H., Further saponins from *Fagonia cretica*. *Die Pharmazie* **2001**, *56*, 247-250.
- [117] Naima, B.; Zahia, K.; Lourence, V-N., Triterpene saponins from *Fagonia scabra* Forssk and other *Fagonia* species. *Biochemical Systematics and Ecology* **2016**, *67*, 1-6.
- [118] Shaker, K. H.; Bernhardt, M.; Elgamal, M. H. A.; Seifert, K., Sulfonated triterpenoid saponins from *Fagonia indica*. *Zeitschrift für Naturforschung C* **2000**, *55*, 520-523.
- [119] Anjum, M. I.; Ahmed, E.; Sharif, A.; Jabbar, A.; Malik, A.; Hussain, T.; Farooqi, Z. H.; Nawaz, A., A New Triterpene Glycoside from *Fagonia cretica*. *Asian Journal of Chemistry* **2014**, *26*, 7386.
- [120] Sallam, A.; Nugroho, A. E.; Hirasawa, Y.; Chin-Piow, W.; Kaneda, T.; Shirota, O.; Gedara, S. R.; Morita, H., Diterpenoids from *Fagonia mollis*. *Natural product communications* **2014**, *9*, 1243-1244.
- [121] Ansari, A. A.; Kenne, L., Isolation and characterization of two saponins from *Fagonia indica*. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 1487-1490.
- [122] Ansari, A. A.; Kenne, L.; Wehler, T., Isolation and characterization of a saponin from *Fagonia indica*. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 3979-3982.
- [123] Saeed, M. A.; Sabir, A. W., Effects of *Fagonia cretica* L. constituents on various haematological parameters in rabbits. *Journal of ethnopharmacology* **2003**, *85*, 195-200.
- [124] Waheed, A.; Barker, J.; Barton, S. J.; Owen, C. P.; Ahmed, S.; Carew, M. A., A novel steroidal saponin glycoside from *Fagonia indica* induces cell-selective apoptosis or necrosis in cancer cells. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2012**, *47*, 464-473.
- [125] Farheen, R.; Siddiqui, B. S.; Mahmood, I.; Simjee, S. U.; Majeed, S., GC, GC-MS Analysis of Lipophilic Fractions of Aerial Parts of *Fagonia indica* Burm. f. Showing Growth Inhibitory Effect on HT 29 Colorectal Cancer Cells. *Journal of the Chemical Society of Pakistan* **2016**, *38*, 717-717.
- [126] Ghanem, D. M. A. E.-H., Phytochemical and Biological Study of *Tribulus terrestris* and *Fagonia arabica*. *CU Theses* **2016**.
- [127] Abdel-Kader, M. S.; Omar, A. A.; Abdel-Salam, N. A.; Stermitz, F. R., Erythroan diterpenes and flavonoids from *Fagonia bruguieri*. *Phytochemistry* **1993**, *33*, 718-720.
- [128] Abdel-Kader, M. S.; Omar, A. A.; Abdel-Salam, N. A.; Stermitz, F. R., Erythroan diterpenes from *Fagonia* species. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 1431-1433.
- [129] Abdel-Kader, M. S.; Omar, A. A.; Stermitz, F. R., Erythroan diterpenes from *Fagonia glutinosa*. *Planta medica* **1997**, *63*, 374-376.

- [130] Gedara, S. R.; Abdel-Halim, O. B.; El-Sharkawy, S. H.; Salama, O. M.; Shier, T. W.; Halim, A. F., New Erythroxane-Type Diterpenoids from *Fagonia boveana* (Hadidi) Hadidi & Graf. *Zeitschrift für Naturforschung C* **2003**, *58*, 23-32.
- [131] DASTAGIR, G.; HUSSAIN, F.; Rehman, I. U., Essential oil composition of some plants of family Zygophyllaceae and Euphorbiaceae. *Pakistan Journal of Botany* **2014**, *46*, 2043-2049.
- [132] Hamidi, N.; Lazouni, H.; Moussaoui, A.; Ziane, L.; Saad, A., GC-MS Analysis of ethanol extract from the aerial parts of *Fagonia longispina* (family zygophyllaceae). *Asian journal of natural & applied sciences* **2012**, *1*, 136-142.
- [133] Maksoud, S. A.; El-Hadidi, M., The flavonoids of the *Fagonia bruguieri* complex (Zygophyllaceae). *Plant systematics and evolution* **1987**, *155*, 311-318.
- [134] Al-Wakeel, S. A., Significance of flavonoid chemistry in the egyptian fagonia glutinosa and f. Isotricha complexes. *Biochemical systematics and ecology* **1992**, *20*, 259-264.
- [135] El-Hadidi, M.; Al-Wakeel, S.; El-Garf, I., Systematic significance of the flavonoid constituents in the *Fagonia indica*—complex. *Biochemical systematics and ecology* **1988**, *16*, 293-297.
- [136] Saleh, N. A.; El-Hadidi, M. N.; Al-Wakeel, S. A., Phytochemistry and phylogenetic affinities among Egyptian species of *Fagonia*. *Biochemical systematics and ecology* **1990**, *18*, 49-52.
- [137] Al-Wakeel, S.; El-Garf, I.; Saleh, N., Differences in flavonoid constituents among the species of *Fagonia sinaica* complex (Zygophyllaceae). *Plant systematics and evolution* **1988**, *161*, 87-89.
- [138] Al-Wakeel, S.; El-Negoumy, S.; El-Hadidi, M.; Saleh, N., Flavonoid patterns in *Fagonia mollis*-complex. *Biochemical systematics and ecology* **1987**, *15*, 459-460.
- [139] El-Negoumy, S.; Al-Wakeel, S.; El-Hadidi, M.; Saleh, N., The flavonoids of the *Fagonia arabica*-complex (Zygophyllaceae). *Phytochemistry* **1986**, *25*, 2423-2424.

Chapitre II

Travaux personnels

I. Investigation phytochimique de *Fagonia longispina* Batt.

I.1. Les critères de choix de l'espèce

Les plantes appartenant au genre *Fagonia* sont souvent utilisées en médecine traditionnelle comme des remèdes populaires pour le traitement de diverses lésions cutanées. Les parties aériennes de certaines plantes ont également été utilisées pour traiter des types de cancer au premier stade [1,2, 3] ainsi que diverses autres maladies du système digestif et du système vasculaire sanguin. Ces propriétés thérapeutiques ont été imputées à la variété des constituants chimiques actifs contenues dans ces espèces. Les plantes de ce genre ont suscité un grand intérêt en phytochimie depuis de nombreuses années, ces études ont montré l'accumulation de divers métabolites secondaires [3, 4], en particulier les flavonoïdes et les terpènes. C'est pour ces raisons que nous avons sélectionné l'espèce *Fagonia longispina* Batt. Ce choix a été guidé principalement par l'endémisme de cette plante au Sahara septentrional dont le climat et le type d'écosystème sont spécifiques, ces derniers sont susceptibles d'influer sur la composition chimique de la végétation. En outre, il est important de signaler qu'aucune investigation phytochimique n'a été publiée à ce jour sur cette plante à part une étude effectuée par GC/MS sur les composés volatils de cette espèce [3, 5].

I.2. Place dans la systématique

Tableau 10 : classification botanique de *Fagonia longispina* Batt.

Royaume	Plante
Embranchement	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Zygophyllales
Famille	Zygophyllaceae
Sous-famille	Zygophylloideae
Tribu	Zygophylleae
Genre	<i>Fagonia</i> L
Espèces	<i>Fagonia longispina</i> Batt.

I.3. Description botanique

Fagonia longispina (Figure 23) est un petit arbuste épineux de 10 à 20 cm, la plante basse dont les branches couchées sur le sol rayonnent à partir du centre. Toute la plante est garnie de poils clairsemés qui agglutinent le sable. Plante munie de longues stipules fines, les feuilles à trois folioles sont un peu épaisses, la foliole médiane étant plus large que les deux latérales. Le pétiole est assez long, surtout sur les premières feuilles. Fleurs violacées de couleur vive [6].



Figure 23 : Les parties aériennes de *Fagonia longispina* Batt. [6]

I.4. Distribution géographique

Espèce endémique du Sahara septentrional, présente dans le Sahara marocain et oranais, descend jusqu'au Zemmour et serait présente au Tassili des Ajjers [6].

I.5. Usages traditionnels

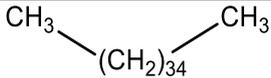
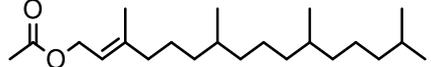
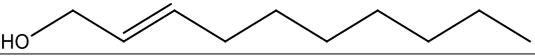
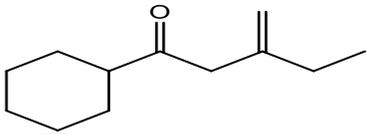
Les noms vernaculaires de cette espèce sont "Chouika" ou "Atlihia", elle est utilisée traditionnellement comme un sirop préventif pour le cancer, pour le traitement de l'inflammation des voies urinaires, contre le rhumatoïde et l'arthrite, dans le traitement des maladies du rhume et comme insectifuge [7].

1.6. Les travaux antérieurs sur *Fagonia longispina*

Deux études chimiques effectuées sur *F. longispina* par la technique d'analyse GC-MS. La première a permis d'identifier 13 composés à partir des extraits hexane, éther diéthylique et chloroforme (Tableau 9) [5], et la deuxième rapporte l'identification de 12 composés à partir de l'extrait acétate d'éthyle (Tableau 9) [3]. Par ailleurs, le screening phytochimique qualitatif des parties aériennes de *F. longispina* a révélé la présence de stéroïdes, de terpénoïdes, de coumarines, de flavonoïdes, de saponines et de tanins [7].

Tableau 11. Les composés détectés antérieurement dans *F. longispina*

Nom du composé	structure
palmitate d'éthyle	
octadéca-9,12-diénoate d'éthyle	
(Z,Z,Z)-9,12,15-octadécatriénoate d'éthyle	
Hydroxytoluène butylé	
acide palmitique	
Acide tridecanoïque	
Linoléate de méthyle	
11,14,17-eicosatriénoate de méthyle	
Acide décanoïque	
9-Elcosene, (E)	
Cyclotetracosane	
1-heptadecene	
1-nonadecene	
Cis -4-(4'- T-butylcyclohexyl)-4-methyl-2-pentanone	
4beta-(tert-butyl)-1alpha-(1-méthyl vinyl) cyclohexaneméthano	
Acétate de citronellyle	
2-Nonen-1-ol	
Tétratétracotane	
3,7,11,15-tétraméthyl-2-hexadécen-1-ol	

Hexatriacontane	
Phytolacetate	
2-decen-1-ol	
1-cyclohexyl-3-méthylènepentan-1-one	

Biologiquement, l'étude de l'effet des différents extraits (éther de pétrole, dichlorométhane, chloroforme, acétone, méthanol) des parties aériennes de *F. longispina* a montré que tous les extraits possèdent des propriétés antibactériennes et antioxydantes [6].

I.7. Matériels et méthodes chromatographiques utilisés pour l'étude phytochimique

❖ Solvants utilisés

L'éther de pétrole, le n-hexane, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, le n-butanol, le méthanol et l'eau.

❖ Révélateur

La révélation a été réalisée avec l'anisaldéhyde et le $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/\text{H}_2\text{SO}_4$.

❖ Chromatographie analytique sur couche mince (CCM)

Les tests analytiques des extraits, des fractions et des produits isolés, ont été faites sur plaques CCM avec la silice comme phase stationnaire, le type de plaques est 60 GF₂₅₄ Merck, 0,1 mm sur support d'aluminium ou en verre.

❖ Chromatographie d'adsorption sur colonne (CC)

Les colonnes ouvertes, le gel de silice est de granulométrie moyenne : 0,063–0,200 mm (70–230 mesh), Merck H60 comme phase stationnaire.

❖ Séparation par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La séparation par HPLC semi-préparative a été opérée selon les conditions chromatographiques suivantes

*injecteur : Shimadzu.

* Colonne : C₁₈ μ -bondapak (30 cm*7,8 mm, 10 μm eau, 2,0ml min⁻¹) (phase inverse). C₈ luna PREP (25cm*10mm, Phenomenex). Le mélange MeOH/H₂O

comme phase mobile.

* Détecteur : Shimadzu RID-10A.

* Pompe : Shimadzu LC-8A.

* Débit : 2 ml/min.

I.8. Protocole Expérimental

I.8.1. Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal a été récolté pendant la période de floraison, en avril 2012, près de Bechar au sud-ouest de l'Algérie et authentifié par M. Mohamed Benabdelhakem, directeur de l'agence de la préservation des ressources naturelles. Un spécimen (FL N° 38/2015) a été déposé au niveau de l'herbier de l'unité de recherche VARENBIOMOL, Université Frères Mentouri, Constantine. La plante a été séchée dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires.

I.8.2. Extraction

I.8.2.1. Extraction hydroalcoolique

Les parties aériennes de *Fagonia longispina* 1.1 kg sont coupées en petits morceaux et mis à macérer à température ambiante dans un mélange hydro alcoolique (Méthanol/Eau ; 80/20 ; v/v). Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant. Après concentration à une température n'excédant pas 37°C, l'extrait alcoolique dilué avec de l'eau distillée à raison de 400 ml par kg de matière sèche. Après filtration, la phase aqueuse obtenue est épuisée successivement par une extraction liquide-liquide en utilisant des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole, chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier lieu le n-butanol. Les extraits organiques ainsi obtenus sont concentrés à sec sous pression réduite et pesés.

Le calcul du rendement de cette extraction par rapport à la matière sèche est rapporté dans le Tableau 12.

Tableau 12. Rendements de l'extraction hydro alcoolique

Matière végétale	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
1100g	Ether de pétrole	0,39	0,035
	Chloroforme	3,27	0,29
	Acétate d'éthyle	3,5	0,31
	n-Butanol	25,27	2,29

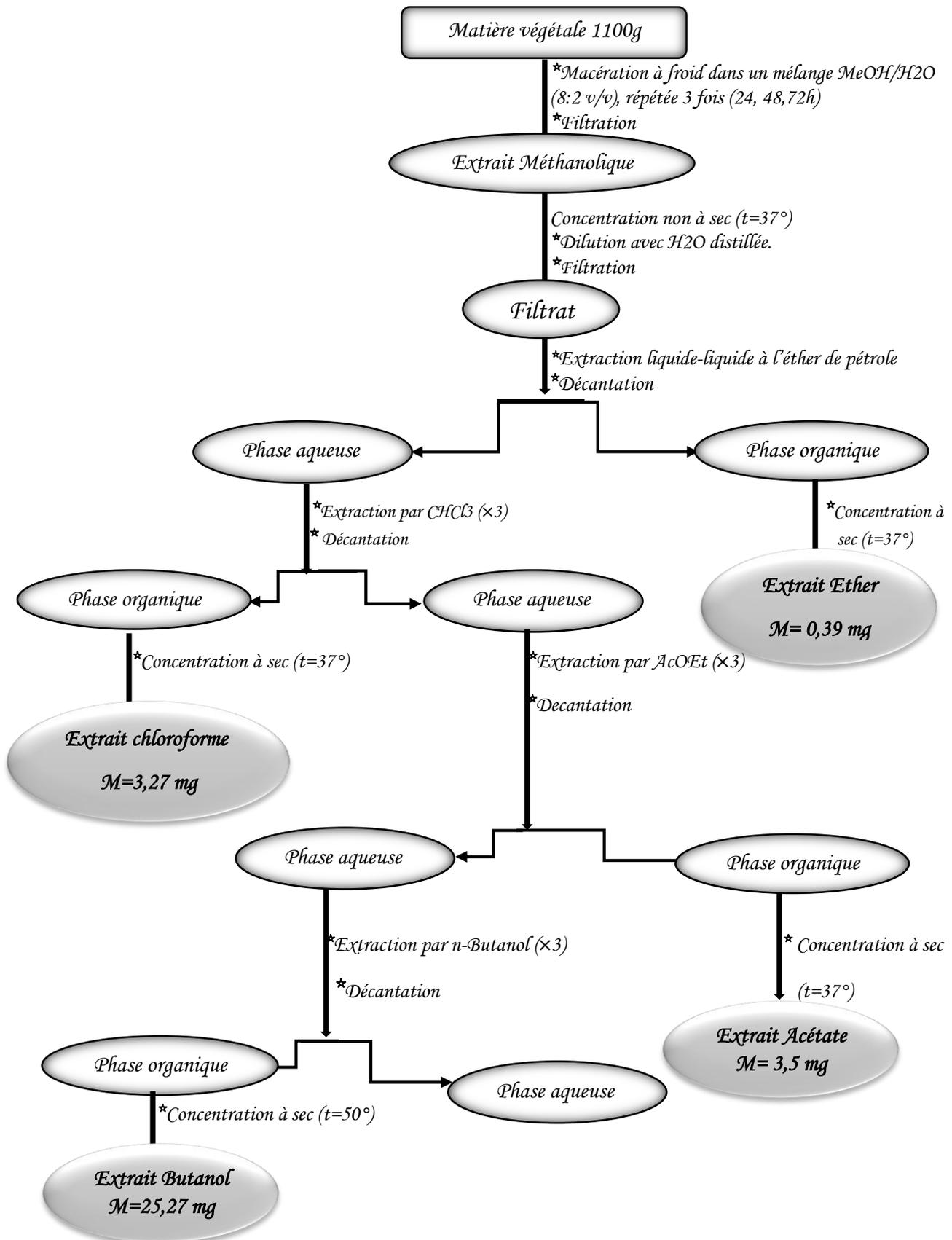


Figure 24 : Récapitulatif de l'extraction hydro alcoolique des parties aériennes de *F. longispina*

I.8.2.2. Exsudat chloroformique

1100 g de la matière végétale (les parties aériennes) sont trempées dans le chloroforme pendant 10 minutes. Cette opération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant. L'extrait chloroforme obtenu a été filtré, évaporé à sec sous pression réduite et pesé. Le calcul du rendement de cette extraction par rapport à la matière végétale est rapporté dans le Tableau 13.

Tableau 13. Rendement de l'exsudation dans le chloroforme

Matière végétale	Extrait	Masse (g)	Rendement(%)
1100g	Chloroforme	20,16	1,83

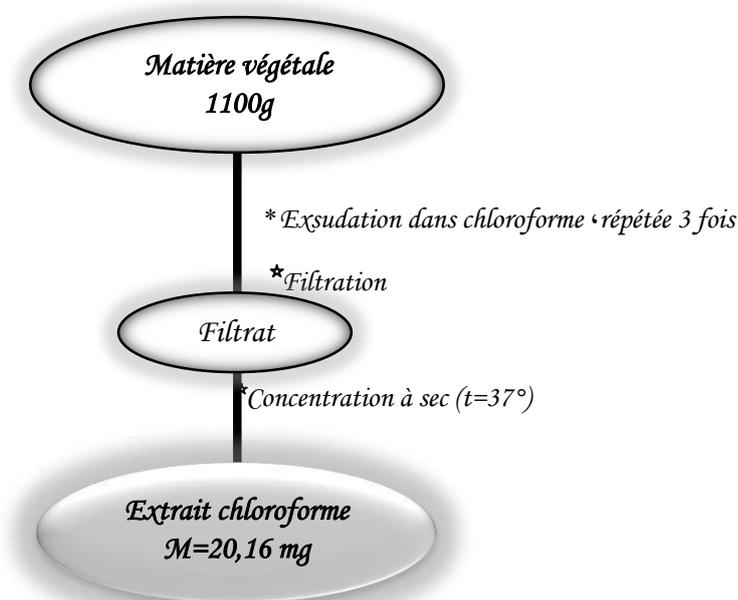


Figure 25 : Protocole d'exsudation des parties aériennes de *F. longispina*

I.9. Etude chromatographique des extraits

I.9.1. Traitement de l'exsudat chloroformique

I.9.1.1. Séparation chromatographique

Les tests chromatographiques sur plaques analytiques de gel de silice menés sur les deux extraits chloroformiques (l'exsudat, la phase) montrent que ces deux extraits sont presque semblables.

Environ 16 g de l'exsudat chloroformique sont dissous dans un minimum de chloroforme, et mélangés à une petite quantité de gel de silice, l'ensemble est séché sous vide, puis pulvérisé jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Cette dernière est chromatographiée sur une colonne

de gel de silice préparé dans l'hexane. La masse de gel de silice utilisée correspond approximativement à 32 fois le poids de l'extrait à séparer (512g). L'élution a été effectuée par l'hexane dont on augmente progressivement la polarité par l'addition de l'acétate d'éthyle, avec un fractionnement tous les 100 ml. Les fractions sont recueillies et analysées par chromatographie sur couche mince (C.C.M). Les plaques sont examinées sous UV (254 et 365nm), puis révélées avec l'anisaldéhyde et chauffées pendant 10 mn à 100°C.

Les pots présentant la même composition sont réunis donnant ainsi 48 fractions. Les résultats de l'opération sont regroupés dans le Tableau 14.

Tableau 14. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'exsudat chloroformique

Lots	N° de Fraction	Système d'élution (%)		Masse mg
		Hexane	Acétate d'éthyle	
1-46	FW/1/1	100-99-98	0-1-2	90,2
47-52	FW/1/2	98	2	130,1
53	FW/1/3	98	2	121,4
54	FW/1/4	98	2	113,8
55-60	FW/1/5	98	2	464,3
61-63	FW/1/6	98	2	283,7
64-66	FW/1/7	96	4	295,1
67-72	FW/1/8	96	4	260,4
73-75	FW/1/9	94	6	172,7
76-80	FW/1/10	94	6	113,8
81-83	FW/1/11	94-92	6-8	154,7
84-85	FW/1/12	92	8	176,2
86-90	FW/1/13	92	8	149,1
91-101	FW/1/14	92-91	8-9	191,2
102-105	FW/1/15	91	9	222,8
106-112	FW/1/16	91	9	105,9
113-119	FW/1/17	91	9	170,5
120-126	FW/1/18	91-90	9-10	243,0
127-133	FW/1/19	90	10	289,6
134-140	FW/1/20	88	12	294,2
141-146	FW/1/21	88-86	12-14	320,2
147-161	FW/1/22	86-84	14-16	367,9
162-164	FW/1/23	84	16	282,0
165-170	FW/1/24	82	18	290,7
171-174	FW/1/25	82	18	285,8
175-179	FW/1/26	80	20	288,8
180-185	FW/1/27	80	20	279,1
186-192	FW/1/28	76	24	284,5
193-206	FW/1/29	76-74	24-26	311,7
207-224	FW/1/30	74-72-70	26-28-30	370,6
225-232	FW/1/31	70-68	30-32	335,7
233-237	FW/1/32	68	32	285,0
238-246	FW/1/33	64	36	255,6
247-266	FW/1/34	60	40	141,4
267-278	FW/1/35	60	40	341,3
279-289	FW/1/36	58	42	310,2

Lots	N° de Fraction	Système d'éluion (%)		Masse mg
		Hexane	Acétate d'éthyle	
290-299	FW/1/37	56	44	283,3
300-307	FW/1/38	56-54	44-46	380,9
308-327	FW/1/39	54	46	108,0
328-343	FW/1/40	50	50	328,2
344-359	FW/1/41	50	50	380,0
360-368	FW/1/42	45	55	360,7
369-393	FW/1/43	45	55	608,1
394-459	FW/1/44	40-30-25	60-70-75	565,1
460-504	FW/1/45	25-20	75-80	540,1
505-525	FW/1/46	10	90	285,9
526-531	FW/1/47	10	90	320,5
	FW/1/48	0	100	1473,5

I.9.1.2. Purification des fractions de l'exsudat chloroformique

❖ Profils chromatographique de l'exsudat chloroformique

La plaque a été éluée dans le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (19/1) et révélée avec le $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ et chauffée pendant 3mn à 100°C .

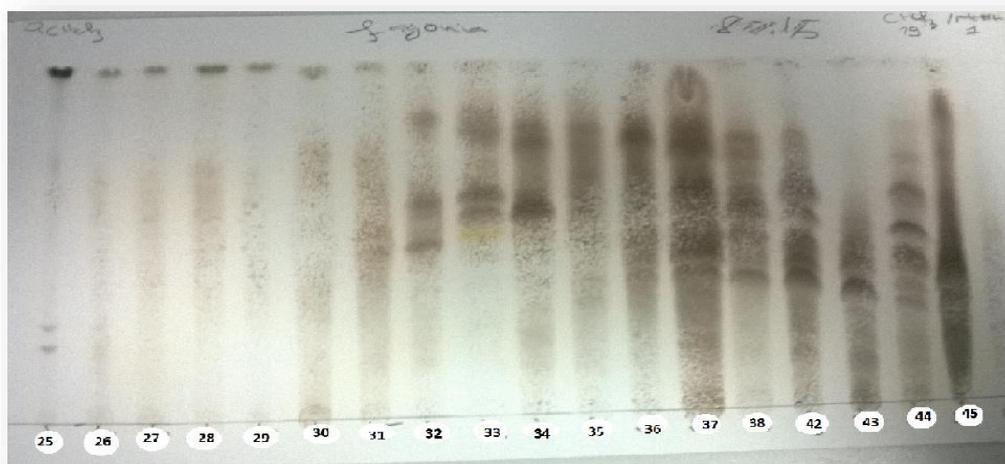


Figure 26 : Profils chromatographique de fractions issues de l'exsudat chloroformique

❖ Etude de la fraction FW/1/34

La fraction FW/1/34 de masse 141,4 mg a subi une séparation par HPLC semi-préparative, en utilisant comme phase mobile le mélange $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ à diverses proportions. La meilleure détection a été obtenue à la proportion (57: 43). Cette opération mène à l'obtention le chromatogramme présenté dans la figure 27. Nous avons injecté la fraction 9 fois avec un temps totale d'une injection 52 min. Les résultats relatifs à cette séparation sont rassemblés dans le Tableau 15.

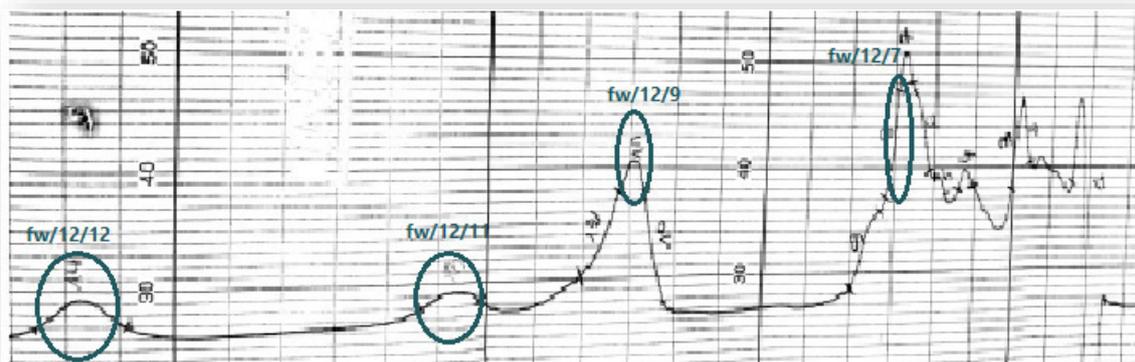


Figure 27 : chromatogramme de la fraction FW/1/34

Tableau 15. Résultat de séparation de la fraction FW/1/34

Sous fraction	Temps de rétention T_R (min)	Remarques
fw/12/7	16	mélange
fw/12/9	27	mélange
fw/12/11	34	mélange
fw/12/12	47,5	produit pur, le composé 3 (1,2mg).

❖ La fraction FW/1/ 16

La fraction FW/1/16 (105,9mg) contenant un précipité blanc insoluble dans le méthanol, est purifié par lavages successifs à l'aide de ce solvant pour donner un mélange du composé **1** et de composé **2**.

❖ La fraction FW/1/ 17

La fraction FW/1/17 (170,5mg) contenant un précipité blanc insoluble dans le méthanol. Ce dernier est soumis à une purification par lavages successifs à l'aide du méthanol. Le test de purification de ce précipité sur plaque analytique de gel de silice, éluée par le chloroforme, a montré que le produit était à l'état pur (composé **A**, $m = 10,8$ mg).

❖ La fraction FW/1/36

La fraction FW/1/36 contenant un précipité, a subi un lavage à l'aide du chloroforme, l'opération a été répétée plusieurs fois. Le précipité jaunâtre ainsi obtenu est soluble dans le méthanol. La CCM éluée par le système : CH_2Cl_2 - Et_2O (8:2) de ce précipité a montré la présence de deux taches, après la purification par CCM dans le même système avec deux éluions, le composé **4** ($m = 8,2$ mg) a été obtenu à l'état pur.

❖ La fraction FW/1/39

108 mg de la fraction FW/1/39 a été chromatographié sur plaques CCM de gel de silice, en utilisant le système d'éluant chloroforme/ méthanol dans les proportions (7 :0,5). Après trois éluions, un produit (composé 5, m= 6,1mg) a été obtenu à l'état pur. Les autres produits issus de cette séparation, sont sous forme de mélange.

❖ La fraction FW/1/41

La séparation de 60 mg de la fraction FW/1/41 a été effectuée sur les plaques CCM de gel de silice dans le système chloroforme/methanol (8 :0,5), éluee trois fois pour donner le composé B (m= 6,3mg)

❖ La fraction FW/1/46

Environ 39,5 mg de la fraction FW/1/46 ont subi deux séparations successives sur des plaques CCM de gel de silice éluées par le système chloroforme /methanol (8.5 :1.5) pour mener à un produit pur (le composé 6, m= 3,4mg).

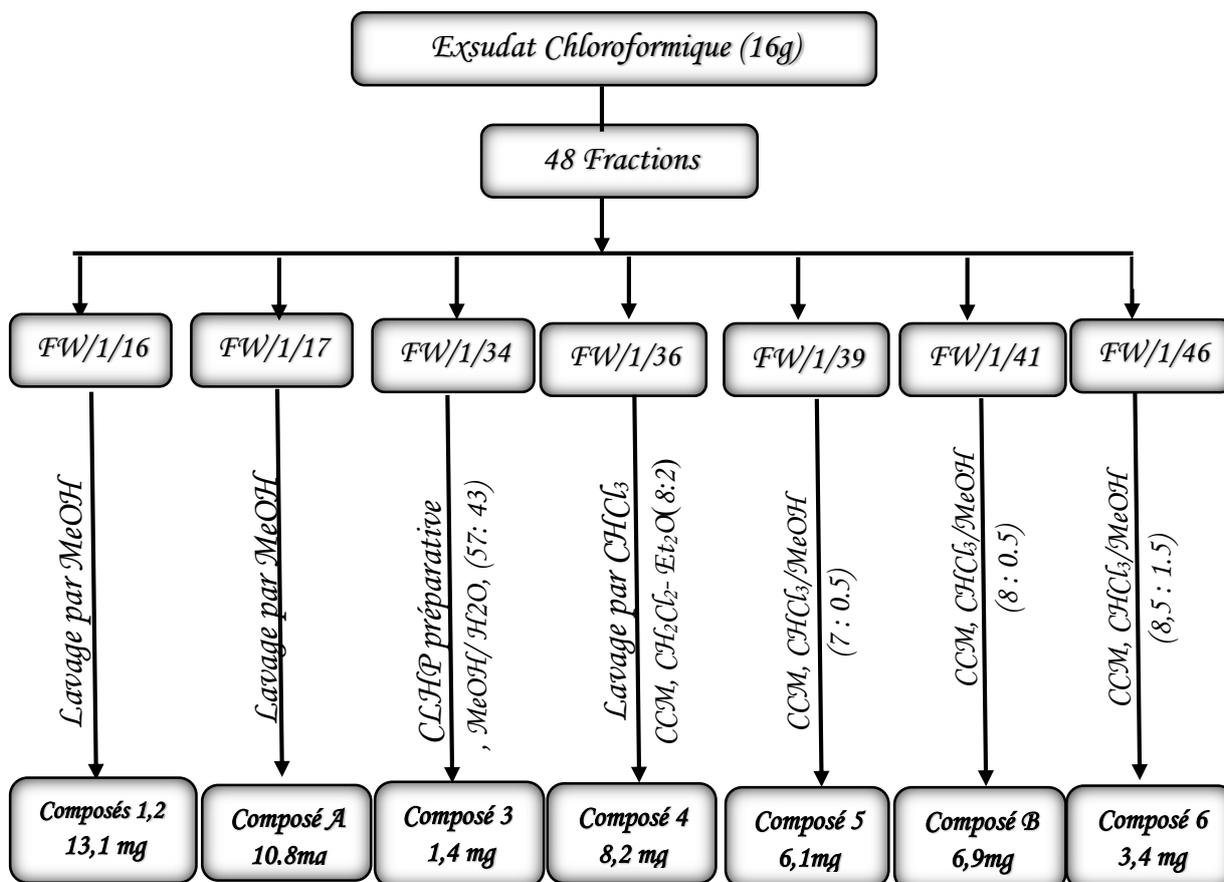


Figure 28 : Schéma de purification des fractions de l'exsudat chloroformique.

I.9.2. Traitement de l'extrait acétate d'éthyle

I.9.2.1. Séparation chromatographique

L'extrait acétate d'éthyle (m= 3,3g) de *Fagonia longispina* a été soumis à des fractionnements successifs par différentes méthodes chromatographiques conduisant à l'isolement des molécules pures. Dans cette première étape, nous avons soumis cet extrait à une chromatographie d'adsorption sur une colonne confectionnée avec 112g de gel de silice préparée dans le chloroforme. L'élution est réalisée avec un gradient de polarité chloroforme – méthanol, en commençant par chloroforme pur et en augmentant la polarité par l'addition progressive du méthanol.

Le fractionnement a été fait tous les 100 ml. Les lots recueillis sont regroupés suivant la similitude de leur profil chromatographique sur couche mince (C.C.M). Les plaques sont examinées sous UV (254 et 365nm), puis révélées avec l'anisaldéhyde et chauffées pendant 10 mn à 100°C, cela a permis de réunir 27 fractions. Les conditions opératoires sont présentées dans le Tableau 16.

Tableau 16. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle de *Fagonia longispina*

Lots	N° de Fraction	Système d'élution (%)		Masse mg
		CHCl ₃	MeOH	
1-24	FW/2/1	100-99-98	0-1-2	50,4
25-27	FW/2/2	98	2	66,7
28-31	FW/2/3	96	4	38,2
32-35	FW/2/4	96-94	4-6	30,8
36-39	FW/2/5	94	6	68,6
40-43	FW/2/6	94	6	193,4
44-47	FW/2/7	94-92	6-8	164,4
48-51	FW/2/8	92	8	189,8
52-54	FW/2/9	92-90	8-10	120,3
55-57	FW/2/10	90	10	155,9
58-60	FW/2/11	90	10	137,5
61-64	FW/2/12	88	12	104,6
65-68	FW/2/13	88	12	88,3
69-74	FW/2/14	88-86	12-14	171,0
75-79	FW/2/15	86	14	98,4
80-83	FW/2/16	86	14	56,3
84-85	FW/2/17	84	16	57,6
86-88	FW/2/18	84	16	60,7
89-90	FW/2/19	84	16	101,9
91-92	FW/2/20	82	18	108,3
93-97	FW/2/21	82	18	65,7
98-102	FW/2/22	80	20	73,2

Lots	N° de Fraction	Système d'éluion (%)		Masse mg
		CHCl ₃	MeOH	
103-106	FW/2/23	80	20	118,2
107-115	FW/2/24	78	22	78,6
116-118	FW/2/25	78	22	95,8
119-132	FW/2/26	75-70-65	25-30-35	73,2
133-150	FW/2/27	60-50-0	40-50-100	231,2

❖ Profils chromatographique de l'extrait acétate d'éthyle :

La plaque a été éluée dans le système CHCl₃/MeOH/H₂O (80/15/5) et révélées avec le Ce(SO₄)₂/H₂SO₄ et chauffées pendant 3mn à 100°C.

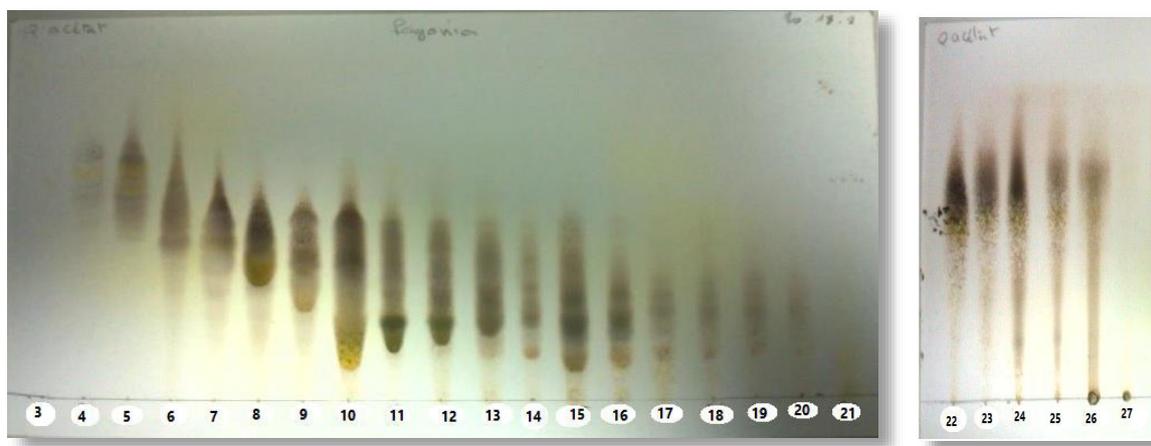


Figure 29 : Profils chromatographique des fractions de l'extrait acétate d'éthyle

I.9.2.2. Purification des fractions de l'extrait acétate d'éthyle

❖ La fraction FW/2/3

La fraction FW/2/3 contenant un précipité mêlé à de la chlorophylle, est purifié par lavage successifs avec de l'éther de pétrole additionnée de quelques gouttes de chloroforme. Le précipité jaunâtre ainsi obtenu est testé sur plaque analytique de gel de silice, éluée par le système : CHCl₃ : MeOH (9:1), pour donner un spot unique de fluorescence noire-violette sous lumière de Wood. Ce qui prévoit que le produit est probablement un flavonoïde (composé 7, m= 7,7 mg)

❖ Etude de la fraction FW/2/7

La fraction FW/2/7 (164,4mg) est purifiée par HPLC semi-préparative éluée par le système MeOH/H₂O, en injectant cette fraction 9 fois, en utilisant la proportion (45:55) avec un temps total 43min. Le Tableau 17 et le chromatogramme (Figure 30) montrent les résultats de cette séparation.

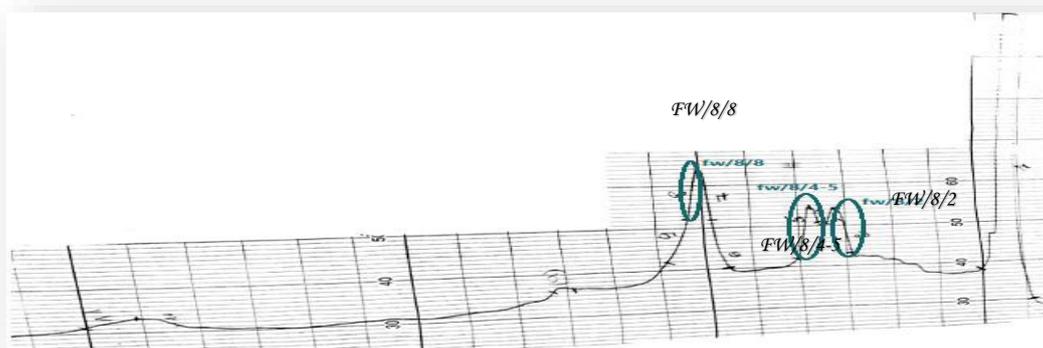


Figure 30 : chromatogramme de la fraction FW/2/7

Tableau 17. Résultat de séparation de la fraction FW/2/7

Sous fraction	Temps de rétention T_R (min)	Remarques
FW/8/2	8	mélange
FW/8/4=FW/8/5	10	produit pur, le composé 8 , m=1,3mg)
FW/8/8	15	produit pur, le composé 9 , m= 1,8mg)

❖ Etude de la fraction FW/2/8

Environ 189,8 mg de la fraction FW/2/8 ont subi une séparation par HPLC semi-préparative, en utilisant le système d'élution MeOH/ H₂O à la proportion (45: 55), avec 48 min le temps total. Cette séparation a été effectuée en 10 injections. Le Tableau 18 et le chromatogramme (Figure 31) montrent les résultats de l'opération.

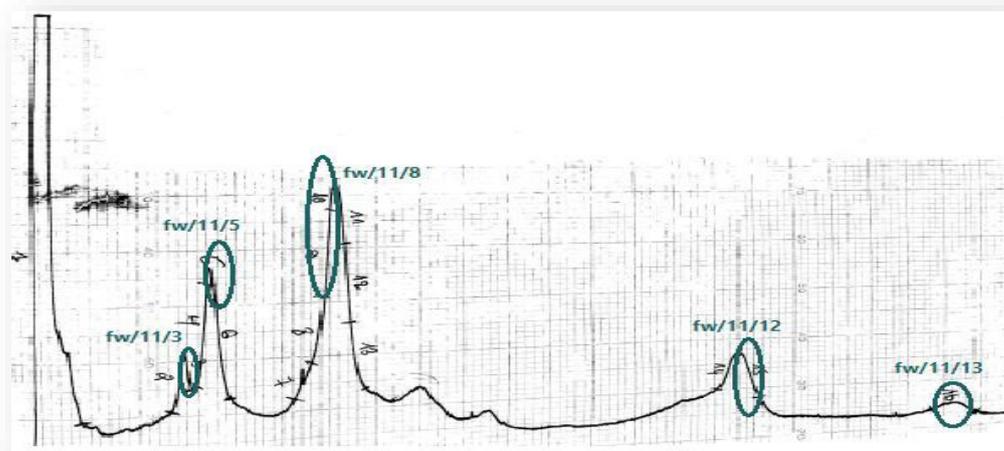


Figure 31 : chromatogramme de la fraction FW/2/8

Tableau 18. Résultat de séparation de la fraction FW/2/8

Sous fraction	Temps de rétention T_R (min)	Remarques (Après l'analyse spectrale)
FW/11/3	5,5	mélange
FW/11/5	8	produit pur, le composé 10 m=2,2mg
FW/11/8	15	produit pur identique au composé 9 m=2,6mg
FW/11/12	37,5	produit pur, le composé 11 m=1,0 mg
FW/11/13	47	mélange

❖ Etude de la fraction FW/2/10+11

La fraction FW/2/10+11 (m=293,4mg) est soumise à la chromatographie par HPLC semi-préparative, éluée par le système MeOH/H₂O dans la proportion (50:50) avec 9 injection et 50 min comme un temps total d'une injection. Le chromatogramme (Figure 32) et le Tableau 19 montrent les résultats de cette opération.

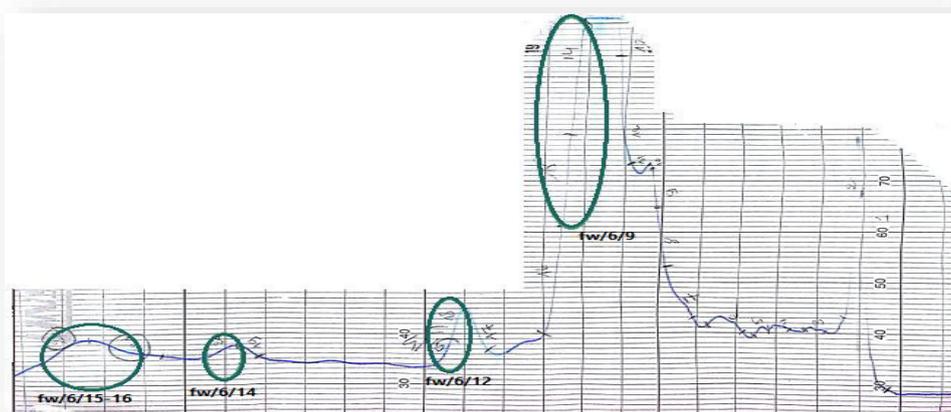


Figure 32 : chromatogramme de la fraction FW/2/10+11

Tableau 19. Résultat de séparation de la fraction FW/2/10+11

Sous fraction	Temps de rétention T_R (min)	Remarques
FW/6/9	17	produit pur, le composé 12 (m=3,8 mg)
FW/6/12= FW/6/16=FW/6/15	25 41	produit pur, le composé 13 (m=1,3 mg)
FW/6/14	36	mélange

❖ Etude de la fraction FW/2/16+17

La purification de la fraction FW/2/16+17 de masse 113,9 mg a été effectuée par HPLC semi-préparative, éluée par le système MeOH/H₂O (40:60) avec 7 injections et T_R= 60 min. Cette séparation a mené à l'obtention du chromatogramme suivant (Figure 33). Le Tableau 20 montre les résultats de l'opération.



Figure 33 : chromatogramme de la fraction FW/2/16+17

Tableau 20. Résultat de séparation de la fraction FW/2/16+17

Sous fraction	Temps de rétention T _R (min)	Remarques
Fw/7/2	20	mélange
fw/7/5	25	produit pur, le composé 14 m=2,6 mg
fw/7/8	46	mélange
Fw/7/10	56	mélange

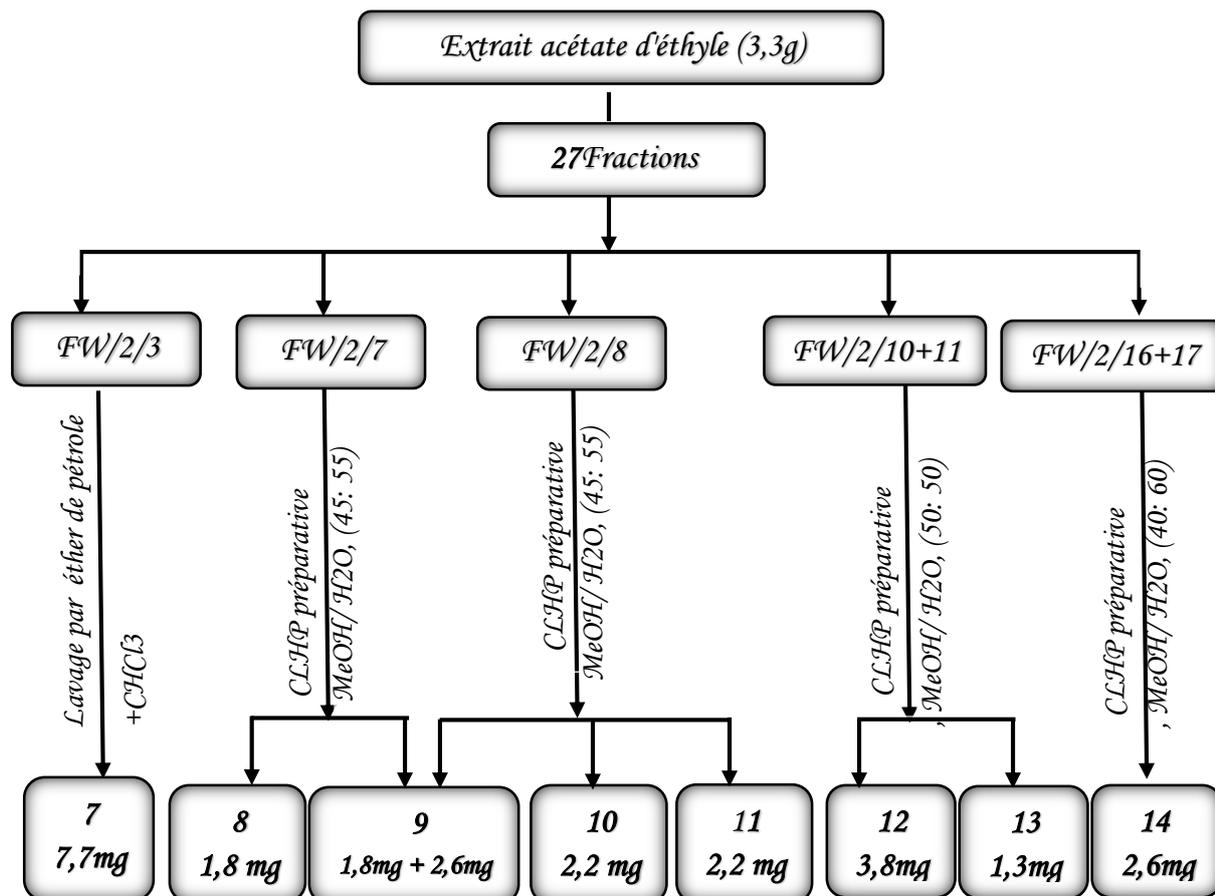


Figure 34 : Schéma de purification des fractions de l'extrait acétate d'éthyle

I.9.3. Traitement de l'extrait *n*-butanol

I.9.3.1. Séparation chromatographique

Nous avons utilisé pour le fractionnement de l'extrait *n*-butanol presque les mêmes techniques que celle utilisées pour l'extrait acétate d'éthyle. Environ de 15 g de l'extrait *n*-butanol sont soumis à une séparation par une colonne chromatographique en utilisant comme phase stationnaire le gel de silice préparé dans le chloroforme. L'éluion débute avec le même solvant dont la polarité sera augmentée par addition progressive du méthanol avec un fractionnement tous les 100 ml.

Les lots semblables ont été rassemblés en fonction de la similitude des profils CCM. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365nm) puis révélées avec l'anisaldéhyde et chauffées pendant 10 min à 100°C. Les résultats de cette opération sont regroupés dans le Tableau 21.

Tableau 21. Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait *n*-butanol de *Fagonia longispina*

Lots	N° de Fraction	Système d'éluion (%)		La masse (mg)
		CHCl ₃	MeOH	
1-33	FW/3/1	100-95	0-5	40,2
34-35	FW/3/2	95	5	13,5
36-37	FW/3/3	95	5	20,5
38-39	FW/3/4	95	5	38,0
40-49	FW/3/5	90	10	70,0
50-55	FW/3/6	90	10	80,9
56-59	FW/3/7	90	10	70,1
60-70	FW/3/8	90	10	92,2
71-79	FW/3/9	90-85	10-15	52,3
80-115	FW/3/10	85-80	15-20	79,1
116-120	FW/3/11	80	20	72,0
121-132	FW/3/12	75	25	239,2
133-141	FW/3/13	75	25	539,2
142-146	FW/3/14	75-70	25-30	180,9
147-148	FW/3/15	70	30	512,1
149-154	FW/3/16	70	30	580,4
155-159	FW/3/17	70	30	602,1
160-169	FW/3/18	65	35	955,4
170-172	FW/3/19	65	35	1363,4
173-176	FW/3/20	65	35	1500,0
177-178	FW/3/21	65	35	1459,0
179-180	FW/3/22	65	35	922,8
181-188	FW/3/23	65	35	1223,5
189-200	FW/3/24	60	40	889,4
201-248	FW/3/25	60-50-0	40-50-100	2389,7

I.9.3.2. Purification des fractions de l'extrait *n*-butanol

❖ Etude de la fraction FW/3/9

La fraction FW/3/9 de masse 52,3 mg a subi une séparation par HPLC semi-préparative, en utilisant comme phase mobile le mélange MeOH/ H₂O à la proportion (28: 72). Nous avons injecté la fraction 7 fois avec un temps totale d'une injection 72 min. Le chromatogramme suivant montre les résultats de la séparation (Figure 35).

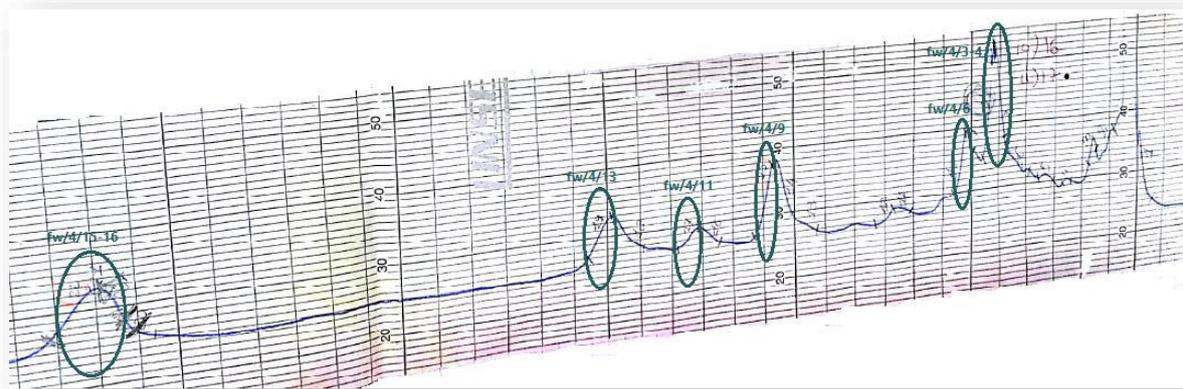


Figure 35 : chromatogramme de la fraction FW/3/9

Tableau 22. Résultat de séparation de la fraction FW/3/9

Sous fraction	Temps de rétention T_R (min)	Remarques (après l'analyse spectrales)
FW/4/3= FW/4/4	12	produit pur, composé 15 (1,8mg)
FW/4/6	14	mélange
FW/4/9	27	mélange
FW/4/11	32	mélange
FW/4/13	37,5	produit pur non identifié (le composé C , 1,6 mg)
FW/4/15=FW/4/16	65	produit pur identique au composé 13 (1,7mg).

❖ Etude de la fraction FW/3/11

Environ 72,0 mg de la fraction FW/3/11 ont été soumis à la chromatographie par HPLC semi-préparative, avec un système d'élution MeOH/ H₂O à diverses proportions. La meilleure détection a été obtenue à la proportion (50: 50), avec 40 min comme un temps total d'une injection. Cette séparation a été effectuée en 5 injections. Le Tableau 23 et le chromatogramme (Figure 36) montrent les résultats de l'opération.

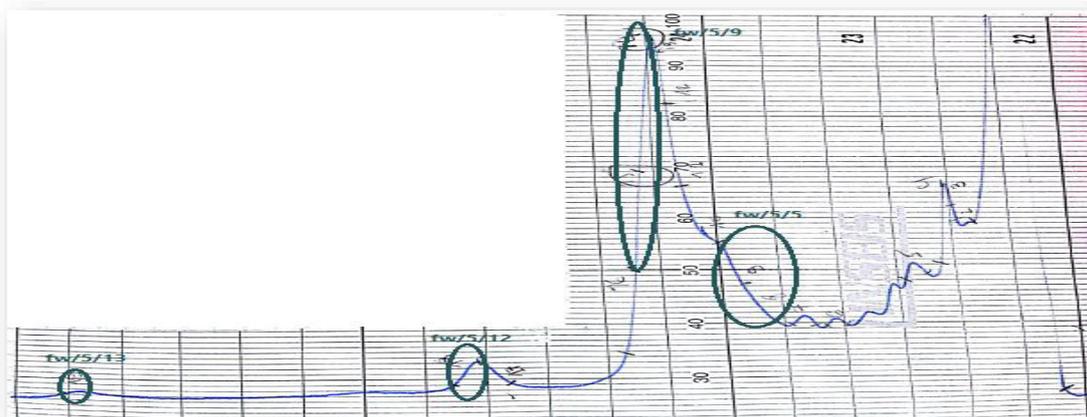


Figure 36 : chromatogramme de la fraction FW/3/11

Tableau 23. Résultat de séparation de la fraction FW/3/11

Sous fraction	Temps de rétention T_R (min)	Remarques (Après l'analyse spectrales)
fw/5/5	14	mélange
fw/5/9	18	produit pur, le composé 16 (m= 2,1 mg)
fw/5/12	23	produit pur identique au composé 13 (m=0,4 mg)
fw/5/13	37	mélange

❖ Etude de la fraction FW/3/12

La chromatographie de cette fraction (m=239,2 mg) a été faite sur plaques préparatives de gel de silice éluées par le système AcOEt/MeOH/H₂O (8/1/1). En fin d'éluion, les plaques soumises à la lumière de Wood (365 nm), ont montré trois bandes majoritaires. Après récupération et éluion avec du méthanol, puis une purification ultime sur une colonne de gel de Séphadex LH-20, éluée par du méthanol, le composé **17** (m= 6,2 mg) a été obtenu à l'état pur. Les autres produits issus de cette séparation, sont sous forme de mélanges

❖ Etude de la fraction FW/3/14

Après des tests sur plaque analytique, la fraction FW/3/14 (m = 180,9 mg) a subi une séparation sur plaques préparatives de gel de silice avec le système éluant AcOEt/MeOH/H₂O (8/1/1). Ensuite, elles ont subi une deuxième purification ultime sur une colonne de Séphadex LH-20 éluée par du méthanol, pour mener à l'obtention du produit pur (composé **18**, m= 6,4 mg), les autres produits issus de cette séparation, sont sous forme de mélanges.

❖ Etude de la fraction FW/3/20

La chromatographie de cette fraction (m=1,5 g) a été faite sur une colonne de gel de silice, éluée par le système AcOEt/MeOH/H₂O (8,5/1/0,5) en mode isocratique. Des fractions de 10 ml ont été récupérées et rassemblées en fonction de leurs profils chromatographiques pour donner 8 sous fractions. La sous fraction 3 a été purifiée sur les plaques de gel de silice, en utilisant le système AcOEt/MeOH/H₂O (8/1/1) pour donner un produit pur identique après l'analyse au composé 17.

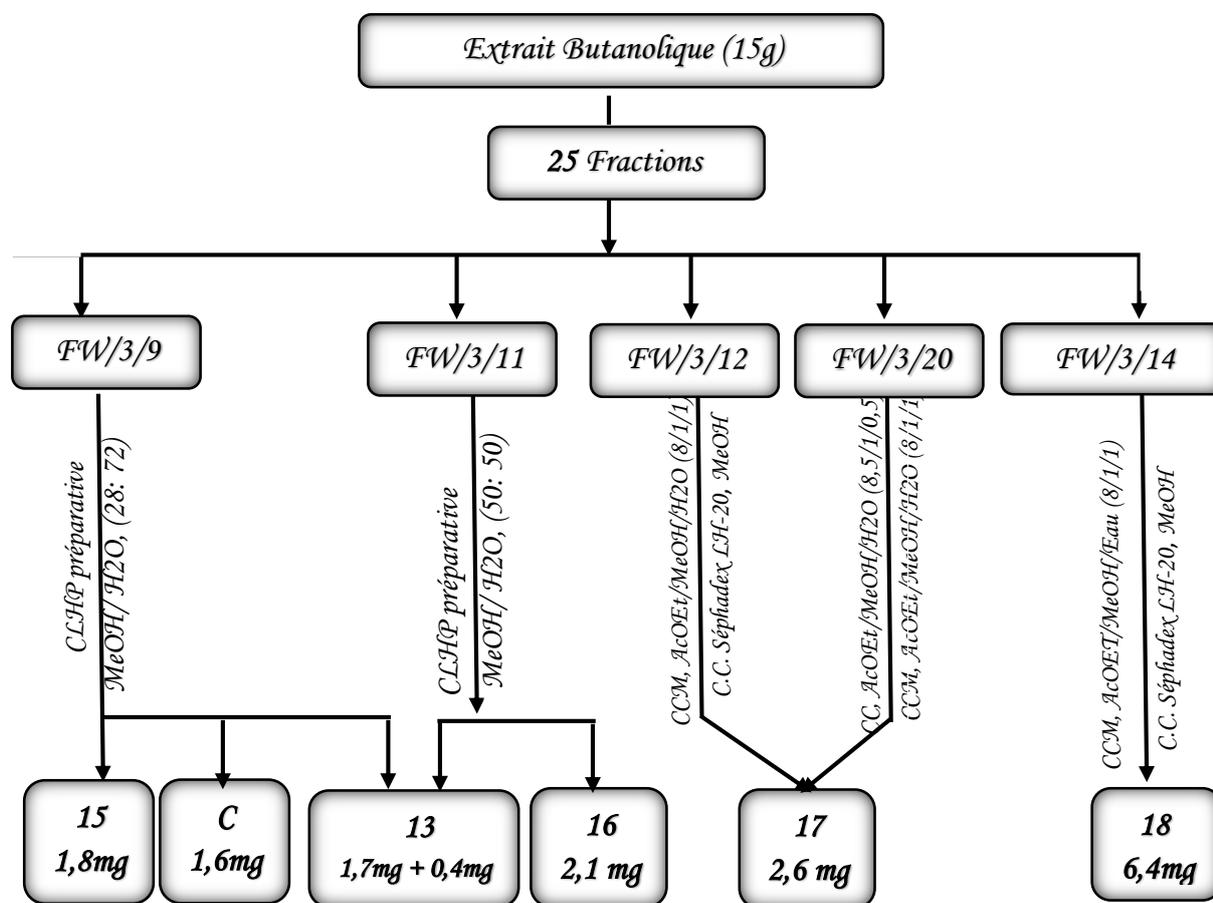


Figure 37 : Schéma de purification des fractions de l'extrait *n*-butanol.

II. Evaluation biologiques de *Fagonia longispina* Batt.

La mise en évidence de l'activité biologique *in vitro* de *Fagonia longispina* a été réalisée par l'étude de l'effet antibactérien de l'extrait acétate d'éthyle et antioxydant des extraits chloroformique, acétate d'éthyle, n-butanol et l'exsudat chloroformique.

II.1. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'effet antibactérien de l'extrait acétate d'éthyle a été réalisée en utilisant la technique des puits (la méthode de diffusion sur gélose) [8]. Le support microbien est composé d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* qui ont été isolées de produits pathologiques provenant de laboratoire de bactériologie de C.H.U.

❖ L'inoculum bactérien :

la préparation de l'inoculum bactérien a été faite par le repiquage des espèces bactériennes par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées, ces derniers ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation pendant (18-24) heures à 37 °C.

❖ Milieux de culture

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de diamètre 90 mm. Afin que l'épaisseur de la gélose soit de 2 mm, répartie uniformément dans les boîtes qui doivent être séchées 30 min à la température ambiante du laboratoire avant leur emploi. Ensuite, ces boîtes sontensemencées par étalage à l'aide d'un râteau stérile, l'ensemencement est effectué de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

❖ dépôt des disques

les disques de papier Whatman n° 1 de 6 mm de diamètre stériles (stérilisation à 120 °C pendant 15 min par autoclavage), sont chargés de notre extrait, des disques imprégnés de butanol sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les extraits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.

❖ Expression des résultats

Le pouvoir antibactérien est déterminé en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37 °C.

II.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de différents extraits de *F. longispina* a été évaluée *in vitro* par la technique du piégeage du radical libre DPPH (1,1- diphenyl-2-picrilhydrazyl), décrite par Braca [9].

Diverses concentrations (1 ; 2,5 ; 5 ; 10; 15; 20 ;30 ; 50 ; 75 µg/ml) de chaque extrait a été ajoutée à 3 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%). Ce mélange a été conservé dans l'obscurité pendant une période de 30 minutes, alors l'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide de spectrophotomètre. La référence standard utilisée pour la comparaison est l'acide ascorbique. Le pourcentage inhibiteur du DPPH radical (I%) a été calculé selon la formule : **I%** = [(Ac - As) / Ac] x 100

Ac est l'absorbance du contrôle (DPPH seul).

As l'absorbance de l'échantillon testée ou de l'acide ascorbique qui a été utilisé comme standard.

Les expériences sont réalisées en triplicats à chaque concentration, et les concentrations effectives moyennes de balayage (IC₅₀) ont été calculées à partir de courbe tracé du pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration d'extrait.

II.3. Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur totale en composés phénolique de différents extraits de *F. longispina* a été estimée en utilisant une version modifiée de l'analyse décrite par Singleton [10].

Le réactif Folin-Ciocalteu a été ajouté aux solutions des extraits ou d'acide gallique, après 3 minutes, on a ajouté une solution aqueuse de Na₂CO₃ (20%), le mélange a été stocké à température ambiante pendant 2 h. L'acide gallique a été utilisé comme standard, alors que l'absorbance a été mesurée à 765 nm. Tous les tests ont été effectués en triplicats et la concentration en contenu phénolique a été calculée et exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (GAE µg / mg d'extrait).

II.4. Dosage des composés flavonoïdes totaux

La détermination des flavonoïdes totaux des quatre extraits a été estimée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium décrite par Wang et al. [11].

Un volume de la solution méthanolique d' AlCl_3 (2%) a été ajouté au même volume d'échantillon. Après 1 heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm. Le contenu flavonoïdes totaux a été calculé en μg d'équivalent de quercétine (QE) par mg d'extrait en utilisant l'équation suivante obtenue à partir d'une quercétine standard ($R^2 = 0,983$) : **Absorbance = 0,34 × Quercétine (μg) + 0,015.**

Conclusion

L'investigation phytochimique de *Fagonia longispina* en utilisant différentes méthodes chromatographiques, nous a permis d'isoler et purifier 21 produits. Tous ces produits ont été soumis aux analyses physico-chimiques afin d'en établir les structures. Les résultats et discussion des analyses de 18 composés seront développés au chapitre III.

Références bibliographiques

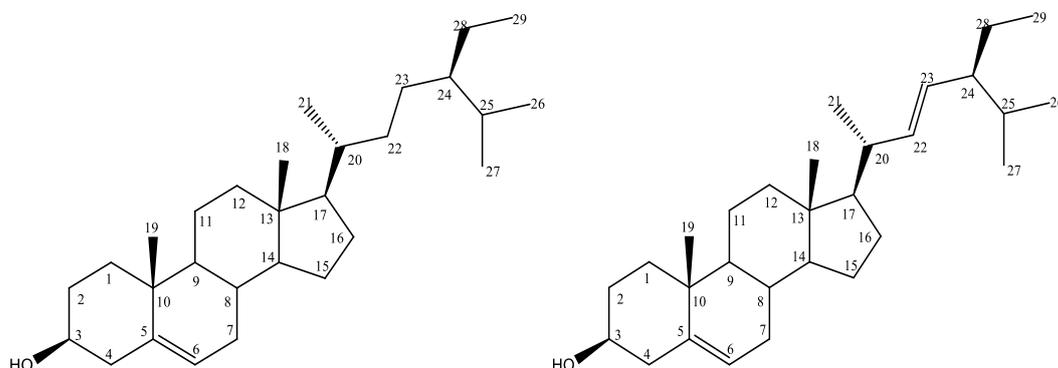
- [1] Chopra RN, Nayar SL, Chopra IC. Glossary of Indian Medicinal Plants. New Delhi, India: CSIR; **1956**.
- [2] Chopra RM, Handa KL, Kapur LD, Chopra IC. Indigenous Drugs of India. 2nd Ed. New Delhi, India: Academic Press; **1982**.
- [3] Hamidi, N.; Lazouni, H.; Moussaoui, A.; Ziane, L.; Saad, A., GC-MS Analysis of ethanol extract from the aerial parts of *Fagonia longispina* (family zygophyllaceae). *Asian journal of natural & applied sciences* **2012**, *1*, 136-142.
- [4] Maire R. Flora of North Africa: Morocco, Algeria, Tunisia, Tripolitaine, Cyrenaique and Sahara. Vol. 5. Paris: Paul Lechevallier; **1953**.
- [5] Hamidi, N.; Ziane, L.; Djellouli, M.; Lazouni, HA., chemical characterization by gc-ms from the aerial parts of *Fagonia longispina* (zygophyllaceae). *Asian journal of pharmaceutical and clinical research* **2016**, *1*, 152-153.
- [6] <http://www.sahara-nature.com> (29/04/2018)
- [7] Hamidi, N.; Lazouni, H.; Moussaoui, A.; Ziane, L.; Djellouli, M.; Belabbesse, A., Ethnopharmacology, antibacterial and antioxidant activities, phytochemical screening of bioactive extracts from the aerial parts of *Fagonia longispina*. *Asian J Nat Appl Sci* **2014**, *3*, 53-63.
- [8] Shakeri, A.; Hazeri, N.; Vlizadeh, J.; Ghasemi, A.; Tavallaei, F. Z., Phytochemical screening, Antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. extracts. *Kragujevac Journal of Science* **2012**, *34*, 71-78.
- [9] Braca, A.; De Tommasi, N.; Di Bari, L.; Pizza, C.; Politi, M.; Morelli, I., Antioxidant principles from *bauhinia tarapotensis*. *Journal of natural products* **2001**, *64*, 892-895.
- [10] Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M., [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology* **1999**, *299*, 152-178.
- [11] Wang, H.; Gao, X. D.; Zhou, G. C.; Cai, L.; Yao, W. B., *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry* **2008**, *106*, 888-895.

