



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA



FACULTÉ DES MATHÉMATIQUES ET SCIENCES DE LA MATIÈRE

Numéro d'ordre :

DÉPARTEMENT DE CHIMIE

Numéro de série :

THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLÔME DE DOCTORAT (LMD)

Spécialité : Analyses Physico-Chimiques et Réactivité des espèces Moléculaires

Intitulé

Étude de métabolites secondaires et quelques activités de
plantes algériennes de la famille Zygophyllaceae.

Présentée et Soutenue publiquement

Par :

Mahdi Belguidoum

Le :15 /11/2018

Devant le jury composé de :

- M. Mokhtar Saidi	Professeur	U.K.M. Ouargla	Président
- M. Hocine Dendougui	Professeur	U.K.M. Ouargla	Rapporteur
- M. Salah Akkal	Professeur	U.F.M. Constantine1	Examineur
- M. Belkhir Dada Moussa	Professeur	U. Ghardaia	Examineur
-M ^{me} . Mebarka Bouziane	M.C.A	U.K.M. Ouargla	Examinatrice

Année universitaire : 2017/2018



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة قاصدي مرباح - ورقلة

كلية الرياضيات وعلوم المادة
قسم الكيمياء

رسالة مقدمة لنيل درجة الدكتوراه (ل م د)

قم الترتيب:

رقم التسلسل:

تخصص: التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية

عنوان

دراسة منتجات الأيض الثانوي وبعض الفعاليات لنباتات
جزائرية من الفصيلة الرطراطية (Zygophyllaceae)

تقديم :

مهدي بلقيادوم

في : 2018/11/15 .
أمام أعضاء لجنة المناقشة المكونة من :

السيد مختار سعدي	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	أستاذ تعليم عالي	رئيسا
السيد حسين دندوقي	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	أستاذ تعليم عالي	مقررا
السيد صالح عكال	جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1	أستاذ تعليم عالي	ممتحنا
السيد بلخير دادا موسى	جامعة غرداية	أستاذ تعليم عالي	ممتحنا
السيدة مباركة بوزيان	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	استاذة محاضرة أ	ممتحنة

السنة الجامعية: 2017/ 2018

Remerciements

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements tout d'abord à monsieur le professeur Hocine Dendougui pour avoir dirigé cette thèse ainsi que pour m'avoir accueilli dans son groupe de recherche au sein de laboratoire VPRS. Je le salue chaleureusement pour les grands efforts qu'il m'a consacrés et ses précieux conseils.

J'exprime toutes mes gratitude envers monsieur Hiroshi Araya pour m'avoir bien accueilli au sein de son laboratoire de Natural Product Chemistry à l'université de Meiji, Japon. Je suis très reconnaissant pour toutes les facilités qu'il a mises à ma disposition ainsi que tous les équipements.

J'adresse mes chaleureux remerciements à monsieur le professeur Fujimoto Yoshinori de m'avoir bien orienté durant mon stage et d'avoir été disponible à tous moments.

Je remercie Monsieur le professeur Mohamed Hadjadj directeur du laboratoire de valorisation et promotion des ressources sahariennes (VPRS), ainsi que monsieur le professeur Mokhtar Saidi ex-directeur de ce laboratoire de nous avoir permis de réaliser ce travail au sein de leur structure.

Je remercie monsieur le professeur Mokhtar Saidi d'avoir accepté de présider le jury. Je remercie Messieurs : le professeur Salah Akkal, le professeur Belkhir Dada Moussa et madame docteur Mebarka Bouziane de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier madame Nabiha Aloui l'ingénieur de notre laboratoire. Je remercie mes collègues du laboratoire Chaima Bensaci, Assia Belfar et tous les membres du laboratoire VPRS. Je tiens à remercier mes professeurs Rahmani Zohor, Dakmouch Massouda, Zaouia Kendour, Ghiaba zineb, Cherbi Rokia, Ouanissa Samara, Douadi Ali et Lounas Ali.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents : mon père Salah et ma mère Samira qui m'ont soutenu depuis ma naissance jusqu'aujourd'hui, à ma sœur Sara et mon frère Yacine.

À ma grande mère Akila, ma tante Anifa et mes deux oncles Saïd et Kamel et toute la famille Belguidoum.

À mes grands-parents Anifa et Rachid, à tous mes oncles et tantes maternelles et toute la famille Hadadji.

À tous mes cousins et cousines.

À mon beau-frère et ma belle-sœur et à mes chères Nesrine et Elyna.

À mes copains et amis : Zine eddine Haddadji, Abdesslam Guezima, Mohamed Bouchoucha Ramdani, Sayeh Attab, Tayeb Boukouada, Omar Motia Ouis, Walid Moukar, Mohamd Laroussi Guedda, Abdeljalil Sayed et Bilal Goudjil.

Résumé

Les différents extraits de trois espèces du genre *Zygophyllum* (*Z. album*, *Z. cornutum* et *Z. gaetulum*.) ont été obtenus après macération puis extraction liquide-liquide en utilisant des solvants de polarités croissantes. Les phases ainsi obtenues ont été testées de leurs contenus en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins en utilisant des méthodes colorimétriques. L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par trois méthodes à savoir les méthodes de réduction de fer, DPPH et phosphomolybdate. Les résultats obtenus indiquent que ces plantes contiennent des quantités modérées de phénols totaux et flavonoïdes et pauvres en tanins. Les phases aqueuses résiduelles et les phases butanoliques sont plus riches que les phases chloroformiques et acétates d'éthyles. Par contre, ces plantes ont montré une bonne activité antioxydante, tous les extraits montrent une activité réductrice de fer et de molybdates meilleure que les standards BHA, BHT et acide gallique, les phases aqueuses résiduelles et les phases butanoliques possèdent les plus fortes activités réductrices de fer et de molybdates. Tous les extraits ont une bonne activité antiradicalaire où les phases chloroformiques ont la meilleure activité inhibitrice du radical stable DPPH.

Afin d'étudier les métabolites secondaires de *Z. gaetulum*, on a procédé à la macération, extraction, séparation et purification en faisant appel aux différentes techniques chromatographiques à savoir CCM, CCMP, CC en utilisant comme phase stationnaire le gel de silice, ODS C-18 et séphadex LH-20, et HPLC RP-18. L'identification structurale des composés ainsi obtenus a été assurée par des méthodes spectroscopiques RMN 1D et 2D, ce qui a permis d'identifier 23 composés, dont six composés phénoliques (un flavonoïde, deux acides phénoliques, trois lignanes) et 17 composés triterpéniques (un lupane, deux stérols, quatorze tritirpènes pentacycliques).

Mots clés : *Zygophyllum*, triterpénoïde saponine, composé phénolique, lignane, activité antioxydante.

Abstract

Different extracts of three species of the genus *Zygophyllum* (*Z. album*, *Z. cornutum* and *Z. gaetulum*) were obtained after maceration then liquid-liquid extraction using solvent with increasing polarity. The obtained phases were tested for their contents in phenolic compounds, flavonoids and tanins using colorimetric methods. The antioxidant activity of the various extracts was evaluated by three methods namely iron reduction, DPPH and phosphomolybdate methods. The obtained results indicate that these plants contain moderate amounts of total phenols and flavonoids and poor in tanins. Residual water and butanol layers are richer than chloroform and ethyl acetate layers. On the other hand, these plants have shown good antioxidant activity, all the extracts show a reducing activity of iron and molybdate better than BHA, BHT and gallic acid standards, residual water and butanol layers possess strongest activity of reducing iron and molybdate. All the extracts have a good antiradical activity where the chloroform layers have the best inhibition activity of stable radical DPPH.

In order to study the secondary metabolites of *Z. gaetulum*, we are preceded to the maceration, extraction, separation and purification using the various chromatographic techniques namely TLC, PTLC, CC using stationary phases silica gel, ODS C-18 and Sephadex LH-20, and HPLC RP-18. The structural identification of the compounds thus obtained was assured by 1D and 2D NMR spectroscopic methods, which allowed us to identify 23 compounds including six phenolic compounds (one flavonoid, two phenolic acids, three lignans) and 17 triterpenic compounds (one lupan, two sterols, fourteen pentacyclic triterpenes).

Keywords: *Zygophyllum*, triterpenoid saponin, phenolic compound, lignan, antioxidant activity

ملخص

تم التحصل على مختلف المستخلصات لثلاثة أنواع من جنس *Zygodphyllum* (*Z. gaetulum* و *Z. cornutum*, *Z. album*) وذلك بعد النقع و الاستخلاص سائل-سائل بإستعمال مذيبات متزايدة القطبية. تم اختبار محتوى الأطوار المتحصل عليها من المركبات الفينولية، الفلافونويدات والعفصيات و ذلك بإستعمال طرق لونية. كما تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات بواسطة ثلاث طرق وهي إرجاع الحديد، DPPH و فوسفوموليبيدات. وتشير النتائج المتحصل عليها إلى أن هذه النباتات تحتوي على كميات معتدلة من الفينولات الكلية والفلافونويدات و فقيرة من العفصيات. الاطوار المائية المتبقية و البوتانولية اغنى من الاطوار الكلوروفرمية و اساتات الايثيل. ومن ناحية أخرى، أظهرت هذه النباتات نشاطا جيدا مضادا للأكسدة، أظهرت كل المستخلصات فعالية إرجاع الحديد و الملبدات احسن من المواد القياسية BHT, BHA و حمض الغاليك، تملك الاطوار المائية المتبقية و البوتانولية أقوى فعالية إرجاع الحديد و الملبدات. كل المستخلصات لديها فعالية جيدة مضادة للجذور حيث اظهرت الأطوار الكلوروفرمية احسن فعالية تثبيطية للجذر المستقر DPPH.

من أجل دراسة منتجات الأيض الثانوي لـ *Z. gaetulum*، تطرقنا الى النقع، الاستخلاص الفصل والتنقية باستخدام تقنيات الكروماتوغرافية المختلفة وهي كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية و التحضيرية و كروماتوغرافيا العمود بإستعمال الاطوار الثابتة هلام السيليك، ODS C-18، سيفادكس LH-20، و HPLC RP-18، تم التحديد البنيوي للمركبات المتحصل عليها بواسطة طيف الرنين المغناطيسي احادي و ثنائي البعد، والتي سمحت بتحديد 23 مركبا بينهم ستة مركبات فينولية (فلافونول وحيد، حمضان فينوليان، ثلاثة ليجنانات) و 17 مركب تيربين ثلاثي (lupane، اثنين ستيرول، أربعة عشر تربين ثلاثي خماسي الحلقة).

كلمات مفتاحية: *Zygodphyllum*، صابونين تربين ثلاثي، مركب فينولي، ليجنان، فعالية مضادة للاكسدة

Liste des figures

Figure		Page
I-1	Dessin de <i>Z. album</i> , <i>Z. gaetulum</i> et <i>Z. cornutum</i>	07
I-2	Photos de <i>Zygophyllum gaetulum</i>	08
I-3	Photos de <i>Zygophyllum cornutum</i>	08
I-4	Photos de <i>Zygophyllum album</i>	08
II-1	Biosynthèse des dérivés de l'acide cinnamique	43
II-2	Biosynthèse des dérivés de l'acide benzoïque	44
II-3	Exemple de quelques acides phénoliques en C ₆ -C ₁	44
II-4	Exemple de quelques acides phénoliques en C ₆ -C ₃	45
II-5	Structure d'un flavonoïde (falvonone ;apigénine)	45
II-6	Biosynthèse des flavonoïdes	46
II-7	Les résonances possibles dans un noyau flavonoïde	48
II-8	Les formes mésomères de l'acide coniférulique	49
II-9	Couplages (8-8', 8-1', 8-3')	49
II-10	Schéma de la biogenèse du matairesinol	50
II-11	Quelques exemples de lignanes	51
II-12	Structures chimiques de deux lignanes ; l'étoposide et le teniposide	51
II-13	Formation de l'acide 3R-mévalonique	53
II-14	Formation d'IPP et de DMAPP	53
II-15	Formation de GPP, FPP et GGPP	54
II-16	Biosynthèse des triterpènes	55
II-17	Formation des structures triterpènes pentacycliques	56
II-18	Structure des phytostéros les plus répandus	57
III-1	Carte représente les lieux de récoltes	60
III-2	Le protocole d'extraction de différentes phases	61
III-3	Structure de l'acide gallique	63
III-4	Structure de la quercétine	63
III-5	Structure de la catéchine	64
III-6	Structure de l'acide ascorbique (vitamine C)	65

III-7	La réduction du radical stable DPPH'	65
III-8	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	66
III-9	Comparaison de la teneur en phénols totaux entre les trois espèces	68
III-10	Courbe d'étalonnage du Quercétin	68
III-11	Comparaison de la teneur en flavonoïdes totaux entre les deux espèces	70
III-12	Courbes d'étalonnage du Catéchine	70
III-13	Comparaison de la teneur en tannin entre les trois espèces	71
III-14	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	72
III-15	Structure de BHT et BHA	73
III-16	Courbes représentants le pouvoir réducteur des différents extraits	74
III-17	Courbes représentants le pouvoir inhibiteur du radical DPPH des différents extraits	76
III-18	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	77
III-19	Courbes représentants l'activité antioxydante totale des différents extraits	79
IV-1	Protocole d'extraction	85
IV-2	Suivi de la colonne mère par CCM	86
IV-3	Suivi de la séparation de Frs 2-6	86
IV-4	Suivi du fractionnement des fractions Fr17-25	87
IV-5	Chromatogramme de CA4 et CA5	87
IV-6	Chromatogramme de CA6 et CA7	88
IV-7	Chromatogramme de CA8 et CA9	88
IV-8	Schéma de fractionnement de l'extrait combiné CHCl ₃ +AcOEt	89
IV-9	Suivi de la séparation de la phase BuOH par CCM	91
IV-10	Chromatogramme HPLC des fractions Fr4-6	91
IV-11	Chromatogramme HPLC de B6 et B7	92
IV-12	Chromatogramme de B9 et B10	92
IV-13	Schéma de séparation de la phase BuOH	93
IV-14	Spectre RMN ¹ H (500MHz, CD ₃ OD) du composé CA9	94
IV-15	Spectre RMN ¹³ C (125MHz, CD ₃ OD) du composé CA9	95
IV-16	Spectre HMQC (500MHz, CD ₃ OD) du composé CA9	97
IV-17	Spectre HMQC étalé (500MHz, CD ₃ OD) du composé CA9	98
IV-18	Corrélation selon l'expérience HMBC du composé CA9	99

IV-19	Spectre HMBC (500MHz, CD ₃ OD) du composé CA9	100
IV-20	Spectre HMBC étalé (500MHz, CD ₃ OD) du composé CA9	101
IV-21	Structure chimique du composé CA9 ; 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside quinovic acid	102
IV-22	Spectre RMN ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) du composé CA5	104
IV-23	Spectre RMN ¹³ C (75MHz, CD ₃ OD) du composé CA5	105
IV-24	Structure du composé CA5 ; 3β- <i>O</i> -β- <i>D</i> -quinovopyranoside quinovic acid	106
IV-25	Spectre RMN ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) du composé B7	108
IV-26	Structure du composé B7 ; 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -quinovopyranoside quinovic acid 28- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside ester	109
IV-27	Spectre RMN ¹³ C (75MHz, CD ₃ OD) du composé B7	110
IV-28	Spectre DEPT 135 du composé B7	110
IV-29	Spectre RMN ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) du composé CA6	112
IV-30	Spectre RMN ¹³ C (75MHz, CD ₃ OD) du composé CA6	113
IV-31	Spectre DEPT 135 du composé CA6	113
IV-32	Structure du composé CA6 ; quinovic acid 28- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside ester	114
IV-33	Spectre RMN ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) du composé B8	116
IV-34	Spectre RMN ¹³ C (75MHz, CD ₃ OD) du composé B8	117
IV-35	Spectre DEPT 135 du composé B8	117
IV-36	Structure du composé B8 ; 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -2- <i>O</i> -sulfonylquinovopyranoside quinovic acid = Zygophyloside D	118
IV-37	Spectre RMN ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) du composé B10	119
IV-38	Structure du composé B10 ; 3-β- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside quinovic acid 28-β- <i>O</i> -glucopyranoside ester	120
IV-39	Spectre RMN ¹³ C (75MHz, CD ₃ OD) du composé B10	121
IV-40	Spectre DEPT 135 du composé B10	121
IV-41	Spectre RMN ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) du composé B11	123
IV-42	Spectre RMN ¹³ C (75MHz, CD ₃ OD) du composé B11	124
IV-43	Spectre DEPT 135 du composé B11	124
IV-44	Spectre COSY du composé B11	125
IV-45	Structure du composé B11 ; 3- <i>O</i> -α- <i>L</i> -arabinopyranoside (1→2) β- <i>D</i> - quinovopyranoside quinovic acid 28- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside ester = zygophyloside H	127
IV-46	Spectre RMN ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) du composé B13	128
IV-47	Spectre RMN ¹³ C (75MHz, CD ₃ OD) du composé B13	128
IV-48	Spectre DEPT 135 du composé B13	129
IV-49	Structure du composé B13 ; 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -2- <i>O</i> -sulfonylquinovopyranoside quinovic acid 28- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside = Zygophyloside E	129
IV-50	Spectre COSY du composé B13	130
IV-51	Spectre RMN ¹ H (300MHz, CD ₃ OD) du composé B14	132
IV-52	Spectre RMN ¹³ C (75MHz, CD ₃ OD) du composé B14	133
IV-53	Spectre DEPT 135 du composé B14	133
IV-54	Structure du composé B14 ; 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -2- <i>O</i> -sulfonylglucopyranoside	134

	quinovic acid 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside ester = Zygophyloside G	
IV-55	Spectre RMN ^1H (500MHz, CD ₃ OD) du composé B9	135
IV-56	Spectre RMN ^{13}C (125MHz, CD ₃ OD) du composé B9	136
IV-57	Spectre DEPT 135 du composé B9	137
IV-58	Spectre COSY du composé B9	139
IV-59	Spectre HMQC (500MHz, CD ₃ OD) du composé B9	140
IV-60	Spectre HMQC étalé du composé B9	141
IV-61	Spectre HMQC étale du composé B9	142
IV-62	Corrélation selon l'expérience HMBC du composé B9	143
IV-63	Spectre HMBC (500MHz, CD ₃ OD) du composé B	144
IV-64	Spectre HMBC étalé du composé B9	145
IV-65	Spectre HMBC étalé du composé B9	146
IV-66	Structure du composé B9 ; 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside cincholic acid 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside ester	148
IV-67	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD ₃ OD) du composé CA4	149
IV-68	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD ₃ OD) du composé CA4	150
IV-69	Spectre DEPT 135 du composé CA4	151
IV-70	Structure du composé CA4 ; 3- <i>O</i> - β -D-quinovopyranoside cincholic acid	152
IV-71	Spectre RMN DIFNOE du composé CA4	153
IV-72	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD ₃ OD) du composé CA7	155
IV-73	Structure du composé CA7 ; cincholic acid 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside ester	156
IV-74	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD ₃ OD) du composé CA8	157
IV-75	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD ₃ OD) du composé CA8	158
IV-76	Spectre DEPT 135 du composé CA8	158
IV-77	Structure du composé CA8 ; 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside cincholic acid	159
IV-78	Spectre COSY du composé CA8	160
IV-79	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD ₃ OD) du composé B6	162
IV-80	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD ₃ OD) du composé B6	163
IV-81	Spectre DEPT 135 du composé B6	163
IV-82	Structure du composé B6 ; 3- <i>O</i> - β -D-quinovopyranoside cincholic acid 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	165
IV-83	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD ₃ OD) du composé CA2	166
IV-84	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD ₃ OD) du composé CA2	166
IV-85	Structure du composé CA2 ; β -sitostérol	167
IV-86	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD ₃ OD) du composé CA3	168
IV-87	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD ₃ OD) du composé CA3	168
IV-88	Structure du composé CA3 ; 3- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside]- β -sitosterol	169
IV-89	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD ₃ OD) du composé CA1	170

IV-90	Structure du composé CA1 ; lupeol	171
IV-91	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B12	172
IV-92	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B12	173
IV-93	La structure partielle de B12	174
IV-94	La série spectrale UV du composé B12	175
IV-95	Spectre UV de la génine dans le méthanol après hydrolyse acide du composé B12	175
IV-96	Structure du composé B12 ; isorahmnetin 3- <i>O</i> -rutinoside = narcissin	176
IV-97	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B1	177
IV-98	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B1	178
IV-99	Structure du composé B1 ; lariciresinol	178
IV-100	Spectre COSY du composé B1	179
IV-101	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B2	180
IV-102	Structure du composé B2 ; 5'-methoxyariciresinol	181
IV-103	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B5	182
IV-104	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B5	183
IV-105	Structure du composé B5 ; syringaresinol 4- <i>O</i> -glucoside	184
IV-106	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B4	185
IV-107	Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B4	185
IV-108	Structure du composé B4 ; vanillic acid	186
IV-109	Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B3	187
IV-110	Structure du composé B3 ; ferulic acid	188
V-1	Colonne pour séparation de la phase chloroforme+acétate d'éthyle	203
V-2	Colonne pour séparation de la phase Butanolique	203
V-3	Polarimètre	204
V-4	L'appareil HPLC	204
V-5	Photo de l'appareil de RMN	205

Liste des tableaux

Tableau		Page
I-1	Structures flavonoïdiques à base d'isorhamnetin isolées de la famille Zygophyllaceae	13
I-2	Structures flavonoïdiques à base de quercetin isolées de la famille Zygophyllaceae	14
I-3	Structures flavonoïdiques à base de kaempferol isolées de la famille Zygophyllaceae	15
I-4	Différentes structures de flavonoïdes de types herbacetin isolées à partir de la famille Zygophyllaceae	16
I-5	Différentes structures de flavonoïdes isolées à partir de la famille Zygophyllaceae (<i>Larrea tridentata</i>)	17
I-6	Structures triterpéniques à base de quinovic acid (C-28 substitué) isolées de la famille Zygophyllaceae	18
I-7	Structures triterpéniques à base de quinovic acid (C-27 substitué) isolées de la famille Zygophyllaceae	20
I-8	Structures triterpéniques à base d'olenolic acid isolées de la famille Zygophyllaceae	20
I-9	Structures triterpéniques à base de-urs20-en-28-oic acid isolées de la famille Zygophyllaceae	21
I-10	Structures triterpéniques à base norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid isolées de la famille Zygophyllaceae	22
I-11	Structures triterpéniques à base d'olenolic acid isolées de la famille Zygophyllaceae	23
I-12	Différentes structures triterpéniques à base de olean-12-ene28,29-dioic acid isolés de la famille Zygophyllaceae (<i>L. Tridentata</i>)	24
I-13	Structures triterpéniques à base d'olenolic acid isolées de la famille Zygophyllaceae	25
I-14	Différentes structures triterpéniques à base de pyrocincholate isolées de la famille Zygophyllaceae	27
I-15	Différentes structures triterpéniques à base de spirostane isolées de la famille Zygophyllaceae	27
I-16	Stéroïdes saponines de types furostane isolés de la famille Zygophyllaceae	29
I-17	Stéroïdes saponines de types cholestane isolés de la famille Zygophyllaceae (<i>T. alatus</i>)	31
I-18	Différentes structures triterpéniques isolées de la famille Zygophyllaceae	31
I-19	Cyclolignanes isolés de la famille Zygophyllaceae (<i>Larrea tridentata</i>)	33
I-20	Différentes structures de lignanes de type butane isolées de l'espèce <i>Larrea tridentata</i>	34
I-21	Différentes structures de lignanes de type diméthyle butane isolées de l'espèce <i>Larrea tridentata</i>	35

I-22	Furanoïdes lignanes isolées de la famille Zygothylaceae (Larrea tridentata)	36
I-23	Différentes structures de lignanes isolées de la famille Zygothylaceae (Larrea tridentata)	37
I-24	Différentes structures de composés isolées de la famille Zygothylaceae	39
II -1	Classification des composés phénoliques	42
II-2	Classification des terpénoïdes	52
III -1	Tableau récapitulatif regroupant les rendements d'extraction des différents extraits	62
III-2	Quantité de phénols totaux dans les différents extraits	67
III-3	Quantité de flavonoïdes dans les différents extraits	69
III-4	Quantité de tanins dans les différents extraits	71
III-5	Les valeurs d'AEAC des différents extraits étudiés	73
III-6	Les valeurs d'IC ₅₀ des différents extraits étudiés	75
III-7	L'activité antioxydante totale des différents extraits étudiés	78
IV-1	Tableau récapitulatif regroupant les rendements des différents extraits	84
IV-2	Masses des fractions de la phase butanolique	90
IV-3	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé CA9 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	103
IV-4	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé CA5 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	107
IV-5	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé B7 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	111
IV-6	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé CA6 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	115
IV-7	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé B8 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	118
IV-8	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé B10 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	122
IV-9	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé B11 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	126
IV-10	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé B13 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	131
IV-11	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé B14 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	134
IV-12	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé B9 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	147
IV-13	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé CA4 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	154
IV-14	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (300MHz) et ¹³ C (75MHz) dans CD ₃ OD du composé CA7 (δ en ppm et <i>J</i> en Hz)	156

IV-15	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé CA8 (δ en ppm et J en Hz)	161
IV-16	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B6 (δ en ppm et J en Hz)	164
IV-17	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD des composés CA2 et CA3 (δ en ppm et J en Hz)	169
IV-18	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD des composés CA1 (δ en ppm et J en Hz)	171
IV-19	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B12 (δ en ppm et J en Hz)	176
IV-20	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD des composés B1 et B2 (δ en ppm et J en Hz)	181
IV-21	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B5 (δ en ppm et J en Hz)	183
IV-22	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B4 (δ en ppm et J en Hz)	186
IV-23	Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B3 (δ en ppm et J en Hz)	188

Liste des abréviations

[α]_D	Pouvoir rotatoire
δ	Déplacement chimique
AEAC	Ascorbic Acid Equivalent Antioxydant Capacity
Ara	Arabinose
BHA	Butylated Hydroxy Anisole
BHT	Butylated Hydroxy Toluene
COSY	<i>CO</i> rrelation <i>Sp</i> ectroscop <i>Y</i>
<i>d</i>	Doublet
<i>dd</i>	Doublet de Doublet
DEPT	<i>Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
<i>dl</i>	<i>Doublet large</i>
DPPH	Diphényl Picril Hydrazine
Gal	<i>Galactose</i>
Glc	Glucose
Glu Ac	Acide Glucuronique
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de couplage
<i>m</i>	Multiplet
Qui	Quinovose
n.d	Non déterminé
NOE	Effet nucléaire Overhauser
Rh	Rhamnose
RP	Phase inverse (<i>Reversed Phase</i> , phases stationnaires en chromatographie)
<i>s</i>	Singulet
<i>s</i>l	Singulet large
Xyl	Xylose

Sommaire

Remerciements	I
Dédicace	II
Résumé	III
Abstract	IV
ملخص	V
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	XI
Liste des abréviations	XIV
Introduction	01

Chapitre I Aspects botaniques et recherches antérieures

I-1 La famille Zygophyllaceae	04
I-2 Le genre <i>Zygophyllum</i>	05
I-3 Description des espèces étudiées	06
I-4 Classification	09
I-5 Usage	09
I-6 Activité biologique	10
I-7 Études phytochimiques précédentes et principaux métabolites secondaires isolés de la famille Zygophyllaceae	12
I-7-1 Flavonoïdes	12
I-7-2 Triterpénoïdes	18
I-7-3 Lignanes	33
I-7-4 Autres produits	38

Chapitre II Quelques métabolites secondaires

II-1 Les composés phénoliques	42
II-1-1 Classification des composés phénoliques	42
II-1-2 Les acides phénoliques	43
II-1-2-1 Biosynthèse	43
II-1-2-2 Structures des acides phénoliques	44

II-1-2-3	Extraction	45
II-1-2-4	Intérêt	45
II-1-3	Les flavonoïdes	45
II-1-3-1	Biosynthèse	46
II-1-3-2	Classe des flavonoïdes	47
II-1-3-3	Extraction	47
II-1-3-4	Séparation	47
II-1-3-5	Élucidation structurale	48
a	Spectroscopie d'absorption ultraviolette	48
b	Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire	48
II-1-4	Les lignanes	49
II-1-4-1	Biosynthèse	49
II-1-4-2	Classe des lignanes	50
II-1-4-3	Intérêt biologique	51
II-2	Terpénoïdes	52
II-2-1	Extraction	52
II-2-2	Classification	52
II-2-3	Biosynthèse	53
II-2-4	Triterpènes	54
II-2-5	Biosynthèse	54
II-2-6	Principaux types de structures	56
II-2-7	Intérêt des triterpénoïdes	57
<i>Chapitre III Dosages et activités antioxydantes</i>		
III-1	Matériel végétal	60
III-2	Méthode d'extraction	60
III-3	Dosage	63
III-3-1	Dosage des phénols totaux	63
III-3-2	Dosage de flavonoïdes	63
III-3-3	Dosage des tanins	64
III-4	Activités antioxydantes	64
III-4-1	Le pouvoir réducteur de fer	64
III-4-2	Le pouvoir anti radicalaire (DPPH).....	65
III-4-3	L'activité antioxydante totale.....	66

III-5	Résultats	66
III-5-1	Dosage des phénols totaux	66
III-5-2	Dosage de flavonoïdes	68
III-5-3	Dosage des tanins	70
III-5-4	Activité de réduction de fer	72
III-5-5	Activité anti radicalaire	75
III-5-6	Activité antioxydante totale	77
III-6	Discussion	80

Chapitre IV Séparation, purification et élucidation structurale

IV-1	Matériel végétal	84
IV-2	Protocole d'extraction	84
IV-3	Séparation et purification	86
IV-3-1	La phase chloroformique et acétate d'éthyle	86
IV-3-2	La phase butanolique	90
IV-4	Élucidation structurale	94
IV-4-1	Composé CA9	94
IV-4-2	Composé CA5	104
IV-4-3	Composé B7	108
IV-4-4	Composé CA6	112
IV-4-5	Composé B8	116
IV-4-6	Composé B10	119
IV-4-7	Composé B11	123
IV-4-8	Composé B13	127
IV-4-9	Composé B14	132
IV-4-10	Composé B9	135
IV-4-11	Composé CA4	149
IV-4-12	Composé CA7	155
IV-4-13	Composé CA8	157
IV-4-14	Composé B6	162
IV-4-15	Composé CA2	165

Sommaire

IV-4-16	Composé CA3	167
IV-4-17	Composé CA1	170
IV-4-18	Composé B12	172
IV-4-19	Composé B1	177
IV-4-20	Composé B2	180
IV-4-21	Composé B5	182
IV-4-22	Composé B4	184
IV-4-23	Composé B3	187
IV-5	Discussion	188
	Conclusion	191
	Références	194
	Annexe	203
	Publications	206

INTRODUCTION

Introduction

Depuis l'antiquité l'homme a utilisé les plantes dans tous les aspects de sa vie comme nourriture, médicament, vêtements, lavage, etc. Le savoir de l'homme envers les plantes médicinales et toxiques est employé avec intelligence jusqu'à aujourd'hui même chez les populations primitives, on cite le cas d'utilisation des flèches empoisonnée pour chasser les animaux. L'accumulation des connaissances de l'usage des plantes médicinales depuis des siècles est bien documentée, citons comme exemple la médecine traditionnelle chinoise et indienne. En Afrique du Nord, à part la civilisation égyptienne, cette connaissance est plutôt beaucoup plus transmise oralement que par voie écrite.

Jusqu'à aujourd'hui, les plantes médicinales présentent une source très riche en métabolites secondaires qui dépasse le nombre de 100.000 composés découverts [1]. Ces métabolites secondaires trouvent leur application dans le domaine de la pharmacie et la médecine comme des molécules actives contre le diabète, l'hypertension et le cancer, dans l'agronomie comme antifongique et allélopathique, dans l'industrie agroalimentaire et cosmétique comme antioxydant et conservateur. Le plus étonnant c'est la montée de l'utilisation des extraits de plantes médicinales comme médecine complémentaire malgré le grand développement dans le domaine de la fabrication des médicaments.

Le Sahara couvre 84% de la superficie de l'Algérie. La flore saharienne est très pauvre si on compare le nombre d'espèces par rapport à l'énormité de sa surface, mais très variée dans sa composition systématique. Le Sahara algérien compte 650 espèces dont 162 espèces sont endémiques, l'endémisme représente environ 25% [2]. La famille Zygophyllaceae est typiquement saharienne, elle est représentée par une trentaine d'espèces dont le tiers environ sont endémiques [2]. L'endémisme, l'utilisation traditionnelle et le peu d'études concernant les espèces du genre *Zygophyllum* nous ont conduits à focaliser notre étude sur ce genre.

La différenciation entre les espèces du genre *Zygophyllum* a été toujours problématique, on trouve plusieurs classifications des Zygophyllaceae basées sur différents critères à savoir la forme morphologique, séquence ADN, caractères physiologiques et la chimiotaxonomie. Notre objectif est de connaître la composition

chimique de plantes du genre *Zygodium*, donc contribué à ses classements systématiques et d'autre part d'explorer de nouveaux métabolites secondaires ainsi que d'établir une relation entre les activités biologique des plantes et les composés responsables de ces activités.

Cette thèse comporte quatre chapitres :

Le premier chapitre est consacré à la recherche bibliographique et botanique des espèces étudiées ainsi que les travaux antérieurs. Le deuxième chapitre englobe quelques métabolites secondaires en montrant la biosynthèse, les classes et les intérêts de chaque famille de composés.

Le troisième chapitre comporte les travaux personnels sur le dosage des phénols totaux, flavonoïdes et tanins ainsi que les activités antioxydantes par les méthodes de réduction de fer, DPPH et molybdate des trois espèces *Zygodium album*, *Z. cornutum* et *Z. gaetulum*.

Le quatrième chapitre est réservé à la séparation, purification et l'élucidation structurale des composés isolés à partir des phases chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique de *Z. gaetulum*.

CHAPITRE I

***Aspects botaniques
et études antérieures***

I-1. La famille Zygophyllaceae

Cette famille comprend environ 25 genres et 500 espèces [3], mais d'après des études plus récentes, c'est une famille d'approximativement 27 genres et 285 espèces[4]. Elle est représentée dans tous les continents, mais principalement dans les régions arides, semi-arides et salines dans toutes les parties chaudes du monde, en particulier dans les déserts saisonnièrement secs, dans les régions tropicales et subtropicales [3-6]. Ainsi au Sahara on observe 7 genres et 27 espèces, les Zygophyllaceae forment ainsi plus de 3% de la flore du désert Algérien [3].

Zygophyllaceae est une famille d'herbes, arbustes ou arbres, elle a des feuilles stipulées très polymorphes [2]. Les fleurs sont régulièrement de type 5 à 10-15 étamines, et possèdent un disque entre les étamines et le pistil[3]. Le fruit en général capsulé loculicide ou septicide, se dissociant en coques, parfois bacciforme ou drupacé [2].

Il a été rapporté que la famille Zygophyllacea contient des flavonoïdes et alcaloïdes [7]. Elle est parmi les rares familles qui produisent : stéroïdes et triterpénoïdes saponines [5].

La taxonomie des Zygophyllaceae dans son ensemble a besoin d'une grande révision, et un certain nombre d'articles ont été publiés dans ce but [7]. L'étude de cette famille est particulièrement délicate, les trois genres principaux : *Fagonia*, *Zygophyllum* et *Tribulus* sont en effet des genres critiques, à nombreuses espèces très voisines les unes des autres [3].

C'est une famille hétérogène et des efforts ont été menés pour clarifier la position systématique pour la plupart de ces membres à tous les niveaux de la famille [8]. Elle a été placée par différents auteurs dans pas moins de cinq ordres différents [6].

En utilisant les caractères de fleurs, de fruits et de graines qui ont formé la base du système d'Engler, ce dernier a divisé les Zygophyllaceae en sept sous familles (et un certain nombre de tribus et sous-tribus) : Peganoideae, Nitrariodeae, Tetradiclidoideae, Chitonioideae (maintenant Morkilloideae), augeoideae, Zygophylloideae et Balanitoideae [6].

Selon la classification de Sheahan et Chase, c'est approximativement une famille de 285 espèces sous-divisées en 5 sous-familles et 27 genres. *Zygophylloideae* est la sous-famille la plus large de *Zygophyllaceae* et est constituée d'environ 180 espèces, couramment regroupées dans quatre genres : *Augea* (monotypique), *Tertaena* (monotypique), *Fagonia* (30 espèces) et *Zygophyllum* (150 espèces).

Engler a sous-divisé le genre *Zygophyllum* en 17 sections, alors que Van Huyssteen a proposé une classification de deux sous-genres et treize sections principalement en se basant sur les caractères des fruits et des filaments [4].

I-2. Le genre *Zygophyllum*

Le genre *Zygophyllum* est numériquement le plus important de la famille, il comprend une centaine d'espèces du désert et des steppes du vieux monde. Ce sont des buissons ramifiés à feuilles opposées, pourvues d'une paire de folioles; celles-ci tantôt étroites et cylindriques, comme chez les espèces nord-africaines, tantôt aplaties en raquettes chez beaucoup de types sud-africains ou asiatiques [2].

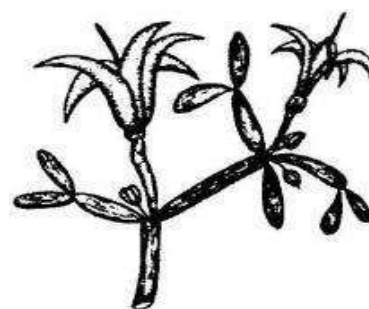
En Afrique, 20 espèces sont enregistrées dans la zone tropicale et environ 20 espèces sont également connues dans le Sud et le Sud-Ouest [7]. Sept espèces en Afrique du Nord, dont l'une *Zygophyllum simplex* est aisément reconnaissable à ses feuilles simples et sa racine grêle, et les six autres étant par contre difficiles à distinguer entre eux ; leur morphologie est en effet très analogue, les seuls caractères distinctifs valables reposent sur la forme de fruit, les échantillons sont à peu près toujours indéterminables et comme la forme de fruit se modifie sensiblement au cours de son développement, les échantillons présentant des fruits immatures sont eux-mêmes d'une détermination délicate, il paraît d'ailleurs exister de nombreux termes de passage entre ces espèces, dont certaines sont probablement des hybrides [3].

Saleh et El Hadidi note que la chimie du *Zygophyllum simplex* est un peu différente des autres espèces du *Zygophyllum* [7]. Alors que Quezel a remarqué que la détermination et l'appréciation taxonomique exacte des espèces *Zygophyllum* Algériens sont toujours délicates. Seuls les fruits fournissent des caractères assez valables [3], ainsi qu'il invitait à entamer de nouvelles études afin de régler ce problème mis en question.

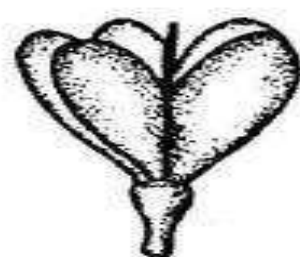
I-3. Description des espèces étudiées

Notre travail est consacré aux trois espèces répertoriées dans le Sud algérien, ces espèces sont *Z. album*, *Z. cornutum* et *Z. gaetulum*. Ces plantes sont des sous-arbrisseaux vivaces, rarement plantes annuelles. Elles ont des feuilles à deux folioles et des fleurs blanchâtres axillaires 4-5 mètres avec 10 étamines [2, 3]:

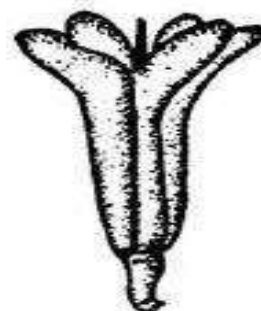
Z. cornutum Coss : La partie libre des carpelles étant recourbée en crochets aussi longue que la partie soudée. Le fruit a une forme cornue au sommet, assez gros, atteignant 15 à 20 mm. Poussant dans les terrains gypseux des hauts plateaux et des régions présahariennes, surtout en bordure des chotts.



Z. album L : Le fruit est dilaté en lobes au sommet, mais non muni de cornes recourbées en crochets, une fois et demi plus long que large, piriforme, régulièrement dilaté depuis la base jusqu'au sommet. Le pédoncule fructifère est bien plus court que le fruit, la partie libre des carpelles sensiblement aussi longue que la partie soudée. Cette espèce est commune dans le Sud tunisien, plus rare dans le Sud algérien : El Golea et Illizi.



Z. Gaetulum Emb. Et Maire : Le fruit est au moins deux fois plus long que large, avec une partie inférieure tubuleuse et une partie supérieure plus courte ainsi que brusquement dilatée. La plante est répartie dans le Sud marocain : versant méridional de l'Atlas, depuis la Daoura jusqu'à l'embouchure du Dra et au Tarfaya et le Sud-ouest algérien : Tindouf.



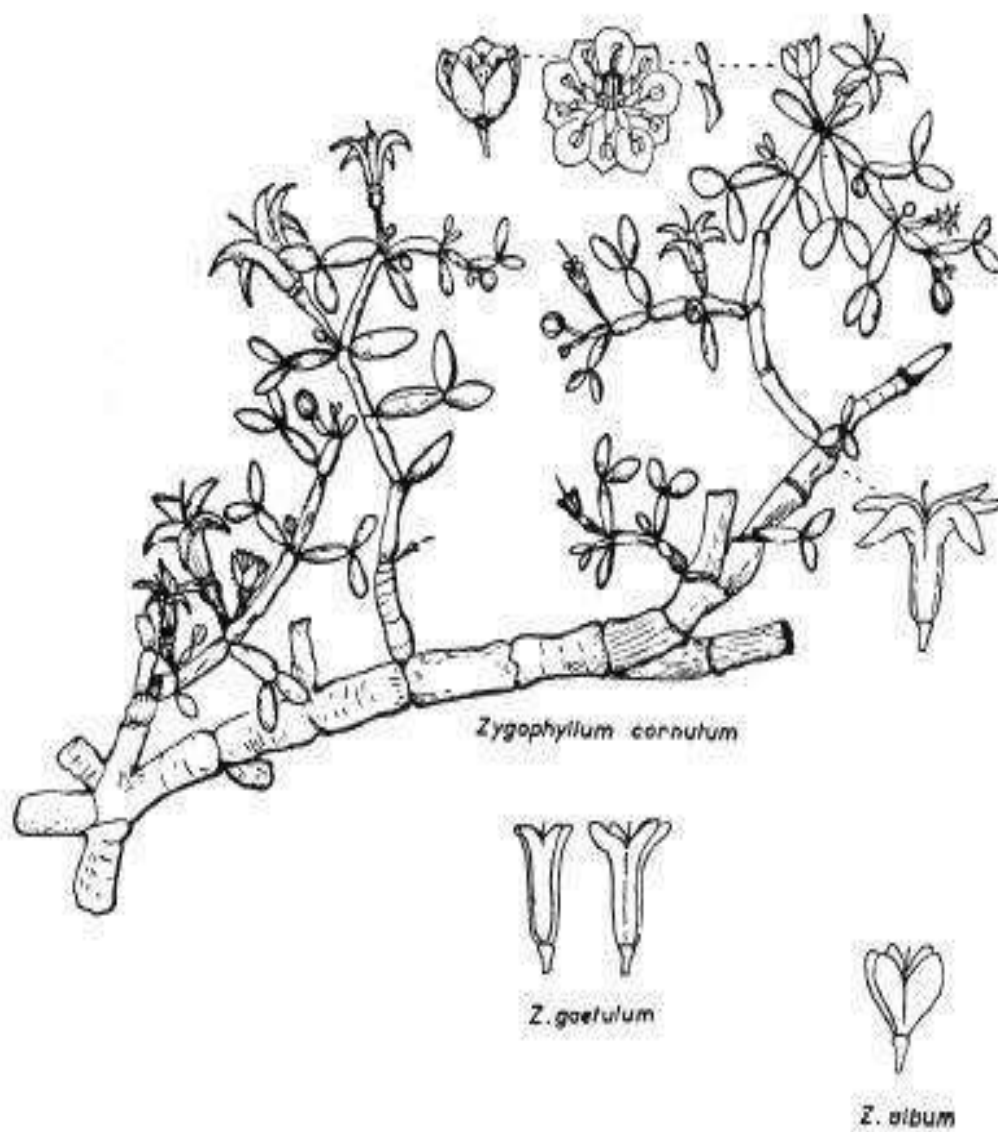


Figure I-1: Dessin de *Z. album*, *Z. gaetulum* et *Z. cornutum* [2]



Figure I-2 : Photo de *Z. gaetulum* (Tindouf, Avril 2015)



Figure I-3 : Photo de *Z. cornutum* (Biskra, Mars 2013)



Figure I-4 : Photo de *Z. album* (Ouargla, Avril 2013)

I-4. Classification

Nous présentons ci-dessous la classification systématique des espèces étudiées dans ce travail [3]:

Règne : Plante

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Zygophyllales

Famille : Zygophyllaceae

Genre : *Zygodhullum*

Espèce: *Z. album* L., *Z. cotnutum* Coss., *Z. gaetulum* Emb. & Maire,

I-5. Usage

Les populations locales ont depuis longtemps utilisé les plantes dans de différents domaines notamment comme des détergents, des remèdes contre certaines maladies et des ingrédients pour la cuisine.

Z. album est utilisé dans la médecine traditionnelle comme médicament actif contre le rhumatisme, la goutte, l'asthme, l'hypertension, la flatulence. Il est diurétique, anesthésique local et agent antidiabétique [9, 10]. Cette plante est utilisée aussi contre les douleurs, pour calmer la soif, le soin des plaies, le traitement des caries et pour laver les vêtements et les cheveux [11].

Z. gaetulum est utilisé en médecine traditionnelle en tant que condiment, anti-inflammatoire, antipyrétique, antidiabétique, antispasmodique et anti-eczéma [12-15]. Cette espèce est aussi utilisée pour le traitement des douleurs de l'estomac et du foie [15, 16].

Z. Cornutum et *Z. Geslini* traditionnellement utilisés comme remède empirique du diabète sucré [17, 18]. Il a été signalé que le jus de feuilles de *Z. simplex* agit comme un nettoyant pour la peau et il est utilisé pour le traitement des taches cornées sur la peau [19].

Z. coccineum sert à nourrir les chameaux tandis que les graines sont utilisées comme substitut du poivre. Les extraits de cette plante ont été utilisés en médecine traditionnelle comme anthelminthique et diurétique. Les fruits ont également été utilisés dans le traitement de diverses maladies telles que le diabète, l'asthme, la goutte, les rhumatismes et l'hypertension. Une infusion de l'extrait d'eau des feuilles est utilisée comme antiseptique topique [20].

Le genre *Guaiacum* a une longue histoire dans l'utilisation par la société centre et sud-américaine pour traiter les maladies inflammatoires et le cancer. Les extraits et la résine des plantes de ce genre ont été beaucoup utilisés comme additif alimentaire [21]. *Tribulus terrestris* a été utilisé dans la médecine traditionnelle contre l'impotence, rhumatisme, œdème, hypertension et Lithiase urinaire [22]. Cette plante est utilisée aussi pour le traitement des troubles oculaire, pour promouvoir la circulation sanguine, pour le traitement de la distension abdominale et la promotion de la circulation sanguine pour éliminer la stase sanguine [23].

I-6. Activité biologique

Les espèces du genre *Zygodphyllum* sont très utilisées par les populations locales pour des raisons thérapeutiques, et cela a poussé les chercheurs à entamer des tests biologiques.

L'extrait alcoolique de la plante *Z. album* peut être hautement toxique pour les rats. D'après le pourcentage calculé par extrapolation, la poudre brute de la plante est toxique pour les moutons et cause une mortalité élevée, mais pour les humains il est considéré comme légèrement toxique [9]. L'extrait éthanolique ainsi que l'extrait aqueux présentent un pouvoir anti-hyper glycémique important ainsi qu'une activité antioxydante sur les rats de laboratoires [24, 25]. *Z. album* peut être utilisé dans le développement des médicaments anti-obésité [9].

Des études réalisées auparavant sur *Z. gaetulum* ont confirmé ses activités antipyrétiques, antidiabétiques, anti diarrhéiques et antispasmodiques [13]. La plante a un potentiel intéressant comme nouvelle molécule anti-inflammatoire [12, 14]. L'infusion des feuilles de *Z. gaetulum* dévoile une bonne activité anti-hyper glycémique et l'étude de la toxicité montre qu'une haute dose de l'extrait peut être administrée sans danger. Il a été constaté chez les volontaires non insulinodépendants

que l'extrait aqueux de cette plante était plus efficace que le glucophage retard (biguanide) et aussi efficace que le glipizide (sulfonylurée). L'administration par voie orale ou intra péritonéale de *Z. gaetulum* à des rats diabétiques induits par l'alloxane, a diminué de manière significative le taux de glycémie et a augmenté le taux plasmatique d'insuline [16, 26, 27].

Les tests de l'activité antimicrobienne et antifongique pour *Z. geslini* sont négatifs par contre la plante a un pouvoir cytotoxique important [18].

Les résultats de l'activité cytotoxique du composé isolé à partir de *Z. fabago* suggèrent que ce composé peut inhiber efficacement la prolifération des cellules humaines HCT-8 et A549 [28]. Ainsi, dans une deuxième étude, des chercheurs ont pu isoler trois composés à partir de *Z. fabago* dont les trois derniers peuvent inhiber efficacement la prolifération des cellules humaines ECa-1009 où les pourcentages d'inhibition à 50 µg/ml étaient entre 54,10 et 80,27% [29].

Les extraits méthanoliques des racines et des feuilles ainsi que les composés purs isolés à partir de trois espèces du genre *Zygothymus* (*Z. album*, *Z. dumosum* et *Z. coccineum*) possèdent un effet inhibiteur puissant contre les deux champignons testés : *V. albo-atrum* et *F. oxysporum*. Cette efficacité est due à la présence des dérivés de l'acide quinovique et du kaempférol [30].

Dans une étude préliminaire, l'action hypoglycémiant de sommités du *Zygothymus Cornutum* a été confirmée chez le lapin par voie orale [17].

Dans une étude menée sur les rats, les résultats ont montré que l'extrait brut de la plante *Z. coccineum* a produit une réduction dose-dépendante de la tension artérielle [20]. L'activité antifongique des composés isolés à partir de *Z. coccineum* a été étudiée contre *Colletotrichum acutatum*, *C. fragariae*, *C. gloeosporioides*, *Botrytis cinerea*, *Phomopsis obscurans*, *P. viticola* et *Fusarium oxysporum* et a été observée contre *P. viticola* après une exposition de 144 h. les composés isolés ont montré une inhibition de la croissance fongique variant de 76,9% à 30 µM jusqu'à 31,5%, tandis que le captan utilisé comme témoin a montré une inhibition de la croissance de 99,9%. Les composés isolés ont été soumis à un essai biologique de l'activité insecticide où seulement un composé présentait une mortalité significative de 90% et 80% à une

concentration de 3,1 µg / 0,5 µL contre *A. aegypti* et *C. quinquefasciatus*, respectivement [31].

Les extraits ou les constituants de *Larrea tridentata* possèdent des activités antioxydantes, anti- HIV, antimicrobienne, inhibiteur d'enzyme, anti-tumeur et anti-hyperglycémique [32].

I-7. Études phytochimiques précédentes et principaux métabolites secondaires isolés de la famille Zygophyllaceae

L'investigation sur les travaux effectués sur les espèces de la famille *Zygophyllaceae* révèle la présence de : flavonoïdes, saponines, lignanes, tanins, alcaloïdes, terpènes et huiles essentielles.

Jusqu'à la fin de siècle passé, les études chimiques concernant les espèces du genre *Zygophyllum* nord-africain demeurent fort rares, R. Paris et C. Perez ont entrepris l'étude de *Z. cornutum* en 1958, on trouve seulement deux autres travaux datés de 2012 et 2013.

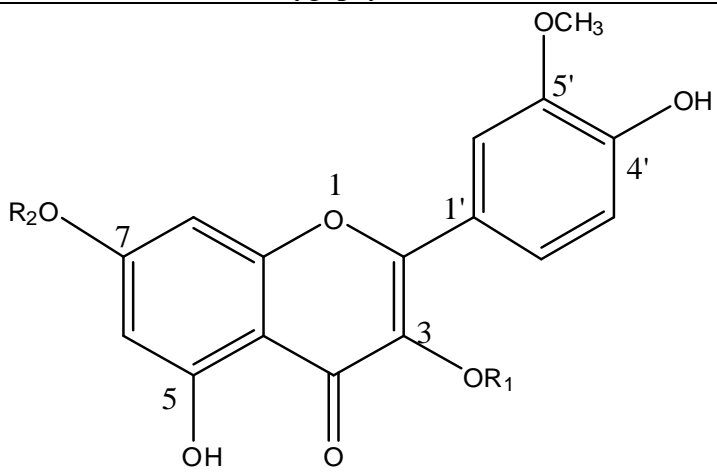
Le *Z. album* a fait l'objet de nombreuses études chimiques et biologiques dans les dernières années. En revanche, Le *Z. album* est une espèce très peu étudiée par rapport au nombre de publications consacrées aux autres espèces ou familles.

Pour la plante *Z. gaetulum*, à notre connaissance, les travaux consacrés aux études chimiques consistent en deux articles parus en 1998 et en 2001.

I-7-1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes présents dans le genre *Zygophyllum*, *Tribulus*, *Fagonia* et *Larrea* sont principalement des flavonols. Des aglycones : Kaempferol, Isorhamnetin, Quercetin et Herbacetin. Des glycosides de types flavonol-3-*O*-glycoside où la partie glycosidique peut être monosaccharide ou disaccharide constitué de glucose, galactose et rhamnose. Les différentes structures flavoniques séparées à partir des espèces de la famille *Zygophyllaceae* sont illustrées dans les tableaux de **I-1** à **I-5**.