Chapitre III

Résultat et discussion

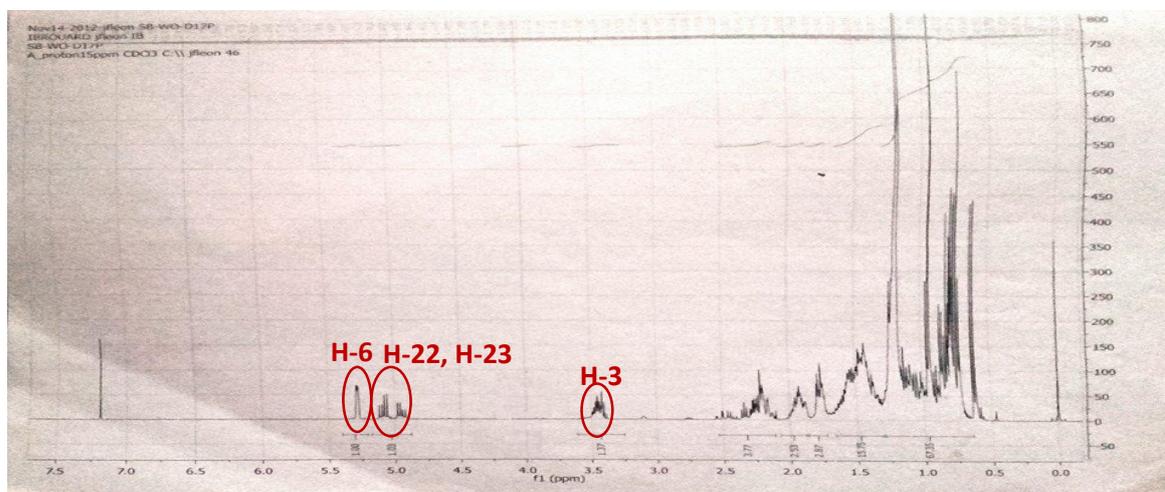
I. Identification des produits isolés de *F. longispina*

I.1. Elucidation structurale des composés 1 et 2



Le mélange des composés **1** et **2** a été obtenu sous forme de cristaux blancs solubles dans le chloroforme. L'examen de son spectre de proton enregistré dans le CDCl_3 montre la présence des signaux caractéristiques des stérols notamment :

- ✓ Un doublet large à δ_{H} 5,36 ppm d'intégration 1H correspondant au proton éthylénique connue avec la numérotation H-6.
- ✓ Un multiplet d'intégration 1H à δ_{H} 3,40 ppm correspondant à un proton géminé à un groupement hydroxyle, notamment le H-3 d'un stérol.
- ✓ Deux doublets de doublets à δ_{H} 4,9 ppm ($J = 15,0 ; 8,1 \text{ Hz}$) et à δ_{H} 5,12 ppm ($J = 15,0 ; 8,4 \text{ Hz}$) attribuables aux protons oléfiniques de la chaîne latérale en C-17 du stigmasterol (protons éthyléniques des positions C-23 et C-22 respectivement).
- ✓ Une série de pics très dense se situant entre 0,63 ppm à 2,50 ppm, suggérant la présence d'un nombre élevé de groupements méthyles, méthylènes et méthynes.



Spectre 1 : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz, δ ppm) du composé **1**

La comparaison de l'ensemble de ces données spectrale avec ceux trouvés dans la littérature, en tenant compte les intégrales des signaux relatifs à H-3, H-6, H-22 et H-23 dans le spectre proton (Spectre 1), qui montre que si H-3 et H-6 ont une intégrale d'environ 1 chacun, H-22 et H-23 donnent une intégrale d'environ 0,50 chacun. Ceci oriente vers la présence d'un mélange de 50% de β -sitostérol (composé 1) et de 50% stigmastérol (composé 2) [1].

Le mélange de ces deux composés a été trouvé précédemment dans de nombreuses espèces végétales, notamment *Odontonema strictum* (Acanthaceae) [1].

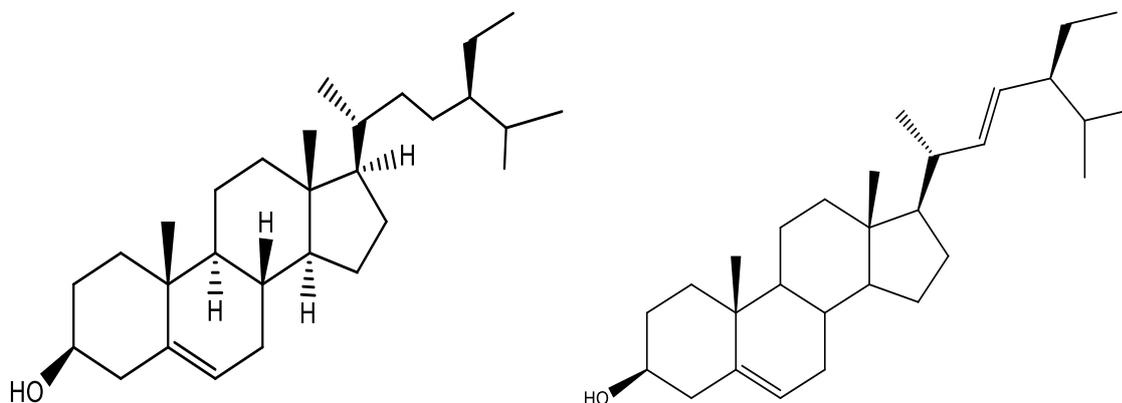
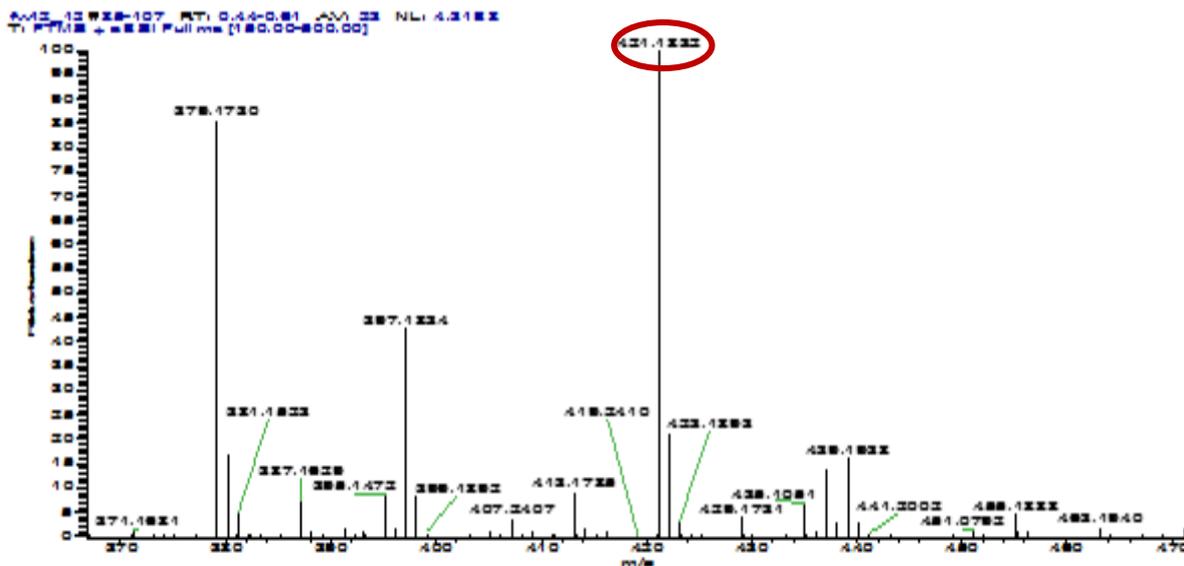


Figure 38 : β -sitostérol 1 et stigmastérol 2

I.2 Elucidation structurale du composé 3

Le composé 3 a été obtenu sous forme d'huile. L'examen de son spectre de masse à haute résolution enregistré en mode électrobulbion positif (TOF-HRESI-MS positive) (Spectre 2-1) montre un pic quasi moléculaire à m/z 421,1832 correspondant à la formule $C_{20}H_{30}O_8Na$ (calculée 421,1832) orientant vers la formule brute $C_{20}H_{30}O_8$, soit une molécule de masse 398 Da comportant 6 insaturations.

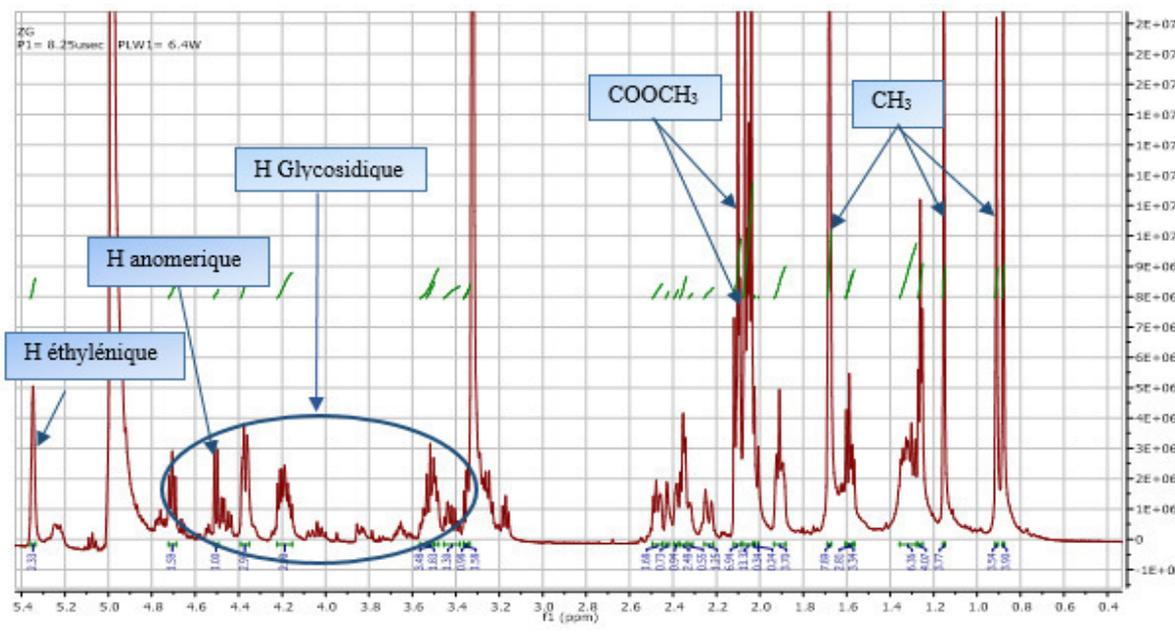


Spectre 2-1 : Spectre TOF-HRESI-MS (+) du composé 3

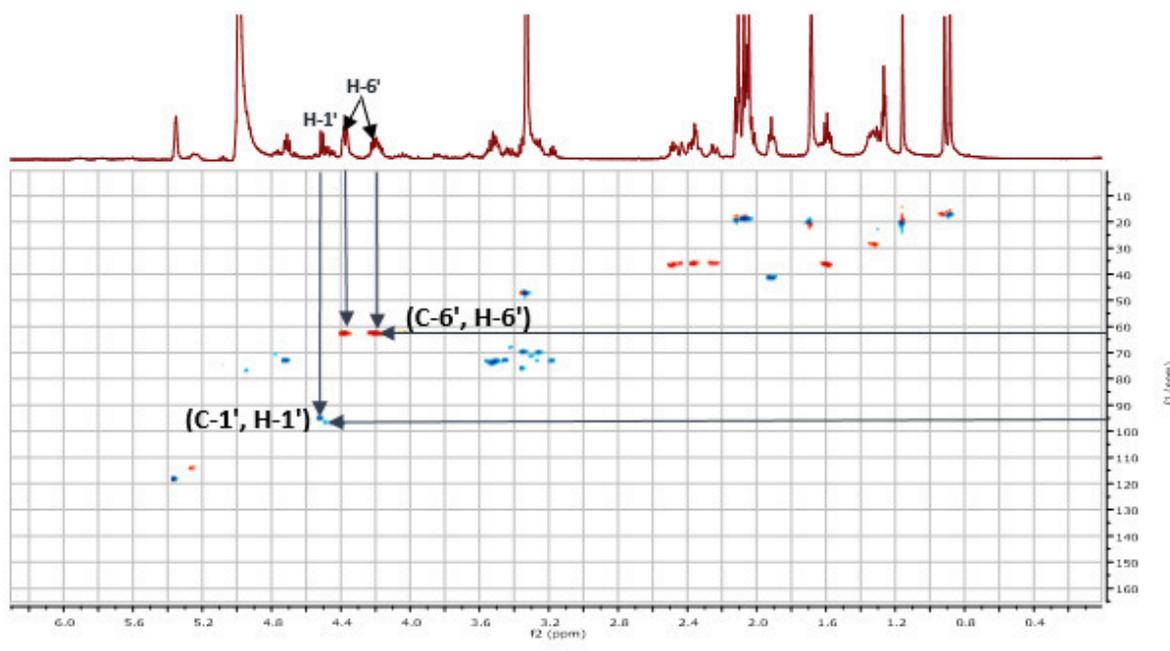
L'analyse simultanée des spectres RMN ^1H , HSQC, HMBC du composé **3** montre la présence de 20 atomes de carbone, dont 10 atomes pourraient être assignés aux résonances de l'aglycone, 6 à l'entité osidique et 4 à des résidus acétyle.

Le spectre RMN ^1H (Spectre 2-2) et le spectre relatif à l'expérience HSQC (Spectre 2-3a) montrent des signaux caractéristiques d'un groupe hexose notamment :

- ✓ Un CH_2 à δ_{C} 63,3 ppm corrélant aux deux protons, l'un à δ_{H} 4,38 ppm (*dl*, $J=12,0$ Hz) et l'autre à δ_{H} 4,20 ppm (*ddl*, $J=5,0, 12,0$ Hz), attribuable à C-6'.
- ✓ Un CH à δ_{C} 95,0 ppm corrélant au proton résonant sous forme d'un doublet ($J = 8,5$ Hz) à δ_{H} 4,51 ppm, attribuable au proton anomérique. Les valeurs des déplacements chimiques de ce proton et son carbone orientent bien vers une jonction *O*-glycoside, quant à la valeur 8,5 Hz de la constante de couplage résultant de l'interaction vicinale H1'/H-2' axiale/axiale est en faveur d'un hexose avec une configuration β de carbone anomérique.



Spectre 2-2 : Spectre RMN 1H (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 3.

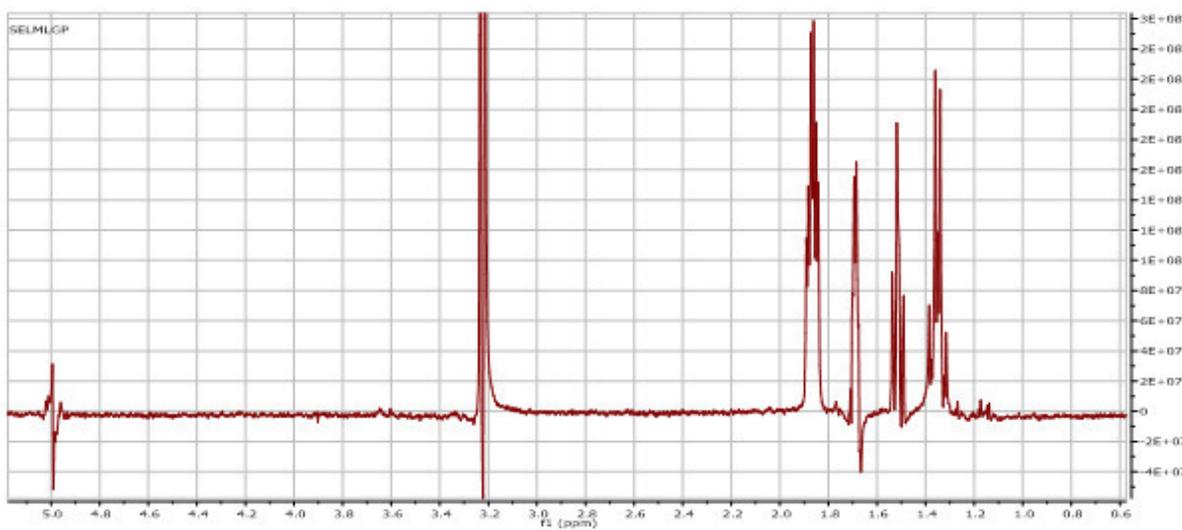


Spectre 2-3a : Spectre HSQC (CD3OD, 600 MHz, ppm) du composé 3.

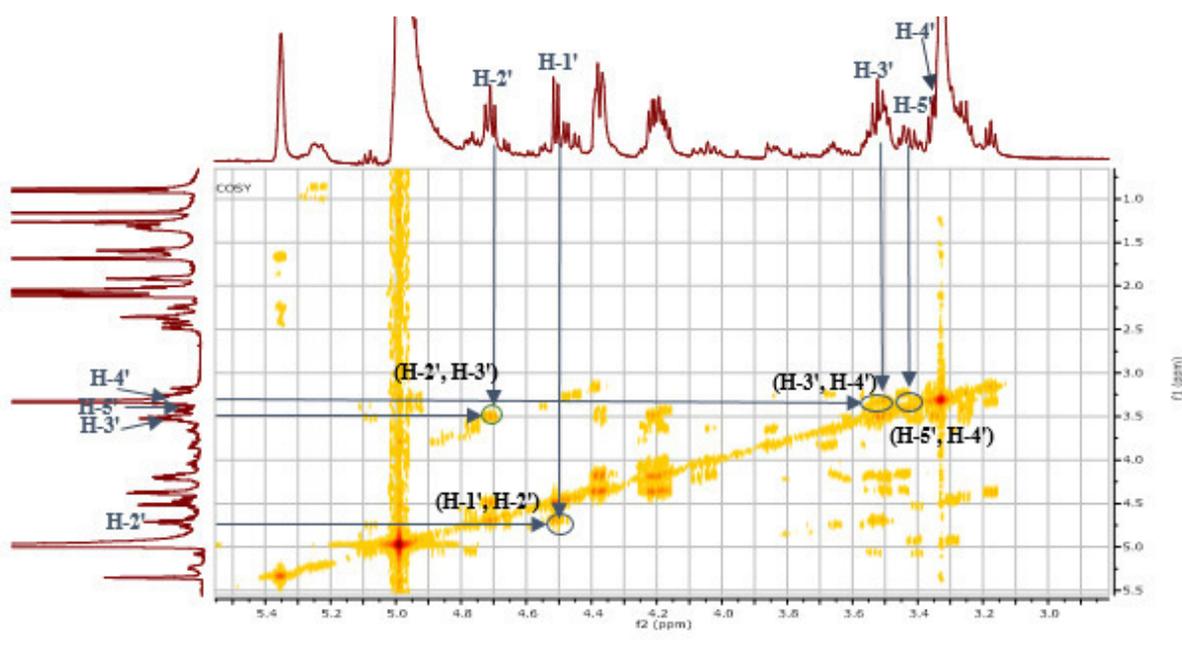
Tous les déplacements chimiques des protons de sucre ont été confirmés par la combinaison entre les analyses spectrales 1D-TOCSY (Spectre 2-4) et DQF-COSY (Spectre 2-5a), quant aux déplacements des carbones, ceux-ci ont été déterminés à partir du spectre HSQC (Spectre 2-3b).

Le spectre relatif à l'expérience COSY montre une tache de corrélation entre le proton anomérique et le proton du signal résonant sous forme d'un doublet de doublets ($J = 8,5, 9,5$

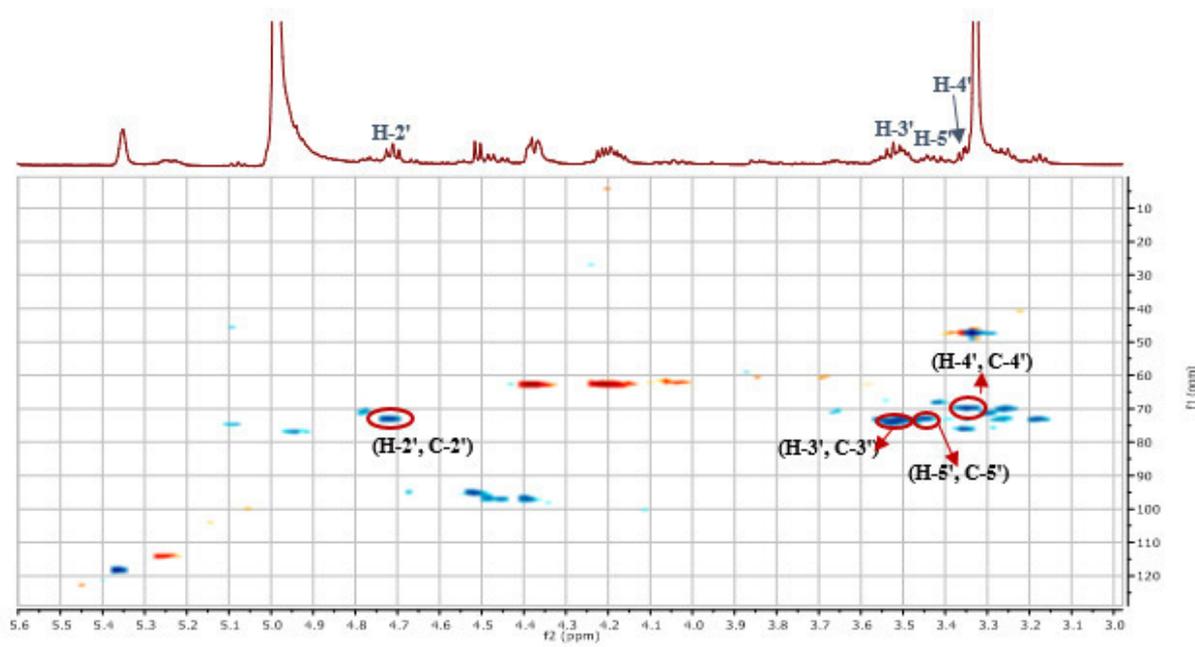
H_z , δ_C 73,4 ppm) à δ_H 4,73 ppm, ce proton est attribuable à H-2'. Sur le même spectre le proton H-2' corrèle avec le proton H-3', résonant sous forme d'un triplet à δ_H 3,52 ppm ($J = 9,5$ Hz, δ_C 74,5 ppm). Ce dernier permet de localiser H-4' résonant sous forme d'un triplet à δ_H 3,35 ppm ($J = 9,5$ Hz, δ_C 70,0 ppm). La multiplicité de ces signaux et les valeurs des constantes de couplage supposent des interactions axiale-axiale entre H-3'/H-2' ; H-3'/H-4'. Une autre tâche de corrélation a été également observée dans le spectre COSY, entre le proton H-4' et le proton H-5' résonant sous forme d'un multiplet à δ_H 3,45 ppm (δ_C 73,5 ppm). L'ensemble de ces données est en faveur d'une entité osidique de type β -glucopyranoside.



Spectre 2-4 : Spectre 1D-TOCSY (CD3OD, 600 MHz, ppm) du composé 3.



Spectre 2-5 a : Spectre COSY (CD3OD, 600 MHz, ppm) du composé 3, étalement.



Spectre 2-3 b : Spectre HSQC (CD₃OD, 600 MHz, ppm) du composé 3, étalé.

Le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre 2-6a) confirme toutes les corrélations 2J et 3J (H-C) du glucopyranoside. Par ailleurs, le même spectre montre une tache de corrélation entre le proton H-2' et le carbonyle d'un ester à δ_C 171,0 ppm, ce dernier également corrèle avec les protons du méthyle à δ_H 2.06 ppm. Toujours sur le spectre HMBC, les protons H₂-6' montrent des taches de corrélation avec le carbonyle d'un ester à δ_C 171,0 ppm, de son côté, ce carbonyle corrèle avec les protons du méthyle à δ_H 2.10 ppm. Ces observations additionnées aux valeurs des déplacements chimiques des protons H-2' et H₂-6' supposent la présence de deux groupements acétyles, l'un est localisé en C-2' et l'autre en C-6'.

A ce stade, l'ensemble de cette analyse mène à la présence dans cette molécule de l'entité 2',6'-diacetyl- β -D-glucopyranoside reportée dans la Figure 39-1.

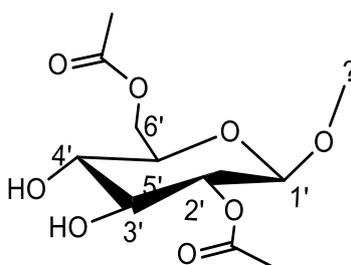
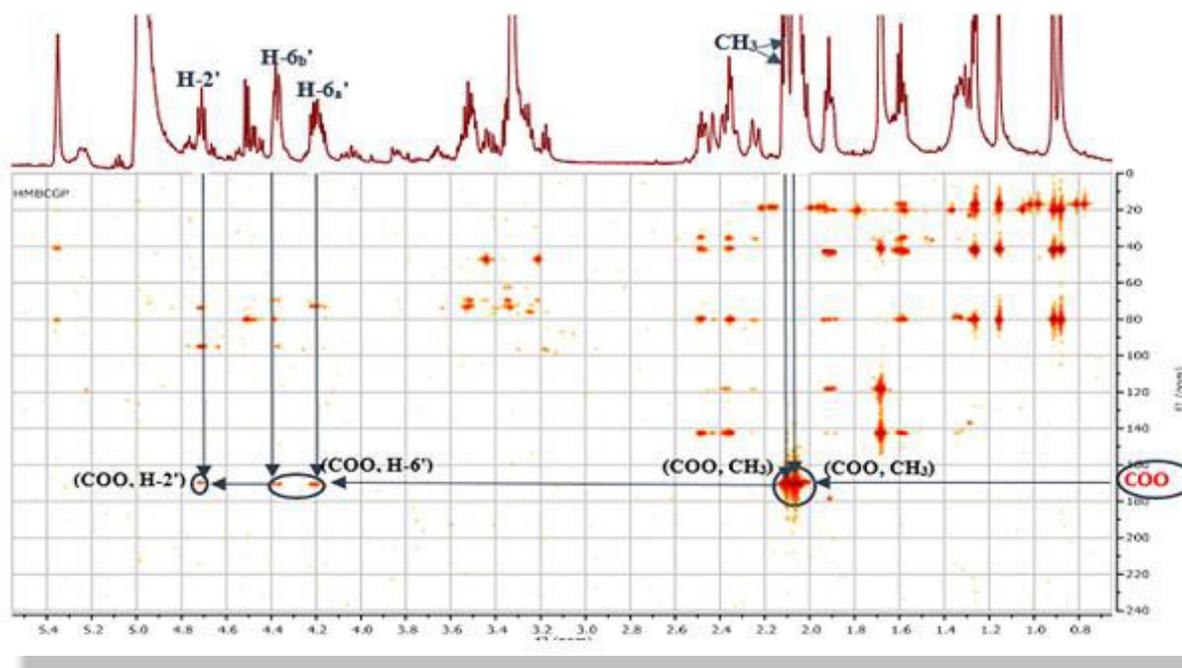


Figure 39-1 : Entité 2',6'-diacetyl- β -D-glucopyranoside présente dans le composé 3.



Spectre 2-6 a : Spectre HMBC (CD₃OD, 600 MHz, ppm) du composé 3.

La formule brute de ce composé et la présence de l'entité 2',6'-diacétyl-β-D-glucopyranoside permettent de déduire que le squelette de la génine de cette molécule renferme 10 atomes de carbone. Grâce aux données des spectres de RMN ¹H, HSQC et HMBC, nous pouvons répartir ces atomes de carbone comme suit :

- ✓ Trois CH₃ à δ_C 18,0 ppm, 20,0 ppm, 20,7 ppm.
- ✓ Deux CH₂ à δ_C 36,6 ppm, 36,8 ppm.
- ✓ Deux CH à δ_C 119,0 ppm, 41,0 ppm.
- ✓ Trois carbones quaternaires à δ_C 143,1 ppm, 80,3 ppm et 42,6 ppm.

Sur le spectre HMBC (spectre 2-6b), la corrélation entre le proton anomérique et le carbone quaternaire situé à δ_C 80,3 ppm impose la substitution de la génine par l'entité β-glucopyranoside-2',6'-di-O-acétate en cette position. Dans le cas de l'absence de la jonction aglycone-sucre, la formule brute de cette aglycone serait : C₁₀H₁₆. Ceci oriente bien vers un squelette monoterpénique comportant trois insaturations.

Les valeurs des déplacements chimiques des atomes de la génine révèlent a priori la présence d'une double liaison entre le groupement CH (δ_H 5.36 ppm, *sl*, δ_C 119,0 ppm) et carbone quaternaire oléfinique à δ_C 143,1 ppm. La présence de cette double liaison suppose que le nombre d'insaturation restant réduit à 2.

Par ailleurs, le même spectre HMBC révèle la corrélation entre ce carbone quaternaire oléfinique et un méthyle résonant sous forme d'un singulet à δ_H 1,71 ppm (δ_C 20,7ppm) (Figure 39-2).

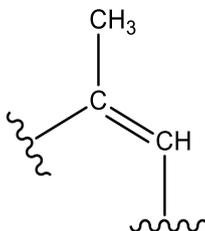
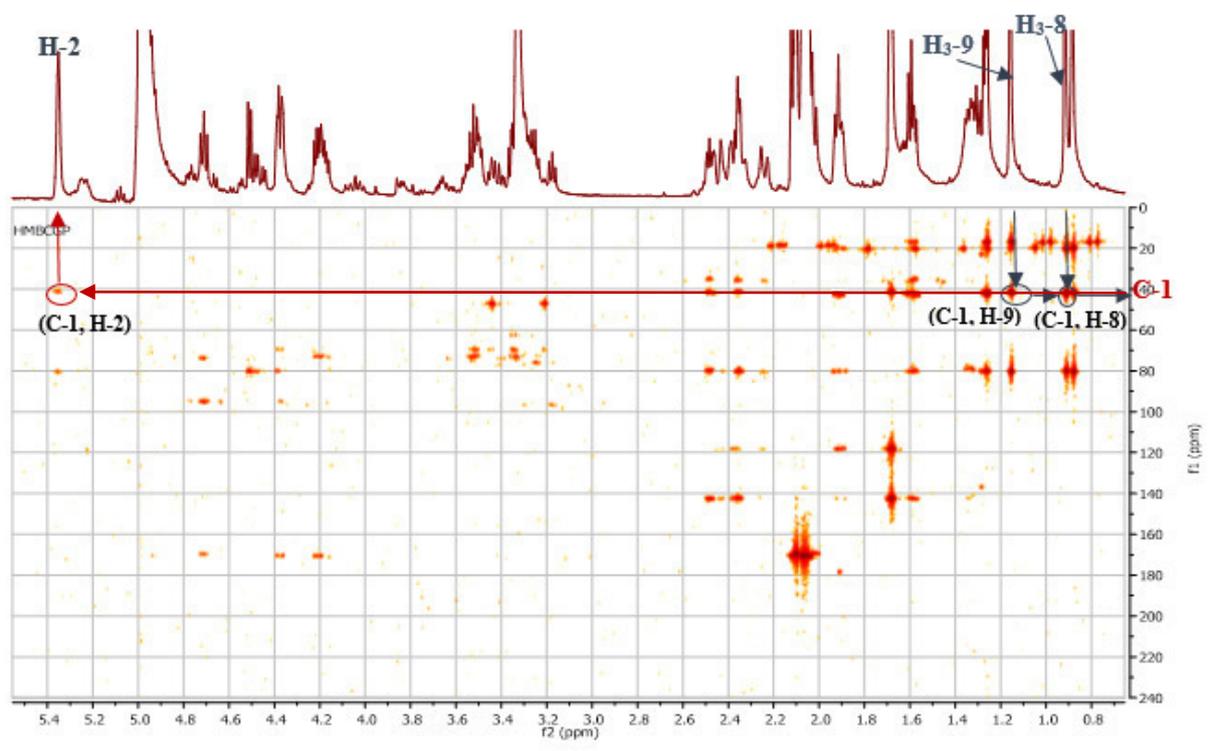


Figure 39-2 : Entité présente dans le composé **3**

Ces données additionnées aux valeurs des déplacements chimiques de tous les carbones restants, qui sont en états d'hybridation sp^3 , indiquant que l'aglycone est un monoterpène bicyclique de type Δ -2-carène ou Δ -3-carène.

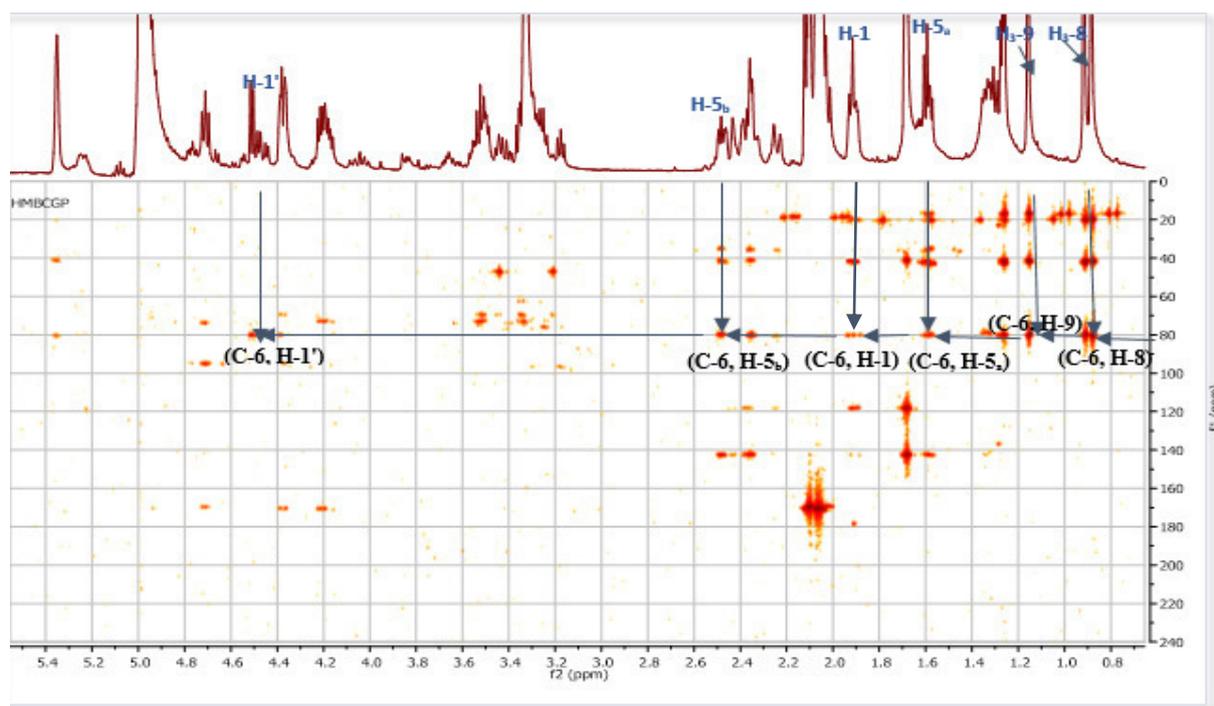
Toujours sur le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre 2-6c), les deux autres méthyles résonants sous forme de singulets à δ_H 1,17 ppm et δ_H 0,90 ppm attribuables aux positions H-9 et H-8 dans un Δ -carène, montrent des taches de corrélations avec un proton d'un groupement CH qui apparaît sous forme d'un singulet large à δ_H 1,91 ppm (δ_C 41,0 ppm), de son côté, le proton de ce CH corrèle sur le spectre COSY, avec un proton d'un groupement CH oléfinique précédemment évoqué. Ce qui permet de placer le CH sp^3 , CH oléfinique et le carbone quaternaire oléfinique aux positions C-1, C-2, C-3 respectivement.

A ce stade de notre analyse, nous pouvons déduire que le squelette de la génine est de type Δ -2-carène.



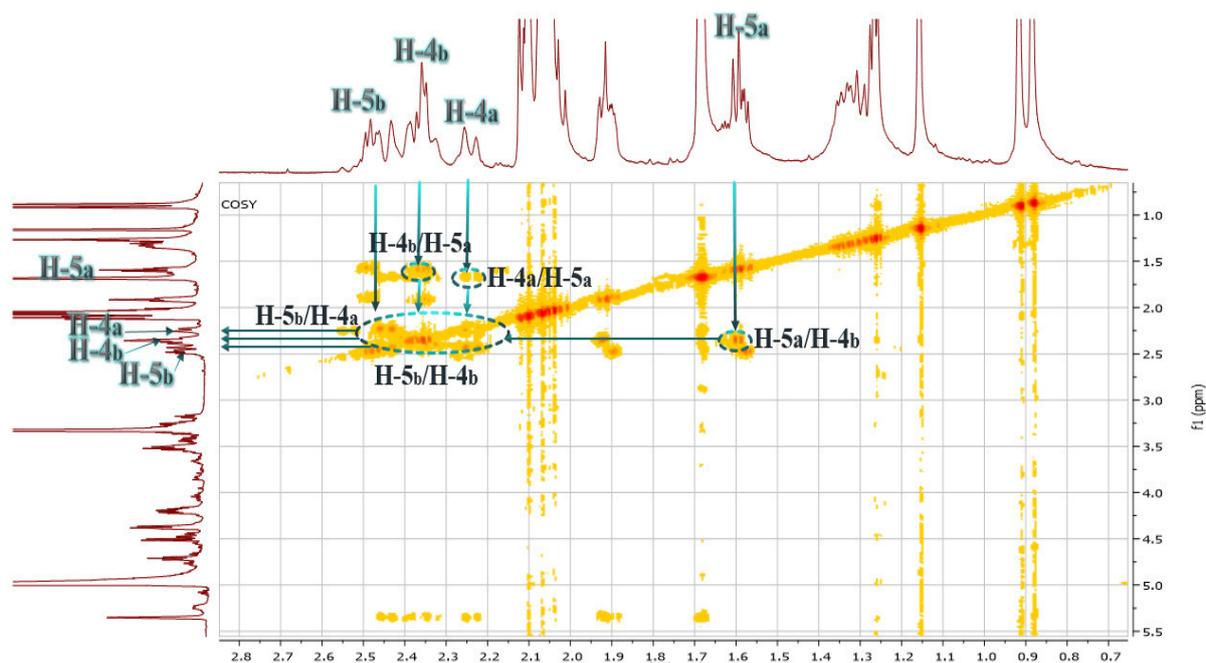
Spectre 2-6c : Spectre HMBC (CD₃OD, 600 MHz, ppm) du composé 3.

Le spectre HMBC (spectre 2-6d) montre des corrélations entre les protons H₃-8, H₃-9, H-1 et le carbone quaternaire porteur de l'entité sucre susmentionné, que nous pouvons alors attribuer à la position C-6. Par ailleurs, le même spectre montre une corrélation entre le carbone C-6 et deux protons diastéréotopiques d'un groupement CH₂ (δ_C 36,6 ppm), l'un apparaissant sous forme d'un multiplet à δ_H 1,59 ppm et l'autre résonant sous forme d'un doublet de doublets large à δ_H 2,49 ppm ($J= 2,0, 15,5$ Hz). Les deux protons sont numérotés H-5_a et H-5_b.



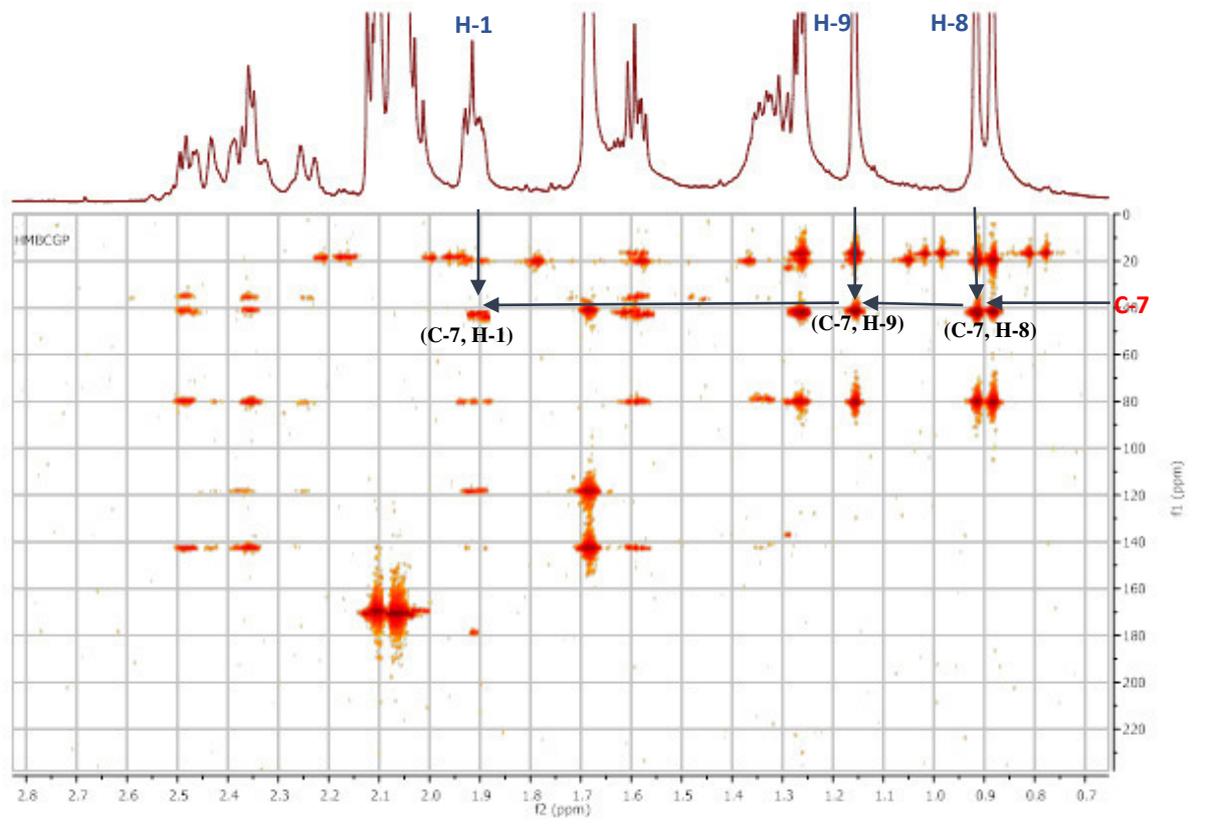
Spectre 2-6d : Spectre HMBC (CD₃OD, 600 MHz, ppm) du composé 4.

Un signal caractéristique de deux protons d'un méthylène, le premier résonant sous forme d'un doublet de doublets large à δ_H 2,26 ppm ($J = 2,8, 15,0$ Hz) et le deuxième résonant sous forme d'un doublet de doublets de doublets à δ_H 2,36 ppm ($J = 3,8, 12,2, 15,0$ Hz), est attribué à la position C-4 grâce à sa corrélation avec les protons H-5_a et H-5_b sur le spectre COSY et avec le C-3 sur le spectre HMBC. (Figure 39-4)



Spectre 2-5b : Spectre COSY (CD₃OD, 600 MHz, ppm) du composé 3, étalement.

Pour positionner le carbone quaternaire C-7, nous avons examiné le spectre HMBC qui montre des corrélations entre les protons H₃-8, H₃-9 et H-1 et le carbone quaternaire résonant à δ_C 42,6 ppm attribuable par conséquent à la position C-7.



Spectre 2-6c : Spectre HMBC (CD₃OD, 600 MHz, ppm) du composé 3.

Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire a été mesuré à l'aide d'un polarimètre de type Rudolph Research Analytical Autopol IV à la longueur d'onde de la raie D du sodium ($\lambda = 589$ nm) dans une cuve de 10 cm à 20°C. Le composé est solubilisé dans le méthanol. Le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D$, exprimé en degré, est calculé à partir de la formule : $[\alpha]_D = 100 \cdot \alpha / c$

α : angle de rotation, en degré, lu sur le polarimètre

l : longueur de la cuve de mesure.

c : concentration de la molécule en solution en g/100 ml.

Le pouvoir rotatoire de composé 4 est $[\alpha]_D$: + 3.2 (c 0.13, MeOH).

L'ensemble de ces analyses additionnée à la comparaison des données RMN proton et carbone de cette entité monoterpénique reportées dans le Tableau 24 avec celle des monoterpènes connus dans les littératures [2,3], mènent à une génine ayant un squelette monoterpénique bicyclique de type Δ -2-carène portant un groupement β -glucopyranoside-2',6'-di-*O*-acétate. Le composé **3** est par conséquent le Δ -2-carène-6-ol-6-*O*-(2',6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside. Cette molécule est nouvelle, elle n'a jamais été reportée dans la littérature.

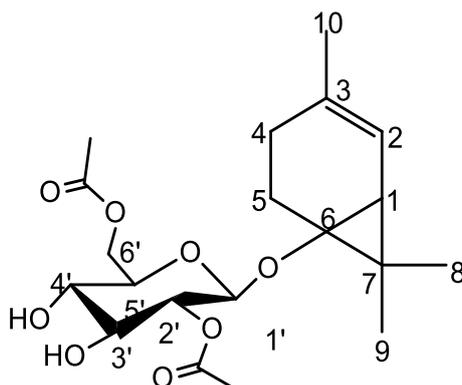


Figure 39-3 : Structure du composé **3**, Δ -2-carène-6-ol-6-*O*-(2',6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside.

Les corrélations les plus significatives relevées du spectre HMBC sont reportées dans la Figure 39-4.

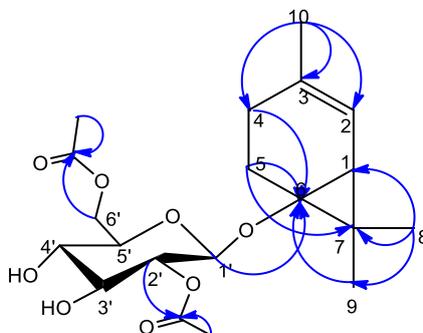


Figure 39-4 : Les corrélations HMBC du composé **3**.

Les corrélations les plus significatives relevées du spectre COSY sont reportées dans la Figure 39-5.

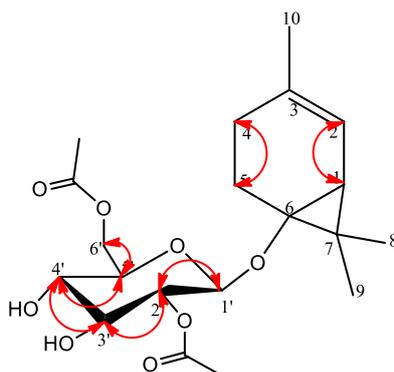


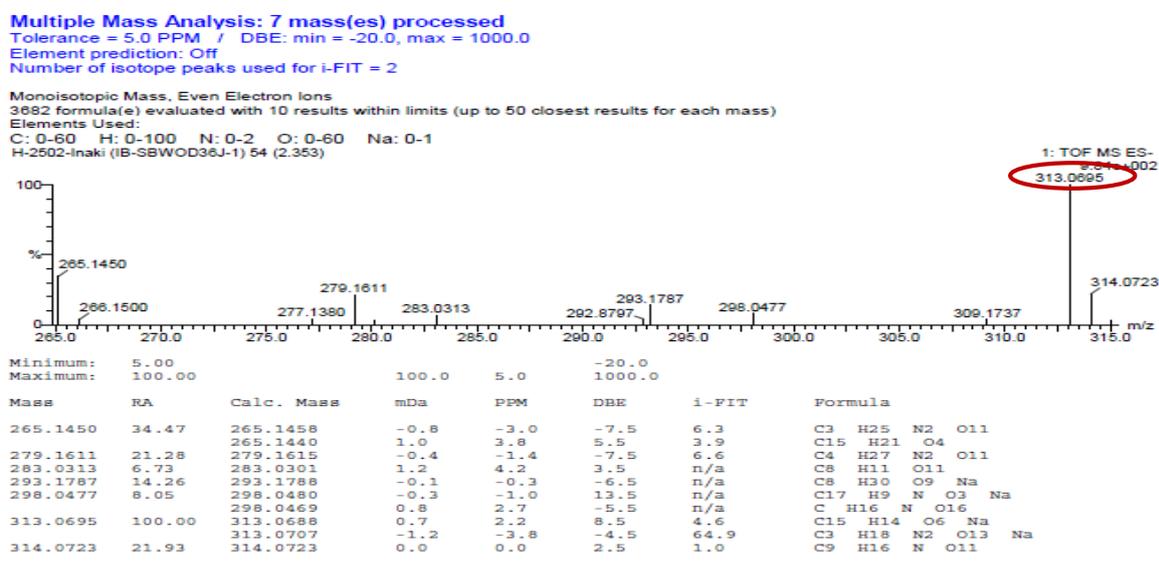
Figure 39-5 : Les corrélations COSY du composé 3.

Tableau 24 : Données relatives aux spectres du composé 4.

La position	δ_H (ppm)	J (Hz)	δ_C (ppm)
1	1,91	<i>sl</i>	41,0
2	5,36	<i>sl</i>	119,0
3	-	-	143,1
4	2,26	<i>ddl</i> (15,0 ; 2,8)	36,8
	2,36	<i>ddd</i> (15,0 ; 12,2 ; 3,8)	
5	1,59	<i>m</i>	36,6
	2,49	<i>ddl</i> (15,5 ; 2,0)	
6	-	-	80,3
7	-	-	42,6
8	0,90	<i>s</i>	18,0
9	1,17	<i>s</i>	20,0
10	1,71	<i>s</i>	20,7
1'	4,51	<i>d</i> (8,5)	95,0
2'	4,73	<i>dd</i> (9,5 ; 8,5)	73,4
3'	3,52	<i>t</i> (9,5)	74,5
4'	3,35	<i>t</i> (9,5)	70,0
5'	3,45	<i>m</i>	73,5
6'	4,38	<i>dl</i> (12,0)	63,3
	4,20	<i>ddl d</i> (12,0 ; 5,0)	
<u>COOCH₃</u>	2,10	<i>s</i>	20,7
<u>COOCH₃</u>		-	171,0
<u>COOCH₃</u>	2,06	<i>s</i>	19,1
<u>COOCH₃</u>		-	171,0

I.3. Elucidation structurale du composé 4

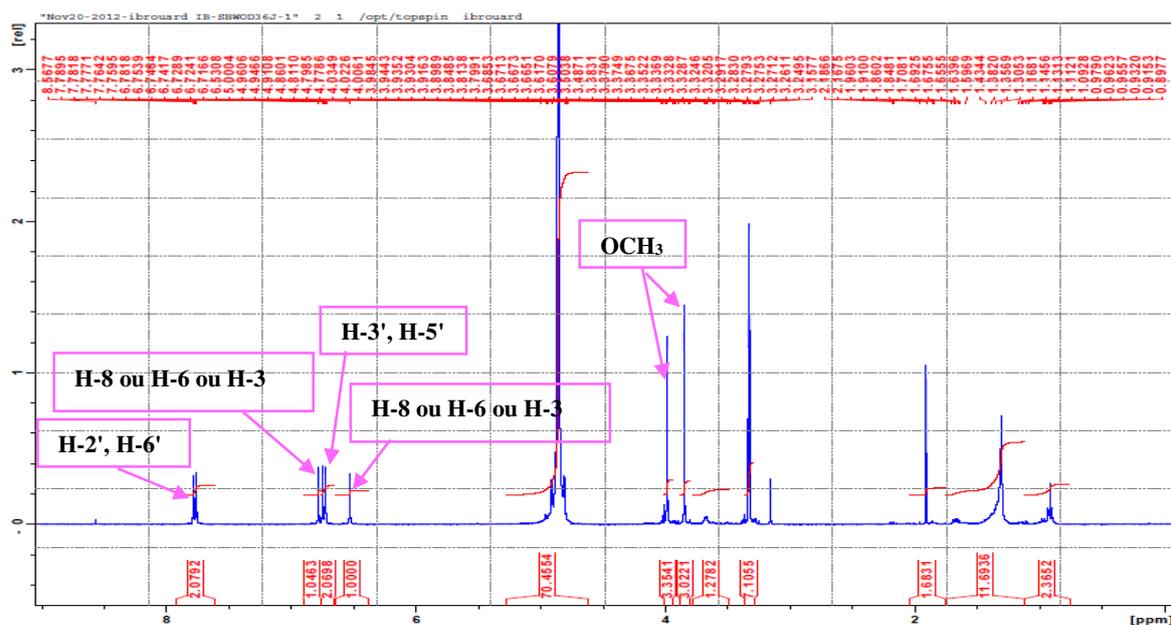
Le composé 4 a été obtenu sous forme d'une poudre jaune. L'examen de son spectre de masse à haute résolution enregistré en mode electrospray négatif (Spectre 3-1) montre un pic quasi moléculaire à m/z 313,0695 correspondant à $[M-H]^-$ (calculée pour 313,0695), indiquant une formule brute $C_{17}H_{14}O_6$, soit une molécule de masse 314 Da renfermant 11 insaturations. La fluorescence noire violette de ce composé sous lumière de Wood (365 nm) indique un composé flavonique de type flavone ou flavonol 3-OR. Ces données orientent vers un flavonoïde comportant deux méthoxyles et deux hydroxyles.



Spectre 3-1. Spectre HR-ESIMS (-) du composé 4.

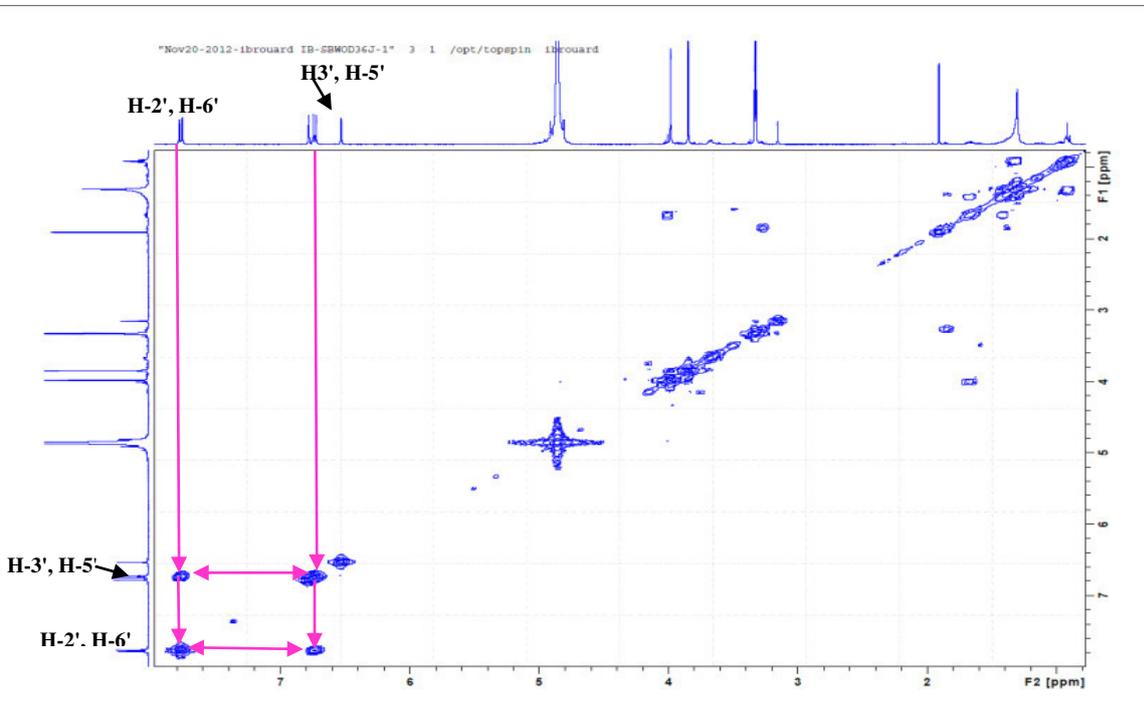
L'examen du spectre RMN proton (Spectre 3-2) de ce composé montre la présence des signaux caractéristiques d'un squelette de flavonoïde de type flavone ou flavonol comportant deux méthoxyles, qu'on peut identifier par :

- ✓ Un doublet d'intégration 2H, à δ_H 7,78 ppm avec une constante de couplage $J = 8,9 Hz$ attribuable à H-2' et H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 2H, à δ_H 6,74 ppm avec une constante de couplage $J = 8,9 Hz$ attribuable à H-3' et H-5'.
- ✓ Un singulet d'intégration 1H, à δ_H 6,78 ppm attribuable soit à H-3, H-8 ou H-6.
- ✓ Un singulet d'intégration 1H, à δ_H 6,53 ppm, attribuable soit à H-3, H-8 ou H-6.
- ✓ Deux singulets d'intégration 3H chacun à (δ_H 3,98 ; 3,84 ppm) confirmant la présence des deux groupements méthoxyles.



Spectre 3-2 : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz, δppm) du composé 4.

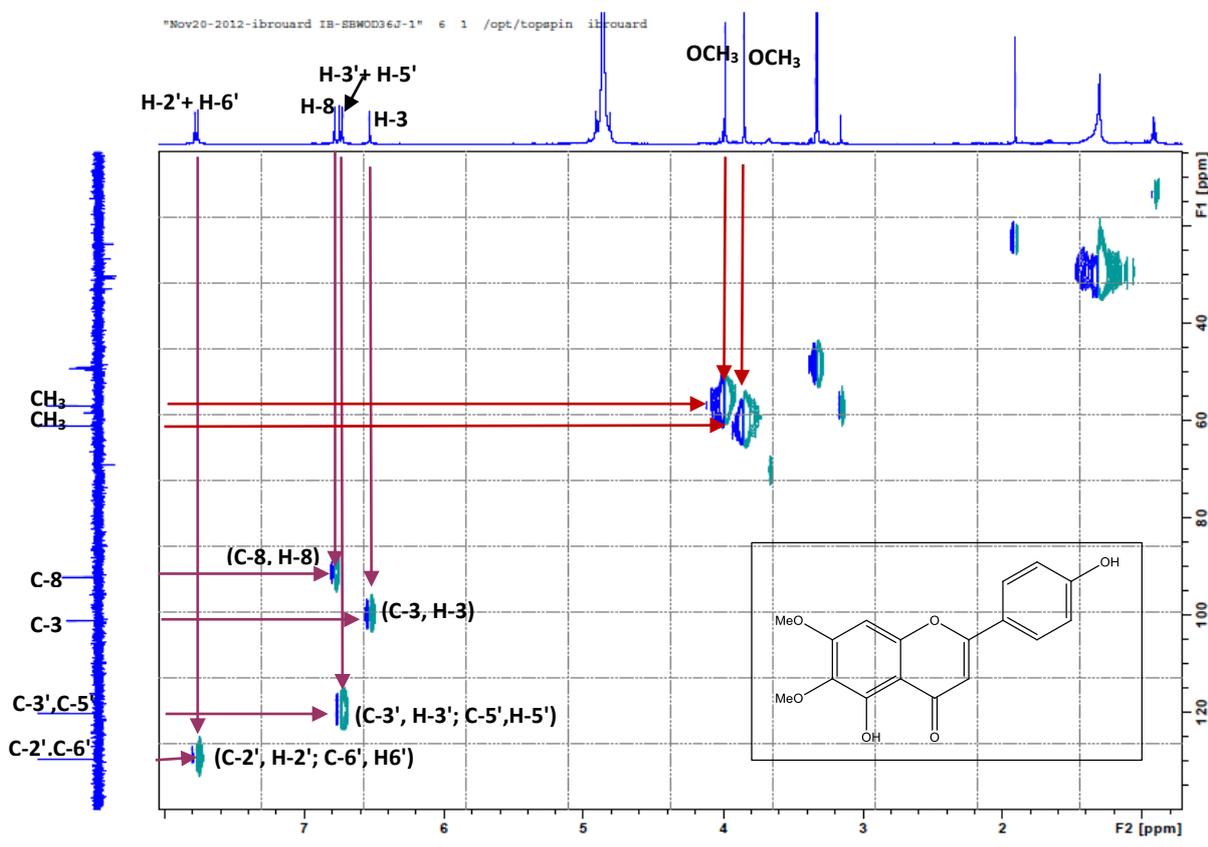
L'examen du spectre relatif à l'expérience COSY (Spectre 3-3) montre des taches de corrélation entre les protons $\text{H-3}'$, $\text{H-5}'$ et les protons $\text{H-2}'$, $\text{H-6}'$ confirmant le couplage ortho et la substitution para du cycle B.



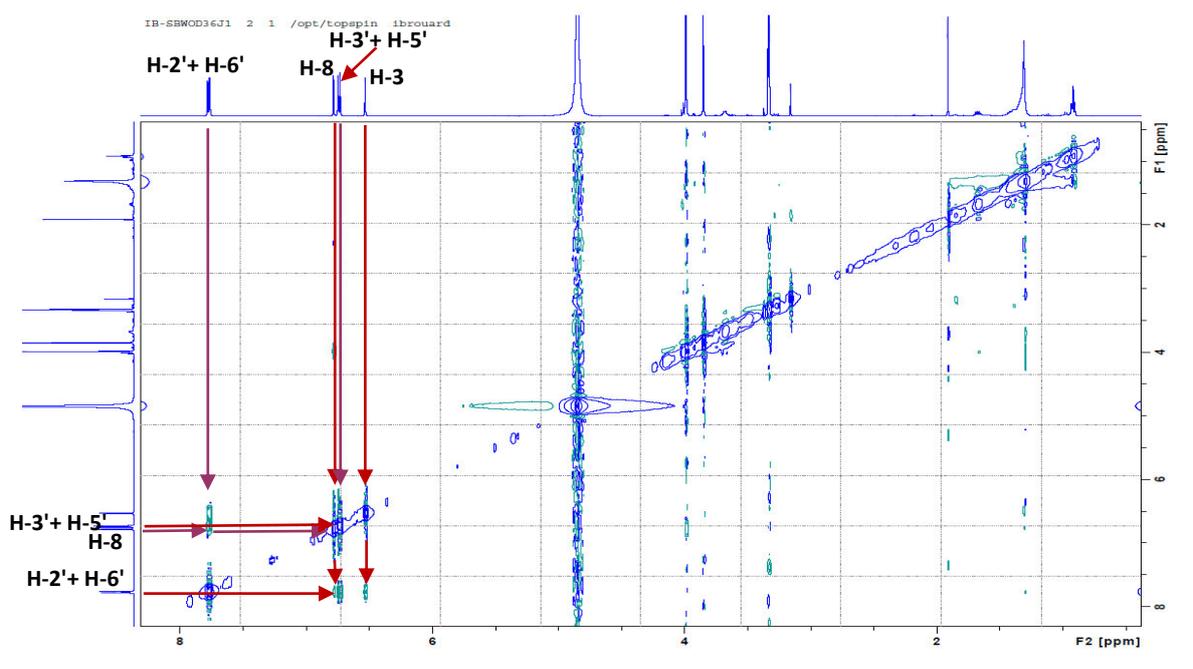
Spectre 3-3 : Spectre COSY (CD_3OD , 400 MHz, δppm) du composé 4.

Le spectre relatif à l'expérience HSQC (Spectre 3-4) permet de localiser le C-2', C-6' à δ_C 129,64 ppm et les C-3', C-5' à δ_C 120,13 ppm, ainsi que les deux signaux des méthoxyes δ_H 3,98 ppm et δ_H 3,84 ppm apparaissent à δ_C 56,97 et 61,10 ppm respectivement.

Dans le même spectre HSQC, le proton résonant à δ_H 6,78 ppm corrèle avec un carbone à δ_C 92,19 ppm, la valeur de ce dernier est caractéristique du C-8, car ceux de C-3, C-6 seraient plus élevés. Par ailleurs, le spectre relatif à l'expérience NOESY (spectre 3-5 a) montre des taches de corrélation entre les protons résonants à δ_H 6,78 ppm et δ_H 6,53 ppm et les protons du cycle B, ce qui permet d'attribuer ces deux protons à H-8 et H-3 et éliminer la probabilité d'existence de H-6. Cette information est appuyée par l'absence d'interactions dans le spectre HMBC entre ces deux protons et le carbone résonant à δ_C 154,06 ppm attribuable à C-5.



Spectre 3-4 : Spectre HSQC (CD₃OD, 400 MHz, δ ppm) du composé 4.

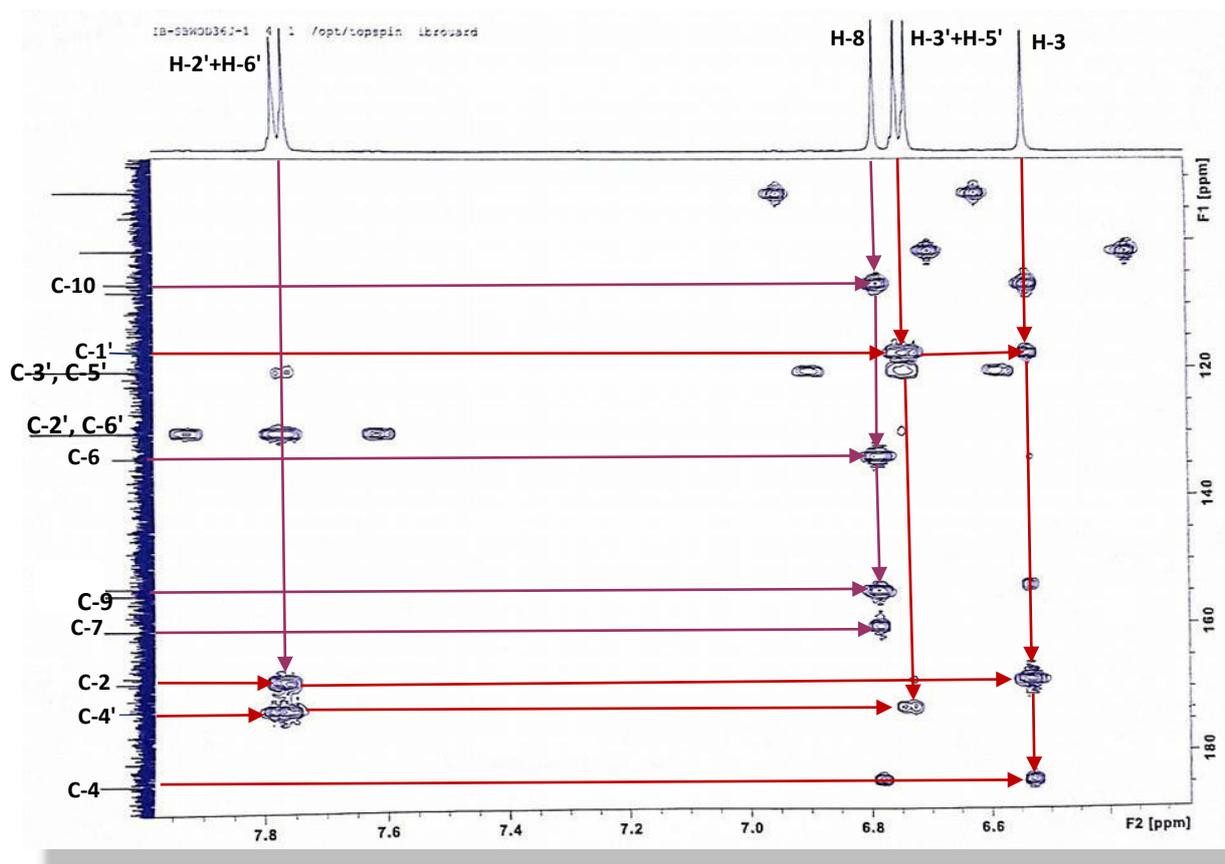


Spectre 3-5 a : Spectre NOESY (CD3OD, 400 MHz, δ ppm) du composé 4.

Le spectre relatif à l'expérience HMBC (Spectre 3-6 a) confirme bien l'attribution de H-8 par l'observation d'une tache de corrélation entre ce proton et le carbone quaternaire à δ_C 160,58 ppm attribuable à C-7 vu la valeur de son déplacement chimique. Cette attribution permet la localisation de C-3 à δ_C 101,71 ppm, C-9 à δ_C 155,15 ppm, le C-6 à δ_C 130,03 ppm et celle de C-10 à δ_C 106,86 ppm.

Par ailleurs, le spectre HMBC permet également de tirer les indications suivantes :

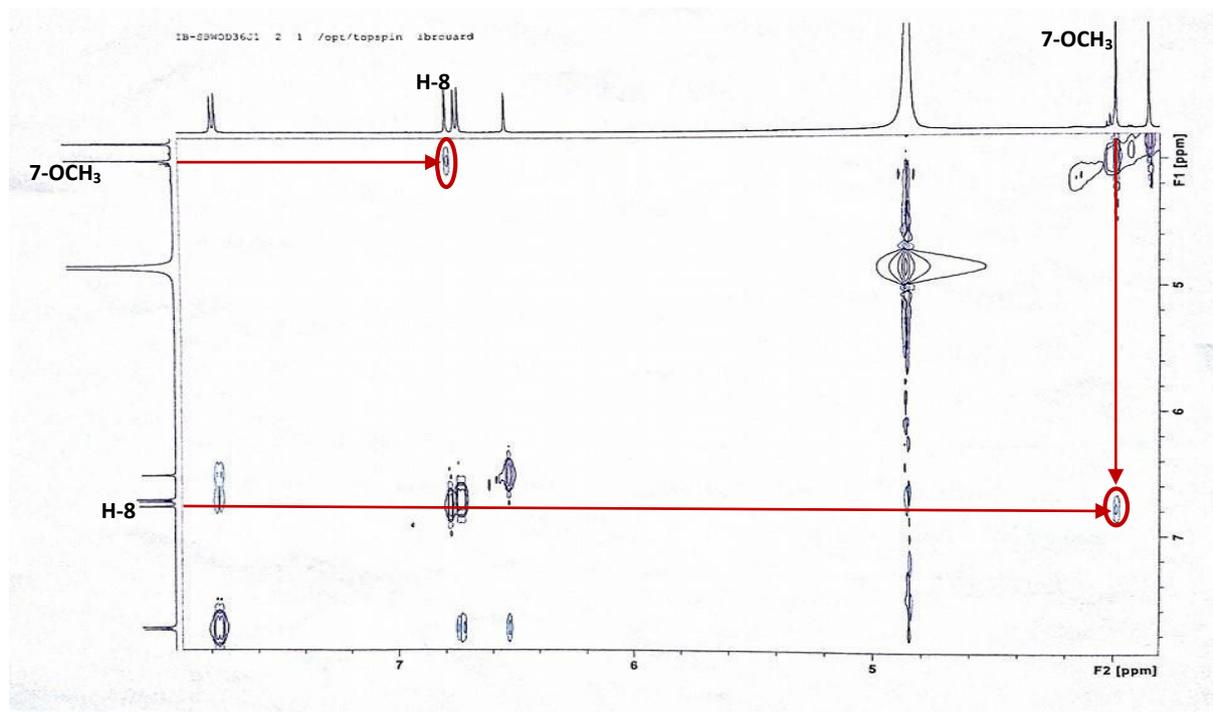
- les corrélations des protons H-2', H-6' et H-3 avec le carbone quaternaire à δ_C 168,50 ppm, indiquent que ce carbone est attribuable à C-2.
- les corrélations entre les protons H-2', H-3', H-5' et H-6' et le carbone oxygéné résonant à δ_C 174,1 ppm, permettent son attribution à C-4'.
- Les protons H-3', H-5' et H-3 corrélient avec le carbone quaternaire à δ_C 118,00 ppm attribuable à C-1'.
- Le carbone C-4 est localisé à δ_C 184,30 ppm grâce à sa corrélation avec H-3.



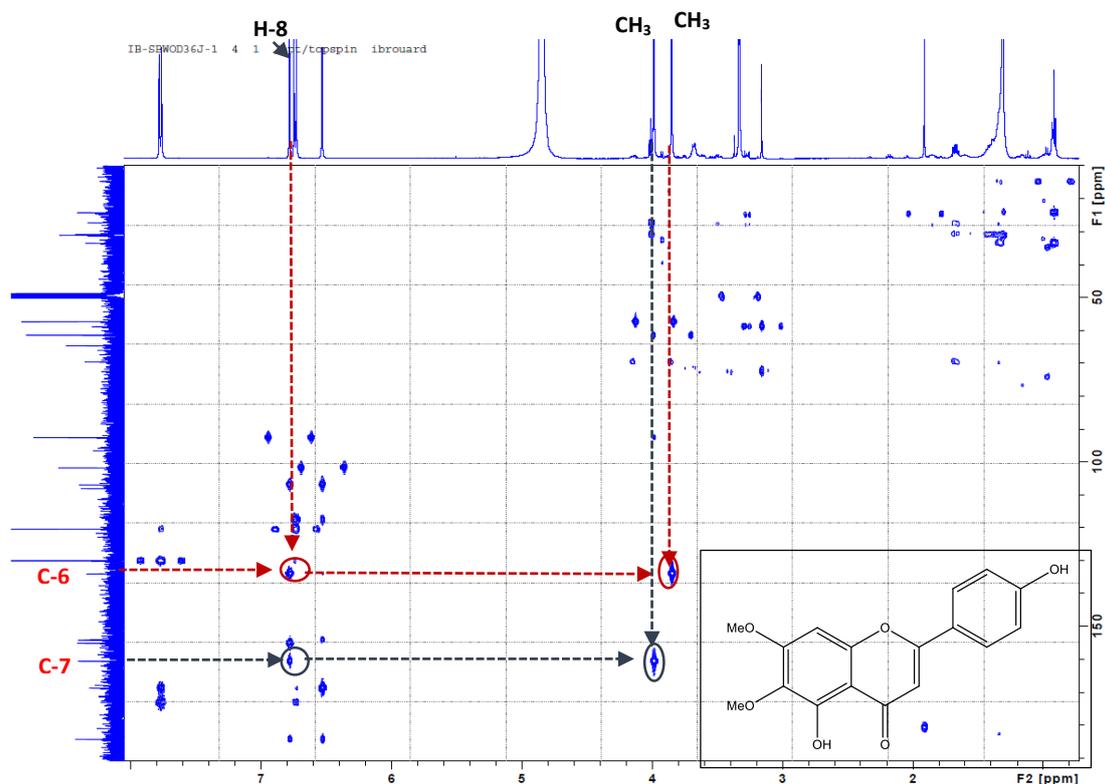
Spectre 3-6a : Spectre HMBC (CD₃OD, 400 MHz, δ ppm) du composé 4, étalement.

L'examen similitude des spectres HMBC (spectre 3-6b) et NOESY (spectre 3-5b) permet la localisation les deux groupements méthoxyle comme suit :

- ✓ La corrélation entre le groupement méthoxyle à δ_H 3,84 ppm (δ_C 61,10) et le carbone C-7 sur HMBC et l'interaction NOESY avec le H-8, mènent à localiser ce groupement méthoxyle sur le carbone C-7.
- ✓ La corrélation entre le groupement méthoxyle à δ_H 3,98 ppm (δ_C 56,76) et le carbone C-6 sur HMBC et l'absence de l'interaction NOESY avec tous les protons de noyau du cycle B permettent de placer ce méthoxyle sur le carbone C-6.

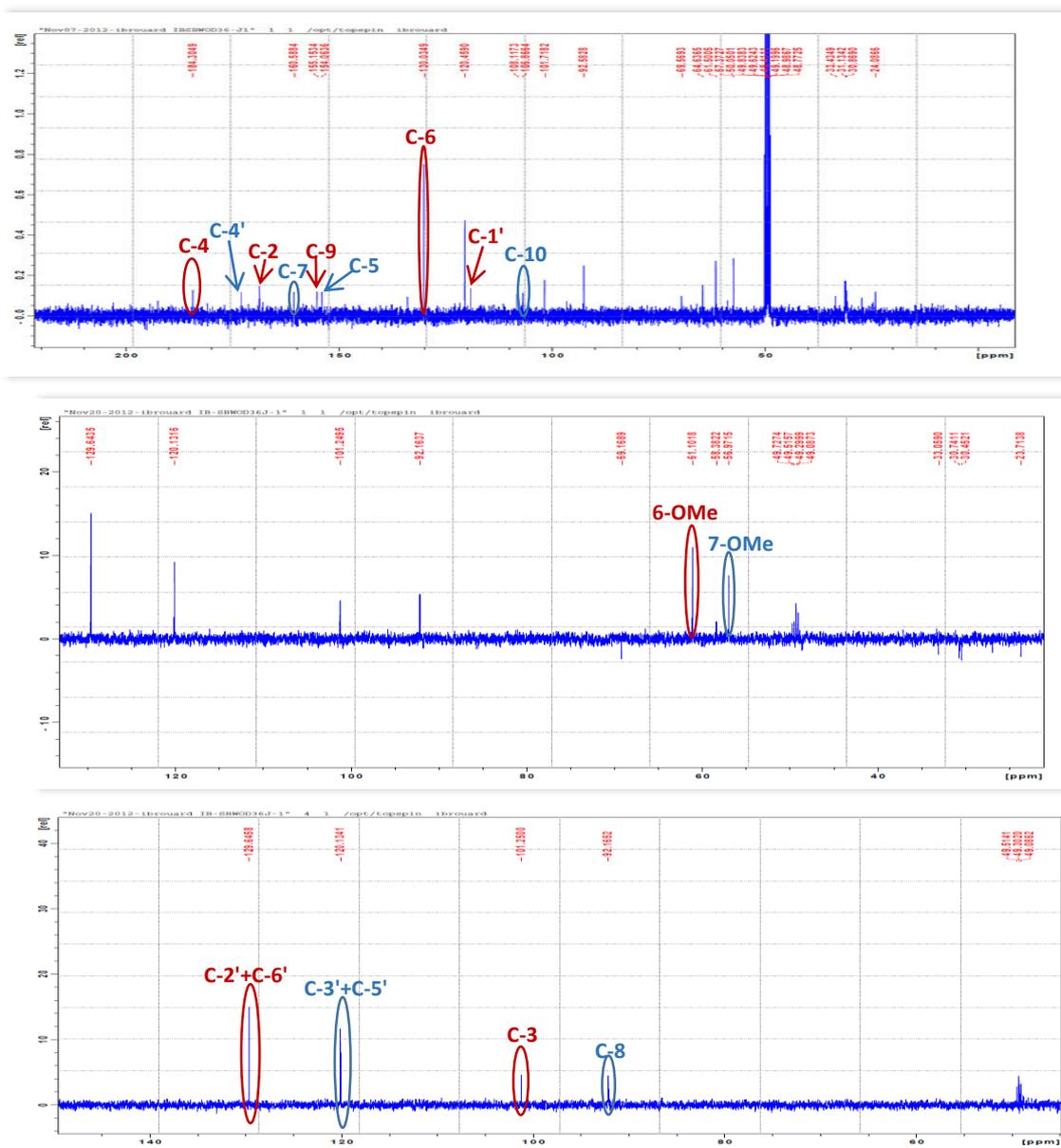


Spectre 3-5b : Spectre NOESY (CD3OD, 400 MHz, δ ppm) du composé 4, étalement.



Spectre 3-6b : Spectre HMBC (CD3OD, 400 MHz, δ ppm) du composé 4, étalement.

L'ensemble de ces données est reportée sur le spectre RMN ^{13}C , la séquence DEPT 135° et DEPT 90° et dans le Tableau 25.



Spectre 3-7 : Spectre RMN ^{13}C , DEPT 135° et DEPT 90° (CD_3OD , 100 MHz, δ ppm) du composé 4.

Tableau 25 : Les données relatives aux spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé 4.

La position	δ_{H} (ppm)	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
2	-	-	168,50
3	6,53	<i>s</i>	101,71
4	-	-	184,30
5	-	-	154,06
6	-	-	130,03
7	-	-	160,58
8	6,78	<i>s</i>	92,19
9	-	-	155,15
10	-	-	106,86
6-OMe	3,84	<i>s</i>	61,10
7-OMe	3,98	<i>s</i>	56,97
'1	-	-	118,00
'2	7,78	<i>d</i> (8,9)	129,64
'3	6,74	<i>d</i> (8,9)	120,13
'4	-	-	174,10
'5	6,74	<i>d</i> (8,9)	120,13
'6	7,78	<i>d</i> (8,9)	129,64

L'ensemble de ces données spectroscopique de la RMN et la masse, mène à la structure reportée dans la Figure 40, il s'agit de la 4',5-dihydroxy-6,7-diméthoxyflavone. Ce composé connu sous le nom cirsimaritrine, possède un effet antidépresseur, anxiolytique, antinociceptif [4] et anti-inflammatoire [5]. Il a été isolé auparavant de *Centaurea maroccana* (Compositae) [6] et de plusieurs d'autres espèces végétales.

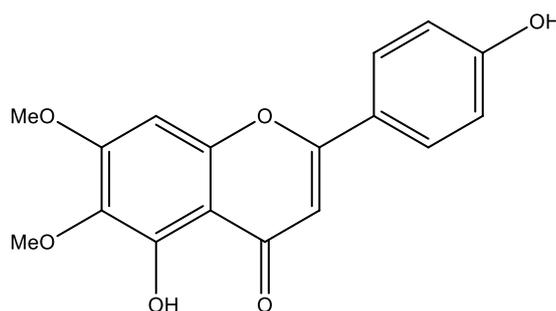
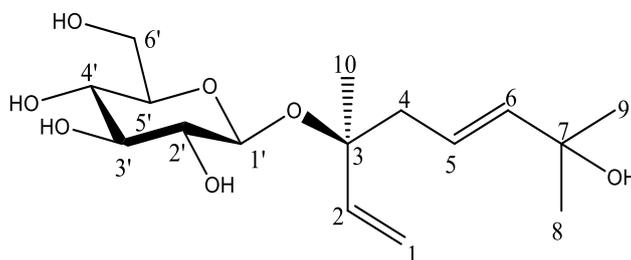
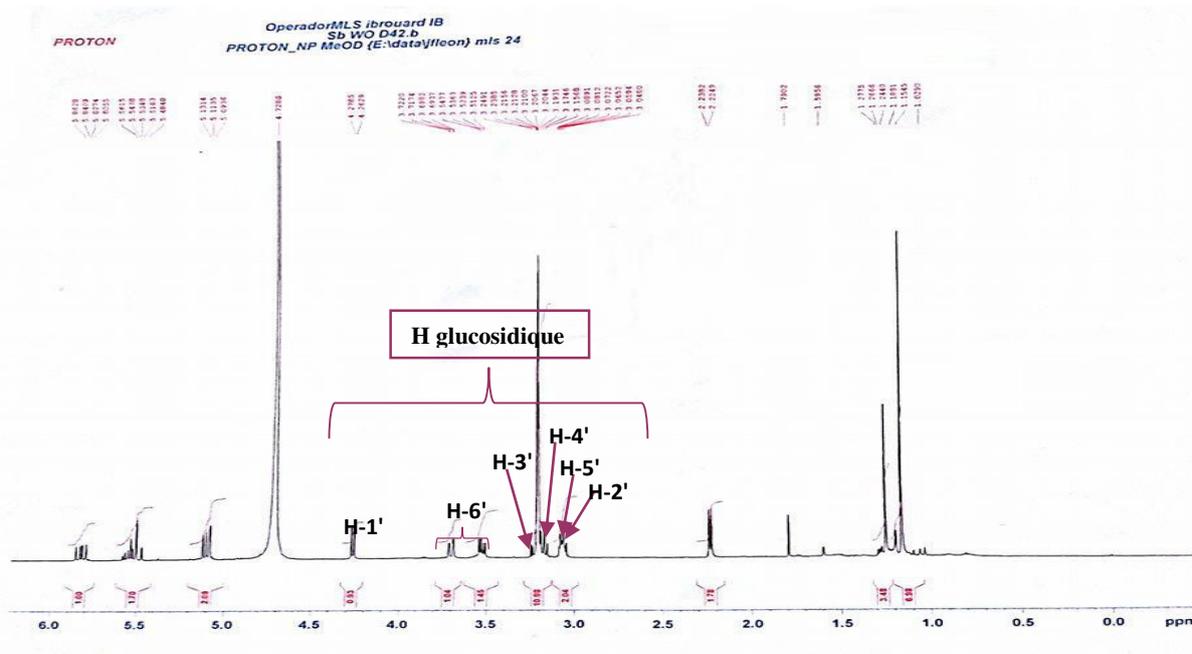


Figure 40 : Structure du composé 4, cirsimaritrine

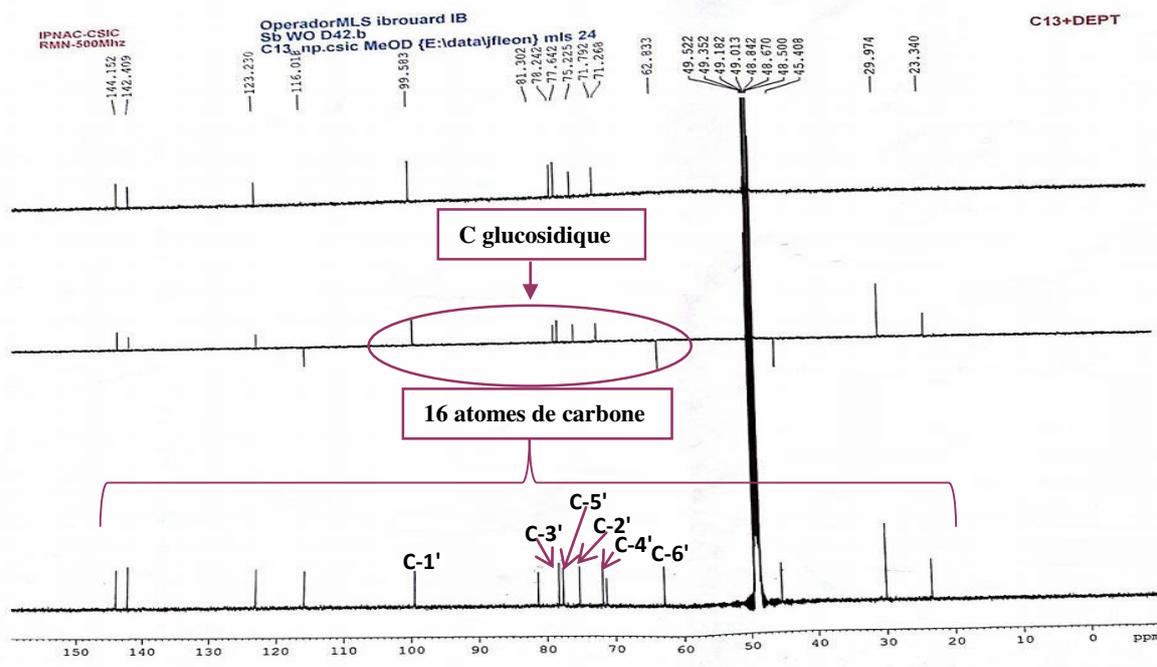
I.4. Elucidation structurale du composé 5



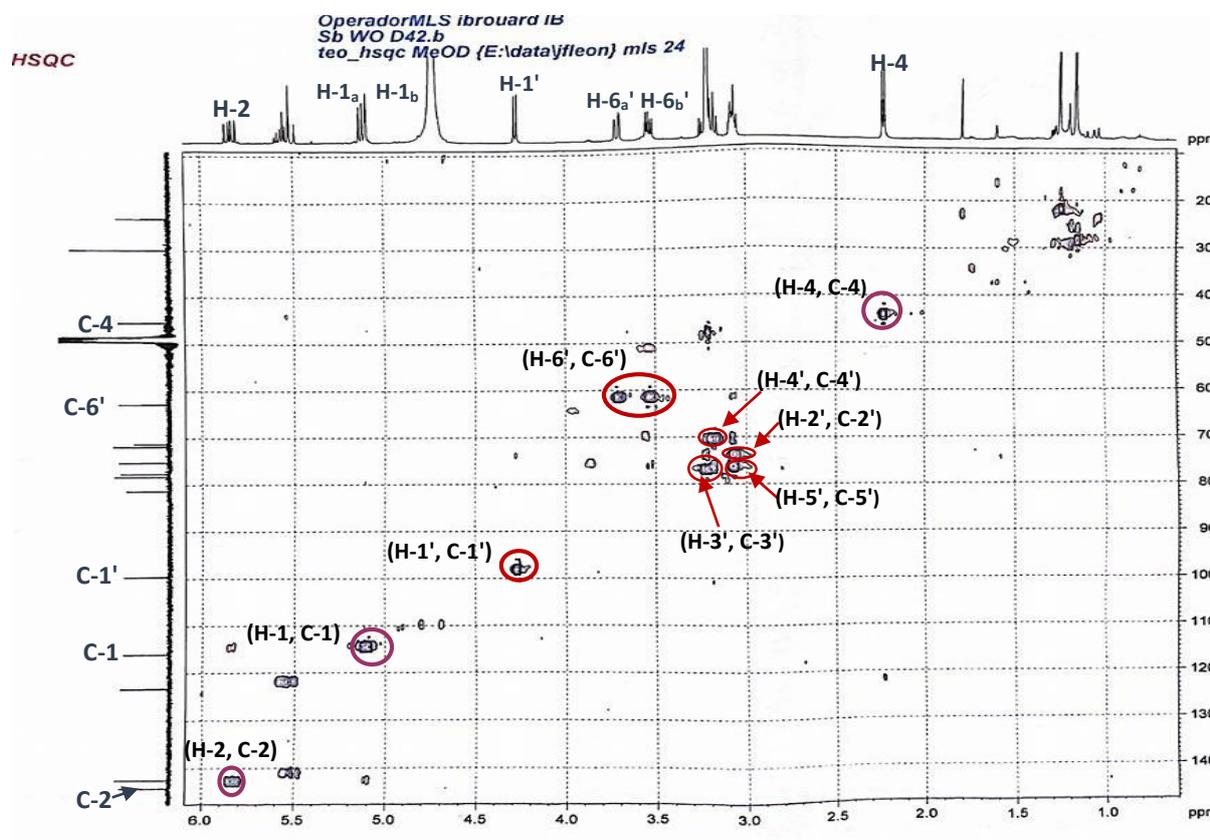
Le composé **5** a été obtenu sous forme de gomme incolore. L'analyse simultanée des spectres RMN ^1H (Spectre 4-1a), RMN ^{13}C (Spectre 4-2a), et HSQC (Spectre 4-3) révèle la présence de 16 atomes de carbone, parmi lesquels on distingue aisément ceux d'un hexose notamment : un CH à δ_{C} 99,58 ppm (δ_{H} 4,27 ppm, d , $J = 7,8\text{Hz}$) que l'on peut attribuer à la position anomérique C-1'. Les valeurs des déplacements chimiques de ce carbone et de son proton ainsi que la valeur de la constante de couplage résultant de l'interaction vicinale H-1'/H-2' axiale/axiale orientent bien vers une jonction O - β -glycosidique. Cette jonction est appuyée par la combinaison des résultats des analyses des spectres HSQC, COSY et HMBC qui permet d'attribuer les carbones et ses protons du glucopyranosyle C-2' (H-2'), C-3'(H-3'), C-4'(H-4'), C-5' (H-5'), C-6' (H-2-6') aux signaux δ_{C} 75,22 (δ_{H} 3,06), 78,24 (δ_{H} 3,23), 71,79 (δ_{H} 3,17), 77,64 (δ_{H} 3,08) et 62,83ppm (δ_{H} 3,55 ppm, dd , $J = 11,9 ; 5,7\text{ Hz}$; δ_{H} 3,71ppm, dd , $J = 11,9, 2,3\text{ Hz}$) respectivement.



Spectre 4-1a : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz, δ_{ppm}) du composé **5**



Spectre 4-2a : Spectre RMN ^{13}C , DEPT 135, DEPT 90 (CD_3OD , 125 MHz, δppm) du composé 5



Spectre 4-3 : Spectre HSQC (CD_3OD , 500 MHz, δppm) du composé 5

En faisant abstraction de l'ensemble des signaux de la partie glucosidique, L'examen simultanée des spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C (Spectre 4-2b), montre la présence des signaux caractéristiques d'un squelette de type monoterpénique que l'on peut identifier par la comparaison avec la littérature [7], comme suit :

Deux doublet d'intégration 1H chacun à 5,10 et 5,12 ppm correspondant aux deux protons d'un CH_2 oléfinique (δ_{C} 116,01 ppm), Nous numérotions cette position C-1. Sur le spectre COSY (spectre 4-4) les protons H-1_a et H-1_b montrent des taches de corrélation avec un proton d'un CH éthylénique résonant sous forme d'un doublet de doublets à δ_{H} 5,83 ppm ($J=10,9 ; 17,7 \text{ Hz}$, δ_{C} 144,15 ppm), cette corrélation permet de placer ce carbone en position 2 par rapport au C-1. Alors que la position 3 étant occupée par un carbone quaternaire oxygéné (δ_{C} 81,30 ppm), grâce d'une part à sa corrélation avec les protons H-2, H-1_a et H-1_b sur le spectre HMBC (spectre 4-5) et d'autre part, à la multiplicité du signal de H-2.

Encore sur le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre 4-5), C-3 montre une corrélation avec le proton anomérique, indiquant ainsi la substitution du squelette monoterpénique par l'entité glucopyranosyle en cette position.

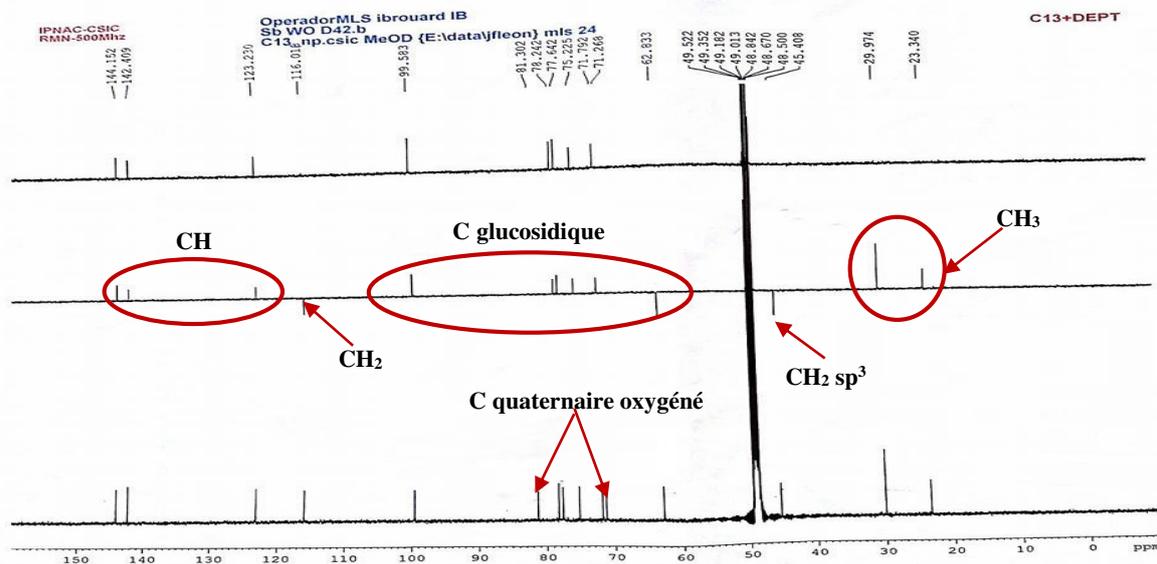
Par ailleurs et toujours sur le spectre HMBC (spectre 4-5), ce carbone quaternaire (C-3) montre également d'autres taches de corrélation, l'une avec les protons d'un groupement méthyle résonant sous forme d'un singulet à δ_{H} 1,24 ppm (δ_{C} 23,34 ppm) que nous pouvons numérotier C-10, et l'autre avec les protons d'un groupement CH_2 hybridé sp^3 résonant sous forme d'un doublet à δ_{H} 2,23 ppm ($J = 6,6 \text{ Hz}$, δ_{C} 45,40 ppm) que nous pouvons numérotier C-4.

Sur le spectre relatif à l'expérience COSY (spectre 4-4), H₂-4 montrent une tache de corrélation avec un proton éthylénique résonant sous forme un doublet de triplet à δ_{H} 5,54 ppm ($J=13,3 ; 6,5 \text{ Hz}$, δ_{C} 123,23 ppm). Ce proton est attribué au carbone de la position C-5. Toujours sur le spectre COSY, le proton H-5 corréle avec un autre proton oléfinique résonant sous forme d'un doublet à 5,50 ppm ($J= 15.7\text{Hz}$, δ_{C} 142,40 ppm) que nous pouvons numérotier H-6. La multiplicité de ce dernier permet de déduire que la position C-7 est occupée par un carbone quaternaire qui apparait à δ_{C} 71,26 ppm grâce à sa corrélation avec le proton H-6 dans le spectre HMBC. La valeur du déplacement chimique de ce carbone quaternaire indique qu'il est hydroxylé.

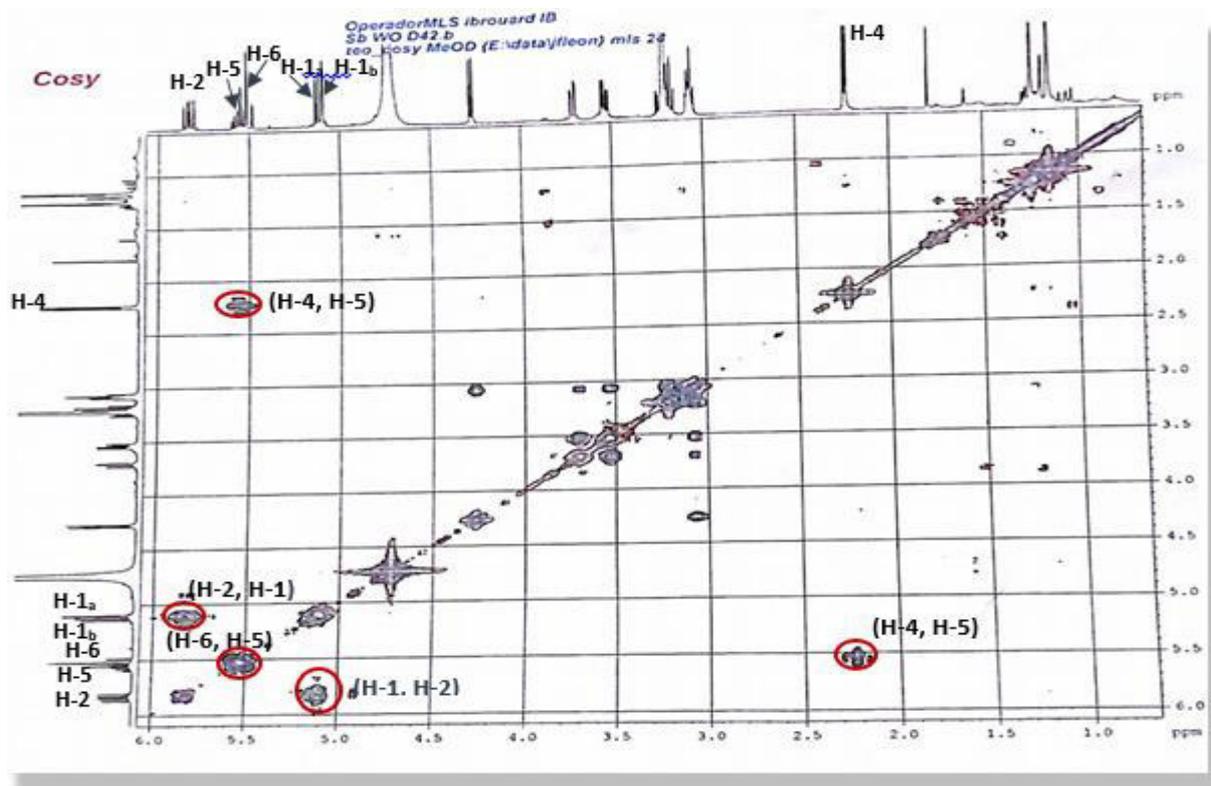
Le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre 4-5) montre une tache de corrélation entre le carbone C-7 et les protons de deux groupements méthyles résonants sous forme d'un singulet à

δ_H 1,15 ppm (δ_C 29,97ppm), ces deux méthyles sont attribués aux C-8 et C-9. Ce qui permet de placer ces deux méthyles sur le carbone quaternaire C-7.

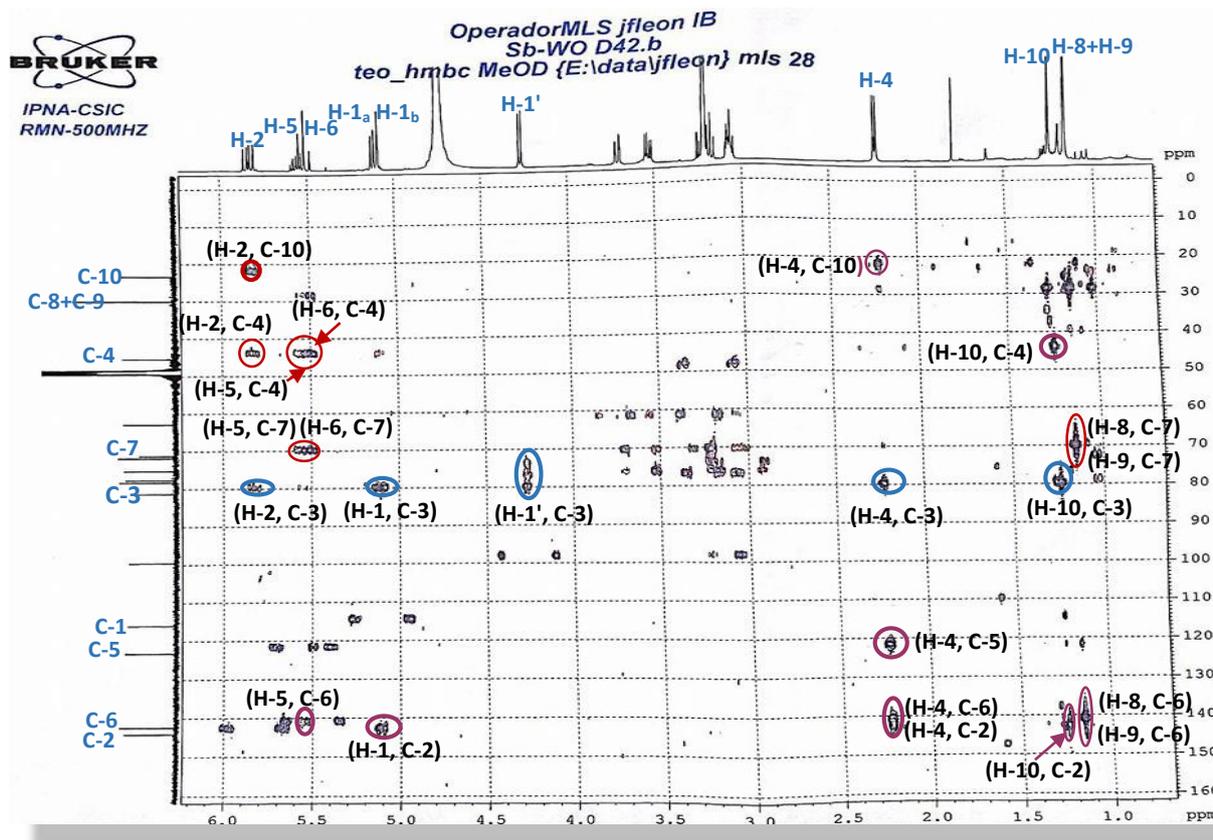
En revanche, la géométrie de la double liaison entre C-5–C6 a été assigné comme E, vu les valeurs des constantes de couplage vicinal ($J=13,3$; $15,7$) entre les deux protons oléfiniques.



Spectre 4-2b : Spectre RMN ^{13}C , DEPT 135, DEPT 90 (CD $_3$ OD, 125 MHz, δ ppm) du composé 5



Spectre 4-4 : Spectre COSY (CD $_3$ OD, 500 MHz, δ ppm) du composé 5



Spectre 4-5 : Spectre HMBC (CD₃OD, 500 MHz, δ ppm) du composé 5

La totalité des données spectroscopiques confortées par la comparaison avec celles de la littérature [7] et rassemblées dans le Tableau 26, mènent à la structure d'un monoterpène acyclique de type linalol reportée dans la Figure 41, soit le (3S)-3-O-(β -D-glucopyranosyl)-3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol. Cette molécule est décrite pour la première fois dans la famille des Zygophyllaceae.

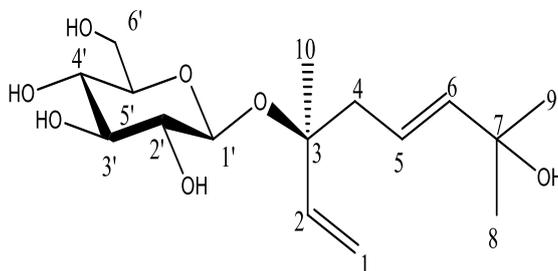
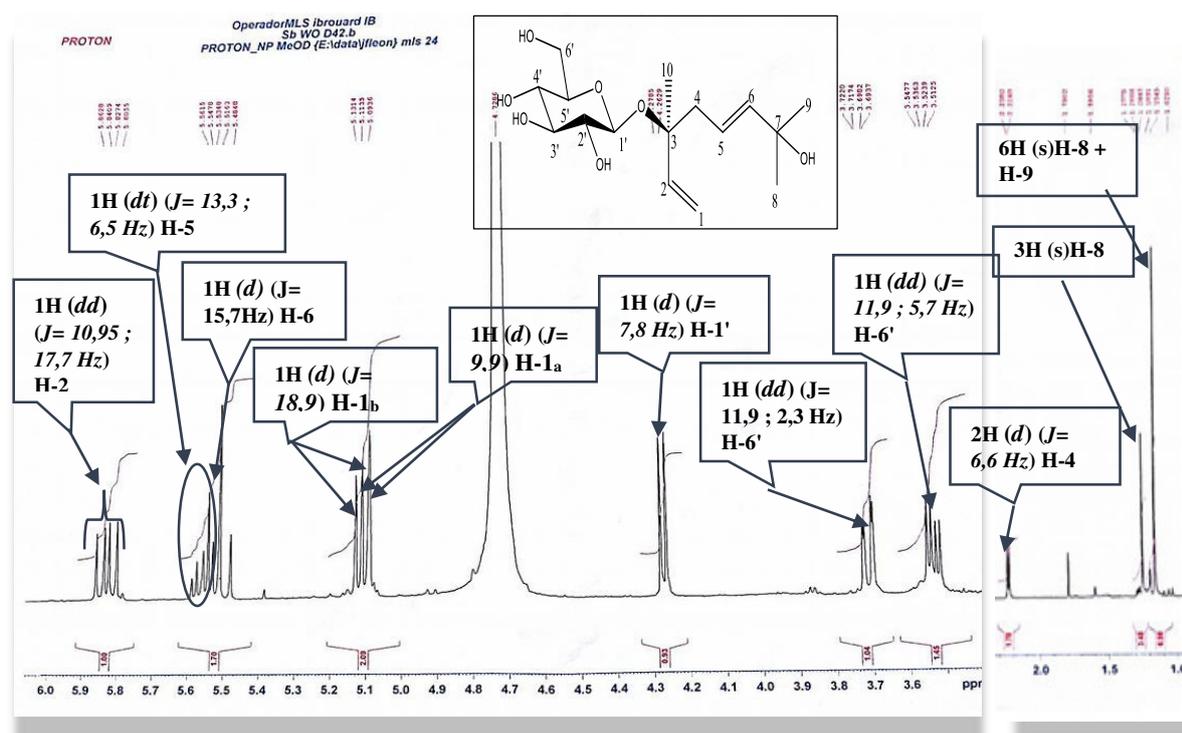


Figure 41 : structure du composé 5, (3S)-3-O-(β -D-glucopyranosyl)-3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol

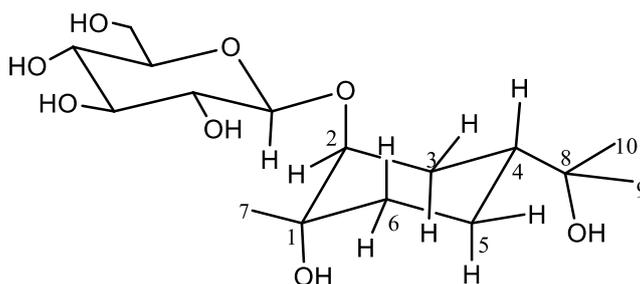


Spectre 4-1 b : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz, δppm) du composé 5.

Tableau 26 : Les données relatives aux spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé 5.

La position	δ_{H} (ppm)	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	5,10	<i>d</i> (9,9)	116,01
	5,12	<i>d</i> (18,9)	
2	5,83	<i>dd</i> (10,9 ; 17,7)	144,15
3	-	-	81,30
4	2,23	<i>d</i> (6,6)	45,40
5	5,54	<i>dt</i> (13,3 ; 6,5)	123,23
6	5,50	<i>d</i> (15,7)	142,40
7	-	-	71,26
8	1,15	<i>s</i>	29,97
9	1,15	<i>s</i>	29,97
10	1,24	<i>s</i>	23,34
1'	4,27	<i>d</i> (7,8)	99,58
2'	3,06	-	75,22
3'	3,23	-	78,24
4'	3,17	-	71,79
5'	3,08	-	77,64
6'	3,55	<i>dd</i> (11,9 ; 5,7)	62,83
	3,71	<i>dd</i> (11,9 ; 2,3)	

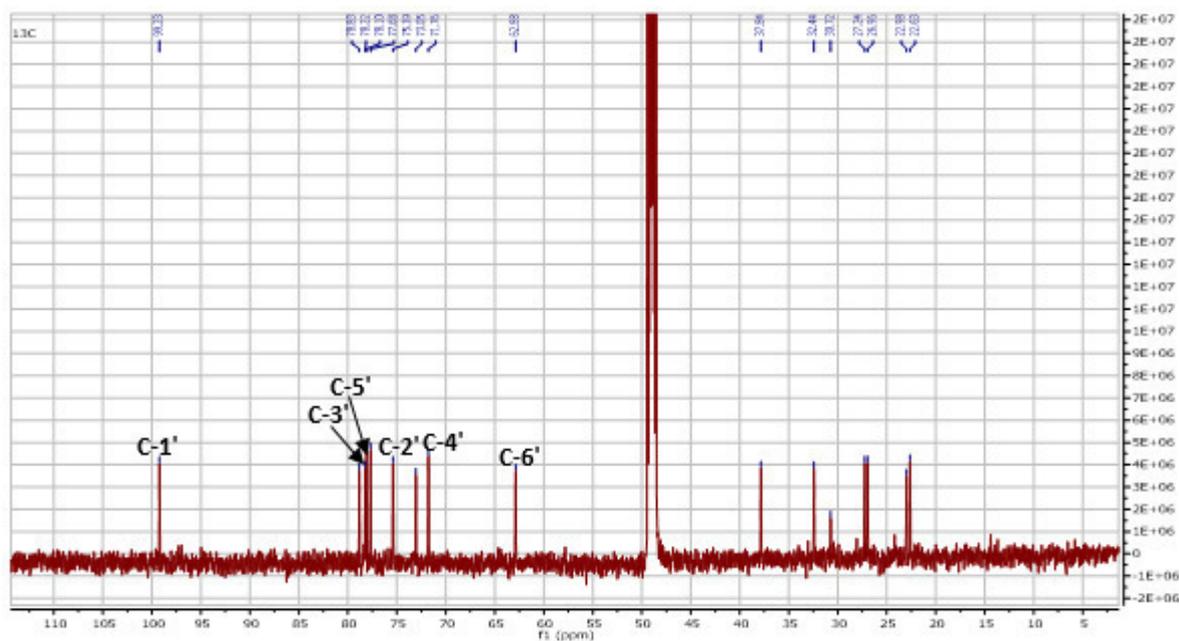
I.5. Elucidation structurale du composé 6



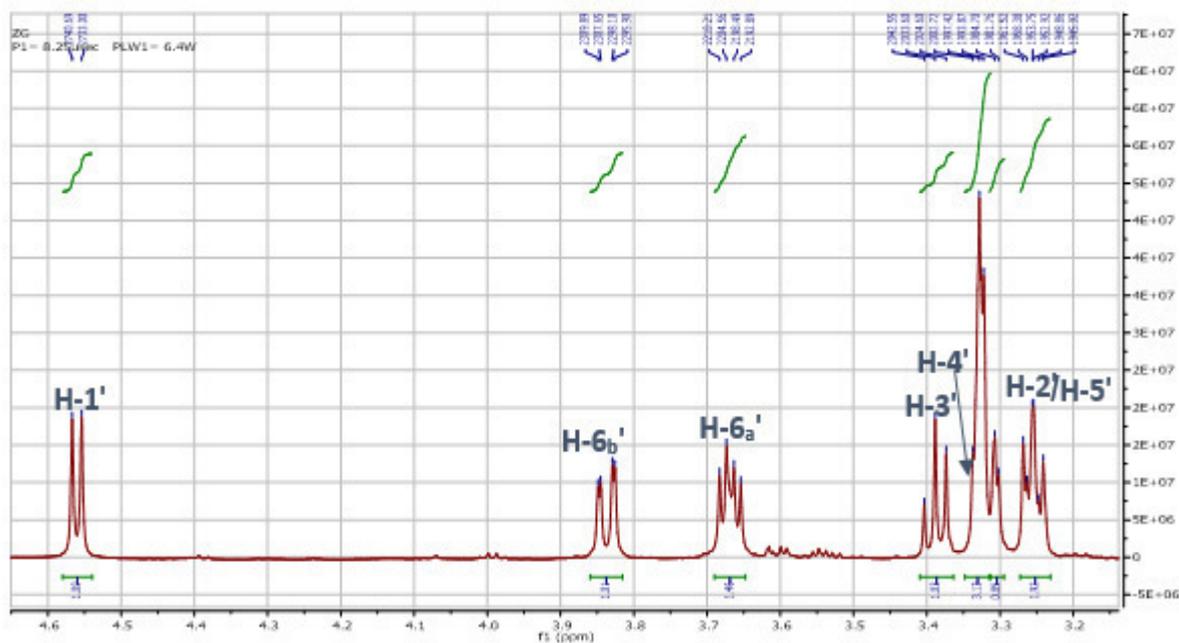
Le composé 6 a été obtenu sous forme d'une huile. L'examen de ses spectres RMN ^1H (spectre 5-1a), RMN ^{13}C (spectre 5-2a), HSQC (spectre 5-3a), COSY (spectre 5-4a) révèle la présence des signaux caractéristique d'un groupement hexose, qui peuvent être répartis comme suit :

- Un CH à δ_{C} 99,23 ppm résonant sous forme d'un doublet à δ_{H} 4,57 ppm ($J = 7,6 \text{ Hz}$) attribuable à la position C-1' de cet hexose. Les valeurs des déplacements chimiques de ce carbone et son proton additionnées à la valeur $7,6 \text{ Hz}$ de constante de couplage, sont en faveur de la présence d'une jonction *O*-hexose avec une configuration β du carbone anomérique et ayant le proton H-2' avec une orientation axiale.
- Un CH à δ_{C} 75,39 ppm (δ_{H} 3.26 ppm, *m*) attribuable à la position C-2' grâce à la corrélation entre le proton de ce méthyne et le proton H-1' sur le spectre COSY (spectre 5-4a).
- Un CH à δ_{C} 78,22 résonant sous forme d'un triplet à δ_{H} 3.39 ppm ($J = 8,9 \text{ Hz}$), attribuable à la position C-3' grâce à la corrélation entre le proton de ce méthyne et le proton H-2' sur le spectre COSY.
- Un CH à δ_{C} 71,76 (δ_{H} 3.34 ppm, recouvert par le signal du MeOH- d_4 sur le spectre RMN ^1H), qui est attribué à la position C-4' grâce à sa corrélation avec le proton H-3' sur le spectre COSY.
- Un CH à δ_{C} 78,10 (δ_{H} 3.26 ppm, *m*) qui donne un signal superposé à celui de la position C-2' sur le spectre RMN ^1H , attribuable à la position C-5' grâce à ses corrélations sur le spectre COSY, l'un avec le proton H-4' et les autres avec les deux protons d'un méthylène attribuable à la position C-6'. Ces deux protons H₂-6 résonants sous forme d'un doublet de doublets, l'un à δ_{H} 3.85 ppm ($J = 11,7 ; 2,2 \text{ Hz}$) et l'autre à δ_{H} 3.68 ppm ($J = 11,7 ; 5,6 \text{ Hz}$). Le carbone de ce méthylène résonant à δ_{C} 62,88 ppm.

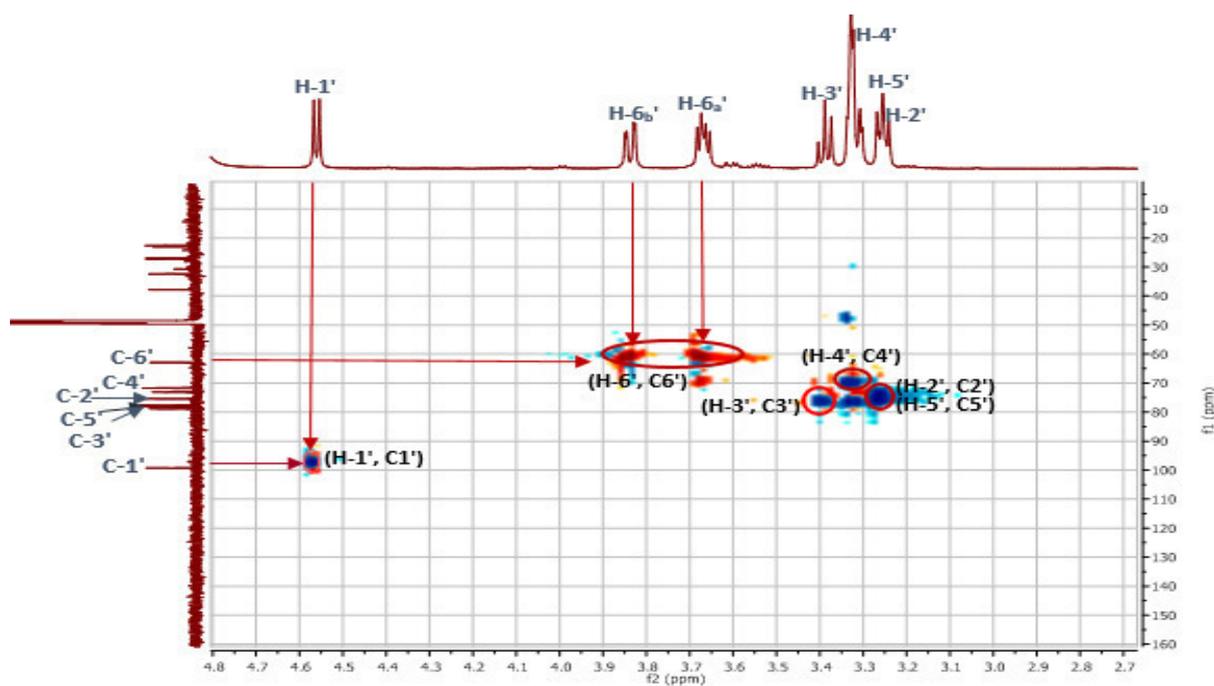
L'ensemble de ces données oriente bien vers un substituant de type β -glucopyranoside de cette molécule.



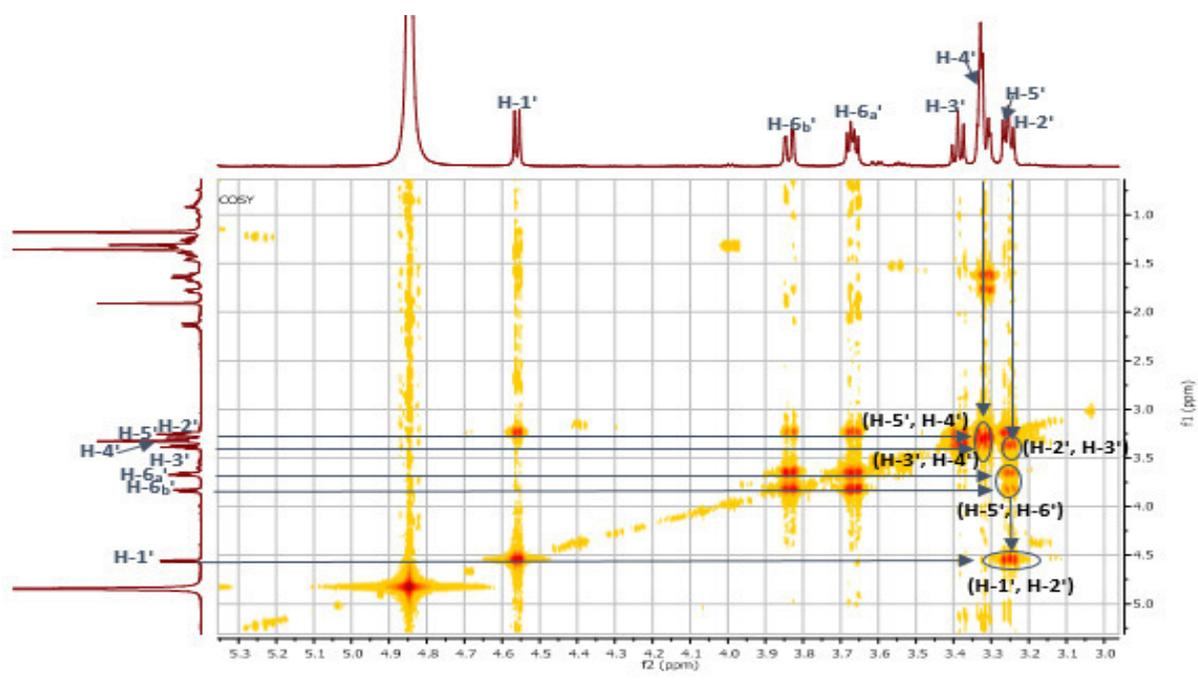
Spectre 5-1a : Spectre RMN ^{13}C (CD_3OD , 150 MHz, δppm) du composé 6, étalement



Spectre 5-2a : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 600 MHz, δppm) du composé 6, étalement



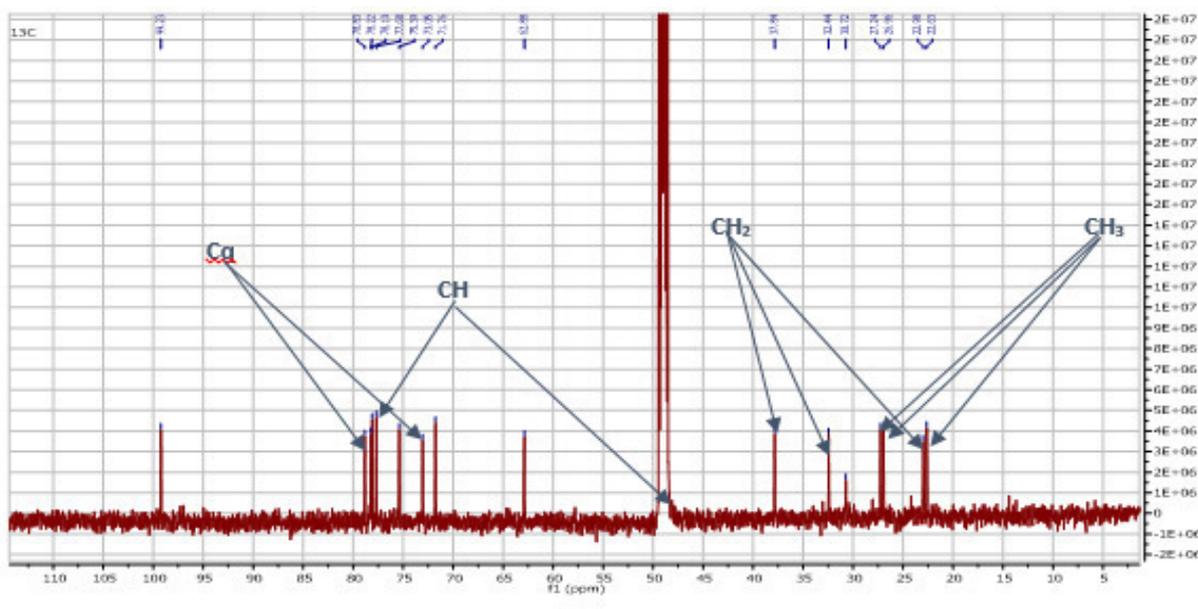
Spectre 5-3a : Spectre HSQC (CD3OD, 600MHz, δ ppm) du composé 6, étalement



Spectre 5-4a : Spectre COSY (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 6, étalement

En faisant abstraction des signaux de la partie osidique, l'examen simultané des spectres RMN¹H, RMN¹³C (spectre 5-1b), HSQC révèle la présence de 10 atomes de carbone soit un squelette monoterpénique, que nous pouvons répartir comme suit :

- ✓ Deux CH, l'un à δ_H 77,68 ppm et l'autre à 47,42 ppm (recouvert par le signal du MeOH-d₄).
- ✓ Trois CH₂ à δ_H 22,98 ppm, δ_H 32,44 ppm et δ_H 37,84 ppm.
- ✓ Trois CH₃ à δ_H 22,63 ppm, δ_H 26,96 ppm et δ_H 27,24 ppm.
- ✓ Deux carbones quaternaires à δ_H 78,83 ppm et δ_H 73,05 ppm.



Spectre 5-1b : Spectre RMN 13C (CD3OD, 150 MHz, δ ppm) du composé 6

Le spectre relatif à l'expérience HMBC (spectre 5-5) montre une tache de corrélation entre le proton anomérique H-1' et un méthyne résonant à δ_H 77,68 ppm (δ_H 3,31 ppm, partiellement recouvert par le signal du MeOH-d₄), ce qui impose la substitution de la génine par le groupement glucosyle en cette position.

Ce méthyne montre également deux taches de corrélation avec deux protons d'un méthylène à δ_H 1,76 ppm (*dl*, $J = 11,4$ Hz) et δ_H 1,65 ppm (*m*) sur le spectre COSY, et une tache de corrélation sur le spectre HMBC avec un carbone quaternaire à δ_C 78,83 ppm que l'on peut attribuer à la position C-1. Ces connectivités permettent de placer le méthyne et le méthylène précédemment évoqués aux positions C-2 et C-3 respectivement, par rapport au C-1. La valeur du déplacement chimique de C-1 indique qu'il est hydroxylé. Encore une fois sur le spectre HMBC, le C-1 montre d'autres taches de corrélation, l'un avec les protons d'un groupement CH₃ résonant sous

forme un singulet à 1,36 ppm que l'on peut attribuer à la position H-7, et l'autre avec deux proton d'un système AB d'un groupement CH₂ hybridé sp³ résonant à δ_H 1,28 ppm (*td*, $J=4,2$; 11,4 Hz) et δ_H 2,14ppm (*dt*, $J=3,0$; 14,2Hz) que l'on peut attribuer à la position H-6.(Figure 42-1)

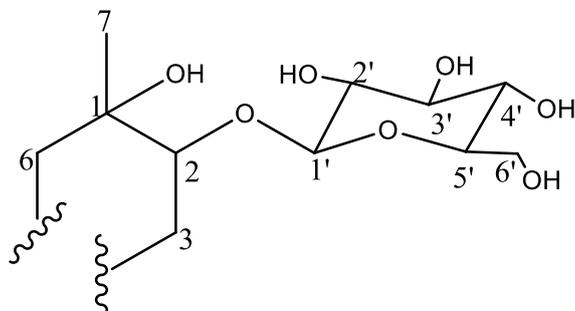


Figure 42-1 : Structure partielle 1 du composé 6.

Le spectre relatif à l'expérience COSY permet de tirer les indications suivantes :

- les H₂-3 corrélient avec un proton d'un groupement CH hybridé sp³ résonant sous forme d'un doublet de triplets à δ_H 1,41 ppm ($J=2,8$; 12,4 Hz) que l'on peut attribuer à la position H-4.
- le H-4 montre des taches de corrélation avec deux protons d'un groupement CH₂ hybridé sp³ résonant, l'un sous forme d'un doublet large à δ_H 1,47 ($J=12,6$ Hz), et l'autre sous forme d'un multiplet à δ_H 1,70 ppm, ces corrélations permettent de placer ce groupement CH₂ à la position C-5.
- Une corrélation entre les protons H₂-5 et deux proton d'un système AB d'un groupement CH₂ de la position C-6 précédemment signalée.

Ces connectivités permettent à ce stade de déduire que le squelette de la génine de cette molécule est de type monoterpène cyclique (Figure 42-1).

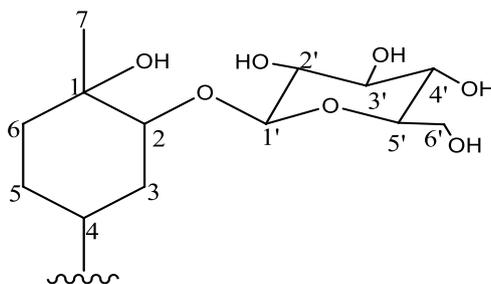


Figure 42-2 : Structure partielle 2 du composé 6.

Sur le spectre HMBC, le proton H-4 montre une tache de corrélation avec un carbone quaternaire hydroxylé à 73,05 ppm. Ce carbone est attribué à la position C-8. Toujours sur le même spectre, une tache de corrélation observée entre le C-8 et deux groupements méthyles résonants sous forme d'un singulet à δ_H 1,31 ppm, que nous pouvons attribuer aux positions C-9 et C-10. Cette observation permet de localiser ces deux méthyles sur le carbone C-8.

A ce stade de notre analyse, nous pouvons suggérer que la structure plane du l'aglycone est celle du *p*-menthane-1,2,8-triol.

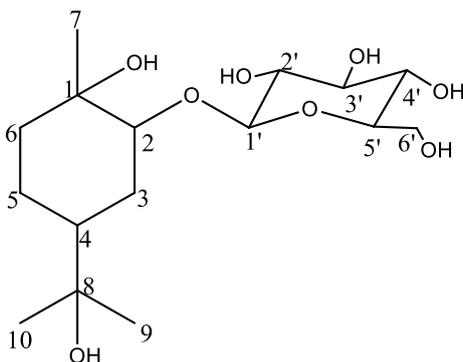
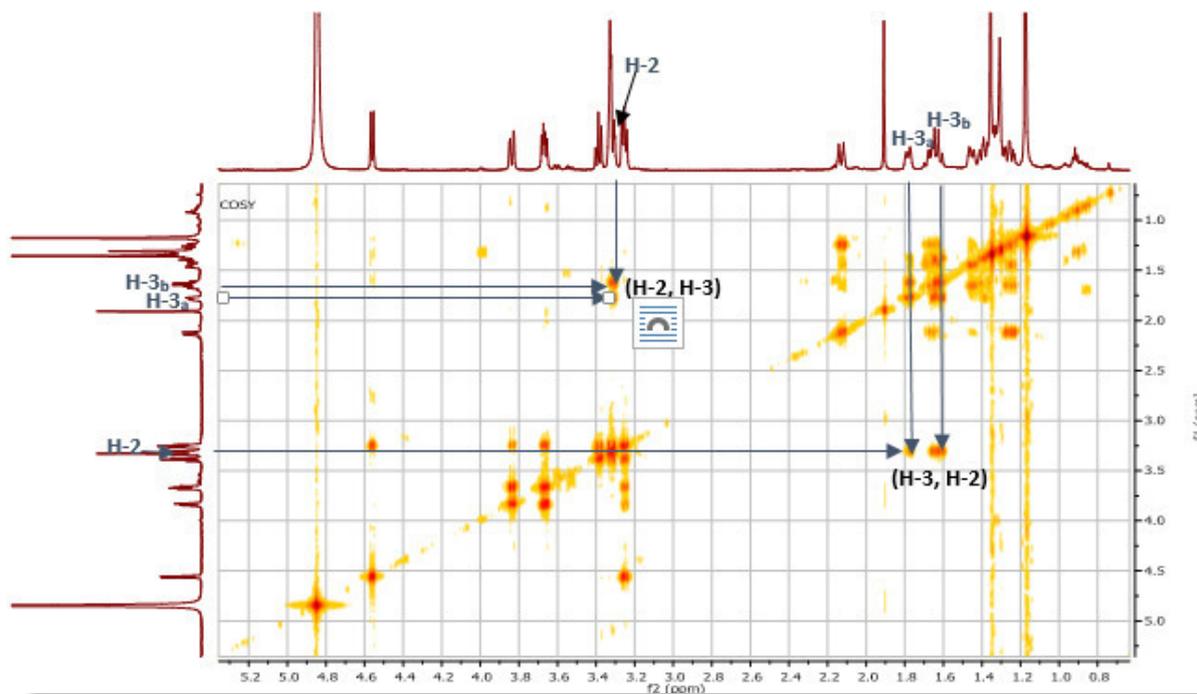
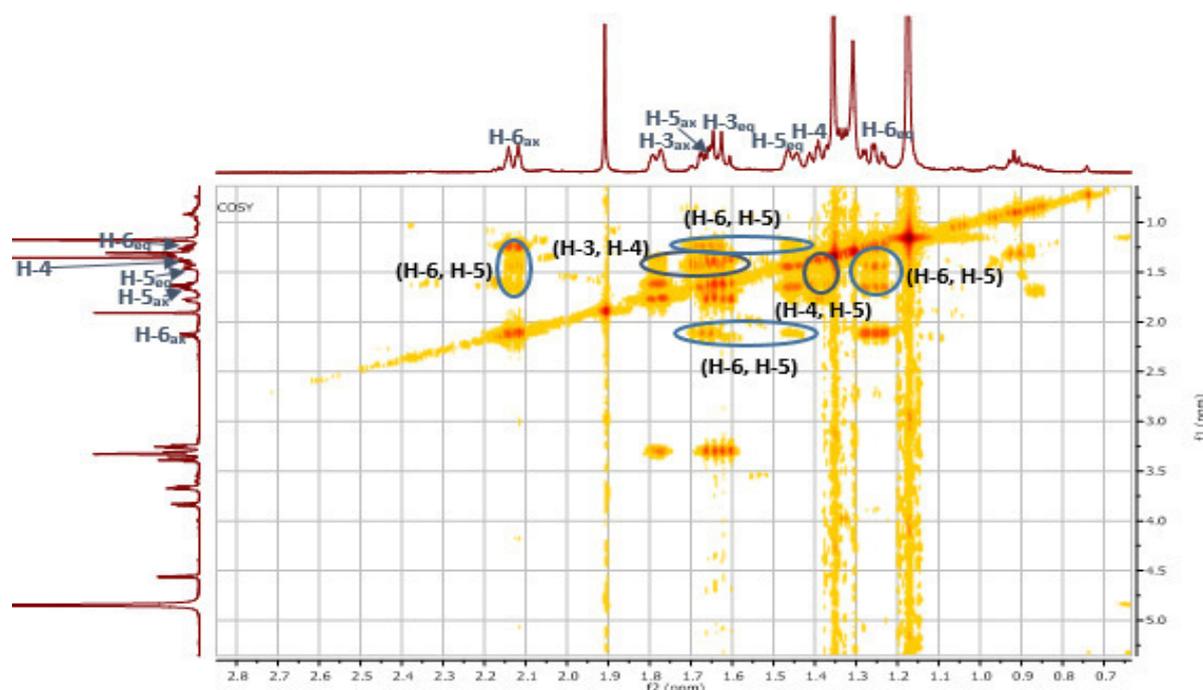


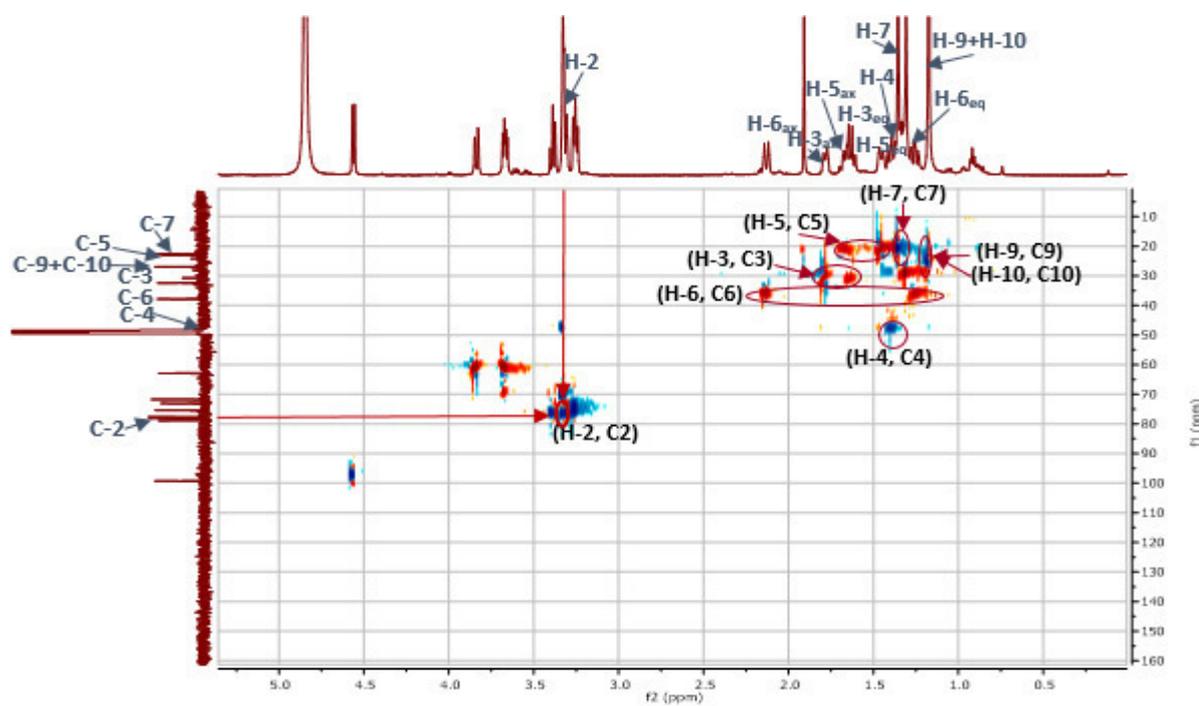
Figure 42-3 : Structure plane du composé 6, *p*-menthane-1,2,8-triol 2-O- β -D-glucopyranoside



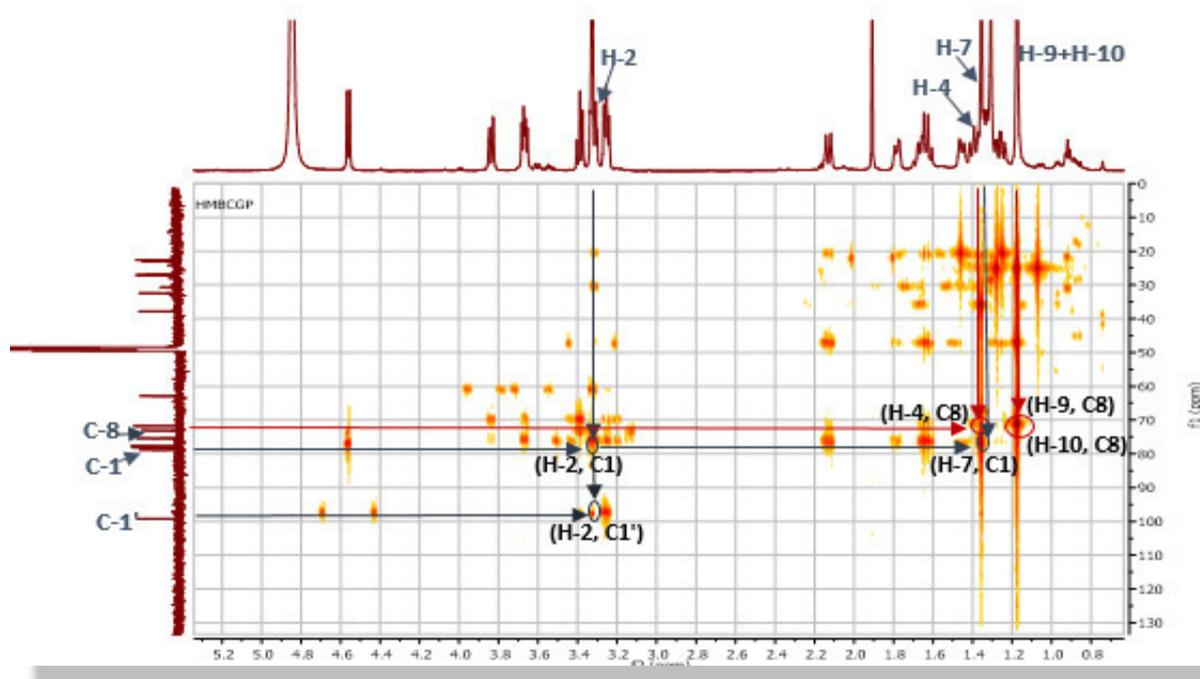
Spectre 5-4b : Spectre COSY (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 6.