Tableau I-1 : Structures flavonoïdiques à base d'isorhamnetin isolées de la famille Zygophyllaceae

				
Composé	R ₁	R ₂	espèce	réf
Isorhamnetin	H	H	<i>Z. album</i>	[9]
			<i>Z. simplex</i>	[19]
Isorhamnetin -3-O- β-galactopyranoside	Gal	H	<i>Z. album</i>	[8]
Isorhamnetin -3-O-β-glucopyranoside	Glc	H	<i>Z. album</i>	[8]
			<i>Z. simplex</i>	[19]
			<i>Z. decumbens</i>	[7]
			<i>Fagonia sinaica</i> <i>F. cretica</i>	[33]
			<i>F. arabica</i>	[34]
Isorhamnetin-3-O-α-rhamnopyranoside- (1→6)-O-β-glucopyranoside (Isorhamnetin -3-O-rutinoside)	Rh ¹ → ⁶ Glc	H	<i>Z. album</i>	[8, 35]
			<i>Z. decumbens</i>	[7]
			<i>Z. coccineum</i>	[31]
			<i>Z. aegyptium</i>	[36]
			<i>F. arabica</i>	[34]
Isorhamnetin-3-O- α -rhamnopyranoside- (1→6)-O- β –galactopyranoside (Isorhamnetin -3-O-robinoside)	Rh ¹ → ⁶ Gal	H	<i>Z. album</i>	[8]
Isorhamnetin -3-O-β-glucopyranoside 7- O-α-rhamnopyranoside	Glc	Rh	<i>Z. simplex</i>	[8]
6''-(2-E- butenoyl)- isorhamnetin -3 -O- glucopyranoside	6''-2-E- butenoyl- Glc	H	<i>Z. simplex</i>	[19]
Isorhamnetin -3,7- di- O-β- glucopyranoside	Glc	Glc	<i>F. sinaica</i> <i>F. cretica</i> <i>F. tenuifolia</i>	[33]

Isorhamnetin 3-O-(6''-O-E-p-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside	6''-O-E-p-coumaroyl-Glc	H	<i>Tribulus alatus</i>	[37]
---	-------------------------	---	------------------------	------

Tableau I-2 : Structures flavonoïdiques à base de Quercetin isolées de la famille Zygophyllaceae

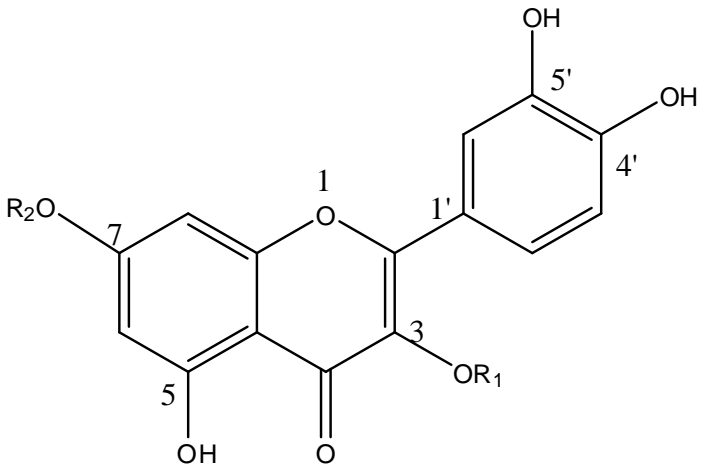
				
composé	R ₁	R ₂	espèce	réf
Quercetin	H	H	<i>Z. simplex</i>	[8]
Quercetin-3-O- β -glucopyranoside	Glc	H	<i>Z. album</i>	[9]
			<i>F. sinaica</i>	[33]
			<i>F. cretica</i>	
Quercetin-3-O-rutinoside (rutine)	Rh ¹ → ⁶ Glc	H	<i>T. alatus</i>	[37]
			<i>Z. decumbens</i>	[7]
			<i>T. terrestris</i>	[38]
			<i>F. cretica</i>	[33]
			<i>F. tenuifolia</i>	
Quercetin-3,7-di-O- β -glucopyranoside	Glc	Glc	<i>F. cretica</i>	[33]
			<i>F. tenuifolia</i>	

Tableau I-3 : Structures flavonoïdiques à base de Kaempferol isolées de la famille Zygophyllacea

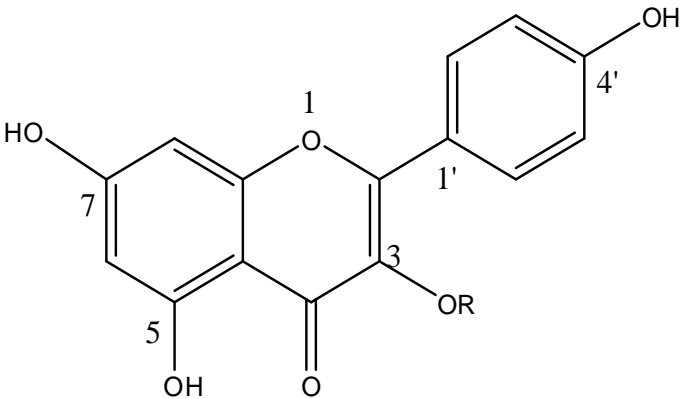
			
composé	R	espèce	réf
Kaempferol	H	<i>Z. album</i>	[9]
Kaempferol-3-O-rutinoside	Rh ¹ → ⁶ Glc	<i>Z. album</i>	[35]
		<i>z. simplex</i>	[19]
Kaempferol-3-O-β-glucopyranoside (astragaline)	Glc	<i>Z. melongena</i>	[39]
		<i>F. sinaica</i>	[33]
		<i>T. alatus</i>	[37]
Kaempferol 3-O-(3'',6''-di-O-E-p-coumaroyl) β-D-glucopyranoside	3'',6''-di-E-p-coumaroyl-Glc	<i>T. alatus</i>	[37]
Kaempferol 3-O-3''-O-E-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside	3''-E-p-coumaroyl-Glc	<i>T. alatus</i>	[37]
Kaempferol-3-methyl ether (isokempferide)	CH ₃	<i>Larrea tridentata</i>	[32]

Tableau I-4 : Différentes structures de flavonoïdes de types herbacétin isolées à partir de la famille Zygophyllaceae

Composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	espèce	réf
Herbacétin 3,8,4'- triméthylether	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	H	<i>L. tridentata</i>	[32]
5,7,4' -trihydroxy-3,8,3' -triméthoxyflavone	CH ₃	H	CH ₃	H	OCH ₃		
5,7,4' -trihydroxy-3,8-di -méthoxyflavone	CH ₃	H	CH ₃	H	H		
Herbacétin 8-rutinoside	H	H	Rh ¹ → ⁶ Glc	H	H	<i>F. arabica</i>	[34]
Herbacétin 8-méthylether 3-rutinoside	Rh ¹ → ⁶ Glc	H	CH ₃	H	H		
herbacétin herbacétin 8-méthylether 3,7 -di-O-β-glucopyranoside	Glc	Glc	CH ₃	H	H		
herbacétin herbacétin 8-méthylether 3-rutinoside ,7-O- β-glucoside	Rh ¹ → ⁶ Glc	Glc	CH ₃	H	H		

Tableau I-5 : Différentes structures de flavonoïdes isolées à partir de Zygophyllaceae (*Larrea tridentata*)

Composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Réf
apigenin-7-methylether	H	H	OH	H	[40]
apigenin-7,4'-dimethylether	H	H	OCH ₃	H	
kaempferol-3,7-dimethylether	OCH ₃	H	OH	H	
herbacetin-3,7-dimethylether	OCH ₃	OH	OH	H	
ayanin	OCH ₃	H	OCH ₃	OH	[41]
Composé	R ₁	R ₂	R ₃	Réf	
(S)-4',5-dihydroxy-7-methoxyflavanone	H	OCH ₃	H	[42]	
naringenin	H	OH	H	[40]	
3'-O-methyltaxifolin	OH	OH	OCH ₃		

I-7-2. Triterpénoïdes

Les triterpénoïdes sont les principaux constituants de la famille Zygophyllaceae, ils sont présents comme des dérivés glycosylés de l'acide quinovique dans le genre *Zygophyllum*, dont le sucre est positionné en 3,27 et 28 de la génine, dans le cas d'un monodesmoside seulement une position est substituée par un ou plusieurs oses dans le cas d'un bidesmoside deux positions sont substituées 3,27 et/ou 28.

Le genre *tribulus* produit des stéroïdes glycosylés de type furostane, chlestane et spirostane qui sont typique de ce genre [37]. *Fagonia* et *Larrea* produisent des dérivés glycosylés de l'acide oléanolique. *Guaiacum* et encore *larrea* produisent l'acide 30-noroleanoïque. Les différentes structures des triterpénoïdes isolées de la famille Zygophyllaceae sont regroupées dans les tableaux I-6 jusqu'à I-18.

Tableau I-6 : Structures triterpéniques à base de quinovic acid (C-28 Substitué) isolées de la famille Zygophyllaceae

Composé	R ₁	R ₂	espèce	réf
quinovic acid	H	H	<i>Z. fobago</i>	[29, 43]
3-O-β-D-quinovopyranoside quinovic acid	Qui	H	<i>Z. album</i>	[35]
			<i>Z. cornutum</i>	[44]
			<i>Z. coccineum</i>	[45]
			<i>Z. dumosum</i>	[46]
			<i>Z. propinquum</i>	[47]
			<i>Z. fabago</i>	[29]
3-O-β-D-rhamnopyranoside quinovic acid	Rh	H	<i>Z. simplex</i>	[19]
3-O-β-D-glucopyranoside quinovic acid	Glc	H	<i>Z. album</i>	[9]
			<i>Z. fabago</i>	[29]
			<i>Z. coccineum</i>	[31, 45]
			<i>Z. aegyptium</i>	[36]
3-O-β-D-2-O-sulfonyl-quinovopyranoside quinovic acid (Zygophyloside D)	2-O-SO ₃ -Qui	H	<i>Z. melongena</i>	[39]
			<i>Z. propinquum</i>	[48]
			<i>Z. coccineum</i>	[31, 45]
3-O-β-D-2-O-sulfonylglucopyranoside quinovic acid	2-O-SO ₃ -Glc	H	<i>Z. aegyptium</i>	[36]
			<i>Z. coccineum</i>	[31]
			<i>Z. cornutum</i>	[44]

			<i>Z. geslini</i>	[49]
3- <i>O</i> -β-D-quinovopyranoside quinovic acid 28- <i>O</i> - β-D-glucopyranoside ester	Qui	Glc	<i>Z. geslini</i>	[49]
			<i>Z. album</i>	[35]
			<i>Z. cornutum</i>	[44]
			<i>Z. coccineum</i>	[31, 45]
3,28- <i>O</i> -β-D-di-quinovopyranoside quinovic acid ester	Qui	Qui	<i>Z. album</i>	[35]
3,28- <i>O</i> -β-D-di-glucopyranoside quinovic acid ester	Glc	Glc	<i>Z. gaetulum</i>	[15, 50]
			<i>Z. coccineum</i>	[31, 45]
			<i>Z. dumosum</i>	[45]
			<i>Z. fabago</i>	[43]
			<i>Z. melongena</i>	[39]
28- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside 2→1 glucopyranoside quinovic acid ester	H	Glc ¹ → ² Glc	<i>Z. album</i>	[35]
3- <i>O</i> - β-D-glucopyranoside (2→1) rhamnopyranoside quinovic acid	Rh ¹ → ² Glc	H	<i>Z. album</i>	[51]
3- <i>O</i> - β-D-quinovopyranoside (3→1) - β-D-xylopyranoside quinovic acid	Xyl ³ → ¹ Qui	H	<i>Z. album</i>	[35]
quinovic acid 28- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside (1→2) glucopyranoside ester	Glc ¹ → ² Glc	H	<i>Z. album</i>	[51]
3- <i>O</i> - α-L-arabinopyranoside (1→2) β-D quinovopyranoside quinovic acid	Ara ¹ → ² Qui	H	<i>Z. coccineum</i>	[31, 45]
			<i>Z. propinquum</i>	[47]
3- <i>O</i> - α-L-arabinopyranoside (1→2) β-D glucopyranoside quinovic acid	Ara ¹ → ² Glc	H	<i>Z. coccineum</i>	[31]
3- <i>O</i> - α-L-arabinopyranoside (1→2) β-D glucopyranoside quinovic acid 28- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside ester	Ara ¹ → ² Glc	Glc	<i>Z. geslini</i>	[52]
3- <i>O</i> -β-D-2- <i>O</i> -sulfonylquinovopranoside quinovic acid 28- <i>O</i> - β-D-glucopyranoside ester (Zygophyloside E)	SO ₃ H- Qui	Glc	<i>Z. propinquum</i>	[48]
			<i>Z. geslini</i>	[52]
			<i>Z. gaetulum</i>	[15, 50]
			<i>Z. cornutum</i>	[44]
			<i>Z. coccineum</i>	[31]
			<i>Z. dumosum</i>	[45]
3- <i>O</i> -β-D-2- <i>O</i> - sulfonylglucopyranoside quinovic acid 28- <i>O</i> - β-D-glucopyranoside ester (Zygophyloside G)	SO ₃ H- Glc	Glc	<i>Z. geslini</i>	[52]
			<i>Z. coccineum</i>	[45]
			<i>Z. dumosum</i>	[45]
			<i>Z. gaetulum</i>	[15, 50]
			<i>Z. cornutum</i>	[44]
3- <i>O</i> - α-L-arabinopyranoside (1→2) β-D quinovopyranoside quinovic acid 28- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside ester (Zygophyloside H)	Ara ¹ → ² Qui	Glc	<i>Z. geslini</i>	[52]
			<i>Z. coccineum</i>	[31, 45]
			<i>Z. dumosum</i>	[45]
			<i>Z. cornutum</i>	[44]

Tableau I-7 : Structures triterpéniques à base de quinovic acid (C-27 Substitué) isolées de la famille Zygophyllaceae

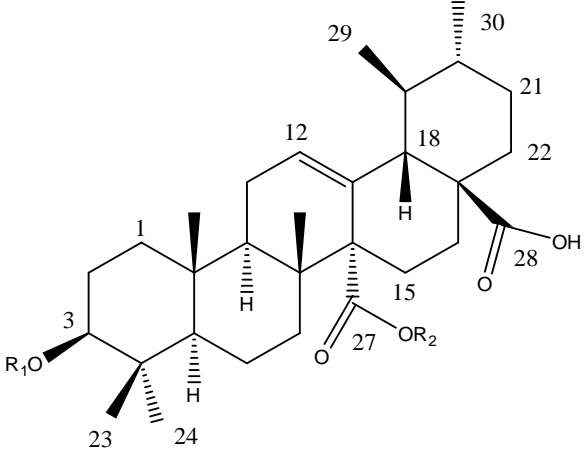
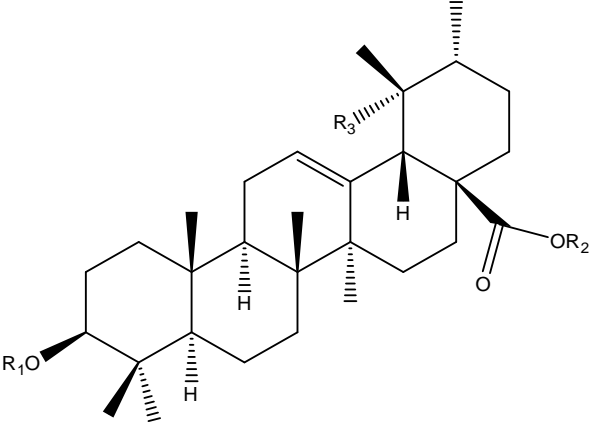
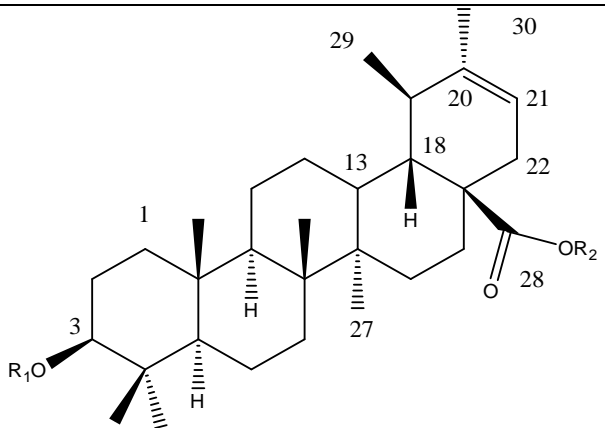
				
composé	R ₁	R ₂	espèce	réf
3-O-β-D-glucopyranoside quinovic acid 27-O-β-D-quinovopyranoside ester	Glc	Qui	<i>Z. dumosum</i>	[46]
			<i>Z. propinquum</i>	[47]
quinovic acid 27-O-β-D- glucopyranoside (1→2) β-D- glucopyranoside	H	Glc ¹ → ² Glc	<i>Z. album</i>	[51]
3-O-α-L-arabinopyranoside (1→2) β-D quinovopyranoside quinovic acid 27-O-β-D- D- glucopyranoside ester (Zygophyloside C)	Ara ¹ → ² Qui	Glc	<i>Z. propinquum</i>	[53]
3-O-β-D-2-O-sulfonylquinovopyranoside quinovic acid 27-O-β-D-glucopyranoside ester (Zygophyloside F)	2-O-SO ₃ H- Qui	Glc	<i>Z. coccineum</i>	[46]
			<i>Z. album</i>	
			<i>Z. dumosum</i>	

Tableau I-8 : Structures triterpéniques à base d'olenolic acid isolées de la famille Zygophyllaceae

					
Composé	R ₁	R ₂	R ₃	espèce	réf
14-decarboxy 3β-O-β-D-quinovopyranoside 1→4 quinovopyranoside quinovic acid	Qui ¹ → ⁴ Qui	H	H	<i>Z. album</i>	[51]

3-O-β-D-2-O-SO ₃ H-arabinopyranoside pomolic acid (Zygoeichwaloside G)	SO ₃ H-Ara	H	OH	<i>Z. eichwaldii</i>	[54]
3- O-β-D-2-O-SO ₃ H-arabinopyranoside pomolic acid 28- O-β-D-Glucopyranoside ester (Zygoeichwaloside H)	SO ₃ H-Ara	Glc	OH		[55]
3- O-β-D-2-O-SO ₃ H-galactopyranoside pomolic acid 28- O-β-D-glucopyranoside ester (Zygoeichwaloside I)	SO ₃ H- Gal	Glc	OH		[56]
3- O-β-D-2-O-SO ₃ H-glucopyranoside pomolic acid 28- O-β-D-glucopyranoside ester (Zygoeichwaloside K)	SO ₃ H- Glc	Glc	OH		[55]
3-O-β-D-arabinopyranoside pomolic acid 28-O-β-D-glucopyranoside ester (Ziyu-Glycoside I)	Ara	Glc	OH		[56]
3-O-β-D-arabinopyranoside pomolic acid (Ziyu-Glycoside II)	Ara		OH		[56]
3- O-[β D-glucopyranoside-(1→3)-α-L-arabinopyranoside] -ursolic acid-28-O-[β -D-glucopyranoside] ester	Glc ^{1→3} Ara		H	<i>F. indica</i>	[57]
3-O- β -D-xylopyranoside (1→2)-[α -D-glucopyranoside (1→3)] α -L-arabinopyranoside ursolic acid 28-O- β -D-glucopyranoside	Xyl (^{1→2}) Glc (^{1→3}) Ara		H	<i>F. arabica</i>	[58]
3-O-[β D-glucopyranoside-(1→2)-α-L-arabinopyranoside -(1→3)-α-L- arabino -- pyranoside] ursolic acid-28-O-[β D-glucopyranoside] ester (indicasaponin A)	Glc ^{1→2} Ara ^{1→3} Ara		H	<i>F. indica</i>	[57]

Tableau I-9 : Structures triterpéniques à base de -urs20-en-28-oic acid isolées de la famille Zygoephyllaceae

				
Composé	R₁	R₂	espèce	réf
3β-3-6-Deoxy-α-L-mannopyranoside (1→2)-α-L-arabinopyranoside-(1→2)-β- D-glucopyranurosonide-oxy-urs-20-en -28-oic acid 28-(2-O-Sulfo- β -D-glucopyranoside) Ester	6-Deoxy-Man (^{1→2}) Ara (^{1→2}) Glu Ac	2-O-SO ₃ H-Glc	<i>Z. geslini</i>	
(3 β)-3-[(2-O-Sulfo- β -D-glucopyran-- uroside)oxy]urs-20-en-28-oic Acid 28-(2-O-Sulfo- β -D-glucopyranoside]	2-O-SO ₃ H- Glu Ac	2-O-SO ₃ H-Glc	<i>Z. geslini</i>	[52]

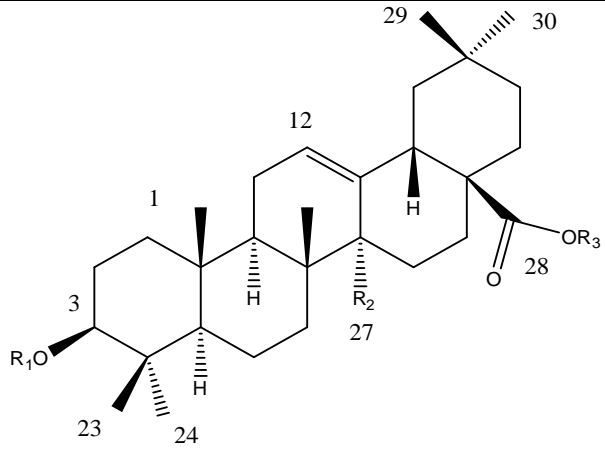
3β-O-α-L-rhamanopyranoside-(1→2)-α-L-arabinopyranoside-(1→2)-β-D-glucopyranoside] urs-20-en-28-oic acid 28-O-β-d-glucopyranoside Ester (Zygophyloside L)	Rh ^{1→2} Ara ^{1→2} Glc	Glc	<i>Z. gaetulum</i>	[15, 50]
			<i>Z. dumosum</i>	[59]
3β-O-α-L-rhamanopyranoside-(1→2)-α-L-arabinopyranoside-(1→2)-β-D-glucopyranoside] urs-20-en-28-oic acid 28-O-β-D-2-O-Sulfonyl-glucopyranoside Ester (Zygophyloside I)	Rh ^{1→2} Ara ^{1→2} Glc	2-O-SO ₃ H-Glc	<i>Z. gaetulum</i>	[15, 50]

Tableau I-10 : Structures triterpéniques à base norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid isolées de la famille Zygophyllaceae

Composé	R ₁	R ₂	espèce	réf
3-O-[α-L-rhamnopyranoside(1→2) α-L-arabinopyranosyl (3→1) β-D-glucopyranoside]-3-O-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid (guaiacin C)	Rh ^{1→2} Ara ^{3→1} Glc	H	<i>Guaiaicum Officinale</i>	[60]
3-O-[α-L-rhamnopyranoside(1→2) α-L-arabinopyranosyl (3→1) β-D-glucopyranoside]-3-O-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid 28-O-β-D-glucopyranoside ester (guaiacin D)	Rh ^{1→2} Ara ^{3→1} Glc	Glc		
3-O-[β-D-glucopyranoside (1→2) α-L-arabinopyranoside (3→1) β-D-glucopyranoside]-3-O-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid 28-O-β-D-glucopyranoside ester (guaiacin E)	Glc ^{1→2} Ara ^{3→1} Glc	Glc		
3-O-[α-L-rhamnopyranoside(1→3) α-L-rhamnopyranosyl (1→2) α-L-arabinopyranoside (3→1) β-D-glucopyranoside]-3-O-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid-28-O-β-D-glucopyranoside(1→6) β-D-glucopyranoside ester (guaianin F)	Rh ^{1→3} Rh ^{1→2} Ara ^{3→1} Glc	Glc ^{1→6} Glc	<i>G. Officinale</i>	[61]
3 β-hydroxy-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid β-D-glucopyranoside ester	H	Glc	<i>L. Tridentata</i>	
3-[(O-β-D-glucopyranoside-(1→3)-α-L-arabinopyranoside)oxy]30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid β-D-glucopyranoside ester (guaiacin A)	Glc ^{1→2} Ara	Glc		
3-[(α-L-arabinopyranoside)oxy]-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid β-D-glucopyranoside ester	Ara	Glc		
3-[(O-(3-O-acetyl-β-D-glucopyranoside)(1→3) α-	3-O-acetyl- Glc	Glc		

L-arabinopyranoside)oxy]-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid β D-glucopyranoside ester	$1 \rightarrow 3$ Ara		<i>L. Tridentata</i>	[62]
3-[(O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside)-(1 \rightarrow 3) α -L-arabinopyranoside)oxy]-30-noroleana 12,20(29) -dien-28-oic acid β D-glucopyranoside ester	3-O-acetyl- Glc $1 \rightarrow 3$ Ara	Glc		
3-[(O-(4-O-sulfo- β D-glucopyranoside)-(1 \rightarrow 3) α -L-arabinopyranoside)oxy]-30-noroleana 12,20(29)-dien-28-oic acid β D-glucopyranoside ester sodium salt	4-O-SO ₃ Na-Glc $1 \rightarrow 3$ Ara	Glc		
3-[(O-(4-O-sulfo β D-glucopyranoside)-(1 \rightarrow 3)-O-[α -L-rhamnopyranoside-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranosyl)oxy]-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid β D-glucopyranoside ester sodium salt	4-O-SO ₃ Na-Glc $1 \rightarrow 3$ Rh $1 \rightarrow 2$ Ara	Glc		
3-[(O α -L-rhamnopyranoside(1 \rightarrow 2) α -L-arabinopyranosyl)oxy]-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid β D-glucopyranoside ester (guaianin A2)	Rh $1 \rightarrow 2$ Ara	Glc		
3-[(O- β -D-glucopyranoside-(1 \rightarrow 3)-O-[α -L-rhamnopyranoside-(1 \rightarrow 2)] α -L-arabinopyranoside)oxy]-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid (guaiacin C)	Glc $1 \rightarrow 3$ Rh $1 \rightarrow 2$ Ara	H		
3-[(O- β -D-glucopyranoside-(1 \rightarrow 3)-O-[α -L-rhamnopyranoside-(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside)oxy]-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid β D-glucopyranoside ester (guaiacin D).	Glc $1 \rightarrow 3$ Rh $1 \rightarrow 2$ Ara	Glc		
3-O-([α -L-rhamnopyranoside(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- α -L-arabinopyranoside (3 \rightarrow 1) [β -D-glucopyranoside])-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid (guaianin D)	Rh $1 \rightarrow 3$ Rh $1 \rightarrow 2$ Ara $3 \rightarrow 1$ Glc	H	<i>G. officinale</i>	[63]
3-O-[α -L-rhamnopyranoside (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]-30-noroleana-12,20(29) dienoate 28 α -D-glucopyranoside (guaianin B)	Rh $1 \rightarrow 3$ Glc $1 \rightarrow 3$ Ara	Glc		

Tableau I-11 : Structures triterpéniques à base d'oleanic acid isolées de la famille Zygophyllaceae

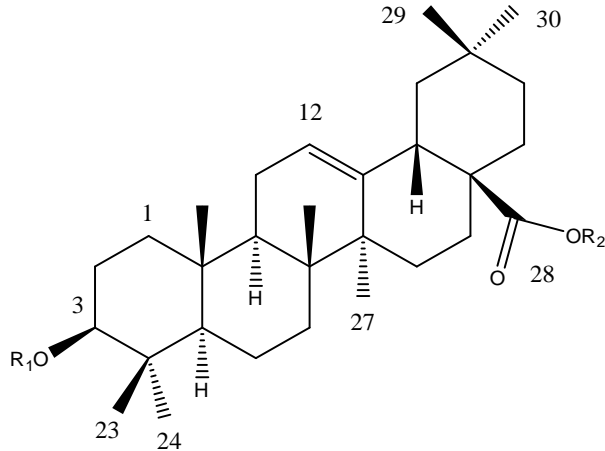
					
Composé	R₁	R₂	R₃	espèce	réf
3-O-[β D-glucopyranoside (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside] hederagenin 28-O- β -D-glucopyranoside ester	Glc $1 \rightarrow 2$ Ara	CH ₃	Glc		

3- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside] 27-hydroxy oleanolic acid 28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl] ester	Glc 1 \rightarrow 2 Ara	CH ₂ OH	Glc 1 \rightarrow 6 Glc	<i>F.cretica</i>	[64]
3 β - <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside] olean-12-en-27-al-28-oic acid 28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] ester.	Glc 1 \rightarrow 2 Ara	CHO	Glc 1 \rightarrow 6 Glc		
3- <i>O</i> - β -D-xylopyranoside(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranoside 27-hydroxy oleanolic acid, 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	Xyl 1 \rightarrow 3 Glc 1 \rightarrow 2 Ara	CH ₂ OH	Glc	<i>F.arabica</i>	[58]

Tableau I-12 : Différentes structures triterpéniques à base de olean-12-ene28,29-dioic acid isolées de la famille Zygophyllaceae (*L. Tridentata*) [62]

Composé	R₁	R₂
3-[(β -D-xylopyranoside)oxy]olean-12-ene28,29-dioic acid 28- β -D-glucopyranoside ester	Xyl	Glc
3-[(<i>O</i> - β -D-glucopyranoside-(1 \rightarrow 3))- β -D-xylopyranoside]oxy]olean-12-ene-28,29-dioic acid	Glc 1 \rightarrow 3 Xyl	H
3-[(β -D-xylopyranoside)oxy]olean-12-ene28,29-dioic acid	Xyl	H

Tableau I-13 : Structures triterpéniques à base d'acide olénoïque isolées de la famille Zygophyllaceae

				
Composé	R ₁	R ₂	espèce	réf
3-O-β-D-quinovopyranoside 27-nor-olénoïque acid 28-O-β-D-glucopyranoside ester (Zygophyloside M)	Qui	Glc	<i>Z. gaetulum</i>	[15, 50]
3-[(O-(4-O-sulfo- β D-glucopyranoside)-(1→3)-α-L-arabinopyranoside)oxy]olean-12-en-28-oic acid β D-glucopyranoside ester sodium salt	4-O SO ₃ Na Glc 1→3 Glc	Glc	<i>L. Tridentata</i>	[62]
3-[(O- β D-glucopyranoside-(1→3)-2-O-sulfo-α-L-arabinopyranoside)oxy]olean-12-en-28-oic acid β D-glucopyranoside ester sodium salt	Glc (1→3) 2-O-SO ₃ Na Ara	Glc		
3-[(O- β D-glucopyranoside-(1→3)-α-L-arabinopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid (guaianin N)	Glc 1→3 Arab	H		
3-[(O- β D-glucopyranoside-(1→3)-α-L-arabinopyranoside)oxy]olean-12-en-28-oic acid β-D-glucopyranoside ester (guaiacin B)	Glc 1→3 Ara	Glc	<i>F. indica</i>	[57]
3-[(O- β D-xylopyranoside-(1→3)- β-D-glucuronopyranoside)oxy]olean-12-en-28-oic acid β D-glucopyranoside ester (quinoside D)	Xyl 1→3 Glc	Glc	<i>L. Tridentata</i>	[62]
3-[(O- β D-glucopyranoside-(1→3)-O-[α-L-rhamnopyranoside-(1→2)]-α-L-arabinopyranoside) oxy]olean-12-en-28-oic acid (patriniaglycoside B-II)	Glc 1→3 Rha 1→2 Ara	H		[62]
3-[(O- β D-glucopyranoside-(1→3)-O-[α-L-rhamnopyranoside-(1→2)] α-L-arabinopyranoside) oxy]olean-12-en-28-oic acid β D-glucopyranoside ester (nudicaucin C)	Glc 1→3 Rha 1→2 Ara	Glc		
3-[(O- β D-glucopyranoside-(1→3)-O-[α-L-rhamnopyranoside-(1→2)]- α-L-arabinopyranoside)oxy]olean-12-en-28-oic acid O- β -D-glucopyranoside-(1→6)- β D-glucopyranoside ester (mateglycoside A)	Glc 1→3 Rha 1→2 Ara	Glc 1→6 Glc		
3-O-[β -D-glucopyranoside (1→2)- α-L-arabinopyranoside] oleanolic acid 28-O-[β -D-glucopyranoside (1→6)- β -D-glucopyranoside] ester	Arab 1→2 Glc	Glc 1→6 Glc	<i>F. cretica</i>	[64]

oleanolic acid-3- <i>O</i> -6'- <i>O</i> -methyl- β -D-glucuronopyranoside	6'- <i>O</i> -CH ₃ Glu Ac	H	<i>F.</i> <i>mollis</i>	[65]
oleanolic acid 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside (1 \rightarrow 3)- 6'- <i>O</i> -methyl- β - <i>O</i> - glucuronopyranoside	6'- <i>O</i> -CH ₃ Gluc ac ^{1\rightarrow2} Rh	H		
oleanolic acid 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside (1 \rightarrow 3)-6'- <i>O</i> -methyl- β - <i>O</i> - glucuronopyranoside 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	6'- <i>O</i> -CH ₃ Gluc Ac ^{1\rightarrow2} Rh	Glc		
3- <i>O</i> - β -D-xylopyranoside (1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)] α -L-arabinopyranoside oleanolic acid 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	Xyl ^{1\rightarrow2} Glc ^{1\rightarrow3} Ara	Glc	<i>F.</i> <i>arabica</i>	[58]
3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranoside oleanolic acid 28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	Glc ^{1\rightarrow2} Glc ^{1\rightarrow3} Ara	Glc		
3- <i>O</i> - β -D-xylopyranoside (1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranoside oleanolic acid	Xyl ^{1\rightarrow2} Glc ^{1\rightarrow3} Ara	H		
3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranoside(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranoside oleanolic acid	Glc ^{1\rightarrow2} Glc ^{1\rightarrow3} Ara	H		
3- <i>O</i> -(β -D-glucuronopyranoside acid)-oleanolic acid	Gluc ac	H	<i>G.</i> <i>officinal</i> <i>e</i>	[63]
β -D-glucopyranoside 3- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranoside (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranoside]-oleanolate (guaianin C)	Rh ^{1\rightarrow3} Glc ^{1\rightarrow3} Ara	Glc		
3- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-arabinopyranoside-(1 \rightarrow 3)] α -L-arabinopyranoside- oleanolic acid-28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside] ester (indicasaponin B)	Glc ^{1\rightarrow2} Ara ^{1\rightarrow3} Ara	Glc	<i>F.</i> <i>indica</i>	[57]
3- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranoside(1 \rightarrow 3) α -L-rhamnopyranoside (1 \rightarrow 2) α -L-arabinopyranoside(3 \rightarrow 1) β -D-glucopyranoside]oleanolic acid-28- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside(1 \rightarrow 6) β -D-glucopyranoside] ester (guaianin G)	Rh ^{1\rightarrow3} Rh ^{1\rightarrow2} Ara ^{3\rightarrow1} Glc	Glc ^{1\rightarrow6} Glc	<i>G.</i> <i>officinal</i> <i>e</i>	[61]
3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 2) α -L-arabinopyranosyl (3 \rightarrow 1) β -D-glucopyranoside] oleanolic acid-28- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside] ester. (guaiacin F)	Glc ^{1\rightarrow2} Ara ^{3\rightarrow1} Glc	Glc	<i>G.</i> <i>officinal</i> <i>e</i>	[60]

Tableau I-14 : Différentes structures triterpéniques à base de pyrocincholate isolées de la famille Zygophyllaceae (*Z. fabago*) [29]

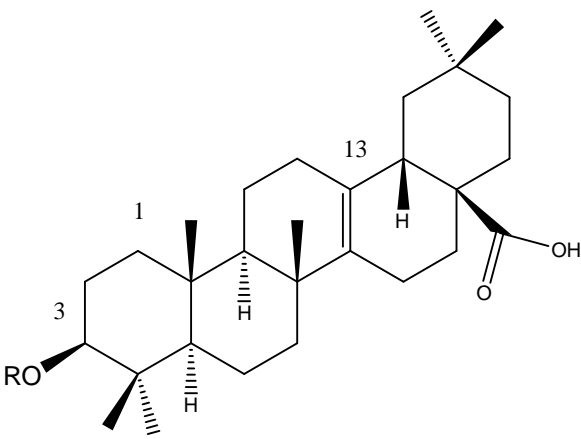
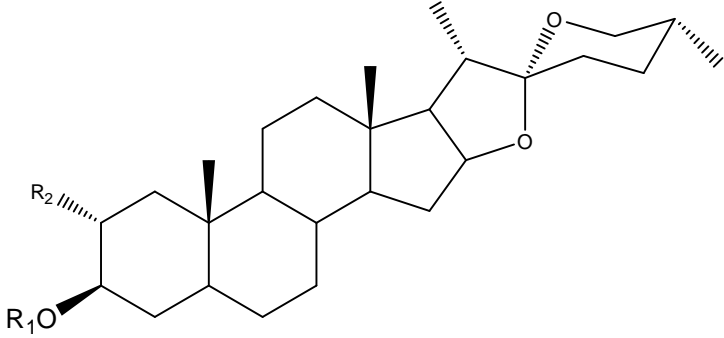
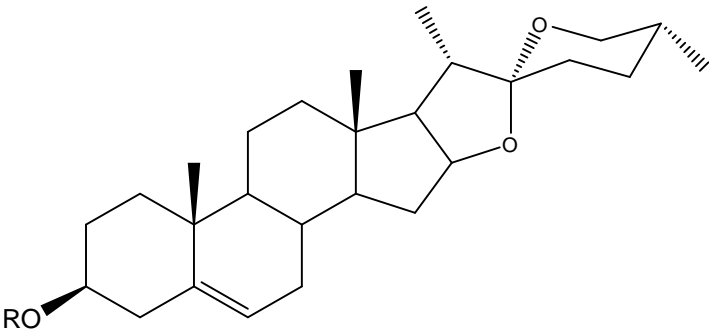
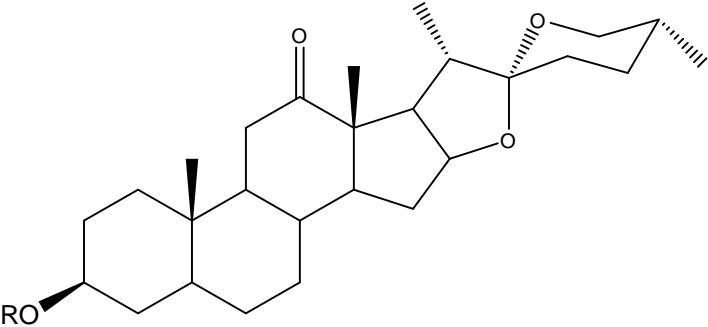
	
Composé	R
3- <i>O</i> -β-D-quinovopyranoside pyrocincholate	Qui
3- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside pyrocincholate	Glc

Tableau I-15 : Différentes structures triterpéniques à base de spirostane isolées de la famille Zygophyllaceae

				
Composé	R₁	R₂	espèce	réf
tribulosin	Xyl ^{1→3} Xyl ^{1→2} (Glc) ^{1→4} Rh ^{1→2} (Gal)	H	<i>T. terrestris</i>	[66]
<i>Desgalactotigonin</i>	Glc ^{1→2} Xyl ^{1→3} (Glc) ^{1→4} Gal	H	<i>T. terrestris</i>	[67]
<i>F-gitonin</i>	Glc ^{1→2} Xyl ^{1→3} (Glc) ^{1→4} Gal	OH		
<i>Desglucolanatigonin</i>	Gal ^{1→2} Xyl ^{1→3} (Glc) ^{1→4} Gal	H		
<i>Gitonin</i>	Gal ^{1→2} Xyl ^{1→3} (Glc) ^{1→4} Gal	OH		
Tigogenin 3- <i>O</i> -β-D-xylopyranoside (1→2) - [β-D-	Xyl ^{1→2} Xyl	H		[23,

xylopyranoside(1→3)]-β-D-glucopyranoside (1→4)- [α-L-rhamnopyranoside (1→2)] -β-D- galactopyranoside	$^{1\rightarrow 3}(\text{Glc})^{1\rightarrow 4}$ $\text{Rh}^{1\rightarrow 2}(\text{Gal})$		<i>T. terrestris</i>	[67]
(25R,S)-5α-spirostan-3β-ol-3-O-β-D- galactopyranoside (1→2)-β-D- glucopyranosyl (1→4)-β-D- galactopyranoside (Terrestrosin A)	$\text{Gal}^{1\rightarrow 2}\text{Glc}$ $^{1\rightarrow 4}\text{Gal}$	H		[67]
(25R,S)-5α-spirostan-2α,3β-diol-3-O-β-D- galactopyranoside (1→2)-β-D-glucopyranoside (1→4)-β-D-galactopyranoside (Terrestrosin E)	$\text{Gal}^{1\rightarrow 2}\text{Glc}$ $^{1\rightarrow 4}\text{Gal}$	OH		
(25R,S)-5α-spirostan-3β-ol-3-O-β-D-glucopyranoside (1→4)-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)]-β-D- galactopyranoside, (Terrestrosin B)	$\text{Glc}^{1\rightarrow 4}\text{Rh}$ $^{1\rightarrow 2}(\text{Gal})$	H		
(25S)-5α-spirostan-3β-ol-3-O-β-D- galactopyranoside-(12)-O-[β-D-glucopyranoside- (1→3)]O-β-D-glucopyranoside-(1→4)-β-D- galactopyranoside.	$\text{Gal}^{1\rightarrow 2}$ [$\text{Glc}^{(1\rightarrow 3)}$] $\text{Glc}^{1\rightarrow 4}\text{Gal}$	H	<i>T. alatus</i>	[37]
(25S)-5α-spirostan-2α,3β-diol-3-O-β Dgalactopyranoside-(1→2)-O-[β-D-glucopyranoside- (1→3)]O-β-D-glucopyranoside-(1→4)-β-D- galactopyranoside	$\text{Gal}^{1\rightarrow 2}$ [$\text{Glc}^{(1\rightarrow 3)}$] $\text{Glc}^{1\rightarrow 4}\text{Gal}$	OH		
				
Composé	R	espèce	réf	
tribestin	$\text{Rh}^{1\rightarrow 2}(4\text{-OSO}_3\text{NA})-\text{Glc}$	<i>T. terrestris</i>	[66]	
diosgenin-3-O-α-L-rhamnopyranoside (1 →4)-β-D-glucopyranoside	$\text{Rh}^{1\rightarrow 4}\text{Glc}$		[22]	
dioscin	$\text{Rh}^{1\rightarrow 4}\text{Rh}^{1\rightarrow 2}(\text{Glc})$		[22, 66]	
				
Composé	R	espèce	réf	
(25R,S)-5α-spirostan-12-on-3β-ol-3-O-β-D- galactopyranoside (1→2)-β-O-	$\text{Gal}^{1\rightarrow 2}\text{Glc}^{1\rightarrow 4}$ Gal			

glucopyranoside(1→4)- β -D-galactopyranoside, (terrestrosin C)			[67]
hecogenin 3-O- β -D-galactopyranoside(1→2)-[β -D-xylopyranoside(1→3)]- β -D-glucopyranoside(1→4)- β -D-galactopyranoside (terrestrosin D)	Gal ¹ → ² Xyl ¹ → ³ (Glc) ¹ → ⁴ Gal	<i>T. terrestris</i>	[23, 67]
becogenin 3-O-β-D-glucopyranoside (1→4)-galactopyranoside	Glc ¹ → ⁴ Gal		[68]
hecogenin-3-O- β D-glucopyranoside (1→2)-[β -D-xylopyranoside (1→3)]- β D-glucopyranoside (1→4)- β -D-galactopyranoside	Glc ¹ → ² [Xyl ¹ 1→3] Glc ¹ → ⁴ Gal		[23]
hecogenin-3-O β D-xylopyranoside(1→2)-[β -D-xylopyranoside (1→3)]- β -D-glucopyranoside-(1→4)[αL-rhamnopyranoside (1→2)]- β -D-galactopyranoside	Xyl ¹ → ² - [Xyl ¹ → ³]-Glc ¹ → ⁴ [Rh ¹ → ²] Gal		[23]

Tableau I-16 : Stéroïdes saponines de types furostane isolés de la famille Zygophyllaceae

Composé	R	espèce	ref
protodioscin	Rh ¹ → ⁴ , Rh ¹ → ² (Glc)	<i>T. terrestris</i>	[38]
prototribestin	Rh ¹ → ² , OSO ₃ NA→ ⁴ (Glc)		
pseudoprotodioscin	Rh ¹ → ⁴ Rh ¹ → ² (Glc)	<i>T. terrestris</i>	[38]

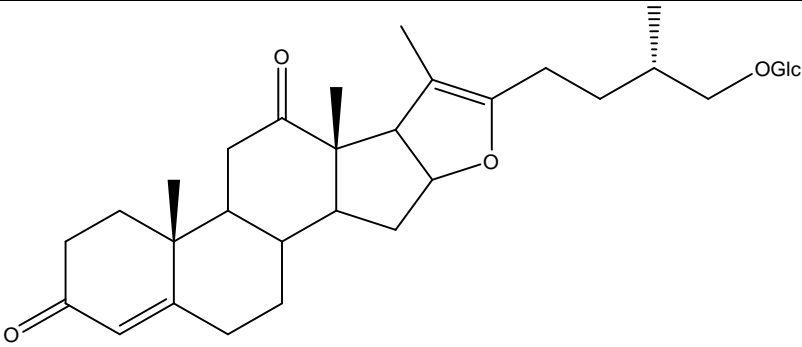
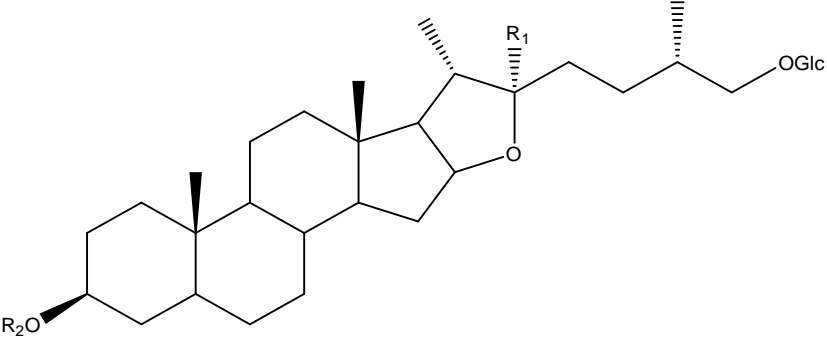
				
26- <i>O</i> - β D-glucopyranoside-(25 <i>S</i>) furostan-4(5),20(22)-diene-3,12-dione			<i>T. terrestris</i>	[23]
				
Composé	R ₁	R ₂	espèce	Réf
26- <i>O</i> - β D-glucopyranoside-(25 <i>S</i>)-5α-furostane-3β,22α,26-triol-3- <i>O</i> - β D-xylopyranosyl (1→3)-[β -D-xylopyranoside(1→2)]- β -D-glucopyranoside (1→4)-[α L-rhamnopyranosyl (1→2)]- β -D-galactopyranoside	OH	Xyl ¹ → ³ [Xyl ¹ → ²] Glc ¹ → ⁴ [Rh ¹ → ²] Gal	<i>T. terrestris</i>	[23]
26- <i>O</i> - β D-glucopyranoside-(25 <i>S</i>)-5 α -furostane-22 α -methoxy3 β, 26-diol-3- <i>O</i> - β D-xylopyranoside(1→3)-[β -D-xylopyranoside (1→2)]- β -D-glucopyranoside(1→4)-[α L-rhamnopyranoside (1→2)]- β -D-galactopyranoside	OMe	Xyl ¹ → ³ [Xyl ¹ → ²] Glc ¹ → ⁴ [Rh ¹ → ²] Gal		
(25 <i>S</i>)-26- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside-5 α -furostan-3β,22α,26-triol-3- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside-(1→2)- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside- (1→3)]- <i>O</i> β D-glucopyranoside-(1→4)- β -D-galactopyranoside	OH	Gal (1→2) [Glc (1→3)] Glc (1→4) Gal	<i>T. alatus</i>	[37]
(25 <i>S</i>)26- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside-5 α -furostan-3b,22 α,26-triol-3- <i>O</i> β -D-glucopyranosyl-(1→2)- <i>O</i> -[β -D-glucopyranoside-(1→3)] <i>O</i> - β -D-glucopyranoside-(1→4)-β-D-galactopyranoside	OH	Glc (1→2) [Glc (1→3)] Glc (1→4) Gal		

Tableau I-17 : Stéroïdes saponines de types cholestan isolés de la famille Zygophyllaceae (*T. alatus*) [37]

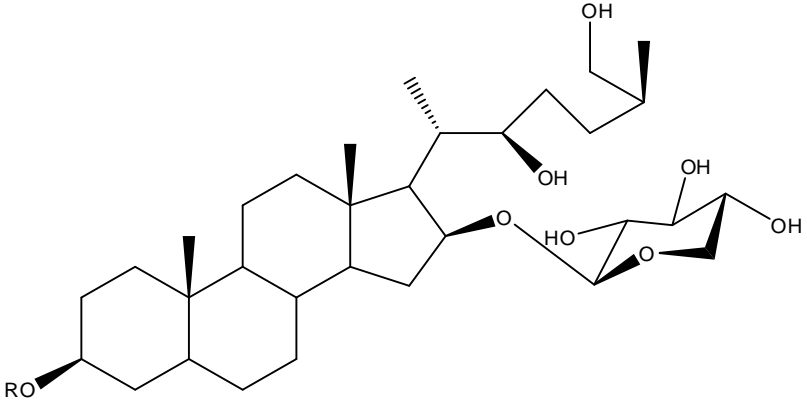
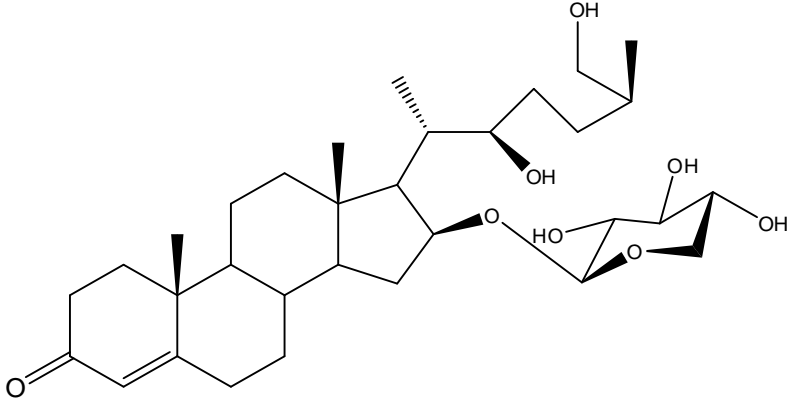
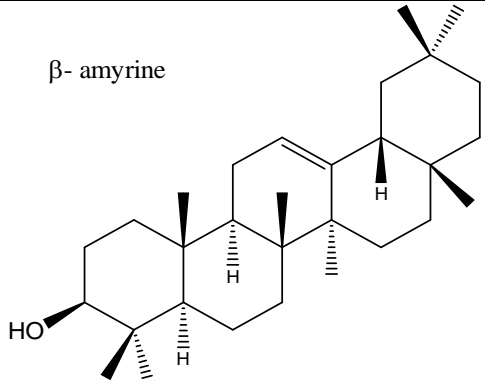
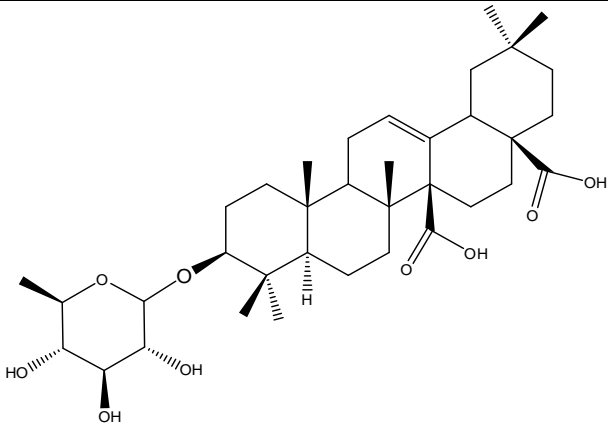
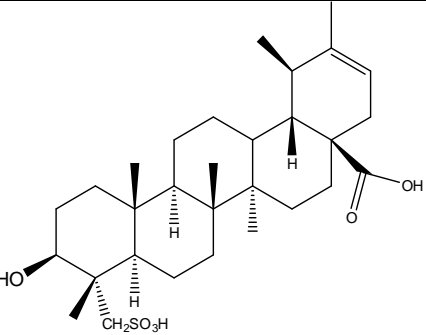
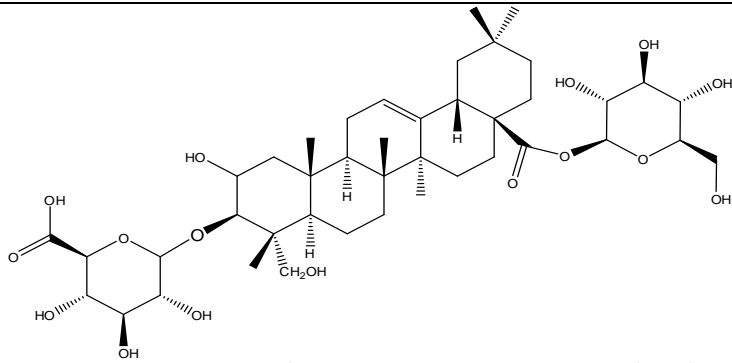
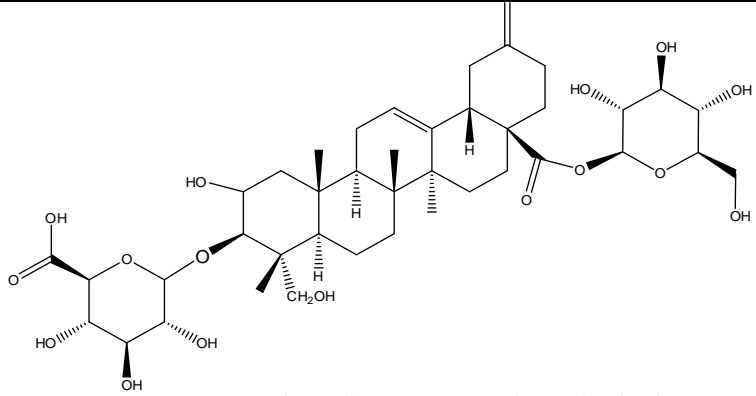
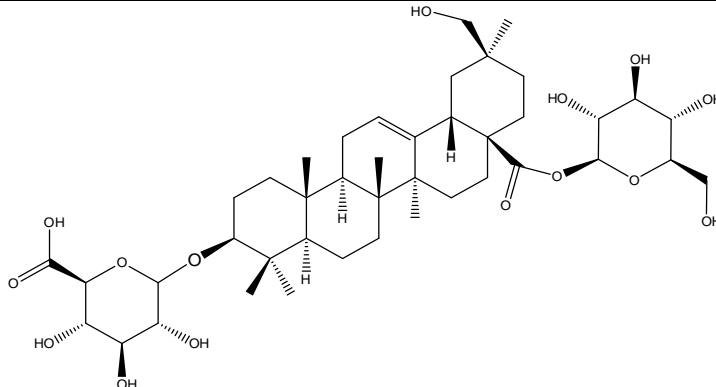
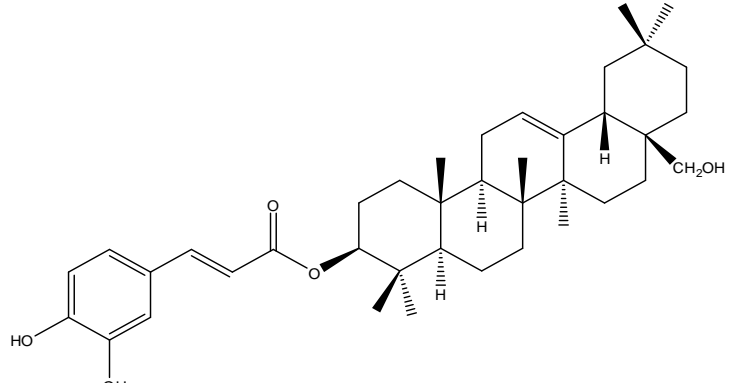
		
Composé	R	Réf
(22S,25S)-16-O- β D-xylopyranoside-5 α -cholestan-3β,16 β,22, 26-tetraol-3-O- β D-glucopyranoside-(1→ 2)-O-[β -D-glucopyranoside-(1→ 3)]-O- β D-glucopyranoside-(1→ 4)- β -D-galactopyranoside	Glc (1→ 2) [Glc 1→ 3] Glc 1→ 4 Gal	[37]
		
(22S,25S)-16β,22,26-tri hydroxycholest-4-en-3-one-16-O-βD-xylopyranoside.		[37]

Tableau I-18 : Différentes structures triterpéniques isolées de la famille Zygophyllaceae

composé	Espèce	réf
<p>β- amyrine</p> 	<i>Z. album</i>	[9]

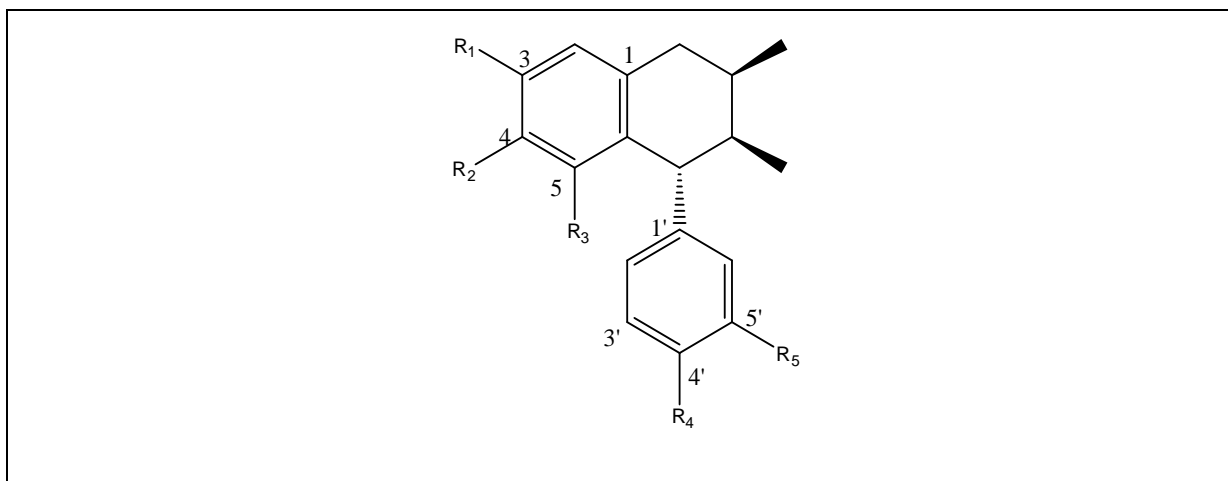
 <p>3-<i>O</i>-β-D-quinovopyranoside cincholic acid</p>	<i>Z. fabago</i>	[29]
 <p>fabagoïn : 3β, 24-dihydroxyurs-20-ene-24-<i>O</i>-sulphonyl-28-oic acid</p>	<i>Z. fabago</i>	[28]
 <p>Zygophyloside I : 3-<i>O</i>-β-D-glucopyranuronic acid 2β, 3β, 23-trihydroxy-olean-12-en-28-oic Acid 28-<i>O</i>-β-D-glucopyranoside ester</p>	<i>z. decumbens</i>	[69]
 <p>Zygophyloside J : 3-<i>O</i>-β-D-glucopyranuronic acid 2β, 3β, 23-trihydroxy-30-nor-olean-12,20(29)-dien-28-oic acid 28-<i>O</i>-β-D-glucopyranoside ester</p>	<i>z. decumbens</i>	

 <p>Zygophyloside K: 3-O-β-D-glucuronic acid pyranoside 29 hydroxy-olean-12-en-28-oic Acid 28- O- β -D-glucopyranoside ester</p>	<i>Z. decumbens</i>	
 <p>3 β-(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol</p>	<i>Z. geslini</i>	[18]
	<i>Z propinquu m</i>	[53]

I-7-3. Lignanes

On trouve différents travaux sur les lignanes de *Larrea tridentata*, cette espèce produit des cyclolignanes et des lignanes de type butane et furane. Les différentes structures des lignanes isolées de la famille Zygophyllaceae sont illustrées dans les tableaux de I-20 jusqu'à I-24.

Tableau I-19 : Cyclolignanes isolés de l'espèce *Larrea tridentata*



composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	réf
3,4'-dihydroxy-3',4'-dimethoxy-6,7'-cyclo lignan	OH	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	[42]
5'-demethoxyisoguaiacin	OH	OH	H	OH	H	[41, 42]
3-demethylisoguaiacin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	[40, 41, 70]
isoguaiacin	OCH ₃	OH	H	OH	OCH ₃	[41, 42, 67, 70]
3,5'-didemethylisoguaiacin	OH	OH	H	OH	OH	[40, 41, 70]
5'-demethoxy-3-demethylisoguaiacin	OH	OH	H	OH	H	[32, 41, 70]
3,4'-dihydroxy-4'-methoxy-6,7'-cyclo lignan	OH	OCH ₃	OH	H	H	
4,5,4'-trihydroxy-6,7'-cyclo lignan	H	OH	OH	H	OH	

Tableau I-20 : Différentes structures de lignanes de type butane isolées de l'espèce *Larrea tridentata* [41]

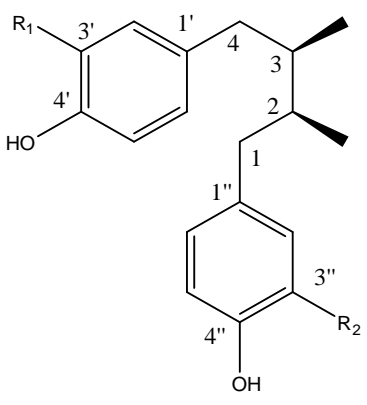
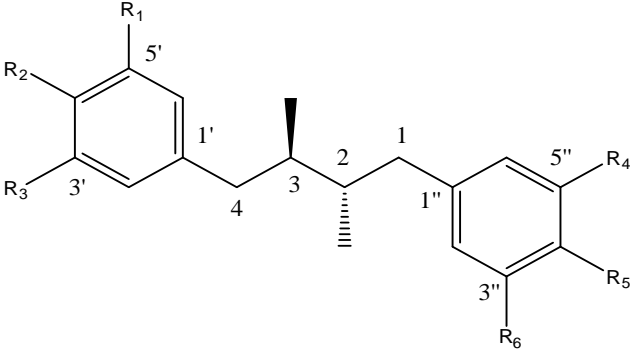
			
Composé	R ₁	R ₂	R ₃
2,3-diméthyl -1(3'-methoxy-4'-hydroxyphenyl)-4-(3',4'-dihydroxyphenyl)-butan : (4'-O-methyl-NDGA)	OH	OCH ₃	OH
2,3-diméthyl -1(3',4'- dihydroxyphenyl)-4-(4-hydroxyphenyl)- butan : (3'-O-methyl-NDGA)	OCH ₃	OH	OH
2,3-diméthyl butan- 1,4-bis(3', 4'-dihydroxyphenyl) (4''-hydroxy phenyl)	OH	OH	H

Tableau I-21 : Différentes structures de lignanes de type diméthyle butane isolées de l'espèce *Larrea tridentata*

							
Composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	réf
2,3-diméthyl 1,4-bis (3'-methoxy 4'-hydroxyphenyl) butane	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	[40-42]
							[71]
2,3-diméthyl 1 (3'-methoxy 4'-hydroxyphenyl) 4-(3'-hydroxy 4''-methoxyphenyl) butane	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	[40]
2,3-diméthyl 1,4-bis (4'-methoxy 3'-hydroxyphenyl) butane	H	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	H	
2,3-diméthyl 1 (3',4'-dimethoxyphenyl) 4-(4'-hydroxy 3''methoxyphenyl) butane	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	[40, 41]
2,3-diméthyl 1 (3'-hydroxy 4'-methoxyphenyl) 4-(3'', 4''-dihydroxyphenyl) butane:(4-O-methyldihydroguaiaretic acid)	H	OCH ₃	OH	OH	OH	H	[41]
3-O-methyldihydroguaiaretic acid	H	OH	OCH ₃	OH	OH	H	
3,4-O-dimethyldihydro - guaiaretic acid	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH	H	
Nordihydroguaiaretic acid	H	OH	OH	OH	OH	H	[40, 72]

Larrealignan A	H	Glc	Glc	Glc	Glc	H	[73]
Larrealignan B	H	Glc	Glc	OCH ₃	Glc	H	
isopregomisin	OCH ₃	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	OCH ₃	[71]
3,4'- <i>O</i> -dimethyl-4- <i>O</i> -acetyl-dihydroguaiaretic acid	H	OAc	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	[41]
3,3'- <i>O</i> -dimethyl-4- <i>O</i> -acetyl-dihydroguaiaretic acid	H	OAc	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	
3- <i>O</i> -methyl-4- <i>O</i> -acetyl-dihydroguaiaretic acid	H	OAc	OCH ₃	OH	OH	H	

Tableau I-22 : Furanoides lignanes isolées de la famille Zygophyllaceae (*Larrea tridentata*)

composé	R₁	R₂	R₃	R₄	réf
(7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,7' <i>S</i> ,8' <i>S</i>)-3,3',4'-trihydroxy-4-methoxy-7,7'-epoxylignan	OH	OCH ₃	OH	OH	[32, 40]
meso-(rel 7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,7' <i>R</i> ,8' <i>R</i>)-3,4,3',4'-tetrahydroxy-7,7'-epoxylignan.	OH	OH	OH	OH	[32, 40]
4-epi-latteatricin	H	OH	H	OH	[32, 70]
3-Hydroxy-4-epi-larreatricin	OH	OH	H	OH	[32, 40, 70]
3,3'-dimethoxylarreatricin	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH	[70]

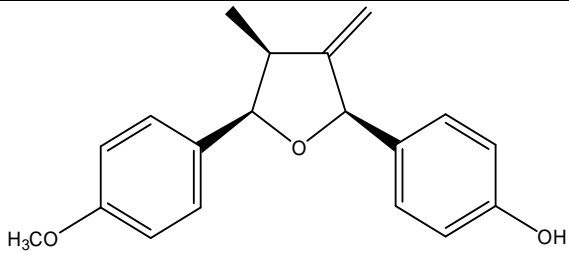
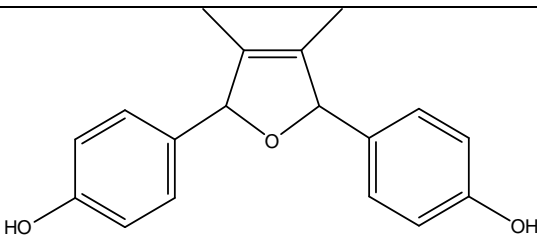
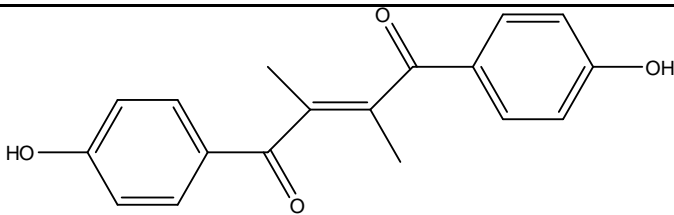
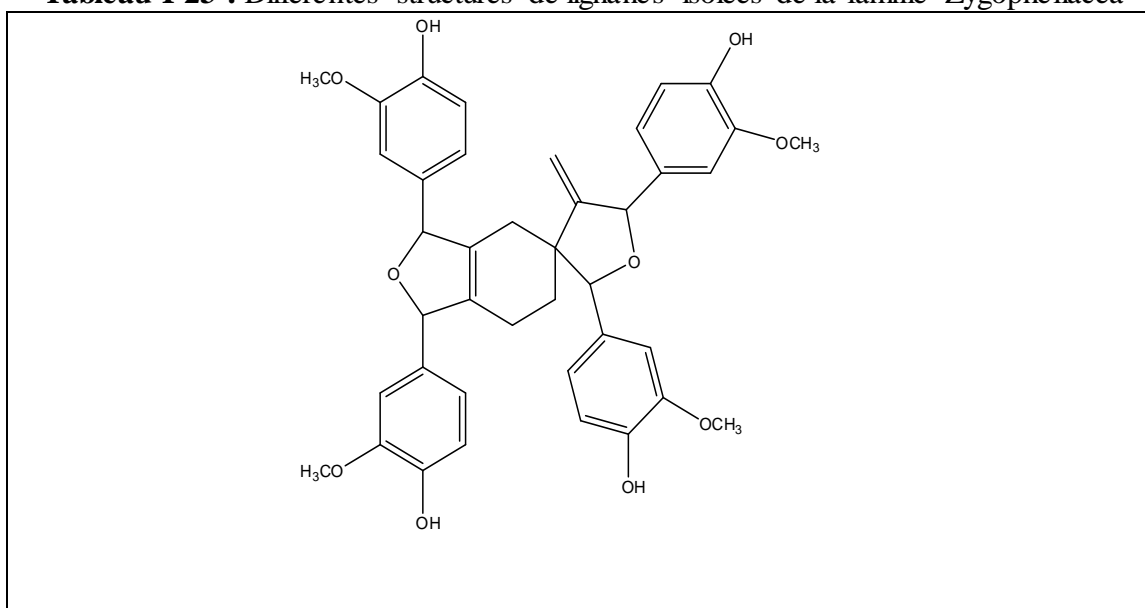
	
larreatridenticin	[70]
	
8,8'-dehydrolarreatricin	[32, 40, 70]
	
(E)-4,4' -dihydroxy-7,7' -dioxolign-8(8')-ene	[32, 73]

Tableau I-23 : Différentes structures de lignanes isolées de la famille Zygophellacea

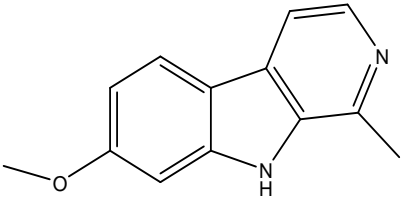
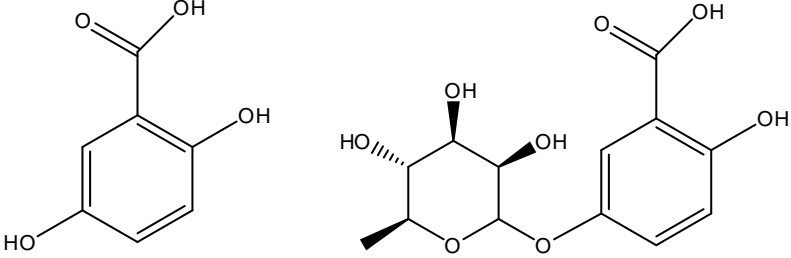
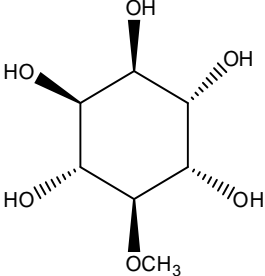
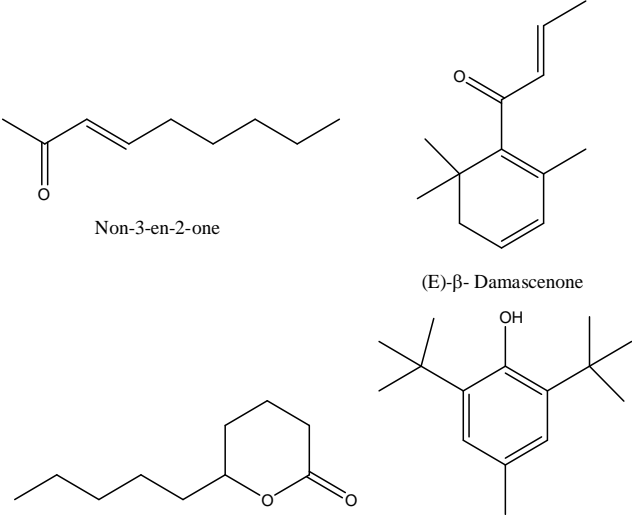


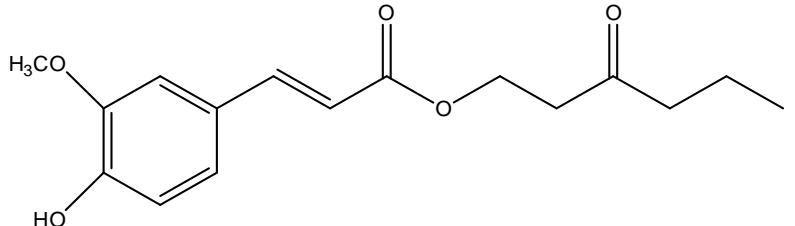
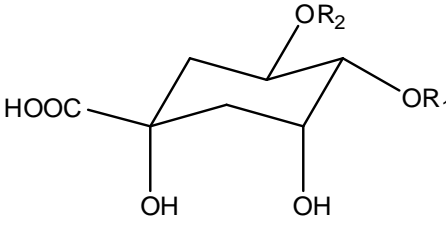
Ramonanin A	<i>G. sanctum</i> <i>G. officinale</i>	[21]
Ramonanin B		
Ramonanin C		
Ramonanin D		
4'-sulfonylariciserinol	<i>Z. aegyptium</i>	[36]

I-7-4. Autres produits

Il y a d'autres produits qui sont présents dans la famille Zygophyllaceae mais très peu répandu dans les espèces de cette famille. Les alcaloïdes ne sont pas très communs dans le genre *Zygophyllum*, un seul alcaloïde a été séparé de la plante *Z. album* qui a été identifié comme Harmine. Les lipides sont moins rapportés dans le genre, on cite deux acides gras : acide décanoïque et acide palmitique. Les polyphénols de type acide phénolique comme l'acide gentisique et son dérivé glycosidé ; l'acide gentisique 5-O- α -rhamnopyranoside. Ainsi que les huiles essentielles qui se composent généralement de monoterpènes. Quelques structures de composés isolées de la famille Zygophyllaceae sont démontrées dans le tableau I-24.

Tableau I-24: Différentes structures de composés isolées de la famille *Zygophyllaceae*

Nom et structure	Espèce	Réf
 <p style="text-align: center;">Harmine</p>	<i>Z. album</i>	[9]
 <p style="text-align: center;">Acide gentsique Acide gentsique 5-O-α-rhamnopyranoside</p>	<i>Z. simplex</i>	[8]
 <p style="text-align: center;">(+)-D-pinitol</p>	<i>Z. melongena</i>	[39]
 <p style="text-align: center;">Non-3-en-2-one (E)-β- Damascenone</p> <p style="text-align: center;">δ Decalactone Butylated hydroxytoluene</p>	<i>Z. album</i>	[10]

 <p>3'-oxohexylferulate</p>		<i>L. ridenta</i>	[40]	
				
Composé	R ₁	R ₂	Espèce	Réf
4,5-di- <i>p-cis</i> -coumaroylquinic acid	cis-coumaroyl	cis-coumaroyl	<i>T. terrestris</i>	[22]
4,5-di- <i>p-trans</i> -coumaroylquinic acid	trans-coumaroyl	trans-coumaroyl		
5- <i>p-trans</i> -coumaroylquinic acid	H	trans-coumaroyl		
5- <i>p-cis</i> -coumaroylquinic acid	H	cis-coumaroyl		

Chapitre II

Quelques métabolites secondaires

II-1. Les composés phénoliques

Un composé phénolique comporte un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Une définition purement chimique est insuffisante pour caractériser les composés phénoliques des végétaux puisqu'elle inclurait d'autres groupes de métabolites secondaires comme des alcaloïdes et des terpènes. Donc il est nécessaire d'ajouter un critère biosynthétique. Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse : la voie via le shikimate (l'acide shikimique) et l'autre voie part de l'acétate. Par conséquent, on peut définir un composé phénolique comme un dérivé non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou/et d'un polyacétate [74]. Un certain nombre de composés phénoliques ont des propriétés médicinales et ont longtemps été utilisés comme médicaments [75].

II-1-1. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont un groupe très vaste et diversifié de produits chimiques. Il est à noter qu'il se trouve un certain nombre de façons pour classer les composés phénoliques. Swain et Bate-Smith ont utilisé une classification où ils ont regroupé les phénols dans les catégories "communes" et "moins fréquentes". Mais Ribéreau-Gayon a regroupé les phénols en trois familles comme suit :

1. Phénols largement distribués
2. Phénols qui sont moins largement distribués
3. Constituants phénoliques présents à l'état de polymères.

Tandis que Harborne et Simmonds ont utilisé une classification en fonction du nombre d'atomes de carbone dans la molécule [76], comme l'indique le tableau II-1.

Tableau II-1: Classification des composés phénoliques

Structure	Classe
C ₆	Phénols simples
C ₆ - C ₁	Acides phénoliques et composés dérivés
C ₆ - C ₂	Acétophénonnes et acides phénylacétiques
C ₆ - C ₃	Acides cinnamiques, coumarines, isocoumarines, chromones
C ₁₅	Flavanols, flavanones, flavonols, flavonones, anthocyanines et anthocyanidines
C ₃₀	Biflavonyles
C ₆ - C ₁ - C ₆ , C ₆ - C ₂ - C ₆	Benzophénones, xanthonnes et stilbéne
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Quinones
C ₁₈	Bétacyanines
Lignanes, neolignanes	Dimères ou oligomères
lignine	Polymères
tanins	Condensé et hydrolysable

II-1-2. Les acides phénoliques

Les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique sont désignés par le terme acide-phénol [74].

II-1-2-1. Biosynthèse

Les composés en C6-C3 souvent désignés collectivement par le terme de phénylpropanes, sont les plus nombreux des métabolites de l'acide shikimique. Quel que soit le degré d'oxydation de leur chaîne latérale, ils proviennent des acides cinnamiques.

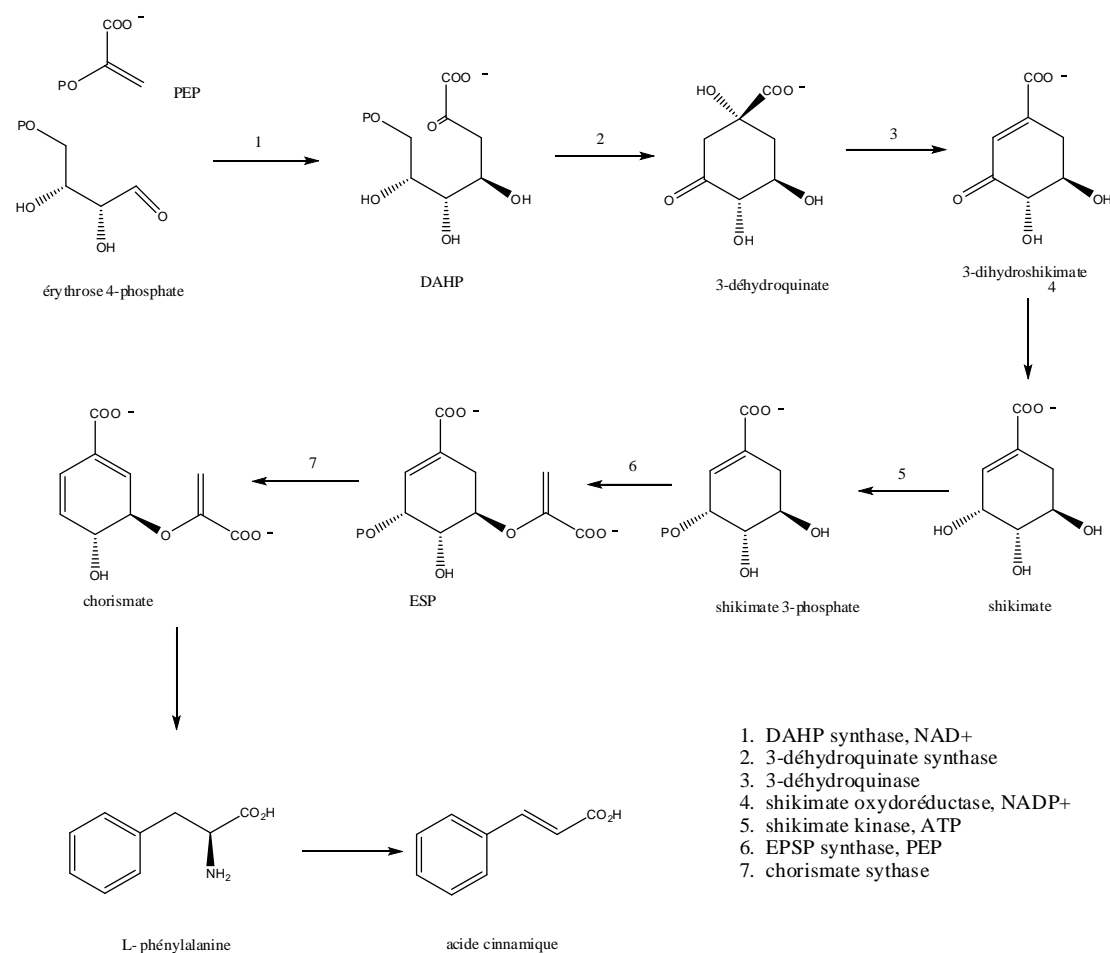


Figure II-1 : Biosynthèse des dérivés de l'acide cinnamique [74].

Les composés en C6-C1, acides benzoïques et dérivés, généralement ils sont issus d'une dégradation de la chaîne latérale des acides cinnamiques correspondants.

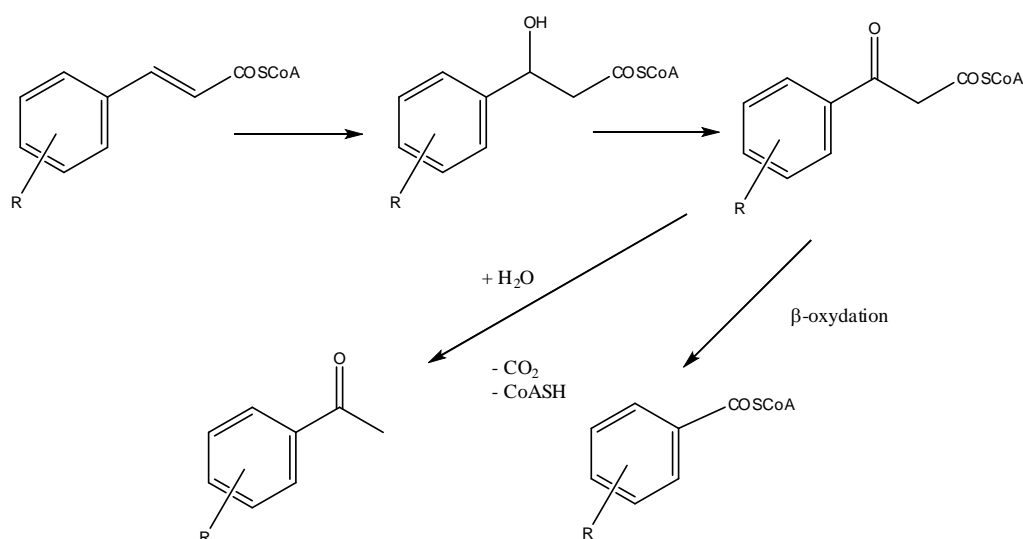


Figure II-2 : Biosynthèse des dérivés de l'acide benzoïque [74].

II-1-2-2. Structure des acides phénoliques

Les acides phénoliques ont la structure C₆-C₁, ils sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, ils sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside [74]. Des exemples comprennent l'acide p-hydroxybenzoïque, de l'acide gallique, l'acide protocatéchique, de l'acide salicylique et de l'acide vanillique [76]. Comme l'indique la figure II-3.

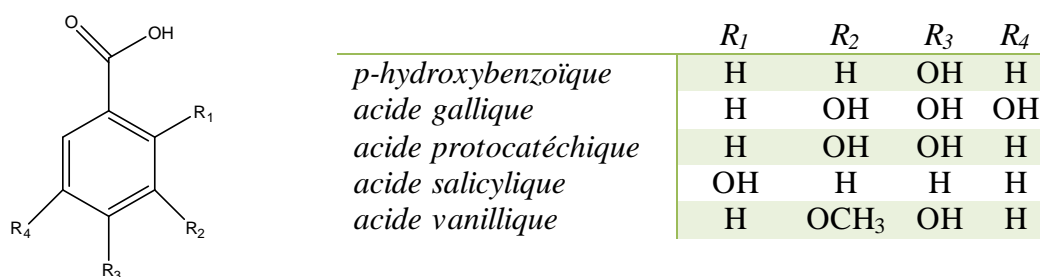


Figure II-3 : Exemple de quelques acides phénoliques en C₆-C₁

Les acides phénoliques en C₆-C₃, **les acides cinnamiques**. Il existe six acides cinnamiques courants ou toutes les plantes contiennent probablement au moins trois d'entre elles: acide cinnamique, acide p-coumarique, acide caféique, acide férulique, acide 5-hydroxyférulique et acide sinapique [76]. Quelques exemples sont illustrés dans la figure II-4. Ces derniers ont une distribution quasi universelle et peuvent exister à l'état libre ou combiné (esters, amides, glucosides) [74], ils se retrouvent couramment dans les plantes comme des esters d'acide quinique, acide shikimique et acide tartrique [76].

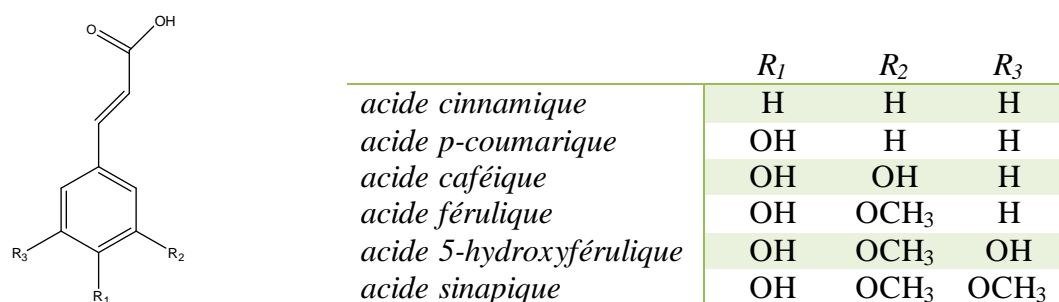


Figure II-4 : Exemple de quelque acide phénolique en C₆-C₃

II-1-2-3. Extraction

Lors de l'extraction, il est préférable d'utiliser un alcool ou l'acétate d'éthyle ainsi qu'utiliser un matériel frais, afin d'éviter une estérification partielle et les substances lipophiles. Il est recommandé de passer à une extraction liquide-liquide avec des solvants de polarités croissantes permettant de séparer les formes libres, les esters puis les hétérosides. Les techniques chromatographiques classiques sont suffisantes pour la séparation d'un mélange de constituants [74].

II-1-2-4. Intérêt

Les acides phénoliques sont des antioxydants. La consommation de ces produits, présents en quantité notable dans le fruit et légumes, contribue à la prévention des affections cardiovasculaires et dégénératives. L'acide chlorogénique et l'acide caféique inhibent in vitro les réactions de nitrosation et certains processus d'altération des acides nucléiques [74].

II-1-3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques comprenant quinze atomes de carbone qui ont la structure C₆-C₃-C₆, avec deux noyaux aromatiques reliés par un pont de trois atomes de carbone. Les flavonoïdes ont des anneaux A, B et C [77]. L'attachement de ces trois est montré dans la figure II-5.

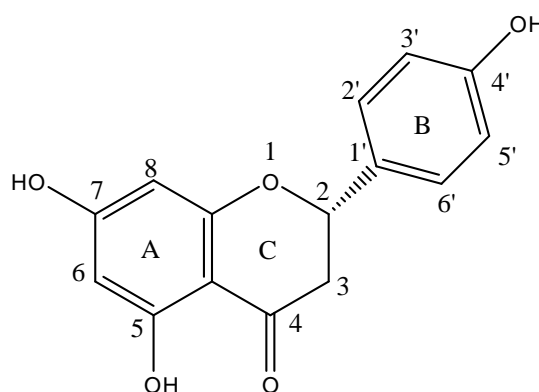


Figure II-5 : Structure d'un flavonoïde (flavanone, naringinone)

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont responsables des colorations des fleurs conditionnant la pollinisation entomophile. Tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols jaunes) ou celui des anthocyanosides rouges ou mauves. Les flavonoïdes jouent le rôle de protection des tissus végétaux contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet B (280-315 nm) [74].

II-1-3-1. Biosynthèse

La structure du flavonoïde $C_6-C_3-C_6$ est le produit de deux voies de biosynthèse séparées. Le pont et le cycle B aromatique constituent une unité phénylpropanoïde synthétisée à partir de p-coumaroyl-CoA. Les six carbones du noyau-A proviennent de la condensation de trois unités d'acétate par voie d'acide malonique [77]. La biosynthèse des importants squelettes flavoniques est illustrée dans la figure II-6.

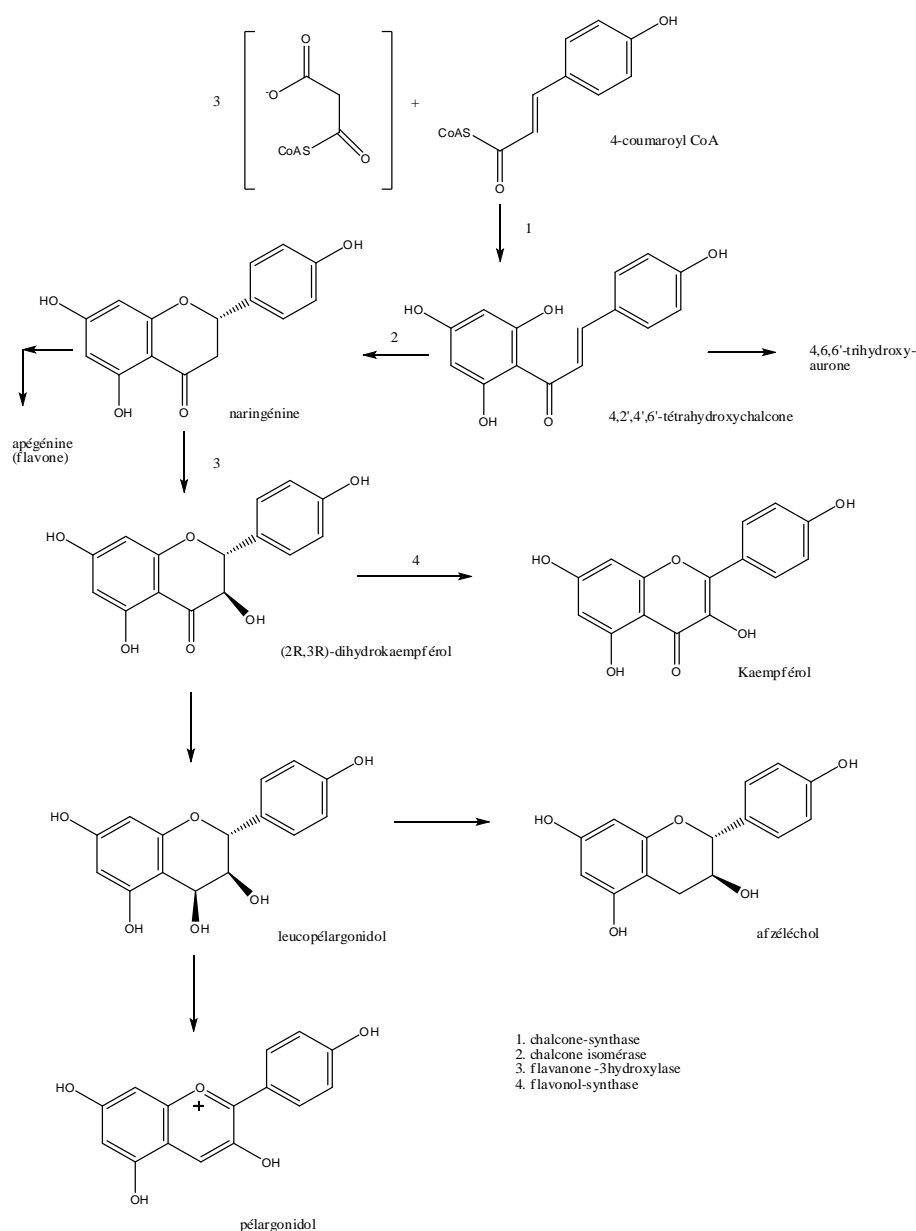


Figure II-6 : Biosynthèse des flavonoïdes [74].

La condensation de trois molécules de malonyl-CoA avec le 4-coumaroyl-coenzyme A, catalysée par la chalcone-synthase, donne comme produit de réaction une chalcone. La chalcone tend à s'isomériser spontanément en flavanone racémique dans les conditions physiologiques normales. L'étape suivante c'est la cyclisation de la chalcone par l'enzyme chalcone-isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle C résultant d'une (2S)-flavanone. La production de la flavanol (2R, 3R)-dihydrokaempférol est catalysée par l'enzyme flavanone 3-hydroxylase qui est spécifique à l'hydroxylation en position C3 de la (2S)-flavanone. L'introduction de la double liaison entre C2 et C3 est garantie par le flavonol-synthase en présence de l'oxoglutarate [74].

II-1-3-2. Classe des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et donc possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phenylchromane [74]. Les principales classes de flavonoïdes sont les flavones, les flavonols, flavan-3-ols, les isoflavones, flavanones et anthocyanidines. D'autres groupes de flavonoïdes, qui sont quantitativement mineurs, sont dihydroflavonols, flavane-3,4-diols, chalcones, dihydrochalcones et aurones [77]. Dans chaque cas, deux anneaux de benzène sont liés ensemble par un groupe de trois carbones. C'est l'arrangement du groupe C3 qui détermine comment les composés sont classés [76].

II-1-3-3. Extraction

En général, les solvants moins polaires sont particulièrement utiles pour l'extraction des aglycones flavonoïdes, tandis que les solvants plus polaires sont utilisés si l'on cherche des glycosides ou des anthocyanines flavonoïdes. Les aglycones moins polaires, comme les isoflavones, les flavanones et les dihydroflavonols, ou les flavones et les flavonols hautement méthylés, sont généralement extraits avec des solvants tels que le chloroforme, l'éther ou l'acétate d'éthyle.

Les glycosides de flavonoïdes et les aglycones plus polaires tels que les flavones hydroxylées, les flavonols, les biflavonyles, les aurones et les chalcones sont généralement isolés à partir du matériel végétal par extraction avec de l'acétone, un alcool ou de l'eau ou une combinaison de ceux-ci [78]. Le solvant le plus utile pour l'extraction de ce groupe de composés est un mélange 7:3 ou 8:2 de méthanol et d'eau [74].

II-1-3-4. Séparation

Une séparation préliminaire est effectuée par l'extraction séquentielle de solvant avec un certain nombre de solvants de polarité variable, permettant la séparation des glycosides des aglycones et à la séparation des aglycones polaires et non polaires.

La chromatographie en colonne reste la technique la plus utile pour l'isolement de grandes quantités de flavonoïdes à partir d'extraits de plantes brutes. Les adsorbants de choix ont généralement été du gel de silice, de la cellulose et du polyamide [78].

II-1-3-5. Elucidation structurale

a) Spectroscopie d'absorption ultraviolette

La spectroscopie UV est la technique la plus utile pour identifier le type de flavonoïde, pour définir le profil d'oxygénation et pour déterminer les positions de substitutions [79]. La spectroscopie UV a deux avantages ; la première est que seule une petite quantité de matière pure est nécessaire. La deuxième raison est que la quantité des informations structurales obtenues à partir d'un spectre UV est considérablement améliorée par l'utilisation de réactifs spécifiques qui réagissent avec un ou plusieurs groupes fonctionnels sur le noyau flavonoïde. L'ajout de chacun de ces réactifs séparément à une solution alcoolique du flavonoïde induit des décalages structurellement significatifs dans le spectre UV. Des changements de ce type sont induits par l'addition de méthylate de sodium (NaOMe), d'acétate de sodium (NaOAc), d'acétate de sodium / acide borique (NaOAc / H₃B₃O₃), de chlorure d'aluminium (AlCl₃) et de chlorure d'aluminium / acide chlorhydrique (AlCl₃ / HCl). Les spectres UV de la plupart des flavonoïdes se composent de deux maxima d'absorption majeurs, un se situe dans la plage de 240-285 nm (bande II) et l'autre dans la plage de 300-400 nm (bande I). En termes généraux, l'absorption de la bande II peut être considérée comme provenant du système benzoyle noyau-A et de la bande I du système cinnamoyle noyau-B [78].

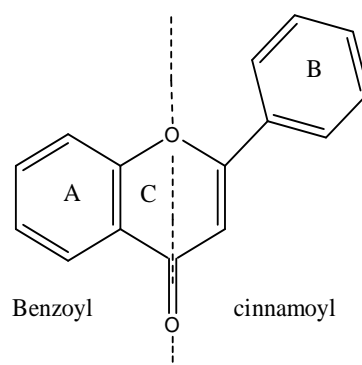


Figure II-7 : Les résonances possibles dans un noyau flavonoïde

b) Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

La spectrométrie de résonance magnétique nucléaire ¹H et ¹³C est maintenant une méthode bien établie pour l'analyse de la structure des flavonoïdes. La spectroscopie RMN ¹³C fournissant des informations sur le squelette carboné de la molécule, peut être considérée comme complémentaire de la spectroscopie RMN-¹H puisqu'elle se rapporte plus étroitement à l'environnement structural du noyau flavonoïde. Dans le cas des aglycones, l'utilisation de la spectroscopie RMN ¹³C peut ne pas être nécessaire pour les identifications structurales fines, mais c'est une méthode précieuse pour l'examen des glycosides complexes de flavonoïdes naturels [79].

II-1-4. Les lignanes :

Le terme lignane désigne habituellement des composés dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du 1-phénylpropane (liaison 8-8'). On dit aussi que ce sont des dimères d'alcools ou d'acides cinnamiques [74].

La distribution botanique des lignanes est large : plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles [74]. Ils sont localisés dans les tiges ligneuses et semences et jouent un rôle de dissuasion d'insectes [76].

II-1-4-1. Biosynthèse :

L'oxydation d'un précurseur par exemple l'acide coniférulique conduit à un radical qui peut exister sous quatre formes mésomères [74].

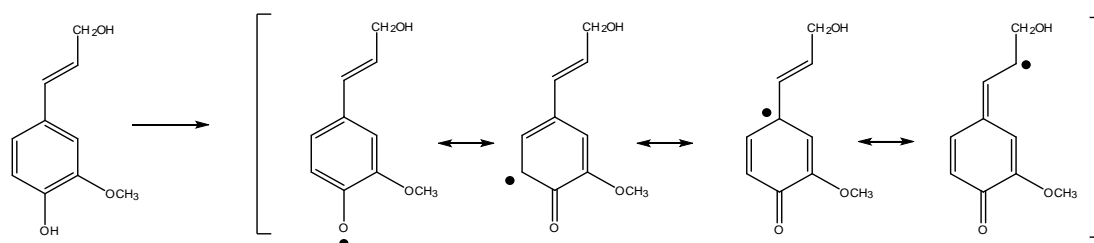


Figure II-8 : Les formes mésomères de l'acide coniférulique [74].

Impliquant un grand nombre de couplages possibles parmi lesquels cinq sont fréquents (8-8', 8-1', 8-3', 8-O-4', 3-3') [74].

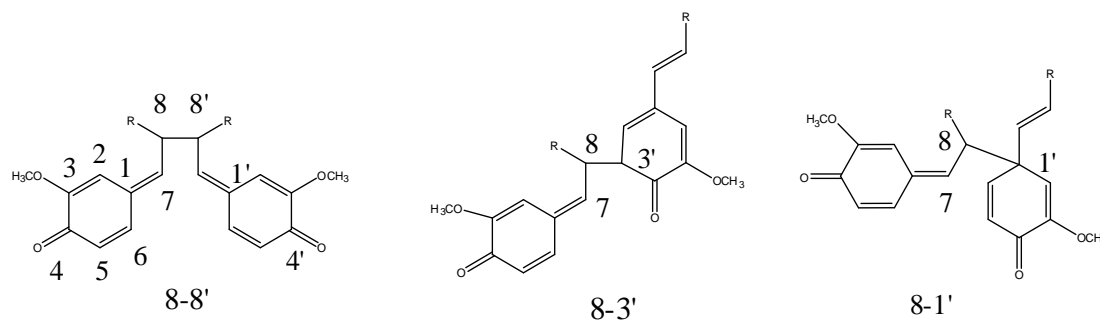


Figure II-9 : Couplages (8-8', 8-1', 8-3')

Dans le cas des néolignanes, les radicaux impliqués dans les couplages dérivent des allyl- et propénylphénols. La condensation de deux radicaux doit conduire à une méthide-quinone qui peut subir une cyclisation de type furanofuranes et dihydrobenzofuranes. La figure II-10 montre la biogenèse du matairésinol [74].

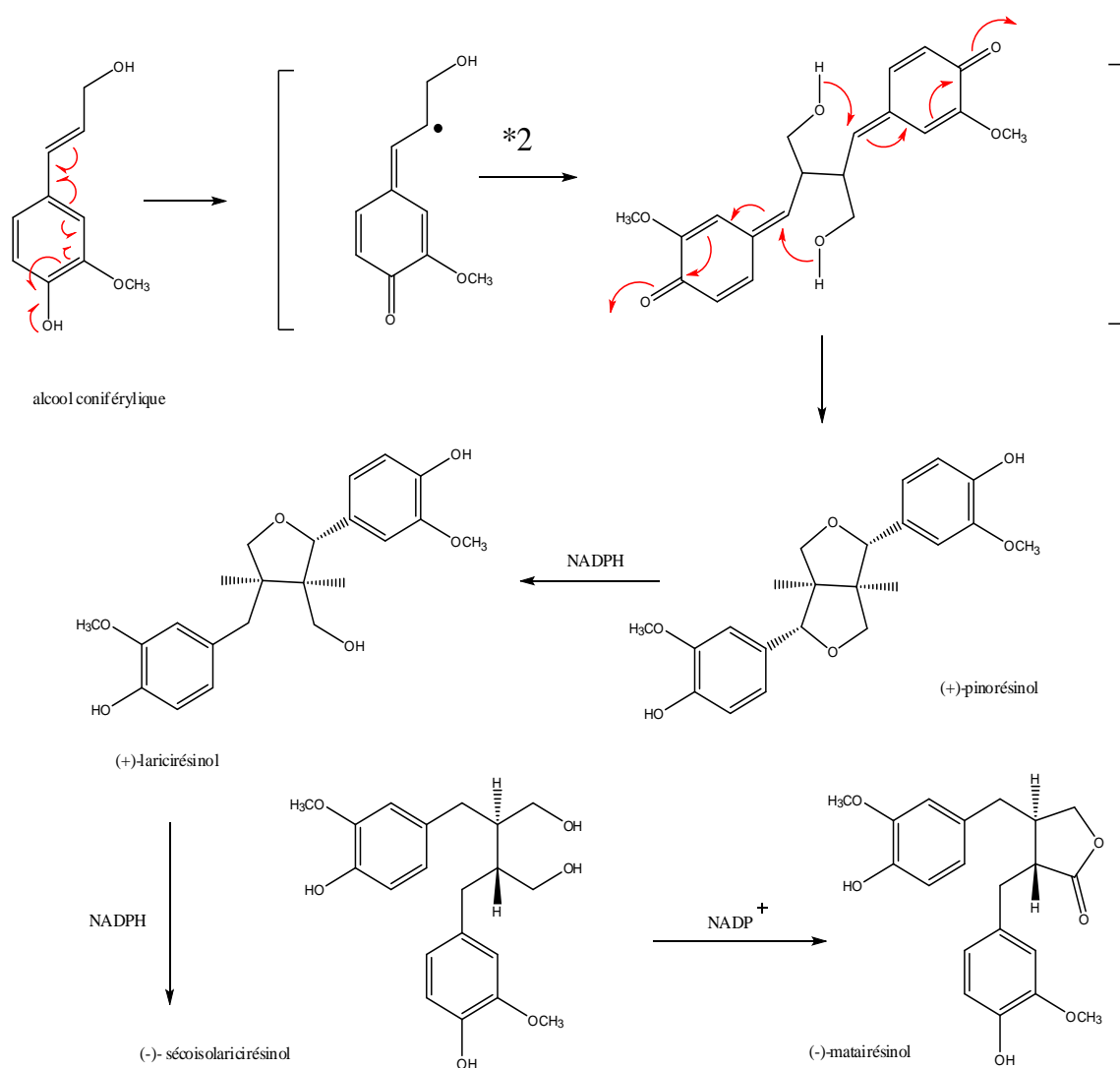


Figure II-10 : Schéma de la biogenèse du matairesinol [74].

II-1-4-2. Classe des lignanes

Chez les lignanes, il est habituel de distinguer six groupes structuraux fondamentaux. Les plus simples sont des dibenzylbutanes (liaison 8-8' : figure II-11,1) qui, par cyclisation, peuvent engendrer trois types de lignanes monofuraniques (cyclisation 9-O-9', 7-O-9', 7-O-7' : figure II-11,2a-c) et des butyrolactones (figure II-11-3). La cyclisation peut impliquer un carbone aromatique (arylnaphtalènes : figure II-11,4a-b) ou deux (dibenzocyclooctanes : figure II-11,5). La double cyclisation 7-O-7' et 9-O-9' conduit aux lignanes furanofuraniques (figure II-11,6). Pour chaque type de lignane, le degré d'oxydation varie, aussi bien sur les noyaux que sur les chaînes latérales [74].

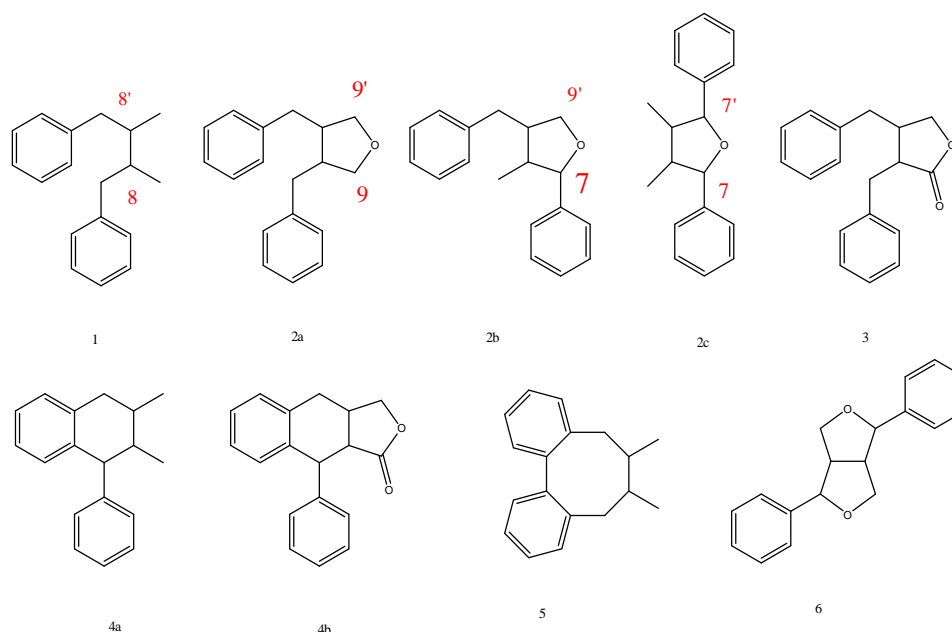


Figure II-11 : Quelques exemples de lignanes

II-1-4-3. Intérêt biologique

Les lignans naturels sont optiquement actifs, bien que quelques méso-composés existent dans la nature. Comme tous les autres composés optiquement actifs, les propriétés physiologiques ou pharmacologiques importantes des lignanes sont généralement associées à une configuration absolue particulière, par exemple : l'agent antitumoral podophyllotoxine [75]. Chez les plantes, les lignanes jouent un rôle important pour leur défense : des propriétés antibactériennes, antifongiques et antinutritives ont été décrites pour de nombreuses molécules de ce groupe. De nombreux lignanes comme aryltétrahydronaphtaléniques et dibenzocyclo-oaniques possèdent des propriétés cytostatiques ou antitumorales établies *in vitro* ou *in vivo*. À ce jour, seuls les dérivés hémisynthétiques de la podophyllotoxine font l'objet d'une exploitation dans un but thérapeutique [74]. Par exemple, l'étoposide et le teniposide (Figure II-12), deux lignanes, sont des médicaments anticancéreux [75].

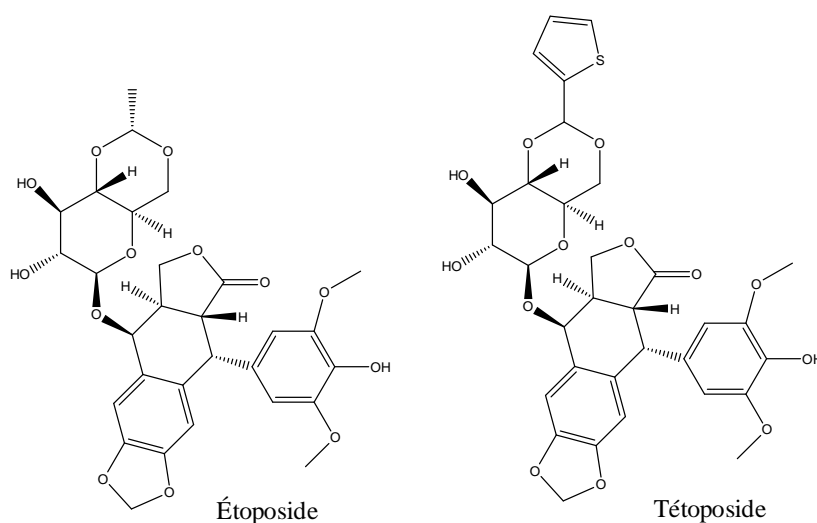


Figure II-12 : Structures chimiques de deux lignanes ; l'étoposide et le teniposide

II-2. Terpénoïdes

Les terpènes, ou isoprénoïdes sont l'une des classes les plus diverses de métabolites. Le Dictionnaire des produits naturels [80] ainsi que d'autre référence [81] en répertorie plus de 30 000, principalement d'origine végétale [77].

Les terpénoïdes se retrouvent dans toutes les parties des plantes supérieures [75], ils sont généralement liposolubles et sont situés dans le cytoplasme de la cellule végétale. Les huiles essentielles sont produites soit dans des cellules glandulaires spéciales en surface des feuilles, soit dans la feuille et le pétale pour le cas des caroténoïdes [82]. Un nombre considérable de fonctions assez différentes ont été attribuées aux terpénoïdes des végétaux englobant les arômes et les parfums, les antibiotiques, les hormones végétales et animales, les lipides membranaires, les attracteurs d'insectes et les médiateurs des processus essentiels de transport d'électrons qui sont les étapes génératrices d'énergie de la respiration et la photosynthèse [77].

II-2-1. Extraction

Les terpénoïdes sont normalement extraits de tissu végétal avec de la forme légère de pétrole, d'éther ou de chloroforme et peuvent être séparés par chromatographie sur gel de silice ou alumine en utilisant les mêmes solvants. Ensuite, il est souvent difficile de les détecter à microéchelle, car tous (à l'exception des caroténoïdes) sont incolores et il n'y a pas de réactif chromogène universel sensible pour eux. On doit souvent utiliser une détection relativement non spécifique sur des plaques de CCM avec du H₂SO₄ concentré et chauffage [82].

II-2-2. Classification :

Les terpénoïdes sont tous basés sur la molécule d'isoprène CH₂=C (CH₃)-CH=CH₂ et leurs squelettes de carbone sont construits à partir de l'union de deux ou plusieurs de ces unités C₅. Ils sont ensuite classés selon qu'ils contiennent deux (C₁₀), trois (C₁₅) quatre (C₂₀), six (C₃₀) ou huit (C₄₀) de telles unités. Ils varient de composants des huiles essentielles, le mono et les sesquiterpènes volatils (C₁₀ et C₁₅), à travers les diterpènes moins volatils (C₂₀) aux triterpénoïdes non-volatils et aux stérols (C₃₀) et aux pigments caroténoïdes (C₄₀) [82]. Le tableau II-2 comporte les différentes classes de terpènes.

Tableau II-2 : Classification des terpénoïdes

Nombre de carbone	Nom
10	Monoterpène
15	Sesquiterpène
20	Diterpène
30	Triterpène
40	Tetraterpène

II-2-3. Biosynthèse

L'étape initiale du processus implique la condensation des thioéthers de l'acide acétique : formation de l'acéto-acétate (Claisen) et condensation (aldolique) de celui-ci avec une molécule d'acétylcoenzyme A, formant l'acide 3R-mévalonique [74].

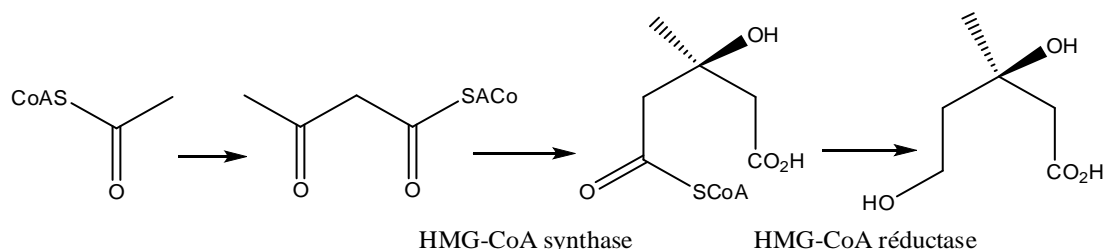


Figure II-13: Formation de l'acide 3R-mévalonique

Le précurseur de tous les terpénoïdes est le 3R-(+)-acide mévalonique. Ce dernier est catalysé enzymatiquement pour donner le 3R-(+)-acide métrononique 5-diphosphate, qui est finalement transformé en diphosphate d'isopentényle, également appelé isopentényle pyrophosphate (IPP), ce dernier est isomérisé par l'isopentényl isomérase au diméthylallylpyrophosphate (DMAPP).