Spectre 5-4c : Spectre COSY (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 6, étalement



Spectre 5-3b : Spectre HSQC (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 6, étalement



Spctre 5-5 : Spectre HMBC (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 6, étalement

La stéréochimie de ce composé est déduite de la comparaison avec les données de la littérature [8]. La conformation du cyclohexane devrait être une forme de chaise et les orientations des groupements C-7 et C-8 en β et α respectivement. La position α -équatoriale de H-2 a été déduite de la valeur de la constante de couplage observée pour ce proton (*dl*, $J = 3,0$ Hz) qui signifie des interactions équatoriale/équatoriale et équatoriale/axiale entre H-2 et H₂-3 ; celle de la position H-4 est β -axiale grâce aux valeurs des constantes de couplage qui indiquent des interactions axiale/axiale et axiale/équatoriale entre H-4/ H₂-3 et H-4/H₂-5.

L'ensemble de ces données est en parfait accord avec la structure reportée dans la Figure 42-4 soit (1*S*,2*S*,4*R*)-*p*-menthane-1,2,8-triol 2-O- β -D-glucopyranoside [8]. Cette molécule est isolée pour la première fois chez les Zygophyllaceae.

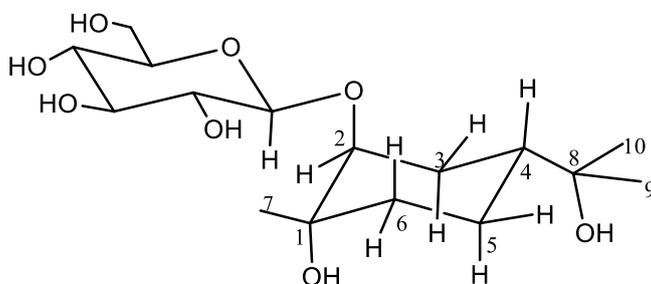
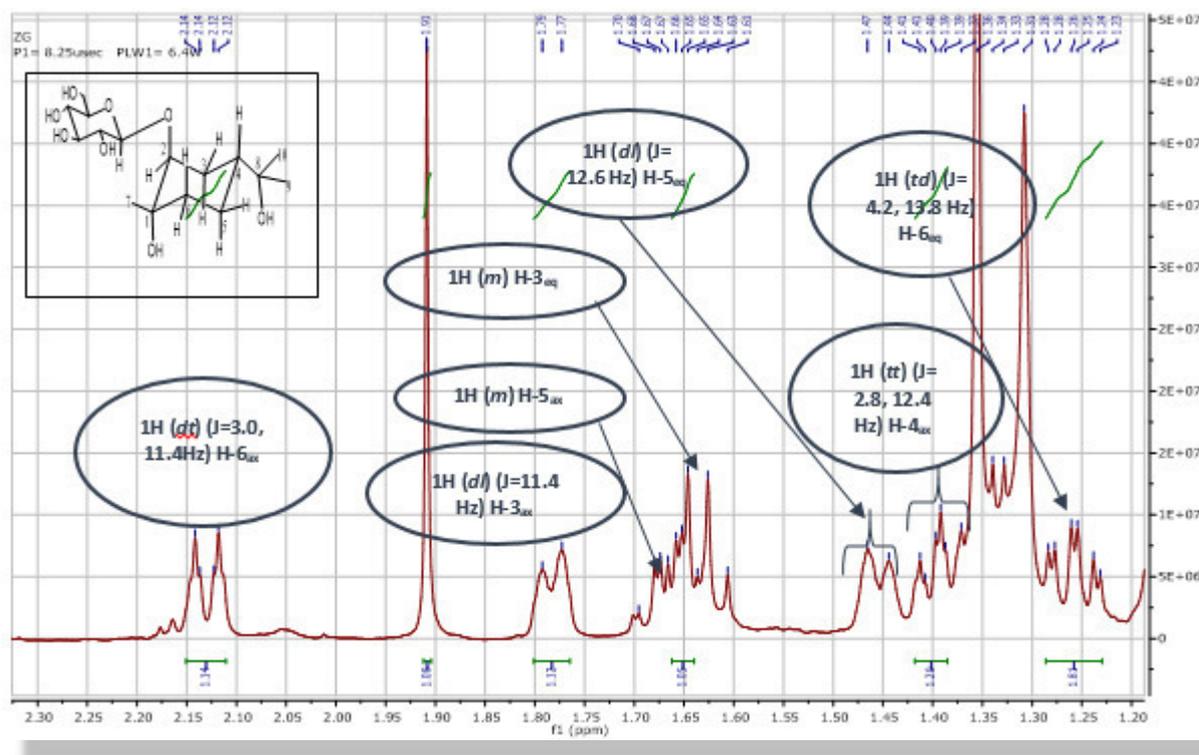
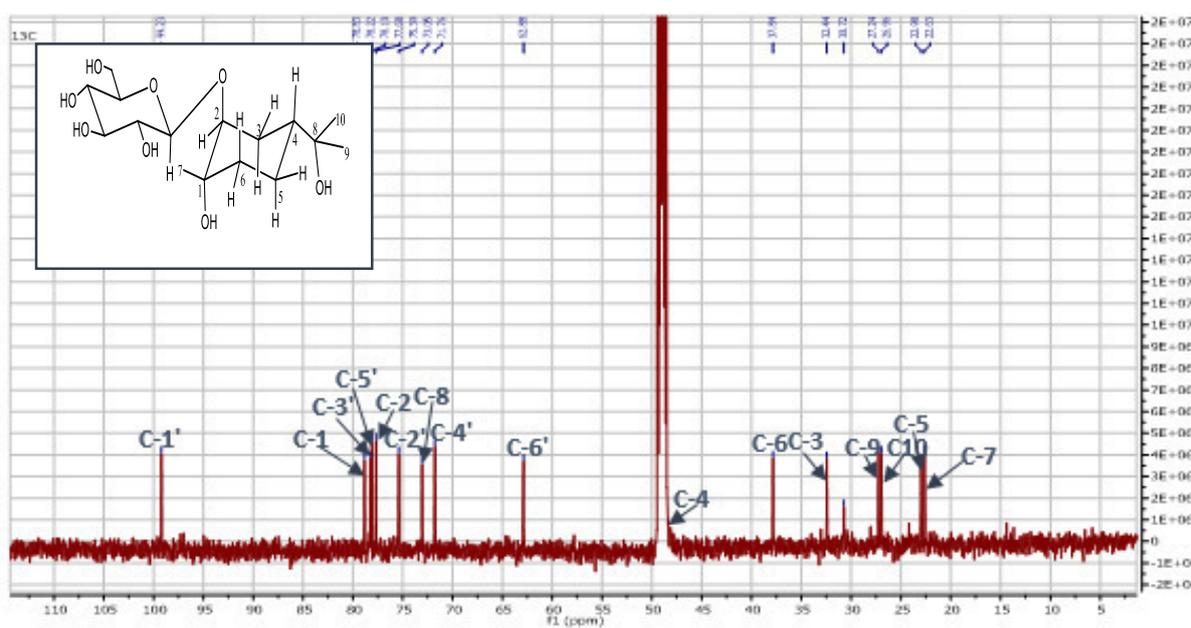


Figure 42-4 : Structure du composé 6, (1*S*,2*S*,4*R*)-*p*-menthane-1,2,8-triol 2-O- β -D-glucopyranoside.

L'ensemble des données des résultats de spectroscopie de résonance magnétique nucléaire est reportée dans le Tableau 27 et les spectres (5-2b) et (5-1c).



Spectre 5-2b : Spectre RMN ^1H (CD $_3$ OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 6
, étalement



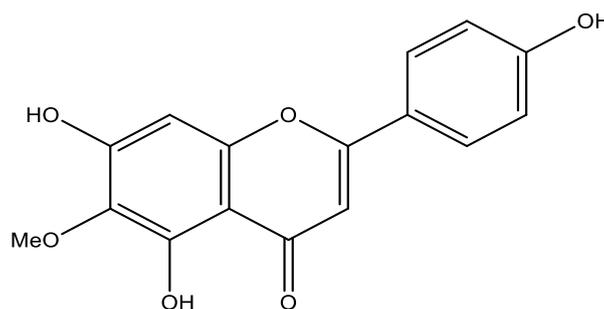
Spectre 5-1c : Spectre RMN ^{13}C (CD $_3$ OD, 150 MHz, δ ppm) du composé 6

Tableau 27 : Les données des résultats de spectroscopie résonance magnétique nucléaire du composé 6

La position	δ_H (ppm)	J (Hz)	δ_C (ppm)
1	-	-	78,83
2 _{eq}	3,30	<i>dl</i> (3,0)	77,86
3 _{ax}	1,78	<i>dl</i> (11,4)	32,44
3 _{eq}	1,65	<i>m</i>	
4 _{ax}	1,41	<i>dt</i> (2,8 ; 12,4)	47,42*
5 _{ax}	1,68	<i>m</i>	22,98
5 _{eq}	1,47	<i>dl</i> (12,6)	
6 _{ax}	2,14	<i>dt</i> (3,0 ; 14,2)	37,84
6 _{eq}	1,28	<i>td</i> (4,2 ; 11,4)	
7	1,36	<i>s</i>	22,63
8	-	-	73,05
9	1,17	<i>s</i>	27,24
10	1,17	<i>s</i>	26,96
1'	4,47	<i>d</i> (7,6)	99,23
2'	3,26	<i>m</i>	75,93
3'	3,39	<i>t</i> (8,9)	78,22
4'	3,34*	-	71,76
5'	3,36	<i>m</i>	78,10
6'	3,85	<i>dd</i> (11,7 ; 2,2)	62,88
	3,68	<i>dd</i> (11,7 ; 9,0)	

* : Recouvert par le signal du MeOH-d4

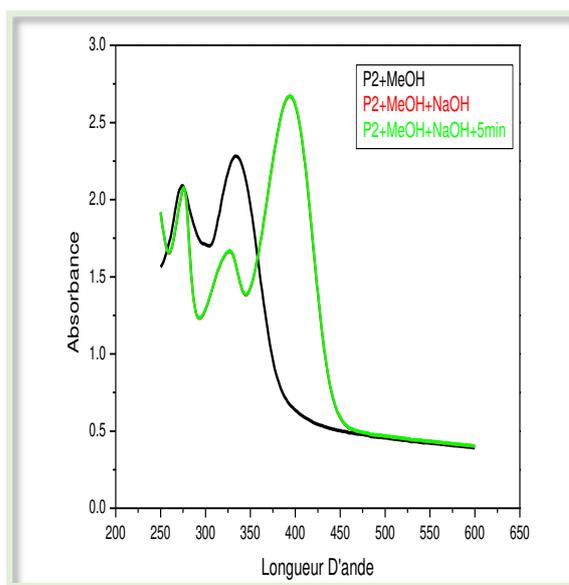
I.6.Elucidation structurale du composé 7



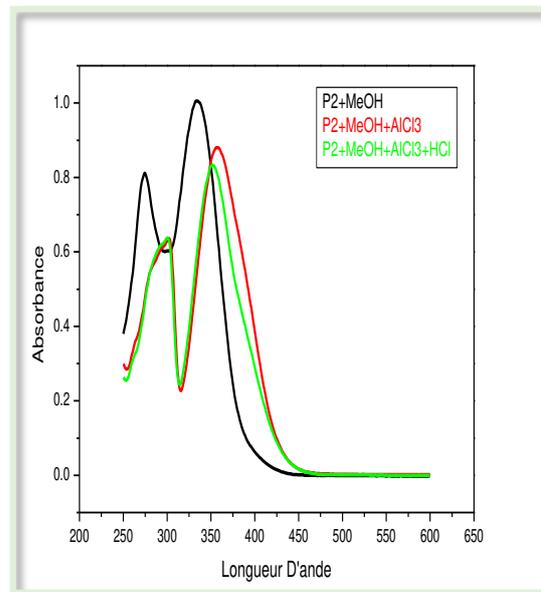
La fluorescence noir-violette de ce composé sous lumière de Wood ainsi que la valeur de la longueur d'onde d'absorption maximale de la bande I dans son spectre d'absorption ultraviolette enregistré dans le méthanol, apparaît à 334 nm, orientant bien vers la structure d'un flavonoïde de type flavone.

L'examen simultané de spectre RMN proton et la série spectral UV montre :

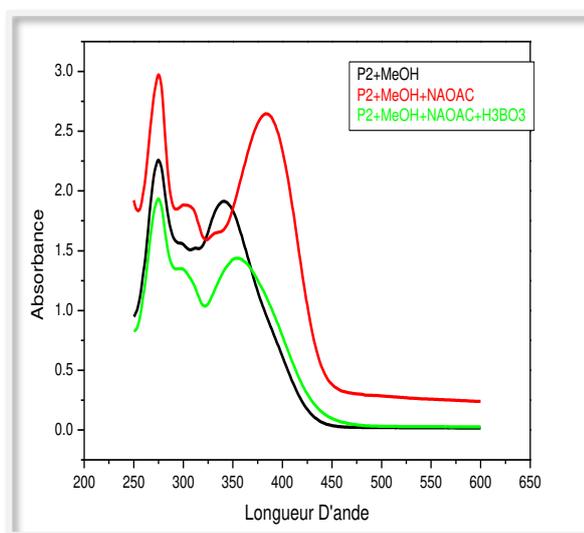
- ✓ Une bi-substitution du noyau B déduite de la présence de deux doublets d'intégration 2H chacun à δ_H 7,91 ppm ($J= 8,4$ Hz) et δ_H 6,92 ppm ($J= 8,2$ Hz) attribuables aux protons H-2', H-6' pour le premier doublet et H-3', H-5' pour le deuxième doublet. Par ailleurs, un effet bathochrome de la bande I dans le spectre d'absorption ultraviolette enregistré en présence de NaOH (Spectre 6-1a) comparativement à celui enregistré dans le MeOH ($\Delta\lambda= +60$ nm) avec augmentation de l'intensité, révèle la présence d'un OH libre en position 4'.
- ✓ Une tri-substitution de noyau A aux positions C-5, C-6 et C-7 grâce à :
 - L'apparition d'une nouvelle bande à 325 nm dans le spectre d'absorption ultraviolette enregistré en présence de NaOH (Spectre 6-1a) comparativement à celui enregistré dans le MeOH, indique la présence d'un OH libre en position 7.
 - Le spectre d'absorption ultraviolette enregistré en présence de $AlCl_3$ (Spectre 6-1b) comparativement à celui enregistré dans le MeOH, montre un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda= +23$ nm), ainsi que l'addition du HCl sur $AlCl_3$, provoque un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +18$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH. Ces données orientent bien vers la présence d'un OH libre en position 5 avec une oxygénation en position 6. Ceci est appuyé par le fait que l'on observe sur le spectre proton qui montre, un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à δ_H 13,3 ppm que l'on ne peut attribuer qu'au proton d'un OH en position 5 (OH-5) ; deux singulets à $\delta_H= 6,76$ ppm et 6,59 ppm attribuable à H-3 et H-8 respectivement.
- ✓ La présence d'un singulet d'intégration 3H à δ_H 3,75 ppm, attribuable aux protons d'un groupement méthoxyle additionnée aux données précédentes, indiquent que ce groupement méthoxyle est porté par le carbone C-6.



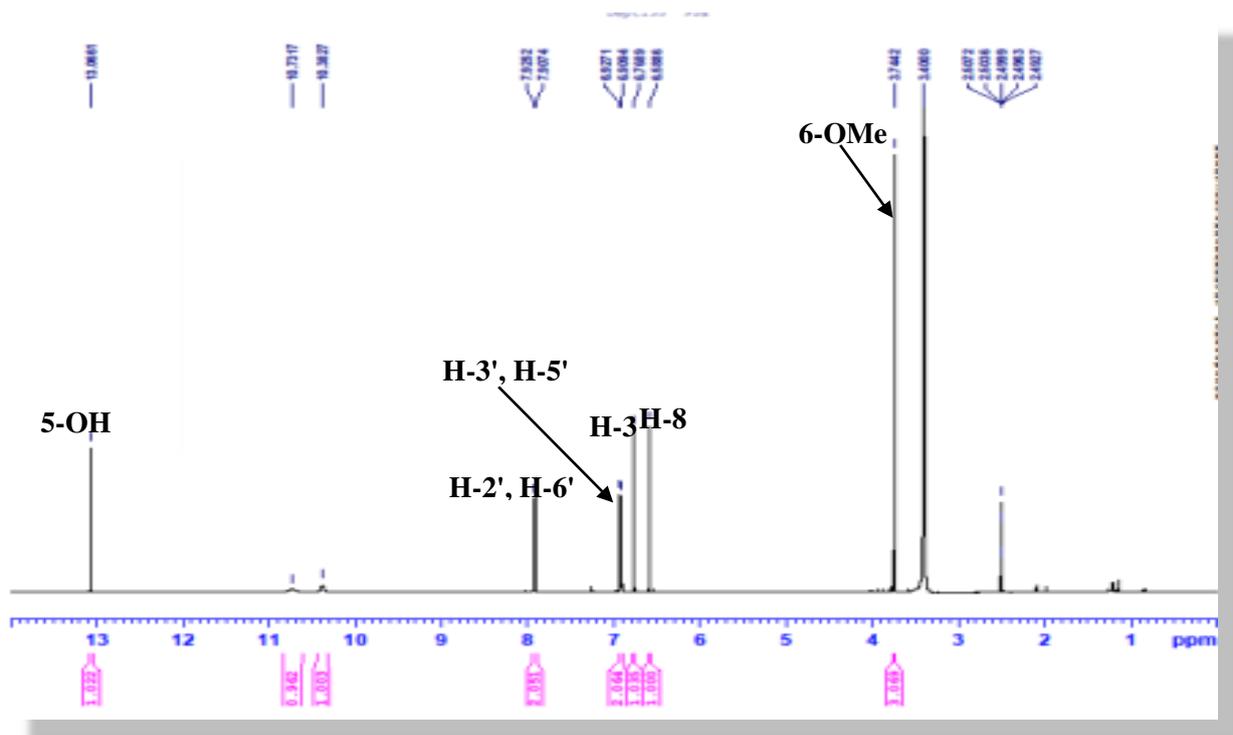
Spectre 6-1a : Spectre d'absorption UV-Visible MeOH (+NaOH) du composé 7.



Spectre 6-1b : Spectre d'absorption UV-Visible MeOH (+AlCl₃ et AlCl₃+HCl) du composé 7.



Spectre 6-1c : Spectre d'absorption UV-Visible MeOH (+NaOAc et NaOAc+H₃BO₃) du composé 7.



Spectre 6-2 : Spectre ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz, δ ppm) du composé 7.

L'ensemble des données de la RMN ^1H et ceux de l'absorption ultraviolette rapportées dans le Tableau 28-1 et Tableau 28-2, mène à la structure de 4',5,7'-trihydroxy-6-méthoxyflavone, connu sous le nom hispiduline (Figure 43). Ce composé est un flavone naturel, antérieurement isolé de plusieurs plantes telles que les espèces *Grindelia argentine*, *Arrabidaea chica*, *Saussurea involucre*, *Crossostephium chinense*, *Artemisia* et *Salvia*, il est connu pour ses activités antioxydantes, antifongiques, anti-inflammatoires, antimutagènes et antinéoplasiques[9,10], antiasthmatique, antimicrobienne, antiproliférative [11].

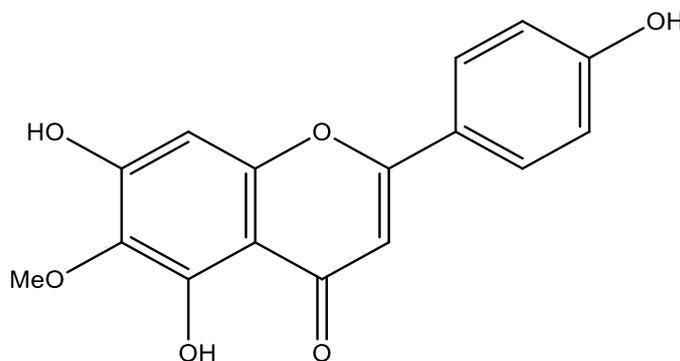


Figure 43 : la structure du composé 7, Hispiduline.

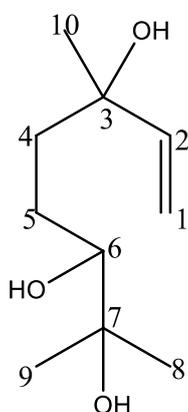
Tableau 28-1 : Les données RMN ^1H du composé 7

Déplacement chimiques (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
13,3	1H	s	OH-5
7,91	2H	<i>d</i> (8,4)	H-2', H-6'
6,92	2H	<i>d</i> (8,2)	H-3', H-5'
6,76	1H	s	H-3
6,59	1H	s	H-8
3,74	3H	s	O-CH ₃ -C-6

Tableau 28-2 : Les données de la série spectrale UV-Visible du composé 7

Réactifs	Bande I (nm)	Bande II (nm)	Nouvelle bande	Commentaire
MeOH	334	273		Flavone
NaOH	394	273	325	OH libre en 4' OH libre en 7
NaOH+5min				
AlCl ₃	357	301		OH libre en 5
AlCl ₃ +HCl	352	301		OH libre en 5 OR en 6
NaOAc	384	273		
NaOAc+H ₃ BO ₃	346	273		

I.7. Elucidation structurale du composé 8

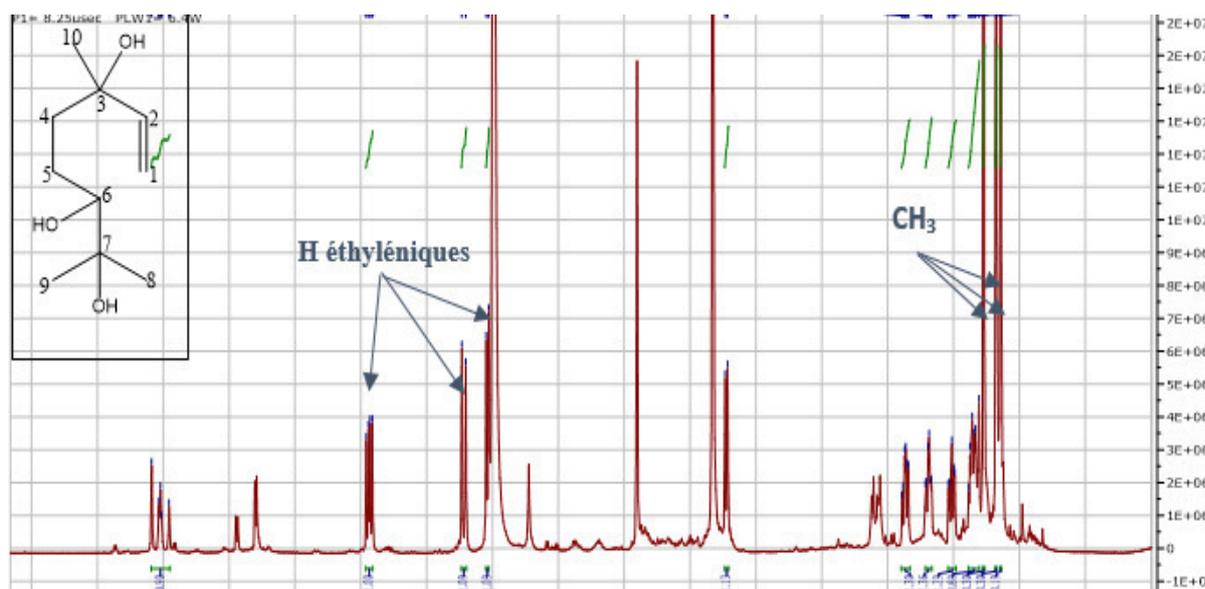


La similitude des données spectroscopique de résonance magnétique nucléaire du composé 8 avec celles des composés 5 et 6), indique que ce composé a un squelette de type monoterpénique. On observe en effet :

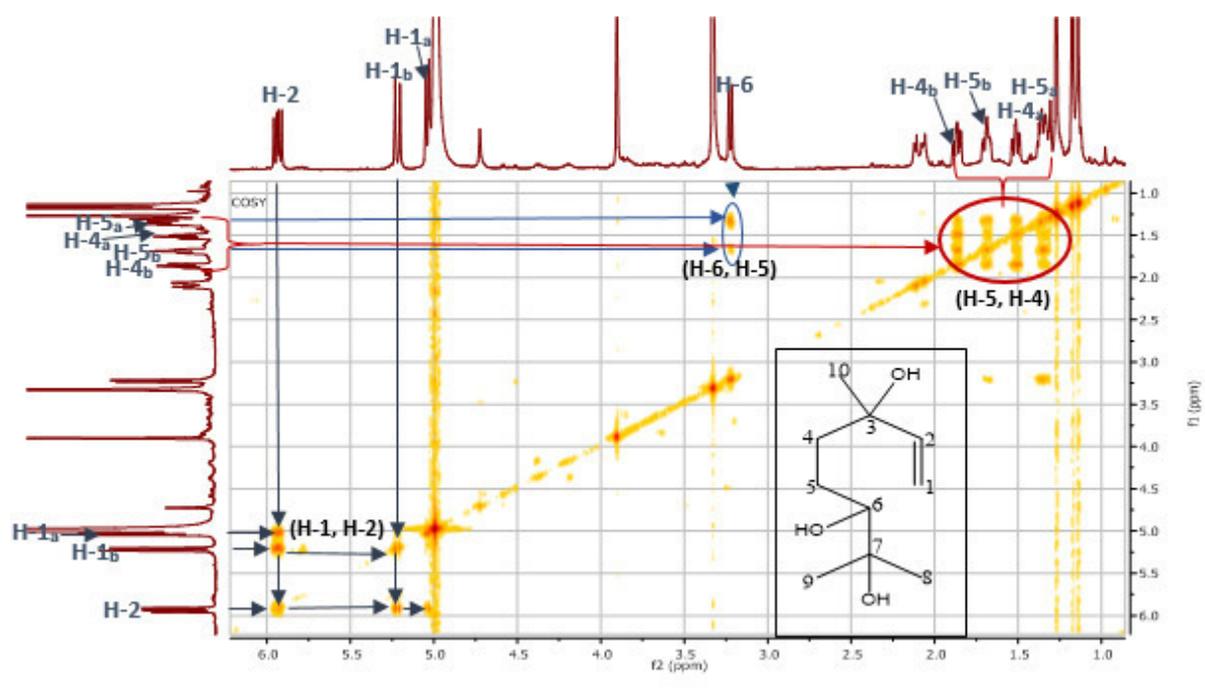
- ✓ Un signal sous forme de deux doublets, résonant à δ_{H} 5,23 ppm ($J = 17,4 \text{ Hz}$) et δ_{H} 5,04 ppm ($J = 10,8 \text{ Hz}$) que l'on peut attribuer à la position H-1 (δ_{C} 112,23 ppm). Ces déplacements chimiques élevés permettent de déduire que cette position (C-1) est occupée par un CH₂ hybridé Sp², donc révélant a priori la présence d'une double liaison

entre les carbones C-1 et C-2. Par ailleurs, les corrélations sur le spectre COSY entre les protons H-1_a et H-1_b et un proton oléfinique d'un groupement CH résonant sous forme d'un doublet de doublets à δ_H 5,94 ppm ($J = 10,8 ; 17,4$ Hz ; δ_C 146,86 ppm), indiquent que la position 2 est occupée par ce groupement CH. La multiplicité de ce dernier révélant que la position 3 étant occupée par un carbone quaternaire. Ce carbone apparaît à δ_C 74,14 ppm grâce à sa corrélation avec H-2, H-1_a et H-1_b sur le spectre relatif à l'expérience HMBC, ainsi que la valeur de son déplacement chimique indique qu'il est hydroxylé. Sur le même spectre HMBC le C-3 montre une tache de corrélation avec un méthyle résonant sous forme d'un singulet à δ_H 1,27 ppm (δ_C 27,73 ppm) que nous pouvons numéroter C-10.

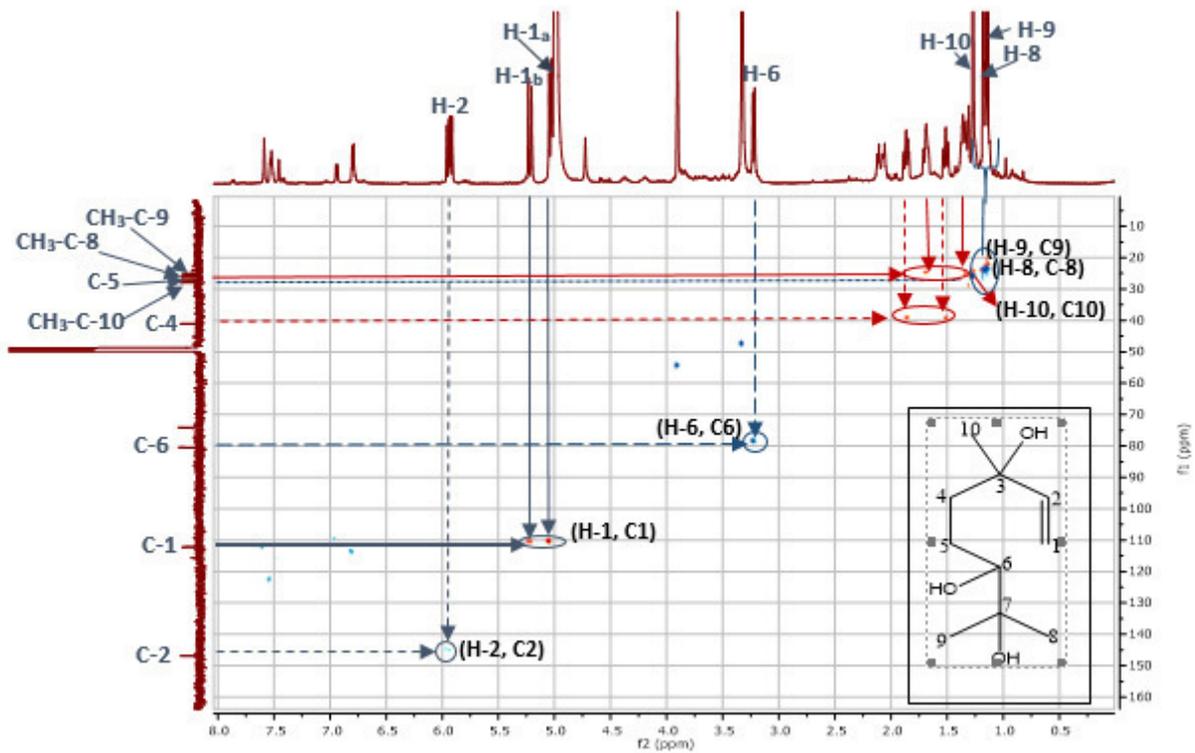
- ✓ Un signal sous forme de deux triplets de doublets attribuable aux protons d'un groupement CH₂ hybridé Sp³, résonant l'un à 1,89 ppm ($J = 4,8, 13,2$ Hz) et l'autre à 1,54 ppm ($J = 4,2, 13,2$ Hz), montre une corrélation sur le spectre HMBC avec le carbone C-3, ceci permet de placer ce groupement CH₂ à la position C-4.
- ✓ Un signal caractéristique de deux protons d'un méthylène apparaissant à δ_H 1,37 ppm (m) et δ_H 1,71 ppm (ddd, $J = 3,0 ; 4,2 ; 12,0$ Hz), sont attribués à H-5_a et H-5_b grâce à ses corrélations sur le spectre COSY avec les protons H-4_a et H-4_b.
- ✓ Un signal d'intégration 1H sous forme d'un doublet large à δ_H 3,23 ppm ($J = 10,8$ Hz), correspondant à un proton d'un groupement CH hybridé sp³, corrélant sur le spectre COSY avec H₂-5. Ce proton est attribué au carbone de la position C-6. Les déplacements chimiques de ce groupement CH indique qu'il est hydroxylé. Sa multiplicité permet de déduire que la position 7 est occupée par un carbone quaternaire. Ce raisonnement est appuyé par la corrélation de H-6 avec un carbone quaternaire à δ_C 74,14 ppm sur le spectre HMBC. Ce carbone C-7 est hydroxylé selon la valeur de son déplacement chimique.
- ✓ Deux signaux d'intégration 3H chacun sous forme de deux singulets l'un à δ_H 1,18 ppm et l'autre à δ_H 1,14 ppm, montrent la présence de deux groupements CH₃, que nous pouvons attribuer aux positions C-8 et C-9 respectivement en raison des corrélations HMBC entre les protons H₃-8, H₃-9 avec le carbone C-7.



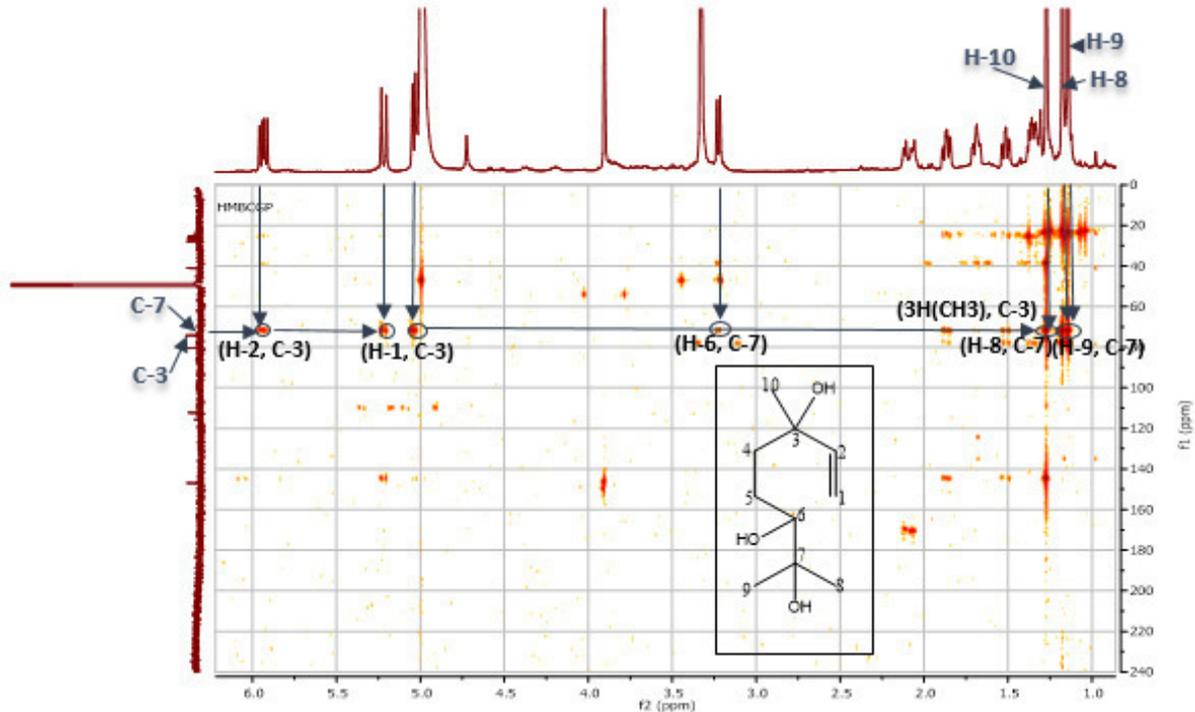
Spectre 7-1a : Spectre RMN ^1H (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 8



Spectre 7-2 : Spectre COSY (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 8.



Spectre 7-3 : Spectre HSQC (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 8.



Spectre 7-4 : Spectre HMBC (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 8.

La comparaison des données relatives des spectres de RMN (Tableau 29, spectre 7-1b et 7-5) de ce composé à celles reportées dans la littérature pour 3,7-dimethyloct-1-ene-3,6,7-triol (Figure 44), montre une parfaite similarité [12]. Ce monoterpène de type linalool a été rapporté pour la première fois chez les Zygophyllaceae.

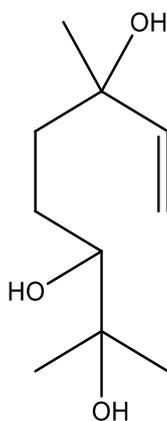
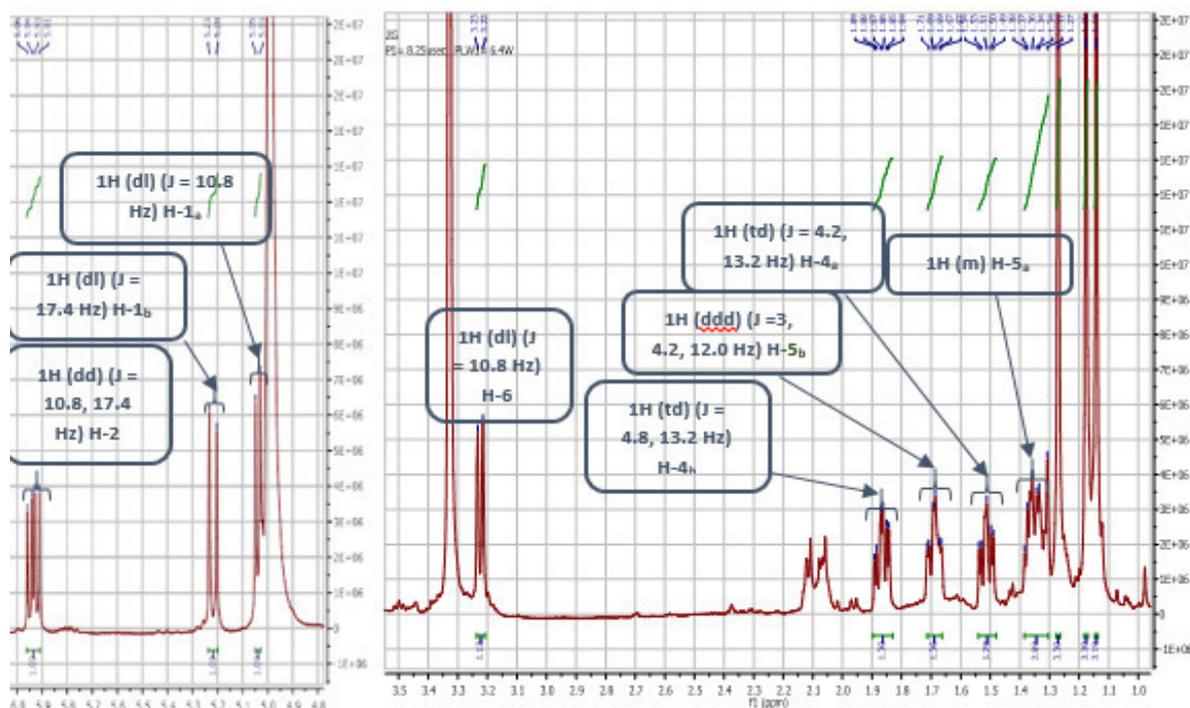
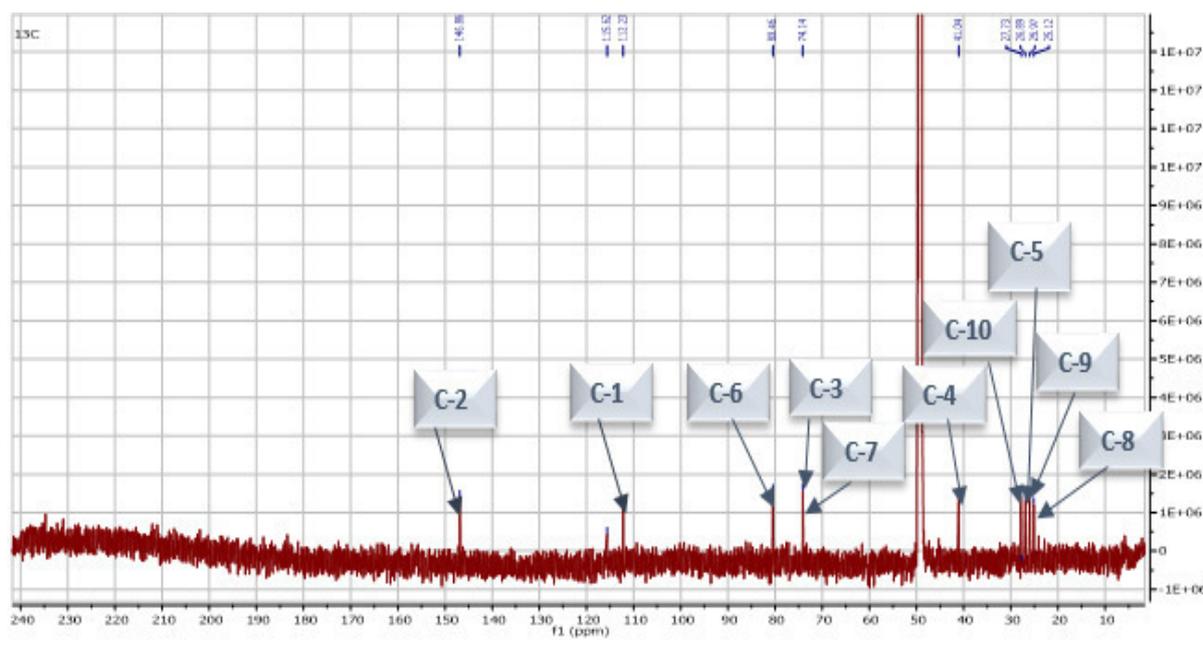


Figure 44 : structure du composé 8 ; 3,7-dimethyloct-1-ene-3,6,7-triol.



Spectre 7-1b : Spectre RMN ^1H (CD $_3$ OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 8

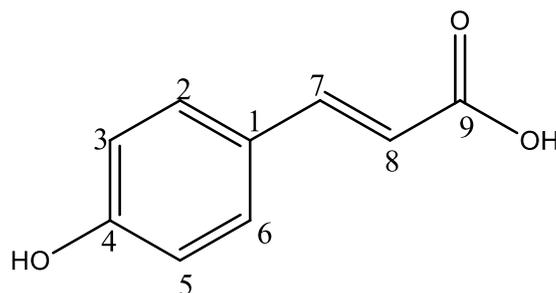


Spectre 7-5 : Spectre RMN ^{13}C (CD_3OD , 150 MHz, δppm) du composé 8.

Tableau 29 : Les données relatives aux spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé 8

La position	δ_{H} (ppm)	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	5,04	<i>d</i> (17,4)	112,23
	5,23	<i>d</i> (10,8)	
2	5,94	<i>dd</i> (10,8 ; 17,4)	146,86
3	-	-	74,14
4	1,89	<i>td</i> (4,8 ; 13,2)	41,04
	1,54	<i>td</i> (4,2 ; 13,2)	
5	1,71	<i>ddd</i> (3; 4,2 ; 12,0)	26,89
	1,37	<i>m</i>	
	3,23	<i>dl</i> (10,8)	
7	-	-	74,14
8	1,18	<i>s</i>	25,12
9	1,14	<i>s</i>	25,97
10	1,27	<i>s</i>	27,73

I.8. Elucidation structurale du composé 9



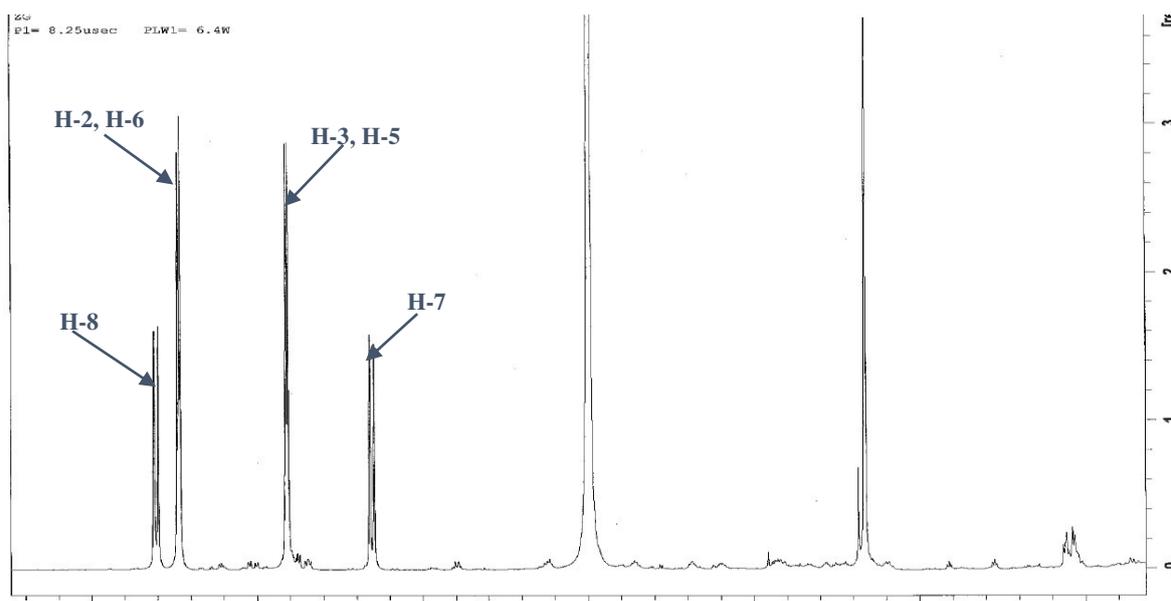
Les données résultant de l'analyse des spectres de RMN¹H (spectre 8-1), RMN ¹³C (spectre 8-2), (Tableau 30) de ce composé, sont en parfait accord avec celles reportées dans la littérature pour l'acide *p*-coumarique [13].

Le spectre RMN du proton fait apparaître deux signaux aromatiques sous forme d'un doublet d'intégration 2H chacun à δ_{H} 6,81ppm ($J= 8,7 \text{ Hz}$) et 7,43 ppm ($J= 8,7\text{Hz}$), suggérant la présence d'un cycle benzénique para-substitué. De plus, on peut aussi noter la présence de deux doublets d'intégration 1H chacun à δ_{H} 6,45 ppm ($J= 15,9 \text{ Hz}$) et 7,61 ppm ($J= 15,9 \text{ Hz}$) caractéristique deux protons éthyléniques.

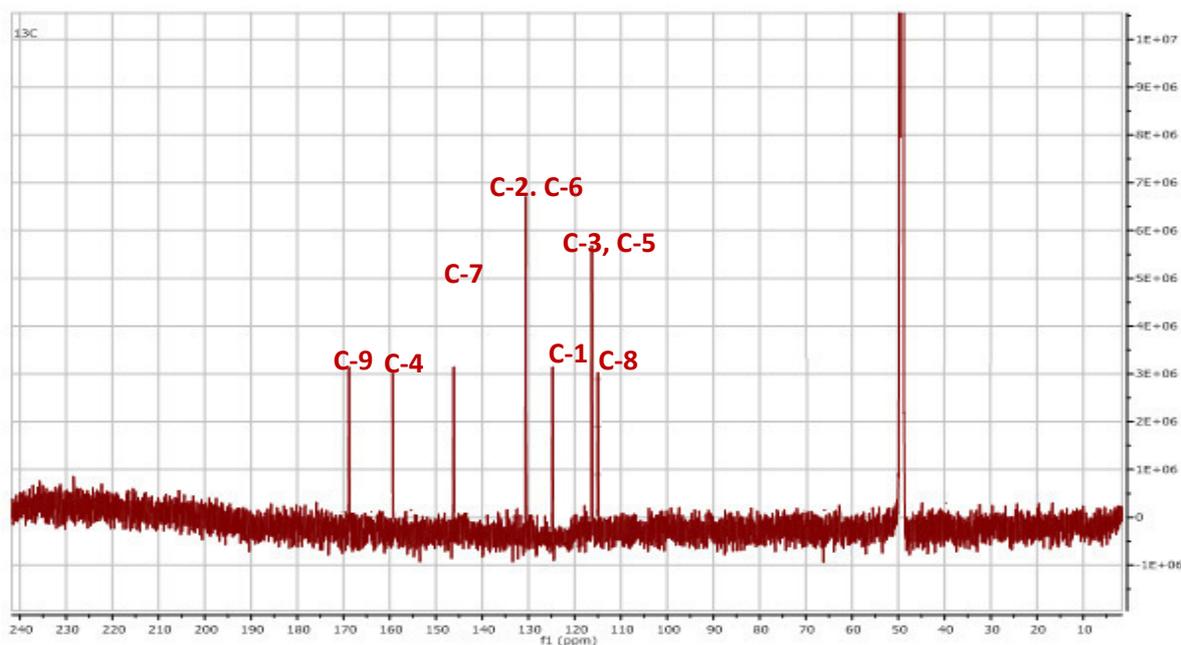
Dans le spectre RMN ¹³C, on distingue aisément les signaux relatifs au cycle benzénique, notamment :

- Deux signaux correspondants aux quatre méthynes, l'un résonant à δ_{C} 131,0 attribuable aux positions C-2, C-6, et l'autre à 117,2 ppm attribuable aux positions C-3, C-5.
- Deux signaux relatifs aux deux carbones quaternaires, l'un situant à 125,91 ppm, et l'autre est hydroxylé à 159,95 ppm.

Les carbones oléfiniques sont localisés à 114,5 ppm et 146,1 ppm. On peut aussi noter la présence d'un groupement COOH qui apparait à 169,1ppm.



Spectre 8-1 : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 600 MHz, δppm) du composé 9

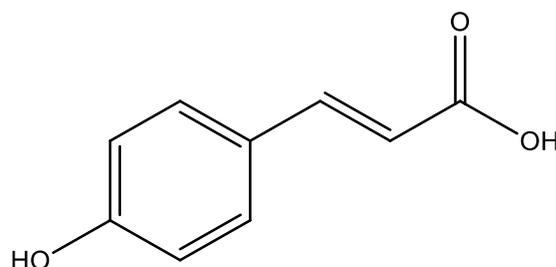


Spectre 8-1 : Spectre RMN ^{13}C (CD_3OD , 150 MHz, δppm) du composé 9

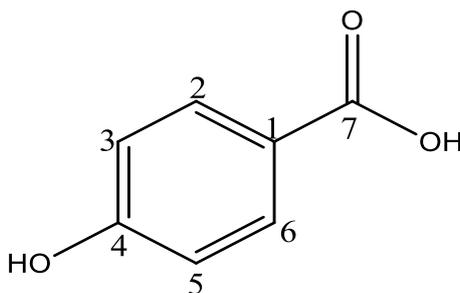
Tableau 30 : Les données relatives aux spectres de RMN ^1H et ^{13}C du composé 9

La position	δ_{H} (ppm)	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-	125,91
2,6	7,43	d (8,7)	131,0
3,5	6,81	d (8,7)	117,20
4	-	-	159,95
7	7,61	d (15,9)	146,10
8	6,45	d (15,9)	114,50
9	-	-	169,10

Ce composé est donc l'acide *p*-coumarique (Figure 45), également connu sous le nom acide parahydroxycinnamique. Il est décrit pour la première fois dans le genre *Fagonia*. Par ailleurs l'acide *p*-coumarique est douée d'activités antioxydante [14], antidiabétique et antihyperlipidémique [15].

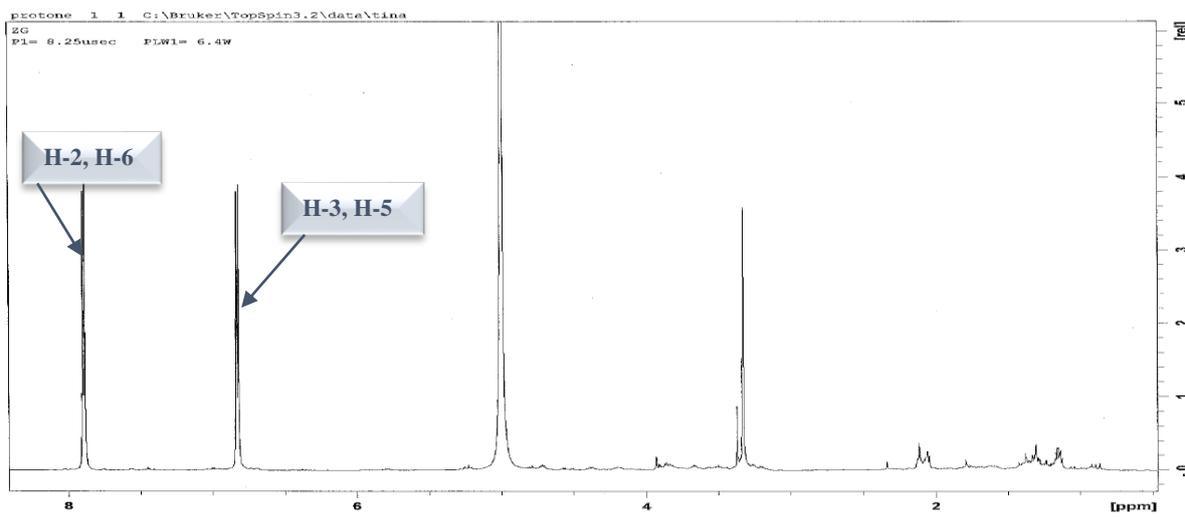
**Figure 45** : la structure du composé 9, acide *p*-coumarique

I.9.Elucidation structurale du composé 10



L'examen du spectre RMN ^1H (spectre 9-1), montre qu'il s'agit d'un composé aromatique dont le cycle benzénique para substitué est caractérisé par:

- Un doublet d'intégration 2H à δ_{H} 7,91 ppm ($J=8,7\text{Hz}$), attribuable aux positions H-2, H-6.
- Un doublet d'intégration 2H à δ_{H} 6,80 ppm ($J=8,7\text{Hz}$), attribuable aux positions H-3, H-5.

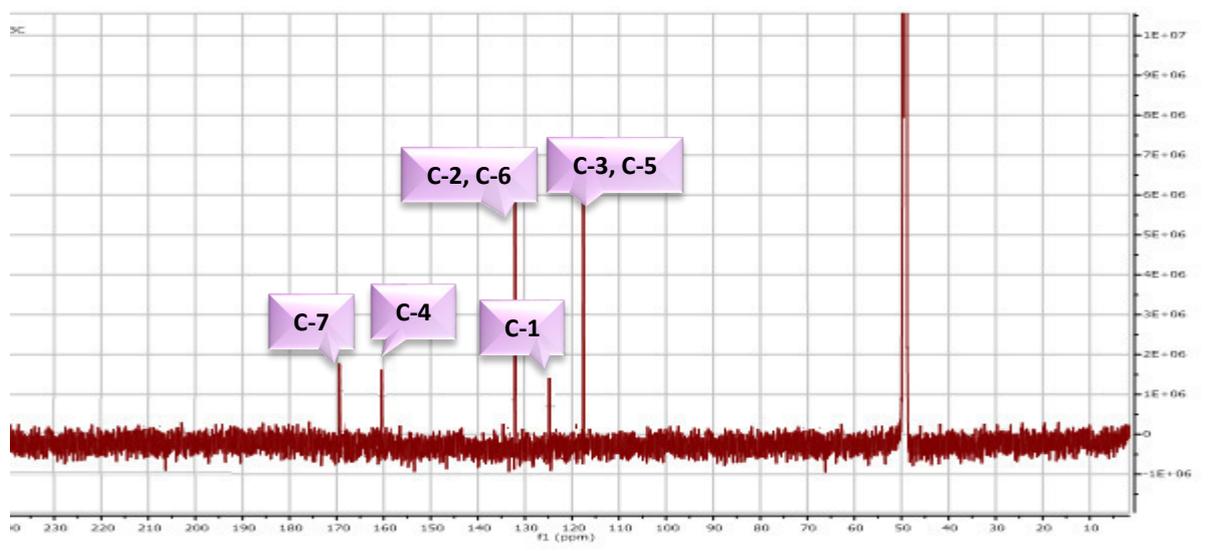


Spectre 9-1 : Spectre RMN ^1H (CD $_3$ OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 10.

La présence de cycle benzénique para substitué est confirmée par l'analyse du spectre RMN ^{13}C , qui montre en effet :

- Quatre carbones CH Sp^2 caractéristiques d'un noyau aromatique para substitué, à δ_{C} 117,0 et 132,8ppm attribuables aux C-3, C-5 et C-2, C-6 respectivement.
- Un carbone quaternaire sp^2 oxygéné à δ_{C} 160,9ppm attribuable à C-4.
- Un carbone quaternaire sp^2 à δ_{C} 125,9ppm attribuable à C-1
- Un carbone quaternaire à δ_{C} 170,5ppm attribuable à un groupement COOH.

Ces observations sont en faveur d'un para substitution du noyau aromatique par un groupement COOH d'une part et un groupement OH d'autre part.



Spectre 9-2 : Spectre RMN ^{13}C (CD $_3$ OD, 150 MHz, δ ppm) du composé 10.

La comparaison de nos données spectroscopiques avec celles de la littérature [16], indiquent que celles-ci sont en parfait accord avec celles de l'acide para-hydroxy benzoïque comme reporté dans la Figure 46. Ce composé est un agent antimicrobien [17], antioxydant [18]. Il est décrit pour la première fois chez les Zygothylaceae.

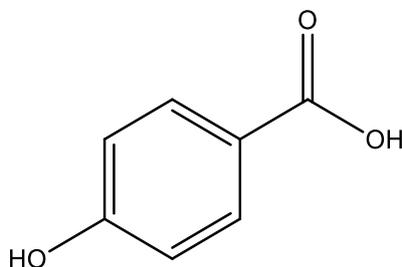
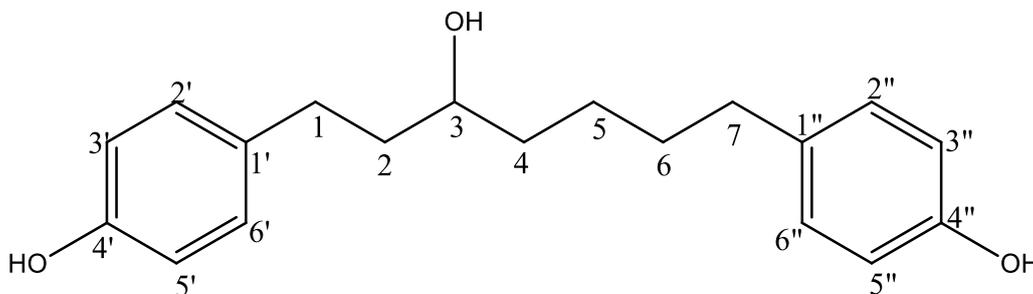


Figure 46 : la structure du composé 10, acide para-hydroxy benzoïque.

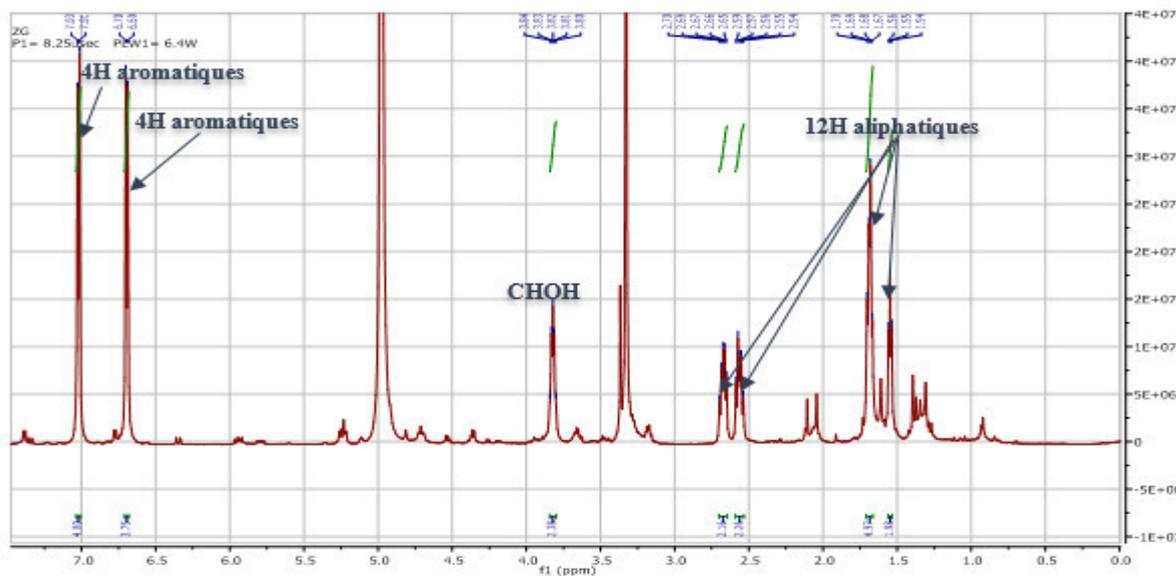
Tableau 31 : Données de la spectroscopie de RMN ^1H et RMN ^{13}C du composé 10

La position	δ_{H} (ppm)	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	-	125,9
2,6	7,91	$d(8,7)$	132,8
3,5	6,80	$d(8,7)$	117,0
4	-	-	160,9
7	-	-	170,5

I.10.Elucidation structurale du composé 11



L'analyse du spectre RMN proton (spectre-10-1a) de ce composé révèle la présence de deux noyaux aromatiques para substitués en positions 1,4, grâce à la présence de deux séries de 4 protons aromatiques résonant sous forme de deux doublets d'intégration 4H chacun à δ_{H} 7,02 ppm ($J= 8,4\text{Hz}$) et δ_{H} 6,69 ppm ($J= 8,4\text{Hz}$), ainsi que le couplage ortho confirmant la substitution para de chaque noyau. De plus, on peut aussi noter la présence des protons aliphatiques blindés se situant entre à δ_{H} 1,54 et 2,70 ppm et un proton d'un groupement hydroxyméthine déblindé résonant à δ_{H} 3,83 ppm.

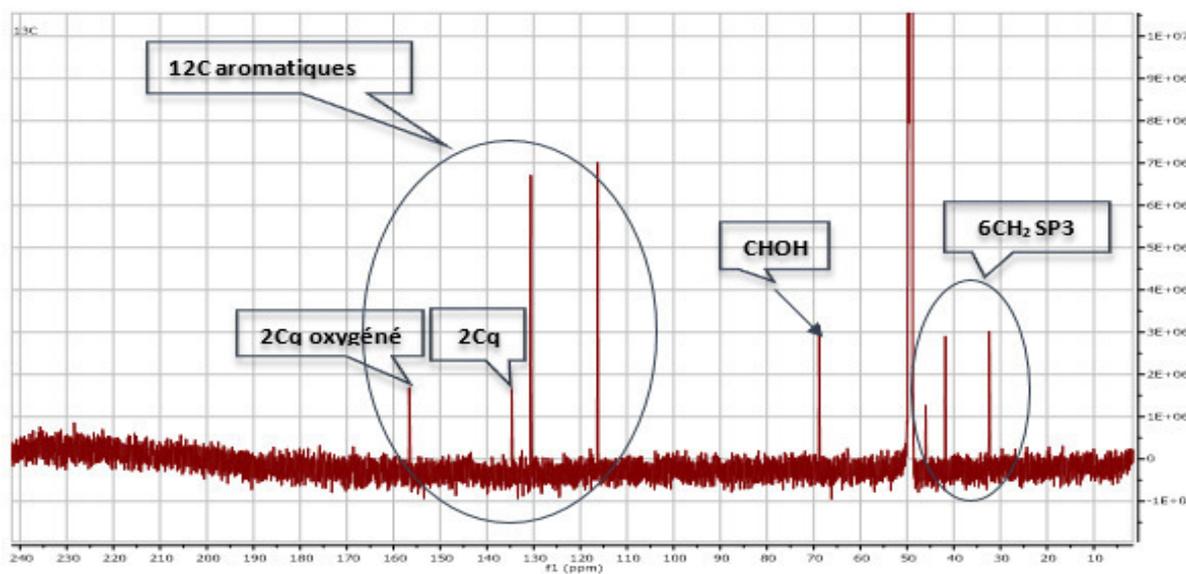


Spectre 10-1a : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 600 MHz, δppm) du composé 11.

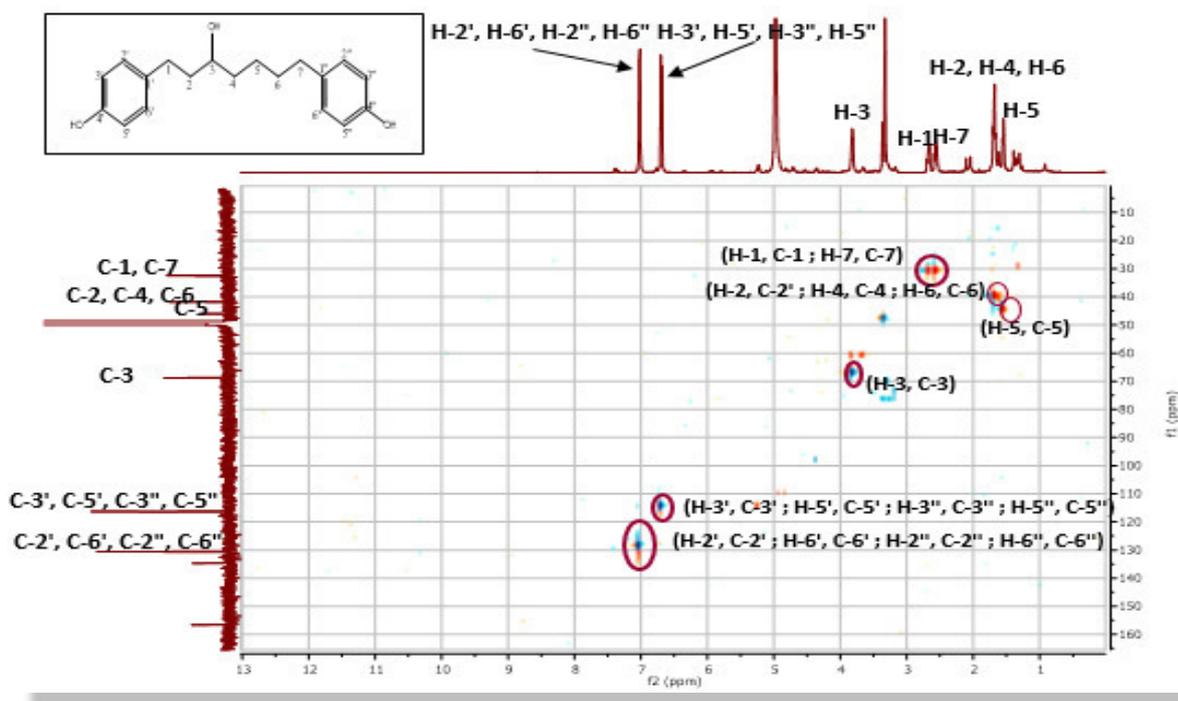
Par ailleurs les spectres RMN ^{13}C (spectre 10-2) et HSQC (spectre 10-3) montre la présence de

- 12 carbones aromatiques, dont 8 CH éthyléniques, 2 carbones quaternaires et 2 carbones quaternaires hydroxylés grâce à les valeurs de ses déplacements chimiques.
- 7 carbones d'hybridation sp^3 de la partie aliphatique, dont 6 méthylènes et un hydroxyméthine.