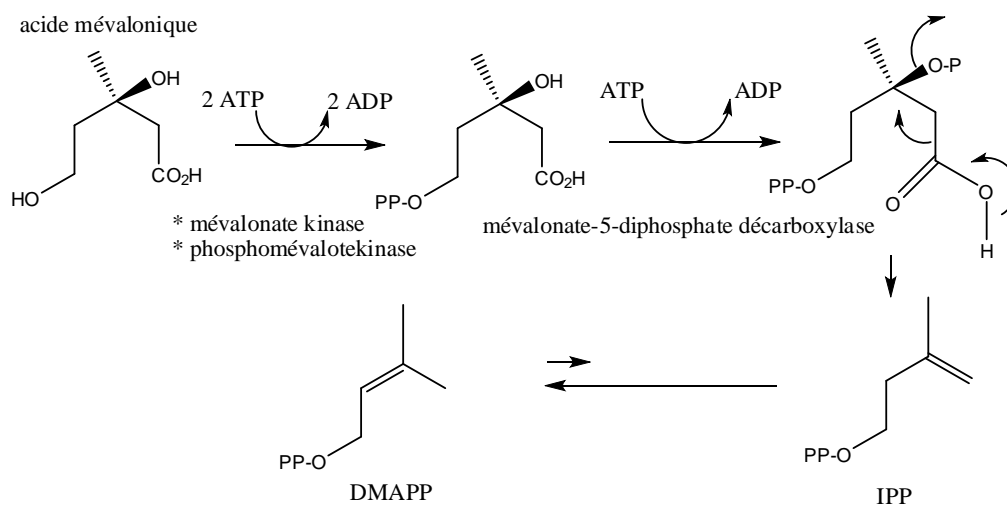


Figure II-14: Formation d'IPP et de DMAPP

Une unité d'IPP : qui est l'unité de base des terpènes et non pas l'isoprène, et une unité de DMAPP sont combinées ensemble par la diméthylallyle transférase pour former du géranyle pyrophosphate, qui est finalement hydrolysé au géraniol, un simple monoterpène. Le pyrophosphate de géranyle est le précurseur de tous les monoterpènes. Ainsi, les sesquiterpènes sont formés du précurseur 2E, 6E-farnesyl pyrophosphate (FPP) et les diterpènes du 2E, 6E, 10E-géranylgéranyl pyrophosphate (GGPP). Les parents de triterpènes et de tétartpènes sont formés par couplage réducteur de deux FPP ou GGPP, respectivement [75].

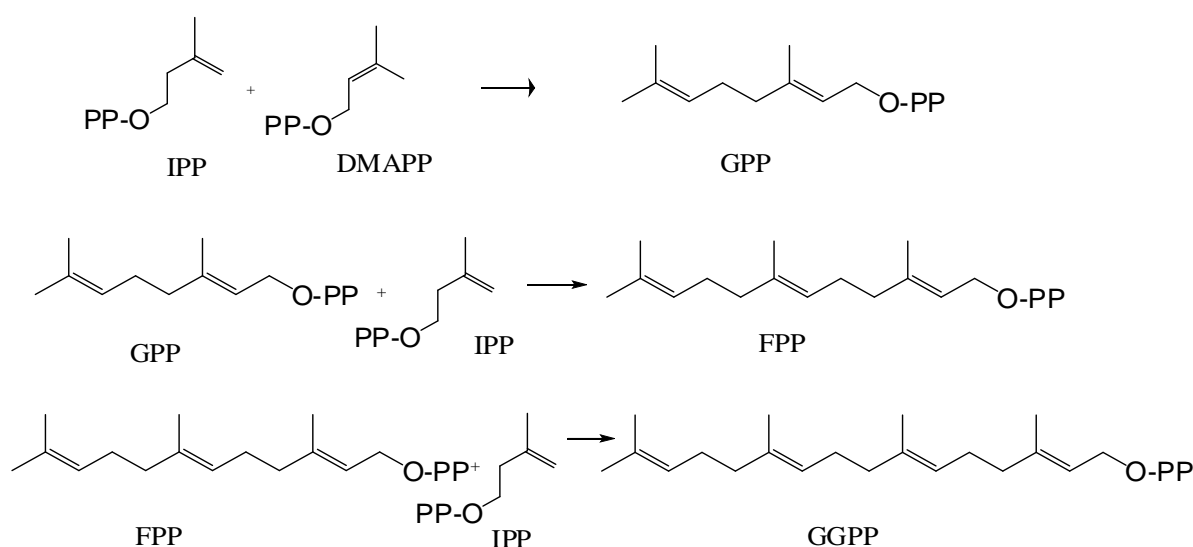


Figure II-15 : Formation de GPP, FPP et GGPP

La plupart des terpénoïdes naturels ont des structures cycliques avec un ou plusieurs groupes fonctionnels (hydroxyle, carbonyle, etc.) de sorte que les étapes finales en synthèse impliquent la cyclisation et l'oxydation ou d'autres modifications structurelles [82].

II-2-4. Triterpènes

Les triterpénoïdes englobent un groupe important et diversifié dont plus de 4 000 composés construits sur plus de 40 squelettes différents connus à la fin du XX siècle [74]. Ils sont des composés contenant 30 atomes de carbone dérivés du squalène [75].

Ils ont des structures cycliques relativement complexes. La plupart étant des alcools, des carbonyles ou des acides carboxyliques. Ils sont incolores, cristallins, souvent à haut point de fusion, substances optiquement actives, généralement difficiles à caractériser en raison de leur manque de réactivité chimique. Un test largement utilisé est la réaction de Liebermann - Burchard (anhydride acétique concentré H_2SO_4), qui produit une couleur bleu-vert avec la plupart des triterpènes et des stérols [82].

II-2-5. Biosynthèse

L'ouverture de l'époxyde initie la cyclisation. C'est de la conformation initiale de l'époxydsqualène sur la surface de l'enzyme que dépend l'orientation de la biosynthèse vers les stéroïdes et les cucurbitacines d'une part et les triterpènes stricto sensu d'autre part.

1. Si l'époxydsqualène est maintenu dans une conformation chaise-bateau-chaise-bateau la cyclisation conduit à un cation protostane précurseur immédiat, par une suite de migrations 1,2 de protons et de méthyles, des cycloartanes et des cucurbitanes.

2. Si l'époxydsqualène est maintenu dans une conformation chaise-chaise-chaise-bateau, la cyclisation conduit à un cation dammarane qui peut aussi se réarranger. Les différentes étapes de biogénèse des triterpènes sont illustrées dans la figure II-16.

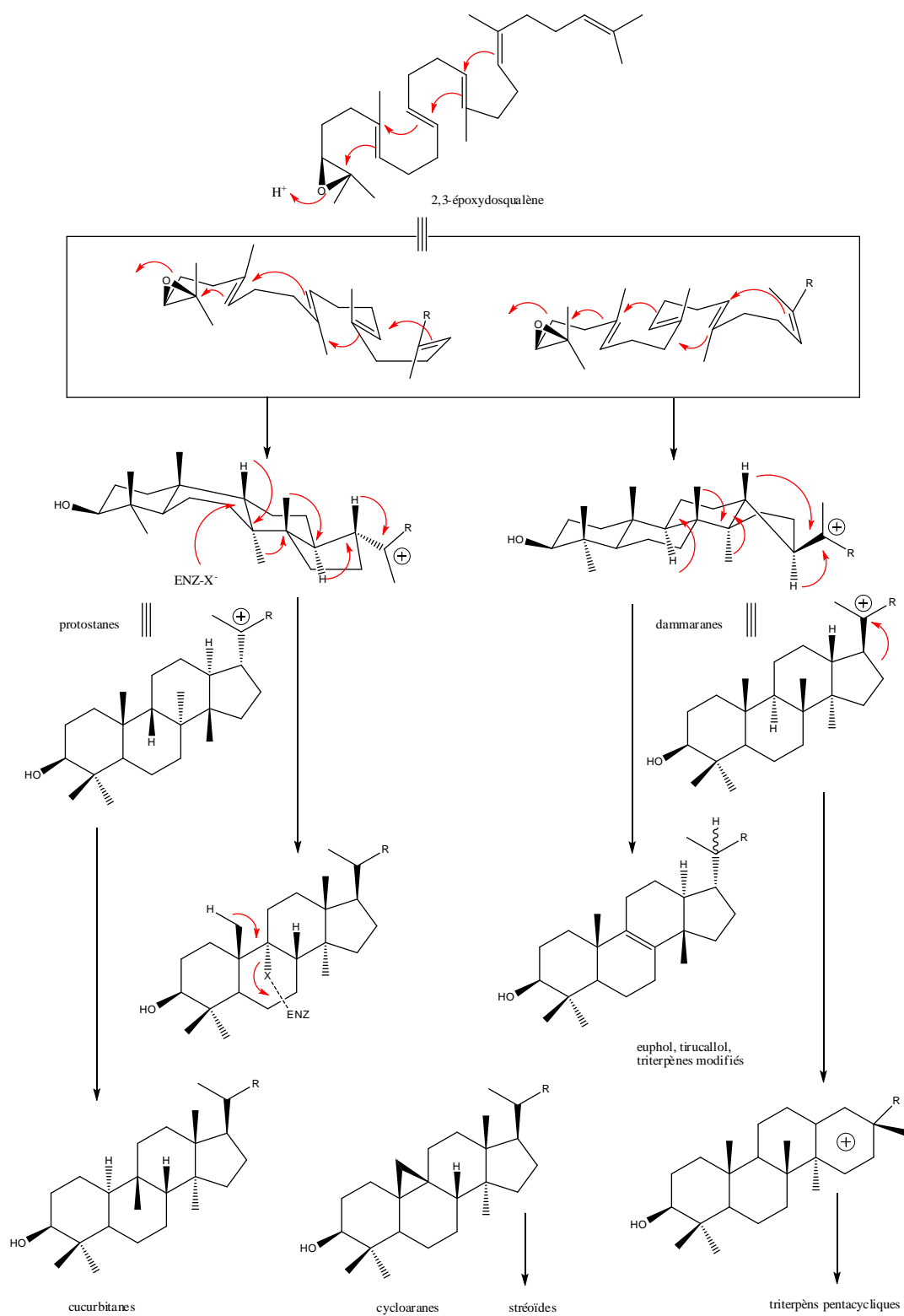


Figure II-16 : Biosynthèse des triterpènes [74].

Les principes directeurs qui conduisent à l'élaboration des principaux squelettes trierpéniques sont schématisés dans la figure II-17.

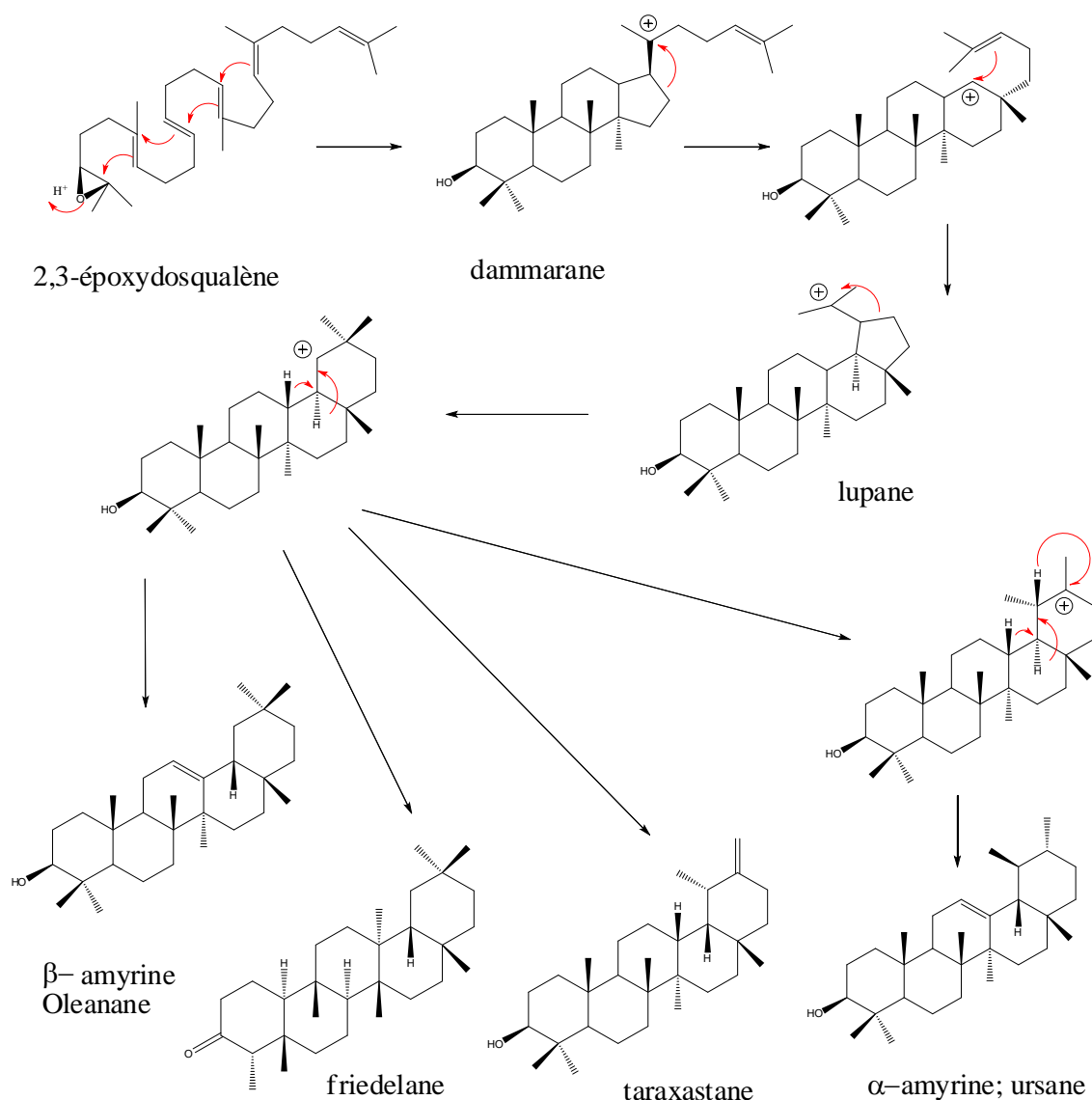


Figure II-17 : Formation des structures triterpènes pentacycliques [74].

II-2-6. Principaux types de structures

Alors que le squalène, le parent de tous les triterpénoïdes, est un composé acyclique linéaire, la majorité des triterpénoïdes existent sous des formes cycliques, les triterpènes penta et tétracycliques étant les principaux types. Au sein de ces triterpénoïdes cycliques, des variations structurelles distinctes conduisent à plusieurs classes structurelles de triterpénoïdes [75]. Les triterpénoïdes peuvent être divisés en au moins quatre groupes de composés : vrais triterpènes, les stéroïdes, les saponines et les glycosides cardiaques. Les deux derniers groupes sont essentiellement des triterpènes ou des stéroïdes qui sont produits principalement sous forme de glycosides.

De nombreux triterpènes sont connus dans les plantes et de nouveau sont régulièrement découverts et caractérisés. Jusque-là, seuls quelques-uns sont connus

pour être largement répartis. Ceci est vrai pour les triterpènes pentacycliques α - et β -amyryne et les acides dérivés, les acides ursoliques et oléanoliques [82].

Les **stérols** sont des triterpènes qui sont basés sur le cyclopentane perhydrophenanthrene. À la fois, les stérols étaient principalement considérés comme des substances animales (comme les hormones sexuelles, les acides biliaires, etc.), mais ces dernières années un nombre croissant de tels composés ont été détectés dans les tissus végétaux. En effet, trois phytostérols sont vraisemblablement omniprésents dans les plantes supérieures : sitostérol, stigmastérol et campestérol (figure II-18). Ces stérols communs sont libres ou sous forme de glucosides simples [82].

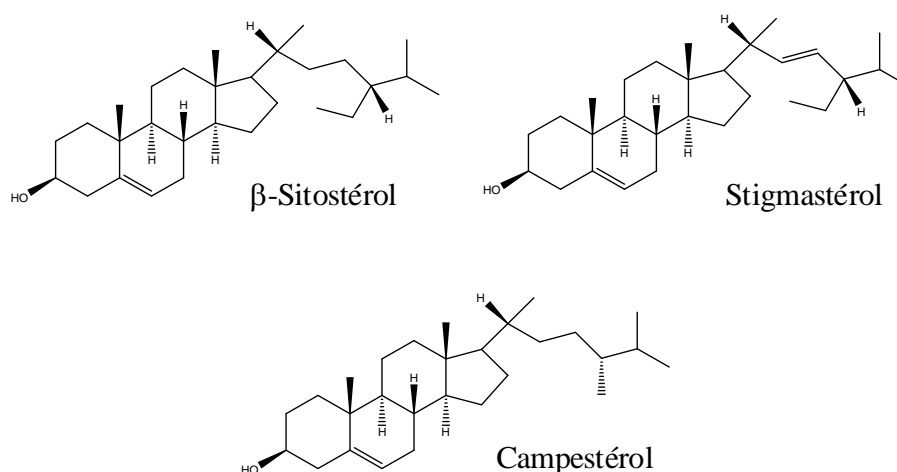


Figure II-18 : Structure des phytostérols les plus répandus

Les **saponines** sont des glycosides à la fois des triterpènes et des stérols, ils ont été détectés chez plus de soixante-dix familles de plantes. Ils sont des agents tensio-actifs avec des propriétés semblables à des savons et peuvent être détectés par leur capacité à provoquer des cellules sanguines moussantes et hémolyses. Les schémas glycosidiques des saponines sont souvent complexes; beaucoup ont jusqu'à cinq unités de sucre attachées et l'acide glucuronique est un composant commun [82].

Les **glycosides cardiaques** ou les cardénolides, il existe de nombreuses substances connues, avec des mélanges complexes étant produits ensemble dans la même plante. La plupart des glycosides cardiaques sont toxiques et beaucoup ont une activité pharmacologique, en particulier comme leur nom l'indique sur le cœur. Des sources riches sont des membres des Scrophulariaceae, *Digitalis*, Apocynaceae, *Nerium*, Moraceae et Asclepiadaceae, *Asclepias* [82].

II-2-7. Intérêt des triterpénoïdes

L'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel des triterpènes et des stéroïdes en font un groupe de métabolites secondaires de première importance :

Les hétérosides cardiotoniques tirent leurs intérêts par le fait qu'aucun produit synthétique n'a pu encore les substituer complètement.

Les sapogénines spirostaniques, du sitostérol ou du stigmastérol sont des matières premières aisément valorisables par des procédés biotechnologiques. Elles demeurent

indispensables pour couvrir les besoins de l'industrie pharmaceutique en médicaments stéroïdiques (contraceptifs, anabolisants, anti- inflammatoires)

Les phytostérols sont utilisés pour préparer des margarines et autres produits alimentaires pouvant participer à la baisse de la cholestérolémie. Ainsi que les industries agroalimentaires utilisent la réglisse, édulcorant peu calorigène.

Les potentialités thérapeutiques dans les domaines les plus divers : cytostatiques, antiviraux, insecticides, anti- inflammatoires, molluscicides, analgésiques [74].

CHAPITRE III

Dosages et activités antioxydantes

III-1. Matériel végétal :

Les espèces sélectionnées (*Z. album* L., *Z. cornutum* Coss. et *Z. gaetulum* Emb.) ont été collectées dans leurs habitats naturels. La récolte a été effectuée au Sahara algérien dans la région de Biskra pour l'espèce *Z. cornutum* au mois de mars 2013, dans la région d'Ouargla pour l'espèce *Z. album* au mois d'avril 2013 et dans la région de Tindouf pour l'espèce *Z. gaetulum* au mois d'avril 2015. Les lieux de récoltes sont présentés dans la figure III-1. Les trois plantes ont été identifiées par le Docteur Halis Youcef chercheur au Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides (CRSTRA) - Station *Touggourt*.



Figure III-1 : Carte représente les lieux de récoltes (googlemaps)

III-2. Méthode d'extraction :

Après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière du soleil, la plante est broyée entièrement, puis pesée ($M=100g$). La matière végétale obtenue est mise à macération dans un mélange hydroalcoolique (éthanol / eau ; 70 / 30 ; V / V). Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant chaque 48 heures.

Après filtration et concentration sous vide, l'extrait éthanolique est dilué avec de l'eau distillée à raison de 50 ml pour 100 g de matière sèche, on laisse la solution en repos une nuit puis on filtre.

Après filtration, la solution a subi des extractions successives de types liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme puis l'acétate d'éthyle et enfin avec le n-butanol. Chaque extraction est répétée trois fois sauf avec l'acétate d'éthyle. Le protocole d'extraction est résumé dans la Figure (III-2).

Ce protocole d'extraction est appliqué sur les trois plantes étudiées.

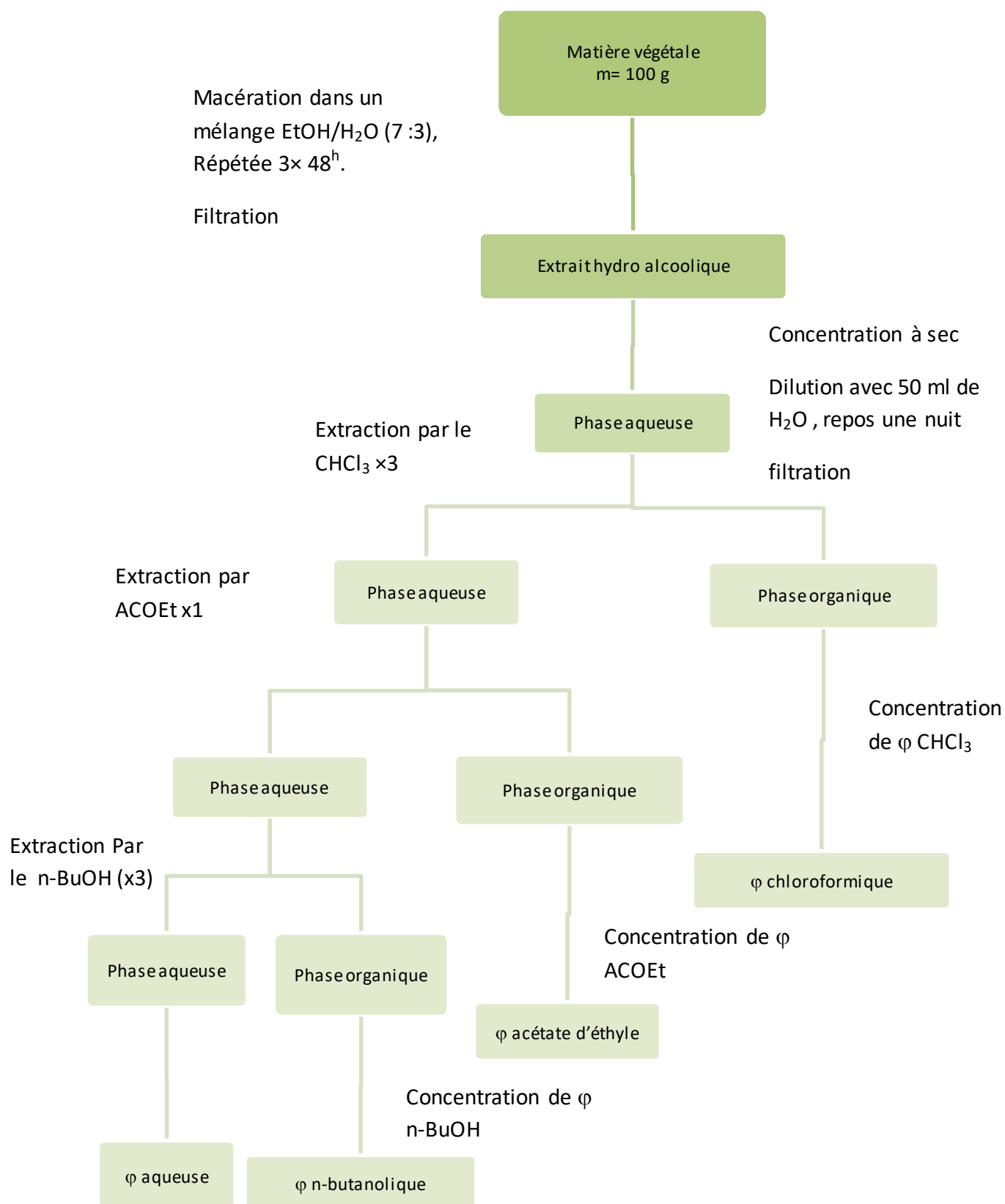


Figure III-2 : Le protocole d'extraction de différentes phases.

Les trois phases organiques obtenues (faiblement polaire : chloroforme, moyennement polaire : acétate d'éthyle, polaire : n-butanol) ainsi que la phase aqueuse résiduelle et l'extrait hydroéthanolique sont concentrés à sec sous pression réduite, pesées, puis elles sont reprises avec du méthanol ou de l'eau. Les rendements sont donnés dans le tableau (III-1).

Tableau III-1: Tableau récapitulatif regroupant les rendements des différents extraits.

Matériel végétal	Extrait	Rendement (%)
<i>Z. album</i>	extrait hydroéthanolique	36.086
	φ chloroformique	0.744
	φ acétate d'éthyle	0.153
	φ n-butanolique	5.445
	φ aqueuse	19.66
<i>Z. cornutum</i>	extrait hydroéthanolique	28.089
	φ chloroformique	0.229
	φ acétate d'éthyle	0.221
	φ n-butanolique	4.776
	φ aqueuse	18.242
<i>Z. gaetulum</i>	extrait hydroéthanolique	38.15
	φ Chloroformique	1,627
	φ acétate d'éthyle	0,286
	φ n-butanolique	11,597
	φ aqueuse	18,89

III-3. Dosages

III-3-1. Dosage des phénols totaux :

Le dosage est réalisé selon la méthode de Singleton et Rossi [83], en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$ et d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$, il est réduit par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_3 . Les phénols sont estimés par une spectroscopie UV où l'acide gallique (Figure III-3) est utilisé comme un standard à une longueur d'onde $\lambda = 760$ nm.

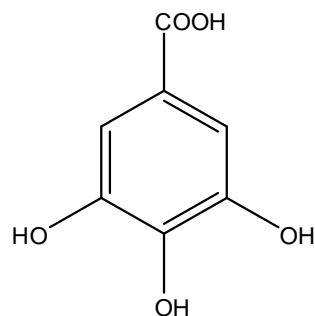


Figure III-3 : Structure de l'acide gallique

Mode opératoire :

On prend 0,1 ml de l'extrait, qui est ensuite mélangé avec le réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) laissé 5 minutes et puis neutralisé avec 2 ml de carbonate de sodium 20% puis les solutions ont été secouées immédiatement et sont maintenues dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été mesurée à 760 nm [84]. Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions d'acide gallique de différentes concentrations de 0.03 jusqu'à 0.3 g/l.

III-3-2. Dosage de flavonoïdes :

Le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe très stable avec l'hydroxy en α du carbonyle et forme un complexe instable avec les groupements hydroxydes OH adjacents des flavonoïdes. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 415 nm. Les flavonoïdes sont estimés par une spectroscopie UV, où la quercétine (Figure III-4) est utilisée comme un standard à une longueur d'onde $\lambda = 415$ nm.

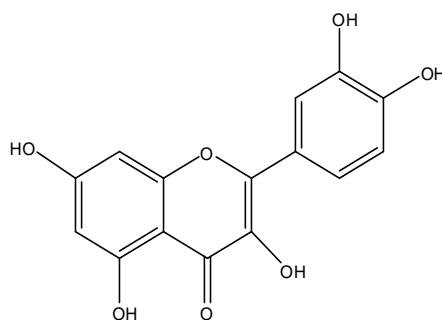


Figure III-4 : Structure du quercétine.

Mode opératoire :

0.5 ml de la solution diluée a été ajouté à 0.5 ml AlCl₃ 2% puis laissée 30 minutes dans l'obscurité. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 415 nm [85].

Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de quercétine de différentes concentrations de 0.03 jusqu'à 0.3 g/l.

III-3-3. Dosage de tanins :

Le dosage des tanins a été réalisé en adoptant la méthode à vanilline en milieu acide, cette méthode est basée sur la production d'un complexe coloré mesurable à 500 nm. En présence d'un acide, les unités de tannins condensés réagissent avec la vanilline où seulement la première unité du polymère est impliquée.

Les tanins sont estimés par une spectroscopie UV dont la catéchine (Figure III-5) est utilisée comme un standard à une longueur d'onde λ = 500 nm.

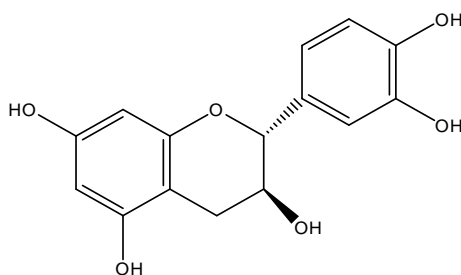


Figure III-5 : Structure de la catéchine

Mode opératoire :

3 ml de 4% d'une solution de vanilline dans l'éthanol et 1.5 ml de HCl sont ajoutés à 0.4 ml de l'extrait. Le mélange est laissé pendant 15 min, puis l'absorbance est mesurée à 500 nm. Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de catéchine de différentes concentrations de 0.01 jusqu'à 0.2 g/l [86].

III-4. Activités antioxydantes

III-4-1. Le pouvoir réducteur de fer :

Ce test est découvert par Oyaizu 1986 [87]. Il est utilisé pour déterminer l'activité antioxydante non enzymatique des extraits étudiés dans un milieu neutre. Ce test est basé sur la réduction des ions Fe⁺³ présents sous forme [Fe (CN)₆]³⁻ à des ions de Fe⁺² présents sous forme de [Fe (CN)₆]⁴⁻, donnant en présence des ions Fe³⁺ une coloration bleu clair, qui peut être mesurée par son absorbance à une longueur d'onde λ = 700 nm. Les réactions de ce test sont comme suit [88] :



L'activité antioxydante est mesurée avec la méthode appelée **AEAC** : qui représente l'activité antioxydante en équivalent de l'acide ascorbique (Figure III-6) des extraits étudiés. L'évolution de l'activité antioxydante de nos extraits est

comparée par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C) et cela en traçant une courbe d'étalonnage de ce dernier.

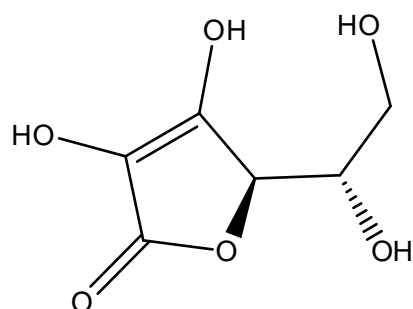


Figure III-6 : Structure de l'acide ascorbique (vitamine C)

Mode opératoire :

Une série de dilutions de l'acide ascorbique est préparée de concentration de 0,01 jusqu'à 0,1 g/L. 1 ml de chaque solution a été mélangé avec 2,5 ml d'une solution $K_3Fe(CN)_6$ (1%) suivi par l'addition de 2,5 ml de solution tampon phosphaté (PH= 6,6). Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis elles sont maintenues dans un bain-marie pendant 30 minutes à une température de 50 °C. Ensuite, on ajoute 2,5 ml d'acide trichloracétique (TCA 10%). On prend de chaque tube 2,5 ml et l'on ajoute 2,5 ml de l'eau distillée et 0,5 ml de solution de $FeCl_3$ (0.1 %) [89]. Les lectures de la densité optique des solutions ainsi préparées se fait à 700 nm

III-4-2. Le pouvoir anti radicalaire (DPPH) :

L'activité antiradicalaire est mesurée par le test de DPPH. Cette méthode est basée sur la réduction du radical stable DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil), qui a une coloration violette, à la forme non radicalaire DPPH-H de couleur jaune, cette réaction est illustrée dans la Figure III-7. La disparition de la couleur violette peut être mesurée spectrophotométriquement à 517 nm.

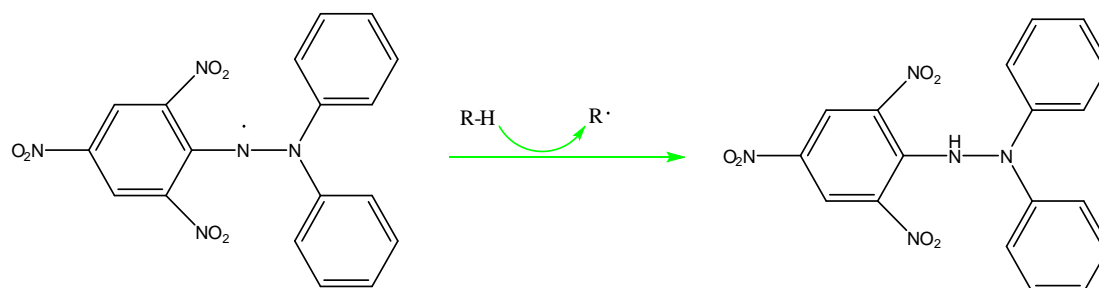


Figure III-7 : La réduction du radical stable DPPH[•] [88]

Mode opératoire :

Une série de dilution de chaque extrait et des standards sont préparés. On prend 1 ml de chaque dilution et on l'ajoute à 1 ml d'une solution de DPPH[•] dans l'éthanol 0.250 mmol/l. Les solutions sont placées à l'ombre et à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm, l'acide ascorbique est

utilisé comme contrôle positif [90]. L'inhibition du radical DPPH est calculée comme suit:

$$\text{Inhibition (\%)} = [A_0 - A_1 / A_0] \times 100$$

Où A_0 et A_1 sont les absorbances aux 30 min pour le contrôle et l'échantillon, respectivement.

IC_{50} est la concentration de l'extrait qui inhibe 50% des radicaux libres, cette valeur est calculée d'après la régression linéaire en remplaçant la valeur d'inhibition par 50.

III-4-3. L'activité antioxydante totale :

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ion molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) sous forme de MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à un pH acide.

Mode opératoire :

Une série de dilutions de chaque extrait est préparée .0,1 ml de chaque dilution est mélangé avec une solution réactive composée de : 0,6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium. Puis on met les solutions obtenues dans un bain à 95°C pendant 90 minutes. Le mélange est laissé à refroidir. L'absorbance est mesurée à 695 nm, l'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en mM équivalent d'acide ascorbique [91].

Analyse statistique :

Toutes les expériences sont répétées trois fois. Les résultats sont calculés par moyenne de trois répétitions \pm déviation standard. Les courbes sont tracées par Microsoft Excel 2010.

III-5. Résultats

III-5-1. Dosage des phénols totaux

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la Figure (III-8).

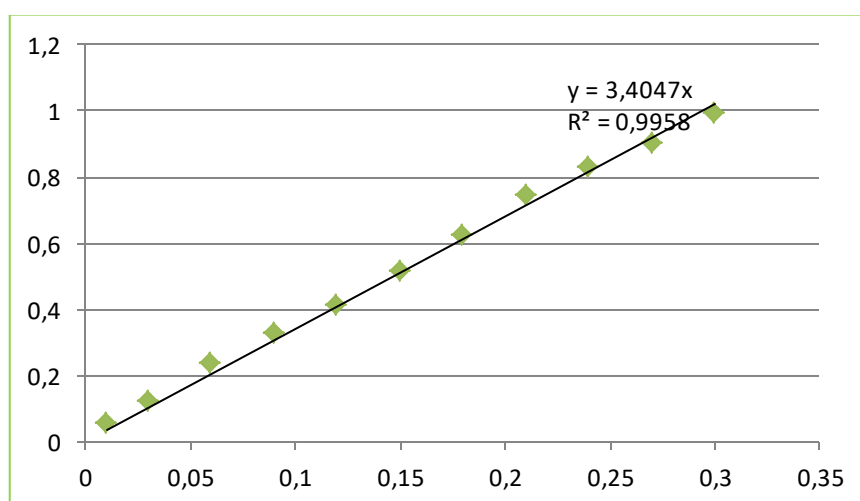


Figure III-8 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Le contenu en phénols totaux des différents extraits a été réalisé en adaptant la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, en remplaçant l'acide gallique par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée. La quantité des phénols totaux dans les extraits est exprimée en équivalent d'acide gallique en milligramme par 1g de matière végétale sèche (mg/g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (III-2).

Tableau III-2 : Quantité des phénols totaux dans les extraits en mg EAG/ g MS.

Extrait	<i>Z. album</i>	<i>Z. cornutum</i>	<i>Z. gaetulum</i>
Extrait hydroéthanolique	5,118 ± 0,105	3,755 ± 0,050	4,514 ± 0,235
Fraction chloroformique	0,116 ± 0,002	0,133 ± 0,003	0,102 ± 0,025
Fraction acétate d'éthyle	0,122 ± 0,004	0,166 ± 0,011	0,265 ± 0,018
Fraction butanolique	0,919 ± 0,021	0,820 ± 0,005	1,590 ± 0,087
Fraction aqueuse	2,088 ± 0,012	2,184 ± 0,067	0,839 ± 0,013

La figure (III-9) présente une comparaison de la teneur en phénols totaux entre les trois espèces dans les différents extraits étudiés.

Le contenu en phénols totaux dans les différents extraits de *Z. album* varie entre 5,118 ± 0,105 et 0,116 ± 0,002 mg EAG/g MS (Tableau III-2). Le plus haut contenu en phénols totaux est trouvé dans l'extrait brut et la fraction aqueuse, par contre le plus bas contenu a été observé dans la fraction chloroformique.

La quantité des phénols totaux dans les différents extraits de *Z. cornutum* varie de 3,755 ± 0,050 jusqu'à 0,133 ± 0,003 mg EAG/g MS (Tableau III-2). Le plus haut contenu en phénols totaux est enregistré chez l'extrait brut et la fraction aqueuse, par contre le plus bas contenu a été enregistré dans la fraction chloroformique.

L'extrait brut de *Z. gaetulum* et ses fractions ont un taux de phénols totaux allant de 4,514 ± 0,235 jusqu'à 0,102 ± 0,025 mg EAG/g MS (Tableau III-2). L'extrait le plus riche était l'extrait brut et la fraction butanolique et le plus pauvre était la fraction chloroformique.

En comparant les extraits bruts des trois plantes étudiées on s'aperçoit que *Z. album* est la plus riche en phénols totaux suivi par *Z. gaetulum* et en dernière position *Z. cornutum*. Le contenu en phénols totaux pour les différents extraits de *Z. album* et *Z. cornutum* est classé selon l'ordre décroissant suivant : fraction aqueuse > fraction butanolique > fraction acétate d'éthyle > fraction chloroformique. Mais pour les fractions de *Z. gaetulum* est comme suit : fraction butanolique > fraction aqueuse > fraction acétate d'éthyle > fraction chloroformique. On observe que ce sont les fractions les plus polaires (butanol et eau) qui contiennent le plus de phénols totaux par contre les fractions faiblement polaires sont plus pauvres.

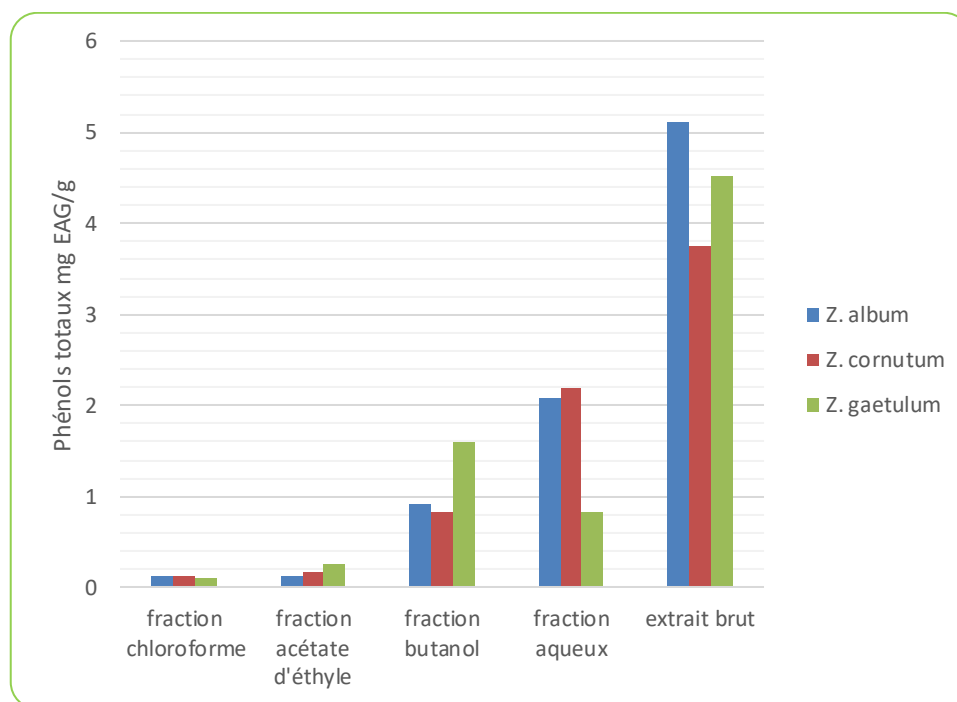


Figure III-9 : Comparaison de la teneur en phénols totaux entre les trois espèces.

III-5-2. Dosage des flavonoïdes

En utilisant les valeurs des absorbances obtenues pour les différentes solutions de quercétine ainsi préparées, nous avons tracé la courbe d'étalonnage (Figure III-10).

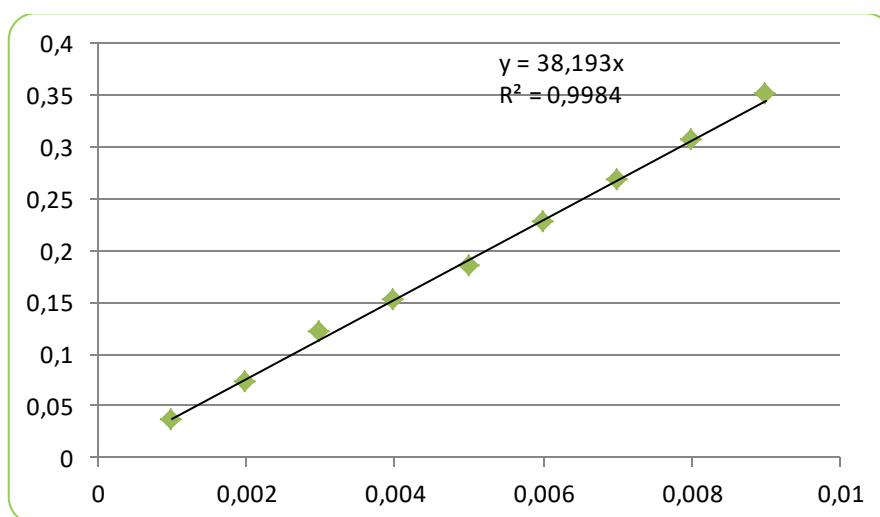


Figure III-10: Courbes d'étalonnage du quercétine.

Le dosage des flavonoïdes totaux des extraits a été réalisé en adaptant la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, en remplaçant la Quercétine par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée.

La teneur en flavonoïdes totaux de chaque extrait a été calculée et exprimée en équivalent quercétine en milligramme par 1g de la matière végétale sèche (mg/g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (III-3).

Tableau III-3 : Quantité des flavonoïdes totaux dans les extraits en mg EQ/ g MS.

Extrait	<i>Z. album</i>	<i>Z. cornutum</i>	<i>Z. gaetulum</i>
Extrait hydroéthanolique	2,3932 ± 0,0619	1,3205 ± 0,0548	2,109 ± 0,036
Fraction chloroformique	0,0121 ± 0,0005	0,0184 ± 0,0006	0,091 ± 0,0009
Fraction acétate d'éthyle	0,0327 ± 0,0007	0,0506 ± 0,0002	0,070 ± 0,001
Fraction butanolique	0,5063 ± 0,0133	0,3068 ± 0,0004	0,945 ± 0,010
Fraction aqueuse	0,3409 ± 0,0042	0,5438 ± 0,0085	0,166 ± 0,006

La figure (III-11) présente une comparaison de la teneur en flavonoïdes totaux entre les trois espèces dans les différents extraits étudiés.

Le contenu en flavonoïdes totaux dans les différents extraits de *Z. album* varie entre 2,3932 ± 0,0619 et 0,0121 ± 0,0005 mg EQ/g MS (Tableau III-3). Le plus haut contenu en flavonoïdes totaux est trouvé dans l'extrait brut et la fraction butanolique par contre le plus bas contenu a été détecté dans la fraction chloroformique. La quantité de flavonoïdes dans les différents extraits de *Z. album* est classée selon l'ordre décroissant : Extrait brut > fraction Butanolique > fraction aqueuse > fraction acétate d'éthyle > fraction chloroformique.

La quantité des flavonoïdes totaux dans les différents extraits de *Z. cornutum* varie de 1,3205 ± 0,0548 jusqu'à 0,0184 ± 0,0006 mg EQ/g MS (Tableau III-3). Le plus haut contenu en flavonoïdes totaux est enregistré chez l'extrait brut et la fraction aqueuse par contre le plus bas contenu a été dans la fraction chloroformique. Le taux de flavonoïdes dans les différents extraits de *Z. cornutum* est classé selon l'ordre décroissant : Extrait brut > fraction aqueuse > fraction Butanolique > fraction acétate d'éthyle > fraction chloroformique.

L'extrait brut de *Z. gaetulum* et ses fractions ont un taux de flavonoïdes totaux allant de 2,109 ± 0,036 jusqu'à 0,070 ± 0,001 mg EQ/g MS (Tableau III-3). L'extrait le plus riche en flavonoïdes était l'extrait brut et la fraction butanolique et le plus pauvre était la fraction d'acétate d'éthyle. L'estimation des flavonoïdes dans les différents extraits de *Z. gaetulum* est classée selon l'ordre suivant :

Extrait brut > fraction Butanolique > fraction aqueuse > fraction chloroformique > fraction acétate d'éthyle.

En comparant les trois espèces, on observe que *Z. album* est le plus riche en flavonoïdes suivi de *Z. gaetulum* et en dernière place *Z. cornutum*. On aperçoit encore que les fractions butanoliques et aqueuses contiennent la plupart du contenu des flavonoïdes.

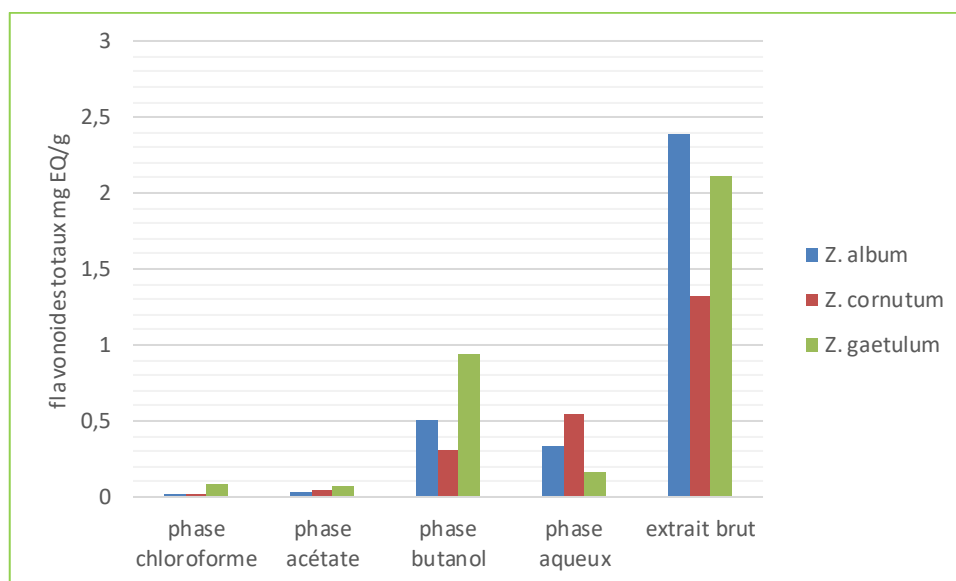


Figure III-11 : Comparaison de la teneur en flavonoïdes totaux entre les trois espèces.

III-5-3. Dosage des tanins

L'estimation du contenu en tanins dans les extraits a été réalisée en adaptant la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage (Figure III-12), en remplaçant la catéchine par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée.

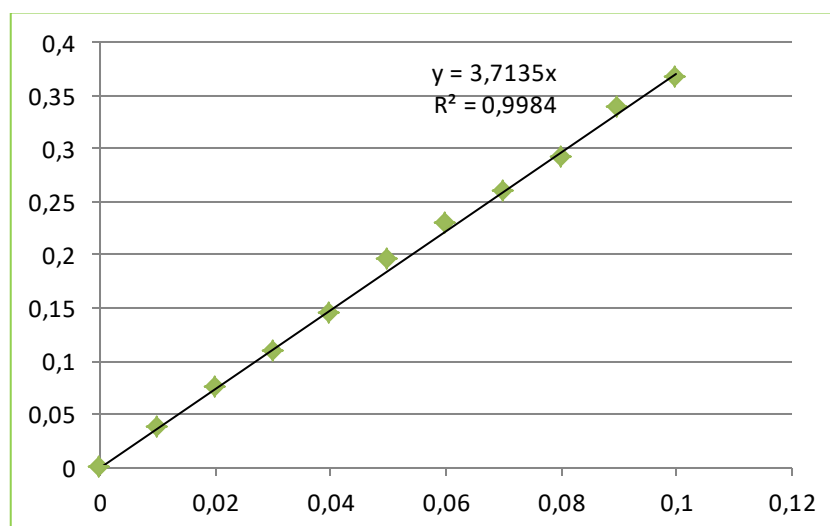


Figure III-12 : Courbes d'étalonnage du Catéchine

La teneur en tanin de chaque extrait a été calculée et exprimée en équivalent catéchine en microgramme pour 1g de matière végétale sèche ($\mu\text{g/g}$). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (III-4).

Tableau III-4 : Quantité des tanins totaux dans les extraits en µg EC/g

Extrait	<i>Z. album</i>	<i>Z. cornutum</i>	<i>Z. gaetulum</i>
Extrait hydroéthanolique	197,875 ± 25,460	143,350 ± 22,962	172,169 ± 22,382
Fraction chloroformique	8,194 ± 1,554	10,925 ± 1,085	42,792 ± 2,037
Fraction acétate d'éthyle	3,162 ± 0,248	3,737 ± 0,248	6,769 ± 0,583
Fraction butanolique	13,746	20,161 ± 25,397	33,660 ± 2,524
Fraction aqueuse	103,611 ± 49,235	142,605 ± 45,501	47,439 ± 18,719

La figure (III-13) présente une comparaison de la teneur en tanins entre les trois espèces dans les différents extraits étudiés.

Le contenu en tanins dans les différents extraits de *Z. album* varie entre 197,875 ± 25,46 et 3,162 ± 0,248 µg EC/g MS (Tableau III-4). Le plus haut contenu en tannins est trouvé dans l'extrait brut et la fraction aqueuse par contre le plus bas contenu est trouvé dans la fraction acétate d'éthyle.

La quantité des tanins dans les différents extraits de *Z. cornutum* varie de 143,350 ± 22,962 jusqu'à 3,737 ± 0,248 µg EC/g MS (Tableau III-4). Le plus haut contenu en tannins est enregistré chez l'extrait brut et la fraction aqueuse par contre le plus bas contenu est enregistré dans la fraction acétate d'éthyle.

L'extrait brut de *Z. gaetulum* et ses fractions ont un taux de tannins allant de 172,169 ± 22,382 jusqu'à 6,769 ± 0,583 µg EC/g MS (Tableau III-4). L'extrait le plus riche est celui de l'extrait brut et de la fraction aqueuse et le plus pauvre est celui de la fraction acétate d'éthyle.

La comparaison des extraits bruts des trois plantes étudiées nous montre que *Z. album* est la plus riche en tanins suivi par *Z. gaetulum* et en dernière position *Z. cornutum*. Le contenu en tanins pour les différents extraits de *Z. album* et *Z. cornutum* est classé selon l'ordre décroissant suivant : fraction aqueuse > fraction butanolique > fraction chloroformique > fraction acétate d'éthyle. Mais pour les fractions de *Z. gaetulum* l'ordre est comme suit : fraction aqueuse > fraction chloroformique > fraction butanolique > fraction acétate d'éthyle

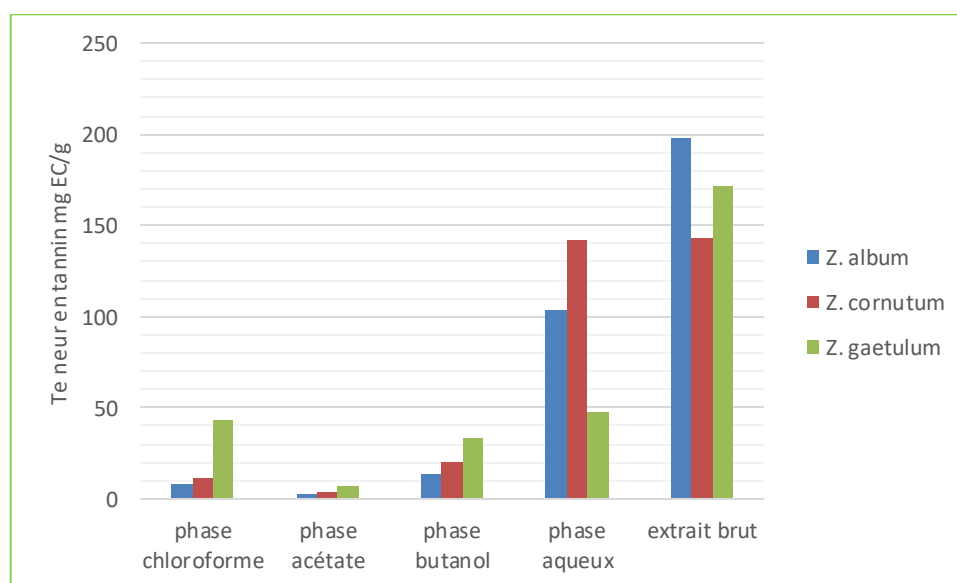


Figure III-13 : Comparaison de la teneur en tannin entre les trois espèces

III-5-4. Activité de réduction de fer

Les différents extraits sont traités de la même façon que ceux des solutions standards de l'acide ascorbique (Figure III-14). Nous avons tracé les courbes représentant la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilutions (Figure III-16). On résume les résultats des tests du pouvoir réducteur dans le tableau (III-5).

La capacité des différents extraits des trois espèces à réduire le complexe du cyanide ferreux (Fe^{+3}) à la forme (Fe^{+2}) est enregistrée par la mesure de la couleur bleue formée.

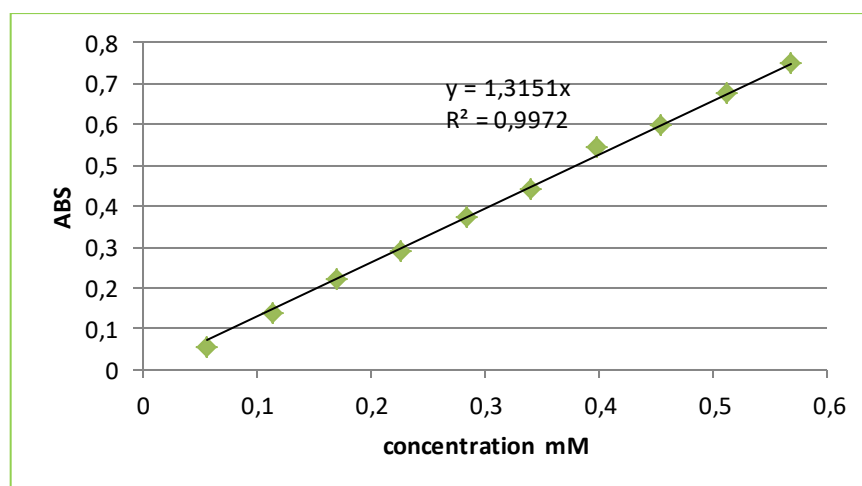


Figure III-14 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

Les valeurs d'AEAC des différents extraits de *Z. album* varient entre $30,177 \pm 2,397$ et $7,689 \pm 0,562$ mM EAA (Tableau III-4). La plus grande valeur d'AEAC ; correspondant à la meilleure activité réductrice, appartient à la fraction butanolique par contre la plus basse valeur a été détectée dans la fraction acétate d'éthyle. Le pouvoir réducteur dans les différents extraits de *Z. album* est classé selon l'ordre décroissant :

fraction butanolique > fraction aqueuse > extrait brut > fraction chloroformique > fraction acétate d'éthyle.