À ce stade de notre analyse, nous pouvons proposer pour ce composé 11 un squelette de type diarylheptanoïde.



Spectre 10-2b : Spectre RMN ^{13}C (CD_3OD , 150 MHz, δppm) du composé 11.



Spectre 10-3 : Spectre HSQC (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 11.

L'examen simultané des spectres 1D-TOCSY (spectre 10-4) et HMBC (spectre 10-5) permet d'attribuer les carbones à leurs protons dans la chaîne aliphatique C-1(H₂-1), C-2(H₂-2), C-3(H-3), C-4(H₂-4), C-5(H₂-5), C-6(H₂-6) C-7(H₂-7) aux signaux δ_C 32,42 ppm (δ_H 2,67 ppm), 41,78 (δ_H 1,68 ppm), 68,82 (δ_H 3,83 ppm), 41,78 (δ_H 1,68 ppm), 46,11 (δ_H 1,54 ppm), 41,78 (δ_H 1,68 ppm), et 32,42 (δ_H 2,56 ppm), respectivement (Figure 47-1).

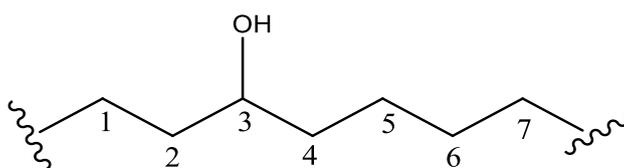
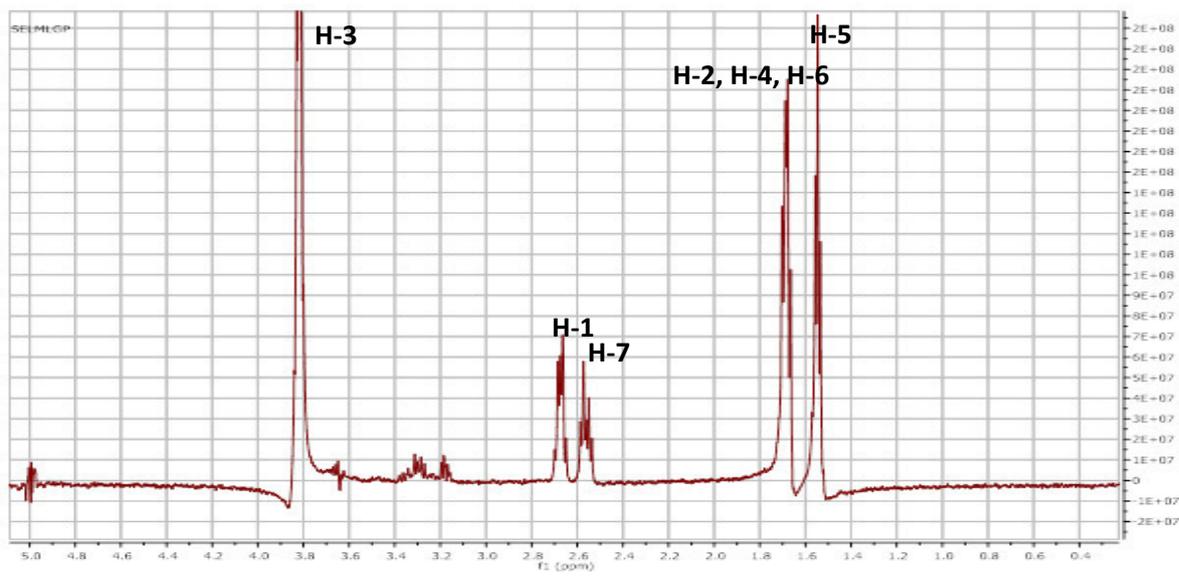
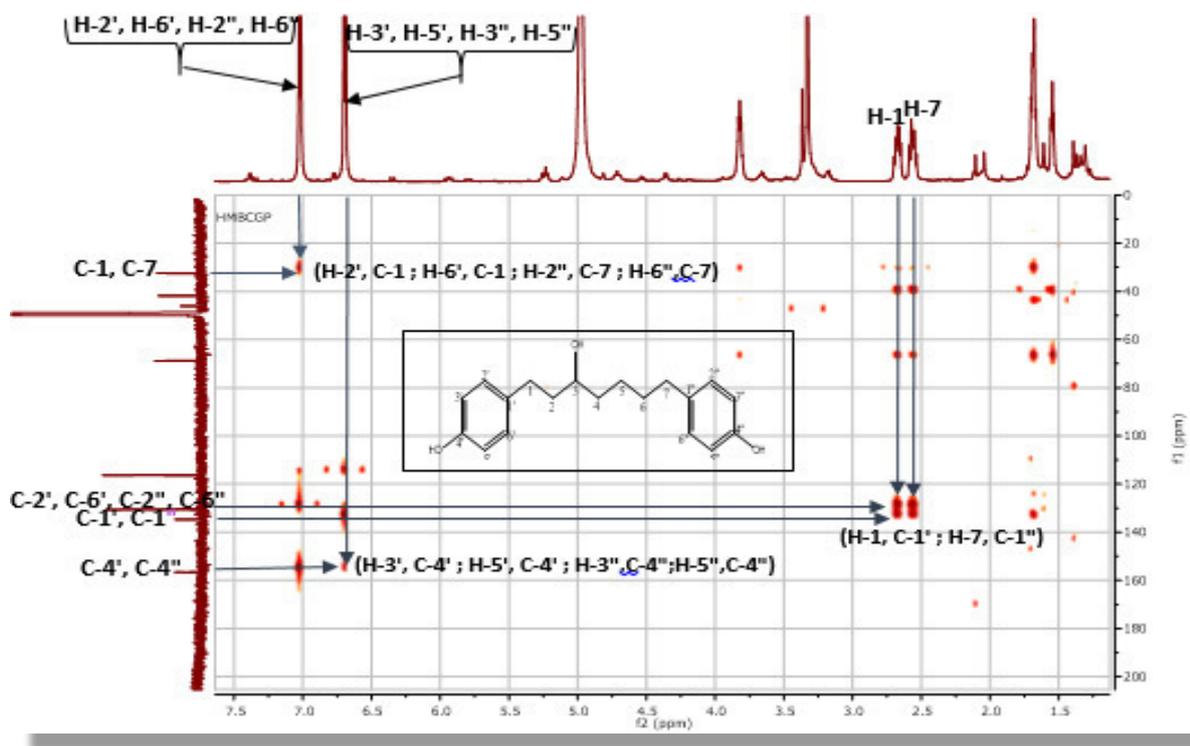


Figure 47-1 : la chaîne aliphatique présente dans le composé 10.

Le spectre HMBC montre des corrélations hétéronucléaires entre les carbones C-7, C-1 et les protons aromatiques à δ_H 7,02 ppm permettant de placer les 2 cycles aromatiques en bout de chaîne. Ces protons aromatiques seront numérotés 2' et 6' pour le premier noyau aromatique et 2'' et 6'' pour le deuxième noyau aromatique. En effet, H-3', H-5', H-3'', H-5'' correspondent aux signaux indiqués plus haut. Les positions 4', 4'' sont occupées par les carbones quaternaires hydroxylés précédemment évoqués.



Spectre 10-4 : Spectre TOCSY (CD₃OD, 600 MHz, δppm) du composé 11.



Spectre 10-5 : Spectre HMBC (CD₃OD, 600 MHz, δppm) du composé 11.

Toutes ces données sont similaires à celles décrites par Elita Smite sur la série d'arylbutanoides et diarylheptanoides glycosides qu'elle a isolé à partir de *Betula pendula* [19]. Cette molécule qui est donc le centrolol (Figure 47-2) est nouvelle pour les Zygophyllaceae. Elle est un agent anticancéreux [20] et oestrogène [21].

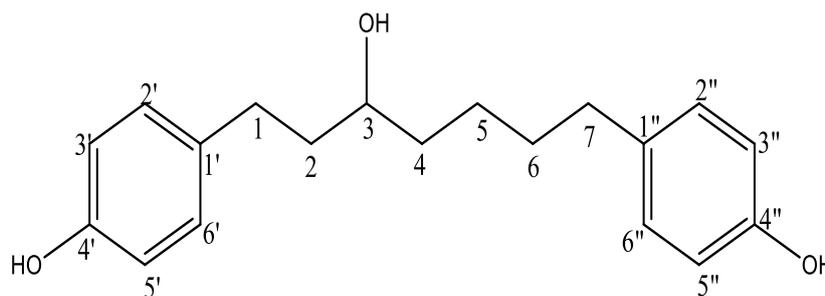
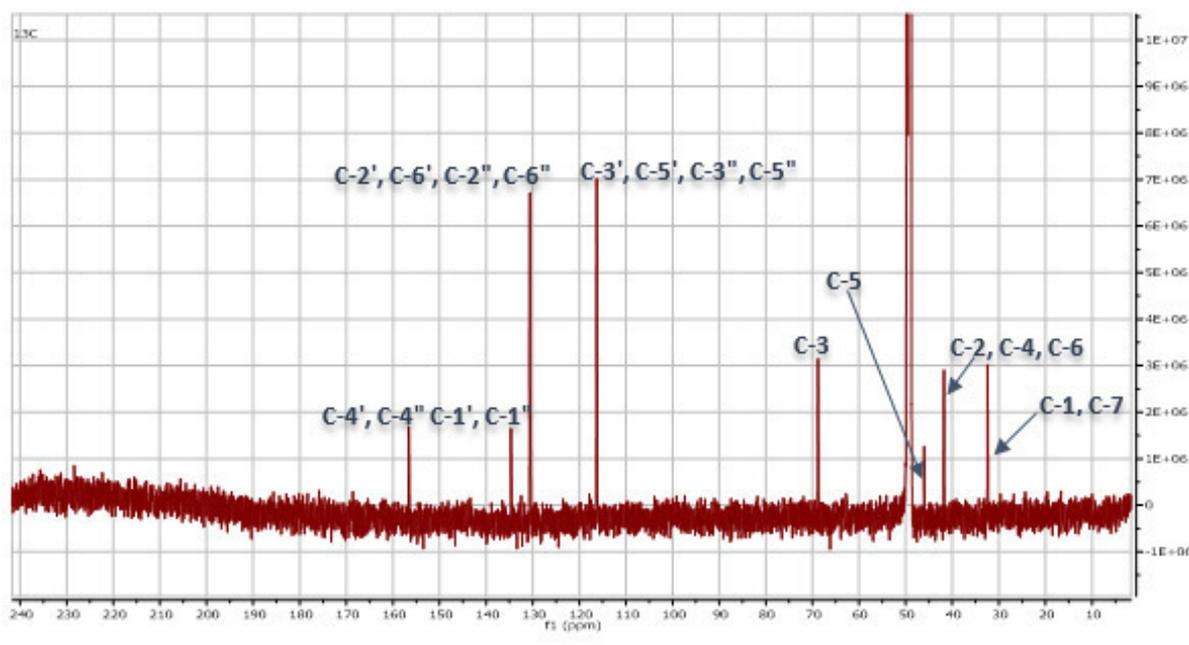
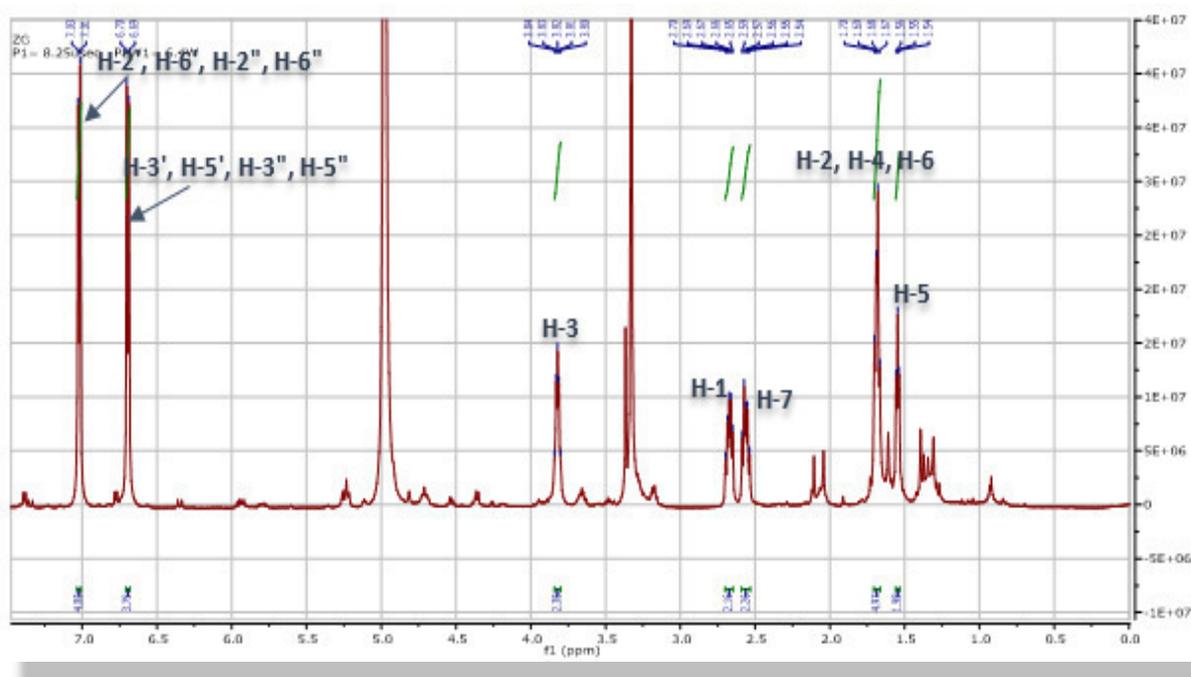


Figure 47-2 : Structure finale du composé 10, centrolol.

Les corrélations hétéronucléaires 1J proton-carbone (HSQC) et 2J - 3J proton-carbone (HMBC) ont permis d'attribuer les protons reliés à chaque carbone, comme indiqué dans les spectres (10-1b et 10-2b et le tableau 32.



Spectre 10-2b : Spectre RMN 13C (CD3OD, 150 MHz, δ ppm) du composé 11.

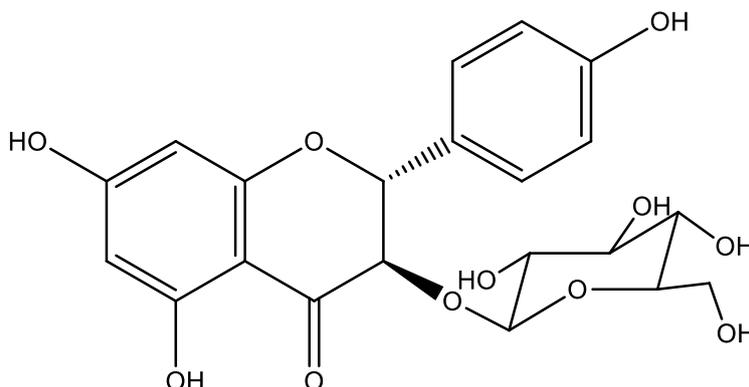


Spectre 10-1b : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 600 MHz, δ_{ppm}) du composé 11.

Tableau 32 : Les données de la RMN ^1H et ^{13}C du composé 11

La position	δ_{H} (ppm)	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
1	2,67	<i>m</i>	32,42
2	1,68	<i>m</i>	41,78
3	3,83	<i>qu</i> ($J=6,0$)	68,82
4	1,68	<i>m</i>	41,78
5	1,54	<i>t</i> ($J=6,6$)	46,11
6	1,68	<i>m</i>	41,78
7	2,56	<i>m</i>	32,42
1',1''	-	-	134,68
2',6',2'',6''	7,02	<i>d</i> ($J=8,4$)	130,60
3',5',3'',5''	6,69	<i>d</i> ($J=8,4$)	116,30
4',4''	-	-	156,60

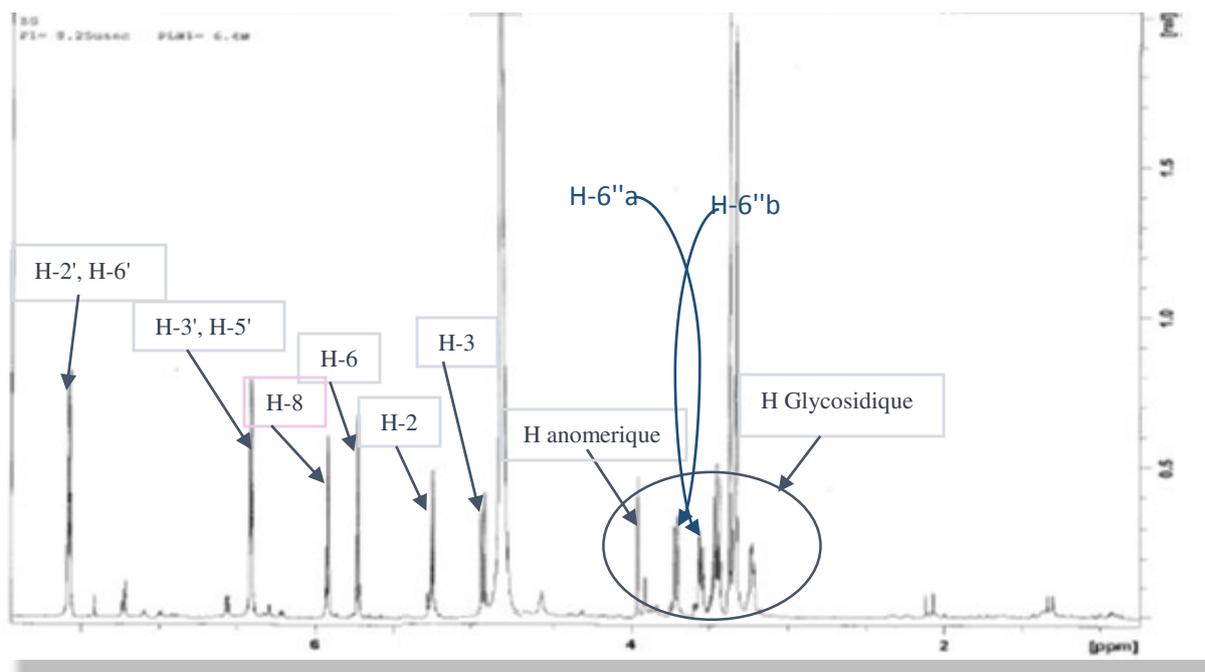
I.11. Elucidation structurale du composé 12



L'examen du spectre RMN ^1H (spectre 11) de ce composé, montre qu'il s'agit d'un flavonoïde de type dihydroflavonol caractérisé par :

- ✓ Deux doublets d'intégration 1H chacun à δ_{H} 5,27ppm ($J= 10,6 \text{ Hz}$) et δ_{H} 4,95ppm ($J= 10,6 \text{ Hz}$) attribuable aux protons H-2, H-3 respectivement. La valeur 10,6 Hz de la constante de couplage, indique une disposition trans des protons vicinaux H-2 et H-3.
- ✓ Un doublet d'intégration 2H à δ_{H} 7,55ppm ($J= 8,0 \text{ Hz}$) attribuable au proton H-2', H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 2H à δ_{H} 6,45 ppm ($J= 8,0 \text{ Hz}$) attribuable au proton H-3', H-5'.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à δ_{H} 5,90 ppm ($J= 2,0 \text{ Hz}$) attribuable au proton H-8.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à δ_{H} 5,80 ppm ($J= 2,0 \text{ Hz}$) attribuable au proton H-6.
- ✓ Un doublet d'intégration 1H à δ_{H} 3,90 ppm ($J= 7,7 \text{ Hz}$) suggérant la présence d'un sucre en configuration β .
- ✓ Deux doublet de doublet d'intégration 1H chacun à δ_{H} =3,53 ppm ($J= 11,5 ; 5,4 \text{ Hz}$) et à δ_{H} =3,75 ($J= 11,5 ; 2,2 \text{ Hz}$) attribuable aux protons H-6"_a et H-6"_b respectivement.

L'hydrolyse acide de ce composé libère le glucose comme sucre révélé par co- chromatographie avec un échantillon standard de glucose.



Spectre 11 : Spectre RMN ^1H (CD $_3$ OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 12.

L'ensemble de ces arguments est en faveur de la structure du dihydroflavonol 3-*O*- β -D-glucoside. La biogenèse des dihydroflavonols impose une orientation α au cycle B, ce qui indique que la stéréochimie de la position C-2 est déterminée (2R). Quant à la position C-3, la valeur de la constante de couplage (12,2 Hz) entre H-2/H-3 qui signifie une disposition trans de ces deux noyaux (22, 23) permet de déduire que la stéréochimie de cette position est déterminée (3R). De ce fait, ce composé est (2R,3R)-dihydrokaempferol 3-*O*- β -D-glucoside. Il est doué d'activité antioxydante et anti-inflammatoire [22]. Cette molécule est isolée pour la première fois chez les Zygophyllaceae.

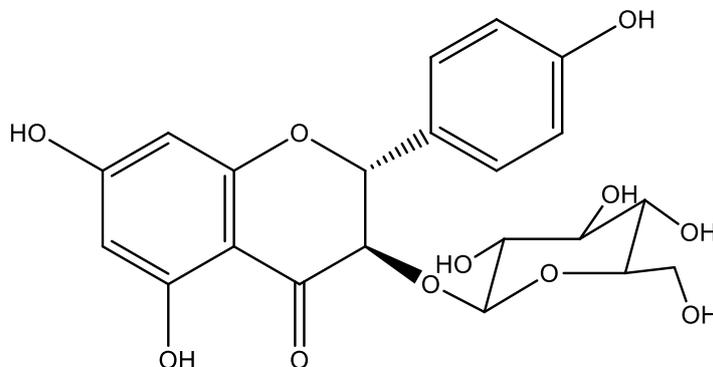
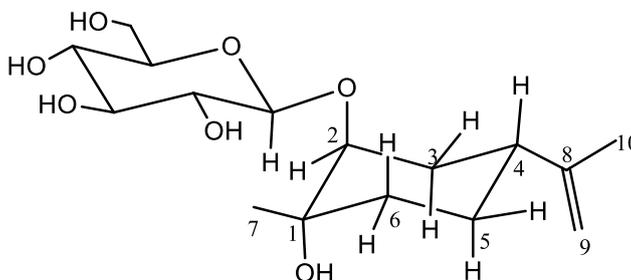


Figure 48 : la structure du composé 12, (2R,3R)-dihydrokaempferol 3-*O*- β -D-glucoside

Tableau 33 : données relatives au spectre de RMN ^1H du composé 12

Déplacement chimiques (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7,55	2H	<i>d</i> (8,0)	H-2', H-6'
6,45	2H	<i>d</i> (8,0)	H-3', H-5'
5,90	1H	<i>d</i> (2,0)	H-8
5,80	1H	<i>d</i> (2,0)	H-6
3,90	1H	<i>d</i> (7,76)	H-1''
3,20-3,50	6H		H-2'', H-3'', H-4'', H-5''
3,53	1H	<i>dd</i> (11,5 ; 5,4)	H-6''a
3,75	1H	<i>dd</i> (11,5 ; 2,2)	H-6''b

I.12. Elucidation structurale du composé 13



Le spectre RMN proton (spectre 12-1) de ce composé montre une similitude structurale avec le composé **6**, la différence réside en la présence de deux singulets larges d'intégration 1H chacun à δ_{H} 4,73 ppm et 4,69 ppm correspondant aux deux protons d'un groupement CH_2 éthylénique, et l'absence du signal correspondant au groupement CH_3 attribuable à la position C-9 dans le composé **6**. Ces données indiquent que le composé **13** a la structure du composé **6** où le groupement CH_3 est remplacé par un groupement CH_2 éthylénique.

Ceci est d'ailleurs appuyé sur les spectres RMN ^{13}C (spectre 12-2), HMBC (spectre 12-3) du composé **13** par l'apparition de deux signaux l'un à δ_{C} 107,59 ppm correspondant au groupement CH_2 éthylénique et l'autre à δ_{C} 149,45 correspondant au carbone quaternaire sp^2 porteur de ce groupement CH_2 éthylénique grâce à ses corrélations sur le spectre HMBC. Par ailleurs nous observons également la disparition du signal de carbone C-8 porteur le groupement CH_3 (δ_{C} 73,05 ppm) et le signal correspondant au CH_3 (δ_{C} 26,96 ppm) dans le composé **6**. Ce qui confirme le remplacement du carbone quaternaire sp^3 et le groupement CH_3 par le carbone quaternaire sp^2 et le groupement CH_2 éthylénique dans le composé **13**.

A ce stade de notre analyse, nous pouvons déduire que la structure plane de l'aglycone est celle du *p*-menth-8-ene-1,2-diol (Figure 49-1).

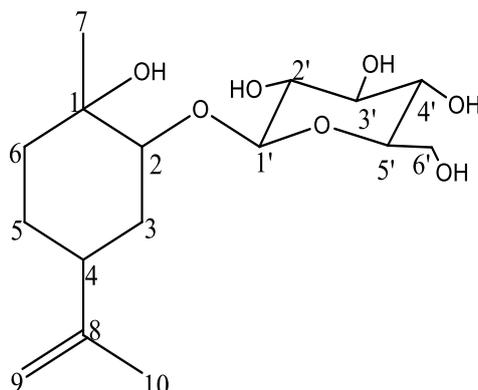
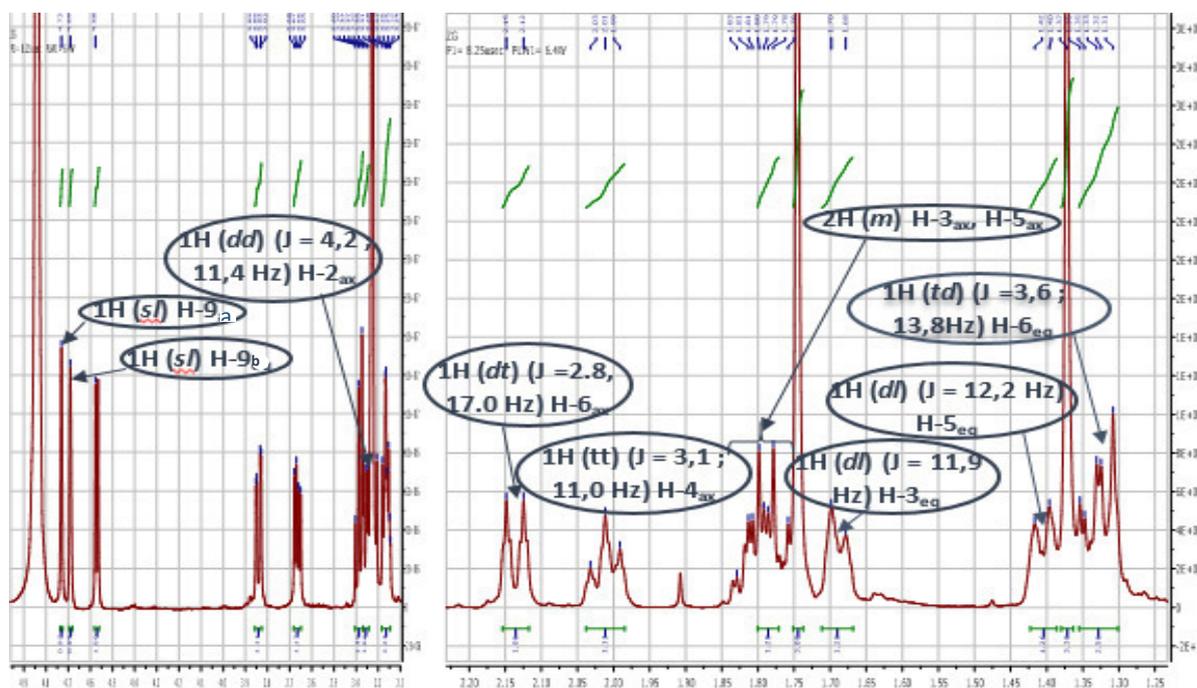
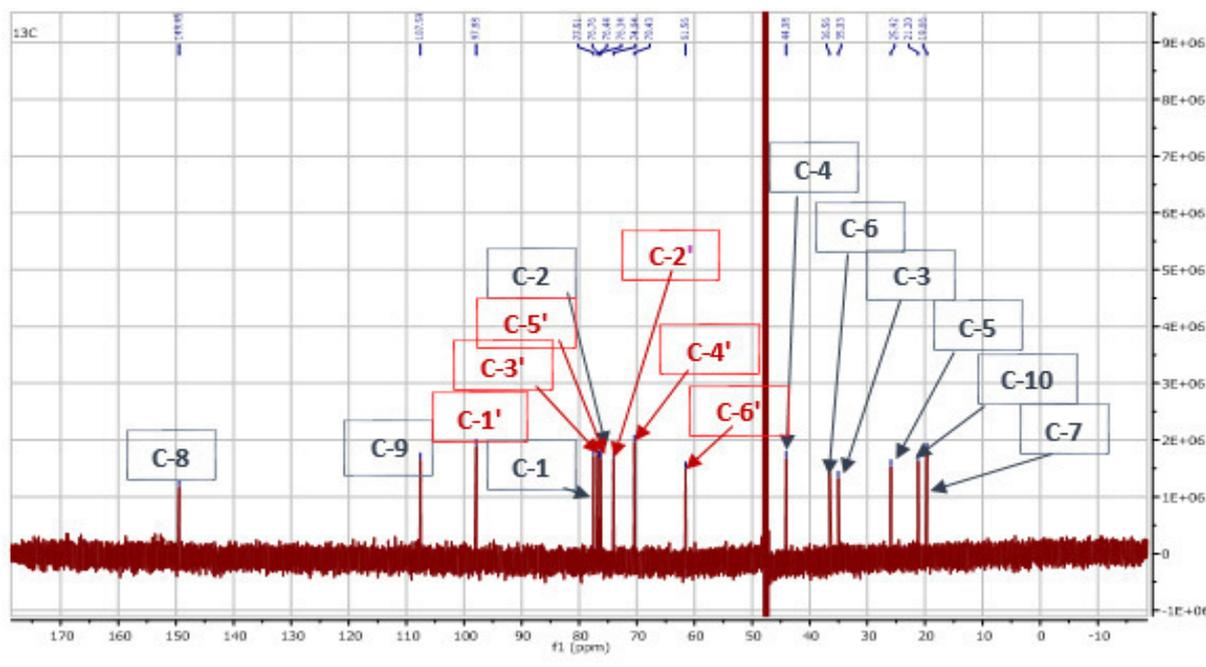


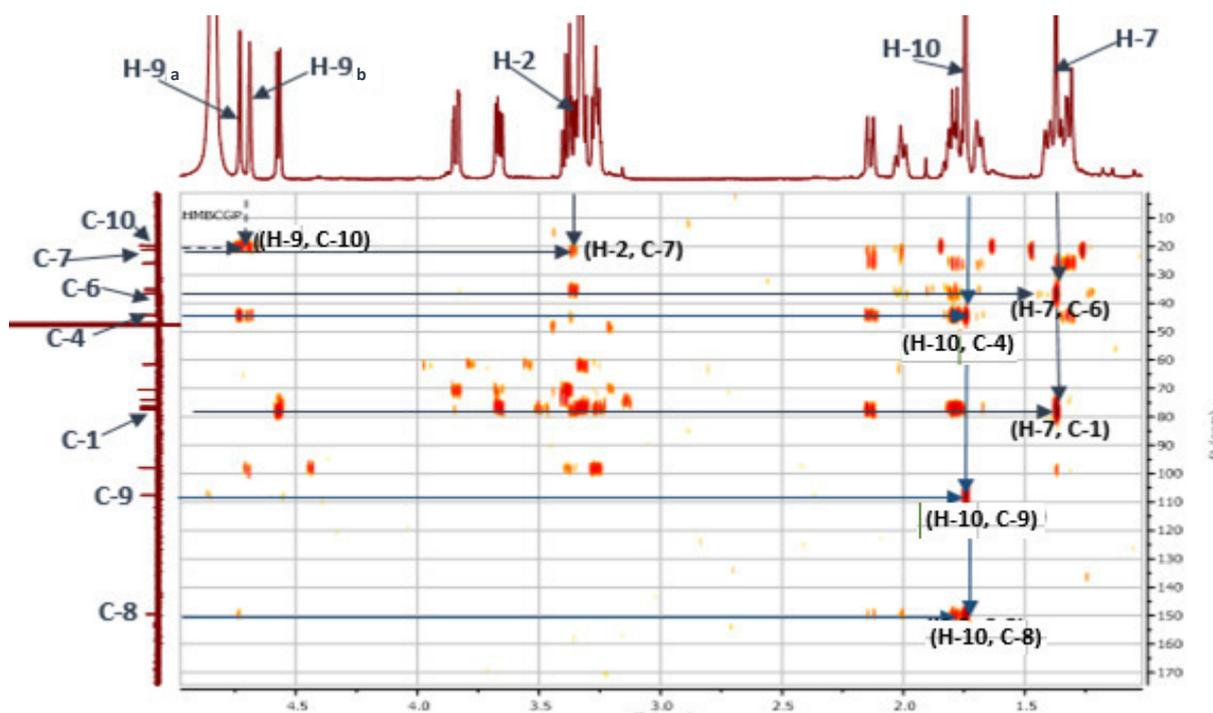
Figure 49-1 : structure plane du composé 13.



Spectre 12-1 : Spectre RMN ^1H (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 13.



Spectre 12-2 : Spectre RMN ^{13}C (CD_3OD , 150 MHz, δ ppm) du composé 13.

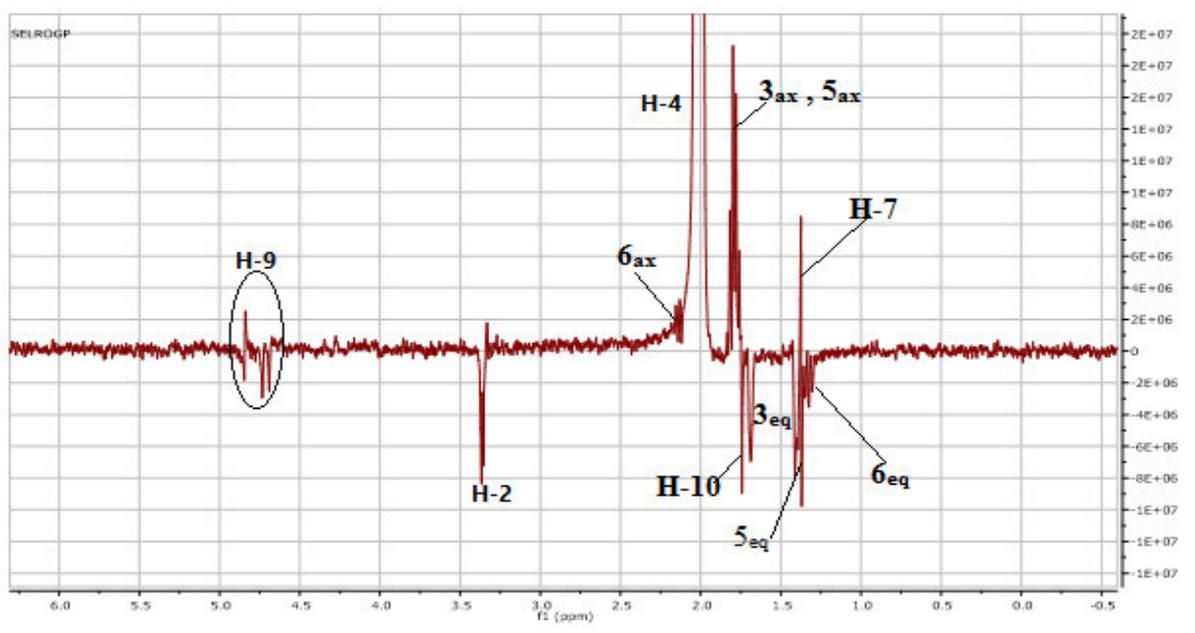


Spectre 12-3 : Spectre HMBC (CD_3OD , 600 MHz, δ ppm) du composé 13.

En matière de stéréochimie, la multiplicité (*dd*) du signal H-2 et les valeurs des constantes de couplage ($J=4,2 ; 11,7$) orientent vers une configuration axiale pour le proton H-2 et équatoriale pour groupement O-glucopyranoside et la multiplicité (*tt*) du signal H-4 et les valeurs des

constantes de couplage ($J=3,3 ; 12,0$) orientent bien vers une configuration axiale pour le proton H-4. De plus le H-4 donne des interactions avec tous les protons de la génine sur le spectre ROESY (1D). Par ailleurs la comparaison avec les données de la littérature du composé (*1S,2S,4R*)-*p*-menth-8-ene-1,2-diol [23] indiquent que celles-ci sont en parfait accord avec celles de la génine de notre molécule, la conformation du cyclohexane devrait être sous forme chaise avec des orientations β pour le carbone C-7 et le proton H-4 et des orientations α pour le carbone C-8 et le proton H-2.

L'ensemble de ces données mènent à la structure du (*1S,2S,4R*)-*p*-menth-8-ene-1,2-diol 2-O- β -D-glucopyranoside, rapportée dans la Figure 42-2. Ce composé est isolé pour la première fois dans la famille des Zygophyllaceae.



Spectre 12-4 : Spectre 1D-ROESY (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 13.

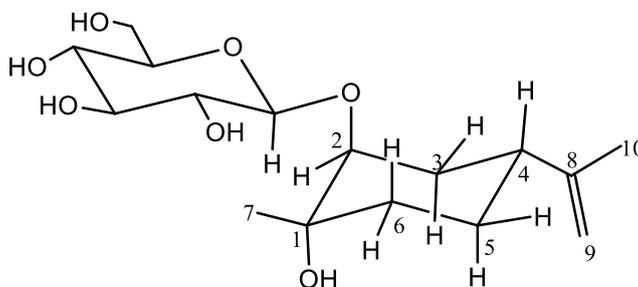
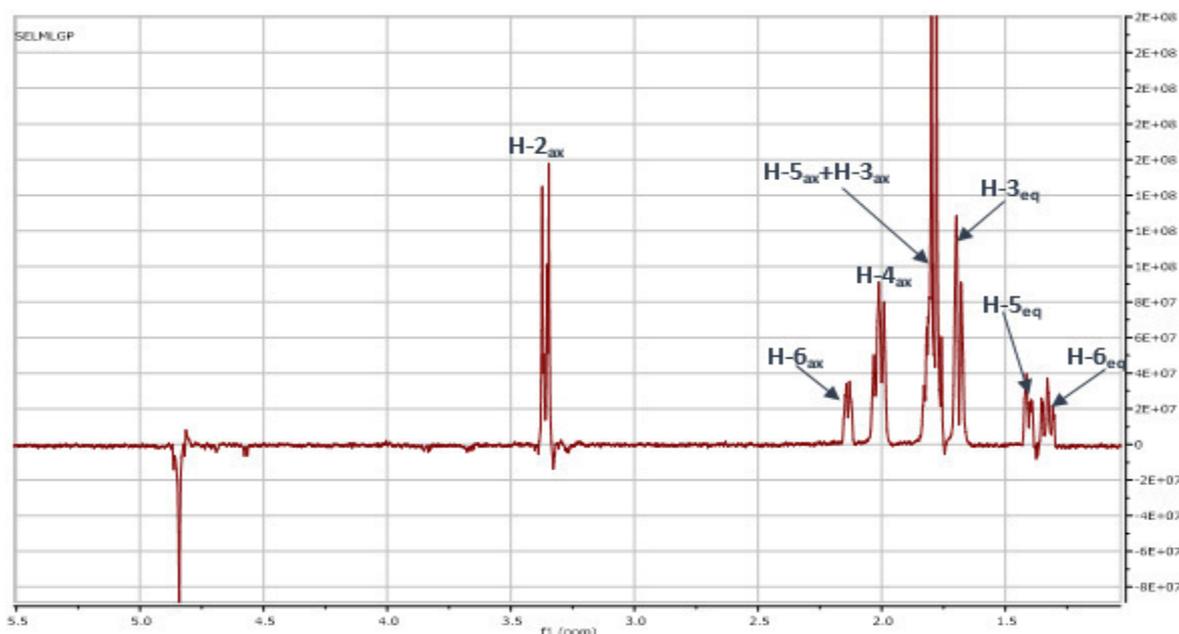
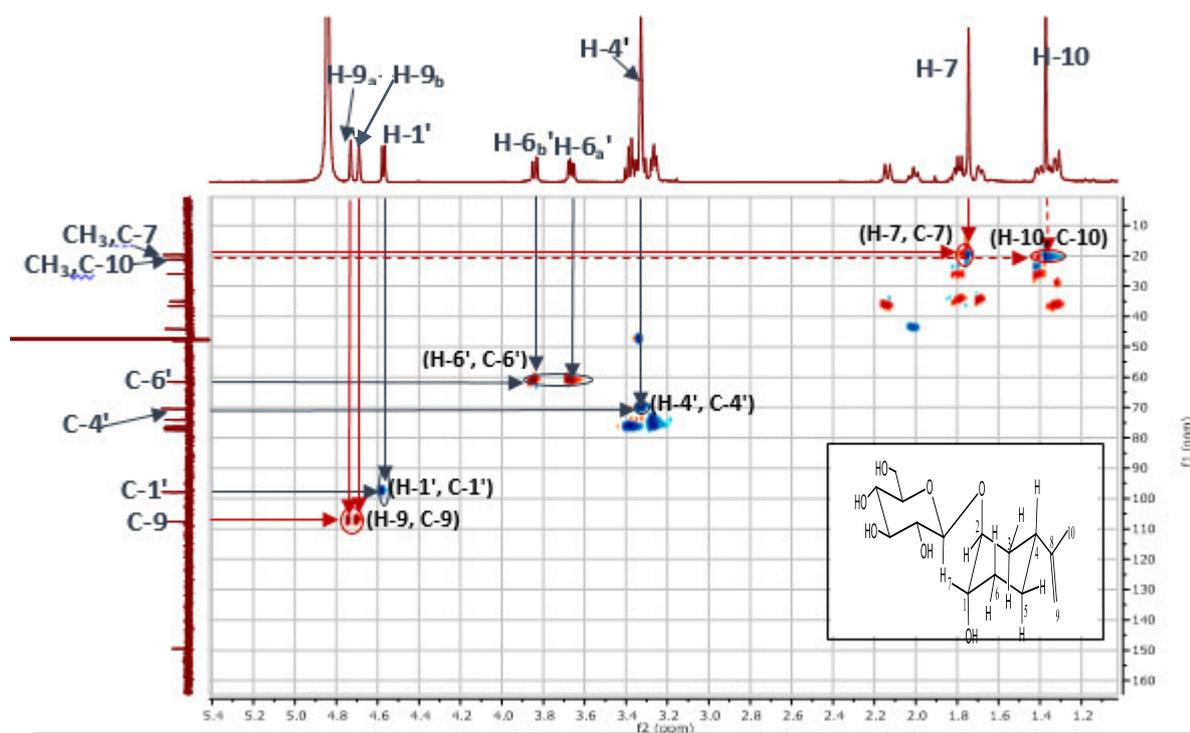


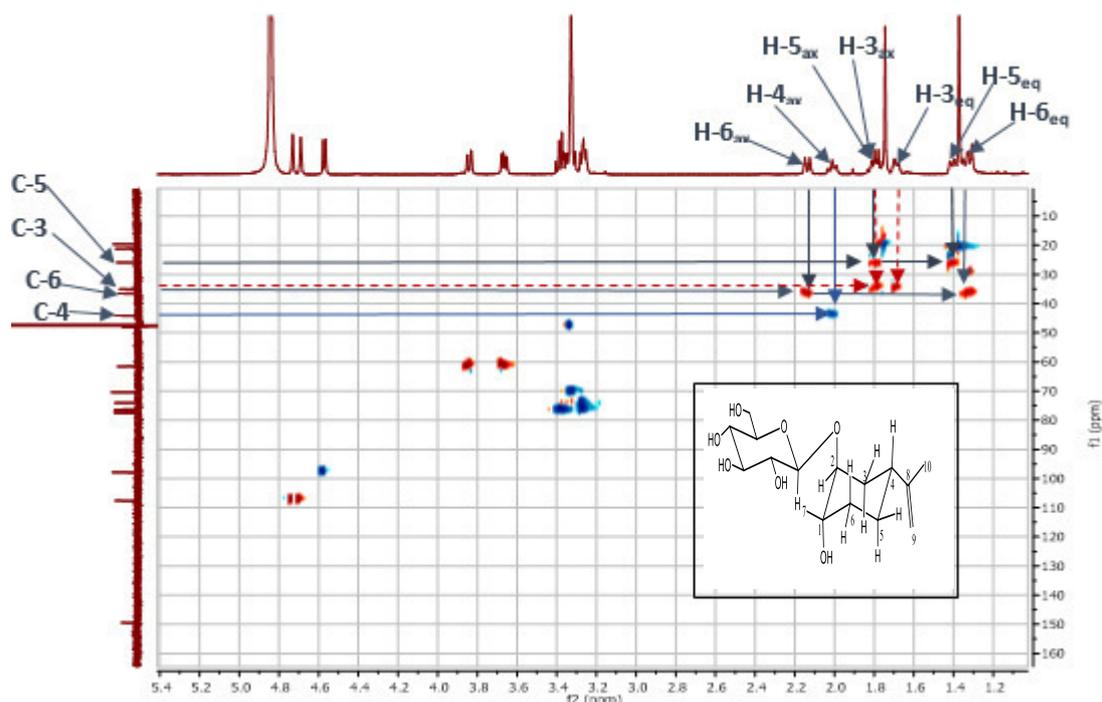
Figure 49-2 : Structure du composé 12, (*1S,2S,4R*)-*p*-menth-8-ene-1,2-diol 2-O- β -D-glucopyranoside.



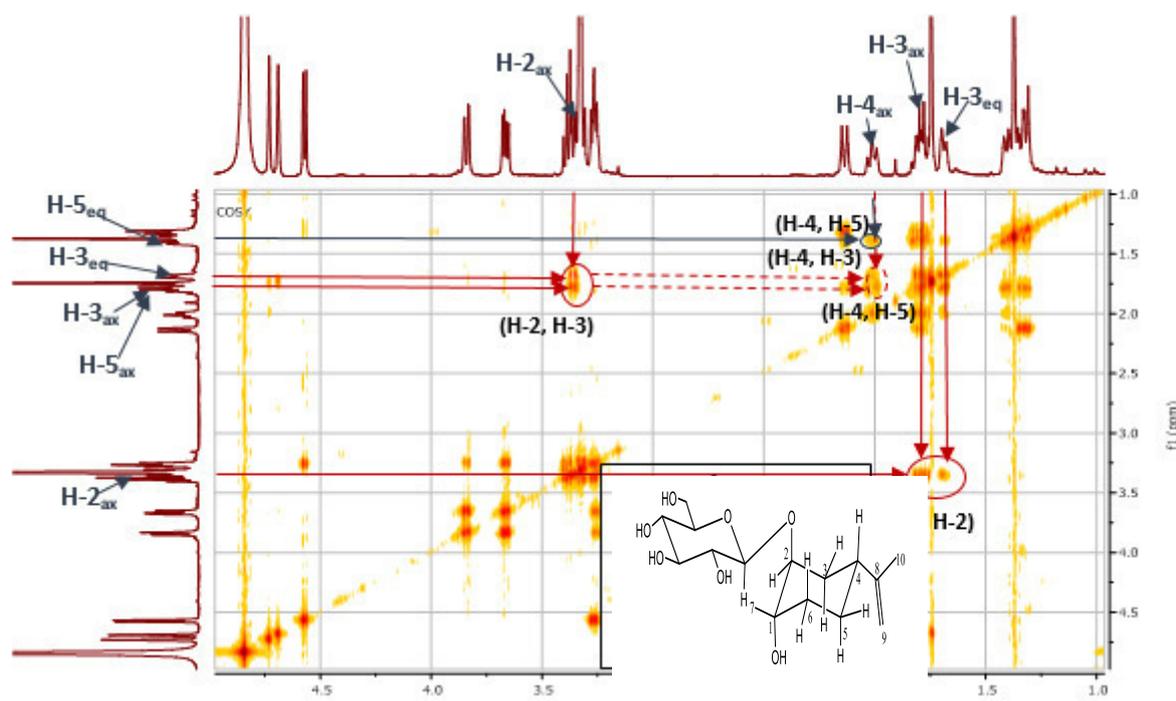
Spectre 12-5 : Spectre 1D-TOCSY (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 13.



Spectre 12-6a : Spectre HSQC (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 13.



Spectre 12-5b : Spectre HSQC (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 13.



Spectre 12-6 : Spectre COSY (CD3OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 13.

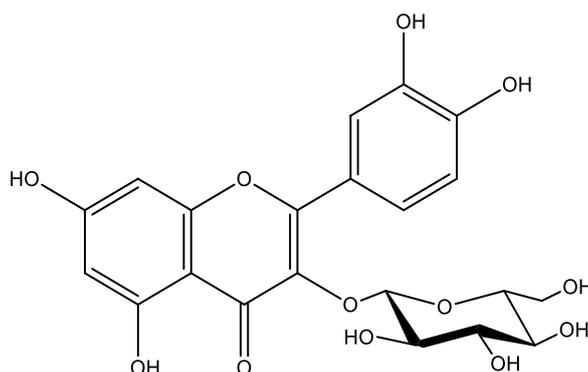
Les données des résultats de spectroscopie de résonance magnétique nucléaire sont reportées dans le Tableau 34.

Tableau 34 : Les données des résultats de RMN du composé 13.

La position	δ_H (ppm)	J (Hz)	δ_C (ppm)
1	-	-	77,51
2 _{ax}	3,36	<i>dd</i> (4,2 ; 11,4)	76,34
3 _{eq}	1,70	<i>dl</i> (11,9)	35,03
3 _{ax}	1,82	<i>m</i>	
4 _{ax}	2,01	<i>tt</i> (3,3 ; 12,0)	44,08
5 _{eq}	1,42	<i>dl</i> (12,2)	25,92
5 _{ax}	1,80	<i>m</i>	
6 _{eq}	1,33	<i>td</i> (3,6 ; 13,8)	36,56
6 _{ax}	2,15	<i>dt</i> (2,8 ; 17,0)	
7	1,37	<i>s</i>	19,66
8	-	-	149,45
9 _a	4,73	<i>sl</i>	107,59
9 _b	4,69	<i>sl</i>	21,20
10	1,76	<i>s</i>	
1'	4,58	<i>d</i> (7,8)	97,88
2'	3,27	<i>m</i>	74,04
3'	3,40	<i>t</i> (8,4)	76,76
4'	3,35*	-	70,43
5'	3,25	<i>m</i>	76,44
6'	3,85	<i>dd</i> (12,0 ; 2,4)	61,56
	3,67	<i>dd</i> (12,0 ; 5,8)	

* : Recouvert par le signal du MeOH-d4

I.13.Elucidation structurale du composé 14



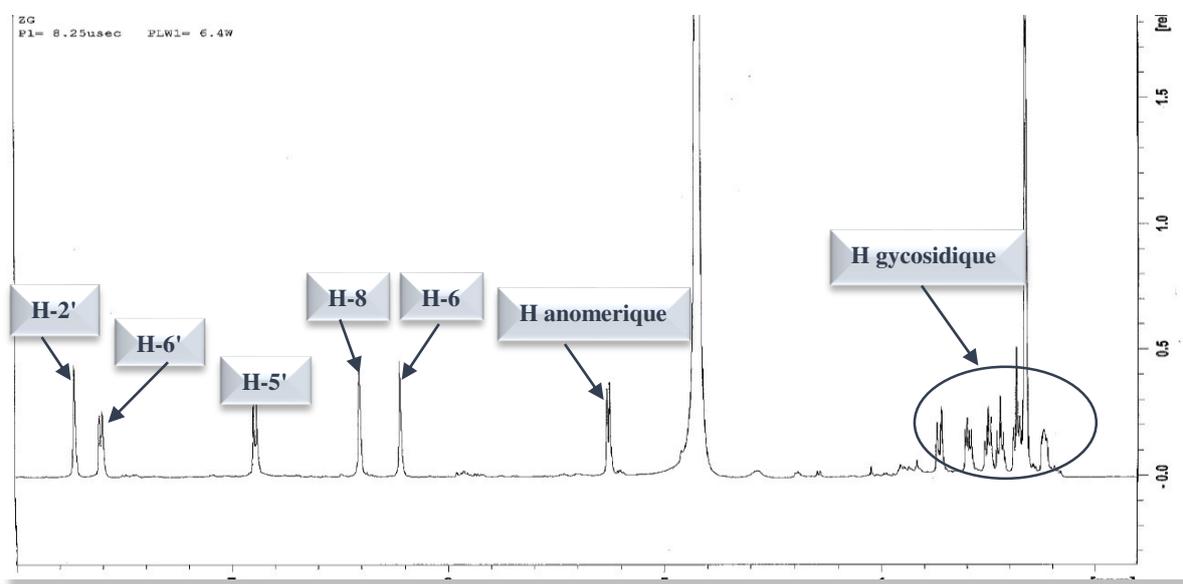
Exposé à la lumière de Wood ($\lambda = 365$ nm), ce composé montre une fluorescence noire-violette orientant vers un composé flavonique de type flavone ou flavonol 3-OR.

L'examen de son spectre proton montre :

- ✓ Un doublet d'intégration 1 H, à δ_H 7,72 ppm ($J = 2,2$ Hz) attribuable à H-2'.

- ✓ Un doublet de doublets d'intégration 1 H, à δ_H 7,53 ppm ($J= 8,1 ; 2,2Hz$) attribuable à H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 1 H, à δ_H 6,97 ppm ($J= 8,1Hz$) attribuable à H-5'.
- ✓ Un doublet d'intégration 1 H, à δ_H 6,38 ppm ($J= 2,1Hz$) attribuable à H-8.
- ✓ Un doublet d'intégration 1 H, à δ_H 6,20 ppm ($J= 2,1Hz$) attribuable à H-6.
- ✓ Un doublet d'intégration 1 H, à δ_H 5,20 ppm ($J= 7,9 Hz$) attribuable à un proton anomérique, ainsi que l'ensemble des signaux résonant entre δ_H 3,21 et 3,75 ppm, suggérant la présence d'un sucre en configuration β .

L'hydrolyse acide du composé **14** et l'analyse co-chromatographie du sucre avec l'échantillon authentique, ont permis d'identifier la partie osidique comme étant du D-glucose.



Spectre 13 : Spectre RMN 1H CD $_3$ OD, 600 MHz, δ ppm) du composé **14.**

L'ensemble de ces arguments est en faveur de la structure du quercétine-3-O- β -glucopyranoside (Figure 50). Ce composé est connu sous plusieurs noms notamment : isoquercétine. Il est trouvé couramment dans les herbes médicinales, les fruits, les légumes et les aliments et boissons dérivés des plantes [24]. Cette molécule a été détectée dans plusieurs espèces de la famille des Zygophyllaceae telles que les espèces du genre *Fagonia* : *F. taekholmiana* [25], *F. paulayana*, *F. indica* et *F. cretica* [26]. L'isoquercétine a une biodisponibilité plus élevée que la quercétine, elle montre un certain nombre d'effets chimioprotecteurs *in vitro* et *in vivo*, contre l'oxydation, le stress, le cancer, les troubles cardiovasculaires, le diabète et les réactions allergiques [24].

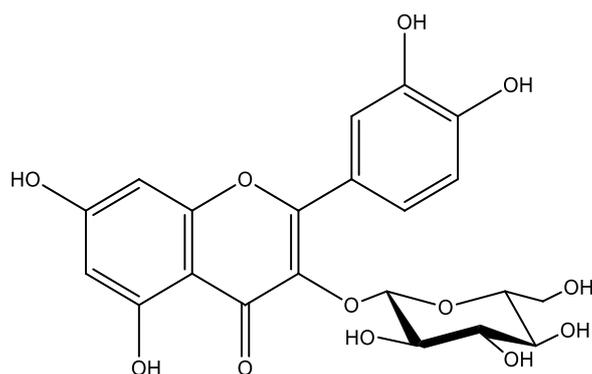
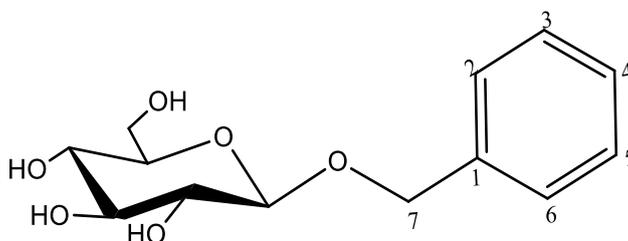


Figure 50 : la structure de composé **14**, quercétine-3-O- β -glucopyranoside

Tableau 35 : Données de la RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD , $J(\text{Hz})$) du composé **14**

Déplacement chimiques (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7,72	1H	<i>d</i> (2,2)	H-2'
7,53	1H	<i>dd</i> (8,1 ; 2,2)	H-6'
6,97	1H	<i>d</i> (8,1)	H-5'
6,38	1H	<i>d</i> (2,1)	H-8
6,20	1H	<i>d</i> (2,1)	H-6
5,20	1H	<i>d</i> (7,9)	H-1''
3,20-3,75	6H		H-2'',H-3'',H-4'',H-5'',H-6''

I.14. Elucidation structurale du composé **15**

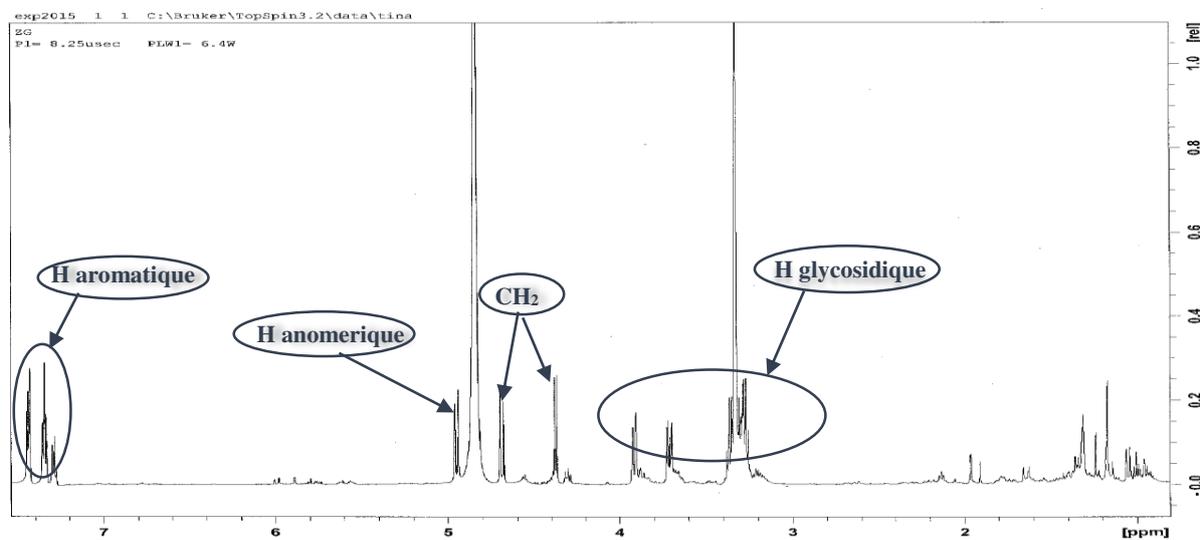


Le spectre RMN proton (Spectre 14) du composé **15** montre clairement la présence d'un cycle benzénique monosubstitué, grâce à l'apparition des signaux aromatique, notamment :

- ✓ Un doublet de doublet d'intégration 2H à δ_{H} 7,42 ppm ($J = 7,8 ; 2,4 \text{ Hz}$) attribuable à H-2, H-6.
- ✓ Un triplet d'intégration 2H à δ_{H} 7,31 ppm ($J = 7,8 \text{ Hz}$) attribuable à H-3, H-5.
- ✓ Un multiplet d'intégration 1H à δ_{H} 7,28 ppm attribuable à H-4.

Dans le même spectre, on peut également noter la présence d'un groupement glycoside de configuration β , grâce à la présence d'un doublet à δ_{H} 4,96 ppm ($J = 7,7 \text{ Hz}$) correspondent au proton anomérique (H-1') et un ensemble des signaux résonant entre δ_{H} 3,2-3,88 ppm.

En plus de ces signaux, le spectre RMN ^1H révèle la présence d'un système AB à δ_{H} 4,38 (*d*, $J=12,0$ Hz) ppm et 4,65 (*d*, $J=12,0$ Hz) ppm correspondant aux protons d'un groupement CH_2 .



Spectre 14 : Spectre RMN ^1H (CD $_3\text{OD}$, 600 MHz, δ ppm) du composé 15

L'ensemble de nos analyses et la comparaison avec les données rapportées dans la littérature [27], mènent à la structure reportée dans la Figure 51, soit le benzyl alcool glucosyl. Ce composé a été précédemment identifié dans certaines plantes telle que *Pycnanthemum flexuosum* [27]. Ce composé est décrit pour la première fois dans la famille Zygophyllaceae.

Tableau 36 : Données de la spectroscopie de RMN ^1H (CD $_3\text{OD}$, 600 MHz, δ ppm) du composé 15

Déplacement chimiques (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
7,42	2H	<i>dd</i> (7,8 ; 2,4)	H-2, H-6
7,31	2H	<i>t</i> (7,8)	H-3, H-5
7,28	1H	<i>m</i>	H-4
4,65	1H	<i>d</i> (12,0)	H-7 _a
4,38	1H	<i>d</i> (12,0)	H-7 _b
4,96	1H	<i>d</i> (7,7)	H-1''
3,20-3,38	6H	-	H-2'', H-3'', H-4'', H-5''
3,65	1H	<i>m</i>	H-6'' _a
3,83	1H	<i>dd</i> (11,8 ; 2,2)	H-6'' _b

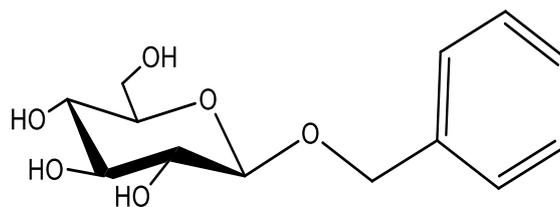
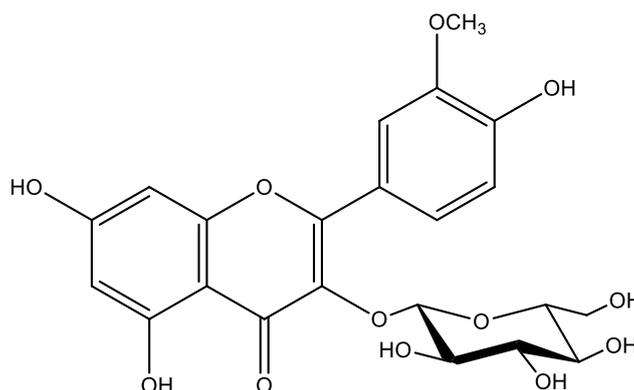
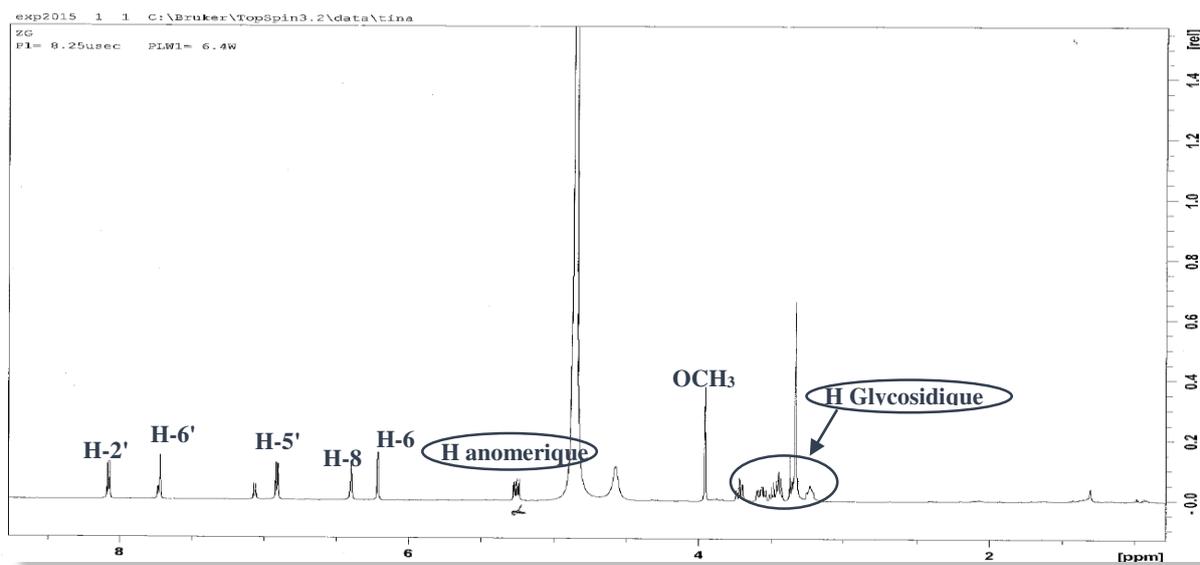


Figure 51 : la structure de composé **15**, benzyl alcool glucosyl

I.15.Elucidation structurale du composé **16**



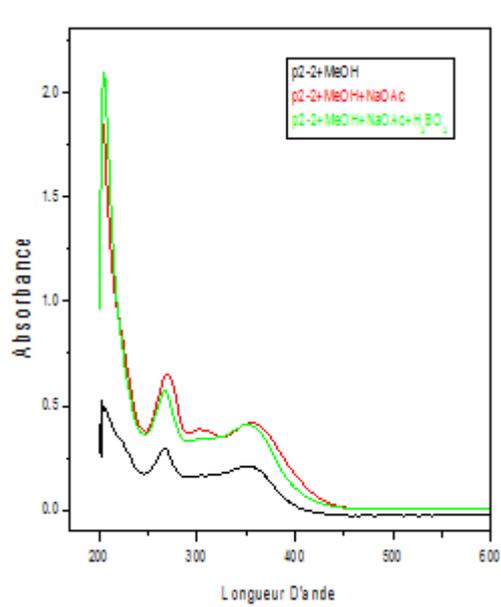
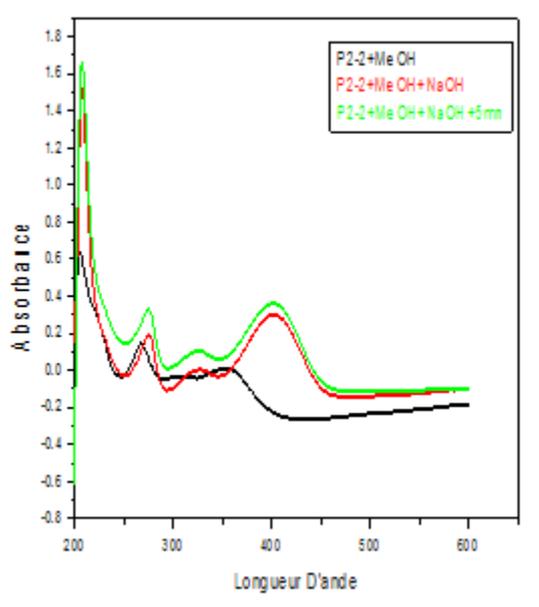
La similarité des spectres RMN ^1H des composés **15** et **13** montre que ces deux composés sont très proches structuralement. Néanmoins, nous pouvons noter la présence d'un signal supplémentaire sur le spectre du composé **16** correspondant au groupement méthoxyle. De ce fait, le composé **16** est un flavonoïde substitué en position 3' et 3 par un méthoxyle et un sucre.