La capacité de réduire le fer dans les différents extraits de *Z. cornutum* varie de $15,461 \pm 0,282$ jusqu'à $3,827 \pm 0,131$ mM EAA (Tableau III-5). Le plus haut pouvoir réducteur est enregistré chez la fraction aqueuse par contre le plus bas pouvoir est enregistré dans la fraction acétate d'éthyle. Les valeurs d'AEAC des différents extraits de *Z. cornutum* sont classées selon l'ordre décroissant : fraction aqueuse > fraction butanolique > extrait brut > fraction chloroformique > fraction acétate d'éthyle.

Le pouvoir réducteur de différents extraits de *Z. gaetulum* a enregistré des valeurs allant de $6,184 \pm 0,468$ jusqu'aux $15,561 \pm 0,564$ mM EAA (Tableau III-5). L'extrait aqueux possède le meilleur pouvoir réducteur en revanche la fraction chloroformique compte la plus basse valeur d'AEAC. Les valeurs d'AEAC des différents extraits de *Z. gaetulum* sont classées selon l'ordre décroissant suivant : fraction aqueuse > fraction butanolique > extrait brut > fraction acétate d'éthyle > fraction chloroformique.

L'extrait brut de *Z. album* a exprimé la meilleure activité réductrice suivi par l'extrait brut de *Z. gaetulum* et en dernière place l'extrait brut de *Z. album*.

Tableau III-5: Les valeurs d'AEAC des différents extraits étudiés en mM EAc ascorbique

Extrait	<i>Z. album</i>	<i>Z. cornutum</i>	<i>Z. gaetulum</i>
Extrait hydroéthanolique	11,262 ± 0,38	6,487 ± 0,454	10,935 ± 0,502
Fraction chloroformique	8,723 ± 0,732	3,964 ± 0,071	6,184 ± 0,468
Fraction acétate d'éthyle	7,689 ± 0,562	3,827 ± 0,131	8,185 ± 0,128
Fraction butanolique	30,177 ± 2,397	8,440 ± 0,578	11,876 ± 0,522
Fraction aqueuse	26,637 ± 2,928	15,461 ± 0,282	15,561 ± 0,564
BHA		0,556 ± 0,012	
BHT		0,751 ± 0,005	
Acide Gallique		1,122 ± 0,049	

On a utilisé l'acide gallique qui est un antioxydant naturel ainsi que deux antioxydants synthétiques BHA (3-tertbutyl-4hydroxyanisole) et BHT (3,5-di-tert-butyl-4hydroxytoluène) très utilisés dans l'industrie, dont leurs structures sont démontrées dans la Figure III-15. Ces standards sont utilisés comme control positif afin de comparer les activités de nos extraits avec ceux des antioxydants de références.

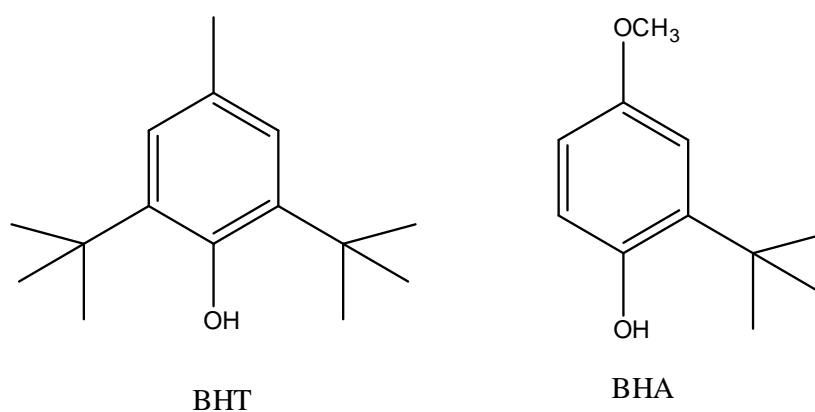


Figure III-15 : Structure de BHT et BHA

Tous les extraits ont démontré une très bonne activité réductrice, et supérieure aux standards utilisés. La fraction butanolique de *Z. album* qui a exprimé la plus grande valeur d'AEAC est 54 fois plus forte que BHA, 40 fois plus forte que BHT et 26 fois plus efficace que l'acide gallique. La fraction acétate d'éthyle de *Z. cornutum*, qui a exprimé la plus faible valeur d'AEAC, est presque sept fois plus forte que BHA, cinq fois plus forte que BHT et presque trois fois et demi plus forte que l'acide gallique.

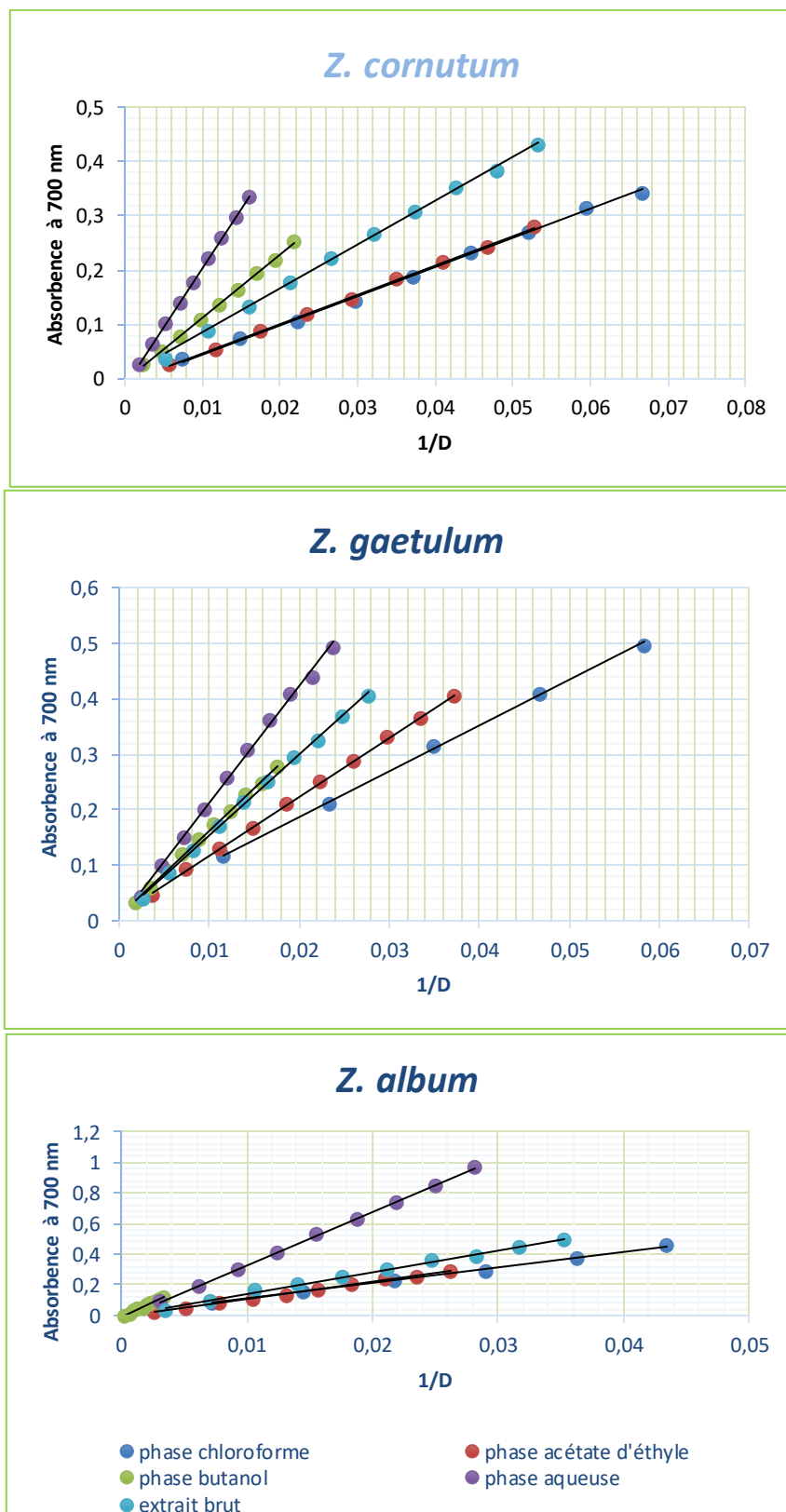


Figure III-16: Courbes représentant le pouvoir réducteur des différents extraits

III-5- 5. Activité anti-radicalaire

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été estimée par le test DPPH. Des courbes, de concentration en fonction du pourcentage d'inhibition de différents extraits, ont été tracées (figure III-17). Les résultats sont exprimés par la valeur IC₅₀, cette valeur est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante c'est-à-dire que plus la valeur IC₅₀ est petite plus que l'activité antioxydante est élevée. Les valeurs d'IC₅₀ des extraits bruts et les fractions des trois espèces étudiées ainsi que les standards sont résumées dans le tableau III-6.

Tableau III-6 : Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits étudiés en µg/ml.

Extrait	<i>Z. album</i>	<i>Z. cornutum</i>	<i>Z. gaetulum</i>
Extrait hydroéthanolique	84,104 ± 3,989	67,059 ± 4,727	42,526 ± 2,454
Fraction chloroformique	22,127 ± 0,837	38,478 ± 2,085	31,736 ± 4,565
Fraction acétate d'éthyle	26,138 ± 01,542	47,767 ± 1,571	74,126 ± 6,797
Fraction butanolique	62,15 ± 10,213	42,159 ± 3,029	75,598 ± 4,380
Fraction aqueuse	33,254 ± 0,162	24,935 ± 1,983	23,717 ± 1,618
Acide ascorbique		14,657 ± 0,698	
BHA		13,145 ± 0,304	
BHT		62,652 ± 3,016	

Tous les extraits ont démontré une bonne activité antiradicalaire envers le radical stable DPPH. En comparant les extraits bruts, on notifie que l'extrait brut de *Z. gaetulum* présente la meilleure activité antiradicalaire suivi de *Z. cornutum* puis de *Z. album*.

Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits de *Z. album* varient entre 84,104 ± 3,989 et 22,127 ± 0,837 µg/ml (Tableau III-6). La plus basse valeur IC₅₀; correspondant à la meilleure activité antiradicalaire, est celle de la fraction chloroformique par contre l'activité minimale est celle de l'extrait brut. Les valeurs d'IC₅₀ sont classées selon l'ordre croissant : fraction chloroformique < fraction acétate d'éthyle < fraction aqueuse < fraction butanolique < extrait brut.

Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits de *Z. cornutum* varie de 67,059 ± 4,727 jusqu'à 24,935 ± 1,983 µg/ml (Tableau III-6). La meilleure activité antiradicalaire est enregistrée chez la fraction aqueuse par contre la plus basse activité est celle de l'extrait brut. Les valeurs d'IC₅₀ sont classées selon l'ordre croissant : fraction aqueuse < fraction chloroformique < fraction Butanolique < fraction acétate d'éthyle < extrait brut.

L'extrait brut de *Z. gaetulum* et ses fractions ont des valeurs d'IC₅₀ allant de 75,598 ± 4,380 jusqu'à 23,717 ± 1,618 µg/ml (Tableau III-6). La fraction aqueuse possède la meilleure activité et la fraction butanolique possède l'activité minimale. L'activité antioxydante des différents extraits de *Z. gaetulum* est comme suit : fraction aqueuse > fraction chloroformique > extrait brut > fraction acétate d'éthyle > fraction butanolique.

Tous les extraits ont montré une activité inférieure à l'acide ascorbique et BHA, par contre la majorité des extraits étaient meilleur que BHT.

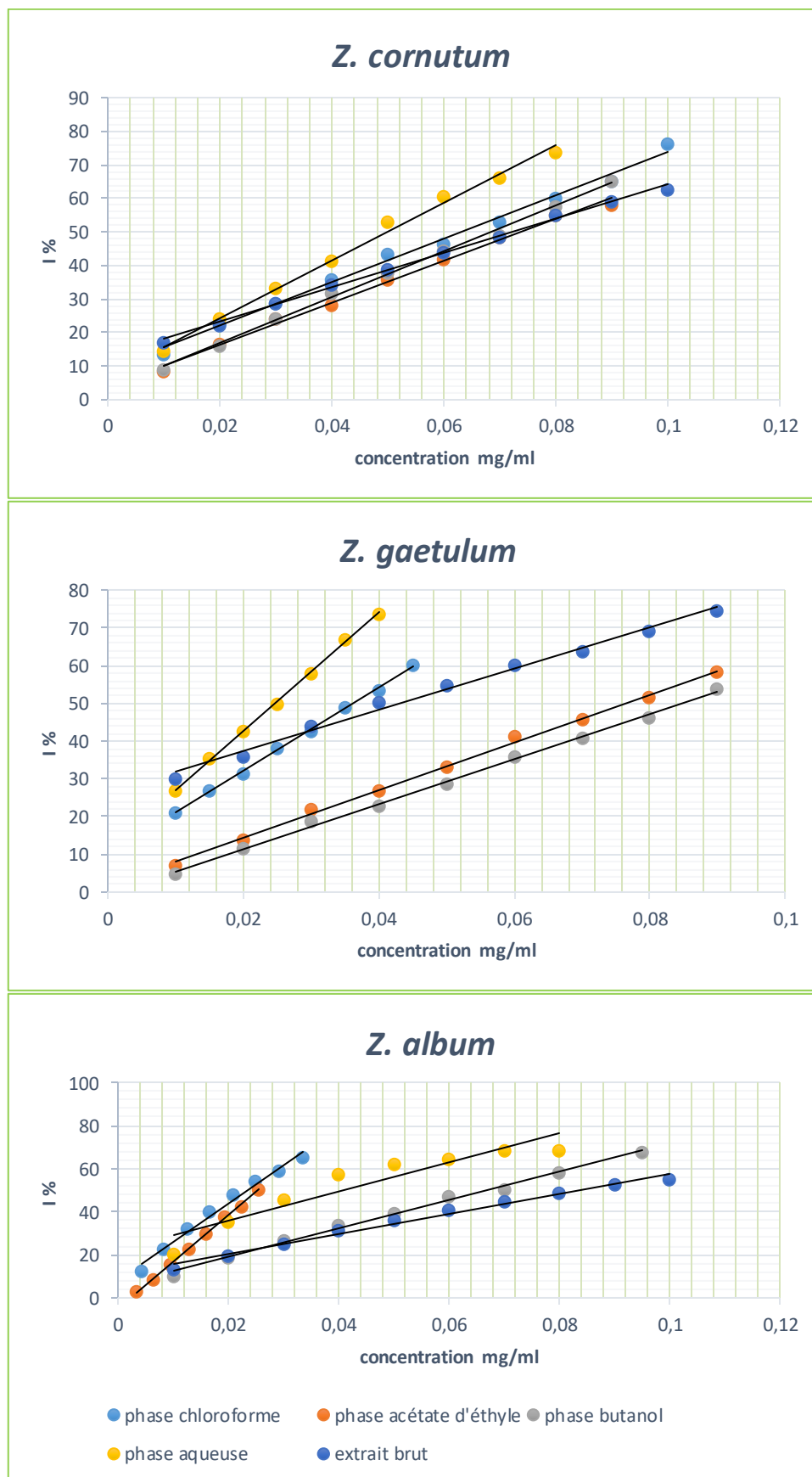


Figure III-17: Courbes représentant le pouvoir inhibiteur du radical DPPH des différents extraits

III-5- 6. Activité antioxydante totale

Les différents extraits sont traités de la même façon que ceux des solutions standards de l'acide ascorbique (Figure III-18). Nous avons tracé les courbes représentant la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilutions (Figure III-19). On récapitule les résultats des tests du pouvoir réducteur dans le tableau (III-7).

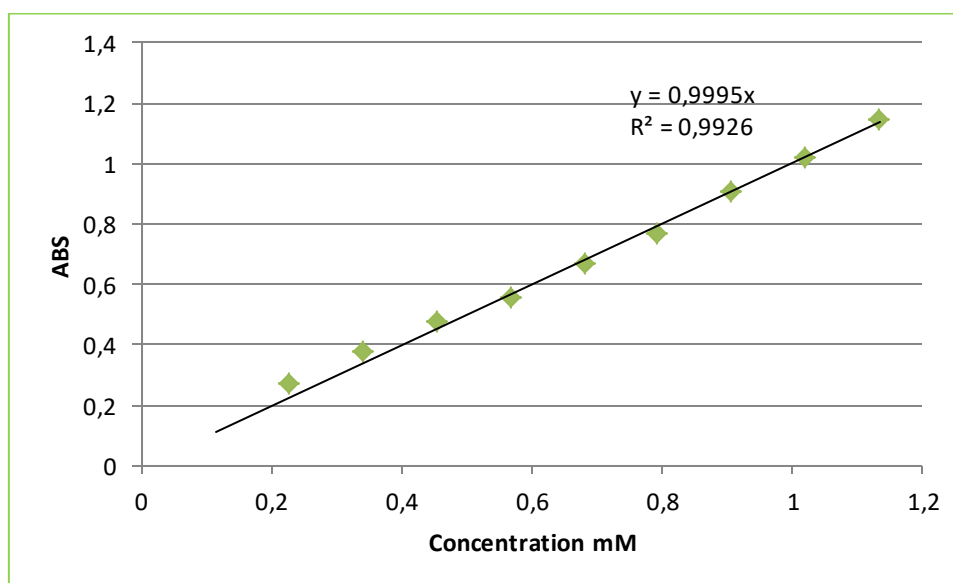


Figure III-18 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

L'activité antioxydante totale de différents extraits de *Z. album* varie entre $83,222 \pm 1,398$ et $12,343 \pm 0,043$ mM EAA. Les extraits de *Z. cornutum* varient de $98,707 \pm 0,382$ jusqu'à $14,434 \pm 0,263$ mM EAA et les extraits de *Z. gaetulum* ont un taux d'activité allant de $110,270 \pm 11,524$ jusqu'à $13,100 \pm 1,730$ mM EAA (Tableau III-7). La plus haute activité est trouvée dans les fractions aqueuses par contre la plus basse activité est enregistrée dans les fractions acétates d'éthyles.

En comparant les extraits bruts des trois plantes étudiées on s'aperçoit que *Z. gaetulum* possède la meilleure activité suivi par *Z. cornutum* et en dernière position *Z. album*.

L'activité antioxydante totale des différents extraits de *Z. album* et *Z. cornutum* est classée selon l'ordre décroissant suivant : fraction aqueuse > fraction butanolique > fraction chloroformique > fraction acétate d'éthyle.

Mais pour les fractions de *Z. gaetulum*, l'ordre est comme suit : fraction aqueuse > fraction chloroformique > fraction butanolique > fraction acétate d'éthyle

Tableau III-7 : L'activité antioxydante totale des différents extraits étudiés en mM Equivalent Acide ascorbique

Extrait	<i>Z. album</i>	<i>Z. cornutum</i>	<i>Z. gaetulum</i>
Extrait hydroéthanolique	37,898 ± 1,072	19,152 ± 0,077	57,791 ± 3,740
Fraction chloroformique	17,511 ± 0,351	18,103 ± 1,104	51,178 ± 0,755
Fraction acétate d'éthyle	12,343 ± 0,043	14,434 ± 0,263	13,100 ± 1,730
Fraction butanolique	50,386 ± 0,792	45,576 ± 3,341	46,729 ± 1,945
Fraction aqueuse	83,222 ± 1,398	98,707 ± 0,382	110,270 ± 11,524
BHA		0,978 ± 0,041	
BHT		0,841 ± 0,031	

Tous les extraits ont montré une très bonne activité antioxydante, meilleure que les standards utilisés : BHA et BHT. La fraction aqueuse de *Z. gaetulum* a exprimé la plus grande valeur d'activité antioxydante, cette activité es supérieure de 112 fois que BHA et 131 fois que BHT. La plus faible valeur d'activité antioxydante correspond à la fraction acétate d'éthyle de *Z. album*, cette valeur est supérieure au BHA de 13 fois et de BHT de 15 fois.

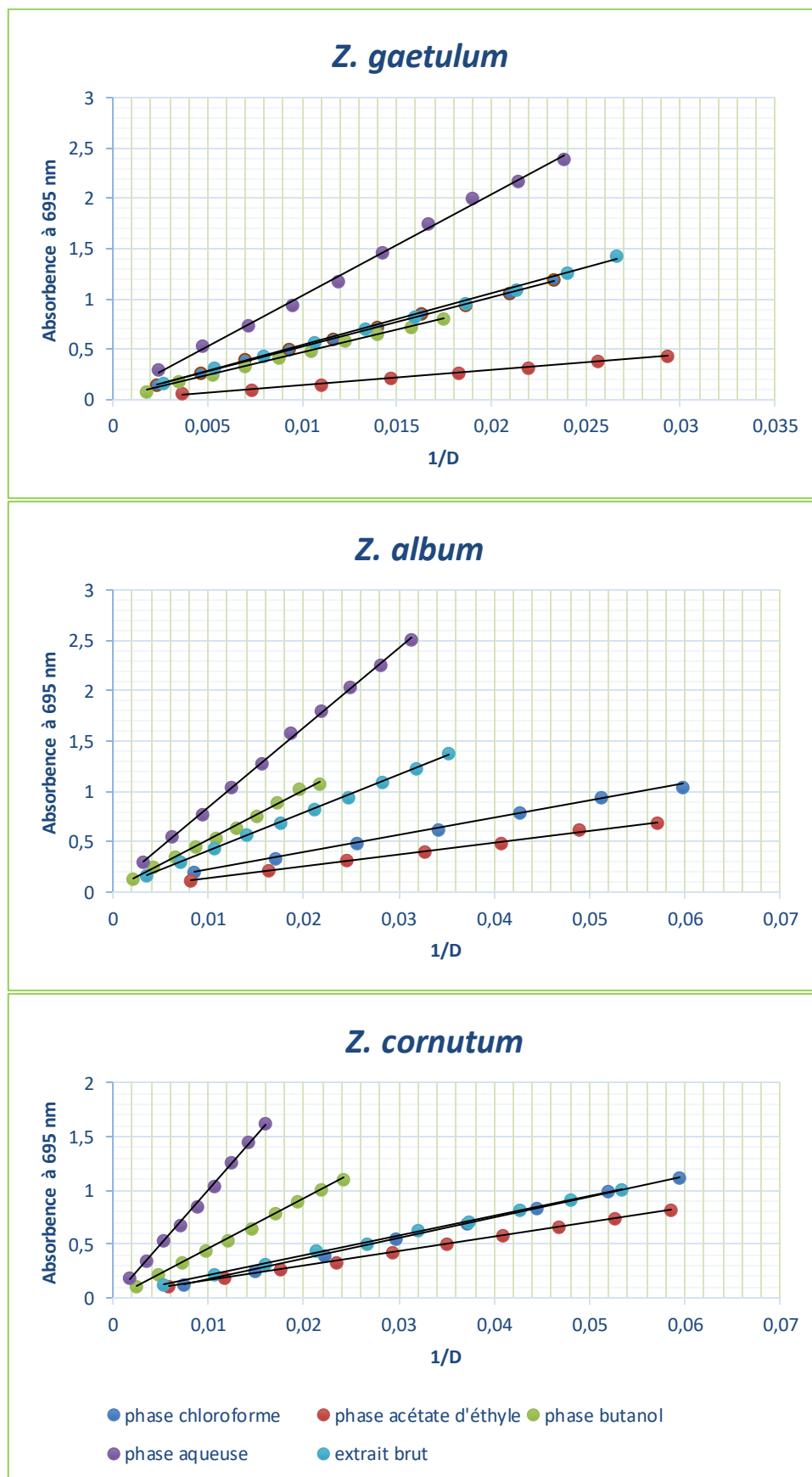


Figure III-19: Courbes représentant L'activité antioxydante totale des différents extraits

III-6. Discussion :

L'utilisation combinée d'eau et de solvant organique peut faciliter l'extraction de produits chimiques solubles dans l'eau et / ou les solvants organiques, c'est la raison pour laquelle les rendements d'extraits hydro-méthanolique et hydro-éthanolique sont plus élevés [92]. On s'aperçoit que le rendement d'extraction du chloroforme et d'acétate d'éthyle pour les trois plantes étudiées sont faible par contre le rendement d'extraction du butanol est important, cela peut être interprété par la richesse des plantes en composés polaires. Il est à noter que la phase aqueuse résiduelle a marqué le plus haut rendement, cela est dû aux composés très polaires qui sont solubles dans l'eau.

La différence dans la structure des composés phénoliques détermine également leur solubilité dans des solvants de polarité différente. Par conséquent, le type de solvant d'extraction ainsi que les procédures d'isolement peuvent avoir un impact significatif sur le rendement d'extraction des polyphénols à partir du matériel végétal [93].

La phase butanolique est très riche en composés phénoliques à savoir les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins, cela peut nous conduire à la nature très polaire de ces composés phénoliques présents dans cette phase-ci. On enregistre un faible taux de composés phénoliques dans les phases chloroformiques et acétates d'éthyles, dont la nature faiblement ou moyennement polaire des composés phénoliques est dominante dans ces deux phases.

La fraction aqueuse en réalité est une fraction résiduelle où tous les composés qui n'ont pas pu être extraite par le butanol sont restés dans cette fraction-là. On a enregistré une très grande quantité de composés phénoliques dans cette fraction, cela peut expliquer la nature très polaire des polyphénols présentent dans la phase aqueuse. L'extraction répétée plusieurs fois par le butanol peut enrichir de plus le rendement de la phase butanolique et appauvrir un petit peu la phase aqueuse, mais cela reste impossible à extraire complètement la phase aqueuse sans changement chimique de la nature des composés présents dans cette dernière phase.

Le contenu en phénols totaux des extraits bruts des trois espèces du genre *Zygophyllum* de notre étude varie de 3,75 à 5,11 mg EAG/g. D'après une étude consacrée à la région de Laghouat où 22 espèces ont été étudiées, le contenu en phénols totaux varie de 2,72 jusqu'à 87,11mg EAG/g [94]. En comparant ces résultats, on peut conclure que les trois espèces étudiées du genre *Zygophyllum* ont un faible contenu en phénols totaux.

Le contenu en phénols totaux de trois plantes qui appartiennent à la famille Zygophyllaceae (*Tribulus omanense*, *Tribulus terrestris* et *Zygophyllum mandavillei*) collectés auprès des Émirats arabes unis était 3,96 ; 3,99 et 4,6 mg EAG/mg [95]. Ces valeurs sont très proches de nos résultats et confirment notre conclusion concernant la faible teneur en composés phénoliques de nos espèces. Par contre un taux élevé en phénol totaux et en flavonoïdes a été trouvé dans les feuilles des *Z. album* qui atteint 296.83 mg GA/g et 216.41 mg Q/g [96], cela indique que les composés phénoliques se situent au niveau des feuilles.

Le contenu en flavonoïdes totaux des extraits bruts des trois espèces étudiées du genre *Zygophyllum* varie de 1,32 à 2,39 mg EQ/g. Par comparaison avec une étude où onze espèces sahariennes ont été testées pour leur contenu en flavonoïdes, les résultats

du dosage sont entre 1,62 et 13,12 mg ER/g [97], on peut conclure que nos espèces ont un faible contenu en flavonoïdes.

Dans une étude consacrée aux plantes algérienne, les résultats de dosage des phénols totaux et flavonoïdes de la plante *Z. album* étaient très proches de nos résultats. Mais on aperçoit que la quantité des tanins est très élevée par rapport à nos valeurs [98].

La quantité de tanins est trop petite, cela est justifier par l'absence de la séparation d'aucune molécule de tanin au niveau du genre *Zygophyllum*, par conséquent si les tanins sont présents à l'état de trace il est difficile de les séparer et les identifier. On trouve dans un travail sur l'espèce *Z. album* une teneur en tanin égal à 4.349 mg/g [98], cela peut être expliqué par la différence de la période de collecte où l'espèce synthétise les tanins à une période précise et après ces composés subissent une dégradation pendant la période de fructification.

Le rendement d'extraction et l'activité antioxydante dépendent non seulement de la méthode d'extraction, mais aussi du solvant utilisé pour l'extraction. La présence de divers composés antioxydants ayant des caractéristiques chimiques et des polarités différentes peut ou non être soluble dans un solvant particulier. Les solvants polaires sont fréquemment utilisés pour récupérer des polyphénols à partir de matrices végétales [92].

Tous les extraits et les phases ont montré une très bonne activité antioxydante ainsi que cette dernière est proportionnelle à l'augmentation de concentration. Les phases très polaires à savoir les phases butanoliques et aqueuses présentent les plus grandes activités réductrices par rapport aux phases faiblement et moyennement polaires. Cela peut être lié à la richesse des phases polaires en composés phénoliques et la faible teneur en phénols totaux des phases acétate d'éthyle et chloroforme.

On observe une très bonne activité antiradicalaire exprimé par les phases chloroformiques malgré la faible teneur en composés phénoliques, cela peut être expliqué soit par la grande réactivité c'est-à-dire la qualité des composés phénoliques ou soit par d'autres types de composés comme les composés triterpéniques saponines.

Les fractions aqueuses ont fait preuve d'une bonne activité antioxydante cela est expliqué par la forte richesse en composés phénoliques ainsi que d'autres composés qui ont une grande hydrophilie où il est impossible de les récupérer complètement.

Dans une étude consacré aux plantes de l'émirat Arabie où *Z. mandavillei* a exprimé une valeur d'inhibition du radical DPPH égale à $IC_{50} = 253.5 \mu\text{g/ml}$, cette valeur est inférieure à nos valeurs. Ainsi que trois autres plantes appartiennent à la famille Zygophyllaceae dont deux espèces du genre tribulus (*Tribulus omanense* et *Tribulus terrestris*) ont des valeurs d' $IC_{50} = 70.6$ et $91.7 \mu\text{g/ml}$ respectivement, ces valeurs sont aussi inférieures à nos valeurs. Par contre *Fagonia ovalifolia* a démontré une puissante activité avec une valeur d' $IC_{50} = 0.56 \mu\text{g/ml}$ [95]. Dans une autre étude, les feuilles de *Z. album* ont démontré une activité antiradicalaire puissante où l' $IC_{50} = 5.65 \mu\text{g/ml}$ [96].

Dans une étude consacré à l'espèce saharienne *Limoniastrum guyonianu*, les fractions de butanol et d'acétate d'éthyle de cette plante, ont été testées pour leurs activités antioxydantes [99], les résultats étaient inférieurs à nos valeurs. Les plantes

Z. album, *Z. cornutum* et *Z. gaetulum* ont un pouvoir antioxydant plus important que *L. guyonianum*.

Des faibles corrélations ont été trouvées entre le contenu phénolique, flavonoïdique et en tanin et les activités antioxydantes des différents extraits, cela peut être interprété par la contribution mineure des composés phénoliques dans les activités antioxydantes. Une corrélation entre les contenus en flavonoïdes et en phénols et entre les IC_{50} a une valeur de R^2 égal 0.295 et 0.189 respectivement. La contribution des composés phénoliques dans la réduction du DPPH ne dépasse pas le seuil de 50%, cela confirme la présence et la réactivité d'un autre groupe de produits secondaires présent dans les extraits et susceptible d'être des antioxydants puissants.

Tous les extraits ont démontré une bonne activité antioxydante, cela est lié au type de métabolites secondaires contenu dans chaque extrait. À vrai dire, le contenu phénolique de nos espèces n'est pas décrit dans la littérature à part les flavonoïdes de types flavonols déjà cités dans le chapitre 1, l'activité antioxydante peut être liée aux flavonoïdes. Le genre *Zygophyllum* est très riche en triterpénoïdes saponines qui ont une excellente activité antioxydante [100].

CHAPITRE IV

Séparation, purification et élucidation structurale

IV-1. Matériel végétal :

L'espèce sélectionnée *Z. gaetulum* Emb. a été collectée dans son habitat naturel. La récolte a été effectuée au Sahara algérien dans la région de Tindouf au mois d'avril 2015.

IV-2. Protocole d'extraction :

Après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière du soleil, la plante est broyée entièrement, puis pesée (M=1,8 Kg). La matière végétale obtenue est mise à macération avec l'éther du pétrole (3L) afin d'éliminer les graisses, les cires et les chlorophylles. Après filtration et séchage, la plante est mise à macérer avec un mélange hydroalcoolique (Méthanol / eau ; 70 / 30 ; V / V). Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant chaque 48 heure.

Après filtration et concentration sous vide, l'extrait méthanolique est dilué avec de l'eau distillée à raison de 400-600 ml pour 1 Kg de matière sèche, on laisse la solution au repos une nuit puis on filtre.

Après filtration, la solution a subi des extractions successives de types liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme (quatre fois) puis l'acétate d'éthyle (une seule fois) et enfin avec le n-butanol (sept fois).

On ajoute Na₂SO₄ pour les trois phases organiques obtenues puis on les filtre. Le protocole d'extraction est résumé dans la Figure (IV-1).

Les trois phases organiques ainsi obtenues (faiblement polaire : chloroforme, moyennement polaire : acétate d'éthyle et polaire : n-butanol) sont concentrées à sec sous pression réduite, pesées, les masses et les rendements sont donnés dans le tableau IV-1.

Tableau IV-1: Tableau récapitulatif regroupant les rendements des différents extraits.

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
<i>Z. gaetulum</i>	chloroformique	5,68	0.315
	acétate d'éthyle	3,74	0.207
	n-butanolique	113,18	6.287

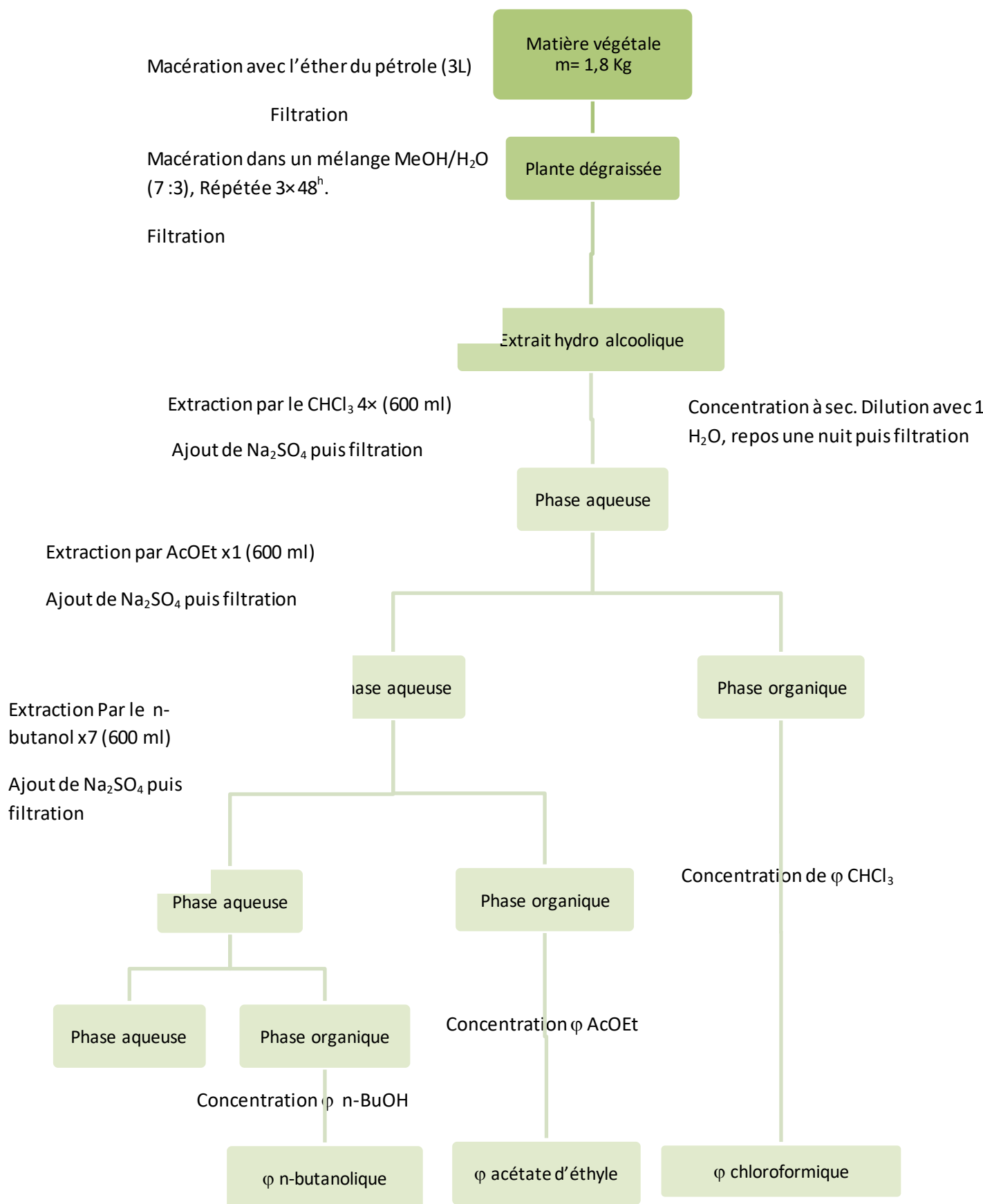


Figure IV-1 : Protocole d'extraction

IV-3. Séparation et purification

IV-3-1. La phase chloroformique et acétate d'éthyle

En se basant sur le profil CCM des phases chloroformique et d'acétate d'éthyle, elles ont été combinées (masse = 8,36 g). Plusieurs tests sont faits sur différentes phases stationnaires en utilisant différents systèmes de solvants, le choix est tombé sur colonne ouverte en gel de silice en utilisant un graduant de solvant constitué de CHCl_3 -MeOH en commençant par le CHCl_3 seulement. Les proportions utilisées sont comme suit : 40 :1, 20 :1, 10 :1, 9 :1, 8 :1, 6 :1 et finalement 2 :1. Des fractions de 50 ml ont été collectées et testées sur plaque CCM (Figure IV-2).



Figure IV-2 : Suivi de la colonne mère par CCM

Frs 2-6 ont été combinées (199.3mg) et puis sont soumises à une colonne flash éluee avec le système Hex-AcOEt de 20 :1 jusqu'à 1 :2 (Figure IV-3). Les sous fractions 5 et 6 sont purifiés avec une colonne en séphadex. La séparation a donné **CA1** (m=2.8mg).

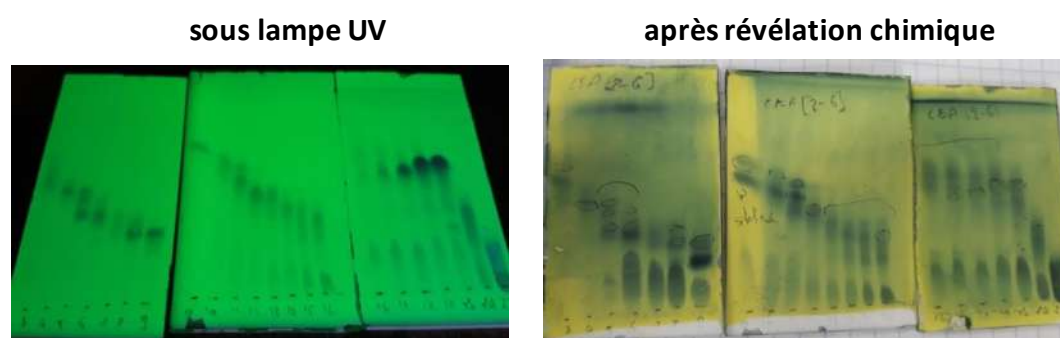


Figure IV-3 : Suivi de la séparation de Frs 2-6

Frs 8-10 ont été combinées (550 mg) et puis soumettre à une colonne ouverte en gel de silice (40-50 μm , 10 g) avec un gradient d'éluion composé d'hexane- acétate d'éthyle commençant par 6:1. L'éluion avec Hex-AcOEt 5:1 donne un mélange qui contient du stérol dans les fractions 4 et 5 (18 mg, cristaux jaunes). Le mélange a été recristallisé dans le MeOH donnant un solide blanc pur **CA2** (3 mg).

Fr17 jusqu'à **Fr25** ont été combinées (m=656,5 mg) puis mises à séparer sur colonne en gel de silice en utilisant un gradient de solvant composé de CHCl_3 -MeOH : 15 :1, 10 :1, 5-1 et 2-1. Les sous fractions collectées sont testées par CCM (Figure IV-4).

La sous fraction 14 séparée sur CCMP CHCl_3 -MeOH- CH_3COOH 15 :1 :0,01 \times 5 puis filtrée sur Séphadex LH20 avec CHCl_3 - CH_3OH . Apparition de cristaux soluble dans la pyridine **CA3**.



Figure IV-4 : Suivi du fractionnement des fractions Fr17-25

Les sous fractions 16 et 17 combinées et séparées sur colonne en gel de silice CHCl_3 -MeOH puis par HPLC en utilisant la colonne CAPSELL PAK C18 Type UG 120A 5 mm 25 cm x 4.6 mm, Shiseido Co. Japon ; et les conditions suivantes : solvant MeOH- H_2O (4:1) contenant 0.03 % v/v TFA; débit 0.4 mL, détection UV 215 nm. La séparation a fourni deux produits : le premier produit **CA4** avec une masse égale à 2.9 mg, et un temps de rétention égal à $T_r = 13.11$ min et le deuxième produit **CA5** d'une masse de 11 mg et un temps de rétention égal à $T_r = 14.30$ min (Figure IV-5).

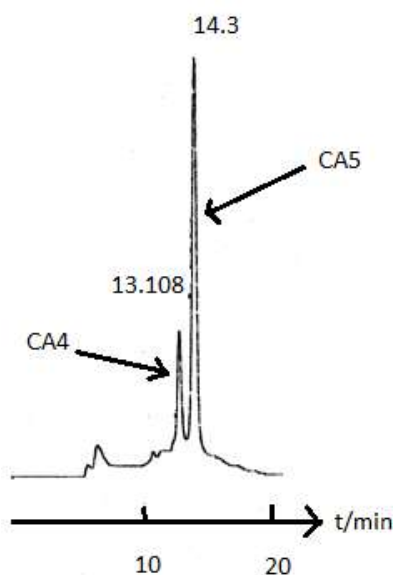


Figure IV-5 : Chromatogramme de CA4 et CA5

Les sous fractions 21 et 22 (m = 60 mg) séparées sur CCMP avec CHCl_3 -MeOH-acide acétique 8 :1 :0,01 \times 5 puis par HPLC en utilisant les conditions suivantes : colonne, oCAPSELL PAK C18 Type UG 120A 5 mm 25 cm x 4.6 mm, Shiseido Co.

Japon; solvant MeOH -H₂O (2.5:1) contenant 0.03 % v/v TFA; débit 0.7 mL, détection UV 215 nm. La séparation a apporté deux produits : le produit **CA6** d'une masse 0.5 mg, avec un Tr = 12.06 min et le produit **CA7** d'une masse égale à 2 mg et Tr =12.98 min (Figure IV-6).

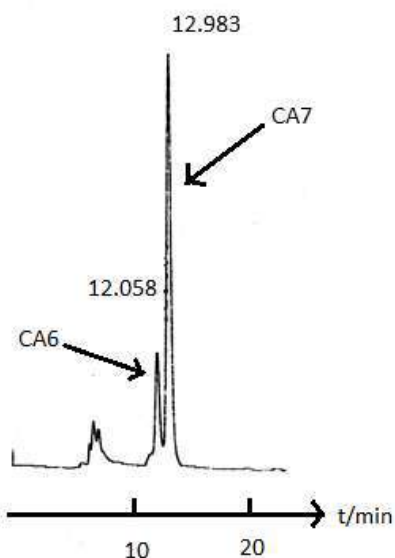


Figure IV-6 : Chromatogramme de CA6 et CA7

Les sous fractions 23 et 24 combinées et séparer par HPLC selon les conditions suivantes : colonne, CAPSELL PAK C18 Type UG 120A 5 mm 25 cm x 4.6 mm, Shiseido Co. Japon; solvant MeOH -H₂O (2.5:1) contenant 0.03 % v/v TFA; débit 0.7 mL, détection UV 215 nm. La séparation a produit le produit **CA8** (m=17mg et Tr= 18.66 min) et le produit **CA9** (m=62mg et Tr = 19.83 min). La figure IV-7 montre le chromatogramme issu de la séparation des sous fractions Fr (17-25)-(23,24).

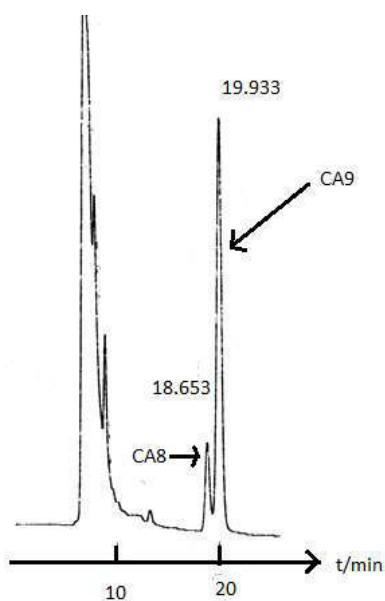


Figure IV-7 : Chromatogramme de CA8 et CA9

Les étapes de la séparation des deux phases combinées ; chloroforme et acétate d'éthyle, sont récapitulées dans la figure IV-8.

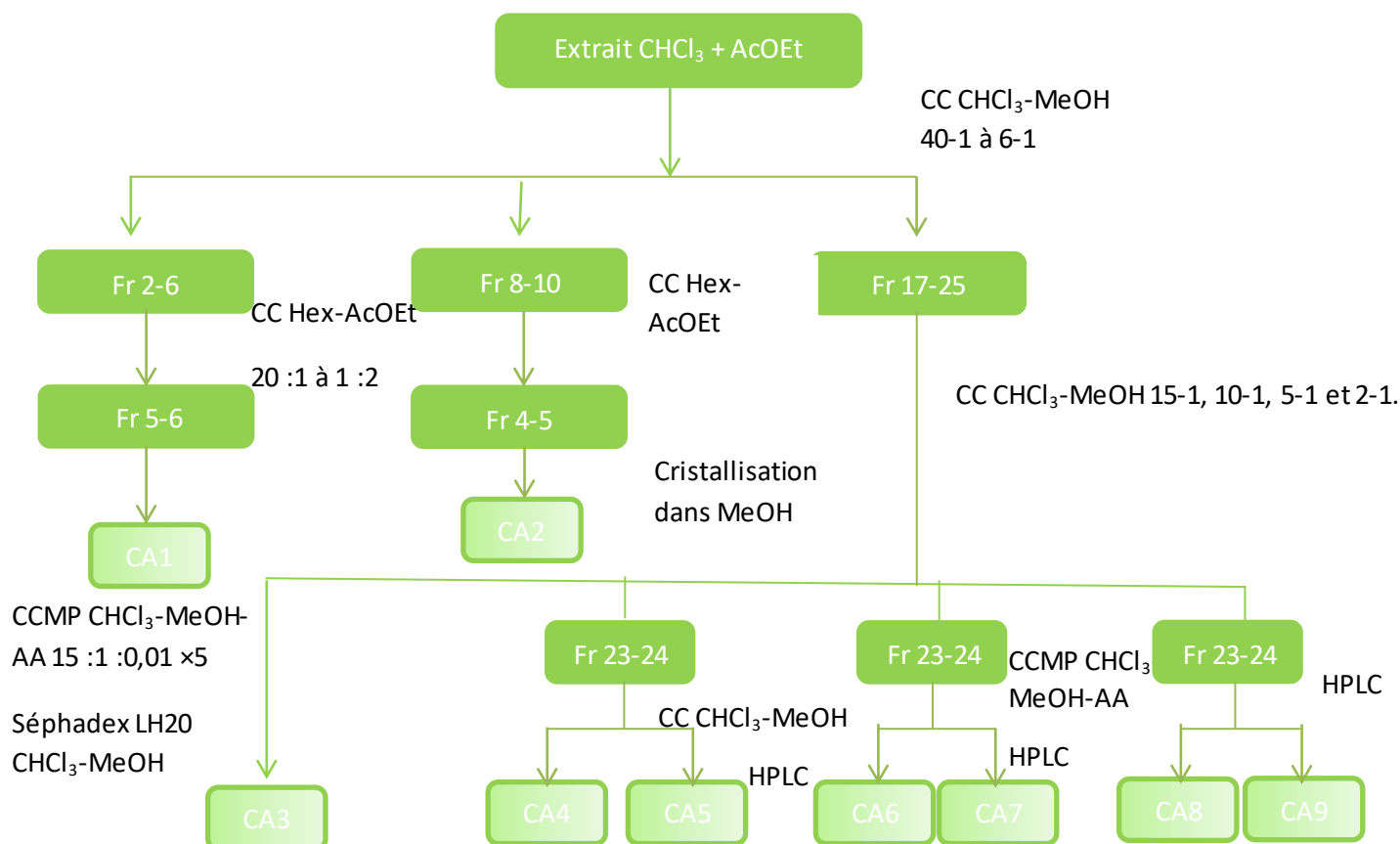


Figure IV-8: Schéma de fractionnement de l'extrait combiné (CHCl₃+AcOEt)

IV-3-2. La phase butanolique

Après qu'on a choisi la colonne convenable. On remplit la colonne avec 800 g de gel de silice 60 (100-210 mesh) mélangé avec 1,6 Litre de chloroforme et méthanol (5 :1), puis on met une autre couche de sable de mer.

On dissout 100 g de la phase butanolique de *Zygophyllum gaetulum* avec du méthanol puis on ajoute un adsorbant. On mélange bien et on chasse le solvant afin d'obtenir une poudre sèche, on rend cette dernière fine et homogène à l'aide d'un mortier. On verse le mélange d'une façon de former une couche homogène.

L'élution a été faite en utilisant un gradient de solvant composé de CHCl_3 et du MeOH. Les proportions utilisées sont : 5 :1, 4 :1, 3.5 :1, 3 :1, 2.5 :1, 2 :1, 1.5 :1, 1:1, 1:2 et finalement seulement le méthanol.

16 fractions de 500 ml ont été collectées et pesées (Tableau IV-2). En suivant l'avancement de la colonne et en basant sur le profil CCM des fractions collectées (FigureIV-9), ces derniers sont regroupés selon leurs similitudes.

Tableau IV-2 : Masses des fractions de la phase butanolique

Numéro de fraction	% de gradient $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$	Masse (mg)
1	5 :1	108,5
2		167,9
3	4 :1	70,4
4		217,7
5	3,5 :1	457,7
6		605,9
7	3 :1	1696,6
8		2824,2
9	2,5 :1	3685,6
10		6526,5
11	2 :1	6536,4
12	1,5 :1	6513,1
13	1 :1	10211,7
14	1 :2	9752,1
15	CH_3OH	5202,5
16		3505,6

Le suivi de la colonne a été fait par CCM comme la démontre la figure IV-9:

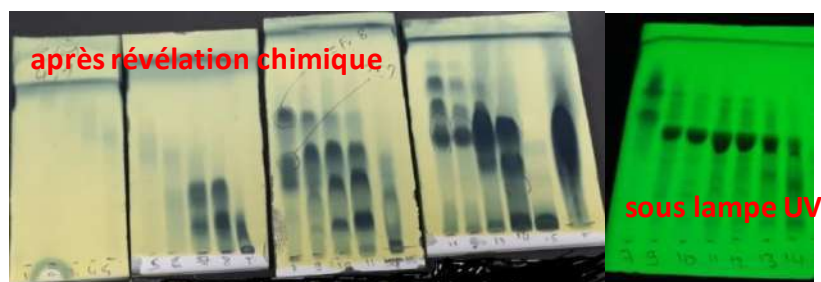


Figure IV-9: Suivi de la séparation de la phase BuOH par CCM

Les fractions **Fr2** et **Fr3** ont été combinées et séparées par flash colonne en gel de silice (40-60 mesh) en utilisant un gradient de solvant composé de CHCl_3 et AcOEt avec les proportions suivantes : 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 et 1:1. Les sous fractions 13 et 14 combinées et séparées par CCMP avec le système $\text{CHCl}_3/ \text{AcOEt}$ 3/1 \times 5. La séparation a fourni deux composés **B1** (1.7mg) et **B2**. La sous-fraction 15 a fourni **B3**.

Les fractions **Fr4**, **Fr5** et **Fr6** ont été combinées (masse= 1,238 g) puis séparées sur colonne ouverte en gel de silice en utilisant un gradient de solvant composé de CHCl_3 et de CH_3OH , les proportions utilisées sont comme suit : 20:1, 15:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7/1 et 6/1. La sous-fraction 3 (m= 42,6 mg) est filtrée sur le séphadex LH20 avec un mélange de $\text{CHCl}_3 / \text{CH}_3\text{OH}$ (1/2). On a obtenu le composé **B4** (m=2.4mg). La sous fraction 7 (m= 133 mg) filtrée sur séphadex puis rechromatographiée de nouveau sur HPLC préparative (m= 58,3 mg) en utilisant les conditions suivantes : colonne Cosmosil 5 C-18- PaQ 25 \times 1.0 cm id solvant MeOH- H_2O (5 :2) débit 3 ml/min détection UV 215 nm. On a obtenu le composé **B5** (m=34mg).



Figure IV-10 : Chromatogramme HPLC des fractions Fr4-6

Fr-7 (m=1,70 g) a été rechromatographié sur gel de silice (40-50 μm , 60g) et élué avec un gradient de CHCl_3 -MeOH en commençant par la proportion 7 :1. Les sous fractions de 9 à 12 (m=1,10 g) obtenu par l'éluant CHCl_3 -MeOH 3 :1. Une portion 6% est purifiée par HPLC sous les conditions suivantes : colonne, CAPSELL PAK C18 Type UG 120A 5 μm 25 cm \times 4.6 mm, Shiseido Co. Japon; solvant MeOH- H_2O (2:1) contenant 0.05 % v/v TFA; débit 0.7 mL, détection UV 215 nm. La séparation

avec HPLC a donné deux composés : **B6** d'une masse égale à 2.5 mg sous forme de poudre incolore avec un $t_R = 9.39$ min et **B7** d'une masse $m=7.8$ mg sous forme de poudre incolore et un $t_R = 10.54$ min (Figure IV-11).

Les sous fractions de 13 à 15 élué avec un gradient de CHCl_3 -MeOH de 3:1 à 1:1 (261 mg) combiné puis chromatographié sur colonne ODS C-18 avec le système de solvant MeOH- H_2O (2:1 à 3:1). La fraction 10 contient 10 mg du composé **B8**.

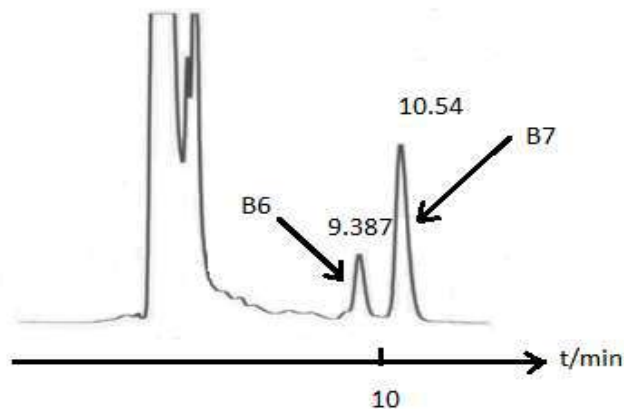


Figure IV-11: Chromatogramme HPLC de B6 et B7

Fr-8 ($m=2.8$ g) a été rechromatographié sur gel de silice (40-50 mm) et élué avec un gradient de CHCl_3 -MeOH. Les sous fractions de 15 à 17 ($m=1,1$ g) élués avec 2 :1 sont purifiées par HPLC sous les conditions suivantes : colonne, CAPSELL PAK C18 Type UG 120A 5 mm 25 cm x 4.6 mm, Shiseido Co. Japon ; solvant MeOH- H_2O 1.5:1 contenant 0.03 % v/v TFA; débit 0.7 mL, détection UV 215 nm. La séparation par HPLC analytique a donné deux produits purs : **B9** ($m=1.3$ mg et $t_R = 15.79$ min) et **B10** ($m=4.9$ mg et $T_R = 17.42$ min). La figure IV-12 présente le chromatogramme de la Fr8.