Spectre 15-1 : Spectre RMN ^1H (CD_3OD , 600 MHz, δppm) du composé **16**

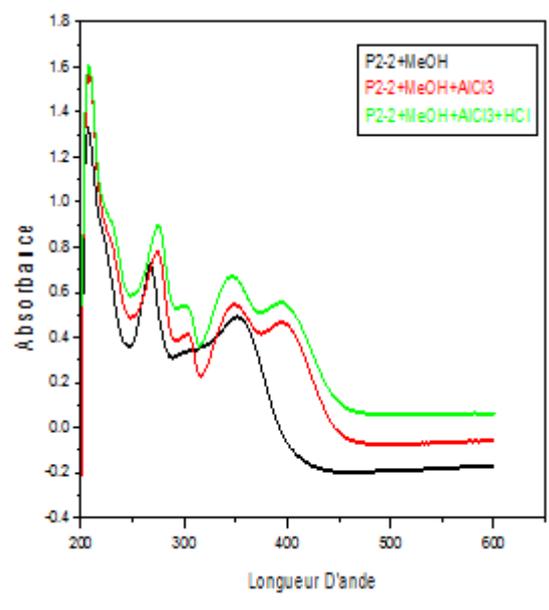
Ceci est appuyé par le fait que l'on observe sur la série spectrale UV les indications suivantes :

- Le maximum d'absorption de la bande I à 355 nm dans le spectre enregistré dans le méthanol oriente bien vers un flavonoïde substitué en 3.
- L'addition de NaOH provoquant un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +48$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, avec une augmentation de l'intensité, révèle la présence d'un OH libre en C-4'. Sur le même spectre, l'apparition d'une nouvelle bande à 327 nm indique la présence d'un OH libre en position 7, confirmée par l'effet bathochrome (8 nm) de la bande II dans NaOAc par rapport au spectre méthanolique.
- L'addition de AlCl₃ provoque un déplacement bathochrome ($\Delta\lambda = +40$ nm) de la bande I, par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, révèle la présence d'un OH en position 5.
- L'effet bathochrome de la bande I enregistré dans le milieu en comparant les spectres AlCl₃+HCl/MeOH ($\Delta\lambda = 41$ nm), confirme la présence d'un OH libre en 5.
- La comparaison entre les spectres AlCl₃/HCl et AlCl₃ montre qu'il n'y a pas de changement notable de la bande I, ainsi que l'effet bathochrome faible de la même bande dans NaOAc/H₃BO₃ par rapport au méthanol, laissent prévoir l'absence d'un système ortho dihydroxylé sur le cycle B.



Spectre 15-2a : Spectre d'absorption Visible MeOH (+NaOH) du composé 16

Spectre 15-2b : Spectre d'absorption UV-Visible MeOH (+AlCl₃ et AlCl₃ +HCl) du composé 16.



Spectre 15-2c : Spectre d'absorption UV-Visible MeOH (+AlCl₃ et AlCl₃ +H₃BO₃) du composé 16.

A ce stade de notre analyse, nous pouvons donc supposer la structure rapportée dans la Figure 52-1, les substituants R₁ et R₂ sont un glycosyle et un groupement méthoxyle.

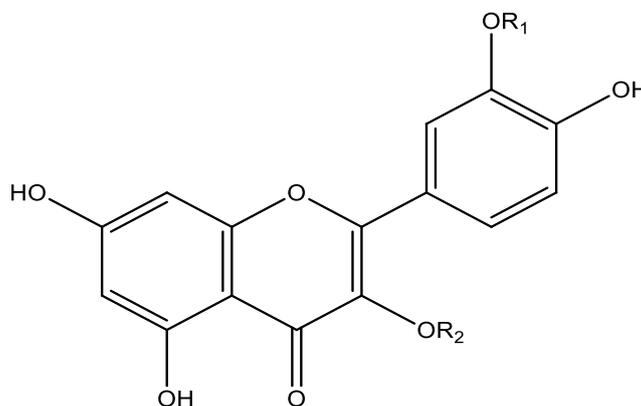


Figure 52-1 : structure partielle du composé 16

Tableau 37-1 : Les données de la série spectrale UV-Visible du composé 16

Réactifs	Bande I (nm)	Bande II (nm)	Nouvelle bande	Commentaire
MeOH	355	267		Flavonol 3OR
NaOH	403	275	327	OH libre en 4' OH libre en 7
NaOH+5min	403	275	327	
AlCl ₃	395	273		OH libre en 5
AlCl ₃ +HCl	396	275		OH libre en 5

			Pas de di-OH sur B
NaOAc	387	275	OH libre en 7
NaOAc+H ₃ BO ₃	361	271	Pas de di-OH sur B

Tableau 37-2 : Données de la spectroscopie de RMN ¹H (CD₃OD, 600 MHz, δppm) du composé 16

Déplacement chimiques (ppm)	Intégration	Multiplicité (J Hz)	Attribution
8,15	1H	<i>d</i> (2,24)	H-2'
7,51	1H	<i>dd</i> (7,91 ; 2,24)	H-6'
6,97	1H	<i>d</i> (7,90)	H-5'
6,39	1H	<i>d</i> (2,4)	H-8
6,21	1H	<i>d</i> (2,4)	H-6
5,28	1H	<i>d</i> (7,77)	H-1''
3,20-3,75	6H		H-2'',H-3'',H-4'',H-5'',H ₂ -6''
3,93	3H	<i>s</i>	O-CH ₃

L'hydrolyse acide du composé **16** mène à l'obtention du D-glucose qui a été révélé par co-chromatographie avec l'échantillon authentique.

La totalité de ces données confortées par la comparaison avec celles de la littérature, mènent à la structure de 5, 7, 4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O-glucosylflavone reportée dans la Figure 52-2. Ce composé est connu sous le nom isorhamnétine 3-O-glucoside ou bien cacticine, il a été détecté dans plusieurs espèce du genre *Fagonia* tels que : *F. indica*, *F. taeckholmiana* et *F. arabica* [26]. Biologiquement, l'isorhamnétine 3-O-glucoside est caractérisée par ses effets antioxydant et antiprolifératif [28].

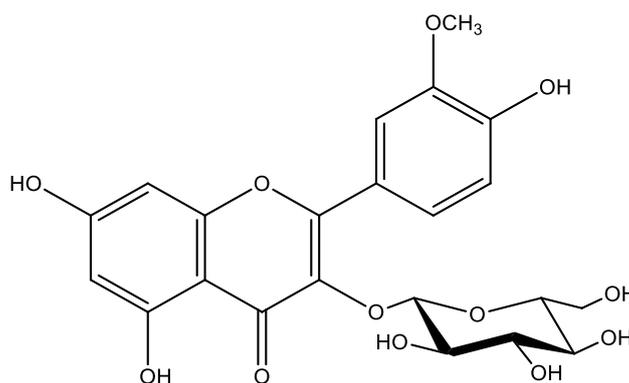
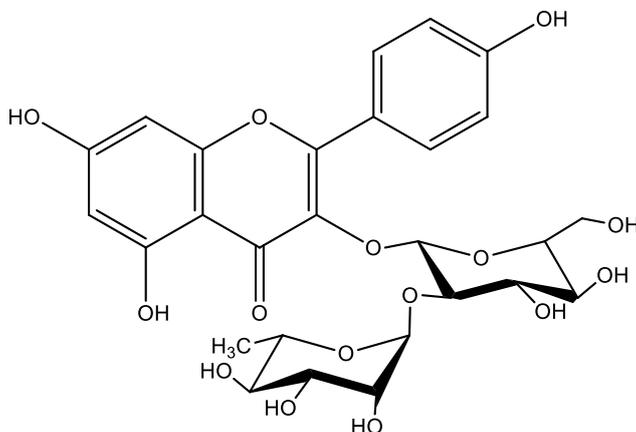


Figure 52-2 : la structure de composé **16**, isorhamnétine 3-O-glucoside

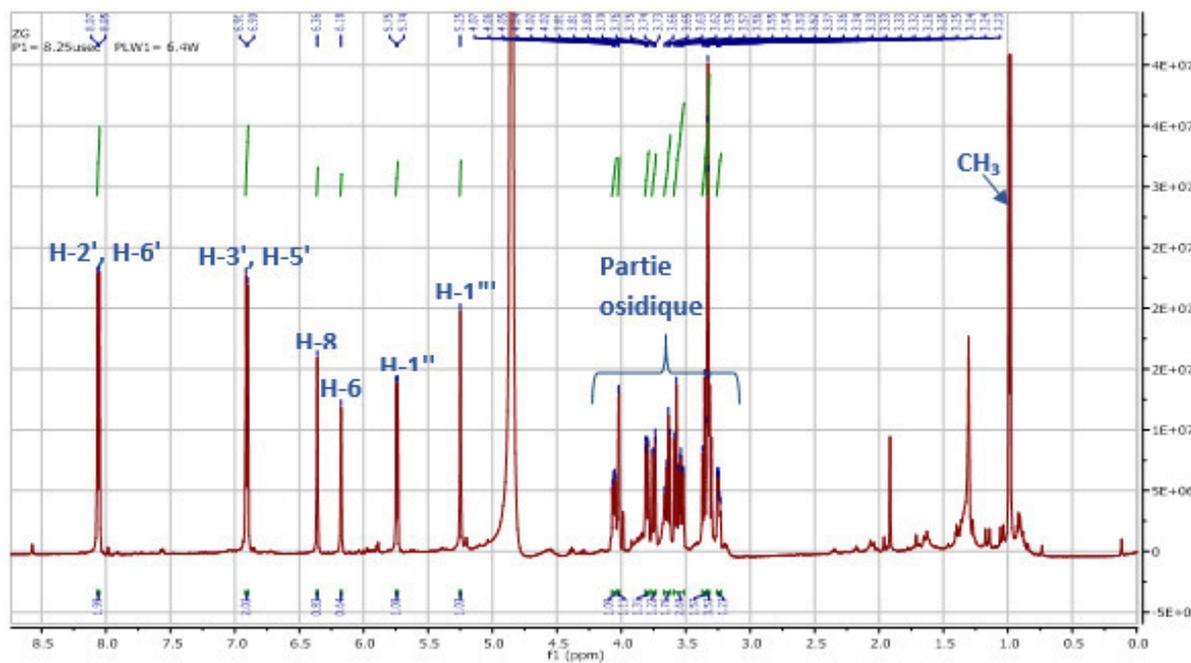
I.16. Elucidation structurale du composé 17



La fluorescence noire violette de ce composé sous la lumière de Wood ainsi que la coloration jaune après la révélation par l'anisaldéhyde indique qu'il s'agit d'une flavone ou un flavonol substitué en position 3.

L'examen du spectre RMN ^1H de ce composé, confirme qu'il s'agit bien d'un flavonoïde de type flavone ou flavonol comportant deux sucres, caractérisé par :

- ✓ Un doublet d'intégration 2H à δ_{H} 8,06 ppm ($J = 8,7 \text{ Hz}$) attribuable aux protons H-2' et H-6'.
- ✓ Un doublet d'intégration 2H à δ_{H} 6,91 ppm ($J = 8,7 \text{ Hz}$) attribuable aux protons H-3' et H-5'.
- ✓ Deux singulets d'intégration 1H chacun à δ_{H} 6,36 ppm et δ_{H} 6,18 ppm attribuable aux protons H-8 ou H-6 ou H-3
- ✓ Deux signaux d'intégration 1H chacun à δ_{H} 5,75 ppm ($d, J = 7,5 \text{ Hz}$) et δ_{H} 5,25 ppm (sl) attribuable aux deux protons anomériques H-1'' et H-1'''.
- ✓ un doublet à δ_{H} 0,98 ppm d'intégration 3H avec une constante de couplage $J = 6,6 \text{ Hz}$ caractéristique du méthyle du rhamnose, indiquant ainsi la présence du rhamnose.

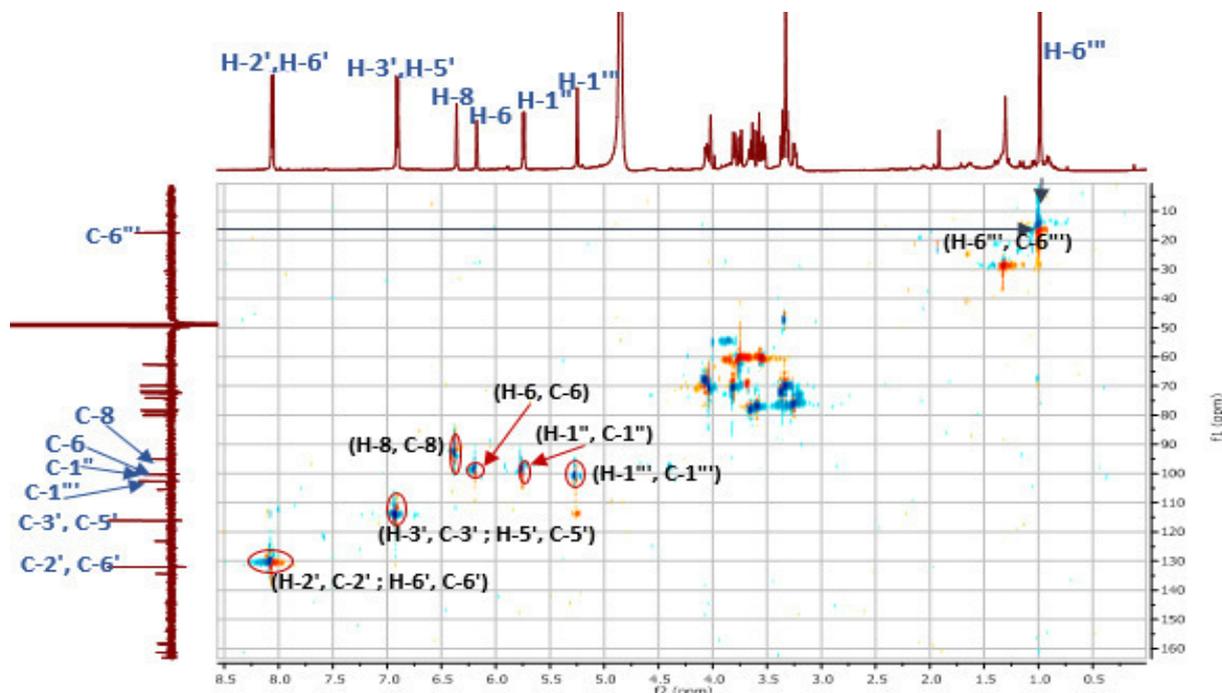


Spectre 16-1a : Spectre RMN ^1H (CD $_3$ OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 17.

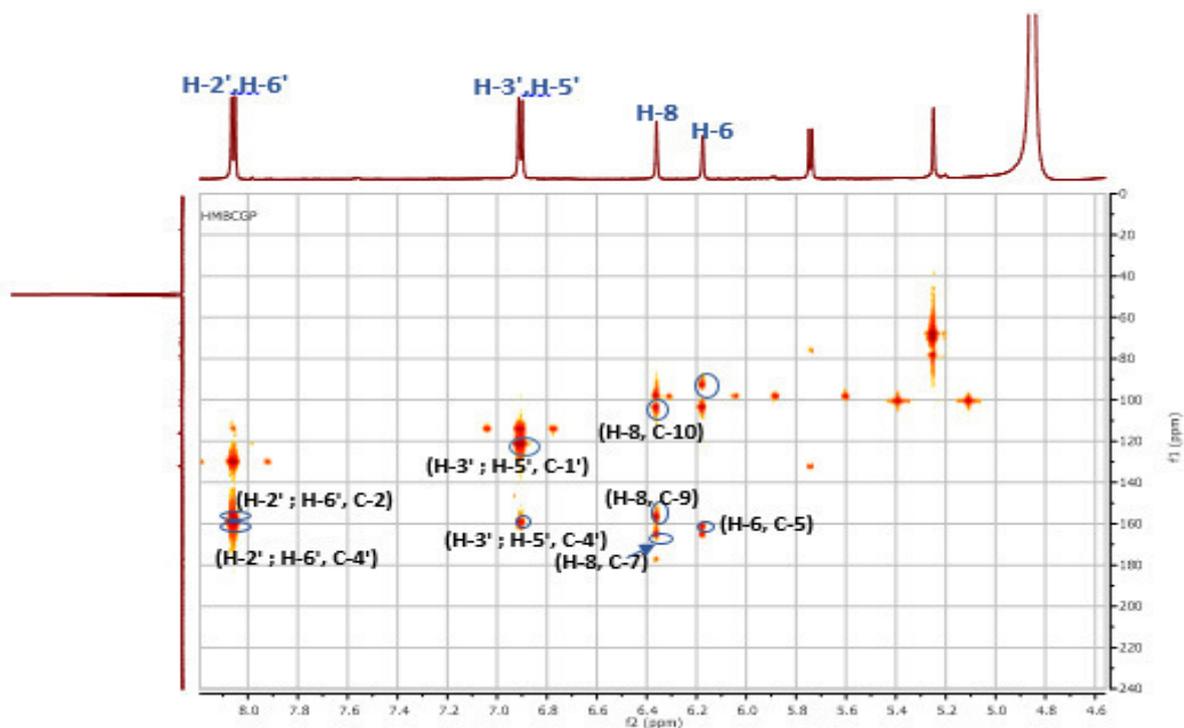
Le spectre relatif à l'expérience HSQC montre une tache de corrélation entre le proton à δ_{H} 6,36 ppm et le carbone à δ_{C} 94,94 ppm, la valeur de ce dernier est caractéristique du C-8, car ceux de C-3 et C-6 seraient plus élevés. Ceci est appuyé par la présence de corrélation dans le spectre HMBC entre le proton H-8 et le carbone quaternaire oxygéné à δ_{C} 165,0 ppm attribuable à la position C-7 vu la valeur de son déplacement chimique. Par ailleurs et toujours sur le spectre HMBC, le carbone quaternaire hydroxylé situé à δ_{C} 163,09 ppm attribuable à la position C-5 ne montre aucune corrélation avec le proton H-8 ce qui confirme l'attribution de ce dernier, et d'un autre côté, ce carbone (C-5) montre une corrélation avec le proton résonant à δ_{H} 6,18 ppm ce qui permet d'attribuer ce dernier à H-6. Ces attributions permettent de localisation de C-6, C-9 et C-10 à δ_{C} 100,24, δ_{C} 157,81 ppm et δ_{C} 105,51 ppm respectivement.

Les déplacements chimiques des carbones du cycle B sont aussi confirmés par l'analyse de spectre HMBC, qui montre une tache de corrélation entre le signal des protons H-3' et H-5' et le carbone quaternaire à δ_{C} 123,18 ppm indiquant que ce carbone attribuable à C-1', et les corrélations entre les protons H-2', H-3', H-5' et H-6' et le carbone quaternaire oxygéné situé à 161,33 ppm permettant son attribution à C-4'. Les autres carbones sont attribués grâce à leurs corrélations hétéronucléaires ^1J proton-carbone (HSQC) C-2', C-6' à 132,05 ppm et C-3', C-5' à 116,11 ppm.

Le carbone C-4 est localisé à δ_C 179,24 ppm. Le carbone C-2 est situé à δ_C 158,54 ppm grâce à sa corrélation avec H-2' et H-6' sur le spectre HMBC. Cette analyse permet enfin de localiser la partie osidique en C-3, ainsi que la présence du signal à δ_C 134,32 ppm attribuable à la position C-3 confirmant la glycosylation de cette position.



Spectre 16-2a : Spectre HSQC (CD₃OD, 600MHz, δ ppm) du composé 17.



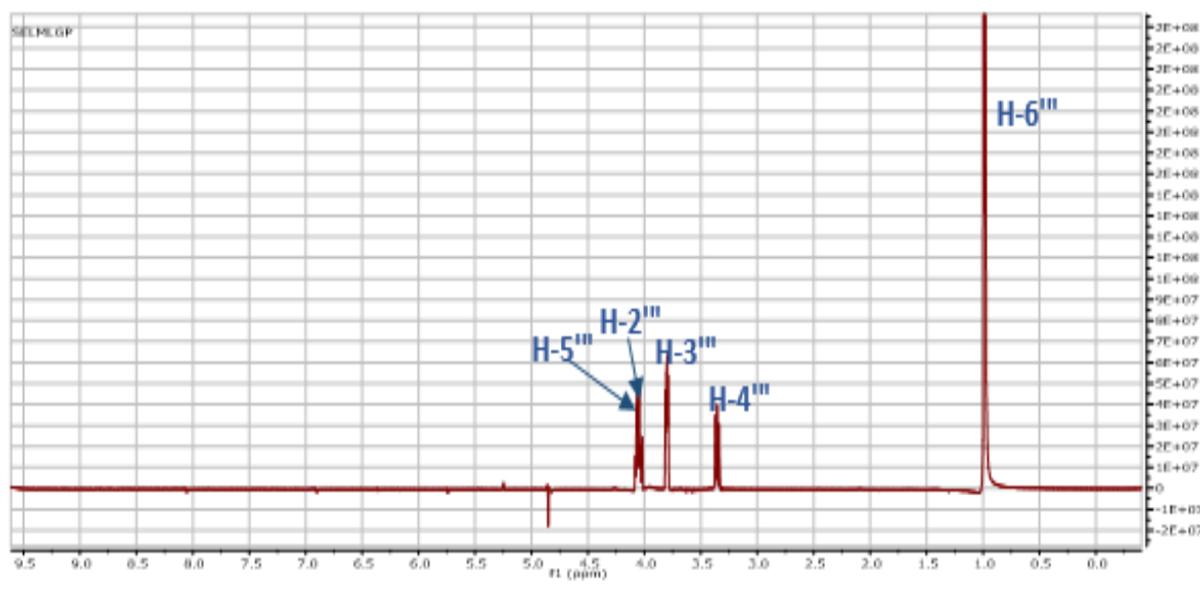
Spectre 16-3a : Spectre HMBC (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 17, étalement.

La combinaison des résultats des analyses des spectres COSY (2D), TOCSY (1D), HSQC (2D), a permis de distinguer aisément entre les signaux du rhamnose et l'autre sucre.

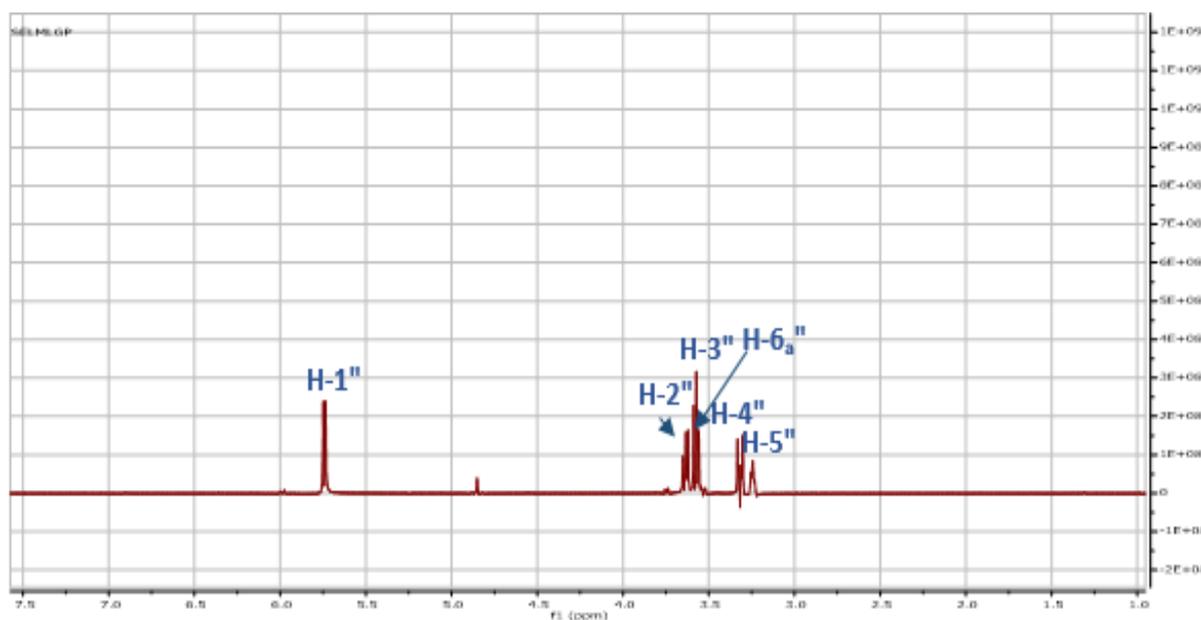
Partant du signal du méthyle du rhamnose qui résonne à δ_H 0,98 ppm (δ_C 17,52 ppm), ces analyses montrent que le proton anomérique du rhamnose résonne à δ_H 5,25 ppm (*sl*, δ_C 102,59 ppm), ceci orientent bien vers une jonction α -O- rhamnopyranoside. Les autres protons H-2''', H-3''', H-4''', H-5''', sont attribués aux signaux à δ_H 4,02 ; 3,80 ; 3,36 ; 4,07 ppm respectivement. Les carbones correspondants aux protons de ce rhamnose C-2''', C-3''', C-4''', C-5''', résonnent à δ_C 72,39 ; 74,06 ; 72,29 ; 69,91 ; ppm respectivement.

Par ailleurs, ces analyses révèlent la présence d'une jonction β -O-glucosidique déduite de la valeur des déplacements chimiques du carbone et du proton anomérique (δ_C 100,28 ppm ; δ_H 5,75 ppm) et de la valeur de la constante de couplage relevée dans le signal de H-1'' (*d*, $J = 7,5$ Hz). Partant du signal de ce proton anomérique (H-1''), les autres protons H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H₂-6'' sont attribués aux signaux à δ_H 3,63 ; 3,57 ; 3,32 ; 3,25 ; (3,53 et 3,74) ppm respectivement, et les carbones correspondants à ces protons soient C-2'', C-3'', C-4'', C-5'', C-6'' résonnent aux δ_C 80,05 ; 78,90 ; 71,82 ; 78,32 ; 62,61 ppm respectivement.

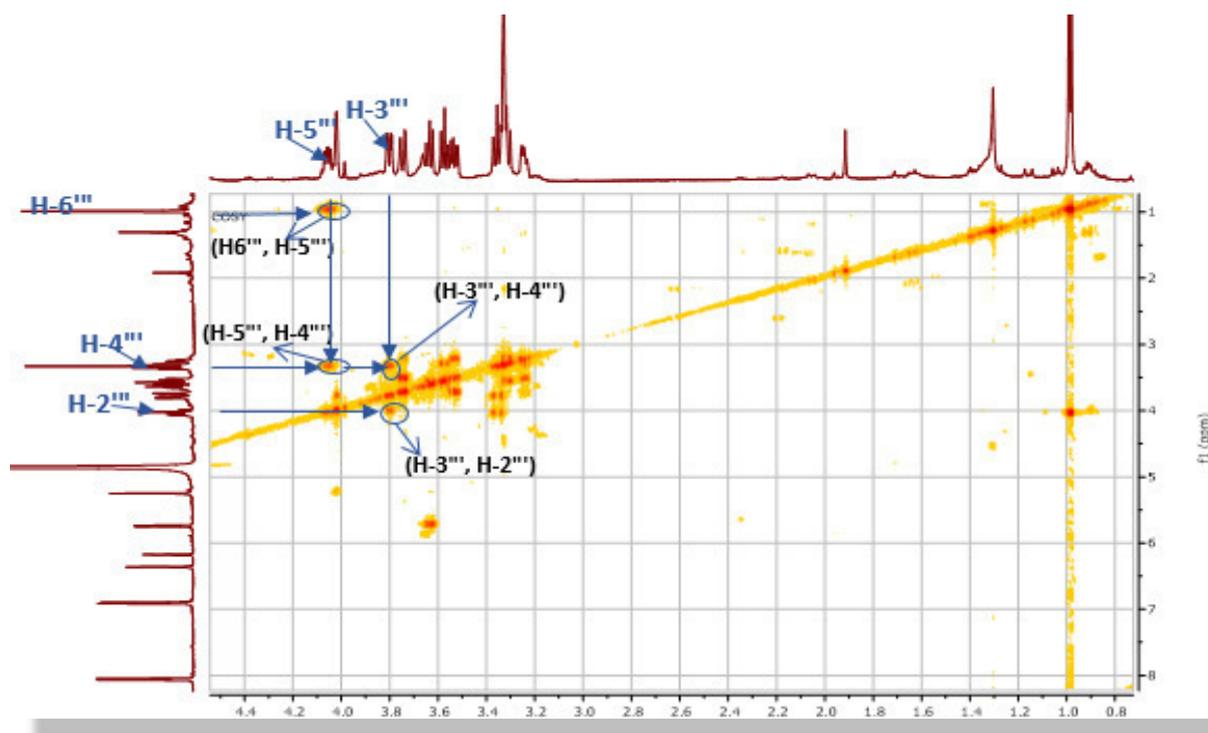
Sur le spectre relatif à l'expérience HMBC, la corrélation entre le carbone C-3 du flavonoïde et le proton anomérique (H-1'') de l'entité glucopyranosyle, mène à localiser cette entité glucopyranosyle en position C-3. Par ailleurs la valeur du déplacement chimique de carbone C-2'' additionné a sa corrélation dans le spectre HMBC avec le proton anomérique du groupement rhamnopyranosyle H-1''' orientent bien vers la substitution du groupement glucopyranosyle par le groupement rhamnopyranosyle en C-2''. Ceci est appuyé par le fait que l'on observe sur le spectre relatif à l'expérience ROESY (1D) une interaction entre H-1'''/ H-2''.



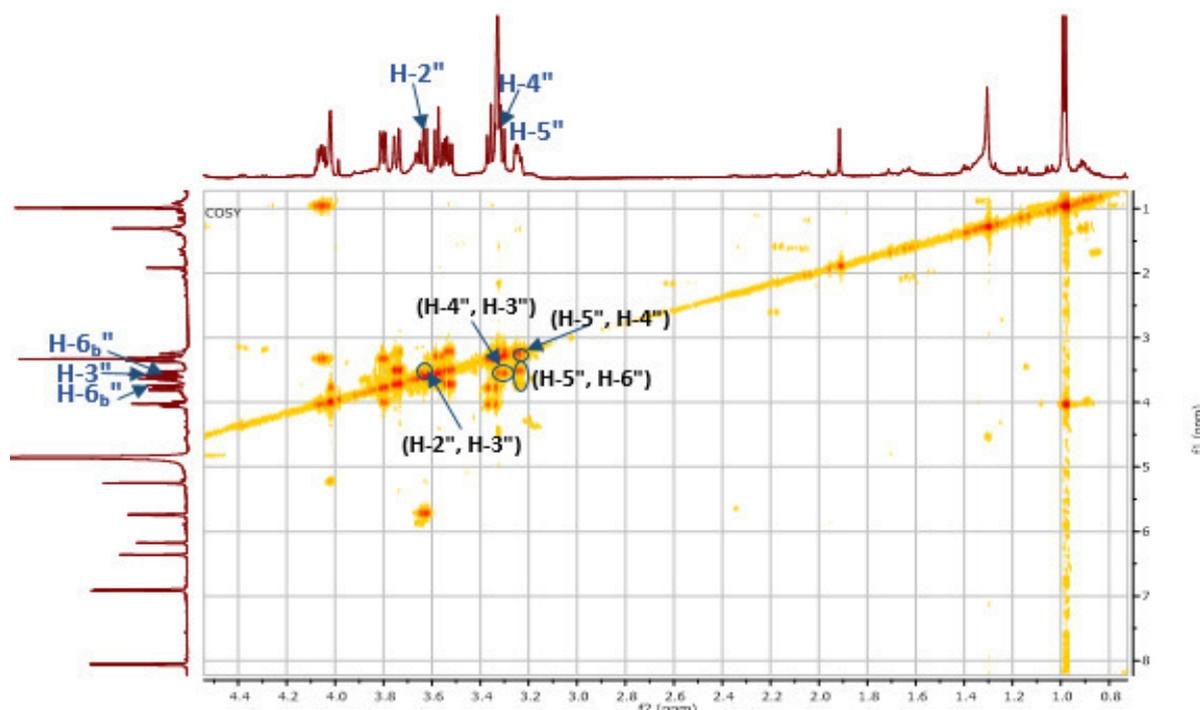
Spectre 16-4a : Spectre TOCSY (1D) (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 17.



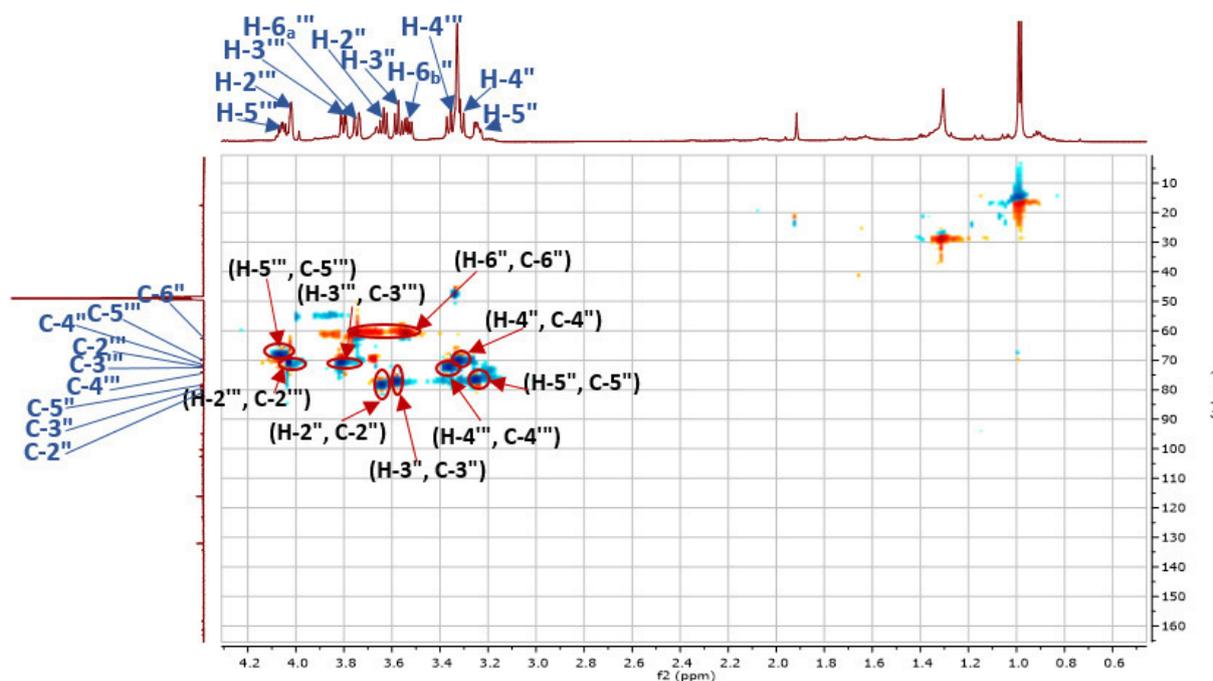
Spectre 16-4b : Spectre TOCSY (1D) (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 17.



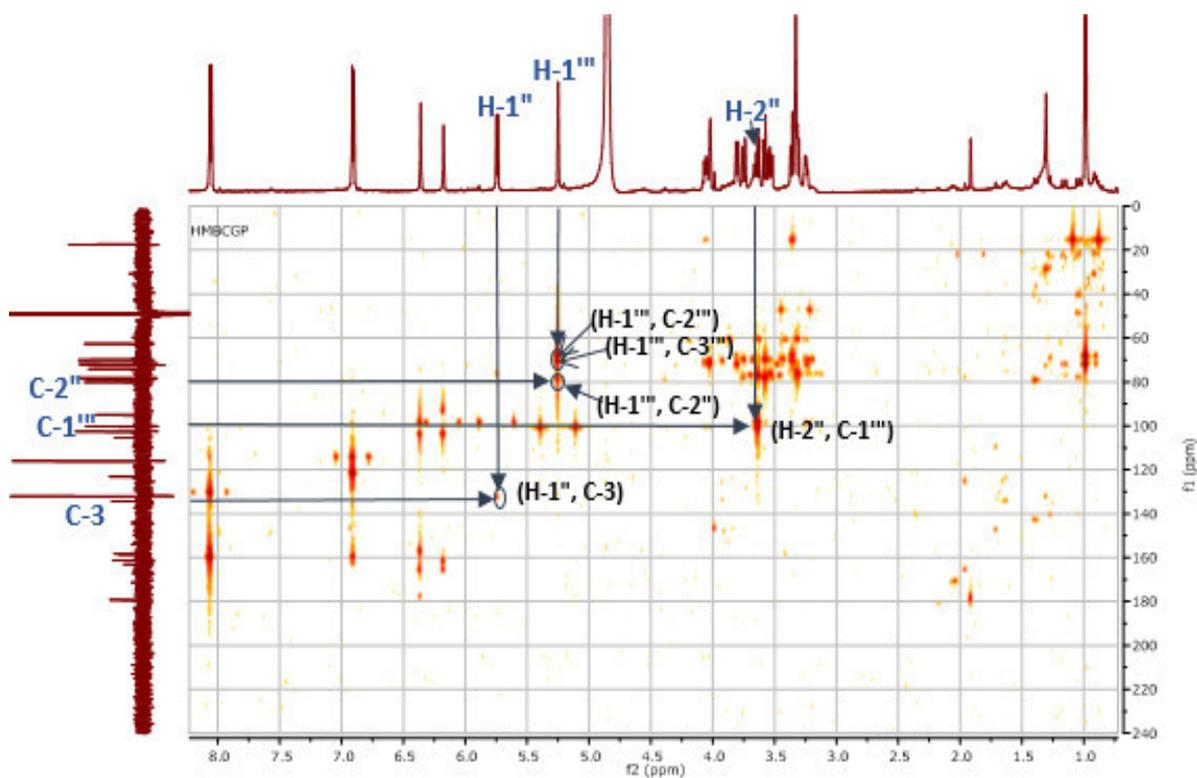
Spectre 16-5a : Spectre COSY (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 17, étalement.



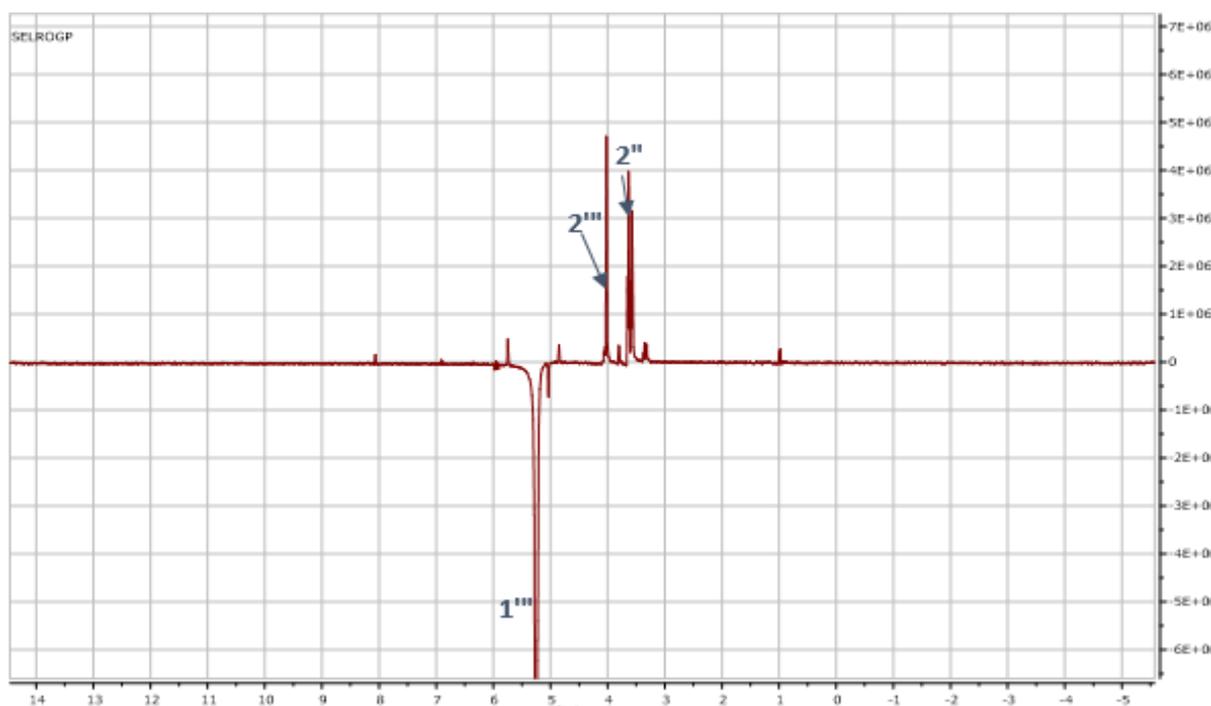
Spectre 16-5b : Spectre COSY (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 17, étalement.



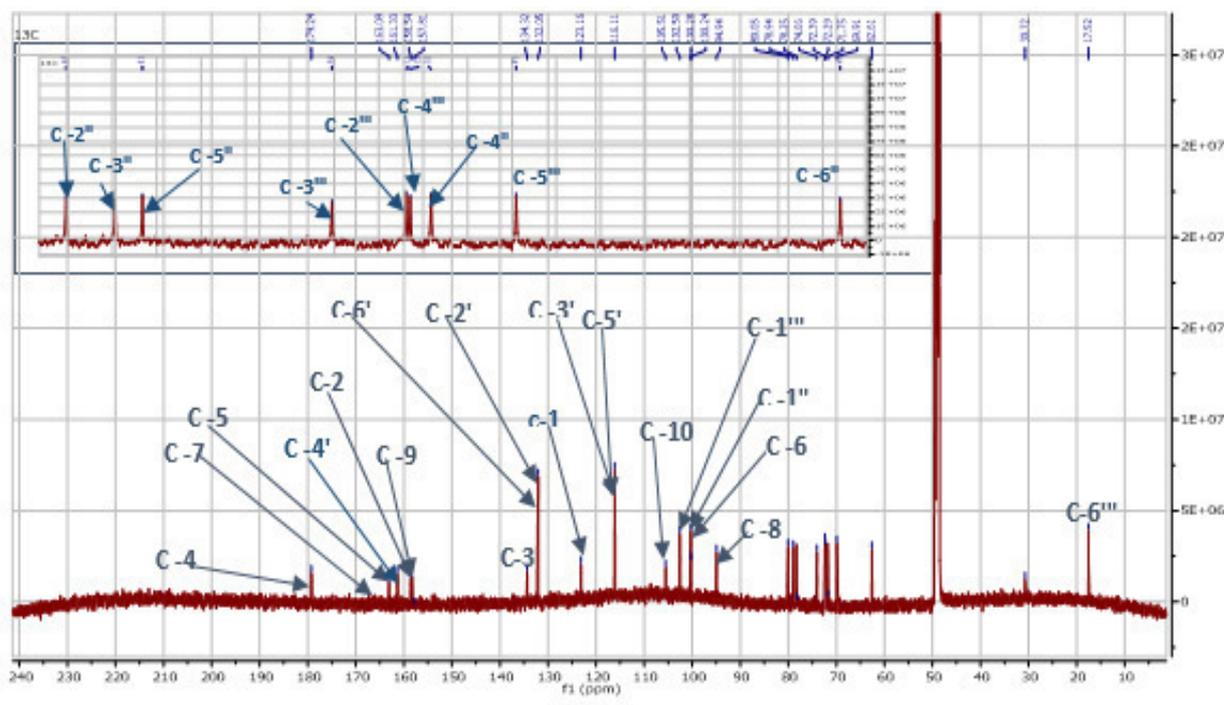
Spectre 16-2b : Spectre HSQC (CD₃OD, 600MHz, δ ppm) du composé 17, étalement.



Spectre 16-3b : Spectre HMBC (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 17.



Spectre 16-6 : Spectre RMN ROESY (1D) (CD₃OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 17.



Spectre 16-7 : Spectre RMN ¹³C (CD₃OD, 150 MHz, δ ppm) du composé 17.

Les données relatives aux spectres de RMN ¹H et ¹³C de ce composé ont reportées dans le Tableau 38.

Tableau 38 : Données de la spectroscopie de RMN ^1H (CD $_3$ OD, 600 MHz) et RMN ^{13}C (CD $_3$ OD, 600MHz) du composé **17**.

La position	δ_{H} (ppm)	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
2	-	-	157,81
3	-	-	134,32
4	-	-	179,24
5	-	-	163,09
6	6,18	<i>s</i>	100,24
7	-	-	165,00
8	6,36	<i>s</i>	94,94
9	-	-	157,81
10	-	-	105,51
1'	-	-	123,18
2',6'	8,06	<i>d</i> (8,7)	132,05
3',5'	6,91	<i>d</i> (7,7)	116,11
4'	-	-	161,33
β -D-glucopyranoside			
1''	5,75	<i>d</i> (7,5)	100,28
2''	3,63	<i>dd</i> (7,7 ; 9,0)	80,05
3''	3,57	<i>t</i> (9,0)	78,90
4''	3,32*	-	71,82
5''	3,25	<i>m</i>	78,32
6''	3,53	<i>dd</i> (6,0 ; 12,0)	62,61
	3,74	<i>dd</i> (1,9 ; 12,0)	
α -L-rhamnopyranosyl			
1'''	5,25	<i>sl</i>	102,59
2'''	4,02	<i>dl</i> (1,4)	72,39
3'''	3,80	<i>dd</i> (3,28 ; 9,59)	74,06
4'''	3,36	<i>t</i> (9,6)	72,29
5'''	4,07	<i>m</i>	69,91
6'''	0,98	<i>d</i> (6,6)	17,52

* : Recouvert par le signal du CD $_3$ OD

Ces données mènent à la structure de kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2) β -D-glucopyranoside (Figure 53). Ce composé a été isolé auparavant de *Paris verticillata* M. v. *BIEB.* (Liliaceae) [29]. Il est nouveau pour la famille des Zygophyllaceae.

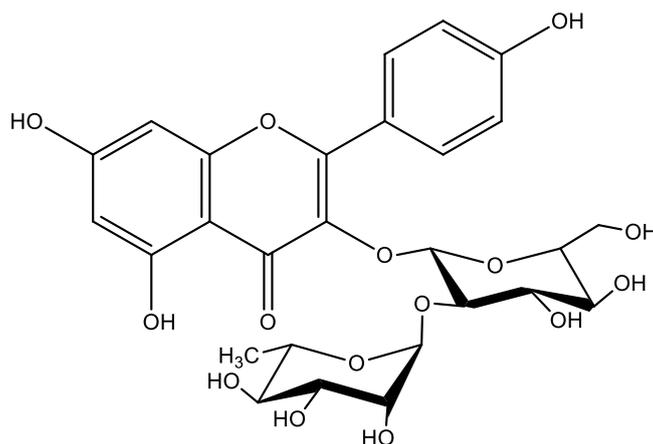
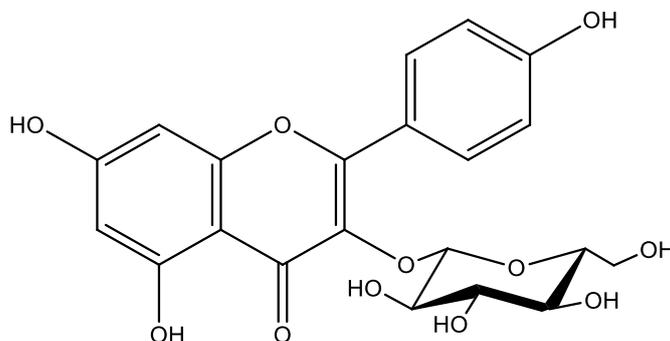


Figure 53 : structure du composé **17**, kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2) β -D-glucopyranoside

I.17.Elucidation structurale du composé 18

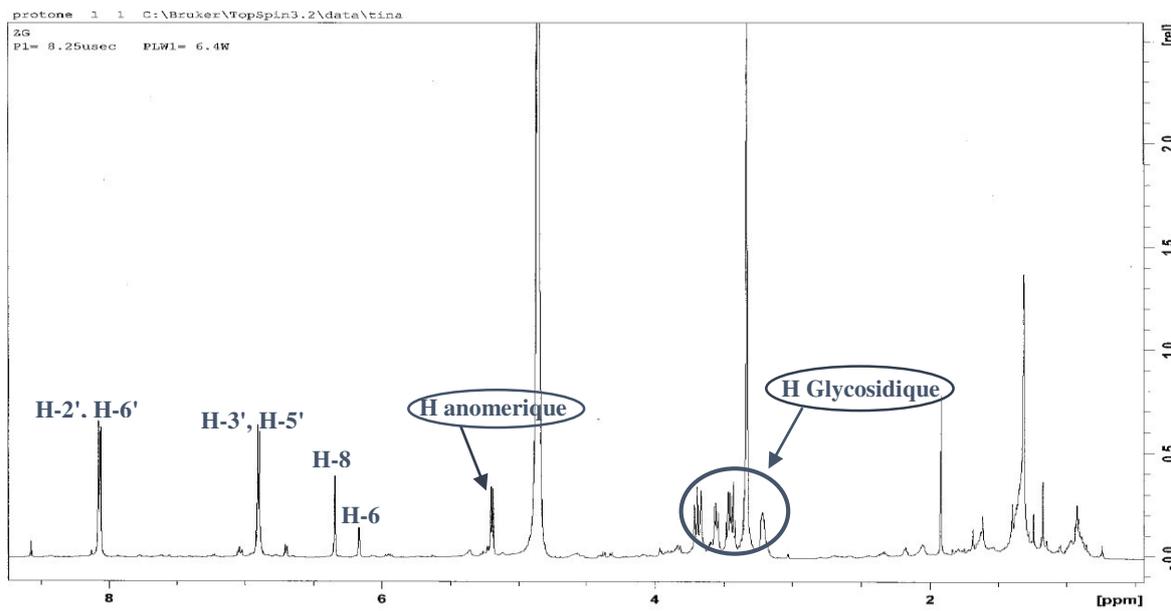


Le Composé **18**, a été isolé sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. La fluorescence noire violette sous la lumière de Wood indique qu'il s'agit d'une flavone ou d'un flavonol 3-OR.

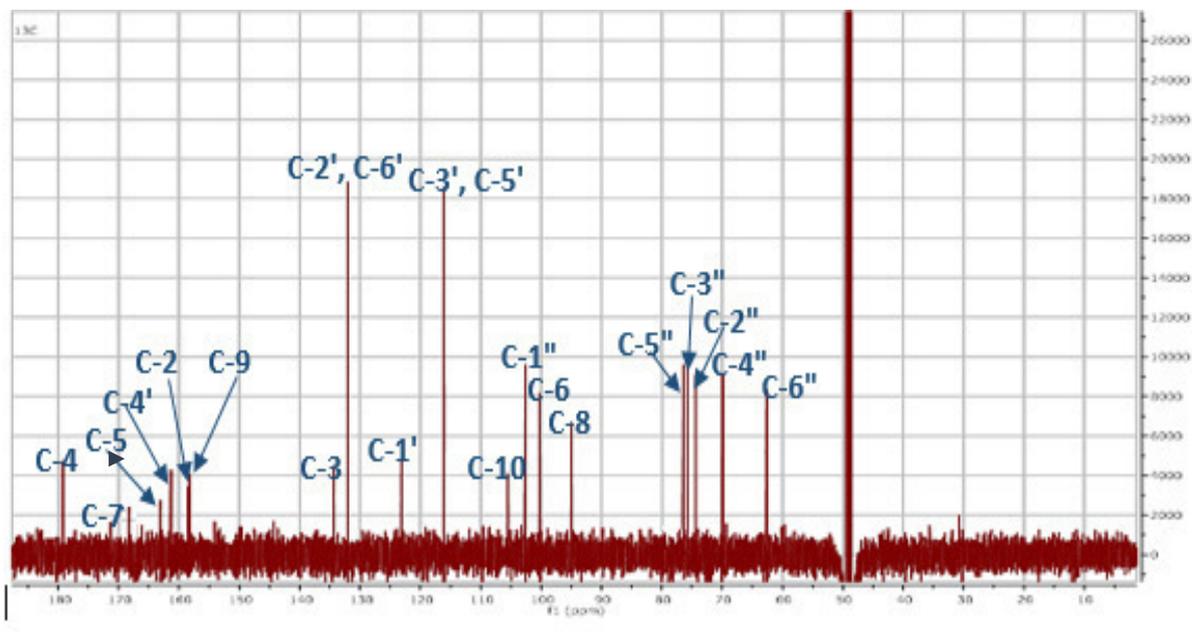
L'examen simultané des spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C enregistré dans le CD_3OD , montre qu'il s'agit bien d'un flavonoïde de type flavone ou flavonol caractérisé par :

- ✓ une bi-substitution para du cycle B déduite de l'existence de deux doublets avec un couplage ortho à δ_{H} 8,12 ppm (δ_{C} 132,1ppm, 2H, $J= 8,5 \text{ Hz}$) et 6,80 ppm (δ_{C} 116,4 ppm, 2H, $J= 8,5 \text{ Hz}$), attribuable aux protons H-2', H-6' et H-3', H-5' respectivement.
- ✓ la présence de deux doublets sur le cycle A avec un couplage méta et intégration 1H chacun, à δ_{H} 6,10 ppm (δ_{C} 100,10 ppm, $J= 2,0 \text{ Hz}$) et 6,28 ppm (δ_{C} 94,98 ppm, $J= 2,0 \text{ Hz}$), attribuable aux protons H-6 et H-8 respectivement.

- ✓ Un groupement β -D-glucopyranoside déduit de la présence d'un doublet à δ_H 5,15 ppm (101,98 ppm, $J = 7,4$ Hz) attribuable au proton anomérique et la présence de signaux osidiques situés entre δ_H 3,15-3,61 ppm corrélant avec des carbones dans le spectre HSQC à δ_C 74,80, 76,87, 70,01, 77,10 et 62,54 ppm
- ✓ Une glycosylation en position C-3 grâce à la présence d'un signal à δ_C 134,9 ppm



Spectre 17-1 : Spectre RMN 1H (CD $_3$ OD, 600 MHz, δ ppm) du composé 18



Spectre 17-2 : Spectre RMN ^{13}C (CD $_3$ OD, 150 MHz, δ ppm) du composé 18

Tenant compte des résultats de la littérature et tous ces arguments [30], le composé 18 est le Kaempferol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (Figure 54), connu sous le nom l'astragaline. Ce composé est un puissant agent anti-inflammatoire [31], isolé de plusieurs espèces du genre *Fagonia* notamment *F.cretica*, *F.scabra* Forsskal, *F.schweinfurthii*, *F. sinaica*, *F. olivieri*, *F. schimperi*, *F. paulayana*, *F. indica* [26], et d'autres espèces de la famille des Zygophyllaceae.

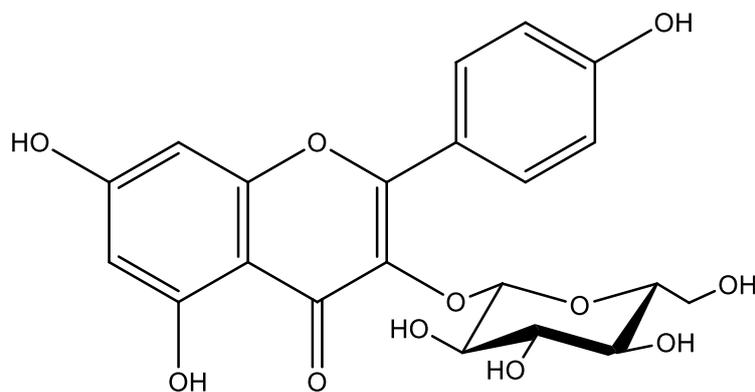


Figure 54 : la structure du composé 18, l'astragaline

Tableau 39 : Données de la spectroscopie de RMN ^1H (CD $_3$ OD, 600 MHz) et RMN ^{13}C (CD $_3$ OD, 125 MHz) du composé 18

La position	δ_{H} (ppm)	J (Hz)	δ_{C} (ppm)
2	-	-	157,80
3	-	-	134,20
4	-	-	179,00
5	-	-	162,88
6	6,18	<i>s</i>	100,10
7	-	-	166,10
8	6,36	<i>s</i>	94,98
9	-	-	157,75
10	-	-	106,00
1'	-	-	123,20
2',6'	8,06	<i>d</i> (8,77)	132,10
3',5'	6,91	<i>d</i> (7,76)	116,40
4'	-	-	161,98
1''	5,75	<i>d</i> (7,59)	101,98

II. Activité biologique

II.1. Activité antibactérienne

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne (Figure 55) de l'extrait acétate d'éthyle de *Fagonia longispina* contre les souches bactériennes à Gram positif (*Staphylococcus aureus*), et Grams négatifs (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), ont montré la sensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de l'extrait testé, indiquée par la valeur du diamètre de la zone d'inhibition (14 mm), alors que la valeur du diamètre de la zone d'inhibition d'*Escherichia coli* (10 mm) indique que la sensibilité est moindre, tandis que la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* est nulle avec un diamètre de la zone d'inhibition de 2 mm. (figure 55)

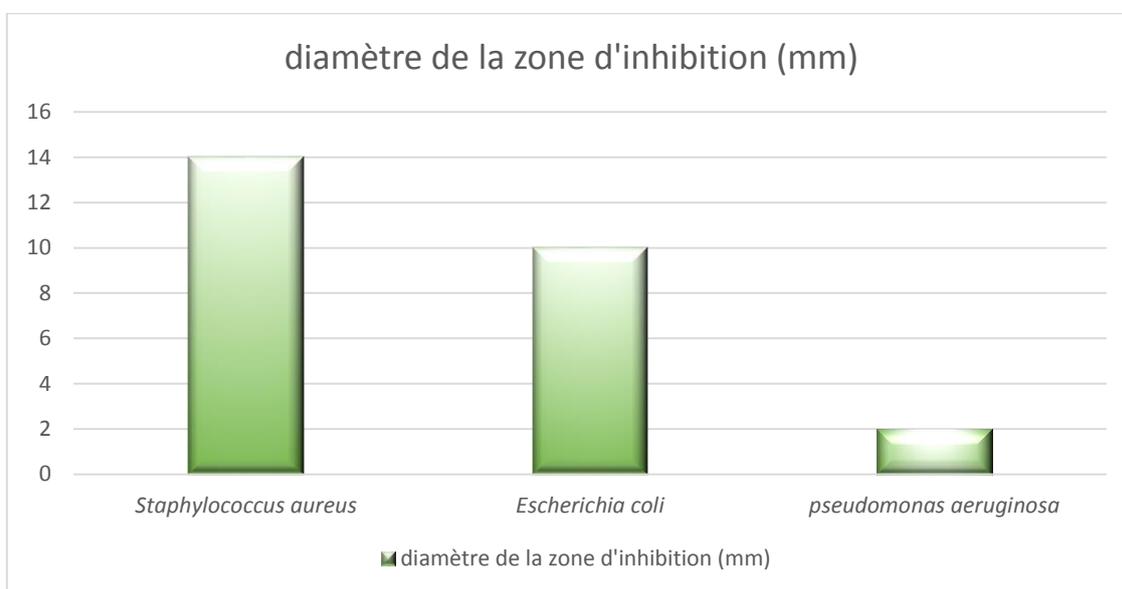


Figure 55: diamètre des zone d'inhibition (mm) de l'extrait acétate d'éthyle de *Fagonia longispina* vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

II.2. Activité antioxydante

Dans cette étude, les différents extraits de *Fagonia longispina* ont présenté un pourcentage (%) de l'effet de scavenger dépendant de la concentration d'extrait. Les activités anti scavenger vis-à-vis du DPPH des extraits n-butanol, chloroformique et l'exsudat chloroformique sont assez faibles avec des valeurs IC_{50} de $159,98 \pm 0,2$; $289,02 \pm 5,35$; et $489,69 \pm 2,06$ $\mu\text{g} / \text{ml}$ respectivement. L'extrait acétate d'éthyle donne une IC_{50} de $114,46 \pm 2,05$, montrant une activité relativement plus importante. Néanmoins, les quatre extraits de *F. longispina* se

montrent nettement moins actifs que l'activité antioxydante de l'acide ascorbique utilisé en standard avec un $IC_{50} = 5 \mu\text{g} / \text{ml}$.

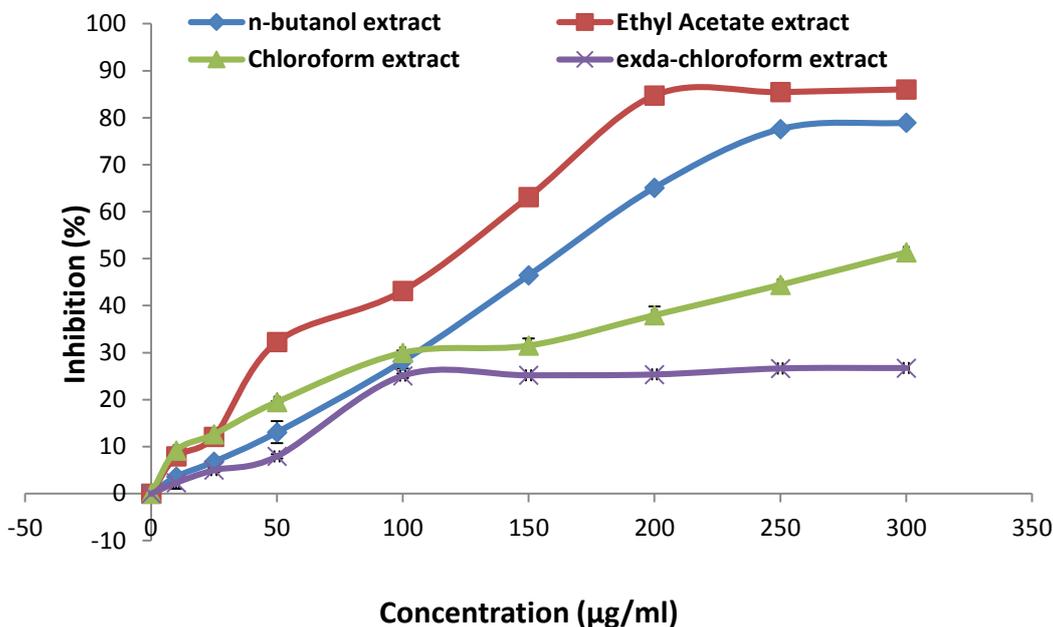


Figure 56 : Pourcentage de l'activité antiradicalaire (Scavenger) DPPH des différents extraits de *Fagonia longispina*. (Moyenne \pm SD, n = 3)

II.3. Dosage des composés phénoliques totaux

De nombreuses études ont rapporté une corrélation positive entre les composés phénoliques dans les plantes et leurs activités antioxydantes, ce qui montre l'importance des composés phénoliques comme antioxydants [5]. Cette étude montre que l'extrait acétate d'éthyle de *F. longispina* a la teneur phénolique la plus élevée avec 210 μg d'équivalents d'acide gallique / mg d'extrait végétal, suivie par ordre décroissant de l'extrait n-butanol et de l'extrait chloroformique avec 156 et 108 μg de GAE / mg extrait respectivement. Alors que l'exsudat chloroformique possède la plus faible quantité avec 25 μg de GAE / mg d'extrait.

II.4. Dosage des composés flavonoïdes totaux

Bien connu que les flavonoïdes montrent une activité antioxydante, ainsi que leurs effets sur la nutrition et la santé humaine sont considérables. Les mécanismes d'action des flavonoïdes sont par processus de balayage ou de chélation [6]. Les résultats indiquent que les extraits de n-butanol et d'acétate d'éthyle possèdent une grande quantité de flavonoïdes avec $81,52 \pm 15,18$ et $68,08 \pm 12,50$ μg d'équivalent quercétine / mg d'extrait respectivement, comparativement à

l'exsudat chloroformique et l'extrait chloroformique qui sont présentés moindre quantité avec $27,05 \pm 2,90$ et $27,64 \pm 0,52$ μg de QE / mg d'extrait végétal respectivement.

Tableau 40 : l'effet scavenger du radical DPPH et la quantité de teneur totale en phénol et flavonoïdes des différents extraits (acétate d'éthyle, n-butanol, chloroformique et exsudat chloroformique) de *Fagonia longispina*

Extrait	Total phénolique	Total flavonoïdes	IC50 DPPH
Acetate d'éthyle	210 μg GAE/ mg extrait	68.08 \pm 12.50 μg QE/ mg extrait	114,46 \pm 2,05 $\mu\text{g/ml}$.
n-Butanol	156 μg GAE/ mg extrait	81.52 \pm 15.18 μg QE/ mg extrait	159,98 \pm 0,2 $\mu\text{g/ml}$.
Chloroformique	108 μg GAE /mg extrait	27.64 \pm 0.52 μg QE/mg extrait	289,02 \pm 5,35 $\mu\text{g/ml}$.
Exsudat chloroformique	25 μg GAE/mg extrait	27.05 \pm 2.90 QE/mg extrait	489,69 \pm 2,06 $\mu\text{g/ml}$

III. Conclusion

L'investigation phytochimique de *Fagonia longispina*, espèce endémique du sahara appartenant à la famille des Zygophyllaceae, a permis d'isoler et d'identifier 18 composés par utilisation des différentes méthodes spectroscopiques (RMN 1D et 2D, MS et UV), il s'agit de :

- ◆ Cinq monoterpènes, dont un nouveau.
 - Δ -2-carène-6-ol-6-O-(2',6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside.
 - (3S)-3-O-(β -D-glucopyranosyl)-3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol.
 - (1S,2S,4R)-*p*-menthane-1,2,8-triol 2-O- β -D-glucopyranoside.
 - 3,7-dimethyloct-1-ene-3,6,7-triol.
 - (1S,2S,4R)-*p*-menth-8-ene-1,2-diol 2-O- β -D-glucopyranoside.
- ◆ Sept flavonoïdes:
 - Cirsimaritine.
 - Hispiduline.
 - (2R,3R)-dihydrokaempferol 3-O- β -D-glucoside.
 - Quercétine 3-O- β -D-glucopyranoside
 - Isorhamnétine 3-O-glucopyranoside.
 - Kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2) β -D-glucopyranoside.
 - Astragaline.

- ◆ Quatre dérivés phénoliques.
 - Acide p-coumarique
 - Acide para-hydroxy benzoïque.
 - Centrololol.
 - Benzyl-O- β -D-glucoyranoside
- ◆ Deux stérols.
 - Stigmastérol
 - β - Sitostérol

Tous ces composés sont nouveaux pour l'espèce *Fagonia longispina*, dont neuf composés isolés pour la première fois dans la famille des Zygophyllaceae et un nouveau composé décrit pour la première fois dans la littérature.

Biologiquement, l'extrait acétate d'éthyle possède un bon effet antibactérien, ainsi qu'il est une bonne source des composés antioxydants. De même l'estimation quantitative des phénols et des flavonoïdes totaux a montré que l'extrait d'acétate a une forte teneur par rapport aux autres extraits. Cependant l'effet synergétique de ces composés ne semble pas être positif vu l'effet antioxydant relativement moyen observé pour cet extrait.

Références bibliographiques

- [1] Pierre, L. L.; Moses, M. N., Isolation and Characterisation of stigmasterol and β -sitosterol from *Odontonema strictum* (Acanthaceae). *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences* **2015**, *2*, 88-96.
- [2] Maas, D. D.; Blagg, M.; Wiemer, D. F., Synthesis and reactions of (-)- and (+)-carenones. *The Journal of Organic Chemistry* **1984**, *49*, 853-856.
- [3] Xu, Q.-L.; Zhang, M.; Zhou, Z.-Y.; Liu, W.-X.; Wan, F.-H.; Wang, H.-F.; Tan, J.-W., Two new carene-type monoterpenes from aerial parts of *Ageratina adenophora*. *Phytochemistry Letters* **2014**, *9*, 123-126.
- [4] Abdelhalim, A.; Karim, N.; Chebib, M.; Aburjai, T.; Khan, I.; Johnston, G. A.; Hanrahan, J., Antidepressant, anxiolytic and antinociceptive activities of constituents from *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* **2015**, *18*, 448-459.
- [5] Shin, M.-S.; Park, J. Y.; Lee, J.; Yoo, H. H.; Hahm, D.-H.; Lee, S. C.; Lee, S.; Hwang, G. S.; Jung, K.; Kang, K. S., Anti-inflammatory effects and corresponding mechanisms of cirsimaritin extracted from *Cirsium japonicum* var. *maackii* Maxim. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2017**, *27*, 3076-3080.
- [6] Bicha, S.; Bentamene, A.; Benaissa, O.; Benayache, S.; Garcia, V.; Leon, F.; Brouard, I.; Bermejo, J.; Benayache, F., Flavonoid aglycones from *Centaurea maroccana*. *Chemistry of Natural Compounds* **2011**, *47*, 105-106.
- [7] Seo, Y.; Shin, J.; Cha, H. J.; Kim, Y.-A.; Ahn, J.-W.; Lee, B.-J.; Lee, D. S., A new monoterpene glucoside from *Portulaca oleracea*. *BULLETIN-KOREAN CHEMICAL SOCIETY* **2003**, *24*, 1475-1477.
- [8] Ishikawa, T.; Kudo, M.; Kitajima, J., Water-soluble constituents of dill. *Chemical and pharmaceutical bulletin* **2002**, *50*, 501-507.
- [9] Lin, Y.-C.; Hung, C.-M.; Tsai, J.-C.; Lee, J.-C.; Chen, Y.-L. S.; Wei, C.-W.; Kao, J.-Y.; Way, T.-D., Hispidulin potently inhibits human glioblastoma multiforme cells through activation of AMP-activated protein kinase (AMPK). *Journal of agricultural and food chemistry* **2010**, *58*, 9511-9517.
- [10] Kavvadias, D.; Sand, P.; Youdim, K. A.; Qaiser, M. Z.; Rice-Evans, C.; Baur, R.; Sigel, E.; Rausch, W. D.; Riederer, P.; Schreier, P., The flavone hispidulin, a benzodiazepine receptor ligand with positive allosteric properties, traverses the blood-brain barrier and exhibits anticonvulsive effects. *British journal of pharmacology* **2004**, *142*, 811-820.
- [11] Khamar, D.; Devkar, R.; Reshma, K.; Shreedhara, C.; Setty, M. M.; Hegde, S., Enhanced hispidulin production *in vitro* from callus culture of *millingtonia hortensis* Lf. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences* **2013**, *3*, 633-639.
- [12] Manns, D., Linalool and cineole type glucosides from *Cunila spicata*. *Phytochemistry* **1995**, *39*, 1115-1118.
- [13] Baderschneider, B.; Winterhalter, P., Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 2788-2798.
- [14] Kiliç, I.; Yeşiloğlu, Y., Spectroscopic studies on the antioxidant activity of p-coumaric acid. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2013**, *115*, 719-724.
- [15] Amalan, V.; Vijayakumar, N.; Indumathi, D.; Ramakrishnan, A., Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of p-coumaric acid in diabetic rats, role of pancreatic GLUT 2: *In vivo* approach. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2016**, *84*, 230-236.
- [16] Umeokoli, B. O.; Muharini, R.; Okoye, F. B.; Ajiwe, V. I.; Akpuaka, M. U.; Lin, W.; Liu, Z.; Proksch, P., New C-methylated flavonoids and α -pyrone derivative from roots of *Talinum triangulare* growing in Nigeria. *Fitoterapia* **2016**, *109*, 169-173.
- [17] Cueva, C.; Moreno-Arribas, M. V.; Martín-Álvarez, P. J.; Bills, G.; Vicente, M. F.; Basilio, A.; Rivas, C. L.; Requena, T.; Rodríguez, J. M.; Bartolomé, B., Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in microbiology* **2010**, *161*, 372-382.

- [18] Ma, Y.-Q.; Ye, X.-Q.; Fang, Z.-X.; Chen, J.-C.; Xu, G.-H.; Liu, D.-H., Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of *Satsuma mandarin* (Citrus unshiu Marc.) peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, *56*, 5682-5690.
- [19] Šmite, E.; Lundgren, L. N.; Andersson, R., Arylbutanoid and diarylheptanoid glycosides from inner bark of *Betula pendula*. *Phytochemistry* **1993**, *32*, 365-369.
- [20] Ryu, H.-W.; Lee, D.-H.; Shin, D.-H.; Kim, S. H.; Kwon, S. H., Aceroside VIII is a new natural selective HDAC6 inhibitor that synergistically enhances the anticancer activity of HDAC inhibitor in HT29 cells. *Planta medica* **2015**, *81*, 222-227.
- [21] Yonezawa, T.; Lee, J.-W.; Akazawa, H.; Inagaki, M.; Cha, B.-Y.; Nagai, K.; Yagasaki, K.; Akihisa, T.; Woo, J.-T., Osteogenic activity of diphenyl ether-type cyclic diarylheptanoids derived from *Acer nikoense*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2011**, *21*, 3248-3251.
- [22] Kang, J.; Xie, C.; Li, Z.; Nagarajan, S.; Schauss, A. G.; Wu, T.; Wu, X., Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Chemistry* **2011**, *128*, 152-157.
- [23] Matsumura, T.; Ishikawa, T.; Kitajima, J., Water-soluble constituents of caraway: carvone derivatives and their glucosides. *Chemical and pharmaceutical bulletin* **2002**, *50*, 66-72.
- [24] Valentová, K.; Vrba, J.; Bancířová, M.; Ulřichová, J.; Křen, V., Isoquercitrin: pharmacology, toxicology, and metabolism. *Food and chemical toxicology* **2014**, *68*, 267-282.
- [25] Ibrahim, L. F.; Kawashty, S. A.; El-Hagrassy, A. M.; Nassar, M. I.; Mabry, T. J., A new kaempferol triglycoside from *Fagonia taeckholmiana*: cytotoxic activity of its extracts. *Carbohydrate research* **2008**, *343*, 155-158..
- [26] Saleh, N. A.; El-Hadidi, M. N.; Al-Wakeel, S. A., Phytochemistry and phylogenetic affinities among Egyptian species of *Fagonia*. *Biochemical systematics and ecology* **1990**, *18*, 49-52.
- [27] Murata, T.; Nakano, M.; Miyase, T.; Yoshizaki, F., Chemical Constituents of Aerial Parts and Roots of *Pycnanthemum flexuosum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **2014**, *62*, 608-612.
- [28] Salem, J. H.; Chevalot, I.; Harscoat-Schiavo, C.; Paris, C.; Fick, M.; Humeau, C., Biological activities of flavonoids from *Nitraria retusa* (Forssk.) Asch. and their acylated derivatives. *Food Chemistry* **2011**, *124*, 486-494.
- [29] Nakano, K.; Murakami, K.; Nohara, T.; TOMIMATSU, T.; KAWASAKI, T., The Constituents of *Paris verticillata* M. v. BIEB. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1981**, *29*, 1445-145
- [30] Malafronte, N.; Pesca, M. S.; Bisio, A.; Morales, E. L.; De Tommasi, N., New flavonoid glycosides from *Vernonia ferruginea*. *Natural product communications* **2009**, *4*, 1639-1642.
- [31] Desai, D. C.; Jacob, J.; Almeida, A.; Kshirsagar, R.; Manju, S., Isolation, structural elucidation and anti-inflammatory activity of astragalinal,(-) hinokinin, aristolactam I and aristolochic acids (I & II) from *Aristolochia indica*. *Natural product research* **2014**, *28*, 1413-1417.

*Etude de la composition chimique
et l'activité antioxydante des
huiles essentielles des fruits de
Zizyphus lotus*

Partie II

*II. Etude de la composition chimique et l'activité antioxydante
des huiles essentielles des fruits de Zizyphus lotus*

Chapitre I

Revue bibliographique

I. La famille des Rhamnaceae

I.1. Description de la famille des Rhamnaceae

La famille des Rhamnaceae inclut plus de 900 espèces répartis dans 54 genres, dont les principaux sont *Phytolacca* (150 espèces), *Rhamnus* (100 espèces), *Zizyphus* (100 espèces) et *Ceanothus* (55 espèces) [1]. Cette famille est divisée en 11 tribus répartis en trois sous-familles : les Ziziphoides, les Rhamnoides et les Ampeloziziphoides [2].

Les Rhamnaceae sont presque toutes arbustives, quelquefois épineuses (*Rhamnus*, *Paliurus*) ou lianescentes (*Berchemia*), certaines espèces s'agrippant au moyen de crochets (*Ventilago*) ou de vrilles (*Gouania*). Les herbes sont très rares (*Crumenaria*). Les feuilles, alternes ou subopposées, stipulées, sauf chez les *Phytolacca*, sont simples. Le limbe a une nervation pennée ou réduite à 3-5 veines longitudinales, et des marges entières à dentées. *Colletia* est singulier par ses deux bourgeons à chaque aisselle de feuille, le supérieur se développant en épine, l'inférieur en rameau. Les *Paliurus* du sud de l'Europe et de l'Asie sont des arbrisseaux épineux du fait de la transformation des stipules. Chez *Z. spina-christi*, les deux épines d'une même feuille sont dissemblables, l'une est droite et l'autre courbe. Beaucoup de *Zizyphus* des pays chauds, montrent aussi des stipules épineuses dimorphes. Les inflorescences sont de type cymeux, en épis paniculés, cymes racèmeuses ou cymes paniculées, généralement axillaires, sont parfois réduites à des fleurs solitaires ou fasciculées. Actinomorphes, elles sont bisexuées ou unisexuées, rarement polygames, et généralement protandres. Le réceptacle est cupuliforme ou tubulaire. Les 4 ou plus rarement 5 sépales valvaires sont libres ou connés, et forment un calice campanulé. Les 4 ou plus rarement 5 pétales, parfois absents, indupliqués valvaires, sont spatulés et souvent onguiculés, et presque toujours plus petits que les sépales. Les 4 ou rarement 5 étamines sont libres et opposipétales. Les anthères sont basifixes ou dorsifixes, versatiles, et ont une déhiscence longitudinale ou valvaire, introrse. Le gynécée est formé de 2-5 carpelles soudés en un ovaire, supère, semi-infère ou infère, généralement divisé en 2-3 loges par le développement centripète des bords placentaires, rarement uniloculaire par avortement de loges. Chaque loge renferme un ovule anatrophe ou épitrophe sur un placenta basal. Le style est simple, et le stigmate souvent trilobé. Les fruits sont très variés : ce sont généralement des drupes ou des capsules à déhiscence ventrale. Lorsque ces derniers sont indéhiscent, ils montrent souvent des adaptations à la dispersion par le vent, comme l'aile du fruit de *Paliurus*. Les graines n'ont pas ou guère d'albumen et renferment un grand embryon droit [1].

I.2. Classification botanique des Rhamnaceae

Règne :	Plantae
Clade 1 (Embranchement) :	Spermatophyta
Clade 2 (Sous-embranchement) :	Angiospermes
Clade(s) :	Eudicotylédones, Noyau des Eudicotylédones, Rosidées, Fabidées
Ordre :	Rosales
Famille :	Rhamnaceae

Figure 57 : Place Dans La Systématique de la famille Rhamnaceae

II. Le genre *Zizyphus*

II.1. Description de genre *Zizyphus*

Le genre *Zizyphus* contient plus de 100 espèces d'arbustes épineux et de petits arbres avec feuilles caduques ou feuilles persistantes [3], à trois nervures. Les inflorescences sont de type cymeux et les fleurs sont petites, périgines un ovaire entouré par un disque nectaire épais [4]. Les fruits drupes avec un pyrène solitaire [5].

Les *Zizyphus* ou les Jujubiers ont une large distribution, dans les régions tropicales et subtropicales du monde [3], allant du continent asiatique en passant par le bassin méditerranéen jusqu'à atteindre le continent américain. Elles sont concentrées principalement en Asie et en Amérique [6]. En Algérie, ce genre est représenté par quatre espèces, dont *Zizyphus lotus* (L.) Desf. et *Zizyphus mauritanus* [7].



Figure 58 : différents espèces de *Zizyphus* [8]

II.2. Propriétés biologiques et pharmacologique du genre *Zizyphus*

II.2.1. Utilisation en médecine traditionnelle

Les espèces de genre *Zizyphus* sont largement utilisées en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples :

- *Zizyphus jujuba* cv. Muzao a été largement utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise pour traiter l'anorexie, la fatigue et la diarrhée [9].
- *Zizyphus xylopyrus* (Retz.) Willd est utilisé traditionnellement dans le traitement de diverses maladies telles que : l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée, l'insomnie et les troubles digestifs [10,11].
- *Zizyphus spina-christi* L. est employée traditionnellement dans le traitement la douleur et de l'inflammation [12], Ainsi que la perfusion d'écorce des racines est utilisée traditionnellement dans le nord du Nigeria comme un remède contre les douleurs d'estomac et autres affections gastro-intestinales [13].
- *Zizyphus mauritiana* dans la médecine traditionnelle, guérit la douleur abdominale et les troubles gastro-intestinaux, l'ulcère peptique, les troubles de l'estomac et les vomissements [14].

- *Zizyphus sativa* est une plante médicinale, utilisée dans de nombreuses régions du monde. Ses feuilles sont utilisées comme antidiabétique et dans le traitement de la gale, son fruit est expectorant, tonique général, purifie le sang et ses graines sont employées contre la toux sèche et les éruptions cutanées [15].

II.2.2. Activités biologiques

Les études effectuées sur certaines espèces de *Zizyphus*, ont montré un large éventail de propriétés biologiques telles que : antioxydante, immunologique [16], antidépresseur [17], anthelminthique [18], anti-inflammatoire, antalgique [19], hépatoprotectrice [20] antidiabétique [21], antiallergique et anti-anaphylactique [22].

II.3. Les investigations phytochimique sur le genre *Zizyphus*

Les travaux phytochimique effectués sur certaines espèces de ce genre montrent la présence de quatre-vingt-un différents alcaloïdes cyclopeptides ainsi qu'un certain nombre de phytoconstituants différents tels que les flavonoïdes, les terpènes, stérols et les acides gras [11].

Tableau 41 : Quelques phytoconstituants isolés du genre *Zizyphus*

Le métabolite secondaire	Le composé	L'espèce	Ref
Flavonoïdes	Quercétine 3-O-rutinoside 1	<i>Zizyphus jujuba</i> L. <i>Zizyphus spina-christi</i> (L.) Willd	[23]
	Quercétine 3-O-β-D-xylosyl-(1→2)-α-L-rhamnoside 2		
	3',5'-di-C-β-D-Glucosylphloretine 3		
	Quercétine 3-O-β-D-xylosyl-(1→2)-α-L-rhamnoside-4'-O-α-L-rhamnoside 4		
	5,7,3',4'-tetramethoxycatechine 5	<i>Zizyphus jujuba</i>	[24]
	Pinocembrine 6	Mill. var. <i>spinosa</i>	
Alcaloïdes	Jubanine-C 7	<i>Zizyphus jujuba</i>	[25]
	zizyphine-A 8	<i>Zizyphus mauritiana</i>	[26]
	Mauritine J 9		
	Amphibine E 10		
	sanjomine-B 11	<i>Zizyphus vulgaris</i>	[27]
	sanjomine-F 12		
Terpènes	Betuline 13	<i>Zizyphus jujuba</i> Mill. var. <i>spinosa</i>	[24]
	acide betulinique 14		
	acide alphaltolique 15		
	Ester méthylique d'acide alphaltolique 16		
	Acide epiceanothique 17		
	Acide ceanothique 18		
Acide gras	Acide alpha-linolénique 19	<i>Zizyphus mistol</i>	[28]
	Acide gamma-linolénique 20		

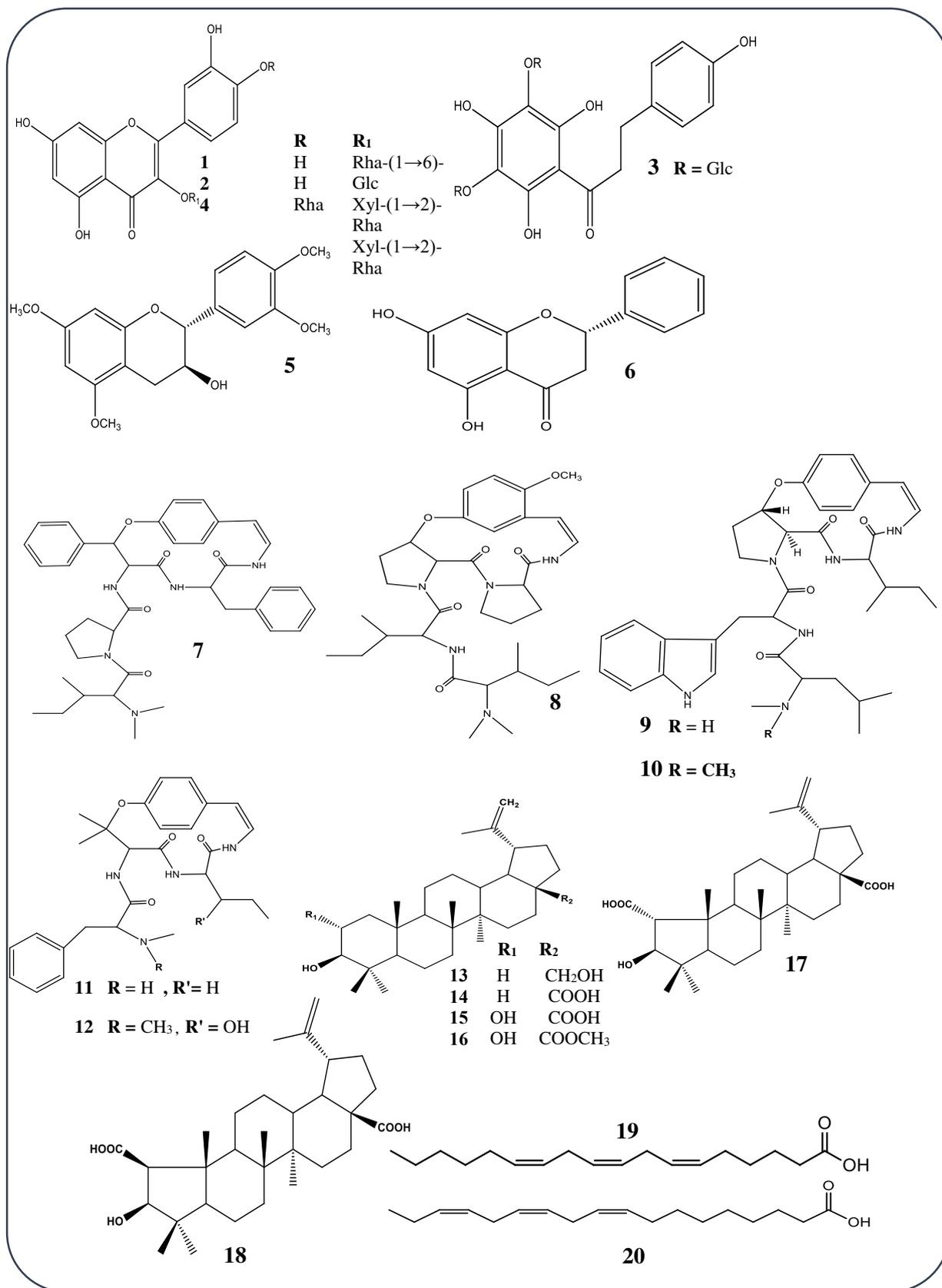


Figure 59 : quelques phytoconstituants isolés du genre *Zizyphus*

III. L'espèce *Zizyphus lotus* (L.) Desf.

Z. lotus est connue sous plusieurs dénominations internationales, notamment [29,30] :

Français : Jujubier sauvage, jujubier de Berbérie, lotus des anciens, jujubier des Lotophages.

Anglais : African jujube, Lote fruit, Lotus tree, lotus jujube, wild jujube.

Allemand : Wilde Jujube.

Portugais : Acufeifa-menor

Espagnol : Azufaifo africano, Azufaifo ibérico, Arto, Arto blanco, Espina de Cristo.

Arabe : Zizouf , زيزوف / sedra , سدره / sidr , سدر / sidr barri سدر بري

III.1. Description botanique

Zizyphus lotus (L.) Desf. est une plante frutescente de 1,3 à 2,2 m, très ramifiée. Les rameaux sont recourbés vers le bas, flexueux, blanc grisâtre à épines par paires droites ou recourbées. Les feuilles sont petites, alternes, obtuses, crénelées, à trois nervures, glabres, faiblement rigides, de 7 à 9 mm de large et de 9 à 13 mm de long, à pétiole court. Les fleurs sont solitaires ou groupées avec un seul pédicelle court ; à calice en forme d'entonnoir, pentamère ; à petite corolle à cinq pétales ; à cinq étamines épipétales ; à deux styles courts. Les fruits sont des drupes sphériques dont les noyaux osseux biloculaires, petits et ronds sont recouverts d'une pulpe demi-charnue, très vite sèche, riche en sucre [30,31].



Figure 60 : *Zizyphus lotus* (L.) Desf. [29]

III.2. Synonymes

Les synonymes de cette espèce décrits dans la littérature sont : *Zizyphus lotus* Lam., *Zizyphus lotus* Aitch. = *Zizyphus rotundifolia*, *Zizyphus lotus* Blanco, *Zizyphus lotoidea* St. Lag., *Rhamnus lotus* L. [30].

III.3. Place Dans La Systématique

Règne	Végétal
Embranchement	Magnoliophyta (=Phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (=Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Tribu	Zizyphae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> (L.) Desf.

Figure 61 : Place Dans La Systématique de l'espèce *Zizyphus lotus* (L.) Desf. [30]

III.4. Répartition géographique

Z. Lotus est un espèce méditerranéenne, généralement dans les pays arides et semi-arides, elle est largement distribuée en Chine, Iran, Afrique, en Corée du Sud et en Europe dans des pays tels que Chypre, l'Espagne, la Grèce et la Sicile [3,32,33]. En Afrique, *Z. Lotus* est largement distribuée dans la région méditerranéenne, comme l'Algérie, le Maroc, la Tunisie et la Libye [34].

III.5. Propriétés biologiques et pharmacologique de *Zizyphus lotus* (L.) Desf

III.5.1. Usage traditionnels

III.5.1.1. *Zizyphus lotus* et la nutrition

Les fruits de cette plante sont délicieux, ils seraient encore consommés par la population d'Afrique du Nord dû à sa haute valeur nutritive [35].

La vertu nutritionnelle de *Z. lotus* repose principalement sur sa richesse en vitamine E, vitamine C, fibres, acides gras, acides aminés, calcium, magnésium et les sucre en quantités considérables [34,36].

III.5.1.2. *Zizyphus lotus* et la santé

Plusieurs parties de *Z. lotus* ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de la bronchite, la diarrhée et des abcès [34,37]. En effet, la poudre des feuilles et les fruits séchés et mélangés avec de l'eau ou du lait ont été utilisés pour le traitement des furoncles [62] et l'écorce de la racine pour le traitement du diabète [34,38]. Le jus de racine de *Z. lotus* est efficace dans le traitement des leucomas des yeux [34,39]. Les fruits et les feuilles de la plante sont également utilisés comme émoullients [34,37] et dans le traitement de la diarrhée et des maladies intestinales [34,39]. La décoction des feuilles est aussi utilisée pour les soins des cheveux. Par ailleurs, la cendre de bois, additionnée de vinaigre, constitue un traitement local des morsures de serpent. Au Sahara occidental, elles ont gardé encore la réputation d'être antivarioliques et actives contre la rougeole [30]. Cette plante est également utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour ses activités anti-diabétiques, sédatives et hypoglycémiques ainsi que dans le traitement de la diarrhée, des maladies intestinales et de la fièvre [40].

III.5.2. Activité biologique de *Zizyphus lotus*

Les propriétés thérapeutiques des composés ou extraits de *Z. lotus* ont été mis en évidence par plusieurs modèles expérimentaux (cellules et animaux) des études *in vivo* et *in vitro*, notamment : l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antiulcérogène, antibactérienne, antifongique, antidiabétique, hypoglycémique, analgésique, antispasmodique. Le Tableau 40 rapporté les principaux effets bioactifs de *Z. lotus* dans différents modèles expérimentaux.

Tableau 42-1 : les principaux effets bioactifs de *Z. lotus* dans différents modèles expérimentaux [34]

Activités biologiques	Partie utilisée de <i>Z.lotus</i>	Modèles expérimentaux	Réf
antioxydante	Les extraits des pulpes, des graines, des feuilles, des racines et des tiges Les extraits de fruits et de racines Les extraits méthanoliques des fruits et des feuilles Les extraits de racines et des feuilles Les extraits hydroalcooliques des fruits et des feuilles L'extrait méthanolique des fruits.	Études in vitro sur les cellules jurkat l'effet scavenger des radicaux hydroxyles et DPPH test DPPH Études in vivo chez les rats wistar: pancréas, le foie et les érythrocytes. Peroxydation des lipides, DPPH. test DPPH.	[33, 41-45]
antibactérienne	Les extraits méthanoliques des fruits et des feuilles Les extraits d'éther, dichlorométhane, méthanol des fruits et ses composés actifs (phénols, flavonoïdes et tanins).	tests in vitro sur des bactéries de Gram négatives : <i>Escherichia coli</i> atcc 8739, <i>Salmonella typhimurium</i> nctc 6017, <i>Aeromonas hydrophila</i> ei et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> atcc 27853 tests in vitro sur des bactéries Gram-positives : <i>Staphylococcus aureus</i> atcc 29213, <i>Listeria monocytogenes</i> atcc 7644 et <i>Bacillus cereus</i> atcc 1247. tests in vitro sur les espèces bactériennes : <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[41, 46]
antifongique	Les extraits méthanoliques des fruits et des feuilles. Les extraits d'éther, dichlorométhane, méthanol, difénoconazole des fruits.	Teste in vitro : <i>Aspergillus flavus</i> et <i>Aspergillus niger</i> . L'espece fongique : <i>Penicillium italicum</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , et <i>Rhizomucor sp.</i>	[41, 46]
anti-inflammatoire	Flavonoïde et saponine provenant de l'écorce des racines et des feuilles Les extraits méthanoliques des écorces des racines et des feuilles. Les extraits hydroalcooliques des fruits et des feuilles	Études in vivo chez les rats wistar et les souris albinos suisses. Études in vitro sur RAW 264.7. Études in vivo chez les rats testes de lipoxigénase.	[19, 45, 47]
analgésique	Flavonoïdes et saponines provenant de l'écorce des racines et des feuilles	Études in vivo chez les rats wistar et les souris albinos suisses.	[19, 47]
antiulcérogène	Les extraits : aqueux, acétate d'éthyle, chloroformique et méthanolique de racines, des feuilles et des fruits. L'extrait méthanolique des fruits.	Études in vivo chez les rats wistar Études in vivo chez les rats wistar	[42, 48]

Tableau 42-2 : les principaux effets bioactifs de *Z. lotus* dans différents modèles expérimentaux (suite) [34]

Antidiabétique	Les extraits aqueux des racines et des feuilles.	Études in vivo chez les rats wistar diabétique, le pancréas, le foie et les érythrocytes.	[49]
hypoglycémique	Les extraits aqueux des racines et des feuilles.	Études in vivo chez les rats wistar	[49]
gastroprotectrices	L'extrait méthanolique des fruits	Études in vivo chez les rats wistar Études in vitro sur 22 souches cliniques de <i>Helicobacter pylori</i> j99	[42]
immunosuppressive	Les polyphénols isolant à partir des fruits. Les extraits des pulpes, des graines, des feuilles, des racines et des tiges	Études in vitro : cellules T (lymphocytes T) humaines Études in vitro : cellules jurkat	[45, 50]

III.6. La composition chimique de *Zizyphus lotus* (L.) Desf

Du point de vue chimique, l'espèce constitue une source riche des différents composés bioactifs qui sont censés être responsables aux soins de santé tels que les propriétés hypoglycémiques, gastroprotectives, immunomodulatrices et antioxydantes. Les principaux constituants chimiques de différentes parties de *Zizyphus lotus* figurent dans le Tableau 41.

Tableau 43 : Composition chimique des différentes parties de *Zizyphus lotus* [30].

Familles de constituants	Constituants principaux
Écorces de racines	
○ Alcaloïdes cyclopeptidiques	Lotusines A à G, lotusanines A et B, sanjoinénine, sanjoinine, frangufoline
○ Saponosides	Lotosides I et II ; jujubosides A et C
Feuilles	
○ Saponosides	Jujuboside B, 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyljujubo-génine-20-O-(2,3,4-O-triacétyl)-RL-rhamnopyranoside, 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyljujubogénine-20-O- α -L-rhamnopyranoside, 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[(4-sulfo)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl-jujubogénine, 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[(4-sulfo)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-galactopyranosyl-(20R,22R)-16 β ,22:16 α ,30-diépoxydammar-24-ène-3 β ,20-diol
○ Flavonoïdes	Quercétine (4p-O-[α -L-rhamnopyranosyl]-3-O-[6-O-(α -L-rhamnopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl])
○ Divers	

	β -tocophérol (Vit E), acide linoléique
Graines	
○ Acides gras (32,9 %)	Acide oléique (61,93 %), acide linoléique (18,31 %), acide palmitique (9,14 %).
○ Protéines (19,1 %)	3 protéines riches en thréonine, acide glutamique, leucine, arginine et acide aspartique.
○ Stérols	Δ 7-campesterol et β -sitostérol
○ Divers	β -tocophérol (Vit E), acide ascorbique (Vit C), carbohydrates (40,8 %)
Fruit (pulpe)	
○ Acides gras	Acide linoléique
○ Vitamines	Rétinol (Vit A), acide ascorbique (Vit C)

IV. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement considérées comme des composés volatiles, qui sont facilement soluble dans l'alcool, l'éther et les huiles végétales et minérales. Elles sont souvent supposées être le résultat d'une distillation ou d'un bain de vapeur [51].

Elles sont également définies comme des mélanges complexes des substances plus ou moins lipophiles obtenues par la distillation ou pressage de plantes. La plupart des composants sont des terpénoïdes (isoprénoïdes), principalement monoterpènes et sesquiterpènes. De plus, ce groupe principal est suivi de composés aromatiques (phénylpropanoïdes) dérivés de la voie du shikimate-chorismate, dérivés de polycétide, hydrocarbures paraffiniques, alcools et cétones, acides gras et enfin composés contenant du soufre et de l'azote [52].

Aujourd'hui, plus de 3000 huiles ont été isolées et étudiées à partir d'un grand nombre d'espèces végétales, dont plusieurs centaines ont été commercialisées [53].

IV.1. Les travaux antérieurs sur les huiles essentielles du genre *Zizyphus*

Certaines études consacrées pour les huiles essentielles du genre *Zizyphus*, montrent la présence considérable d'acides gras avec des concentrations différentes, ainsi que les composés phénoliques, monoterpéniques, sesquiterpéniques et les stérols. Ces compositions sont caractérisées par divers propriétés biologiques telles que : antioxydante, antistériel, anti-inflammatoire, antitumorale, et favoriser la pousse des cheveux. Le Tableau 42 rapporte quelques constituants chimiques des huiles essentielles de trois espèces de *Zizyphus*.

Tableau 44 : quelques constituants chimiques des huiles essentielles des espèces de *Zizyphus*.

L'espèce	Les principaux constituants	%	Activité	Ref
<i>Zizyphus spina-christi</i> (L.) Willd. (les feuilles)	Geranyl acetone	14,0		[54]
	Methyl hexadecanoate	10,0		
	Methyl octadecanoate	9,9		
	Farnesyl acetone c	9,9		
	Hexadecanol	9,7		
<i>Zizyphus jujuba</i> (les grains)	Ethyl octadecanoate	8,0		
	Eugenol	48,3	Antioxydantes	[55]
	Isoeugenol	11,83	Antistériels	[56]
	Caryophyllene	9,16	favoriser la pousse des cheveux	[57]
	Eucalyptol	3,27		[58]
<i>Zizyphus mistol</i> (les grains)	Phyllene oxide	3,14	anti-inflammatoire	
	α - acide linoléique	22,3	Antitumoral	[28]
	Acide palmitique	9,4		[59]
	Acide stéarique	6,5		
<i>Zizyphus jujuba</i> (pulpe)	Acide linoléique	12,6		
	acide oléique	50,68		[60]
	acide palmitique	18,67		
	acide linoléique	18,13		
	Campesterol	2,4		
	Stigmasterol	4,69		
	β -Sitosterol	10,65		

IV.2. Les travaux antérieurs sur les huiles essentielles de *Zizyphus lotus*

Des études ont rapporté que les huiles de *Z. lotus* sont de haute qualité, en raison de leurs teneurs en acides gras insaturés et autres composés bioactifs tels que les tocophérols, stérols, les composés phénoliques. Les exemples cités dans le Tableau 43 illustrent que la composition des huiles essentielles de fruits varie selon la région de récolte de la plante. Néanmoins, tous les résultats montrent que l'acide oléique est le constituant principal de ces huiles, ainsi que la présence considérable de l'acide linoléique.

Cette composition confirme l'intérêt nutritionnel des fruits de *Z. lotus*, ainsi que leur intérêt économique dû à plusieurs applications possibles de ces composants dans les domaines : alimentaire, cosmétique, médicale et industriel. Par ailleurs, la présence des antioxydants tels que les composés phénoliques et les tocophérols dans ces huiles sont appuyés par les résultats de test DPPH, teste de blanchiment du β -carotène, scavenger des radicaux hydroxyles, et le test de la capacité chélatrice des ions ferreux sur les huiles des graines de *Z. lotus* [61], indiquant que ces huiles possèdent un effet antioxydant.

Une autre étude concernée de la présentation de l'effet thérapeutique des huiles de *Z. lotus*, montre leur effet immunosuppresseur sur la prolifération des lymphocytes T [45].

Tableau 45 : la composition des huiles essentielles de *Z. lotus*

Les composés	Les graines 1 [36], [61]	petits fruits 2 (amande) [61]	Les graines 3 [45]	Les feuilles 3 [45]	Les tiges 3 [45]	Pulpe 3[45]	Les racines 3 [45]
Acides gras (%)							
acide myristique	0,06 ± 0,00	0,084	0.15± 0.028	-	-	-	-
acide palmitique	9,14 ± 0,43	9,025	10.8 ± 1.80	43.41±1.82	33.80±1.95	27.59±1.77	38.76±1.59
acide palmitoléique	0,13 ± 0,00	0,134	0.13 ± 0.22	5.96 ± 0.63	-	-	-
acide margaroleique	0,03 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
acid stéarique	4,84 ± 0,36	7,106	5.45 ± 1.50	22.15±1.31	24.40± 1.62	11.25± 1.31	22.00 ± 0.69
acide oléique	61,93 ± 0,95	49,882	62.79± 1.33	6.30 ± 1.50	21.73± 1.94	24.52± 0.13	19.73 ± 1.80
acide linoléique	18,31 ± 0,31	22,973	14.22± 1.96	6.20 ± 1.67	11.10± 1.72	36.63± 1.26	13.24 ± 0.11
acide linoléique	1,35 ± 0,06	0,409	-	-	-	-	-
acide arachidique	0,17 ± 0,00	-	0.1 ± 0.058	-	-	-	-
acide gadoleique	3,20 ± 0,01	6,328	-	-	-	-	-
acide behénique	0,73 ± 0,09	1,409	-	-	-	-	-
acide caprylique	-	0,014	-	-	-	-	-
acide pentadecylique	-	0,024	-	-	-	-	-
acide hypogénique	-	0,058	-	-	-	-	-
acide margarique	-	0,077	-	-	-	-	-
acide arachidonique	-	2,367	-	1.58 ± 0.95	-	-	-
acide heneicosanoïque	-	0,047	-	-	-	-	-
acide α-linolénique	-	-	1.30 ± 0.64	9.15 ± 1.95	-	-	-
acide eicosénoïque	-	-	3.12 ± 1.40	2.17 ± 0.31	-	-	-
acide eicosadiénoïque	-	-	0.83± 0.035	-	8.95 ± 0.91	-	2.59 ± 0.63
acide lignocérique	-	-	0.9 ± 0.92	1.54 ± 0.61	-	-	3.66 ± 1.18
Vitamine E			9.2 ± 0.54	155.71±1.08	4.5 ± 0.097	11.23± 1.36	4.7 ± 0.23
β-Tocopherol	130.47±1.12	-	-	-	-	-	-
δ-Tocopherol	10.60 ± 0.12	-	-	-	-	-	-
Vitamine A	-	-	-	13.52±0.06	3.8 ± 0.96	71.63± 1.23	6.45 ± 0.09
Vitamine C	-	-	170.84±0.63	63.40±1.23	24.65± 1.22	190.65±1.48	47.20 ± 0.82
Stérols (mg 100 g-1 oil)							
Cholesterol	1.73 ± 0.04	-	-	-	-	-	-
Campesterol	31.89 ± 0.24	-	-	-	-	-	-
Δ ⁷ - Campesterol	147.82±0.40	-	-	-	-	-	-
Stigmasterol	16.38 ± 0.09	-	-	-	-	-	-
β-Sitosterol	82.10 ± 0.13	-	-	-	-	-	-
Δ ⁵ -Avenasterol	0.57 ± 0.01	-	-	-	-	-	-
Δ ⁵ , 24 Stigmatadienol	4.45 ± 0.02	-	-	-	-	-	-
Acide phénolique (mg/100 g)							
Acide p-coumarique	0.62±0.01	-	-	-	-	-	-
Acide gallique	0.73 ± 0.02	-	-	-	-	-	-
Acide 4-hydroxy-benzoïque	4 0.51± 0.01	-	-	-	-	-	-
Acide cafeïque	0.85 ± 0.03	-	-	-	-	-	-
Acide syringique	0.14 ± 0.01	-	-	-	-	-	-
Acide ferulique	1.36 ± 0.08	-	-	-	-	-	-
Acide vanillique	0.71 ± 0.04	-	-	-	-	-	-

1: *Zizuphus lotus* de Sidi Bouzid, Tunisie ; 2: *Zizuphus lotus* de la région d'Al Mader (Aures); 3: *Zizuphus lotus* de Djelfa (Sud-Ouest de l'Algérie).

Références bibliographiques

- [1] <http://www.plantes-botanique.org> 29/04/2018
- [2] Correa, E.; Jaramillo, C.; Manchester, S.; Gutierrez, M., A fruit and leaves of Rhamnaceous affinities from the late Cretaceous (Maastrichtian) of Colombia. *American Journal of Botany* **2010**, *97*, 71-79.
- [3] Gorai, M.; Maraghni, M.; Neffati, M., Relationship between phenological traits and water potential patterns of the wild jujube *Ziziphus lotus* (L.) Lam. in southern Tunisia. *Plant Ecology & Diversity* **2010**, *3*, 273-280.
- [4] Islam, M. B.; Simmons, M. P., A thorny dilemma: testing alternative intrageneric classifications within *Ziziphus* (Rhamnaceae). *Systematic Botany* **2006**, *31*, 826-842.
- [5] Bhandari, M.M., Bhansali, A.K., Rhamnaceae. In: Singh et al. (eds), Flora of India. Vol. 5. Botanical Survey of India, Calcutta **2000**, 1-577.
- [6] Laamouri, A.; Ammari, Y.; Albouchi, A.; Sghaier, T.; Mguis, K.; Akrimi, N., Etude comparative de la croissance et du développement du système racinaire de trois espèces de jujubier en Tunisie. *Geo-Eco-Trop* **2008**, *32*, 37-46.
- [7] Quezel, P. S. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*; 1963, 618-619.
- [8] Naz, S.; Sultana, B.; Shahid, M., Alteration in antioxidant and antimicrobial attributes of leaves of *Ziziphus* species in response to maturation. *Journal of Medicinal Plants Research* **2013**, *7*, 61-70.
- [9] Gao, Q.-H.; Wu, C.-S.; Wang, M., The jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit: a review of current knowledge of fruit composition and health benefits. *Journal of agricultural and food chemistry* **2013**, *61*, 3351-3363.
- [10] Kirtikar KR, Basu BD. *Indian medicinal plants*. Dehradun: International Book Distributor; 1984,588-597.
- [11] Modi, A.; Jain, S.; Kumar, V., *Ziziphus xylopyrus* (Retz.) Willd: a review of its folkloric, phytochemical and pharmacological perspectives. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* **2014**, *4*, S1-S6.
- [12] Adzu, B.; Haruna, A. K., Studies on the use of *Ziziphus spina-christi* against pain in rats and mice. *African Journal of Biotechnology* **2007**, *6*, 1317-1324.
- [13] Adzu, B.; Amos, S.; Wambebe, C.; Gamaniel, K., Antinociceptive activity of *Ziziphus spina-christi* root bark extract. *Fitoterapia* **2001**, *72*, 344-350.
- [14] Rokaya, M. B.; Uprety, Y.; Poudel, R. C.; Timsina, B.; Münzbergová, Z.; Asselin, H.; Tiwari, A.; Shrestha, S. S.; Sigdel, S. R., Traditional uses of medicinal plants in gastrointestinal disorders in Nepal. *Journal of ethnopharmacology* **2014**, *158*, 221-229.
- [15] Anand, K.; Singh, B.; Grand, D.; Chandan, B.; Gupta, V., Effect of *Ziziphus sativa* leaves on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology* **1989**, *27*, 121-127.
- [16] Zhang, L.; Liu, X.; Wang, Y.; Liu, G.; Zhang, Z.; Zhao, Z.; Cheng, H., In vitro antioxidative and immunological activities of polysaccharides from *Ziziphus Jujuba* cv. Muzao. *International journal of biological macromolecules* **2017**, *95*, 1119-1125.
- [17] Sharma, V. K.; Chauhan, N. S.; Lodhi, S.; Singhai, A., Anti-depressant activity of *Ziziphus xylopyrus*. *International Journal of Phytomedicine* **2009**, *1*, 12-17.
- [18] Veeresh, S. K., Anthelmintic activity of *Ziziphus jujuba* Mill & Lamk. *Pharmacognosy Journal* **2010**, *2*, 63-65.
- [19] Borgi, W.; Ghedira, K.; Chouchane, N., Antiinflammatory and analgesic activities of *Ziziphus lotus* root barks. *Fitoterapia* **2007**, *78*, 16-19.
- [20] Liu, G.; Liu, X.; Zhang, Y.; Zhang, F.; Wei, T.; Yang, M.; Wang, K.; Wang, Y.; Liu, N.; Cheng, H., Hepatoprotective effects of polysaccharides extracted from *Ziziphus jujube* cv. Huanghetanzao. *International journal of biological macromolecules* **2015**, *76*, 169-175.

- [21] Michel, C. G.; Nesseem, D. I.; Ismail, M. F., Anti-diabetic activity and stability study of the formulated leaf extract of *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd with the influence of seasonal variation. *Journal of ethnopharmacology* **2011**, *133*, 53-62.
- [22] Naik, S. R.; Bhagat, S.; Shah, P. D.; Tare, A. A.; Ingawale, D.; Wadekar, R. R., Evaluation of anti-allergic and anti-anaphylactic activity of ethanolic extract of *Zizyphus jujuba* fruits in rodents. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2013**, *23*, 811-818.
- [23] Pawlowska, A. M.; Camangi, F.; Bader, A.; Braca, A., Flavonoids of *Zizyphus jujuba* L. and *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd (Rhamnaceae) fruits. *Food Chemistry* **2009**, *112*, 858-862.
- [24] Wu, Y.; Chen, M.; Du, M.-B.; Yue, C.-H.; Li, Y.-Y.; Zhu, M.; Liu, C.; Wang, D.-Y.; Liu, J.-G.; Hu, Y.-L., Chemical constituents from the fruit of *Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology* **2014**, *57*, 6-10.
- [25] Tripathi, M.; Pandey, M.; Jha, R.; Pandey, V.; Tripathi, P.; Singh, J., Cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus jujuba*. *Fitoterapia* **2001**, *72*, 507-510.
- [26] Jossang, A.; Zahir, A.; Diakite, D., Mauritian J, a cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus mauritiana*. *Phytochemistry* **1996**, *42*, 565-567.
- [27] Han, B. H.; Park, M. H.; Han, Y. N., Cyclic peptide and peptide alkaloids from seeds of *Zizyphus vulgaris*. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3315-3319.
- [28] Muñoz, S. E.; Piegari, M.; Guzmán, C. A.; Eynard, A. R., Differential effects of dietary Oenothera, *Zizyphus mistol*, and corn oils, and essential fatty acid deficiency on the progression of a murine mammary gland adenocarcinoma. *Nutrition* **1999**, *15*, 208-212.
- [29] Ghedira, K., Études des parties aériennes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb. et des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.) Desf., thèse d'État ès sciences pharmaceutiques, faculté de pharmacie, Monastir (Tunisie) 1995.
- [30] Ghedira, K., *Zizyphus lotus* (L.) Desf.(Rhamnaceae): *jujubier* sauvage. *Phytothérapie* **2013**, *11*, 149-153.
- [31] Desfontaines RN (1800) *Flora atlantica*, I. Blanchon, Paris.
- [32] Richardson, J.; Chatrou, L.; Mols, J.; Erkens, R.; Pirie, M., Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **2004**, *359*, 1495-1508.
- [33] Adeli, M.; Samavati, V., Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from *Zizyphus lotus* fruit. *International journal of biological macromolecules* **2015**, *72*, 580-587.
- [34] Abdoul-Azize, S., Potential Benefits of *Jujube* (*Zizyphus Lotus* L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health. *Journal of nutrition and metabolism* **2016**, 2016.
- [35] Abdeddaim, M.; Lombarkia, O.; Bacha, A.; Fahloul, D.; Abdeddaim, D.; Farhat, R.; Saadoudi, M.; Noui, Y.; Lekbir, A., Biochemical characterization and nutritional properties of *Zizyphus lotus* L. fruits in aures region, northeastern of Algeria. *Ann Food Sci Technol* **2014**, *15*, 75-81.
- [36] Chouaibi, M.; Mahfoudhi, N.; Rezig, L.; Donsi, F.; Ferrari, G.; Hamdi, S., Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2012**, *92*, 1171-1177.
- [37] Bellakhdar, J., *La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle*, Ibis Press, Paris, France, **1997**.
- [38] Ghedira, K.; Chemli, R.; Caron, C.; Nuzillard, J.-M.; Zeches, M.; Le Men-Olivier, L., Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry* **1995**, *38*, 767-772.
- [39] Boukef, K., *Les Plantes Dans la Médecine Traditionnelle Tunisienne: Médecine Traditionnelle et Pharmacopée*, Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France, **1986**.

- [40] Hammiche, V.; Maiza, K., Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of ethnopharmacology* **2006**, *105*, 358-367.
- [41] Ghazghazi, H.; Aouadhi, C.; Riahi, L.; Maaroufi, A.; Hasnaoui, B., Fatty acids composition of Tunisian *Zizyphus lotus* L.(Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural product research* **2014**, *28*, 1106-1110.
- [42] Bakhtaoui, F.-Z.; Lakmichi, H.; Megraud, F.; Chait, A.; Gadhi, C.-E. A., Gastro-protective Anti-Helicobacter pylori and, Antioxidant Properties of Moroccan *Zizyphus lotus* L. **2014**, *4*, 81-87.
- [43] Ghalem, M.; Merghache, S.; Belarbi, M., Study on the antioxidant activities of root extracts of *Zizyphus lotus* from the western region of Algeria. *Pharmacognosy Journal* **2014**, *6*, 32-42..
- [44] Boulanouar, B.; Abdelaziz, G.; Aazza, S.; Gago, C.; Miguel, M. G., Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products* **2013**, *46*, 85-96.
- [45] Benammar, C.; Hichami, A.; Yessoufou, A.; Simonin, A.-M.; Belarbi, M.; Allali, H.; Khan, N. A., *Zizyphus lotus* L.(Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC complementary and alternative medicine* **2010**, *10*, 54.
- [46] Rsaissi, N.; Kamili, E.; Bencharki, B.; Hillali, L.; Bouhache, M., Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube "*Zizyphus lotus* (L.) Desf". *Int J Sci Eng Res* **2013**, *4*, 1521-1528.
- [47] Borgi, W.; Recio, M.-C.; Ríos, J.; Chouchane, N., Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany* **2008**, *74*, 320-324.
- [48] Wahida, B.; Abderrahman, B.; Nabil, C., Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Journal of ethnopharmacology* **2007**, *112*, 228-231.
- [49] Benammar, C.; Baghdad, C.; Belarbi, M.; Subramaniam, S.; Hichami, A.; Khan, A., Antidiabetic and antioxidant activities of *Zizyphus lotus* L aqueous extracts in Wistar rats. *Nutrition & Food Sciences* **2014**.
- [50] Abdoul-Azize, S.; Bendahmane, M.; Hichami, A.; Dramane, G.; Simonin, A.-M.; Benammar, C.; Sadou, H.; Akpona, S.; El Boustani, E.-S.; Khan, N. A., Effects of *Zizyphus lotus* L.(Desf.) polyphenols on Jurkat cell signaling and proliferation. *International immunopharmacology* **2013**, *15*, 364-371.
- [51] Hernandez. E., ESSENTIAL OILS | Distillation. Encyclopedia of Separation Science 2000, 2739-2744.
- [52] Grassmann. J.; E.F. Elstner., ESSENTIAL OILS | Properties and Uses. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition) **2003**, 2177-2184.
- [53] Sankarikutty. B.; Narayanan. C.S., ESSENTIAL OILS | Isolation and Production. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition) 2003, 2185-2189.
- [54] Ghannadi, A.; Tavakoli, N.; Mehri-Ardestani, M., Volatile constituents of the leaves of *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd. from Bushehr, Iran. *Journal of Essential Oil Research* **2003**, *15*, 191-192
- [55] Al-Reza, S. M.; Rahman, A.; Lee, J.; Kang, S. C., Potential roles of essential oil and organic extracts of *Zizyphus jujuba* in inhibiting food-borne pathogens. *Food Chemistry* **2010**, *119*, 981-986.
- [56] Al-Reza, S. M.; Bajpai, V. K.; Kang, S. C., Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from *Zizyphus jujuba*. *Food and chemical toxicology* **2009**, *47*, 2374-2380.
- [57] Yoon, J. I.; Al-Reza, S. M.; Kang, S. C., Hair growth promoting effect of *Zizyphus jujuba* essential oil. *Food and chemical toxicology* **2010**, *48*, 1350-1354.
- [58] Al-Reza, S. M.; Yoon, J. I.; Kim, H. J.; Kim, J.-S.; Kang, S. C., Anti-inflammatory activity of seed essential oil from *Zizyphus jujuba*. *Food and chemical toxicology* **2010**, *48*, 639-643.

- [59] Muñoz, S.; Silva, R.; Lamarque, A.; Guzman, C.; Eynard, A., Protective capability of dietary *Zizyphus mistol* seed oil, rich in 18: 3, n-3, on the development of two murine mammary gland adenocarcinomas with high or low metastatic potential. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids* **1995**, 53, 135-138.
- [60] Elaloui, M.; Laamouri, A.; Albouchi, A.; Cerny, M.; Mathieu, C.; Vilarem, G.; Hasnaoui, B., Chemical compositions of the tunisian *Zizyphus jujuba* oil. *Emirates Journal of Food and Agriculture* **2014**, 26, 602
- [61] Chouaibi, M.; Rezig, L.; Mahfoudhi, N.; Arafa, S.; Donsi, F.; Ferrari, G.; Hamdi, S., Physicochemical characteristics and antioxidant activities of *Zizyphus lotus* L. seed oil. *Journal of Food Biochemistry* **2013**, 37, 554-563.
- [62] Abdeddaim, M.; Lombarkia, O.; Bacha, A.; Fahloul, D.; Abdeddaim, D.; Farhat, R.; Saadoudi, M.; Noui, Y.; Lekbir, A., Biochemical characterization and nutritional properties of *Zizyphus lotus* L. fruits in aures region, northeastern of Algeria. *Ann Food Sci Technol* **2014**, 15, 75-81.

Chapitre II

*Description des travaux et
discussion des résultats*

I.Extraction de l'huile essentielle de *Zizyphus lotus*

I.1.La matière végétale

Les fruits de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. ont été récoltés en décembre 2014 dans la région d'Ouled Fadhel Batna (Aures), et authentifiés par le professeur Mohamed Kaabeche, université Sétif 1, Algérie.

I.2. Extraction

Les fruits (450g) de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. ont été soumis à une distillation par entrainement à la vapeur dans un appareil Kaiser Lang pendant trois heures. L'huile essentielle obtenue a été recueillie et séchée avec du sulfate de sodium anhydre, puis conservée à 4 ° C jusqu'à son analyse. Le rendement des huiles a été calculé par rapport au poids sec de la plante.

II.1.Analyse GC-FID et GC/MS

II.1.1. Analyse GC-FID

L'huile essentielle a été analysée sur un chromatographe en phase gazeuse Agilent (GC-FID) modèle 6890, équipé d'une colonne capillaire de silice fondue HP-5MS (25m x 0,25 mm, épaisseur du film 0,25µm), la phase stationnaire (5% -phényl-95%-methylpolysyloxane), programmé pendant 5min à 50 °C jusqu'à 250 °C à une vitesse de 3 ° / mn, puis maintenue pendant 10 min. La température de l'injecteur et le détecteur à ionisation de flamme est de 280 et 300 °C, respectivement. L'huile essentielle a été diluée dans l'acétone (3,5% (v / v)) et injectée en mode split (1/60), l'hélium a été utilisé comme gaz porteur (1,0 ml / min). Les solutions d'alcanes standards (C8-C20) ont été analysées dans les mêmes conditions pour calculer les indices de rétention (RI) avec l'équation de Van den Dool et de Kratz.

II.1.2.Analyse GC/MS

La spectrométrie de masse a été réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse Agilent (GC-MS) modèle 7890/5975, équipé d'une colonne capillaire HP-5MS (25 mx 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm) programmée avec les mêmes conditions que pour le GC-FID. L'ionisation du spectromètre de masse (MS) a été réglée en mode d'impact d'électrons positifs à 70 eV et le multiplicateur d'électrons a été établi à 2200 V. La température de la source d'ion et la MS quadripôles est de 230 °C et 180 °C, respectivement. Les données spectrales de masse ont été acquises dans le mode de balayage dans la gamme 33-450 m/z.

Les constituants de l'huile essentielle ont été identifiés en faisant correspondre leurs spectres de masse et leurs indices de rétention (RI) avec ceux de référence dans les bibliothèques comme Adams [1] Mc Lafferty & Stauffer [2]. Les proportions des composés identifiés ont été calculées par normalisation interne.

III. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Zizyphus lotus*

La mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro des huiles essentielles de *Z.lotus* a été réalisée par le test de blanchiment du β -carotène.

Dans ce test, la capacité antioxydante des huiles est déterminée par la méthode spectrophotométrique de Miller³⁰, en se basant sur la capacité de l'huile à diminuer le blanchiment oxydant du β -carotène dans l'émulsion d'acide β -carotène / acide linoléique.

Les huiles essentielles de *Zizyphus lotus* ont été préparé à une concentration de 2 mg / mL dans du méthanol. Ensuite, 25 μ L d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 ont été ajoutés à la solution de β -carotène qui a été préparée par solubilisation de 0,5 mg de β -carotène dans 2 ml du chloroforme. Après évaporation du chloroforme sous pression réduite à 40 ° C, 100 mL d'eau oxygénée ont été ajoutés sous agitation vigoureuse jusqu'à la formation d'une émulsion. 3,5 mL de cette émulsion ont été transférés dans un tube contenant 500 μ L d'huile essentielle. L'absorbance à zéro temps a été lue à 490 nm. Les lectures d'absorbance ont été enregistrées à 48 heures jusqu'à ce que la couleur visuelle du β -carotène dans l'échantillon témoin disparaisse.

L'activité antioxydante (% d'inhibition) a été calculée en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Inhibition \%} = (A_{\beta\text{-carotène après 48 heures de dosage}} * 100) / A_{\beta\text{-carotène initial}}$$

Où ; $A_{\beta\text{-carotène après 48 heures de dosage}}$ est l'absorbance du β -carotène restant dans les échantillons après 48 heures de dosage et $A_{\beta\text{-carotène initial}}$ est l'absorbance du β -carotène initial au début de l'expérience. Tous les tests ont été effectués en couple.

IV. Résultats et discussion

IV.1. La composition chimique des huiles essentielles de *Zizyphus lotus*

La distillation des huiles essentielles de *Z. lotus* mène à l'obtention d'un liquide visqueux, avec un rendement de 0,005% (poids / poids) par rapport au poids sec de la plante. Cette investigation a permis d'identifier trente-huit composés, correspondant à 92% d'huile total. La fraction d'acides gras représente la majeure partie avec 78,9%, dont 67,8% d'acides gras saturés et 11% d'acides gras insaturés. Cette fraction contient 23 composés de C8 à C18. Alors que les hydrocarbures ne représentent que 10,8% et les sesquiterpènes 1,1%.

Les principaux constituants sont par ordre décroissant : l'hexadécanoate d'éthyle (12%), l'acide décanoïque (11%), le dodécanoate d'éthyle (9,4%), l'éthyl hexadéc-9-énoate (7,9%), l'acide dodécanoïque (6,5%), le tétradécanoate d'éthyle 6,1%), l'acide tétradécanoïque (5%), le décanoate d'éthyle (4,8%), l'acide octanoïque (3,1%), l'undécanoate d'éthyle (2,8%), l'acide nonanoïque (2,4%) et l'acide undécanoïque (2,1%). Les principaux hydrocarbures sont l'heptacosane (3,7%) et le nonacosane (3,7%) tandis que les seuls sesquiterpènes trouvés sont l' α et le β -eudesmol 0,6% et 0,5% respectivement.

Tableau 46 : composition des huiles essentielles de fruits de *Zizyphus lotus*

N °	RT	^b RI	^a Composés	%
1.	9,734	1167	Acide octanoïque	3,1
2.	10,825	1260	(E)-Dec-2-enal	0,6
3.	11,075	1287	Acide nonanoïque	2,4
4.	12,52	1390	Acide décanoïque	11,0
5.	12,619	1397	décanoate d'éthyle	4,8
6.	13,2	1443	(2E)-dec-2-énoate d'éthyle	0,7
7.	13,604	1476	Acide undécanoïque	2,1
8.	13,858	1496	Undécanoate d'éthyle	2,8
9.	14,808	1565	Acide dodécanoïque	6,5
10.	15,049	1594	Dodécanoate d'éthyle	9,4
11.	15,782	1662	β -Eudesmol	0,6
12.	15,804	1664	α -Eudesmol	0,5
13.	16,143	1695	tridécanoate d'éthyle	1,1
14.	16,198	1697	Pentadecan-2-one	0,7
15.	16,947	1770	Acide tétradécanoïque	5,0
16.	17,066	1781	Acide (Z)-Tetradec-9-énoïque	0,3
17.	17,132	1788	Acide (E)-Tetradec-9-énoïque	0,3
18.	17,22	1796	Tétradécanoate d'éthyle	6,1
19.	17,698	1843		1,3

20.	17,898	1863	6,10,14-Trimethyl-pentadecan-2-one	0,8
21.	18,218	1894	Phtalate	0,8
22.	18,53	1926	Pentadécanoate d'éthyle	0,2
23.	18,975	1972	Hexadécanoate d'méthyle	7,9
24.	19,08	1983	(Z)-hexadéc-9-enoate d'éthyle	0,6
25.	19,22	1997	(E)-hexadéc-9-enoate d'éthyle	12,0
26.	20,11	2085	Hexadécanoate d'éthyle	0,3
27.	20,77	2163	Heptadécanoate d'éthyle	0,7
28.	20,827	2170	(Z)-octadéc-9-enoate d'éthyle	0,5
29.	21,011	2193	(E)-octadéc-9-enoate d'éthyle	0,3
30.	21,922	2300	Octadécanoate d'éthyle	0,3
31.	21,988	2308	Tricosane	0,6
32.	22,744	2399	Tricosan-2-one	0,3
33.	23,536	2500	Tétracosane	0,5
34.	24,262	2595	Pentacosane	0,2
35.	24,297	2600	Hexacos-9-ene	0,3
36.	25,046	2702	Hexacosane	3,7
37.	25,746	2800	Heptacosane	0,5
38.	26,446	2903	Octacosane	3,3
Total			Nonacosane	92,0
hydrocarbures				10,8
acides gras				78,9
sesquiterpènes				1,1

^aComposés : les composés sont listés par l'ordre de leur RI.

^bRI : (indice de rétention) mesuré par rapport aux n-alcanes (C8-C20) en utilisant la colonne HP-5MS.

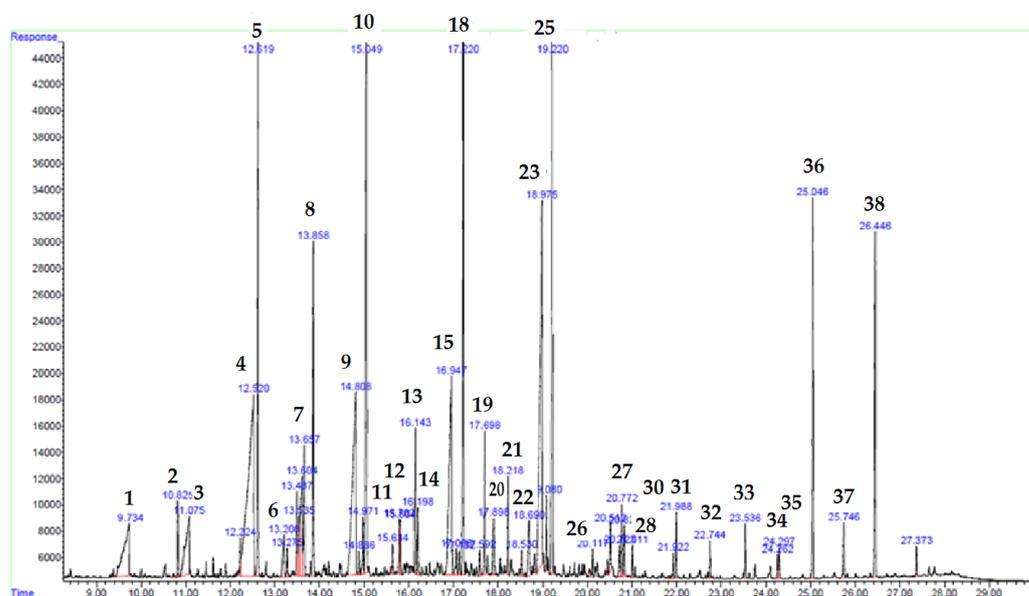


Figure 62 : chromatogramme de l'analyse GC-FID des huiles essentielles des fruits de *Zizyphus lotus*.

Ces résultats diffèrent considérablement de ceux obtenus auparavant sur les huiles essentielles des fruits de cette espèce provenant de deux échantillons algériennes de la région d'Al Mader (Aures) [3] et de Djelfa (sud-ouest de l'Algérie) [4] qui ont été mentionnés au chapitre précédant.

Bien que, la fraction des acides gras représente la partie majoritaire dans les trois échantillons, nos résultats montrent cependant la domination des acides gras saturés par rapport aux acides gras insaturés, ainsi que l'acide gras principal l'hexadécanoate d'éthyle (12%), Contrairement aux résultats des deux autres échantillons algériens qui ont montré la prépondérance des acides gras insaturés avec 49,88% et l'acide oléique (62,79%).

De plus, les hydrocarbures et les sesquiterpènes présents dans notre huile, sont absents dans les deux autres échantillons.

Ces différences qualitatives et quantitatives dans la composition des huiles peuvent être dues à plusieurs facteurs, notamment : la région géographique, la période de la récolte ainsi que les conditions et la méthode d'extraction.

IV.2. Activité antioxydante de l'huile essentielle de *Zizyphus lotus*

Le test de blanchiment du β -carotène a été utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante, du fait qu'il est réalisé dans une émulsion, une situation fréquente dans les aliments. Le Tableau 45 montre la diminution de l'absorbance pendant l'oxydation couplée du β -carotène et de l'acide linoléique.

Tableau 47 : Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique (%) des fruits de *Zizyphus lotus*

Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique (%)	
<i>Zizyphus lotus</i> (L.)	81,61±11,37
Control Négatif	18,66±3,21
BHA	92,28±2,46

D'autre part, il est généralement convenu que l'oxydation est initiée par une attaque des radicaux libres. Par conséquent, les tests de l'évaluation de l'activité de piégeage du radical sont représentatifs du potentiel d'un composé à retarder l'oxydation.

Les capacités antioxydantes ont été estimées à 92,28% et 81,61% pour le BHA et *Z. lotus* respectivement. Ces résultats montrent l'activité antioxydante puissante des huiles essentielles de *Z. lotus* qui peut être liées à la présence des acides gras.

V. Conclusion

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles des fruits de *Zizyphus lotus* a conduit à l'identification de 38 composés, dont 23 acides gras qui représentent la partie majoritaire de cette huile (78,9%), 10,8% d'hydrocarbures et 1,1% de composés sesquiterpéniques. Ces résultats diffèrent considérablement de ceux obtenus auparavant sur les huiles essentielles algériennes du fruit de cette espèce.

Le test de blanchiment du β -carotène a montré que ces huiles essentielles possèdent une activité antioxydante puissante.

Références bibliographiques

- [1] Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Co. Carol Stream, Illinois 1995.
- [2] Mc Lafferty FW, Stauffer DB. The Wiley/NBS registry of mass spectral data. 5th Edition, J. Wiley and Sons, New York 1991.
- [3] Abdeddaim, M.; Lombarkia, O.; Bacha, A.; Fahloul, D.; Abdeddaim, D.; Farhat, R.; Saadoudi, M.; Noui, Y.; Lekbir, A., Biochemical characterization and nutritional properties of *Zizyphus lotus* l. fruits in aures region, northeastern of Algeria. *Ann Food Sci Technol* **2014**, *15*, 75-81.
- [4] Benammar, C.; Hichami, A.; Yessoufou, A.; Simonin, A.-M.; Belarbi, M.; Allali, H.; Khan, N. A., *Zizyphus lotus* L.(Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC complementary and alternative medicine* **2010**, *10*, 54.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le présent travail est principalement consacré à la détermination de la composition chimique et les effets biologiques de *Fagonia longispina* (Zygophyllaceae) et de l'huile essentielle des fruits de *Zizyphus lotus* (Rhamnaceae), appartenant à la flore algérienne.

Notre critère de sélection de ces deux plantes repose sur leurs usages en médecine traditionnelle, et l'endémisme de *Fagonia longispina* (Zygophyllaceae).

Notre étude est consacrée en premier lieu à l'investigation phytochimique et biologique de *F. longispina*. Après avoir décrit les conditions de récolte, extraction et séparation. Nous avons décrits les diverses méthodes chromatographiques utilisées telles que la Chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie sur colonne (phase stationnaire : gel de silice et sephadex LH 20), et la chromatographie sur couche mince. Ces opérations mènent à l'isolement de 21 composés, parmi lesquels nous avons établi les structures de 18. Tous ces produits sont isolés pour la première fois de cette espèce, notamment : un composé décrit pour la première fois dans la littérature : Δ -2-carène-6-ol-6-O-(2',6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside, neuf composés isolés pour la première fois dans la famille des Zygophyllaceae : (3S)-3-O-(β -D-glucopyranosyl)-3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol, (1S,2S,4R)-*p*-menthane-1,2,8-triol 2-O- β -D-glucopyranoside, 3,7-dimethyloct-1-ene-3,6,7-triol, acide para-hydroxy benzoïque, centrololol, (2R,3R)-dihydrokaempferol 3-O- β -D-glucoside, (1S,2S,4R)-*p*-menth-8-ene-1,2-diol 2-O- β -D-glucopyranoside, benzyl-O- β -D-glucopyranoside, kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2) β -D-glucopyranoside, et un composé isolé pour la première fois dans le genre *Fagonia* : acide *p*-coumarique.

L'élucidation structurale des composés isolés a été effectués par des différentes méthodes spectrales à savoir la spectrophotométrie UV-Visible, la RMN1D (^1H , ^{13}C , TOCSY et ROESY) et 2D (HSQC, HMBC, COSY et ROESY), l'analyse des spectres de masse haute résolution (HRESI-MS), et par la comparaison avec les données de la littérature.

Cette investigation phytochimique de *F. longispina* a permis l'obtention de cinq monoterpènes, sept flavonoïdes, quatre dérivés phénoliques et deux stérols.

La validation de l'usage médicinal en pharmacopée traditionnelle de *F. longispina* a été effectuée par l'évaluation du potentiel antioxydant de tous les extraits et le potentiel antibactérien de l'extrait acétate d'éthyle.

Bien que le pouvoir antioxydant n'a pas été significatif en comparaison de celui de l'acide ascorbique, nous pouvons considérer que l'extrait acétate d'éthyle est une bonne source des composés antioxydants. Dans ce cas précis nous pouvons évoquer un effet synergique défavorable. L'extrait acétate d'éthyle a montré la meilleure activité antioxydante. Ceci a été confirmé par l'estimation quantitative des phénols et des flavonoïdes totaux dans cet extrait acétate d'éthyle qui a montré une forte teneur par rapport aux autres extraits.