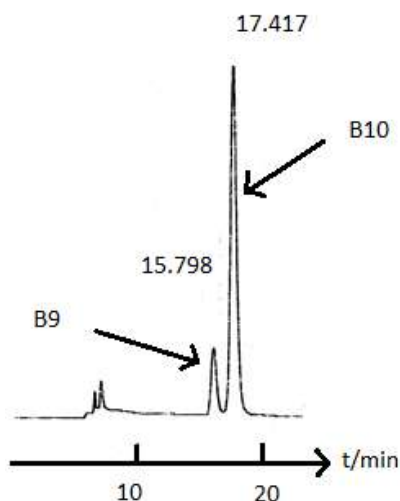


Figure IV-12 : Chromatogramme de B9 et B10

30 mg de la **Fr 11** a été séparé sur CCMP en utilisant $\text{CHCl}_3\text{-MeOH } 4 : 1 \times 2 \rightarrow 2 : 1 \times 2$. Quatre bandes ont été grattées et lavées. Fr11 -1 (3mg) contient un mélange de (**B9**) et (**B10**), Fr11-2 (6,2 mg) est filtré sur séphadex en utilisant $\text{CHCl}_3\text{-MeOH } 2 : 1$. Cette dernière a permis de séparer deux produits (**B11**) d'une masse 2mg et (**B12**) d'une masse 2mg. Fr11-4 d'une masse de 4 mg est isolé à l'état pur (**B13**).

Fr 13 chromatographié sur colonne ouverte en ODS (C-18) élué avec $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ de 1 : 2 jusqu'à 1 : 1 puis MeOH seulement. Les sous fractions 4et 5 chromatographié sur CCMP avec le système $\text{CHCl}_3\text{-MeOH- H}_2\text{O } (2 : 0,9 : 0,07) \times 2$ à donner (**B14**).

Les différentes étapes de séparation et de purification de la phase butanolique sont récapitulées sur la figure IV-13.

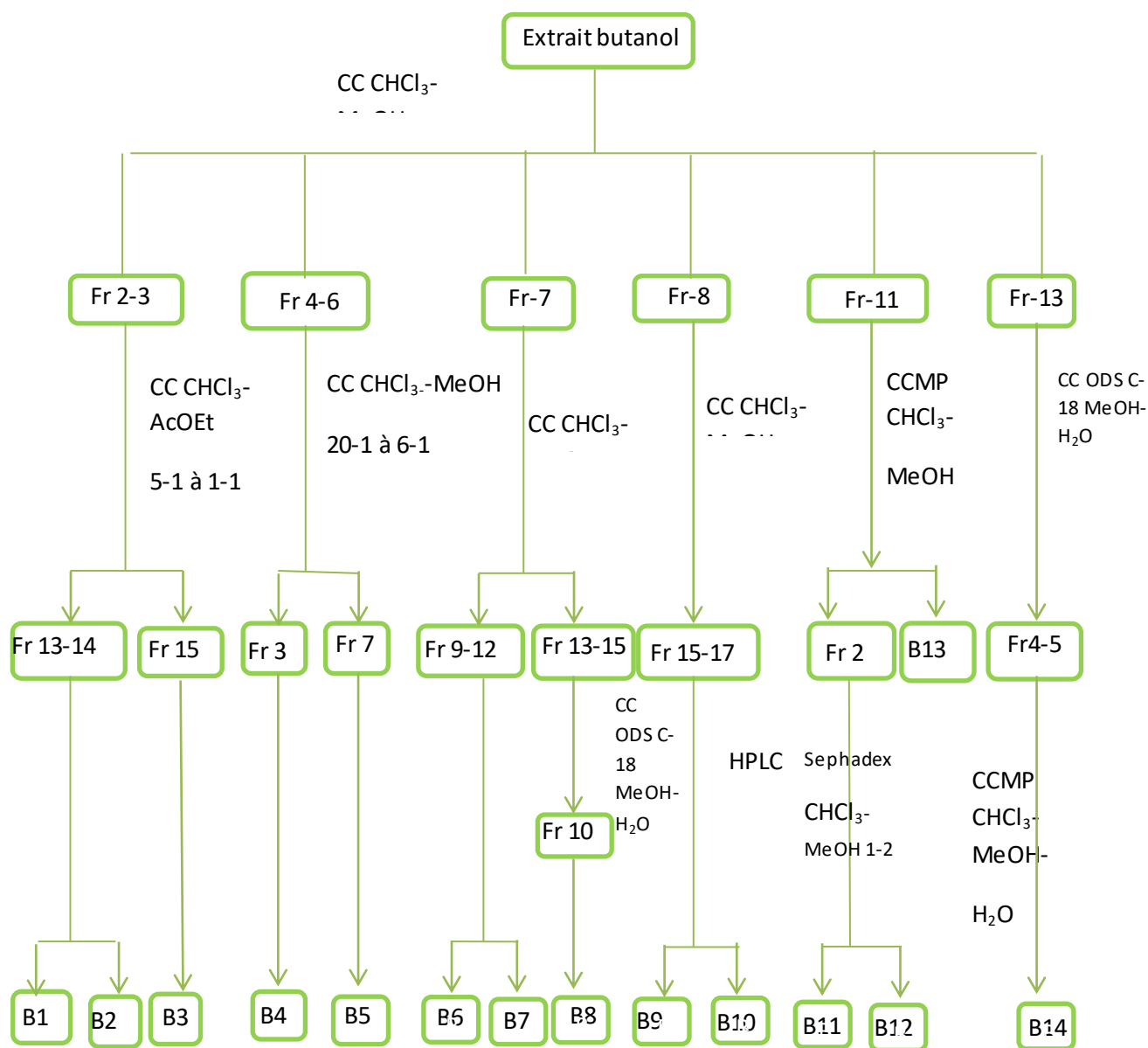


Figure IV-13: Schéma de séparation de la phase BuOH

IV-4. Elucidation structurale

IV-4-1. Composé CA9

Ce composé a été isolé sous forme de cristaux blancs. Son spectre RMN ^1H (Figure IV-14), enregistré dans CD_3OD , montre six signaux de méthyle d'une intégration de trois protons pour chacun, dont quatre singulets et deux doublets. Cela nous conduit à un squelette de triterpène et vue le type de triterpènes dominant dans le genre *Zygodhillum*, on prévoit un squelette pentacyclique. Ce spectre montre aussi :

- Un signal anomérique enregistré à δ 4.29 ppm. Les autres signaux du sucre apparaissent dans l'intervalle [3.133 -3.845] ppm.
- Un signal sous forme d'un doublet à 5.59 ppm caractéristique du proton oléfinique qui sera attribué au H-12.
- Un signal sous forme de doublet de doublet à δ 3.13 (1H, $J=15.6$, 4.0 Hz) attribuable au proton H-3. La valeur de constante de couplage 15.6 Hz indique une orientation α -axiale du H-3 et par conséquent une orientation β -équatoriale du groupement OH de la même position.
- Un signal sous forme de doublet d'une intégrale d'un seul proton à δ 2.23 ppm et $J= 10.2$ Hz attribuable à H-18. Sa multiplicité indique la présence d'un seul proton adjacent qui sera le H-19, et la valeur de constante de couplage nous oriente vers une forme β -axiale de H-18 [45].

À partir de ces données collectées du spectre RMN ^1H , on déduit qu'il s'agit d'un squelette triterpène pentacyclique d'une forme α -amyrine, bien précisément d'un 3-hydroxy-ursan-12-ène contenant un sucre.

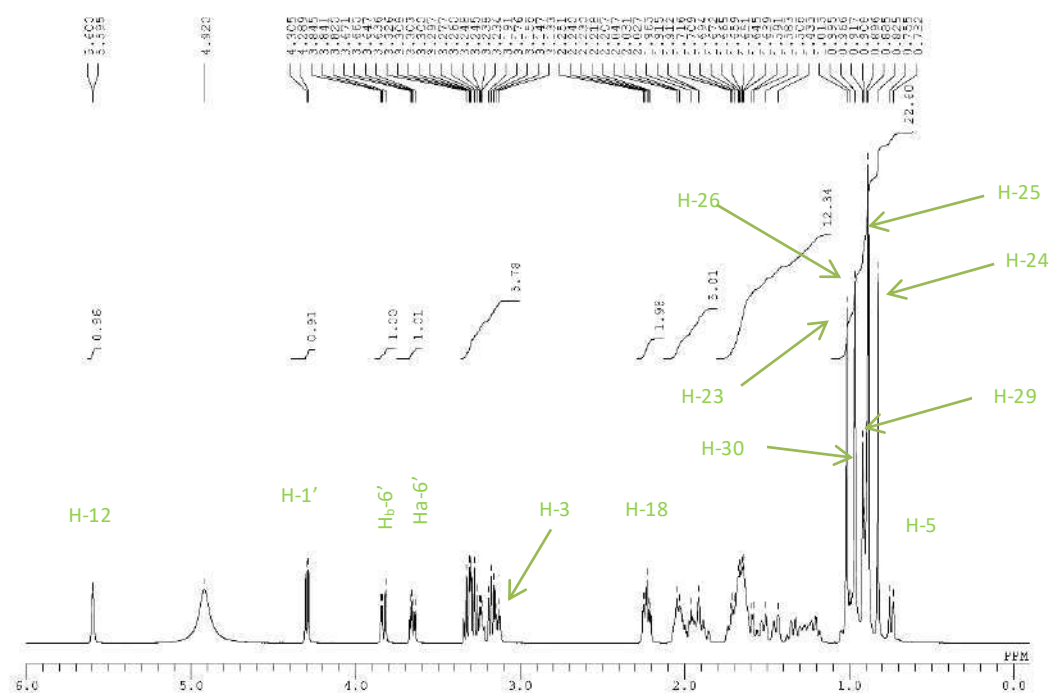


Figure IV-14 : Spectre RMN ^1H (500MHz, CD_3OD) du composé CA9

Selon le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-15), on compte (36) trente-six signaux indiquant la présence d'un seul hexose et un aglycone triterpénoïde :

- Les signaux appartenant au sucre sont C-1' (δ 106.7) C-2' (δ 75.6) C-3' (δ 78.2) C-4' (δ 71.6) C-5' (δ 77.7) C-6' (δ 62.8). Ces valeurs montrent que ce sucre est bien le glucose. La forme β -D-pyranoside du glucose est déduite par la valeur du déplacement chimique et la constante de couplage du proton anomérique H-1' (δ 4.29 ppm, d, $J= 7.5$ Hz) extraite du spectre RMN ^1H (Figure IV-14).
- Les valeurs de déplacement chimique d'un méthine à δ 130.4 ppm et un carbone quaternaire à δ 133.9 ppm attribuables à C-12 et C-13 respectivement, sont caractéristiques de la structure α -amyrine. La différence entre les deux valeurs des signaux oléfiniques est de l'ordre de $\Delta\delta = 3.5$ ppm suggérant la forme α -amyrine, ces valeurs sont en total agrément avec la littérature [101, 102].
- Deux signaux à δ 179.0 et à δ 181.7 ppm caractéristiques de deux groupements carboxyliques aux C-27 et C-28 respectivement. Cela nous conduit bien vers une structure de type acide quinovique
- Un signal à δ 90.67 ppm caractéristique d'un carbone lié à un oxygène.

D'après toutes les données précédentes, la structure est un 3-oxo, ursan-12-ene-27,28-dicarboxyles, on peut envisager la structure vers un acide quinovique substitué par un glucose.

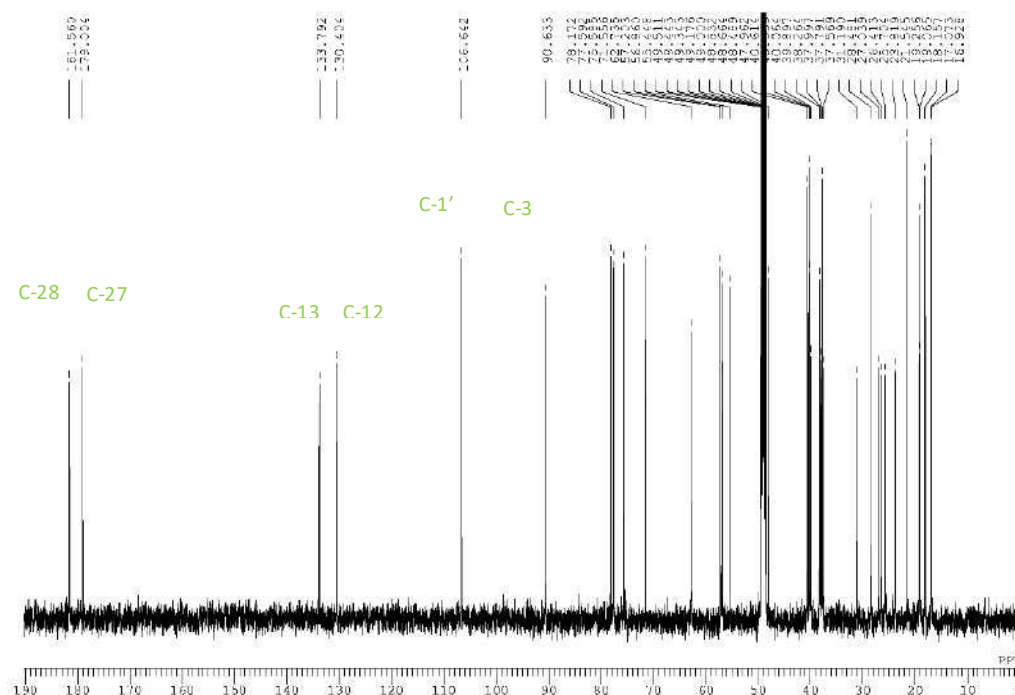


Figure IV-15 : Spectre RMN ^{13}C (125MHz, CD_3OD) du composé CA9

D'une autre part, la présence d'une unité glucose liée à l'aglycone avec une liaison éther est suggéré par les signaux anomériques de la RMN ^1H ($\delta = 4.29$; 1 H; d ; $J = 7.5$) et de la RMN ^{13}C (δ 106.7 ppm; C-1') [29]. Le site de glycosidation de type éther a été montré d'être au C-3 de l'acide quinovique par l'apparition des pics sur RMN ^{13}C aux δ 90.7, δ 27.1 et δ 40.1 ppm attribuables aux C-3, C-2 et C-4 respectivement. Où ils étaient en accord avec les modèles de l'acide quinovique substitué à C-3 [91].

Selon l'expérience HMQC (Figure IV-16 et 17), on attribue pour chaque carbone son proton correspondant :

- entre C-12 (δ 130.4 ppm) et H-12 (δ 5.6 ppm)
- C-1' (106.7) et H-1' (4.29)
- C-3 (90.7) et H-3 (3.13)
- C-3' (78.2) avec H-3' (3.33)
- C-5' (77.7) avec H-5' (3.24)
- C-2' (75.6) avec H-2' (3.167)
- C-4' (71.6) avec H-4' (3.28)
- C-6' (62.8) avec H-6' (3.83 et 3.64)
- C-5 (56.9) avec H-5 (0.74)
- C-18 (55.5) et H-18 (2.23)
- C-9 (48) et H-9 (2.23)
- C-19 (40.4) avec H-19 (0.91)
- C-1 (39.9) avec H-1 (1.013 et 1.07)
- C-7 (38) avec H-7 (1.66 et 1.24)
- C-22 (37.6) avec H-22 (1.63 et 1.58)
- C-21 (31.2) avec (1.43 et 1.013)
- C-23 (28.5) avec H-23 (1.013)
- C-2 (27.1) avec H-2 (1.91 et 1.71)
- C-15 (25.7) avec H-15 (2.03 et 1.65)
- C-16 (26.4) avec H-16 (2.03 et 1.59)
- C-11 (23.8) avec H-11 (2.02 et 1.91)
- C-30 (21.5) avec H-30 (0.915)
- C-6 (19.3) avec H-6 (1.5 et 1.33)
- C-25 (19.1) avec H-25 (0.88)
- C-29 (18.1) avec H-29 (0.89)
- C-24 (17.1) avec H-24 (0.82)
- C-26 (16.9) avec H-26 (0.96)

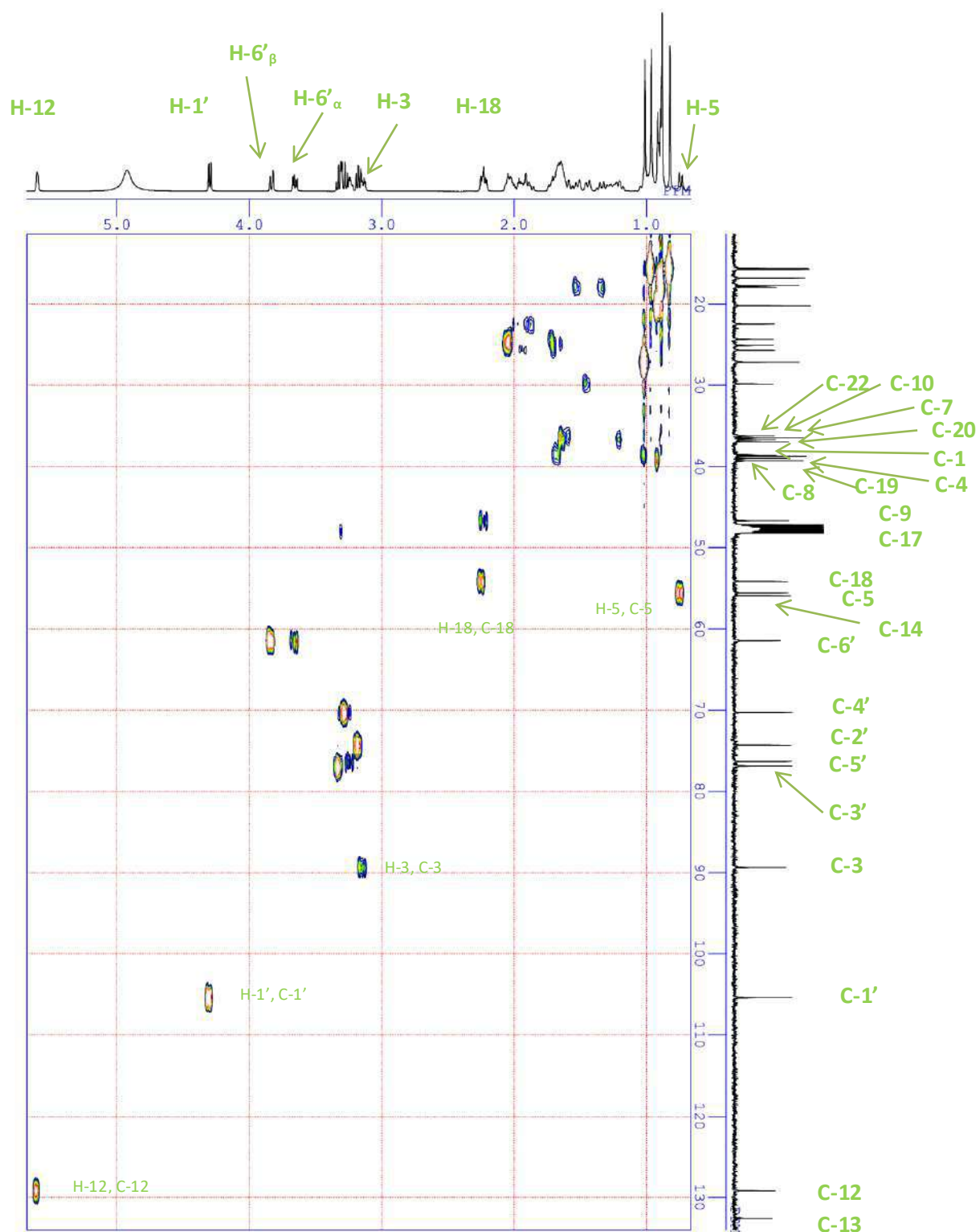


Figure IV-16 : Spectre HMQC (500MHz, CD₃OD) du composé CA9

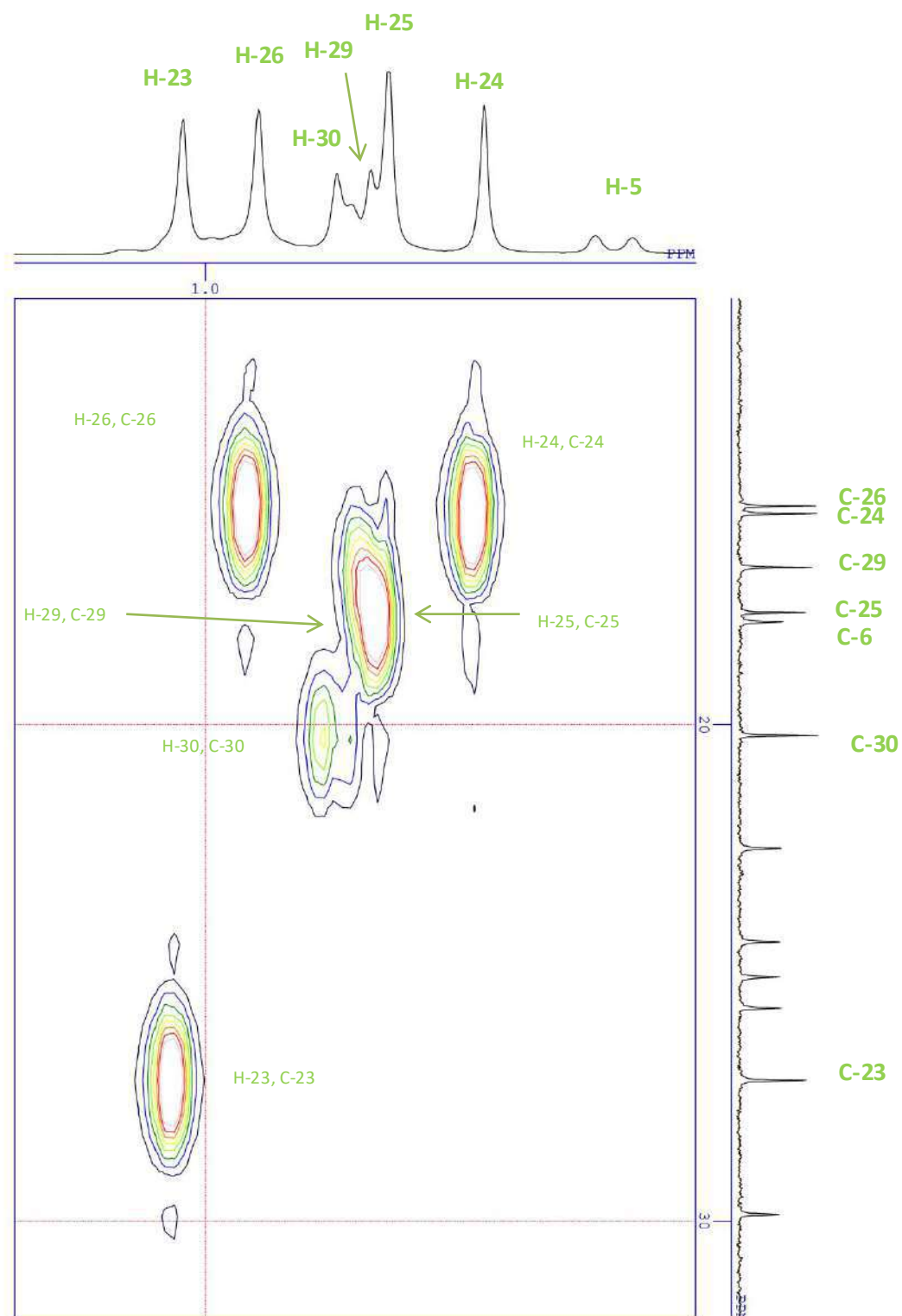


Figure IV-17 : Spectre HMQC étalé (500MHz, CD_3OD) du composé CA9

L'expérience HMBC (Figure IV-19 et 20) présente les corrélations suivantes :

- C-3 (δ 90.7 ppm) montre quatre taches de corrélations avec
 - ✓ H-1' (δ 4.29 ppm)
 - ✓ H-23 (δ 1.013 ppm)
 - ✓ H-24 (δ 0.825 ppm)
 - ✓ H-2 $_{\beta}$ et H-2 $_{\alpha}$ (δ 1.91 ppm et δ 1.71 ppm)
- C-5 (δ 56.9 ppm) montre 4 taches de corrélations avec
 - ✓ H-23 (δ 1.013 ppm)
 - ✓ H-24 (δ 0.825 ppm)
 - ✓ H-25 (δ 0.88 ppm)
 - ✓ H-26 (δ 0.96 ppm)
- entre C-1' (106.7) et H-2' (3.16)
- C-4' (71.6) et H-3' (3.33)
- C-8 (40.6), C-9 (48) et C-10 (37.8) avec H-25 (0.88) et H-26 (0.96)
- C-19 (40.4) et C-20 (38.3) avec H-29 (0.89) et H-30 (0.915)
- C-23 (28.5) avec H-24 (0.825) et vice versa.

Les corrélations sont schématisées dans la figure IV-18 :

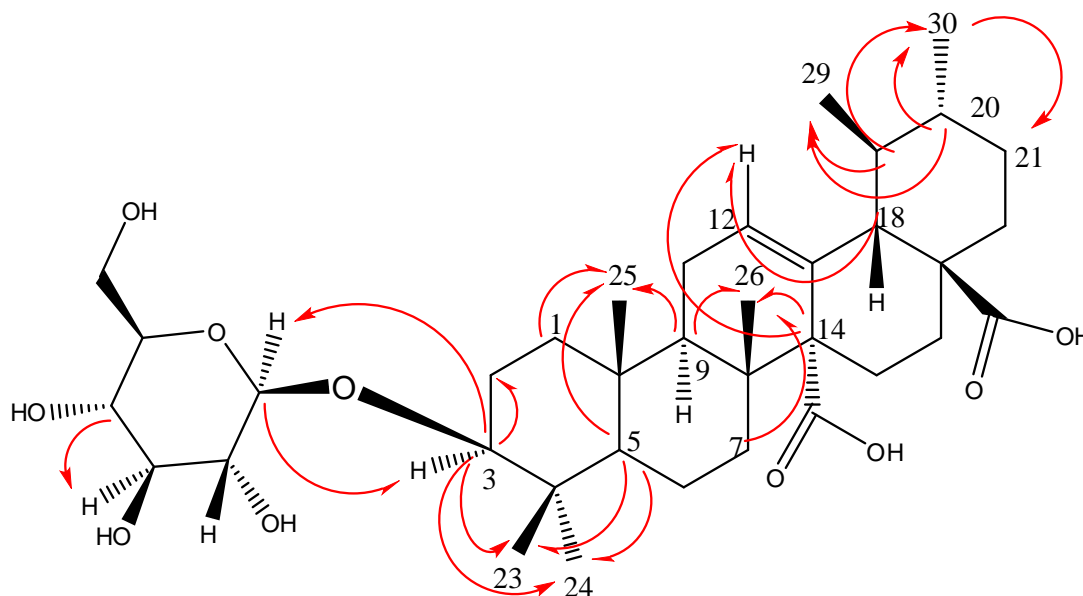


Figure IV-18 : Corrélation selon l'expérience HMBC du composé CA9

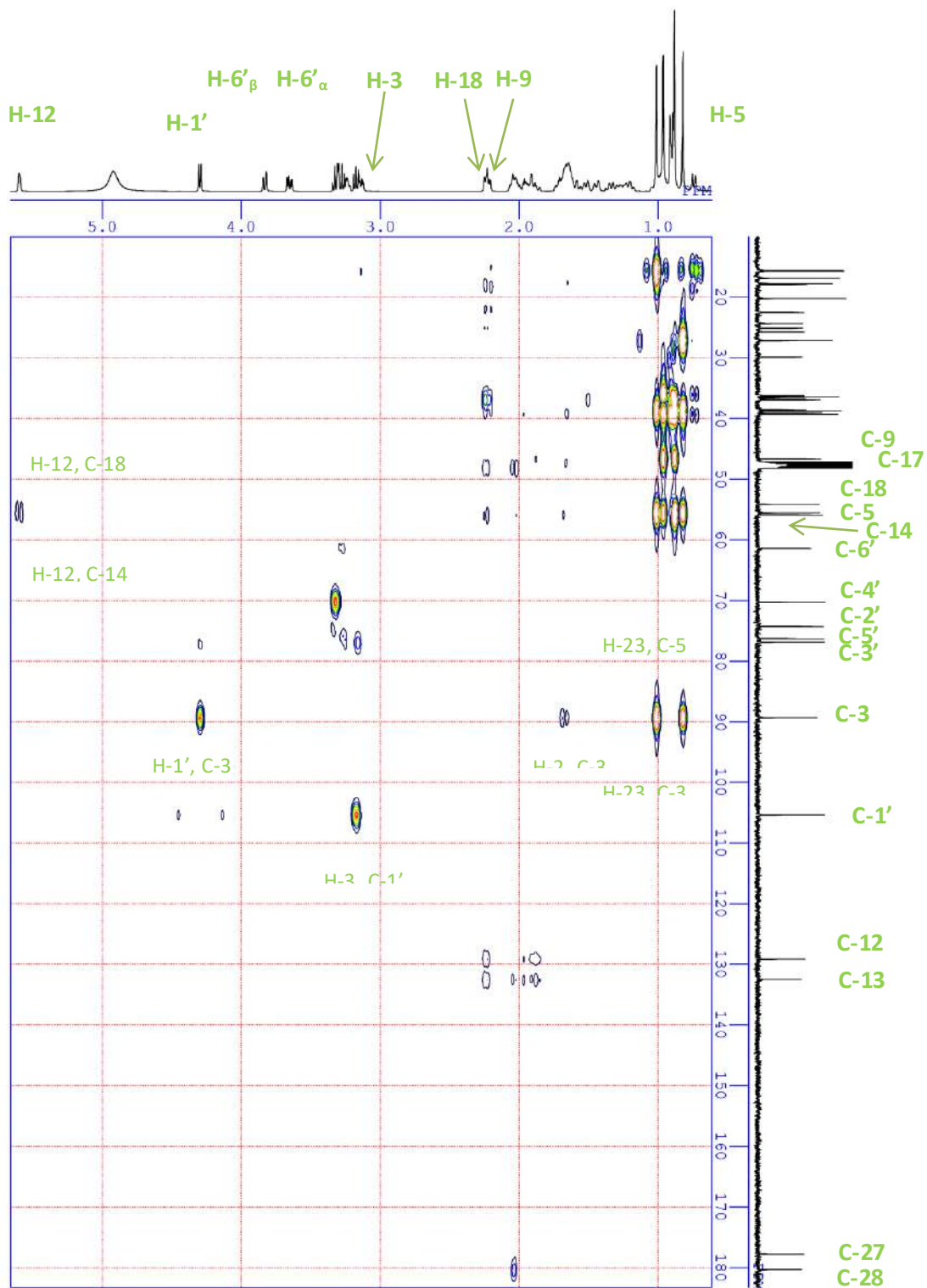


Figure IV-19: Spectre HMBC (500MHz, CD_3OD) du composé CA9

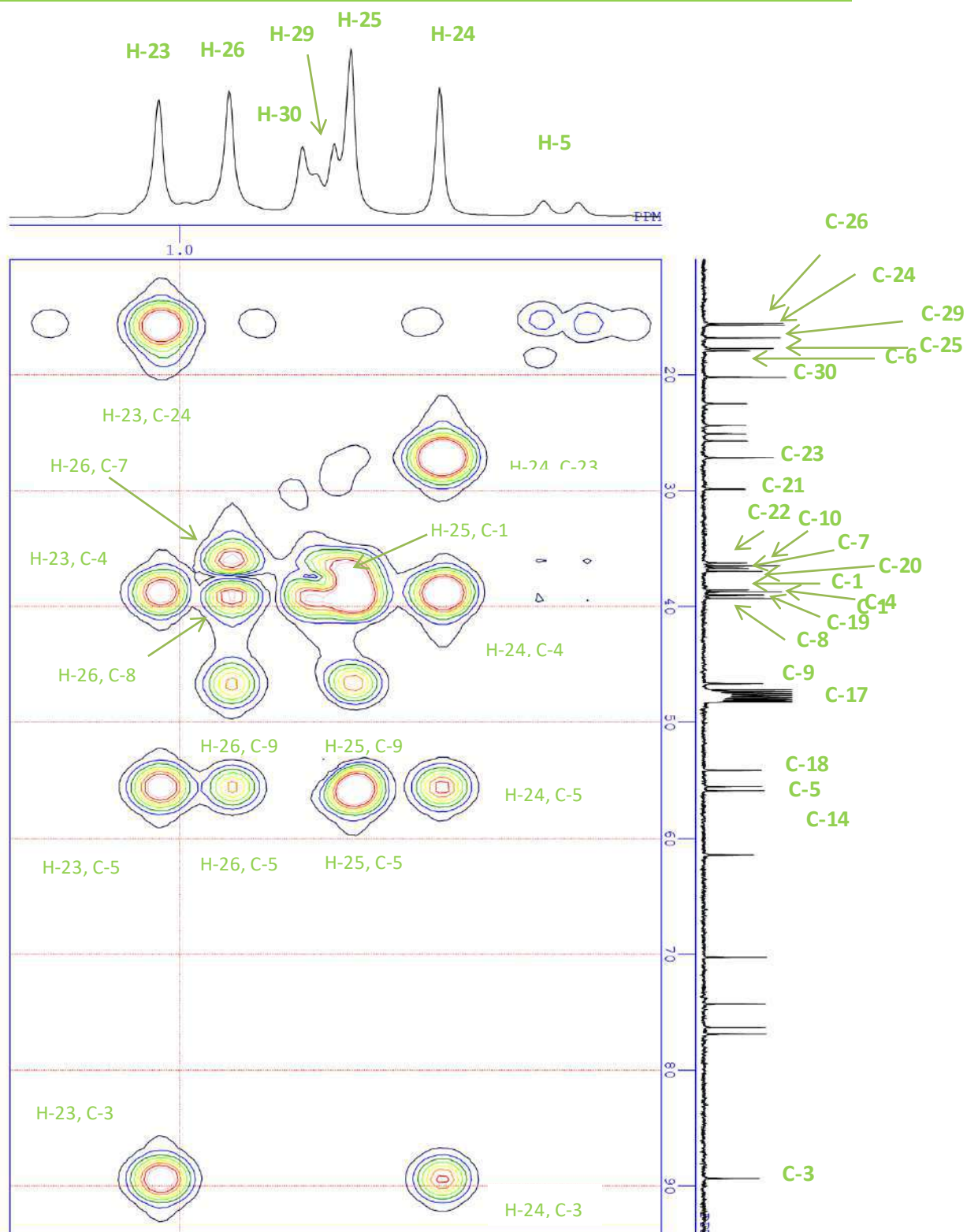


Figure IV-20 : Spectre HMBC étalé (500MHz, CD₃OD) du composé CA9

L'emplacement de l'unité de sucre au C-3 de l'aglycone a été déterminé en utilisant HMQC et HMBC. L'expérience HMQC a établi la connectivité entre C-3 (δ 90.7 ppm) et H-3 (δ 3.13 ppm), le carbone C-1' (δ 106.7 ppm) et le proton anomérique H-1' (δ 4.29 ppm, *d*, *J* 7.5 Hz). Dans l'expérience HMBC, la connectivité à longue distance a été observée à partir de la corrélation entre le carbone C-1' (δ 106.7 ppm) et H-3 (δ 3.13 ppm) ainsi que pour la corrélation entre C-3 (δ 90.7 ppm) et H-1' (δ 4.29 ppm, *d*, *J* 7.5 Hz).

Les valeurs de déplacement chimique du ^1H et du ^{13}C (tableau IV-3) sont identiques avec celles trouvées dans la littérature [101, 103]. En conséquence, la structure de **CA9** a été conclue comme étant de 3-*O*- β -D-glucopyranoside quinovic acid (Figure IV-21). Ce composé fut isolé de *Z. album*, *Z. fabago*, *Z. coccineum* et *Z. melongena*. On rapporte la séparation de ce composé de *Z. gaetulum* pour la première fois.

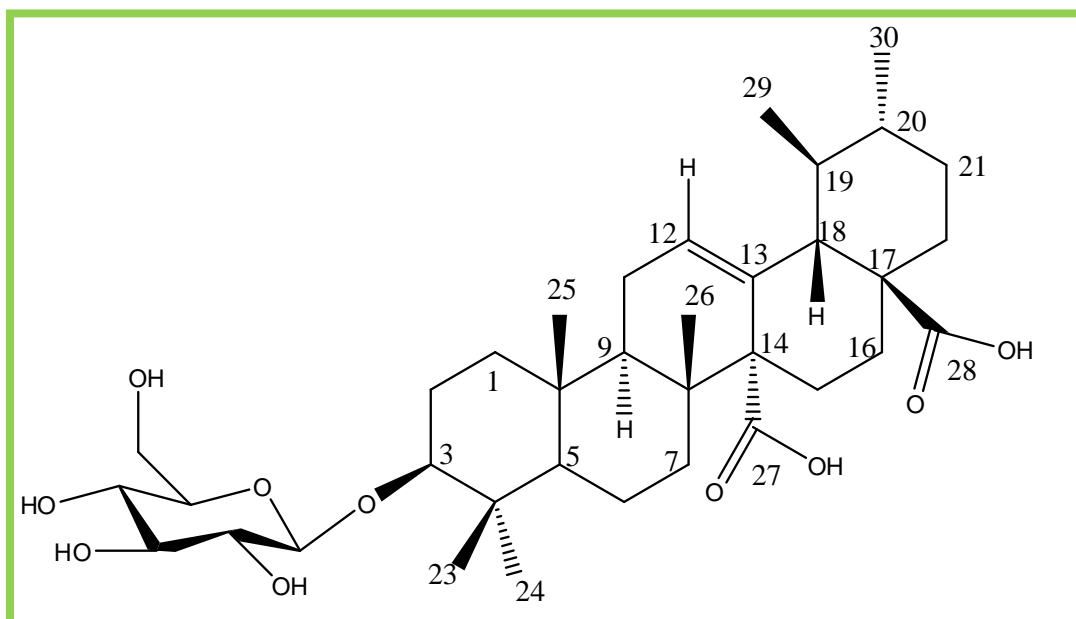


Figure IV-21 : Structure chimique du composé CA9 ; de 3-*O*- β -D-glucopyranoside quinovic acid

Tableau IV-3 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé CA9 (δ en ppm et J en Hz)

<i>position</i>	δ (H) ppm, m, j Hz	δ (c) ppm	<i>HMBC</i>	<i>DEPT</i>
1	α 1.053 <i>dd</i>	39.9	C-1/H-25	CH2
	β 1.68 <i>dd</i>			
2	α 1.91 <i>m</i>	27.1		CH2
	β 1.71 <i>m</i>			
3	3.13 <i>dd</i> 15.6, 4.0	90.7	C-3/H-23, H-24, H-2, H-1'	CH
4		40.1	C-4/H-5, H-23, H-24	C
5	0.745 <i>dl</i> 10.5	56.9	C-5/H-23, H-24, H-25, H-26	CH
6	α 1.5 <i>dl</i>	19.3	C-6/H-5, H-7	CH2
	β 1.33 <i>dl</i>			
7	α 1.68 <i>dl</i>	38	C-7/H-5, H-6, H-9, H-26	CH2
	β 1.20 <i>dl</i>			
8		40.6	C-8/H7, H-11, H-26	C
9	2.215 <i>dl</i> 3.15	48	C-9/H-25, H-26	CH
10		37.8	C-10/H-5, H-25	C
11	α 1.013	23.8	C-11/H-9	CH2
	β 1.91 <i>dl</i>			
12	5.599 <i>d</i>	130.4	C-12/H-11, H-18	CH
13		133.9	C-13/H-11, H-18, H-15	C
14		57.3	C-14/H-12	C
15	α 2.03 <i>dl</i>	25.7		CH2
	β 1.68 <i>dl</i>			
16	α 2.03 <i>dl</i>	26.4		CH2
	β 1.68 <i>dl</i>			
17		49.5	C-17/H-18, H-16	C
18	2.239 <i>d</i> 10.2	55.5	C-18/H-12	CH
19	0.91 <i>m</i>	40.4	C-19/H-18, H-29, H-30	CH
20	1.63 <i>m</i>	38.3	C-20/H-18, H-29, H-30	CH
21	α 1.43 <i>m</i>	31.2	C-21/H-20, H-30	CH2
	β 1.013 <i>m</i>			
22	α 1.63 <i>m</i>	37.6		CH2
	β 1.013 <i>m</i>			
23	1.013 <i>s</i>	28.5	C-23/H-24	CH3
24	0.825 <i>s</i>	17.1	C-24/H-23, H-7	CH3
25	0.88 <i>s</i>	19.1		CH3
26	0.96 <i>s</i>	16.9		CH3
27		179		C
28		181.7	C-28/H-16	C
29	0.89 <i>dl</i>	18.1		CH3
30	0.915 <i>dl</i>	21.5		CH3
1'	4.29 <i>d</i> 7.5	106.7	C-1'/H-2'	CH
2'	3.167 <i>t</i>	75.6		CH
3'	3.33 <i>t</i>	78.2		CH
4'	3.28 <i>t</i>	71.6	C-4'/H-3'	CH
5'	3.24 <i>m</i>	77.7		CH
6'	α 3.646 <i>dd</i> 11.7, 4.2	62.8		CH2
	β 3.83 <i>dl</i> 11.4			

IV-4-2. Composé CA5

Ce composé a été isolé sous forme de cristaux blancs. Le spectre RMN ^1H (Figure IV-22) de ce composé, enregistré dans CD_3OD , montre sept signaux de méthyle dont quatre singulets à δ 0.823, δ 0.886, δ 0.967 et δ 1.007 ppm et deux doublets à δ 0.902 et δ 0.919 ppm. Cela nous conduit à un squelette de triterpène pentacyclique :

- Un signal sous forme d'un singulet large à 5.603 ppm caractéristique du proton oléfinique.
- Un seul proton anomérique est observé à δ 4.26 ppm (1H, $J = 7.5$ Hz) indiquant la forme β -D-pyranoside du sucre, avec l'apparition d'un signal sous forme de doublet d'intégration de trois protons à 1.223 ppm indiquant que le sucre est un quinovose.
- Un signal sous forme de doublet de doublets à δ 3.10 (1H, $J = 15.6$ et 4.0 Hz) attribuable au proton H-3. La valeur de constante de couplage 15.6 Hz indique une orientation α -axiale du H-3 et par conséquent une orientation β -équatoriale du groupement OH de la même position
- Un signal sous forme de doublet d'une intégrale d'un proton à δ 2.24 ppm J 8.1Hz attribuable à H-18. La multiplicité indique la présence d'un méthine (CH) au C-19, et la valeur de constante de couplage nous oriente vers une forme β -axiale de H-18.

À partir des données collectées du spectre RMN ^1H . On déduit qu'il s'agit d'un squelette triterpène pentacyclique d'une forme α -amyrine, bien précisément d'un 3-hydroxy-ursan-12-ène contenant un sucre.

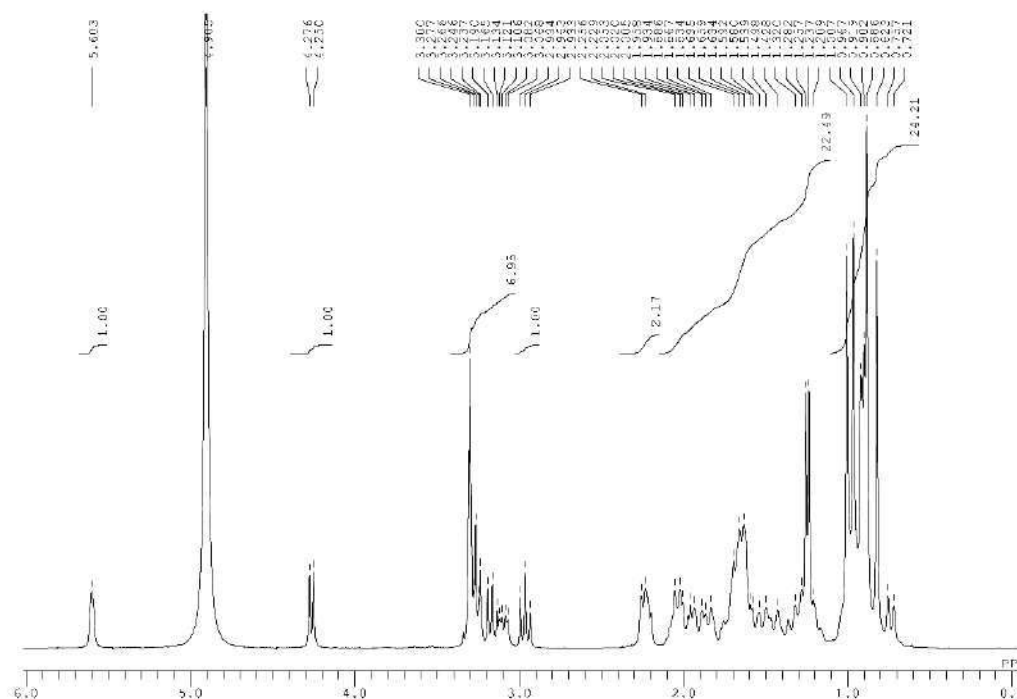


Figure IV-22 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé CA5

Selon le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-23). On compte trente-six signaux indiquant la présence d'un seul sucre et un aglycone triterpénoïde :

- Les signaux appartenant au sucre sont C-1' (δ 106.6) C-2' (δ 75.9) C-3' (δ 78) C-4' (δ 77) C-5' (δ 73) C-6' (δ 18.2). Ces valeurs appartiennent au quinovose. Une autre appellation est utilisée pour le quinovose est 6-deoxy-D-glucose.
- Les valeurs de déplacement chimique d'un méthine à δ 130.4 ppm et un carbone quaternaire à δ 133.9 ppm attribuable à C-12 et C-13 respectivement, qui sont caractéristiques de la structure α -amyrine. Le déplacement chimique des carbones oléfinique est très utile pour distinguer entre urs-12-ène et oléan-12-ène. ces valeurs sont en total agrément avec la littérature [101].
- Deux signaux à C-27 (δ 179.0 ppm) et à C-28 (δ 181.7 ppm) caractéristique de deux groupes carboxyliques libres.
- Un signal à 90.67 ppm caractéristique d'un carbone lié à un hydroxyle.

Et d'après les données collectées du spectre RMN ^{13}C , on arrive à la structure partielle suivante : 3-hydroxy- ursan-12-ène-27,28-dihydroxyles contenant un sucre.

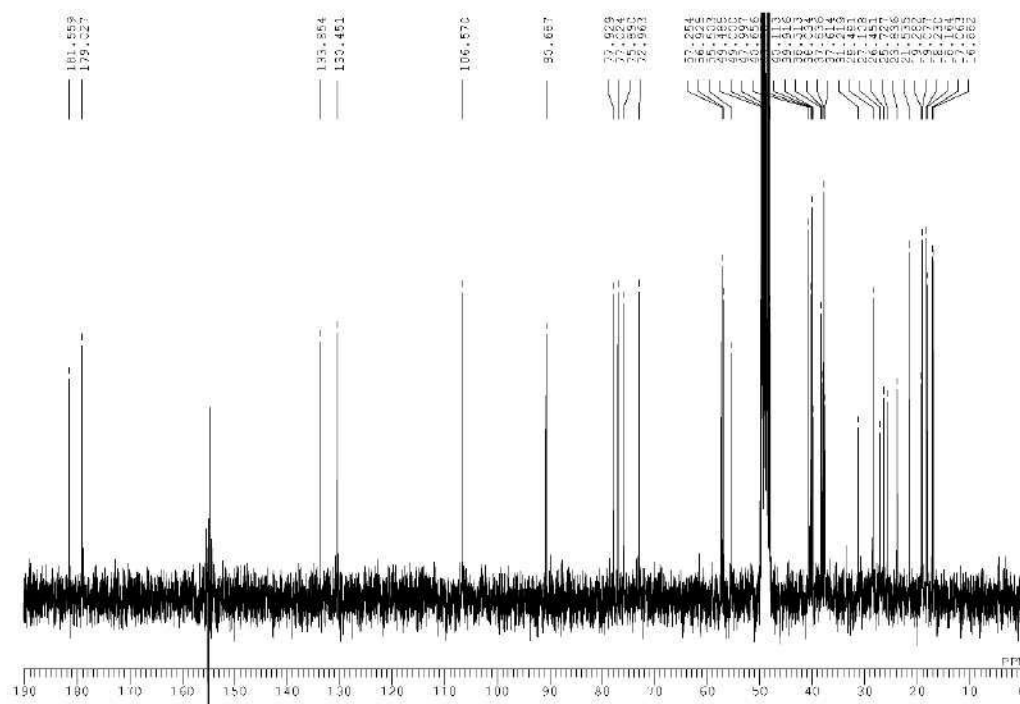


Figure IV-23 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz. CD_3OD) du composé CA5

La présence d'une unité quinovose liée à l'aglycone avec une liaison éther est suggéré par les signaux anomériques de la RMN ^1H ($\delta = 4.26$ ppm; 1 H; d ; $J = 7.5$ Hz) et de la RMN ^{13}C (δ 106.6 ppm; C-1') [35]. Le site de glycosidation de type éther a été montré d'être au C-3 de l'acide quinovique par l'absorption de la RMN ^{13}C du C-3 à δ 90.7 ppm ; C-2 (δ 27.1 ppm) et C-4 (δ 40.1 ppm) où ils étaient en accord avec les modèles de l'acide quinovique substitué à C-3 [104].

D'après les données collectées de RMN, on a identifié le composé comme étant 3 β -O- β -D-quinovopyranoside quinovic acid, dont sa structure est démontrée dans la figure IV-24. Les valeurs de déplacement chimique du composé **CA5** (Tableau IV-4) sont identiques avec celle de la littérature [47, 103, 105]. Ce composé est appelé aussi Quinovin, il a été isolé pour la première fois des écorces de *Cinchona* en 1963 [47]. Concernant le genre *Zygophyllum*, il a été isolé de *Z. album*, *Z. cornutum*, *Z. coccineum*, *Z. dumosum*, *Z. propinquum* et *Z. fabago*. On rapporte la séparation de ce composé de *Z. gaetulum* pour la première fois.

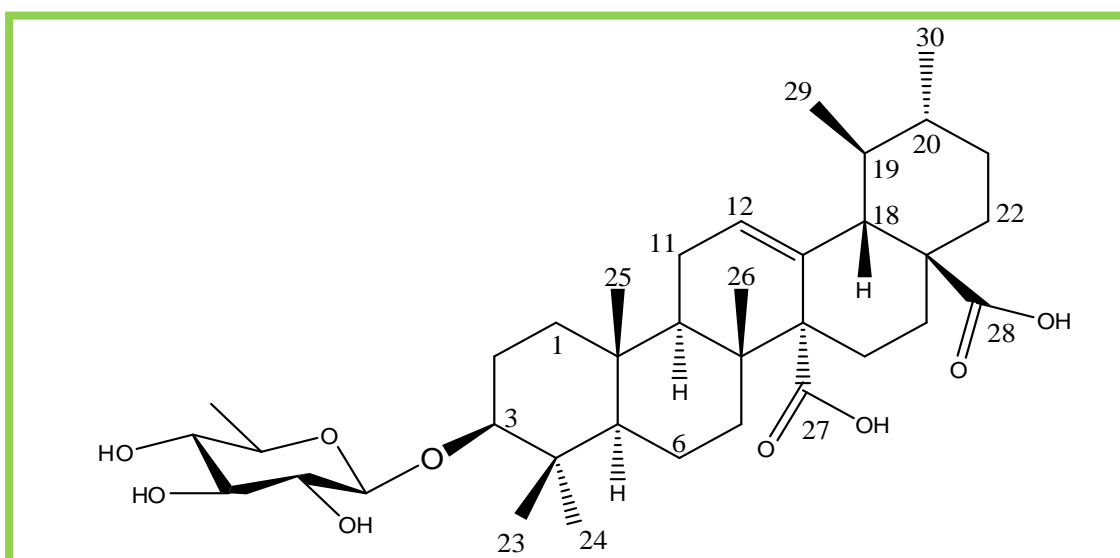


Figure IV-24 : Structure du composé CA5 ; 3 β -O- β -D-quinovopyranoside quinovic acid

Tableau IV-4: Déplacements chimiques en RMN ¹H (300MHz) et ¹³C (75MHz) dans CD₃OD du composé CA5 (δ en ppm et *J* en Hz)

posit ion	δ (H) δ ppm <i>J</i> Hz		δ (C) ppm	DEPT	positio n	δ (H) δ ppm <i>J</i> Hz		δ (C) ppm	DEPT	
1	α	1.007	39.3	CH2	19	1.007		40.4	CH	
	β	1.695								
2	α	1.007	27.1	CH2	20	1.63		38.3	CH	
	β	1.695								
3	3.094 <i>dd</i> 11.4. 4.2		90.7	CH	21	α	1.007	31.2	CH2	
						β	1.35			
4			40.1	C	22	α	1.007	37.6	CH2	
						β	1.63			
5	0.739 <i>d</i> 10.8		56.9	CH	23	1.007 <i>s</i>		28.5	CH3	
6	1.42		19.3	CH2	24	0.823 <i>s</i>		16.9	CH3	
	1.498									
7	1.32		38	CH2	25	0.886 <i>s</i>		17.1	CH3	
	1.586 <i>d</i>									
8			40.6	C	26	0.967 <i>s</i>		18.1	CH3	
9	2.229		48	CH	27			179	C	
10			37.7	C	28			181.7	C	
11	1.007		23.8	CH2	29	0.902 <i>sl</i>		19.1	CH3	
	1.946 <i>dl</i> 7.2									
12	5.603 <i>dl</i>		130.4	CH	30	0.919 <i>sl</i>		21.5	CH3	
13			133.9	C	Quinovose	1'	4.26 <i>d</i> 7.8	106.6	CH	
14			57.3	C		2'	3.165 <i>t</i>	75.9	CH	
15	α	1.646 <i>dl</i> 7.5	25.7	CH2		3'			78	CH
	β	2.036 <i>dl</i> 9.9								
16	α	1.646 <i>dl</i> 7.5	26.4	CH2		4'	2.96 <i>t</i> 9.0	77	CH	
	β	2.036 <i>dl</i> 9.9								
17			49.5	C		5'	3.35	73	CH	
18	2.242 <i>d</i> 8.1		55.5	CH		6'	1.247 <i>d</i> 6.0	18.2	CH3	

IV-4-3. Composé B7

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-25) est superposable à celui du composé C9 : six pics dont quatre sous forme de singulet et deux sous forme de doublet large avec l'apparition de quelques pics supplémentaires au niveau de la région des sucres. Il s'agit donc d'un acide quinovique :

- Deux signaux de protons anomériques à δ 4.26 ppm (d , $J= 7.5$ Hz) et δ 5.40 ppm (d , $J= 8.4$ Hz). Les autres pics des sucres sont entre [2.96 – 3.66 ppm] ainsi qu'un pic sous forme de doublet d'intégration de trois protons à 1.24 ppm indiquant la présence de β -D-glucose et β -D-quinovose.
- Un pic sous forme de doublet à δ 2.27 ppm attribuable à H-18.
- Apparition d'un doublet doublet d'intégrations d'un seul proton à δ 3.098 ppm attribuable à H-3.
- Un pic sous forme de singulet large à 5.61 ppm attribuable à H-12.