Ce même extrait possède un bon effet antibactérien.

La seconde partie du présent travail a concerné l'étude de la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles des fruits de *Zizyphus lotus*. Dans ce cadre, l'analyse GC-FID et GC-MS ont permis de détecter 38 composés dont 23 acides gras qui ont représentés la partie majoritaire de cette huile (78,9%) , la présence des hydrocarbures (10,8%) et de sesquiterpènes (1,1%). les constituants majoritaires sont les acides gras saturés tels que : l'hexadécanoate d'éthyle (12%), l'acide décanoïque (11%) et le dodécanoate d'éthyle (9,4%).

Ces résultats ont été comparés avec ceux décrits dans la littérature de deux autres échantillons algériens qui ont montré la prépondérance des acides gras insaturés avec 49,88% et l'acide oléique (62,79%).

L'effet antioxydant des huiles essentielles des fruits de *Z. lotus* a été évalué, en utilisant le test de blanchissement du β -carotène. Les résultats montrent une activité antioxydante puissante de cette huile.

Résumé

Le présent travail est consacré à l'étude phytochimique et biologique d'une espèce endémique saharienne *Fagonia longispina* (Zygophyllaceae) et l'étude de la composition chimique et l'activité antioxydante de l'huile essentielle des fruits de *Zizyphus lotus* (Rhamnaceae).

Dans une première partie, l'extraction des parties aériennes de l'espèce *F. longispina* et les séparations chromatographiques (CC, CCM et HPLC semi-préparative), ont conduit à isoler et identifier par les différentes méthodes spectroscopiques (RMN 1D et 2D, MS et UV) **18 composés** parmi lesquels un **monoterpène glucoside nouveau** de type Δ -2-carène, ainsi que quatre autres monoterpènes, sept flavonoïdes et quatre dérivés phénoliques et deux stérols :

- ✓ Stigmastérol.
- ✓ β -sitostérol.
- ✓ Δ -2-carène-6-ol-6-O-(2',6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside.
- ✓ Cirsimaritine.
- ✓ (3S)-3-O-(β -D-glucopyranosyl)-3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol.
- ✓ (1S,2S,4R)-*p*-menthane-1,2,8-triol 2-O- β -D-glucopyranoside.
- ✓ Hispiduline.
- ✓ 3,7-dimethyloct-1-ene-3,6,7-triol.
- ✓ Acide *p*-coumarique
- ✓ Acide para-hydroxy benzoïque.
- ✓ Centrololol.
- ✓ (2R,3R)-dihydrokaempferol 3-O- β -D-glucoside.
- ✓ (1S,2S,4R)-*p*-menth-8-ene-1,2-diol 2-O- β -D-glucopyranoside.
- ✓ Quercétine 3-O- β -D-glucopyranoside
- ✓ Benzyl-O- β -D-glucopyranoside.
- ✓ Isorhamnétine 3-O-glucopyranoside.
- ✓ Kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2) β -D-glucopyranoside.
- ✓ Astragaline

Les tests de l'évaluation de l'activité antioxydante de tous les extraits et l'activité antibactérienne de l'extrait acétate d'éthyle, montrent d'une part que l'extrait acétate d'éthyle possède un bon effet antibactérien et une bonne source des composés antioxydants d'autre part.

Le pouvoir antioxydant de tous les extraits est relativement moins élevé que celui de l'acide ascorbique. Enfin l'estimation quantitative des phénols et les flavonoïdes totaux a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle a une forte teneur par rapport aux autres extraits.

Dans une deuxième partie, l'analyse GC-FID et GC-MS des huiles essentielles des fruits de *Z. lotus*, a permis d'identifier 38 composés dont la majorité sont des acides gras saturés et insaturés (67,8 et 11%, respectivement) et à degré moindre la présence d'hydrocarbures (10,8%) et de sesquiterpènes (1,1%). Les résultats de cette analyse diffèrent considérablement de ceux obtenus auparavant sur les huiles essentielles du fruit de cette espèce.

Le test de recherche d'activité antioxydante des huiles essentielles des fruits de *Z. lotus* a montré l'activité puissante de cette huile.

Mots clés : *Fagonia longispina*, *Zizyphus lotus*, huiles essentielles, séparations chromatographiques, méthodes spectroscopiques, analyse GC-FID et GC-MS, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

The present work is devoted to the phytochemical and biological study of an endemic species of the septentrional Sahara *Fagonia longispina* Batt. (Zygophyllaceae) and the chemical composition and antioxidant activity study of fruit essential oil of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae).

In a first part, the phytochemical investigation of the species *F. longispina* using different chromatographic methods (CC, TLC and HPLC) led to isolation and identification by different spectroscopic methods (1D and 2D, MS and UV) 18 compounds. Among these isolated compounds, a new monoterpene Δ -2-carene-6-ol-6-O-(2',6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside, together with four other monoterpenes, seven flavonoids, four phenolic derivatives and two sterol.

Moreover, the in vitro free radical-scavenging activity of the all extracts has been investigated by DPPH test, which have demonstrated that ethyl acetate extract are good sources of antioxidant compounds. However, all extracts of *F. longispina* showed no substantial result compared to the antioxidant activity of ascorbic acid. In addition, the total phenolic and the flavonoids contents were measured using spectrophotometers methods, the results showed that the acetate extract has a high content compared to the other extracts. As for antibacterial activity study, showed that a high antibacterial effect of the ethyl acetate extract.

In a second part, the chemical composition of fruit essential oil *Z. lotus* has been investigated by the GC-FID and GC-MS analysis, which led to identified 38 compounds. Fatty acids represented the major fraction (saturated and unsaturated compounds 67.8 and 11%, respectively), followed by hydrocarbons (10.8%) and sesquiterpenes (1.1%). These results were quite different from those obtained previously on the fixed oil of the fruit of this species from two samples from Algeria.

The antioxidant property of this oil was evaluated using β -carotene bleaching method. The result indicated the potent antioxidant activity of essential oils from *Z. lotus*.

Keywords: *Fagonia longispina*, *Zizyphus lotus*, essential oil, different chromatographic methods, GC-FID and GC-MS analysis, spectrophotometers methods, antioxidant activity.

ملخص

انصب اهتمامنا في هذا العمل على الدراسة الفيتوكيميائية والبيولوجية لنبته أصلية من الصحراء الجزائرية هي *Fagonia longispina* Batt. (Zygophyllaceae) و دراسة المكونات الكيميائية و النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية المستخلصة من ثمرة *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae).

في الجزء الأول من هذا العمل قمنا بالدراسة الفيتوكيميائية لنبته *Fagonia longispina* عن طريق استخلاص الأجزاء الهوائية للنبته والفصل الكروماتوغرافي (العمود، الطبقة الرقيقة، HPLC) والتي مكنتنا من عزل 18 مركبا، من بينها مركب جديد من نوع تربينات الاحادية، بالإضافة الى 4 تربينات احادية أخرى، 7 فلافونيدات، 4 مشتقات فينولية و 2 ستيروول. تم التعرف البنوي لهذه المركبات المفصلة باستعمال مختلف الطرق التحليل الطيفي (RMN 1D, 2D, UV, SM).

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لجميع المستخلصات بالاعتماد على طريقة DPPH (in vitro)، التي أظهرت أن مستخلص أسيتات الإيثيل هو مصدر جيد لمضادات الأكسدة. ومع ذلك جميع المستخلصات لم تظهر أي نشاط هام مقارنة مع نشاط حمض الاسكوربيك المضاد للأكسدة. من ناحية أخرى تم قياس محتوى الفينول والفلافونويد الكلي، وأظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل له محتوى عالي مقارنة بالمستخلصات الأخرى.

أما بالنسبة لدراسة النشاط المضاد للبكتيريا، فقد أظهرت أن مستخلص أسيتات الإيثيل له تأثير مضاد للجراثيم عالي.

في الجزء الثاني من هذا العمل تم تحديد المكونات الكيميائية للزيوت الأساسية المستخلصة من ثمرة *Zizyphus lotus*، وقد أظهرت التحليل GC-FID و GC-MS غنى هذا الزيت بالأحماض الدهنية المشبعة (67.8%) و غير مشبعة (11%) ، بالإضافة الى الهيدروكربونات (10.8%) و سيسكيتربينات (1.1%). وهذه النتائج تختلف تماما عن نتائج الدراسات السابقة لهذا الزيت المذكورة في الادب.

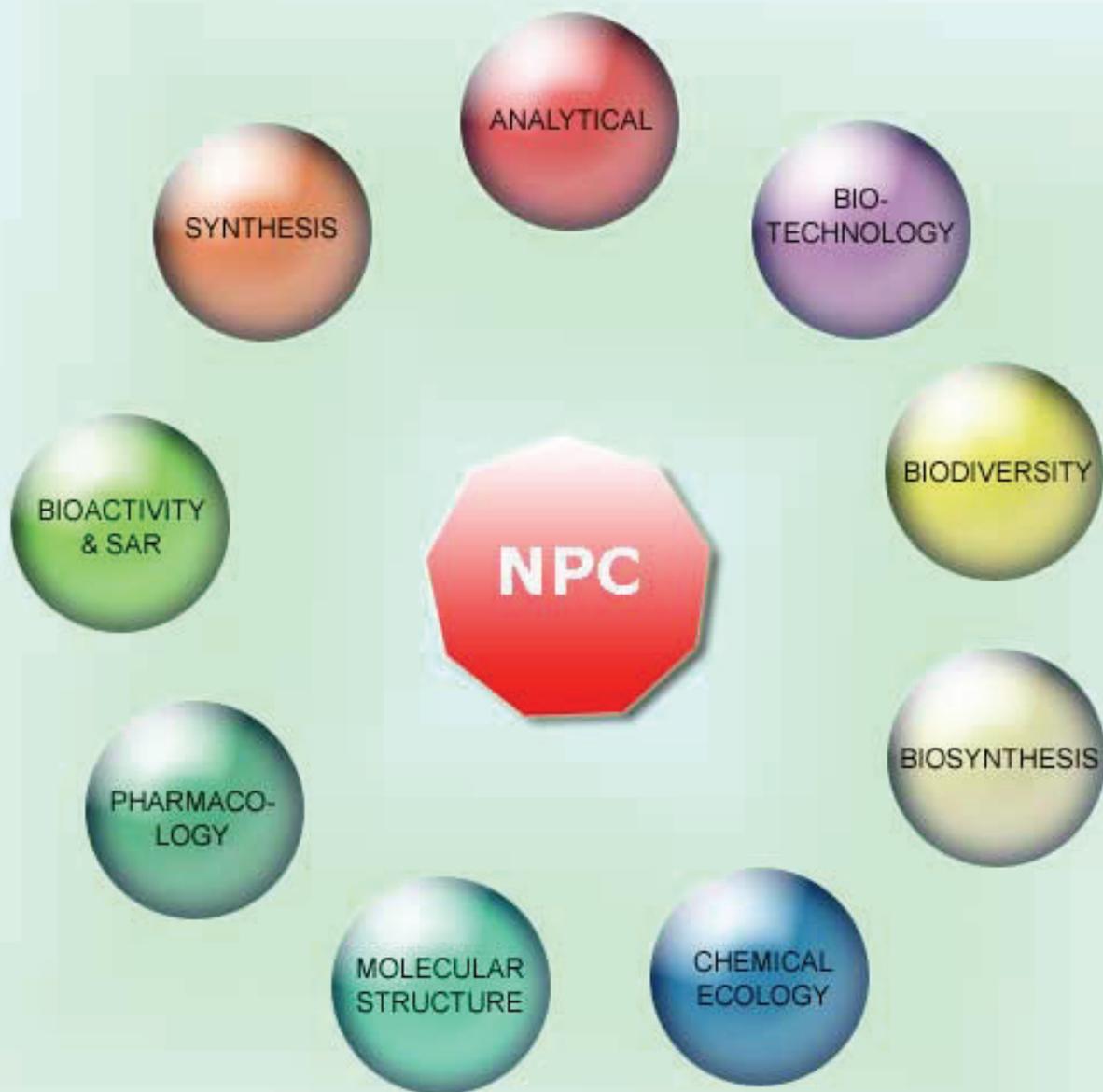
وقد أثبت اختبار النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية المستخلصة من ثمرة *Zizyphus lotus* باستخدام طريقة التبييض β كاروتين، النشاط القوي لهذا الزيت.

الكلمات المفتاحية

Zizyphus lotus، *Fagonia longispina* ، الفصل الكروماتوغرافي، طرق التحليل الطيفي، الزيوت الأساسية، التحليل GC-FID و GC-MS، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

NATURAL PRODUCT COMMUNICATIONS

An International Journal for Communications and Reviews Covering all
Aspects of Natural Products Research



Volume 12. Issue 9. Pages 1381-1528. 2017
ISSN 1934-578X (printed); ISSN 1555-9475 (online)
www.naturalproduct.us

EDITOR-IN-CHIEF**DR. PAWAN K AGRAWAL**

Natural Product Inc.
7963, Anderson Park Lane,
Westerville, Ohio 43081, USA
agrawal@naturalproduct.us

EDITORS**PROFESSOR ALEJANDRO F. BARRERO**

Department of Organic Chemistry, University of Granada,
Campus de Fuente Nueva, s/n, 18071, Granada, Spain
afbarre@ugr.es

PROFESSOR MAURIZIO BRUNO

Department STEBICEF,
University of Palermo, Viale delle Scienze,
Parco d'Orleans II - 90128 Palermo, Italy
maurizio.bruno@unipa.it

PROFESSOR VLADIMIR I. KALININ

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry,
Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
Pr. 100-letya Vladivostoka 159, 690022,
Vladivostok, Russian Federation
kalininv@piboc.dvo.ru

PROFESSOR YOSHIHIRO MIMAKI

School of Pharmacy,
Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences,
Horinouchi 1432-1, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan
mimakiy@ps.toyaku.ac.jp

PROFESSOR STEPHEN G. PYNE

Department of Chemistry, University of Wollongong,
Wollongong, New South Wales, 2522, Australia
spyne@uow.edu.au

PROFESSOR MANFRED G. REINECKE

Department of Chemistry, Texas Christian University,
Forts Worth, TX 76129, USA
m.reinecke@tcu.edu

PROFESSOR WILLIAM N. SETZER

Department of Chemistry, The University of Alabama in Huntsville,
Huntsville, AL 35809, USA
wsetzer@chemistry.uah.edu

PROFESSOR PING-JYUN SUNG

National Museum of Marine Biology and Aquarium
Checheng, Pingtung 944
Taiwan
pjsung@nmmba.gov.tw

PROFESSOR YASUHIRO TEZUKA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University,
Ho-3 Kanagawa-machi, Kanazawa 920-1181, Japan
y-tezuka@hokuriku-u.ac.jp

PROFESSOR DAVID E. THURSTON

Institute of Pharmaceutical Science
Faculty of Life Sciences & Medicine
King's College London, Britannia House
7 Trinity Street, London SE1 1DB, UK
david.thurston@kcl.ac.uk

HONORARY EDITOR**PROFESSOR GERALD BLUNDEN**

The School of Pharmacy & Biomedical Sciences,
University of Portsmouth,
Portsmouth, PO1 2DT U.K.
axuf64@dsl.pipex.com

ADVISORY BOARD

Prof. Giovanni Appendino
Novara, Italy

Prof. Norbert Arnold
Halle, Germany

Prof. Yoshinori Asakawa
Tokushima, Japan

Prof. Vassaya Bankova
Sofia, Bulgaria

Prof. Roberto G. S. Berlinck
São Carlos, Brazil

Prof. Anna R. Bilia
Florence, Italy

Prof. Geoffrey Cordell
Chicago, IL, USA

Prof. Fatih Demirci
Eskişehir, Turkey

Prof. Francesco Epifano
Chieti Scalo, Italy

Prof. Ana Cristina Figueiredo
Lisbon, Portugal

Prof. Cristina Gracia-Viguera
Murcia, Spain

Dr. Christopher Gray
Saint John, NB, Canada

Prof. Dominique Guillaume
Reims, France

Prof. Duvvuru Gunasekar
Tirupati, India

Prof. Hisahiro Hagiwara
Niigata, Japan

Prof. Judith Hohmann
Szeged, Hungary

Prof. Tsukasa Iwashina
Tsukuba, Japan

Prof. Leopold Jirovetz
Vienna, Austria

Prof. Phan Van Kiem
Hanoi, Vietnam

Prof. Niel A. Koorbanally
Durban, South Africa

Prof. Chiaki Kuroda
Tokyo, Japan

Prof. Hartmut Laatsch
Gottingen, Germany

Prof. Marie Lacaillle-Dubois
Dijon, France

Prof. Shoei-Sheng Lee
Taipei, Taiwan

Prof. M. Soledade C. Pedras
Saskatoon, Canada

Prof. Luc Pieters
Antwerp, Belgium

Prof. Peter Proksch
Düsseldorf, Germany

Prof. Phila Raharivelomanana
Tahiti, French Polynesia

Prof. Stefano Serra
Milano, Italy

Dr. Bikram Singh
Palampur, India

Prof. Leandros A. Skaltsounis
Zografou, Greece

Prof. John L. Sorensen
Manitoba, Canada

Prof. Johannes van Staden
Scottsville, South Africa

Prof. Valentin Stonik
Vladivostok, Russia

Prof. Winston F. Tinto
Barbados, West Indies

Prof. Sylvia Urban
Melbourne, Australia

Prof. Karen Valant-Vetschera
Vienna, Austria

INFORMATION FOR AUTHORS

Full details of how to submit a manuscript for publication in Natural Product Communications are given in Information for Authors on our Web site <http://www.naturalproduct.us>.

Authors may reproduce/republish portions of their published contribution without seeking permission from NPC, provided that any such republication is accompanied by an acknowledgment (original citation)-Reproduced by permission of Natural Product Communications. Any unauthorized reproduction, transmission or storage may result in either civil or criminal liability.

The publication of each of the articles contained herein is protected by copyright. Except as allowed under national "fair use" laws, copying is not permitted by any means or for any purpose, such as for distribution to any third party (whether by sale, loan, gift, or otherwise); as agent (express or implied) of any third party; for purposes of advertising or promotion; or to create collective or derivative works. Such permission requests, or other inquiries, should be addressed to the Natural Product Inc. (NPI). A photocopy license is available from the NPI for institutional subscribers that need to make multiple copies of single articles for internal study or research purposes.

To Subscribe: Natural Product Communications is a journal published monthly. 2017 subscription price: US\$2,595 (Print, ISSN# 1934-578X); US\$2,595 (Web edition, ISSN# 1555-9475); US\$2,995 (Print + single site online); US\$595 (Personal online). Orders should be addressed to Subscription Department, Natural Product Communications, Natural Product Inc., 7963 Anderson Park Lane, Westerville, Ohio 43081, USA. Subscriptions are renewed on an annual basis. Claims for nonreceipt of issues will be honored if made within three months of publication of the issue. All issues are dispatched by airmail throughout the world, excluding the USA and Canada.

A New Δ -2-Carene- β -D-glucopyranoside from *Fagonia longispina*Widad Ourzeddine^a, Massimiliano D'Ambola^b, Nicola Malafronte^b, Francisco León^c, Ignacio Brouard^c, Fadila Benayache^a and Samir Benayache^{a*}^aDepartment of Chemistry, Research unit, Development of Natural Resources, Bioactive Molecules and Physicochemical and Biological Analysis, University of Frères Mentouri Constantine 1, Algeria^bDipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Salerno, Via Giovanni Paolo II 132, 84084 Fisciano (SA), Italy^cInstituto de Productos Naturales y Agrobiología, CSIC, Av. Astrofísico Fco., Sánchez, 3, 38206 La Laguna, Tenerife, Spain

sbenayache@yahoo.com

Received: April 8th, 2017; Accepted: July 8th, 2017

One new monoterpene Δ -2-carene-6-ol-6-*O*-(2',6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside together with fifteen known compounds among which seven flavonoids, four terpene glucosides and four phenolic derivatives, were isolated from the leaves of *Fagonia longispina* Batt., an endemic species of the septentrional Sahara. Their structures were determined by NMR spectroscopy and mass spectrometry analysis.

Keywords: *Fagonia longispina*, Zygophyllaceae, Monoterpenes, Flavonoids.

The genus *Fagonia* is one of the 27 genera of Zygophyllaceae family. It contains about 34 species with a disjunct distribution confined to warm and arid areas of the New and Old World [1]. This genus is present in Algeria with 17 species [2]. Several phytochemical studies of this genus showed the presence of flavonoids [3], diterpenoids [4, 5], and triterpenoid saponins [6]. *Fagonia longispina* Batt. is a rare small spiny shrub endemic to Algeria and Southeast of Morocco [3]. It is called "Chouika" or "Atlihia" and used in folk medicine for the treatment of urinary tract inflammation and cold diseases, against rheumatoid and arthritis, and as insect repellent [7]. The aerial parts of this species were previously investigated by GC-MS [8].

In this study, we performed a phytochemical study of the aerial parts of *Fagonia longispina* Batt., and we here describe the isolation and characterization by spectroscopic analyses of a new Δ -2 carene glycoside **1**, along with fifteen compounds described for the first time for this species, among which nine derivatives (**3**, **4**, **6**, **8-11** and **13**) are isolated for the first time from the Zygophyllaceae family, and compounds **5** and **7** are new for the genus *Fagonia*.

Compound **1** was obtained as yellow oil. The molecular formula was established as C₂₀H₃₀O₈ on the basis of HR-ESI-MS (*m/z* 421.1832 [M+Na]⁺, calculated for C₂₀H₃₀O₈Na: 421.1832), together with six degrees of unsaturation. Compound **1** displayed 20 carbon resonances in its ¹³C NMR spectrum (Table 1), of which 10 could be assigned to the resonances of the aglycone, 6 to a sugar moiety, and 4 to acetyl residues. The ¹H and ¹³C NMR spectra (Table 1), showed characteristic signals of a hexose group. Notably, a CH at δ_C 95.0 ppm (δ_H 4.51, d, *J* = 7.8 Hz, 1H) assigned to the anomeric carbon C-1' and a -CH₂OH group at δ_C 63.3 (δ_H 4.38, m, H-6'a, δ_H 4.20, m, H-6'b) assigned to C-6'. The chemical shift of all the individual protons of the sugar unit were ascertained from a combination of 1D-TOCSY and DQF-COSY spectral analysis, and the ¹³C-NMR chemical shifts (Table 1) of its attached carbons could be unambiguously assigned from the HSQC spectrum. In this way, the sugar unit was identified as β -glucopyranoside [9].

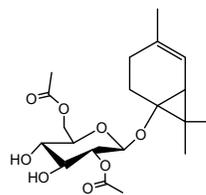


Figure 1: Structure of compound 1.

Table 1: NMR data of compound 1 (CD₃OD, 600 MHz)^a.

position	δ_H	δ_C
1	1.91 br s	41.0
2	5.36 br s	119.0
3		143.1
4	2.26 br dd (2.8, 15.0)	36.8
	2.36 ddd (3.8, 12.2, 15.0)	
5	1.59 m	36.6
	2.49 br dd (2.0, 15.5)	
6		80.3
7		42.6
8	0.90 s	18.0
9	1.17 s	20.0
10	1.71 s	20.7
1'	4.51 d (8.5)	95.0
2'	4.73 dd (8.5, 9.5)	73.4
3'	3.52 t (9.5)	74.5
4'	3.35 t (9.5)	70.0
5'	3.45 m	73.5
6'	4.38 br d (12.0)	63.3
	4.20 dd br d (5.0, 12.0)	
COOCH ₂	2.10 s	20.7
COOCH ₃		171.0
COOCH ₂	2.06 s	19.1
COO		171.0

^a*J* values are in parentheses and reported in Hz; chemical shifts in ppm; Assignments were confirmed by COSY, HSQC and HMBC experiments.

The HMBC experiments displayed a correlation between H₂-6' and the carbon of the carbonyl at δ_C 171.05 ppm, which further correlated to the protons of the methyl at δ_H 2.10; in the same spectrum the signal of proton H-2' correlated with the carbon of the carbonyl at δ_C 171.03 ppm, which showed a correlation with the protons of the methyl at δ_H 2.06. These data indicated the presence of two acetyl groups at C-2' and C-6' positions of the glucose

moiety and were confirmed by the chemical shift values of H₂-6' protons at δ_{H} 4.38, m, H-6'a, δ_{H} 4.20, m, H-6'b and H-2' at δ_{H} 4.73 ppm [9]. The proton and carbon NMR data indicated clearly a carene skeleton. This assumption was confirmed by comparison of the NMR data of this compound with those of known monoterpenes in literatures [10-11]. In addition in the HMBC experiment, a key correlation between the anomeric proton H-1' and the carbon at δ_{C} 80.5 ppm (C-6) was evident. The HMBC correlations between H₃-10 and C-3, C-2 and C-4 indicated a Δ -2 carene type skeleton; therefore, compound **1** was established as: Δ -2-carene-6-ol-6-*O*-(2', 6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside. This compound is now described for the first time in the literature (Figure 1).

The fifteen known compounds were identified as : cirsimaritin (**2**) [12], (3*S*)-3-*O*-(β -D-glucopyranosyl)-3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol (**3**) [13], 2-hydroxy-5-(1-hydroxy-1-methylethyl)-2-methyl cyclohexyl- β -D-glucopyranoside (**4**) [14], isokaempferide (**5**) [15], 3,7-dimethyloct-1-ene-3,6,7-triol (**6**) [16], naringeninic acid (**7**) [17], *p*-hydroxybenzoic acid (**8**) [17], centrololol (**9**) [18], arthromerin B(**10**) [19], 2-hydroxy-2-methyl-5-(1-methylethenyl) cyclohexyl- β -D-glucopyranoside (**11**) [20], quercetin 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**12**) [21], benzyl alcohol glucoside (**13**) [22], isorhamnetin 3-*O*-glucopyranoside (**14**) [23], kaempferol 3-*O*-rutinoside (**15**) [24] and astragalol (**16**) [24], by detailed NMR and MS analyses and comparison with literature data.

Compounds **3**, **4**, **6**, **8-11** and **13** are isolated for the first time from the Zygophyllaceae family, while **5** and **7** are new for the genus *Fagonia*.

Experimental

General experimental procedures: Optical rotations were measured on a Rudolph Analytical Autopol IV polarimeter equipped with a sodium lamp (589 nm) and a 1 dm microcell. NMR experiments were performed on a Bruker DRX-600 spectrometer (Bruker BioSpin Germany) equipped with a Bruker 5 mm TCI CryoProbe at 300° K. HR-ESIMS were acquired on a Q-TOF premier spectrometer (Waters-Milford).

Plant material: The aerial parts of *Fagonia longispina* Batt. were collected during flowering period, in April 2012 near Bechar in the south west of Algeria and authenticated by Mr. Benabdelhakem Mohamed of the national agency of preservation of natural resources. A voucher specimen (FL N° 38/2015) has been deposited at the Herbarium of the VARENBIOMOL research unit, Constantine 1 University.

Extraction and isolation: The aerial parts (2200 g) of *Fagonia longispina* (Zygophyllaceae) were chopped and divided in two parts; the first was macerated with chloroform for 10 min, three times. After filtration, the filtrates were combined, concentrated to obtain the chloroform exudates extract (20.16 g). The second part was extracted at room temperature with MeOH-H₂O (7:3 v/v) three times for 24 h. After filtration, the combined methanol extracts were evaporated under reduced pressure, up to 37 °C and dissolved in water (400 ml). The resulting solution was filtered and extracted successively with petroleum ether, CHCl₃, EtOAc and *n*-BuOH. The organic phases were concentrated to obtain the following dry extracts: petroleum ether (0.39 g), CHCl₃ (3.27 g), EtOAc (3.5 g) and *n*-BuOH (25.27 g). A portion (16 g) of the chloroform exudate

was subjected to column chromatography on silica gel and eluted with a mixture of *n*-hexane-EtOAc with increasing polarity. Fractions of 100 ml were combined according to their TLC behavior to yield 48 fractions. Fraction 34 (141.4 mg) (*n*-hexane-EtOAc, 6:4) afforded after purification by semi-preparative reversed phase HPLC using MeOH-H₂O (57:43), Δ -2-carene- β -D-glucopyranoside-2', 6'-*O*-acetate (**1**) (1.2 mg, *t_R* 47.5 min). Fraction 36 (131.8 mg) (*n*-hexane-EtOAc, 58:42) was purified by crystallization with CHCl₃/MeOH and silica gel plates (CH₂Cl₂-Et₂O, 8:2) to give cirsimaritin (**2**) (8.2 mg). Fraction 39 (143.1 mg) (*n*-hexane-EtOAc, 54:46) was submitted to preparative TLC on silica gel eluted with CHCl₃-MeOH (7:0.5) to yield (3*S*)-3-*O*-(β -D-glucopyranosyl)-3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol (**3**) (6.1 mg). Fraction 46 (39.5 mg) (*n*-hexane-EtOAc, 1:9) was subjected to preparative TLC (CHCl₃-MeOH, 8.5:1.5) to give 2-hydroxy-5-(1-hydroxy-1-methylethyl)-2-methylcyclohexyl- β -D-glucopyranoside (**4**) (3.4 mg). The ethyl acetate extract (3.5 g) was chromatographed on a silica gel column eluted with CHCl₃-MeOH with increasing polarity. Fractions of 100 ml were collected, based on similarity of spots on TLC to yield 27 fractions. Fraction 3 (30.2 mg) (CHCl₃-MeOH, 96:4) was purified by crystallization in CHCl₃-MeOH to give isokaempferide (**5**) (7.7 mg). Fraction 7 (164.4 mg) (CHCl₃-MeOH, from 94:6 to 92:8) was separated by RP-HPLC using MeOH-H₂O (45:55) to afford 3,7-dimethyloct-1-ene-3, 6,7-triol (**6**) (1.3 mg, *t_R* 10 min) and naringeninic acid (**7**) (1.8 mg, *t_R* 15 min). Fraction 8 (189.8 mg) (CHCl₃-MeOH, 92:8) gave after purification by RP-HPLC using MeOH-H₂O (45:50) *p*-hydroxybenzoic acid (**8**) (2.2 mg, *t_R* 8 min) and centrololol (**9**) (1.0 mg, *t_R* 37.5 min). Fractions 10 and 11 (293.4 mg) (CHCl₃-MeOH, 9:1) which had similar composition were combined and purified by RP-HPLC using a mixture MeOH-H₂O (57:43) to afford arthromerin B (**10**) (3.8 mg, *t_R* 17 min) and 2-hydroxy-2-methyl-5-(1-methylethenyl) cyclohexyl- β -D-glucopyranoside (**11**) (1.3 mg, *t_R* 25 min). Fractions 16 and 17 (113.1 mg) (CHCl₃-MeOH, from 86:14 to 84:16) which had similar TLC behavior were collected and purified by RP-HPLC using MeOH-H₂O (4:6) to obtain quercetin 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**12**) (2.6 mg, *t_R* 25min). A part of the *n*-butanol extract (15g) was fractionated by column chromatography on silica gel with a stepwise gradient mixture of CHCl₃-MeOH as eluent. Fractions of 100 mL were collected, analyzed by TLC on silica gel and grouped to obtain 25 fractions. Fraction 9 (52.3mg) (CHCl₃-MeOH, from 9:1 to 85:15) gave after purification by RP-HPLC eluted with MeOH-H₂O (28:72) benzyl alcohol glucoside (**13**) (1.8 mg, *t_R* 12min). Fractions 11 and 12 (CHCl₃-MeOH, from 8:2 to 75:25) were combined (72.0 mg) and purified by HPLC (MeOH-H₂O, 1:1) to yield isorhamnetin-3-*O*-glucoside (**14**) (2.1 mg, *t_R* 12 min). Fraction 13 (239.2 mg) (CHCl₃-MeOH, 8:2) was loaded onto preparative TLC on silica gel, eluted with a mixture of EtOAc-MeOH-H₂O, 8:1:1) and further purified by Sephadex LH-20 column to yield kaempferol 3-*O*-rutinoside (**15**) (6.2 mg). Purification of fraction 16 (180.9 mg) (CHCl₃-MeOH, from 75:25 to 7:3) was carried out by plates on silica gel eluted with EtOAc-MeOH-H₂O, 8:1:1, followed by Sephadex LH-20 column to afford astragalol (**16**) (6.4 mg).

Δ -2-Carene-6-ol-6-*O*-(2',6'-diacetyl)- β -D-glucopyranoside (**1**)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: + 3.2 (*c* 0.13, MeOH).

¹H and ¹³C NMR: Table 1.

HRESIMS *m/z*: 421.1832 [M+Na]⁺, calculated for C₂₀H₃₀O₈Na: 421.1832).

References

- [1] Beiera BA, Nylanderb JAA, Chasec MW, Thulina M. (2004) Phylogenetic relationships and biogeography of the desert plant genus *Fagonia* (Zygophyllaceae), inferred d by parsimony and Bayesian model averaging. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **33**, 91–108.

- [2] Quezel P, Santa S. (1962) Nouvelle Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Vol. 7. Paris Tome1 Editions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- [3] Shaheed HMS. (1969) Hamdard Pharmacopoeia of eastern medicine. Hamdard Pharmacopoeia.
- [4] Eman AEW. (2007) Phytochemical and molluscicidal investigations of *Fagonia arabica*. *Zeitschrift für Naturforschung C: Journal of Biosciences*, **62**, 661–667.
- [5] Sallam A, Nugroho AE, Hirasawa Y, Chin-Piow W, Kaneda T, Shirota O, Gedara SR, Morita H. (2014) Diterpenoids from *Fagonia molli*. *Natural Product Communications*, **9**, 1243-1244.
- [6] Farheen R, Siddiqui BS, Mahmood I, Shabana US, Saba M. (2015) Triterpenoids and triterpenoid saponins from the aerial parts of *Fagonia indica* Burm. *Phytochemistry Letters*, **13**, 256-261.
- [7] Hamidi N, Lazouni HA, Moussaoui A, Ziane L, Djellouli M, Belabbesse A. (2014) Ethnopharmacology, antibacterial and antioxidant activities, phytochemical screening of bioactive extracts from the aerial parts of *Fagonia longispina*. *Asian Journal of Natural & Applied Sciences*, **3**, 53-63.
- [8] Hamidi N, Ziane L, Djellouli M and Lazouni HA. (2016) Chemical characterization by GC-MS from the aerial parts of *Fagonia longispina* (Zygophyllaceae). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **9**, 175-176.
- [9] De Tommasi N, Autore G, Bellino A, Pinto A, Pizza C, Sorrentino R, Venturella P. (2000) Antiproliferative triterpene saponins from *Trevesia palmata*. *Journal of Natural Products*, **63**, 308-314.
- [10] Stumpf B, Wray V, Kieslich K. (1990) Oxidation of carenes to chaminic acids by *Mycobacterium smegmatis* DSM 43061. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **33**, 251–254.
- [11] Qiao-Lin X, Mei Z, Zhong-Yu Z, Wan-Xue L, Fang-Hao W, Hong-Feng W, Jian-Wen T. (2014) Two new carene-type monoterpenes from aerial parts of *Ageratina adenophora*. *Phytochemistry Letters*, **9**, 123-126.
- [12] Alwahsh MAA, Khairuddean M, Chong WK. (2015) Chemical constituents and antioxidant activity of *Teucrium barbeyanum* Aschers. *Records of Natural Products*, **9**, 159-163.
- [13] Youngwan S, Jongheon S, Hyo Jun C, You-Ah K, Jong-Woong A, Burm-Jong L, Dong Seok L. (2003) A new monoterpene glucoside from *Portulaca oleracea*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **24**, 1475-1477.
- [14] Ishikawa T, Kudo M, Kitajima J. (2002) Water-soluble constituents of dill. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **50**, 501-507.
- [15] Shafek RE, Shafik NH, Michael HN, El-Hagrassi AM, Osman AF. (2015) Phytochemical studies and biological activity of *Dodonaea viscosa* flowers extract. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **7**, 109-116.
- [16] Manns D. (1995) Linalool- and cineole-type glucosides from *Cunila spicata*. *Phytochemistry*, **39**, 1115-1118.
- [17] Baderschneider B, Winterhalter P. (2001) Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 2788-2798.
- [18] Smite E, Lundgren LN, Andersson R. (1993) Arylbutanoid and diarylheptanoid glycosides from inner bark of *Betula pendula*. *Phytochemistry*, **3**, 365-369.
- [19] Huang AC, Wilde A, Ebmeyer J, Skouroumounis GK, Taylor DK. (2013) Examination of the phenolic profile and antioxidant activity of the leaves of the Australian native plant *Smilax glycyphylla*. *Journal of Natural Products*, **76**, 1930-1936.
- [20] Matsumura T, Ishikawa T, Kitajima J. (2002) Water-soluble constituents of caraway: carvone derivatives and their glucosides. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **50**, 66-72.
- [21] Lepore L, Malafronte N, Condero FB, Gualtieri MJ, Abdo S, Dal Piaz F, De Tommasi N. (2011) Isolation and structural characterization of glucosides from an anti-angiogenic extract of *Monnina obtusifolia* H.B.K. *Fitoterapia*, **82**, 178-183.
- [22] Murata T, Nakano M, Miyase T, Yoshizaki F. (2014) Chemical constituents of aerial parts and roots of *Pycnanthemum flexuosum*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **62**, 608-612.
- [23] Al-Wakeel SAM. (1992) Significance of flavonoid chemistry in the Egyptian *Fagonia glutinosa* and *F. isotricha* complexes. *Biochemical Systematics and Ecology*, **20**, 259-64.
- [24] Malafronte N, Pesca MS, Bisio A, Escobar LM, De Tommasi N. (2009) New flavonoid glycosides from *Vernonia ferruginea*. *Natural Product Communications*, **4**, 1639-1642.

Stereoselective Total Syntheses of (3R,5R)-Sonnerlactone and (3R,5S)-Sonnerlactone Supriya Ghanty, P. Rasvan Khan and B. V. Subba Reddy	1479
Phytochemical Constituents from the Root of <i>Luvunga Scandens</i> and Biological Activity Evaluation Prangchanok Sirinut, Awanwee Petchkongkeaw, Jariya Romsaiyud, Saisuree Prateeptongkum and Panumart Thongyoo	1483
Quantitative and Qualitative Analysis of <i>Eruca sativa</i> and <i>Brassica juncea</i> Seeds by UPLC-DAD and UPLC-ESI-QTOF Arti Sharma, Ritika Sharma, Rohit Arora, Saroj Arora, Bikram Singh and Upendra Sharma	1485
LC-MS-based Screening of East Indian Sandalwood Oil for <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Shikimate Kinase and <i>Plasmodium falciparum</i> Thioredoxin Reductase Inhibitory Activities Thankhoe A. Rants'o, Mansour Alturki, Corey Levenson and Angela I. Calderón	1491
HPLC Fingerprint Combined with Quantitation of Main Effective Components and Chemometrics as an Efficient Method for Quality Evaluation of <i>Oviductus Ranae</i> Shihan Wang, Yang Xu, Yanwei Wang, Zuying Lv, Qingyan Cui, Xiangqun Jin and Yongsheng Wang	1495
Simultaneous Quantification of a Herbal Combination of <i>Pueraria lobata</i>, <i>Salvia miltiorrhiza</i> and <i>Panax notoginseng</i> by Rapid Resolution Liquid Chromatography Shu-Chao Yan, Jie Ma, Qian-Qian Huang, Ana Mani, Ya-ling Cai, Chun-xue Chen, Chun-Ping Yin and Yuan-Chun Ma	1501
Aroma Profile and Essential Oil Composition of <i>Helichrysum</i> species Rose Vanessa Bandeira Reidel, Pier Luigi Cioni, Barbara Ruffoni, Claudio Cervelli and Luisa Pistelli	1507
Chemical Profile of Essential Oils and Headspace Volatiles of <i>Chaerophyllum hirsutum</i> from Serbia Goran M. Petrović, Jelena G. Stamenković, Gordana S. Stojanović, Violeta D. Mitić and Bojan K. Zlatković	1513
Effect of Plant Essential Oils against <i>Rophalosiphum padi</i> on Wheat and Barley Daniela Gruľová, Silvia Mudrončeková, Valtcho D. Zheljzkov, Ivan Šalamon and Silvia I. Rondon	1517
<u>Accounts/Reviews</u>	
1-Deoxynojirimycin: Sources, Extraction, Analysis and Biological Functions Niannian Wang, Feifei Zhu and Keping Chen	1521

Natural Product Communications

2017

Volume 12, Number 9

Contents

<u>Original Paper</u>	<u>Page</u>
A New Δ-2-Carene-β-D-glucopyranoside from <i>Fagonia longispina</i> Widad Ourzeddine, Massimiliano D'Ambola, Nicola Malafronte, Francisco León, Ignacio Brouard, Fadila Benayache and Samir Benayache	1381
Perillyl Alcohol: Antinociceptive Effects and Histopathological Analysis in Rodent Brains Rubens Batista Benedito, Mateus Feitosa Alves, Wendel Batista Pereira, Paula de Arruda Torres, Jéssica Pereira Costa, Adriana da Rocha Tomé, Rita de Cássia da Silveira e Sá, Damião Pergentino de Sousa, Paulo Michel Pinheiro Ferreira, Rivelilson Mendes de Freitas, Margareth de Fatima F. Melo Diniz and Reinaldo Nóbrega de Almeida	1385
Dinimbiol Ether, a Novel Bioactive Dimeric Diterpene from the Root Extract of <i>Cnidocolus souzæ</i> Karlina García-Sosa, Rodolfo Aldana-Pérez, Reyna V. Ek Moo, Paulino Simá-Polanco and Luis M. Peña-Rodríguez	1391
Preventive Effect of Abietic Acid against Skin Cancer of Mice Nianyun Yang and Lijuan Tian	1393
Chemical Constituents from <i>Walsura pinnata</i> (Meliaceae) Mohamad A. Mahdzir, Jamil A. Shilpi, Norfaizah Mahmud, Sujatha Ramasamy and Khalijah Awang	1397
Effects of <i>Paederia foetida</i> and its Bioactive Phytochemical Constituent Lupeol on Hepatic Phase I Drug Metabolism Sourabh Dubey, Kuntal Mitra, Bijoy Kumar De, Arijit Mondal and Anupam Bishayee	1401
<i>Fatsia polycarpa</i> Triterpenoids and Acetylated Derivatives Thereof Inhibit Tumor Necrosis Factor-α-Induced Inflammation Chang-Hung Chou, Yan-Ting Lu, Shi-Yie Cheng and Hsueh-Ling Cheng	1405
Synthesis of Deuterium-Labeled Steroid 3,6-Diols Natalia V. Ivanchina, Vladimir I. Gorbach, Anatoly I. Kalinovsky, Alla A. Kicha, Timofey V. Malyarenko, Pavel S. Dmitrenok and Valentin A. Stonik	1411
Berberine Inhibited the Proliferation of Cancer Cells by Suppressing the Activity of Tumor Pyruvate Kinase M2 Zhichao Li, Hanqing Li, Yangxu Lu, Peng Yang and Zhuoyu Li	1415
Chelidonine and Homochelidonine Induce Cell Death through Cell Cycle Checkpoints and MAP Kinase Pathways Radim Havelek, Martina Seifrtova, Karel Kralovec, Klara Habartova, Lucie Cahlikova and Martina Rezacova	1419
Alkaloids from the Bulbs of <i>Boophone disticha</i> Elmarie van Rensburg, Pieter C. Zietsman, Susan L. Bonnet and Anke Wilhelm	1431
Rothtalazepane, A New Azepane from the Wood of <i>Rothmannia talbotii</i> (Rubiaceae) Romeol Romain Koagne, Gabin Thierry M. Bitchagno, Serge Alain T. Fobofou, Ingrid Simo Konga, Jean de Dieu Tamokou, Ludger A. Wessjohann and Pierre Tane	1435
Influence of Aaptamine Alkaloids on the Growth of Seedling Roots of Agricultural Plants Natalia K. Utkina, Elena L. Chaikina and Mikhail M. Anisimov	1437
TLC Bioautography-guided Isolation and Antimicrobial, Antifungal Effects of 12 Alkaloids from <i>Hylomecon japonica</i> Roots Xuanji Xue, Hui Zhang, Xinxin Zhang, Xia Liu, Ke Xi, Yanxia Han and Zengjun Guo	1439
Further Antinociceptive Properties of Naringenin on Acute and Chronic Pain in Mice Jorge L. Dallazen, Carla F. da Silva, Leticia Hamm, Marina M. Córdova, Adair R. S. Santos, Maria Fernanda P. Werner and Cristiane H. Baggio	1443
A New Flavonol Glycoside from <i>Millettia pachycarpa</i> Yunyao Kang, Yanbei Tu, Xuefei Meng, Qin Li, Chao Zhu and Yanfang Li	1447
Anthocyanin Contents Enhancement with Gamma Irradiated Mutagenesis in Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>) Hyung Won Ryu, Byoung Ok Cho, Jaihyunk Ryu, Chang Hyun Jin, Jin-Baek Kim, Si Yong Kang and Ah-Reum Han	1451
Lactones and Flavonoids isolated from the Leaves of <i>Globimetula braunii</i> Muhammad Kamal Ja'afar, Shajarahtunnur Jamil, Norazah Basar, Mohd Bakri Bakar, Satyajit D. Sarker, Keith J. Flanagan and Mathias O. Senge	1455
Amidochromenes for Promising Antileishmanial Activity Abdelhak Neghra, Marilyn Lecsó, Marie-José Butel, Laila S. Espindola, Brigitte Deguin and Elisabeth Seguin	1459
Two Diarylundecanones Isolated from <i>Ardisia tenera</i> Chong-Yu Lu, Hong-Xiang Li, Sha Li, Ling Qiu, Si Yu, Zhi-Xing Cao, Da-Le Guo and Yun Deng	1463
Environmental Factors do not Affect the Phenolic Profile of <i>Hypericum perforatum</i> Growing Wild in Bosnia and Herzegovina Sanja Čavar Zeljković, Erna Karalija, Adisa Parić, Edina Muratović and Petr Tarkowski	1465
Cytotoxic Compounds from the Stem Bark of <i>Calophyllum soulattri</i> Chan-Kiang Lim, Subramaniam Hemaroopini, Yee-How Say and Vivien Yi-Mian Jong	1469
Antioxidant Metabolites from the Stems of <i>Bakeridesia gaumeri</i> Fabiola Escalante-Erosa, Javier A. Ruiz-Vargas, Alonso Gómez-Guzmán, Birgit Waltenberger, Hermann Stuppner and Luis M. Peña-Rodríguez	1473
Synthesis and Cytotoxic Evaluation of Glucoconjugated Ethylmompain Derivatives Natalia D. Pokhilo, Lyubov N. Atopkina, Marina I. Kiseleva, Vladimir A. Denisenko and Victor Ph. Anufriev	1475

Continued inside backcover

Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Fruit Essential Oil of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae)

Ourzeddine Widad¹, Fadel Hamza¹, Mechehoud Youcef¹, Chalchat Jean-claude², Figueredo Gilles³, Chalard Pierre², Benayache Fadila¹, Benayache Samir^{1*}

¹Unité de Recherche Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques. Université des Frères Mentouri, Constantine, Route d'Aïn El Bey, 25000, Constantine, Algérie.

²Laboratoire de Chimie des Hétérocycles et Glucides, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Clermont-Ferrand, Ensemble Scientifique des Céseaux, BP 187- 63174, Clermont-Ferrand, France.

³Laboratoire d'Analyses des Extraits Végétaux et des Arômes (LEXVA Analytique), 460 Rue du Montant, Beaumont, France.

Received: 14th Jan, 17; Revised: 13th Feb, 17; Accepted: 16th Feb, 17; Available Online: 25th February, 2017

ABSTRACT

The essential oil of the fruit of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. belonging to the Rhamnaceae family, was obtained by steam distillation and analyzed by GC-FID and GC-MS. 38 components were identified corresponding to 92% of the total oil. Fatty acids represented the major fraction (78.9%), followed by hydrocarbons (10.8%) while terpenic fraction constituted only 1.1% of the oil (α - and β -eudesmol). The fatty acids fraction contained 23 saturated and unsaturated compounds (67.8 and 11%, respectively) from C₈ to C₁₈. The major constituents are in decreasing order: ethyl hexadecanoate (12%), decanoic acid (11%), ethyl dodecanoate (9.4%), ethyl hexadec-9-enoate (7.9%), dodecanoic acid (6.5%), ethyl tetradecanoate (6.1%) and tetradecanoic acid (5%). Several studies described the fatty acid composition of different parts of *Zizyphus* species in the fixed oil. Our study is the first report devoted to the chemical composition of the essential oil of the fruit of this species. The antioxidant property of this oil was evaluated using β -carotene bleaching method.

Keywords: *Zizyphus lotus* L. (Desf.), Rhamnaceae, Essential oil composition, Fatty acids, Antioxidant capacity.

INTRODUCTION

Zizyphus species have wide distribution and uses worldwide in traditional medicines for many purposes¹⁻³. The genus belonging to the Rhamnaceae family, contains about 100 species deciduous or evergreen trees and shrubs distributed in the tropical and subtropical regions of the world⁴. In Algeria, this genus is represented by four species⁵. *Zizyphus lotus* (L.) Desf. also, known as Jujube « Sedra » is a Mediterranean species widely distributed in North Africa, Septentrional Sahara and Southern Europe countries^{6,7}. Leaves of *Zizyphus* species, have hypoglycemic effect and antiseptic activity^{8,9}. The flower infusion is used as febrifuge and disinfectant for eyes¹⁰. The fruit of *Z. lotus* is a valuable source of nutrients as well as antioxidant^{11,12}, antimicrobial and antifungal¹³, immunosuppressive¹⁴, anti-inflammatory¹⁵, and antiulcerogenic^{12,16} compounds. The fruits have also antitumoral effects¹⁷, while the roots extract has antifungal and antibacterial activities¹⁸. Fruit of *Zizyphus lotus* of North Africa is delicious and consumed directly due to its high nutritional value. This organ is rich in minerals (Ca, Mg, Na, K and phosphorus), carbohydrates, fatty acids and proteins¹⁰. The fruit pulp of this plant contained higher contents of vitamin A and C compared to the other parts¹⁹. In continuation of our ongoing program on medicinal and aromatic species from Algeria²⁰⁻²⁴, we investigated the

chemical composition of the essential oil of *Zizyphus lotus* (L.). Several studies on fixed oil of *Zizyphus lotus* showed that oleic and linoleic acids were the major components of the seeds and fruit^{10,25-27}. Our results on the essential oil of the fruit were quite different and showed diverse proportions of fatty acids. To the best of our knowledge, this is the first study devoted to the chemical composition of the essential oil of the fruit of this species.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

The fruits of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. were collected on December 2014 in the region of Ouled Fadhel Batna (Aures), and authenticated by professor Mohamed Kaabeche, Setif 1 university, Algeria.

Extraction of the essential oil

The aerial parts (450 g) of the fruit of *Zizyphus lotus* were subjected to steam distillation in a Kaiser Lang apparatus for three hours. The obtained essential oil was collected and dried over anhydrous sodium sulphate and kept at 4°C until analysis. The yield of the oil was calculated in relation of the dry weight of the plant.

GC-FID Analysis

The essential oil was analyzed on an Agilent gas chromatograph (GC-FID) Model 6890, equipped with a HP-5MS fused silica capillary column (5%-diphenyl-95%-

Table 1: Composition of *Zizyphus lotus* fruit essential oil.

Peak N°	RT	^b RI	^a Components	%
1.	9.734	1167	Octanoic acid	3.1
2.	10.825	1260	(E)-Dec-2-enal	0.6
3.	11.075	1287	Nonanoic acid	2.4
4.	12.52	1390	Decanoic acid	11.0
5.	12.619	1397	Ethyl decanoate	4.8
6.	13.2	1443	Ethyl-(2E)-dec-2-enoate	0.7
7.	13.604	1476	Undecanoic acid	2.1
8.	13.858	1496	Ethyl undecanoate	2.8
9.	14.808	1565	Dodecanoic acid	6.5
10.	15.049	1594	Ethyl dodecanoate	9.4
11.	15.782	1662	β-Eudesmol	0.6
12.	15.804	1664	α-Eudesmol	0.5
13.	16.143	1695	Ethyl tridecanoate	1.1
14.	16.198	1697	Pentadecan-2-one	0.7
15.	16.947	1770	Tetradecanoic acid	5.0
16.	17.066	1781	(Z)-Tetradec-9-enoic acid	0.3
17.	17.132	1788	(E)-Tetradec-9-enoic acid	0.3
18.	17.22	1796	Ethyl tetradecanoate	6.1
19.	17.698	1843	6,10,14-Trimethyl-pentadecan-2-one	1.3
20.	17.898	1863	Phtalate	0.8
21.	18.218	1894	Ethyl pentadecanoate	0.8
22.	18.53	1926	Methyl hexadecanoate	0.2
23.	18.975	1972	Ethyl (Z)-hexadec-9-enoate	7.9
24.	19.08	1983	Ethyl (E)-hexadec-9-enoate	0.6
25.	19.22	1997	Ethyl hexadecanoate	12.0
26.	20.11	2085	Ethyl heptadecanoate	0.3
27.	20.77	2163	Ethyl (Z)-octadec-9-enoate	0.7
28.	20.827	2170	Ethyl (E)-octadec-9-enoate	0.5
29.	21.011	2193	Ethyl octadecanoate	0.3
30.	21.922	2300	Tricosane	0.3
31.	21.988	2308	Tricosan-2-one	0.6
32.	22.744	2399	Tetracosane	0.3
33.	23.536	2500	Pentacosane	0.5
34.	24.262	2595	Hexacos-9-ene	0.2
35.	24.297	2600	Hexacosane	0.3
36.	25.046	2702	Heptacosane	3.7
37.	25.746	2800	Octacosane	0.5
38.	26.446	2903	Nonacosane	3.3
Total identified				92.0
Grouped compounds				
hydrocarbons				10.8
Fatty acids				78.9
sesquiterpenes				1.1

^aCompounds are listed in order of their RI^bRI (retention index) measured relative to *n*-alkanes (C₈-C₂₀) using HP-5MS column.

dimethylpolysiloxane, 25 m x 0.25 mm, film thickness 0.25 μm), programmed from 50°C (5 min) to 250 °C at 3°/min and held for 10 min. Injector and flame ionization detector temperatures were 280 and 300 °C, respectively. The essential oil was diluted in acetone (3.5%, v/v) and injected in split mode (1/60), helium was used as a carrier gas (1.0 mL/min). Solutions of standard alkanes (C₈-C₂₀) were analyzed under the same conditions to calculate retention indices (RI) with Van del Dool and Kratz equation.

GC-MS Analysis

Mass spectrometry was performed on an Agilent gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS) Model 7890/5975, equipped with HP-5MS capillary column (25 m x 0.25 mm, film thickness 0.25 μm) programmed with the same conditions as for GC-FID. The mass spectrometer (MS) ionization was set in positive electron impact mode at 70 eV and electron multiplier was set at 2200 V. Ion source and MS quadrupole temperatures were 230 °C and 180 °C, respectively. Mass spectral data were acquired in the scan mode in the *m/z* range 33-450. The essential oil constituents were identified by matching their mass spectra and retention indices (RI) with those of reference

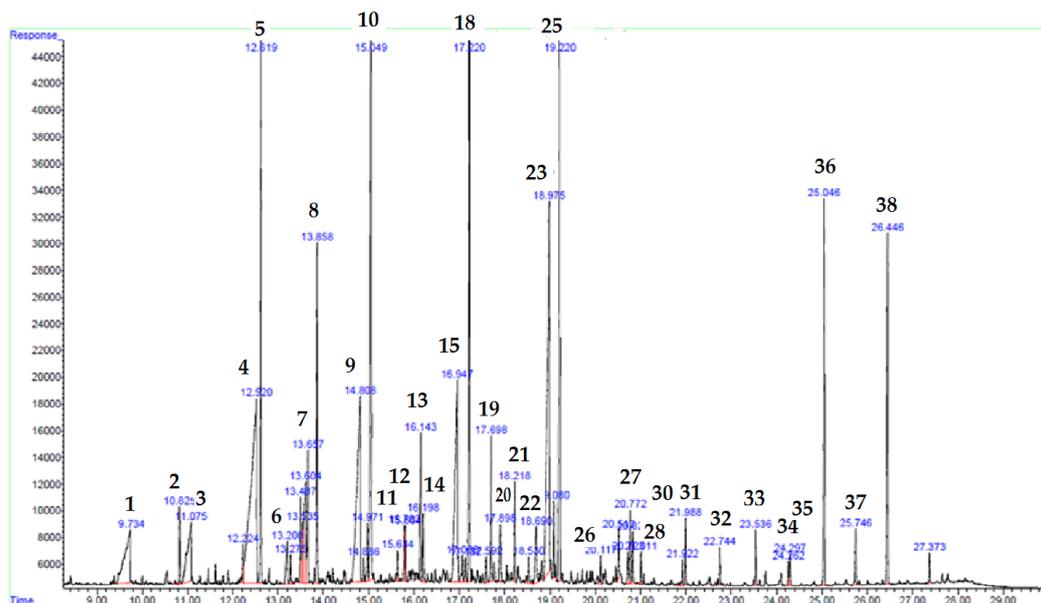


Figure 1: GC-FID Chromatogram of *Zizyphus lotus* fruit essential oil.

Table 2: Linoleic acid peroxidation activity (%) of the fruit of *Zizyphus lotus* (L.).

Inhibition of linoleic acid peroxidation (%)	
<i>Zizyphus lotus</i> (L.)	81.61±11.37
Negatif control	18.66±3.21
BHA	92.28±2.46

Values are mean ± SD of three samples analyzed individually in triplicate at $p < 0.05$

compounds from libraries such as Adams²⁸ and McLafferty & Stauffer²⁹. The proportions of the identified compounds were calculated by internal normalization.

β-carotene bleaching method

The test was carried out following the spectrophotometric method of Miller³⁰ based on the ability to decrease the oxidative bleaching on *β*-carotene in a *β*-carotene/linoleic acid emulsion.

The essential oil of *Zizyphus lotus* was prepared at a concentration of 2 mg/mL in methanol. Then, a solution of *β*-Carotene was prepared by dissolving 0.5 mg of *β*-carotene in 2 mL of chloroform. 25 μ L of linoleic acid and 200 mg of Tween 40 were added. The chloroform was removed at 40 °C under reduced pressure, 100 mL of oxygenated water were added under vigorous shaking until the formation of an emulsion. 3.5 mL of this emulsion was transferred into a tube containing 500 μ L of essential oil. The zero time absorbance was read at 490 nm. Absorbance readings were recorded at 48 hours until the visual color of *β*-carotene in the control sample disappeared. The antioxidant activity (Inhibition %) was calculated using the following equation:

$$\text{Inhibition \%} = (A_{\beta\text{-carotene after 48 hours assay}} * 100) / A_{\text{initial } \beta\text{-carotene}}$$

Where; $A_{\beta\text{-carotene after 48 hours assay}}$ is the absorbance of *β*-carotene after 48 hours assay remaining in the samples, and $A_{\text{initial } \beta\text{-carotene}}$ is the absorbance of initial *β*-carotene at the beginning of the experiment. All tests were carried out in couple.

RESULTS AND DISCUSSION

The steam distillation of the essential oil of *Zizyphus lotus* (L.), gave a viscous liquid. The yield of essential oil was 0.005% (w/w) in relation to the dry weight of the plant. The analysis and identification of the compounds of the essential oil was performed using the (GC-MS). The general chemical profile of the essential oil, the percentage content and retention indices of the constituents are summarized in Table 1 and Figure 1. This investigation allowed the identification of 38 constituents corresponding to 92% of the total oil. Among the identified constituents, fatty acids compounds represented 78.9%, 10.8% were hydrocarbons and 1.1% were sesquiterpenes. The fatty acids fraction contained 23 saturated and unsaturated compounds (67.8 and 11%, respectively) from C₈ to C₁₈ (Table 1). The major constituents are in decreasing order: ethyl hexadecanoate (12%), decanoic acid (11%), ethyl dodecanoate (9.4%), ethyl hexadec-9-enoate (7.9%), dodecanoic acid (6.5%), ethyl tetradecanoate (6.1%), tetradecanoic acid (5%), ethyl decanoate (4.8%), octanoic acid (3.1%), ethyl undecanoate (2.8%), nonanoic acid (2.4%) and undecanoic acid (2.1%). The major hydrocarbons were heptacosane (3.7%) and nonacosane (3.7%) while the only sesquiterpene found were α - and β -eudesmol (0.6% and 0.5% respectively). These results were quite different from those obtained previously on the fixed oil of the fruit of this species from two samples from Al Mader region (Aures) and Djelfa (Southwest of Algeria) which indicated that the major fatty acid was oleic acid (49.88% and 62.79%, respectively). To the best of our knowledge, this is the first report on essential oil composition of *Zizyphus lotus*.

β-carotene bleaching method : Table 2 shows the decrease in absorbance during the coupled oxidation of *β*-carotene and linoleic acid. The *β*-carotene bleaching test was selected for antioxidant activity determination because it is carried out in an emulsion, a situation frequent in foods.

On the other hand, it is generally agreed that the oxidation is initiated by free radical attack; therefore, assays to evaluate the radical scavenging activity are representative of the potential of a compound to retard oxidation. The antioxidant capacities were estimated to be 92.28% and 81.61% for BHA and *Z. lotus*, respectively. This result indicated the potent antioxidant activity of essential oils from *Z. lotus* which can be related to fatty acid compounds.

CONCLUSION

We report for the first time the essential oil composition of *Zizyphus lotus* collected from the area of Batna in the Northeast of Algeria. Analysis by GC-FID and GC-MS allowed the identification of 23 fatty acids representing 78.9% of the total oil. The major components were: ethyl hexadecanoate (12%), decanoic acid (11%), ethyl dodecanoate (9.4%), ethyl hexadec-9-enoate 7.9%, dodecanoic acid (6.5%), ethyl tetradecanoate (6.1%) and tetradecanoic acid (5%). Hydrocarbons represented 10.8% while sesquiterpene fraction reached only 1.1%. These results differ from those obtained previously on the fixed oil of the fruit of this species. The result of antioxidant capacity of the oil evaluated by the β -carotene bleaching method, showed the potent activity of the essential oil of this species.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to professor Mohamed Kaabeche (Setif 1 university, Algeria) for the identification of the plant material and MESRS (DGRSDT) for financial support.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to professor Mohamed Kaabeche (Setif 1 university, Algeria) for the identification of the plant material and MESRS (DGRSDT) for financial support.

REFERENCES

- Niamat R, Khan MA, Khan KY, Mushtaq A, Barkat A, Paras M, Mazhar M, Hussain A. Element content of some ethnomedicinal *Zizyphus* Linn. species using atomic absorption spectroscopy technique. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2012; 2(3): 96-100.
- Abdel-Zaher AO, Salim SY, Assaf MH, Abdel-Hady R. Antidiabetic activity and toxicity of *Zizyphus spina-christi* leaves. *J. Ethnopharmacol* 2005, 101: 129-138.
- Hammiche, V, Maiza K. Traditional medicine in central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 105: 538-367.
- Lawton RM. Some indigenous economic plants of the Sultanate of Oman. In: Wickens GE, Goodin JR, Field DV (eds) *Plants for arid lands*. Unwin Hyman, London. 1985.
- Quezel P, Santa S. *Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales*. CNRS Paris, edn. Vol. II, 1963. p. 618-619.
- Richardson JE, Chatrou LW, Mols JB, Erkens RHJ, Pirie MD. Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. *Philos.Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2004; 359: 1495-1508.
- Gorai M, Maraghni M, Neffati M. TPED relationship between phenological traits and water potential patterns of the wild jujube *Zizyphus lotus* (L.) Lam. In southern Tunisia. *Plant Ecology and Diversity* 2010; 3(3): 273-280.
- Epfrain KD, Osunkwo UA, Onyeyilli P, Ngulde A. Preliminary investigation of the possible antinociceptive activity of aqueous leaf extract of *Zizyphus spina-christi* L. Desf. *Indian J. Pharmacol.* 1998; 30: 271-272.
- Glombitza KW, Mahran GH, Mirhom YW, Michel KG, Motawi TK. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Zizyphus spina-christi* in rats. *Planta Med.* 1994; 60(3): 244-247.
- Abdeddaim M, Lombarkia O, Bacha A, Fahloul D, Abdeddaim D, Farhat R, Saadoudi M, Noui Y, Lekbir A. Biochemical characterization and nutritional properties of *Zizyphus lotus* L. fruits in Aures region, Northeastern of Algeria, *Annals. Food Science and Technology* 2014; 15(1): 75-81.
- Adeli M, Samavati V. Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from *Zizyphus lotus* fruit. *Int. J. Biol. Macromolec.* 2015; 72: 580-587.
- Bakhtaoui FZ, Lakmichi H, Megraud F, Chait A, Gadhi CEA. Gastro-protective, anti- helicobacter pylori and, antioxidant properties of Moroccan *Zizyphus lotus* L. *J. Appl. Pharm. Science* 2014; 4(10): 81-87.
- Ghazghazi H, Aouadhi C, Riahi L, Maaroufi A, Hasnaoui B. Fatty acids composition of Tunisian *Zizyphus lotus* L. (Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Nat. Prod. Res.* 2014, 28(14): 1106-1110.
- Abdoul-Azize S, Bendahmane M, Hichami A, Dramane G, Simonin AM, Benammar C, Sadou H, Akpona S, El Boustani ES, Khan NA. Effects of *Zizyphus lotus* L. (Desf.) polyphenols on Jurkat cell signaling and proliferation. *Int. Immunopharmacol.* 2013; 15(2): 364-371.
- Ghedira K, Chemli R, Richard B, Nuzillard JM, Zeches M, Le Men-Olivier L. Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry* 1993; 32(6): 1591-1594.
- Borgi W, Bouraoui A, Chouchane N. Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extract. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 112(2): 228-231.
- Perdue JRE, Hartwell JL. *Plants and cancer*. Proc. 16th Annual Meeting Soc. Econ. Bot. Cancer Treatment Rep.1976; 60: 973-1215.
- Borgi W, Ghedira K, Chouchane N. Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia* 2007; 78(1):16-19.
- Renault JH, Ghedira K, Thepenier P, Lavaud PC, Zeches-Hanrot M, Le Men-Olivier L. Dammarane saponins from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry* 1997; 44(7): 1321-1327.
- Mohamadi S, Zhao M, Amrani A, Marchioni E, Zama D, Benayache F, Benayache S. On-line screening and identification of antioxidant phenolic compounds

- of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. Ind. Crop. Prod. 2015; 76: 910-919.
21. Boumaraf M, Mekkiou R, Benyahia S, Chalchat JC, Chalard P, Benayache F, Benayache S. Essential oil composition of *Pulicaria undulata* (L.) DC. (Asteraceae) growing in Algeria. International Journal of pharmacognosy and Phytochemical Research 2016; 8(5): 746-749.
 22. Zaiter L, Beghidja N, Benayache F, Chalard P, Figueredo G, Chalchat JC, Marchioni E, Benayache S. Essential oils of *Santolina africana* Jord. & Fourr. and *Santolina chamaecyparissus* L. J. Essent. oils Bear. Pl. 2015; 18 (6): 1338 - 1342.
 23. Esseid C, Mechehoud Y, Jean-Claude JC, Figueredo G, Chalard P, Benayache S, Benayache F. Chemical Composition of the essential oil of aerial parts of *Pituranthos battandieri* Maire. International Journal of pharmacognosy and Phytochemical Research 2016; 8(10):1731-1734.
 24. Hamza F, Benayache F, Benayache S. Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl.). Der Pharmacia Lettre, 2016; 8(3): 72-79.
 25. Benammar C, Hichami A, Yessoufou A, Simonin AM, Belarbi M, Allali H, Khan NA, *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. BMC Complement. Altern. Med. 2010; 10(54):1-9.
 26. Aouadhi C, Riahi L, Maaroufi A, Hasnaoui B. Fatty acids composition of Tunisian *Zizyphus lotus* L. (Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. Nat. prod. Res. 2014; 28(14): 1106-1110.
 27. Chouabi M, Rezig L, Mahfoudi N, Arafa S, Donsi F, Ferrari G, Hamdi S. Physicochemical Characteristics and Antioxidant Activities of *Zizyphus lotus* L. seed oil, J. Food Chem. 2013; 37 (5): 554–563.
 28. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Co. Carol Stream, Illinois. 1995.
 29. Mc Lafferty FW, Stauffer DB. The Wiley/NBS registry of mass spectral data. 5th Edition, J. Wiley and Sons, New York. 1991.
 30. Miller, HEA. A simplified method for the evaluation of antioxidants, J. Am. Oil Chem. Soc. 1971; 45: 91-98.