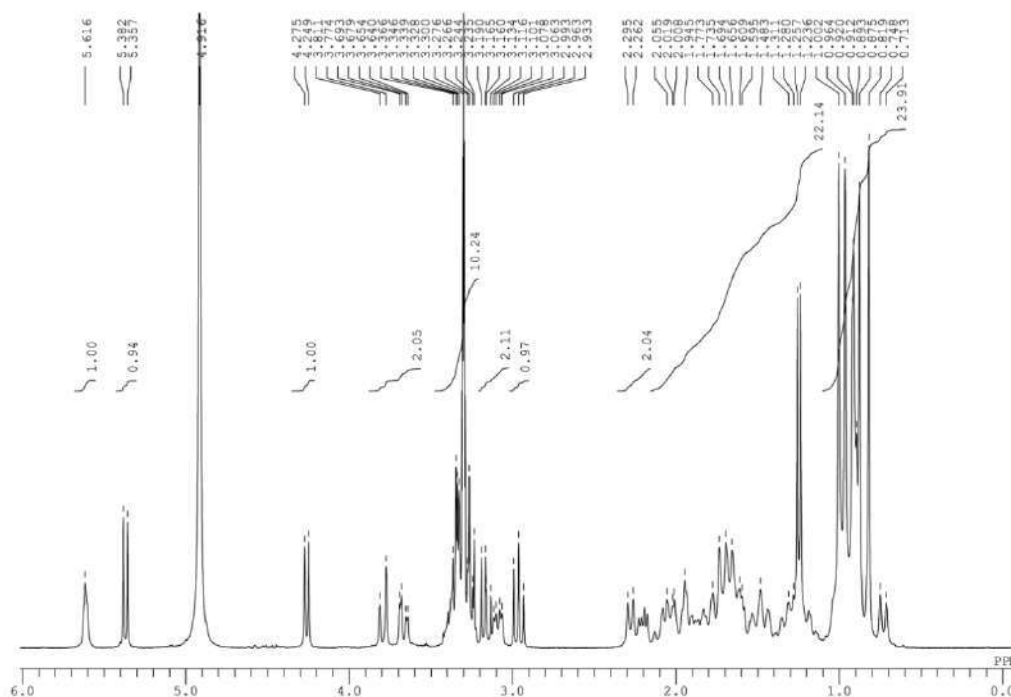


Figure IV-25: Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B7

Le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-26) et DEPT 135 (Figure IV-27) sont similaires à ceux du composé **C9** avec l'apparition des pics d'un hexose supplémentaire :

- L'apparition des pics de C-12 et C-13 à δ 130.9 ppm et δ 133.3 ppm respectivement
- Un pic apparaît à δ 55.3 ppm attribuable à C-18
- Deux signaux à C-27 (δ 179.2 ppm) et à C-28 (δ 177.9 ppm) caractéristique de deux groupes carboxyliques : dont C-27 est libre et C-28 est substitué.
- Un signal à 90.67 ppm caractéristique d'un carbone lié à un hydroxyle.
- Les signaux appartenant aux sucres sont C-1' (δ 95.7) C-2' (δ 74) C-3' (δ 78.4) C-4' (δ 71.2) C-5' (δ 78.8) C-6' (δ 62.5) correspondent au glucose C-1'' (δ 106.7) C-2'' (δ 76.0) C-3'' (δ 78) C-4'' (δ 77.1) C-5'' (δ 73) C-6'' (δ 18.3) correspondent au quinovose.

Le composé **B7** est identifié comme 3-*O*- β -D-quinovopyranoside quinic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester (Figure IV-28). Les valeurs de déplacements chimiques (Tableau IV-5) sont accord parfait avec celles de la littérature [103, 106]. Ce composé a été isolé pour la première fois de la plante *Iseria Haenkena* [103], il a été déjà identifié dans *Z. coccineum*, *Z. geslini*, *Z. album* et *Z. cornutum*. On rapporte la séparation de ce composé de *Z. gaetulum* pour la première fois.

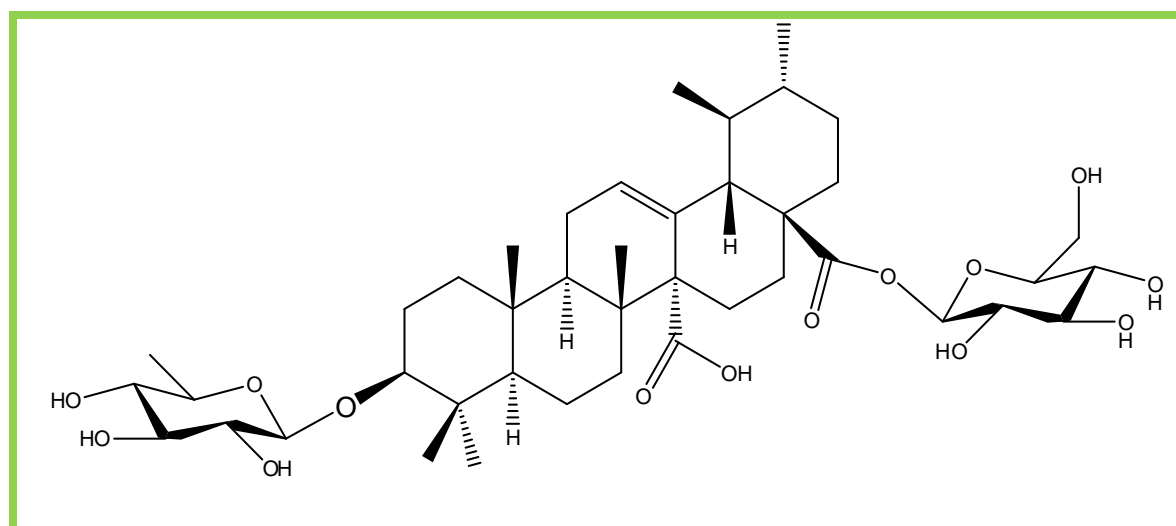


Figure IV-26 : Structure du composé B7 ; 3-*O*- β -D-quinovopyranoside quinic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester

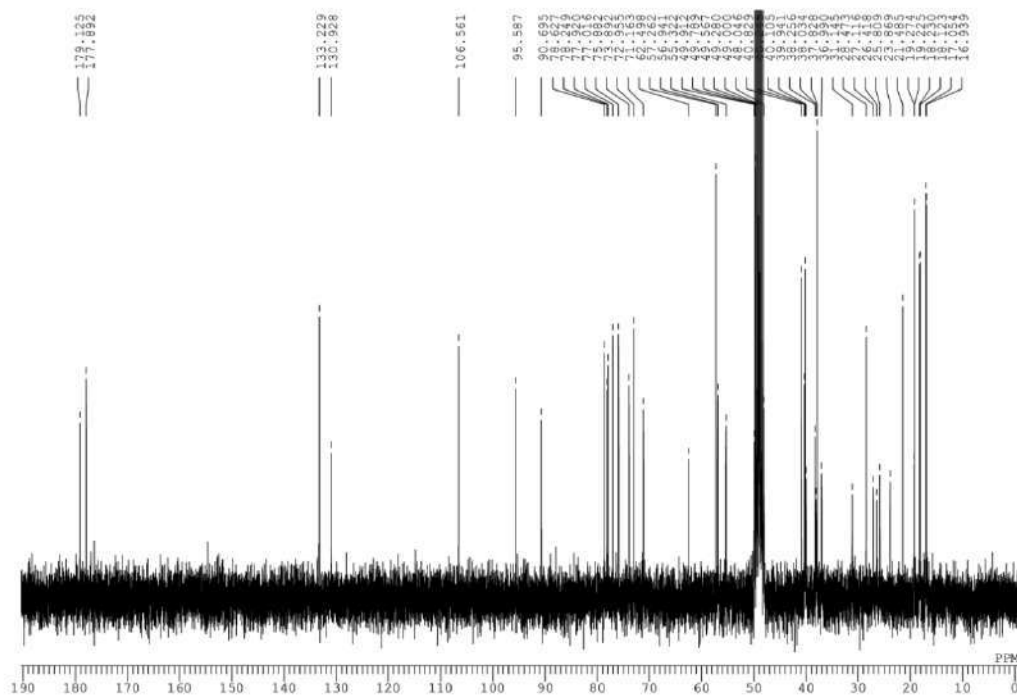


Figure IV-27: Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B7

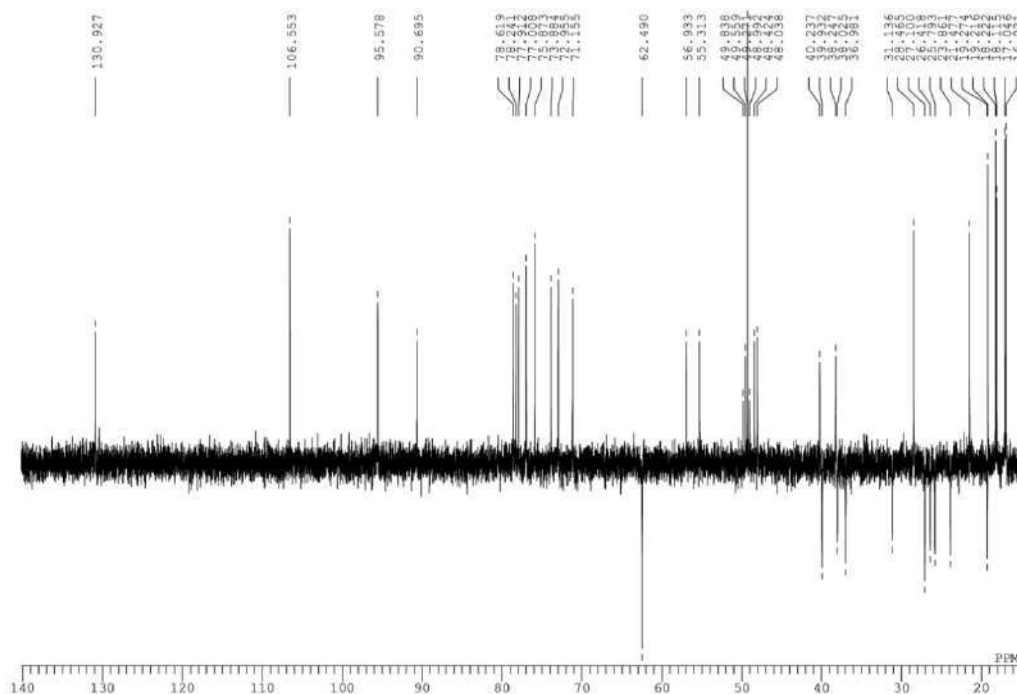


Figure IV-28 : Spectre DEPT 135 du composé B7

Tableau IV-5: Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B7 (δ en ppm et J en Hz)

position	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm J Hz		DEPT	position	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm J Hz		DEPT	
1	39.3	α	1.002	CH2	22	37.0	α	1.002	CH2	
		β	1.773				β	1.735		
2	27.1	α	1.002	CH2	23	28.5	1.002 <i>s</i>		CH3	
		β	1.773							
3	90.7	3.098 <i>dd</i> 11.4 4.5		CH	24	17.1	0.819 <i>s</i>		CH3	
4	40.1			C	25	19.2	0.875 <i>s</i>		CH3	
5	56.9	0.73 <i>dl</i> 10.5		CH	26	16.9	0.964 <i>s</i>		CH3	
6	19.3	α	1.483	CH2	27	179.2			C	
		β	1.602							
7	38	α	1.43	CH2	28	177.9			C	
		β	1.656							
8	40.8			C	29	18.1	0.912 <i>sl</i>		CH3	
9	48	2.09 <i>dd</i> 11.1 5.7		CH	30	21.5	0.92 <i>sl</i>		CH3	
10	37.8			C	Quinovose	1'	106.6	4.26 <i>d</i> 7.8		CH
11	23.9	1.945		CH2		2'	75.9	3.165 <i>t</i> 7.5		CH
12	130.9	5.616 <i>sl</i>		CH		3'	78.0			CH
13	133.3			C		4'	77.0	2.96 <i>t</i> 9.0		CH
14	57.3			C		5'	73.0	3.24 <i>m</i>		CH
15	25.8	α	1.694	CH2		6'	18.2	1.246 <i>d</i> 6.3		CH3
		β	2.031							
16	26.4	α	1.694	CH2	Glucose	1''	95.6	5.369 <i>d</i> 7.5		CH
		β	2.031			2''	73.9	3.19 <i>t</i> 7.5		CH
17				C		3''	78.3			CH
18	55.3	2.278 <i>d</i> 9.9		CH		4''	71.2			CH
19	40.4	1.002		CH		5''	78.6			CH
21	31.2	α	1.002	CH2		6''	62.5	α	3.792 <i>dl</i> 11.1	
		β	1.54		β			3.666 <i>dd</i> 11.7 ; 4.2		

IV-4-4. Composé CA6

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-29) est très proche du composé CA9 où la partie aglycone est identique, il s'agit donc d'un acide quinovique :

- Un seul proton anomérique est observé dans le spectre RMN ^1H à δ 5.37 ppm.

Donc le composé CA6 est un acide quinovique lié à un sucre.

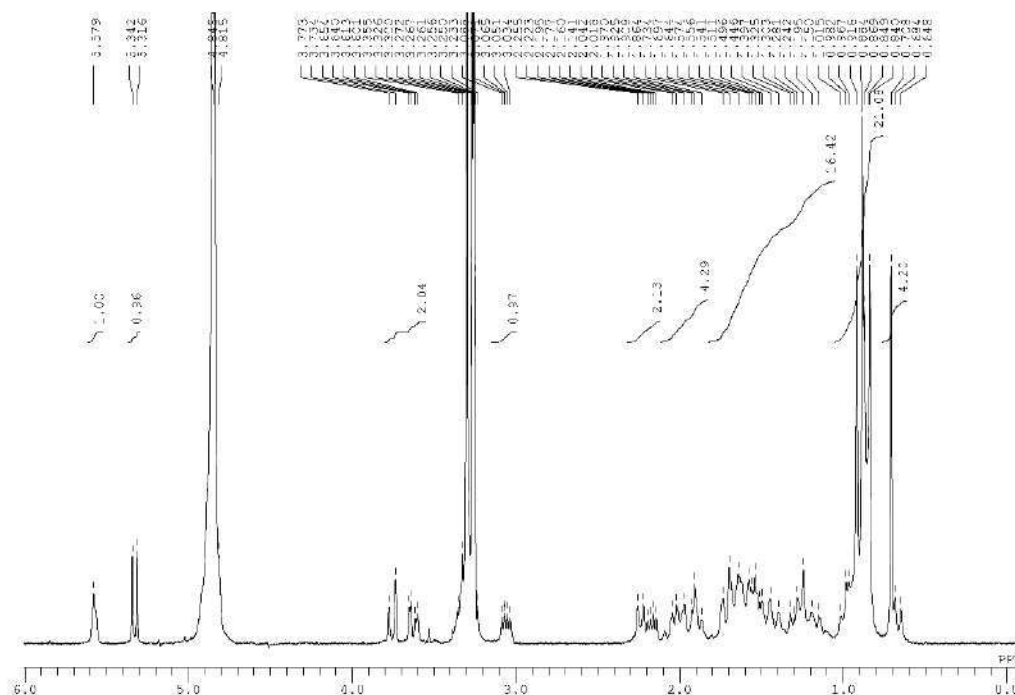


Figure IV-29 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé CA6

Selon le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-30) on distingue trente-six signaux indiquant la présence d'un seul sucre et un aglycone triterpénoïdes. Et selon le spectre DEPT 135 (Figure IV-31) on compte six carbones tertiaires, dix carbones secondaires et douze carbones primaires. On déduit ainsi sept carbones quaternaires.

- Les signaux appartenant au sucre sont C-1' (δ 95.6) C-2' (δ 73.9) C-3' (δ 78.3) C-4' (δ 71.2) C-5' (δ 78.7) C-6' (δ 62.5). Ces valeurs appartiennent au glucose. La forme β -D-pyranoside du glucose est déduit par la valeur du déplacement chimique du proton anomérique ($\delta=5.37$ ppm, d , $J=8.1$ Hz).
- L'absence de liaison éther à C-3 a un effet de blindage où la valeur du déplacement chimique de C-3 est déplacée vers le champ le plus fort (δ 79.6 ppm).
- Les valeurs de déplacement chimique pour C-12 et C-13 sont δ 130.9 et δ 133.3 qui sont caractéristiques de la structure α -amyrine.

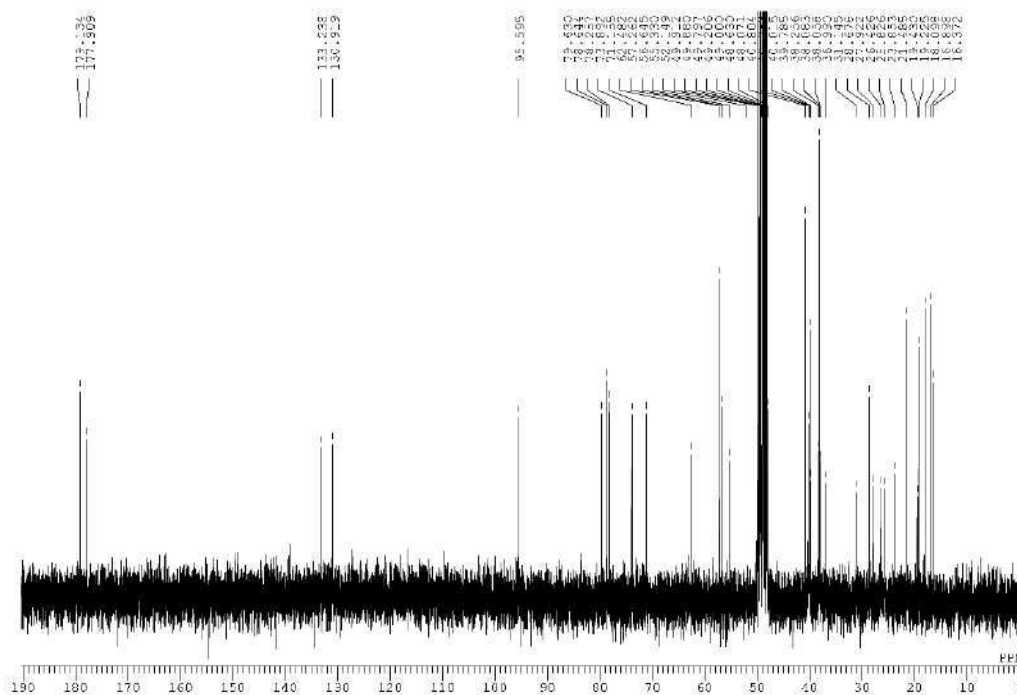


Figure IV-30 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé CA6

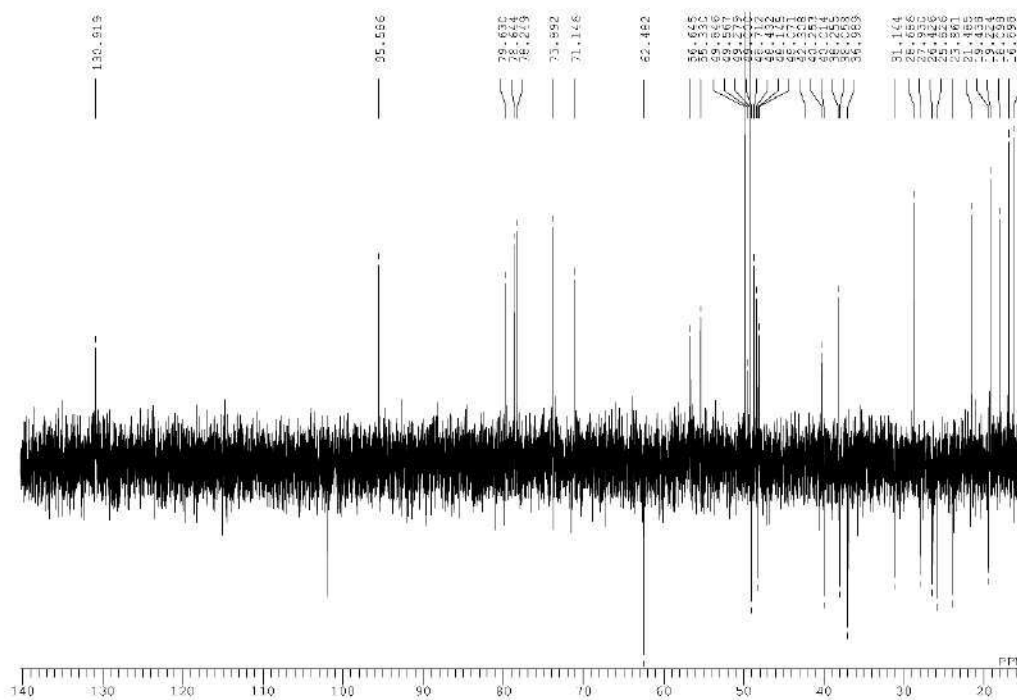


Figure IV-31 : Spectre DEPT 135 du composé CA6

- On aperçoit la présence de deux groupes carboxyliques à C-27 (δ 179.1 ppm) et à C-28 (δ 177.9 ppm). le groupe carboxyle estérifié C-28 apparaît à δ 177.9 ppm décalé dans le domaine fort par $\Delta\delta$ 3.8 ppm par rapport au groupe carboxyle libre C-28 (δ 181.7 ppm).

La présence d'une unité β -glucose liée au groupe carboxyle à C-28 de l'aglycone est en accord avec le signal anomérique du RMN ^1H à δ 5.37 ppm ($\text{H-1}'$, d , $J=8.1$ Hz) et en agrément total avec la résonance du carbone C-1' observé à δ 95.6 ppm. La liaison de l'ester glycosylique a été proposée en C-28 de l'acide quinovique sur la base des résonances de C-12, C-13 et C-14 (δ 130.1, δ 134.4 et δ 59.3 ppm, respectivement) et de C-27 (δ 179.5 ppm) et C-28 (δ 178.5 ppm) de groupes carboxyle. Toutes ces valeurs correspondaient bien à celles trouvées dans un ester glycosylique en C-28 [107, 108].

Les valeurs de déplacement chimiques (Tableau IV-6) sont en accord avec la littérature [106, 109]. la structure proposée est un quinovic acid 28- O - β -D-glucopyranoside ester (Figure IV-32). Ce composé est isolé pour la première fois de la famille Zygophyllaceae.

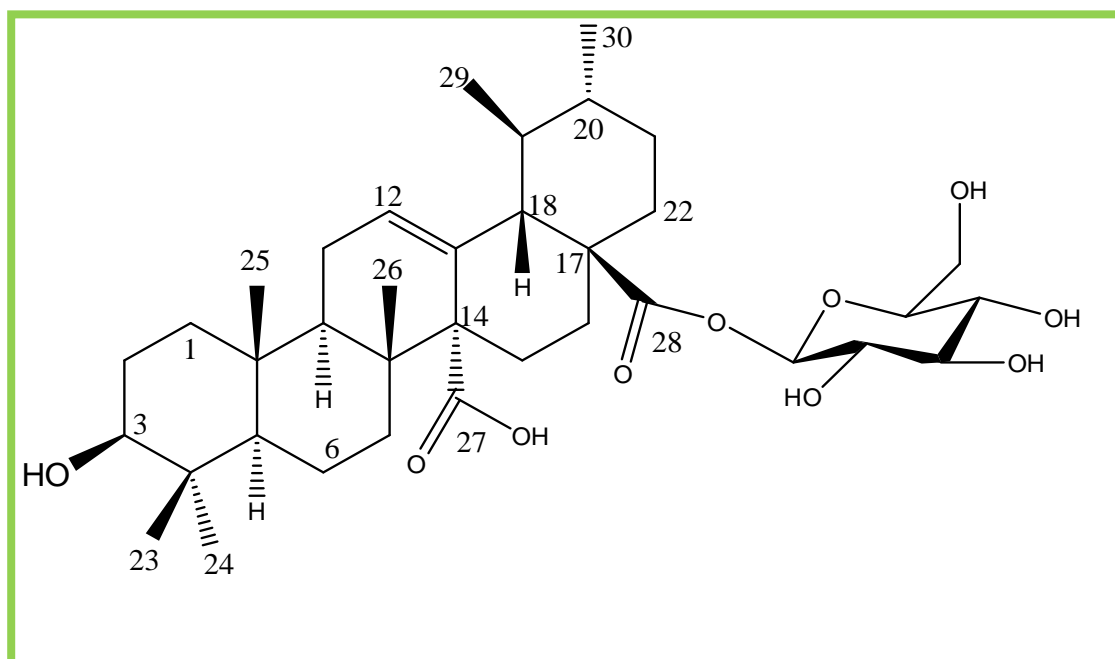


Figure IV-32 : Structure du composé CA6 ; quinovic acid 28- O - β -D-glucopyranoside ester

Tableau IV-6 : Déplacements chimiques en RMN ¹H (300MHz) et ¹³C (75MHz) dans CD₃OD du composé CA6 (δ en ppm et *J* en Hz)

positio n	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm, m, <i>J</i> Hz		DEPT	positio n	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm, m, <i>J</i> Hz		DEPT	
1	39.8	α	0.974 <i>dl</i> 4.5	CH2	19	40.3	0.91		CH	
		β	1.734							
2	27.9	α	0.974 <i>dl</i> 4.5	CH2	20	38.3	1.556		CH	
		β	1.715 <i>dl</i> 11.1							
3	79.9	3.061 <i>dd</i> 11.1; 5.1 Hz		CH	21	31.2	α	0.91	CH2	
		β	1.397							
4	40			C	22	37	α		CH2	
		β	1.557							
5	56.7	0.71 <i>d</i> 10.5		CH	23	28.7	0.918 <i>s</i>		CH3	
6	19.5	α	1.261 <i>dl</i> 11.7	CH2	24	16.9	0.708 <i>s</i>		CH3	
		β	1.446							
7	38.1	α	1.172 <i>dl</i> 13.5	CH2	25	19.2	0.84 <i>s</i>		CH3	
		β	1.557 <i>dl</i> 9.9							
8	40.8			C	26	16.4	0.884 <i>s</i>		CH3	
9	48.1	2.168 <i>dd</i> 10.5 ;5.4		CH	27	179.1			C	
10	38.1			C	28	177.9			C	
11	23.9			CH2	29	18.1	0.849 <i>sl</i>		CH3	
12	130.9	5.579 <i>sl</i>		CH	30	21.5	0.869 <i>sl</i>		CH3	
13	133.3			C	Glucose	1'	95.6	5.329 <i>d</i> 7.8		CH
14	57.3			C		2'	73.9			CH
15	25.8	α	1.557	CH2		3'	78.3			CH
		β	2.006							
16	26.4	α	1.557	CH2		4'	71.2			CH
		β	2.006							
17	49.6			C		5'	78.7			CH
18	55.3	2.239 <i>d</i> 9.6		CH		6'	62.5	α	3.753 <i>dl</i> 11.7	CH2
		β	3.626 <i>dd</i> 12.3. 4.2							

IV-4-5. Composé B8

Les spectres RMN ^1H (Figure IV-33), ^{13}C (Figure IV-34) et DEPT 135 (Figure IV-35) sont identiques avec ceux du composé **CA5**. Il s'agit donc d'un quinovose attaché à un acide quinovique au C-3. La différence est enregistrée au niveau du sucre.

Un effet déblindage remarqué sur C-2' (δ 82.0 ppm) et sur H-2' (δ 4.043 ppm) [48]. Le décalage des déplacements chimique vers le champ faible de H-2' ($\Delta\delta=0.88$ ppm) et de C-2' ($\Delta\delta=6.1$ ppm) indique qu'un groupe sulfate est attaché au C-2' du quinovose [45].

Les valeurs de déplacement chimiques, illustrées dans le tableau IV-7, sont en accord avec la littérature [48]. Le composé **B8** est un 3-O- β -D-2-O-sulfonylquinovopyranoside quinovic acid (Figure IV-36), il est appelé aussi Zygophyloside D, isolé pour la première fois de *Z. propinquum* [48]. Il a été identifié aussi dans *Z. coccineum* et *Z. aegyptium*. On rapporte la séparation de ce composé pour l'espèce *Z. gaetulum* pour la première fois.

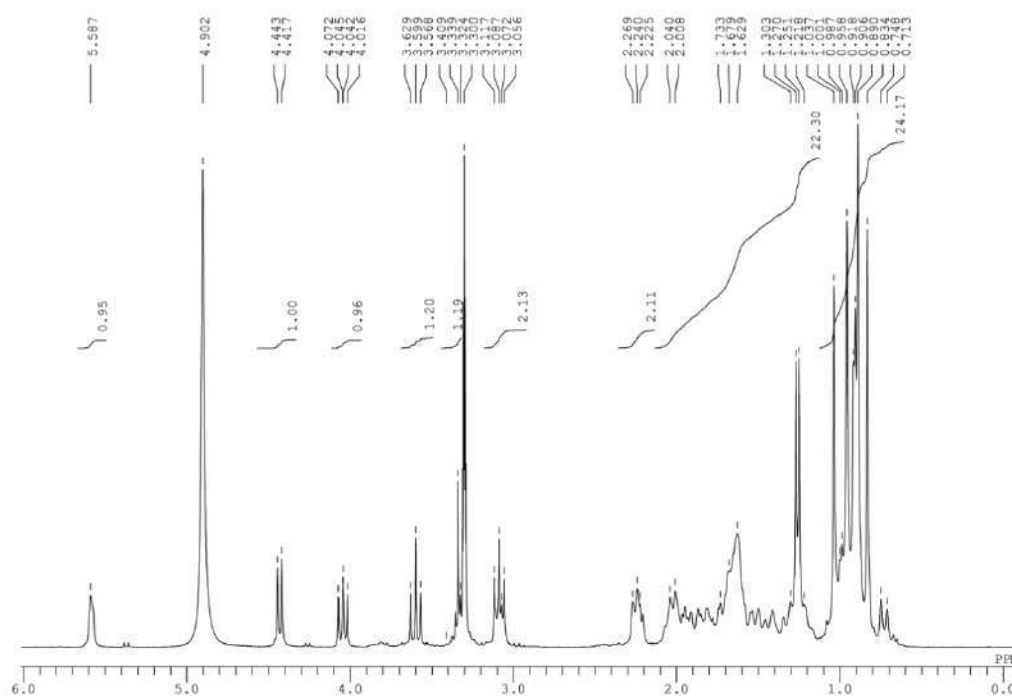


Figure IV-33 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B8

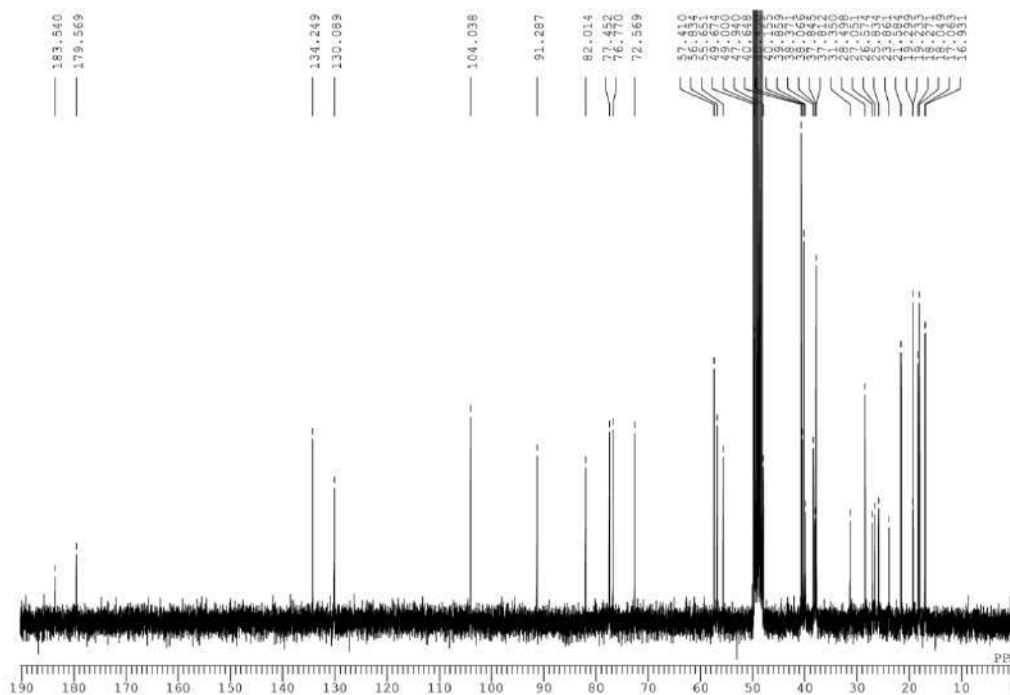


Figure IV-34 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B8

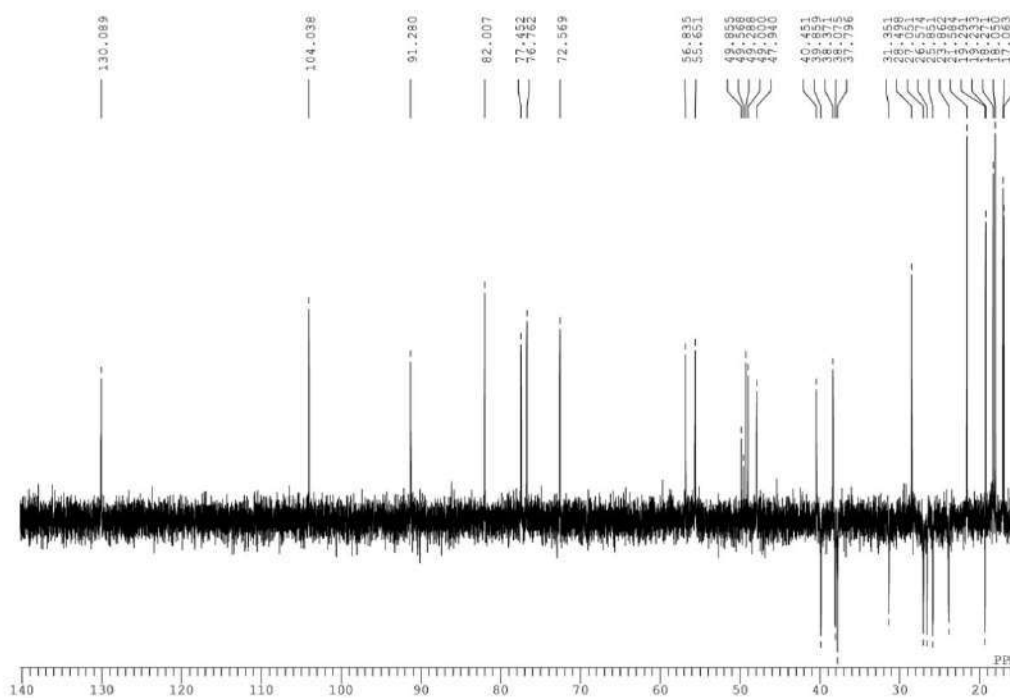


Figure IV-35 : Spectre DEPT 135 du composé B8

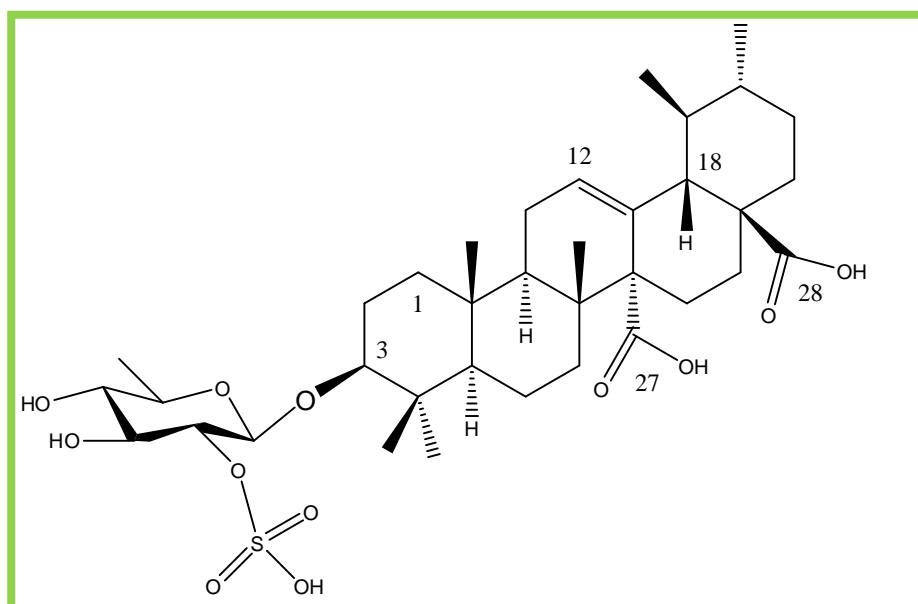


Figure IV-36 : Structure du composé B8 ; 3-*O*- β -D-2-*O*-sulfonylquinovopyranoside quinovic acid = Zygophyloside D

Tableau IV-7 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B8 (δ en ppm et J en Hz)

position	δ (C) ppm	δ (H) ppm, m, j Hz	DEPT	position	δ (C) ppm	δ (H) ppm, m, j Hz	DEPT
1	39.9	α 1.037 β 1.733	CH2	19	40.5	1.037	CH
2	27.1	α 1.037 β 1.733	CH2	20	38.4	1.67	CH
3	91.3	3.087 <i>dd</i> 9.3 4.8	CH	21	31.4	α 1.037 β 1.48	CH2
4	40.2		C	22	37.8	α 1.037 β 1.733	CH2
5	56.8	0.73 <i>d</i> 10.5	CH	23	28.4	1.037 <i>s</i>	CH3
6	19.3	α 1.41 β 1.50	CH2	24	17.1	0.834 <i>s</i>	CH3
7	38.1	α 1.34 β 1.56	CH2	25	19.2	0.89 <i>s</i>	CH3
8	40.6		C	26	16.9	0.958 <i>s</i>	CH3
9	47.9	2.21	CH	27	179.6		C
10	37.8		C	28	183.5		C
11	23.9	α 1.037 β 1.97	CH2	29	18.3	0.906 <i>sl</i>	CH3
12	130.9	5.587 <i>sl</i>	CH	30	21.6	0.918 <i>sl</i>	CH3
13	134.2		C	1'	104.0	4.43 <i>d</i> 7.8	CH
14	57.4		C	2'	82.0	4.043 <i>t</i> 7	CH
15	25.8	α 1.629 β 2.024	CH2	3'	76.8	3.599 <i>t</i>	CH
16	26.6	α 1.629 β 2.024	CH2	4'	77.5	3.09 <i>t</i>	CH
17	49.7		C	5'	72.6	3.35 <i>m</i>	CH
18	55.7	2.254 <i>d</i> 8.7	CH	6'	18.1	1.26 <i>d</i> 5.7	CH3

Quinovose

IV-4-6. Composé B10

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-37) est superposable sur celui de **B7**. On enregistre l'apparition des pics caractéristiques de la structure α -amyrine.

- Un signal à δ 5.61 ppm caractéristique du proton oléfinique.
- Deux protons anomériques à δ 4.29 ppm (1H ;*d* ; $J=7.8$ Hz) et à δ 5.36 ppm (1H ;*d* ; $J= 8.1$ Hz) confirmant la forme β -D-pyranoside des deux sucres.
- On remarque la disparition du pic sous forme de doublet à 1.24 ppm caractéristique de H-6' du quinovose par rapport au spectre RMN du B7.
- Un signal sous forme de doublet de doublets à δ 3.125 (1H, $J=8.7$ et 4.2 Hz) attribuable au proton H-3. La valeur de constante de couplage 15.6 Hz indique une orientation α -axiale du H-3 et par conséquent une orientation β -équatoriale du groupement OH de la même position.
- Un signal sous forme de doublet d'une intégrale d'un proton à δ 2.27 ppm (1H, $J=9.6$ HZ) attribuable à H-18. La multiplicité indique la présence d'un méthine (CH) adjacent qui sera le C-19.

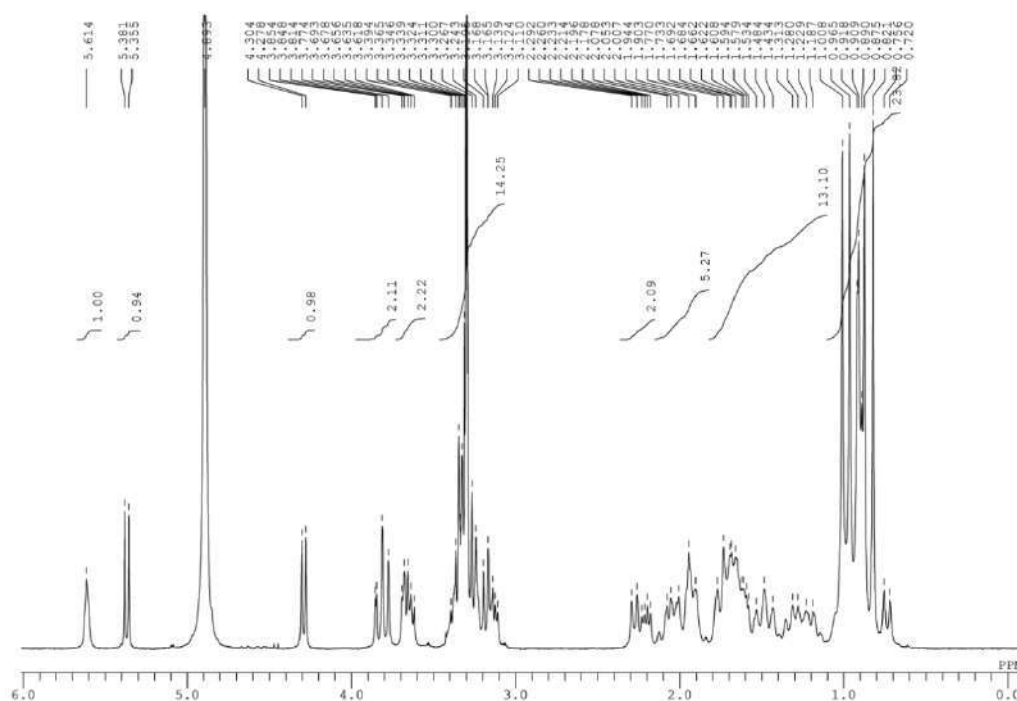


Figure IV-37 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B10

Les spectres RMN ^{13}C (Figure IV-38) et DEPT 135 (Figure IV-39) sont similaires avec celui du composé **B7**; la partie génine est identique, quelque différence enregistrée au niveau des pics du deuxième sucre:

- Les signaux appartenant aux sucres sont C-1' (δ 95.6) C-2' (δ 73.9) C-3' (δ 78.3) C-4' (δ 71.1) C-5' (δ 78.7) C-6' (δ 62.5) et C-1'' (δ 106.7) C-2'' (δ 75.6) C-3'' (δ 78.2) C-4'' (δ 71.6) C-5'' (δ 77.7) C-6'' (δ 62.8). Les deux sucres correspondent au glucose.
- Les valeurs de déplacement chimique de deux carbones oléfiniques dont un carbone quaternaire à δ 133.3 ppm et un carbone primaire à δ 130.8 ppm attribuable à C-13 et C-12 respectivement, caractéristiques de la structure α -amyrine.
- Deux carbones carboxyliques C-27 (δ 179.2 ppm) et C-28 (δ 177.9 ppm), un effet blindage de C-28 ($\Delta\delta=3.8$ ppm) par rapport au carboxyle libre C-28 (δ 181.7 ppm), indiquant que C-28 est engagé dans une liaison ester.
- Un signal à δ 90.67 ppm caractéristique d'un carbone lié à un oxygène.

On déduit alors qu'il s'agit d'un acide quinovique lié à deux unités de glucose, la première par une liaison éther à la position C-3 et la deuxième par une liaison ester à la position C-28.

Les valeurs de déplacement chimique, récapitulées dans le tableau IV-8, sont identiques avec celle de $3\beta\text{-O-}\beta\text{-D-glucopyranoside quinovic acid 28-}\beta\text{-O-glucopyranoside ester}$ [101, 106], sa structure est donnée dans la figure IV- 40. Ce composé a été isolé pour la première fois de *Guettarda Platypoda* [101]. Pour le genre *Zygophyllum*, il a été déjà séparé de *Z. melongena* [39], *Z. gaetulum*, *Z. coccineum*, *Z. dumosum* et *Z. fabago*.

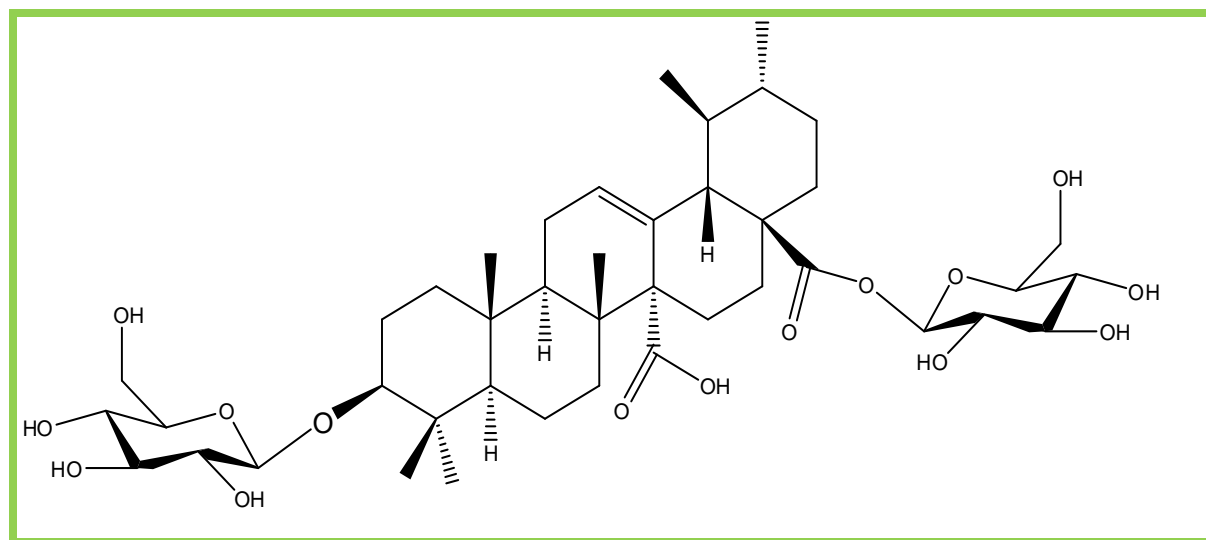


Figure IV-38 : Structure du composé B10 ; $3\beta\text{-O-}\beta\text{-D-glucopyranoside quinovic acid 28-}\beta\text{-O-glucopyranoside ester}$

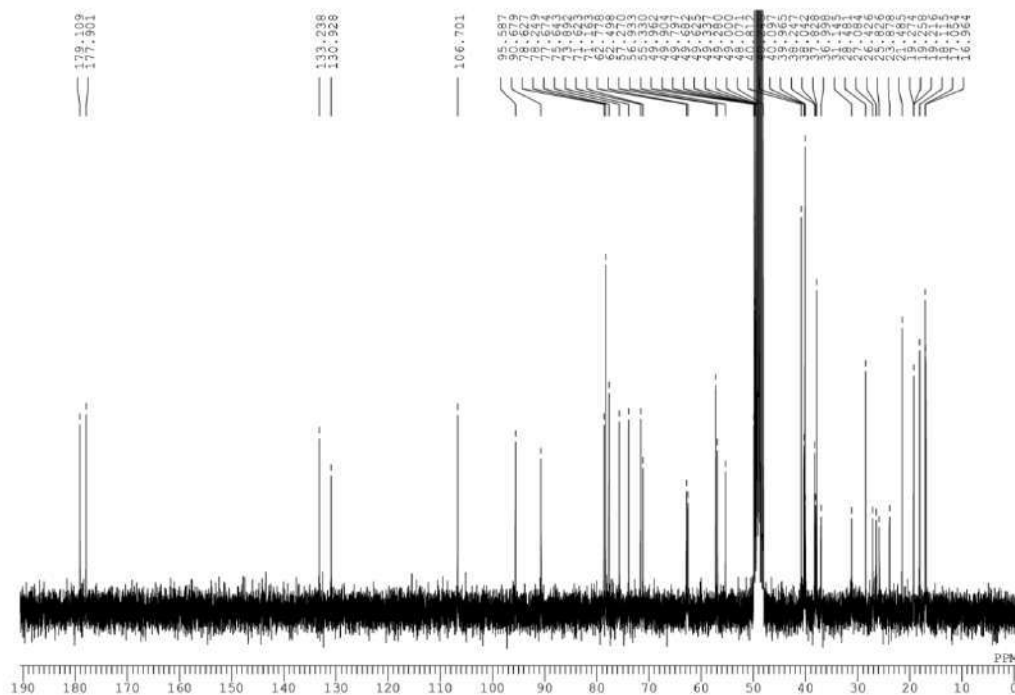


Figure IV-39 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B10

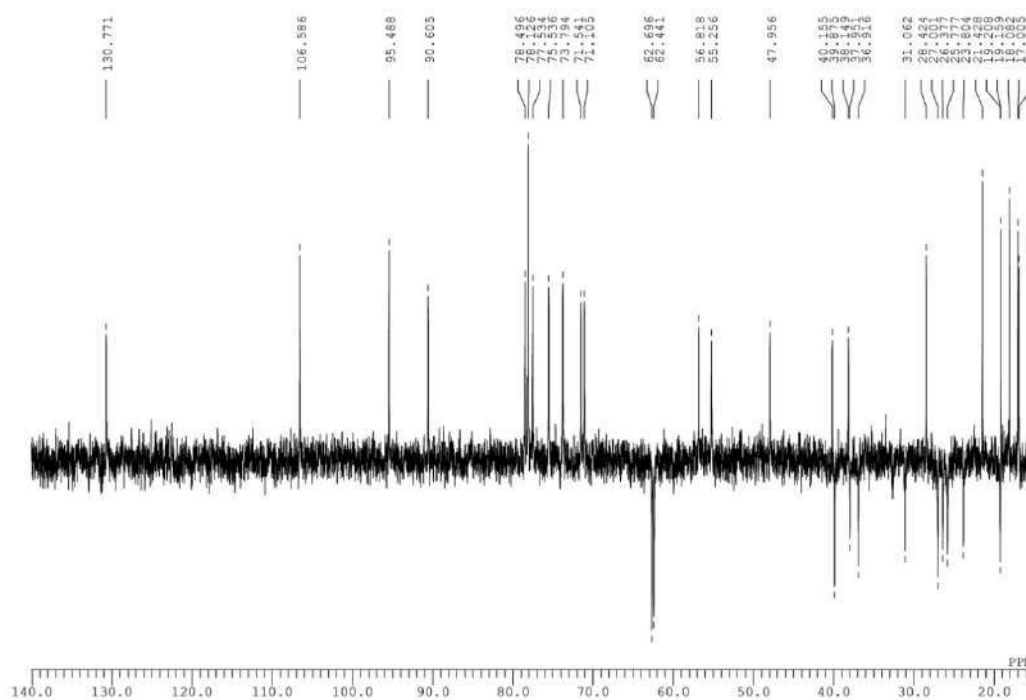


Figure IV-40 : Spectre DEPT 135 du composé B10

Tableau IV-8: Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B10 (δ en ppm et J en Hz)

position	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm J Hz		DEPT	position	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm J Hz		DEPT		
		α	β				α	β			
1	40.0	α	1.008	CH2	22	37.0	α	1.008	CH2		
		β	1.733				β	1.69			
2	27.0	α	1.008	CH2	23	28.5	1.008 <i>s</i>		CH3		
		β	1.77								
3	90.6	3.125 <i>dd</i> 8.7;4.2		CH	24	17.0	0.821 <i>s</i>		CH3		
4	40.1			C	25	19.2	0.875 <i>s</i>		CH3		
5	56.9	0.738 <i>d</i> 10.8		CH	26	16.9	0.965 <i>s</i>		CH3		
6	19.2	α	1.296 <i>dl</i> 9.9	CH2	27	179.2			C		
		β	1.509 <i>dl</i> 15								
7	38.0	α	1.208 <i>dl</i> 12.6	CH2	28	177.9			C		
		β	1.601 <i>dd</i> 8.7;4.5								
8	40.8			C	29	18.1	0.909 <i>sl</i>		CH3		
9	48.1	2.205 <i>dd</i> 10.8 ;5.4		CH	30	21.4	0.918 <i>sl</i>		CH3		
10	37.8			C	Glucose	1'	106.6	4.291 <i>d</i> 7.8		CH	
11	23.9	α	1.944	CH2		2'	75.6			CH	
		β									
12	130.8	5.614 <i>sl</i>		CH		3'	78.2			CH	
13	133.3			C		4'	71.6			CH	
14	57.3			C		5'	77.6	3.35		CH	
15	25.8			CH2		6'	62.7	3.831 <i>d</i> 12.0 1.8 3.645 <i>dd</i> 11.4 5.1		CH2	
16	26.4			CH2		Glucose	1''	95.5	5.368 <i>d</i> 7.8		CH
17				C			2''	73.8			CH
18	55.3	2.276 <i>d</i> 9.6		CH			3''	78.2			CH
19	40.2	1.008		CH			4''	71.1			CH
20	38.2	1.692		CH			5''	78.5			CH
21	31.1	α	1.008	CH2	6''		62.5	α	3.66	CH2	
		β	1.459 <i>dl</i> 15		β	3.79					

IV-4-7. Composé B11

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-41) est identique avec celui du composé **B7**, mais on enregistre des pics d'un sucre de plus. Donc la structure est similaire à un 3-*O*- β -D-quinovopyranose quinoic acid 28- *O*- β -D -glucopyranose ester avec une unité de sucre de plus.

- Trois protons anomériques sous forme de doublet à δ 5.37 ppm, δ 4.44 ppm et δ 4.36 ppm

Selon les spectres RMN ^{13}C (Figure IV-42) et DEPT 135 (Figure IV-43). 47 signaux enregistrés au niveau du spectre RMN ^{13}C , dont 30 carbones appartiennent à l'aglycone et 17 signaux appartiennent aux trois unités de sucres.

- Les signaux C-1' (δ 95.6), C-2' (δ 73.9), C-3' (δ 78.3), C-4' (δ 71.2), C-5' (δ 78.6) et C-6' (δ 62.5) caractéristiques de glucose.
- Les signaux C-1'' (δ 106.6), C-2'' (δ 84.1), C-3'' (δ 77.7), C-4'' (δ 76.9), C-5'' (δ 73.2) et C-6'' (δ 18.1) caractéristiques de quinoose
- Les signaux C-1''' (δ 105.2), C-2''' (δ 72.8), C-3''' (δ 74.1), C-4''' (δ 69.6), C-5''' (δ 67.4) caractéristiques d'arabinose

L'attachement de l'arabinose avec le quinoose est déduit par le changement de la valeur de déplacement chimique de C-2'' (84.1) vers le champ faible, ainsi que le changement de C-1''' (105.2). Donc on a arabinopyranose (1 \rightarrow 2) quinovopyranose.

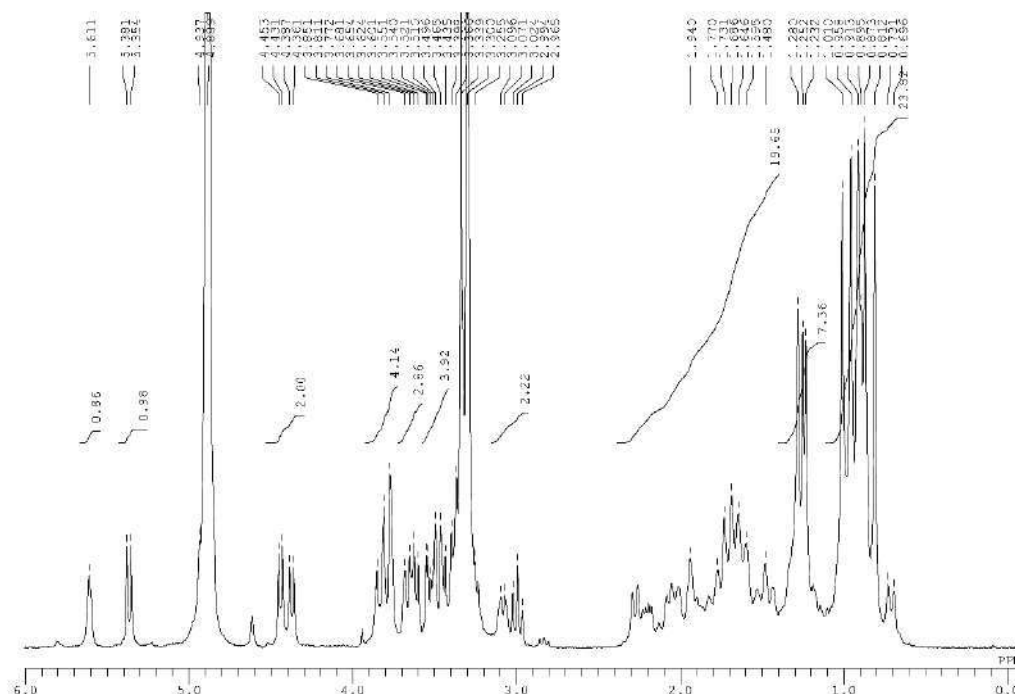


Figure IV-41: Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B11

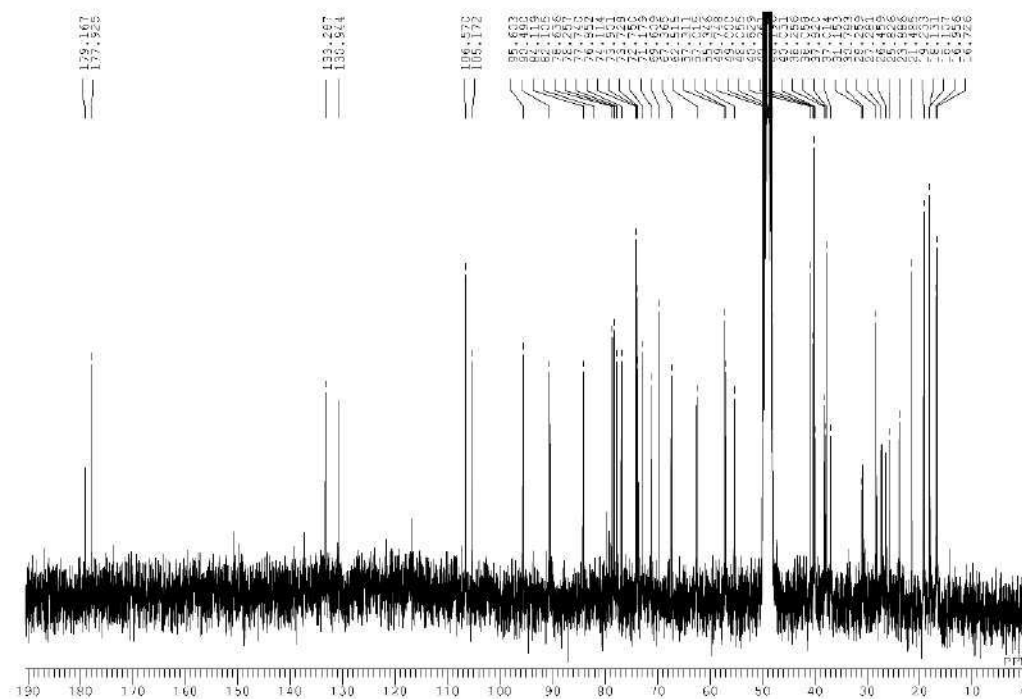


Figure IV-42: Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B11

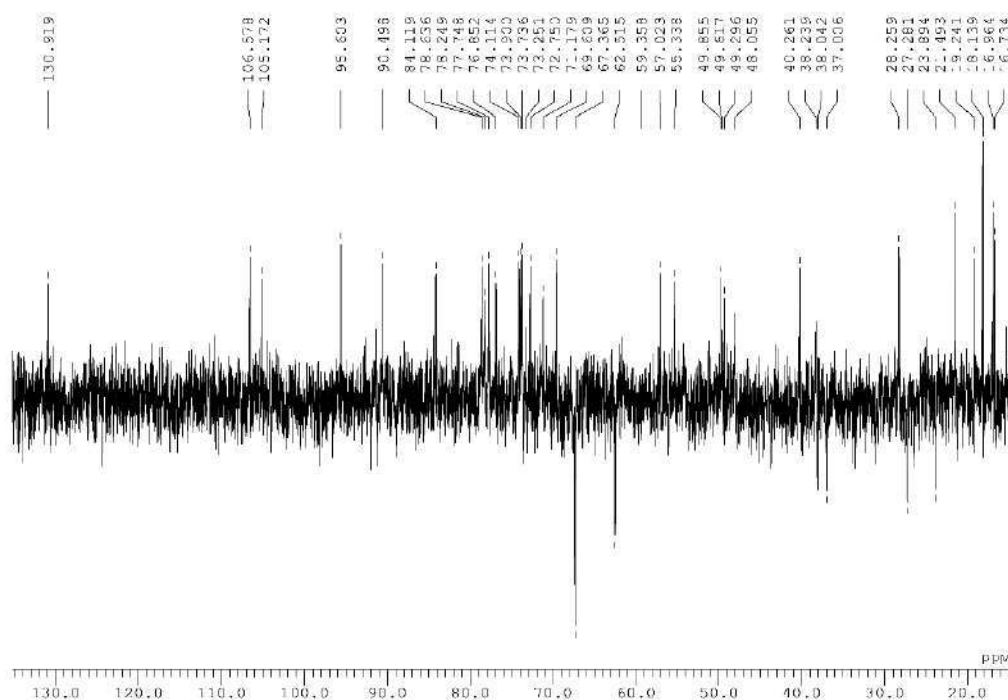


Figure IV-43: Spectre DEPT 135 du composé B11

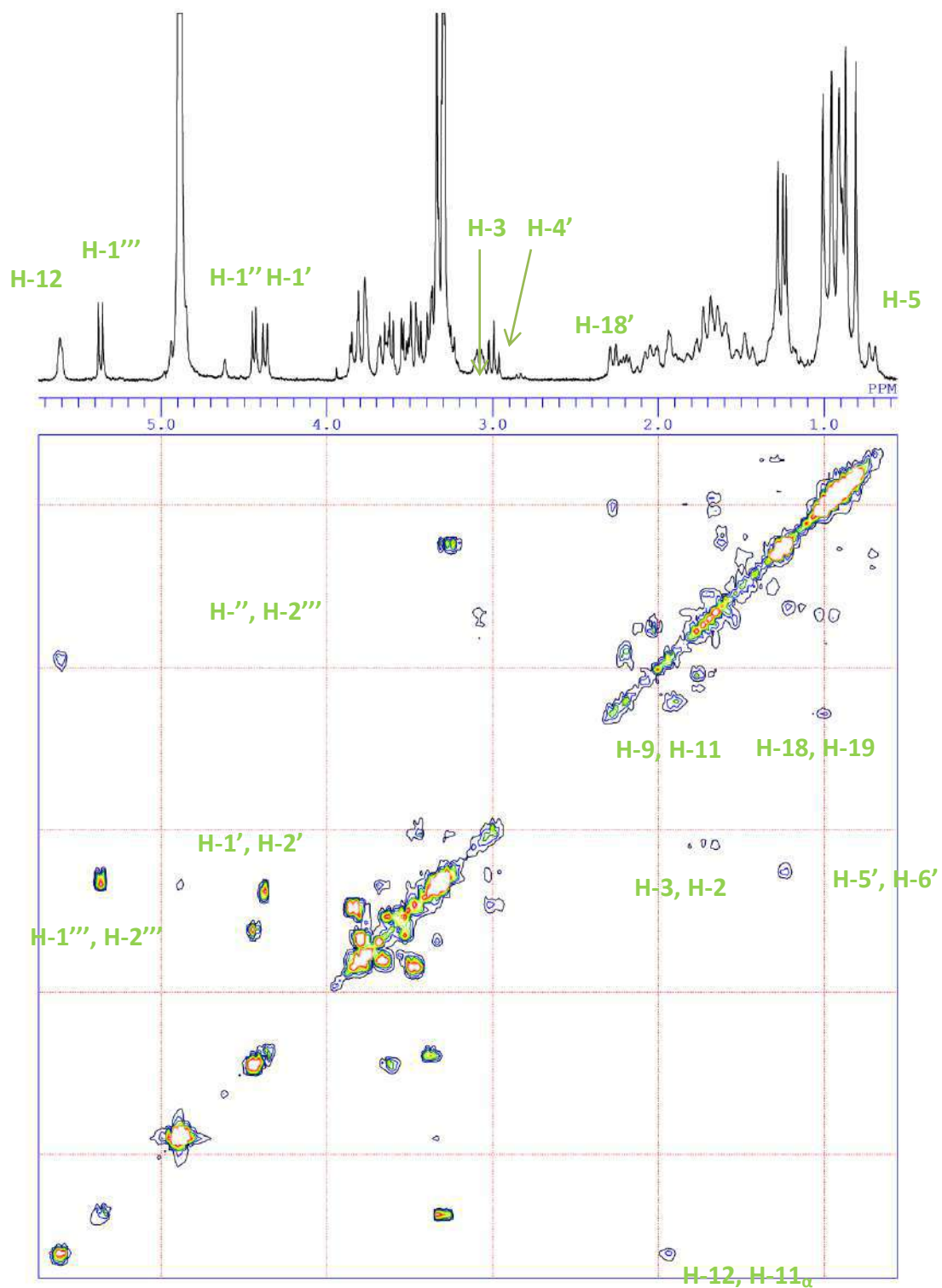


Figure IV-44 : Spectre RMN COSY du composé B11

Le spectre COSY (Figure IV-44) permet d'établir la connectivité H-H entre :

- H-12 et H-11
- H-1 et H-2, H-2 et H-3, H-3 et H-4, H-4 et H-5 et H-5 et H-6
- H-5 et H-6
- H-3 et H-2

Les valeurs de déplacement chimique (Tableau IV-9) sont en accord avec la littérature [45]. Le composé **B11** est identifié comme 3-*O*- α -L-arabinopyranoside (1 \rightarrow 2) β -D-quinovopyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester, appelé zygophyloside H (Figure IV-45). Il a été isolé pour la première fois des racines de *Z. coccineum* et *Z. dumosum*, ensuite de *Z. geslini* et *Z. cornutum*. On rapporte la séparation de ce composé de *Z. gaetulum* pour la première fois.

Tableau IV-9 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B11 (δ en ppm et *J* en Hz)

positi on	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm <i>J</i> Hz	DEPT	position	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm <i>J</i> Hz	DEPT	
1	40		CH2	24	17	0.812 <i>s</i>	CH3	
				25	19.2	0.873 <i>s</i>	CH3	
2	27.28		CH2	26	16.7	0.958 <i>s</i>	CH3	
				27	179.2		C	
3	90.5	3.083 <i>dl</i> 7.5	CH	28	177.9		C	
4	40.2		C	29	18.1	0.895 <i>sl</i>	CH3	
5	57	0.713 <i>d</i> 10.5	CH	30	21.5	0.913 <i>sl</i>	CH3	
6	19.2		CH2	Quinovose	1'	106.6	4.374 <i>d</i> 7.8	CH
7	38		CH2		2'	84.1	3.35	CH
8	40.8		C		3'	77.7		CH
9	48.1	2.2	CH		4'	76.9	2.99 <i>t</i>	CH
10	37.8		C		5'	73.2	3.35	CH
11	23.9		CH2		6'	18.1	1.24 <i>d</i>	CH3
12	130.9	5.61 <i>sl</i>	CH	Arabinose	1''	105.2	4.442 <i>d</i> 6.6	CH
13	133.3		C		2''	72.8	3.62 <i>t</i>	CH
14	57.3		C		3''	74.1	3.35	CH
15	25.8		CH2		4''	69.6		CH
16	26.5		CH2		5''	67.4		CH2
17			C	Glucose	1'''	95.6	5.367 <i>d</i> 8.1	CH
18	55.3	2.28 <i>d</i>	CH		2'''	73.9		CH
19	40.3		CH		3'''	78.3		CH
20	38.3		CH		4'''	71.2		CH
21	31.2		CH2		5'''	78.6		CH
22	37		CH2		6'''	62.5	α 3.66 β 3.79	CH2
23	28.3	1.010 <i>s</i>	CH3					

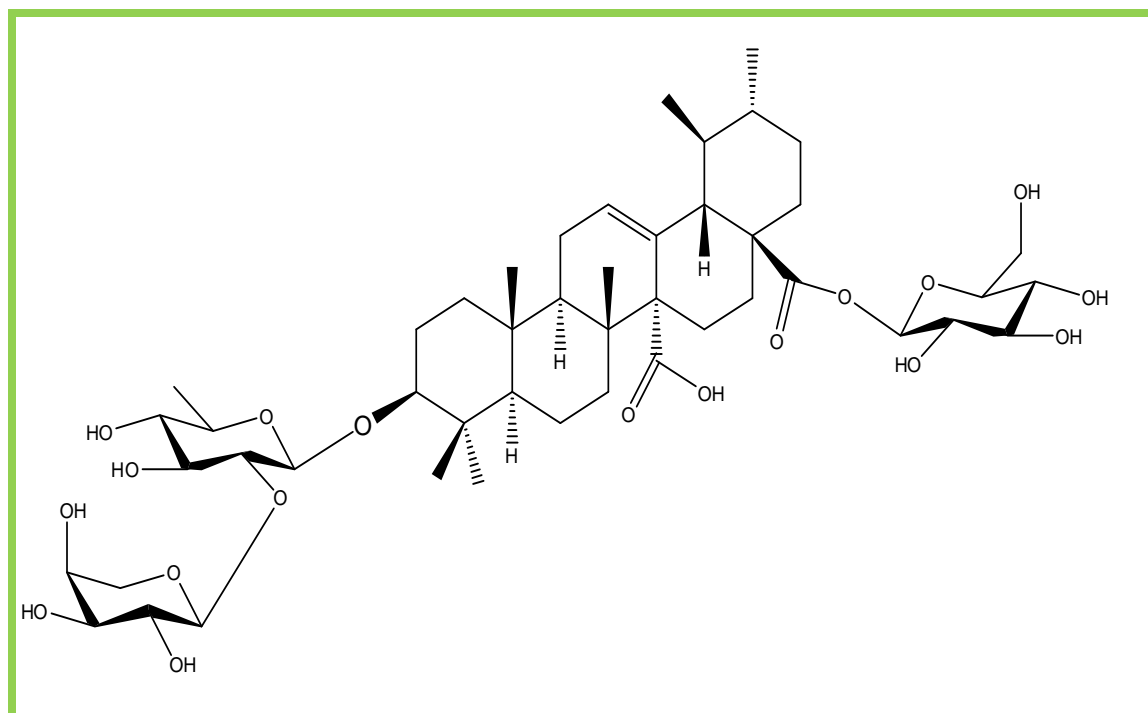


Figure IV-45 : Structure du composé B11 ; 3-*O*- α -L-arabinopyranoside (1 \rightarrow 2) β -D-quinovopyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester= zygophyloside H

IV-4-8. Composé B13

Les spectres RMN ^1H (Figure IV-46), ^{13}C (Figure IV-47) et DEPT 135 (Figure IV-48) sont superposables avec ceux du composé **B7**. On distingue seulement un changement dans le déplacement chimique du C-2'.

L'attachement d'un groupe sulfonyle au C-2' du sucre cause un déblindage et l'apparition du pic dans le champ faible à δ 82.2 ppm [48].

Les déplacements chimiques (Tableau IV-10) sont en accord avec la littérature [48]. Le composé **B13** est un 3-*O*- β -D-*O*-2-sulfonylquinovopyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside, appelé Zygophyloside E (figure IV-49). Ce composé a été isolé pour la première fois de *Z. propinquum*, puis de *Z. geslini*, *Z. gaetulum*, *Z. cornutum*, *Z. coccineum*, *Z. dumosum* et *Z. fabago*.

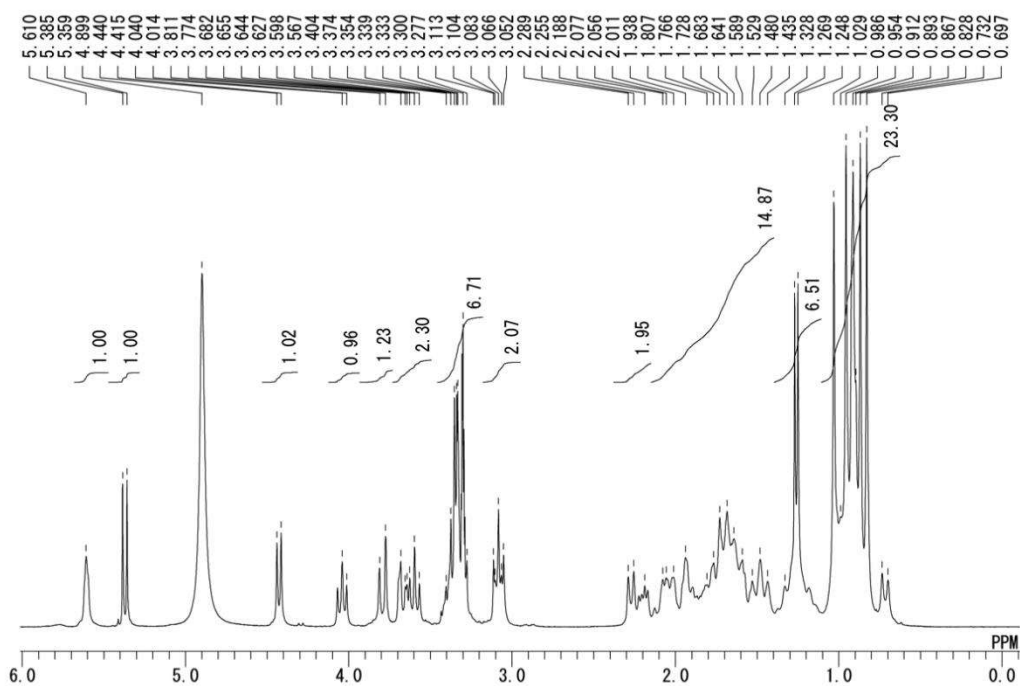


Figure IV-46 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B13

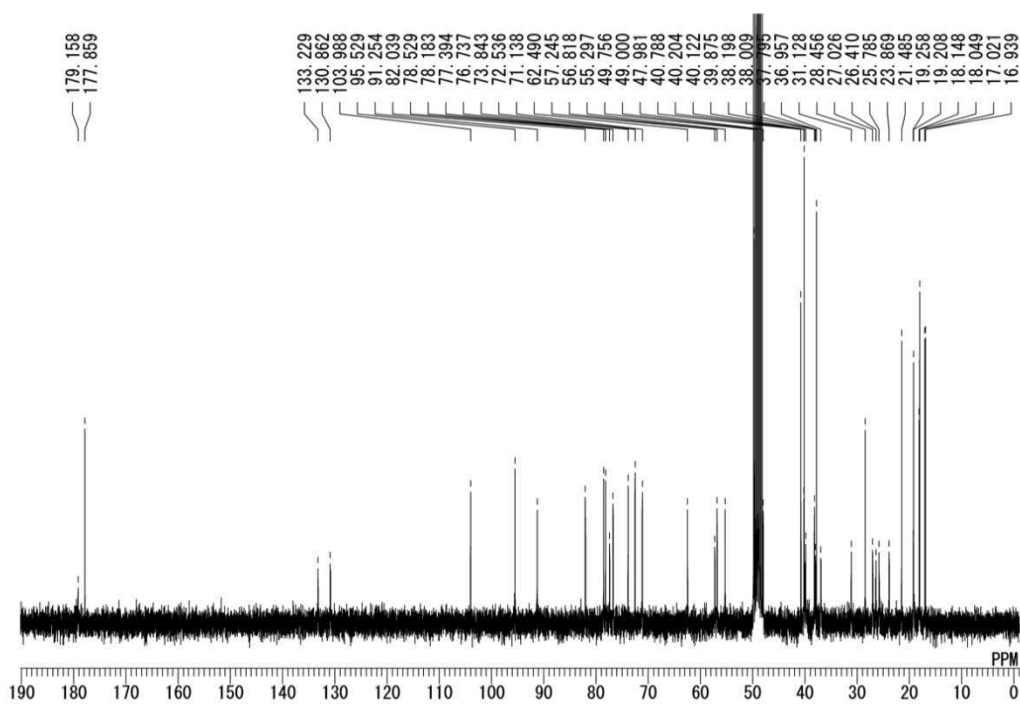


Figure IV-47: Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B13

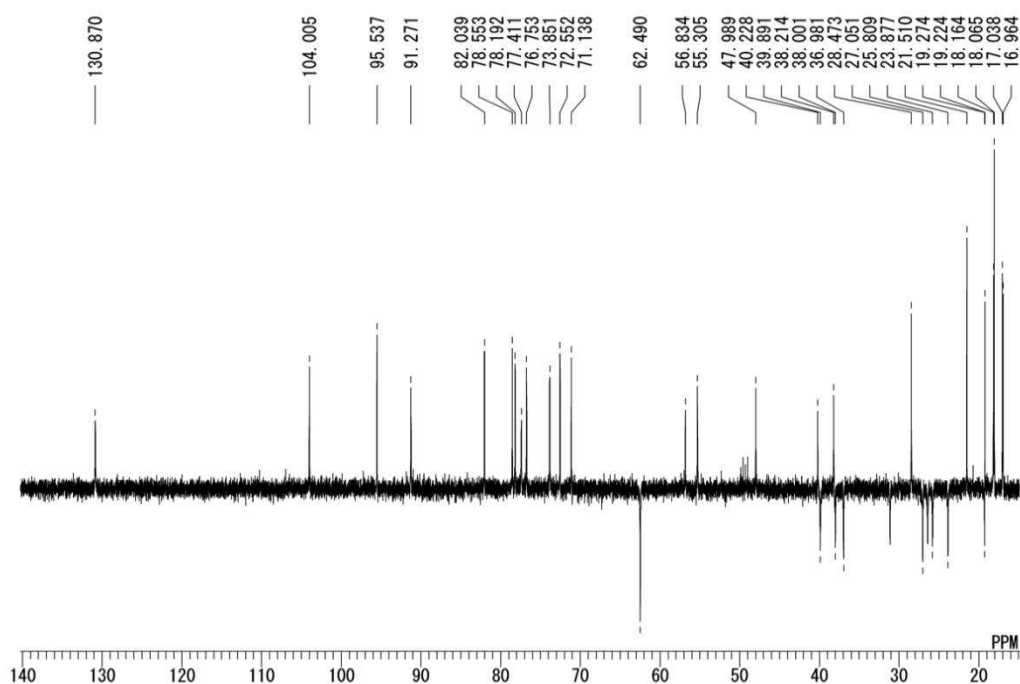


Figure IV-48 : Spectre DEPT 135 du composé B13

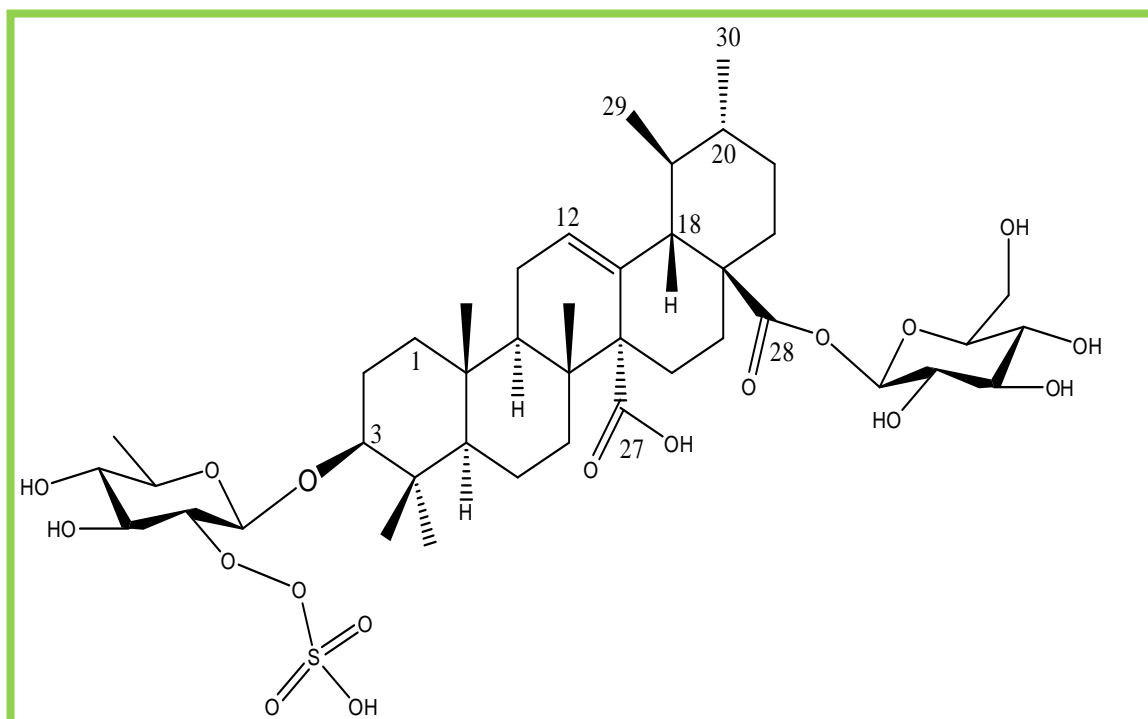


Figure IV-49: Structure du composé B13 ; 3-*O*- β -D-*O*-2-sulfonylquino pyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside=Zygophyloside E

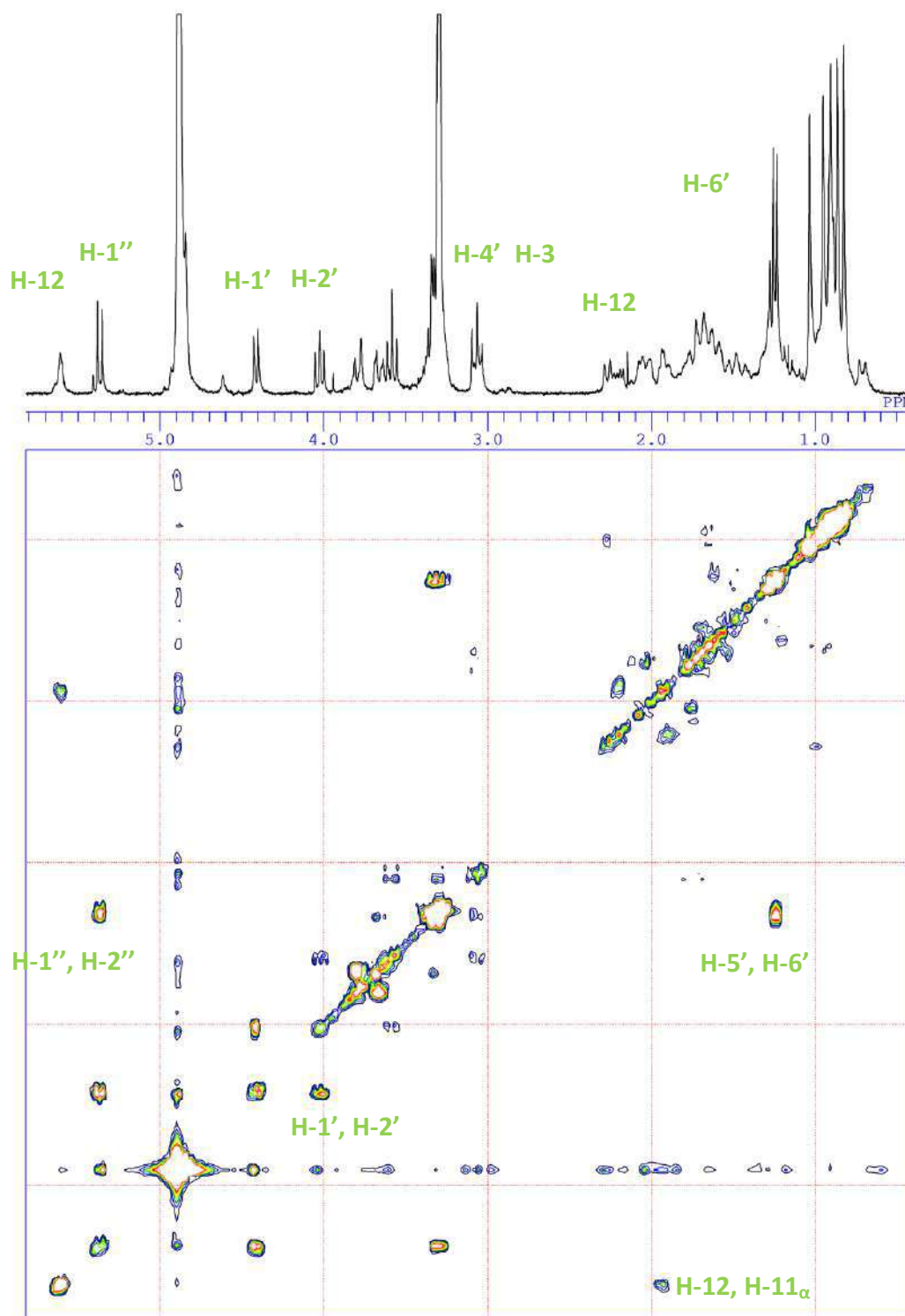


Figure IV-50 : Spectre RMN COSY du composé B13

Tableau IV-10 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B13 (δ en ppm et J en Hz)

position	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm, m, J Hz	COSY	DEPT	
1	39.891			CH2	
2	27.051			CH2	
3	91.254	3.074 <i>dd</i> 11.4 ;5.1		CH	
4	40.1			C	
5	56.9	0.714 <i>dl</i> 10.5		CH	
6	19.274			CH2	
7	38			CH2	
8	40.8			C	
9	48			CH	
10	37.8			C	
11	23.877			CH2	
12	130.859	5.61 <i>sl</i>	H-11	CH	
13	133.229			C	
14	57.3			C	
15	25.809			CH2	
16	26.4			CH2	
17	49.8			C	
18	55.3	2.272 <i>d</i> 9.92	H-19	CH	
19	40.3			CH	
20	38.2			CH	
21	31.2			CH2	
22	36.981			CH2	
23	28.5	1.029 <i>s</i>		CH3	
24	17.1	0.828 <i>s</i>		CH3	
25	19.224	0.867 <i>s</i>		CH3	
26	16.9	0.954 <i>s</i>		CH3	
27	179.158			C	
28	177.859			C	
29	18	0.893 <i>sl</i>		CH3	
30	21.5	0.912 <i>sl</i>		CH3	
Quinovose	1'	103.988	4.427 <i>d</i> 7.5	H-2'	CH
	2'	82.039	4.027 <i>t</i> 7.8	H-1', H-3'	CH
	3'	76.737	3.598 <i>t</i> 9.3	H-2', H-4'	CH
	4'	77.394	3.083 <i>t</i> 9.3	H-3', H-5'	CH
	5'	72.536	3.35	H-4', H-6'	CH
	6'	18.1	1.258 <i>d</i> 6.3	H-5'	CH3
Glucose	1''	95.529	5.372 <i>d</i> 7.8	H-2''	CH
	2''	73.843	3.35		CH
	3''	78.183	3.35		CH
	4''	71.138	3.35		CH
	5''	78.529	3.35		CH
	6''	62.49	3.792 <i>dl</i> 11.1 3.663 <i>dd</i> 11.4. 3.3		CH2

IV-4.9. Composé B14

Les spectres RMN ^1H (Figure IV-51), ^{13}C (Figure IV-52) et DEPT 135 (Figure IV-53) sont superposables avec ceux du composé **B10**. La seule différence enregistrée est au niveau du C-2'.

L'attachement d'un groupe sulfonyle au sucre à la position C-2' provoque un changement du déplacement chimique vers le champ faible.

Selon les données récoltées des spectres RMN, le composé **B14** est identifié comme 3-O- β -D-2-O-sulfonylglucopyranoside quinoïc acid 28-O- β -D-glucopyranoside ester ou appelé Zygophyloside G (Figure IV-54). Les valeurs de déplacements chimiques (Tableau IV-11) sont en accord avec la littérature [45]. Ce composé a été isolé pour la première fois des racines de *Z. coccineum* et *Z. dumosum*, puis il est isolé de *Z. gaetulum* et *Z. cornutum*.

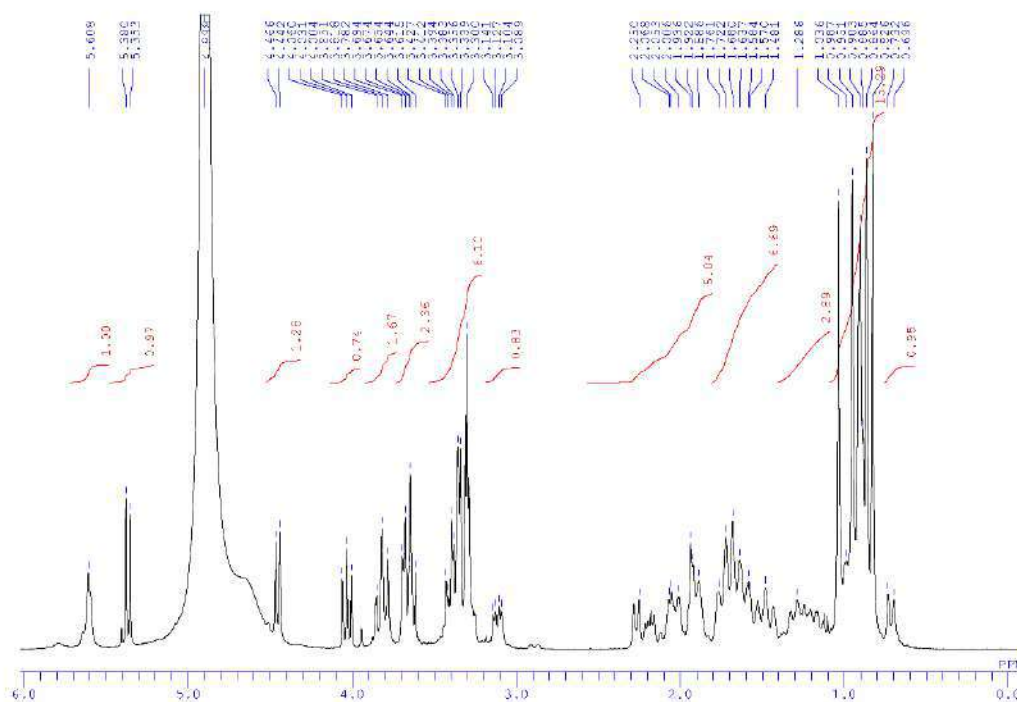


Figure IV-51: Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B14

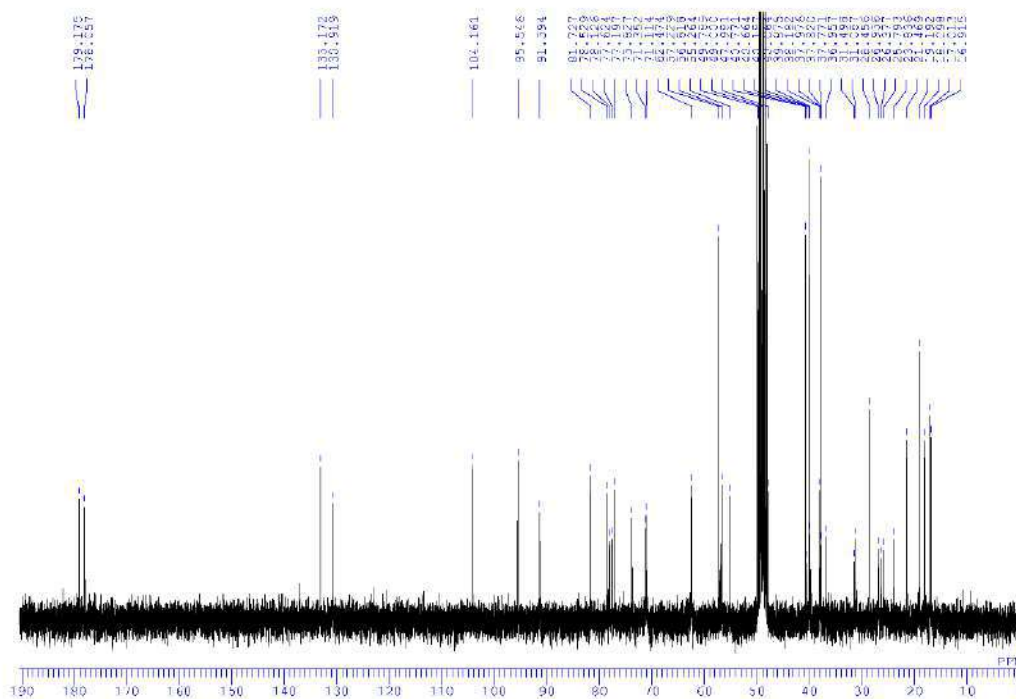


Figure IV-52: Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B14

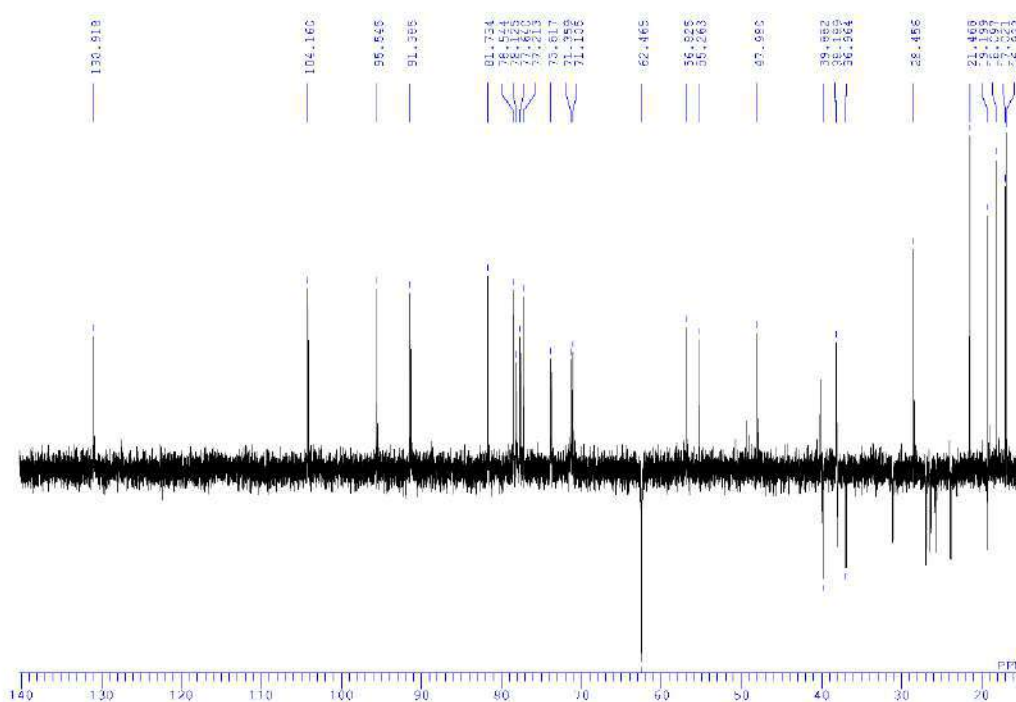


Figure IV-53: Spectre DEPT 135 du composé B14

Tableau IV-11: Déplacements chimiques en RMN ¹H (300MHz) et ¹³C (75MHz) dans CD₃OD du composé B14 (δ en ppm et *J* en Hz)

position	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm,m , <i>J</i> Hz	DEPT	position	δ (C) ppm	δ (H) δ ppm,m , <i>J</i> Hz	DEPT	
1	39.9		CH2	22	37		CH2	
2	26.9		CH2	23	28.5	1.036 <i>s</i>	CH3	
3	91.4	3.115 <i>d</i> 11.4. 4.5	CH	24	17	0.826 <i>s</i>	CH3	
4	40.1		C	25	19.2	0.864 <i>s</i>	CH3	
5	56.7	0.714 <i>d</i> 10.8	CH	26	16.9	0.951 <i>s</i>	CH3	
6	19.2		CH2	27	179.2		C	
7	38		CH2	28	178		C	
8	40.8		C	29	18.1	0.885 <i>sl</i>	CH3	
9	47.8		CH	30	21.5	0.903 <i>sl</i>	CH3	
10	37.8		C	Glucose	1'	104.2	4.454 <i>d</i> 7.2	CH
11	23.8		CH2		2'	81.7	4.031 <i>t</i> 8.7	CH
12	130.9	5.608 <i>sl</i>	CH		3'	77.6	3.64 <i>t</i> 8.7	CH
13	133.2		C		4'	71.4		CH
14	57.2		C		5'	77.2		CH
15	25.8		CH2		6'	62.5	3.664 <i>dd</i> 15.0. 6.0 3.834 <i>dl</i> 9.9	CH2
16	26.4		CH2	Glucose	1''	95.5	5.366 <i>d</i> 8.1	CH
17	49.8		C		2''	73.8		CH
18	55.3	2.27 <i>d</i>	CH		3''	78.1		CH
19	40.2		CH		4''	71.1		CH
20	38.2		CH		5''	78.5		CH
21	31.2		CH2		6''	62.5	3.664 <i>dd</i> 15.0. 6.0 3.8 <i>dl</i> 10.8	CH2

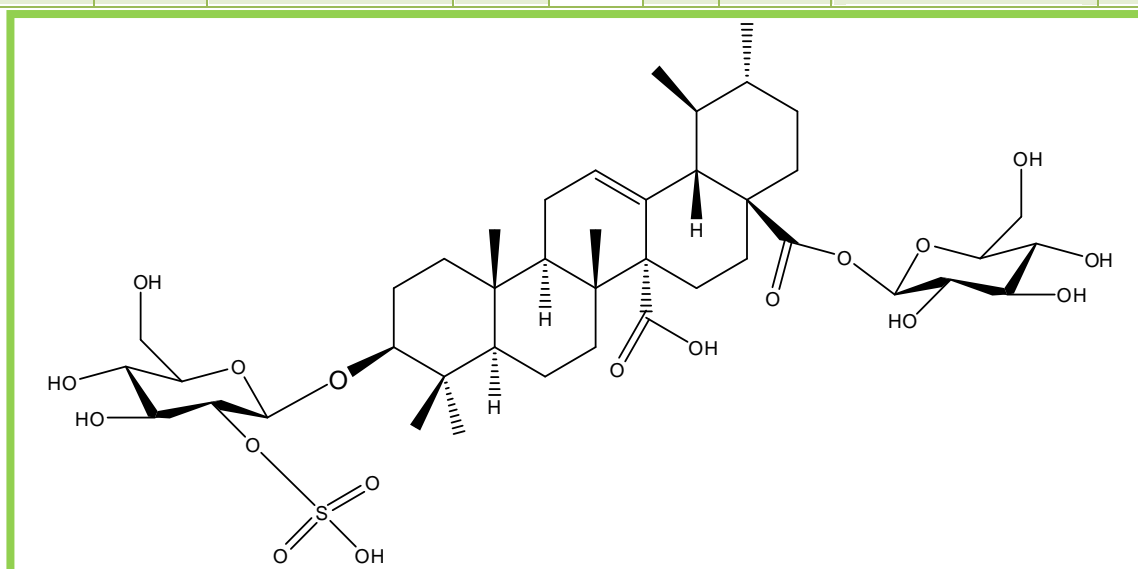


Figure IV-54 : Structure du composé B14 ; 3-*O*-β-D-2-*O*-sulfonylglucopyranoside quinovic acid 28-*O*-β-D-glucopyranoside ester = Zygophylloside G

IV-4-10. Composé B9

Ce composé a été isolé sous forme de cristaux blancs. Son spectre RMN ^1H (Figure IV-55) enregistré dans CD_3OD , montre six signaux de méthyle tous sous forme de singulets. Cela nous conduit à un squelette de triterpène pentacyclique. Ce spectre présente aussi :

- Un signal sous forme d'un singulet large à δ 5.64 ppm caractéristique du proton oléfinique.
- Deux protons anomériques à δ 4.29 ppm (1H ; d ; $J=7.8$ Hz) et à δ 5.39 ppm (1H ; d ; $J=8.1$ Hz) confirmant la forme β -D-pyranoside des deux sucres.
- un signal sous forme d'un doublet de doublets à δ 3.10 (1H, $J=15.6$ et 4.0Hz) attribuable au proton H-3. La valeur de constante de couplage 15.6 HZ indique une orientation α -axiale du H-3 et par conséquent une orientation β -équatoriale du groupement OH de la même position [110].
- Un signal sous forme d'un doublet de doublet d'une intégrale d'un proton à δ 2.9 ppm (1H, $J=14.1$ et 3.0 Hz) attribuable à H-18. La multiplicité indique la présence de deux protons adjacents qui seront H_a -19 et H_b -19, et la valeur de constante de couplage nous oriente vers une forme β -axiale de H-18.

À partir des données collectées du spectre RMN ^1H , on déduit qu'il s'agit d'un squelette triterpène pentacyclique d'une forme β -amyrine bien précisément d'un 3-hydroxy- oléan-12-ène contenant deux unités de sucres.

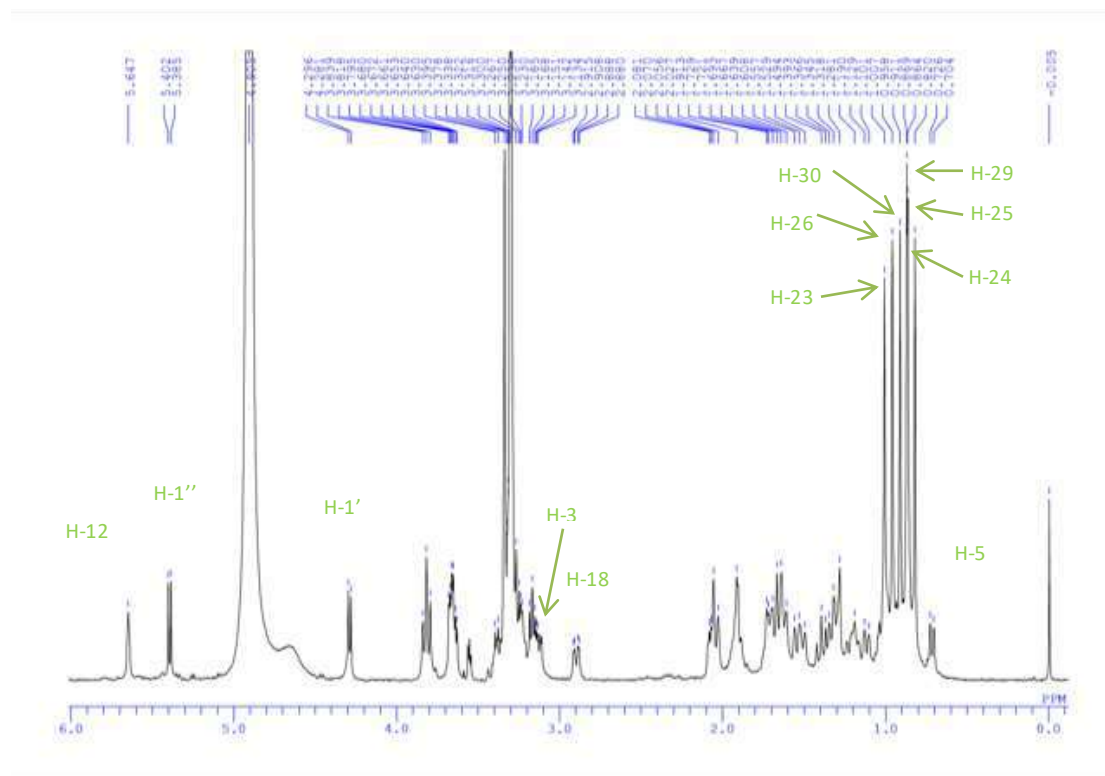


Figure IV-55 : Spectre RMN ^1H (500MHz, CD_3OD) du composé B9

Selon le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-56) on aperçoit (42) quarante-deux signaux indiquant la présence de deux sucres et un aglycone triterpénoïde. Et selon le spectre DEPT 135 (Figure IV-57) on compte six carbones tertiaires, douze carbones secondaires et quinze carbones primaires. On déduit ainsi neuf carbones quaternaires :

- Les signaux appartenant aux sucres sont C-1' (δ 95.6) C-2' (δ 73.9) C-3' (δ 78.3) C-4' (δ 71.1) C-5' (δ 78.7) C-6' (δ 62.5) et C-1'' (δ 106.7) C-2'' (δ 75.6) C-3'' (δ 78.2) C-4'' (δ 71.6) C-5'' (δ 77.7) C-6'' (δ 62.8). Les deux sucres correspondent au glucose.
- Les valeurs de déplacement chimique de deux carbones oléfiniques dont un carbone quaternaire à δ 137.3 ppm et un carbone tertiaire à δ 127.9 ppm attribuable à C-13 et C-12 respectivement. caractéristiques de la structure β -amyrine [103]. La différence entre le déplacement chimique des deux carbones oléfiniques est de l'ordre de $\Delta\delta=9.4\text{ppm}$ typique de la série β -amyrine. cette valeur est plus élevée que celle de la série α -amyrine ($\Delta\delta=3.5\text{ppm}$) [103], le déplacement chimique des carbones oléfiniques est très utile pour distinguer entre urs-12-ene et olean-12-ene.
- Deux carbones carboxyliques C-27 (δ 179.8 ppm) et C-28 (δ 178 ppm), un effet blindage de C-28 ($\Delta\delta=3.7$ ppm) par rapport au carboxyle libre C-28 (δ 181.7 ppm). indiquant que C-28 est engagé dans une liaison ester [101].
- Un signal à δ 90.67 ppm caractéristique d'un carbone lié à un oxygène.

On déduit la structure partielle qui est 3-oxo- olean-12-ene-27,28-dicarboxyles. La structure tend vers un acide cincholique substitué par deux glucoses.

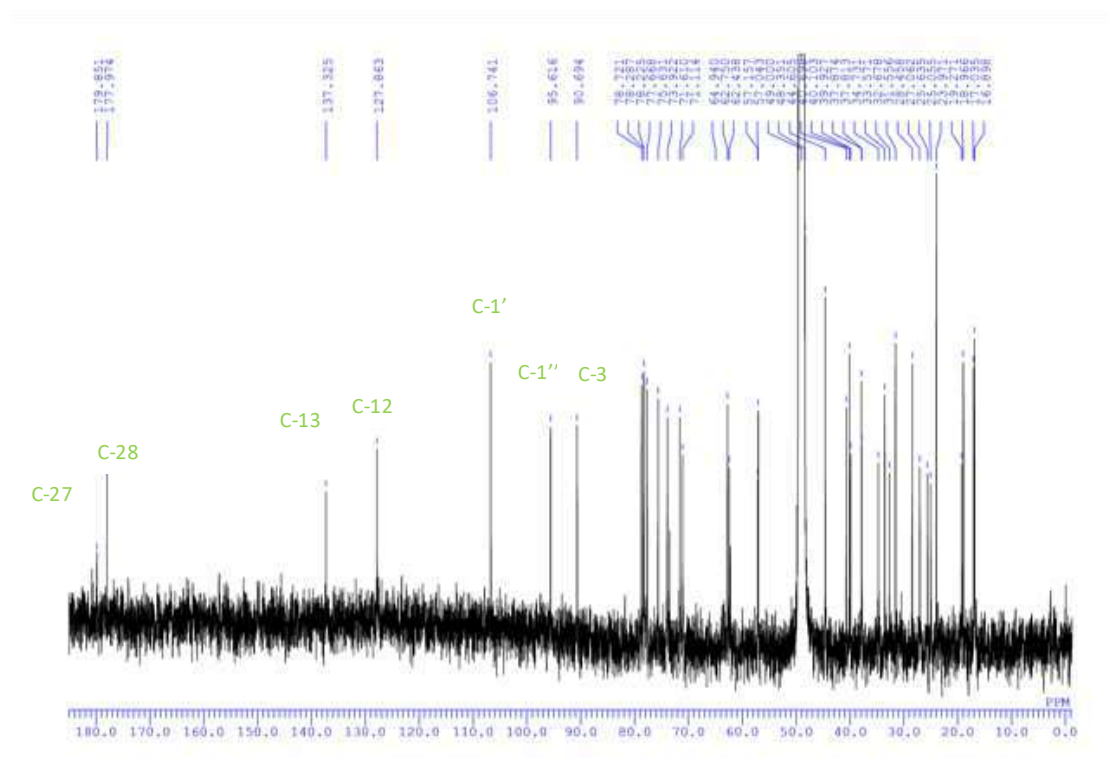


Figure IV-56 : Spectre RMN ^{13}C (125MHz, CD_3OD) du composé B9

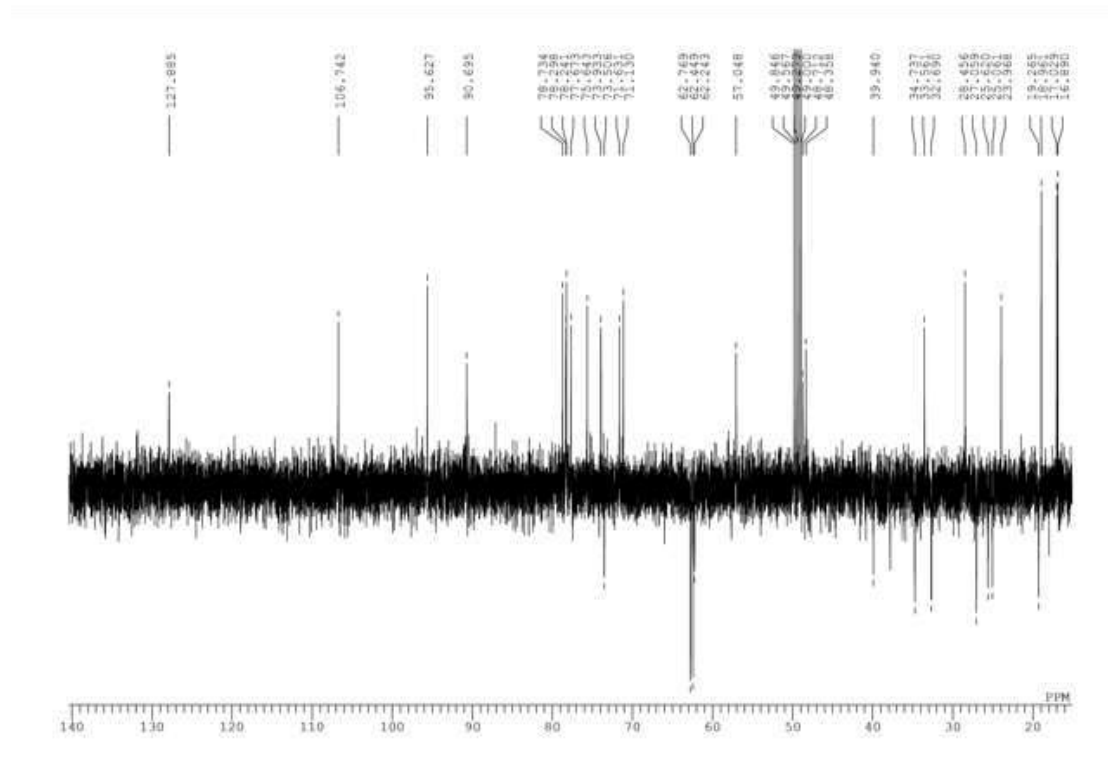


Figure IV-57 : Spectre DEPT 135 du composé B9

L'attachement du premier glucose est suggéré d'être au niveau de C-3 où un effet déblindage est observé au C-3 ($\Delta\delta=11.6$ ppm) par rapport au C-3 qui contient un hydroxyle libre ($\delta=79.7$ ppm). L'attachement du deuxième glucose est suggéré d'être au niveau de C-28 par l'effet blindage enregistré sur C-28 ($\Delta\delta=3.7$ ppm) et C-1'' ($\Delta\delta=11.1$ ppm).

Selon le spectre COSY (Figure IV-58), on remarque les corrélations suivantes :

- entre H-12 (5.64) et H-11 (1.91 ppm)
- entre H _{α} -11 (1.91 ppm), H _{β} -11 (1.63) et H-9 (2.075)
- entre H-1' (4.28) et H-2' (3.18)
- entre H-1'' (5.39) et H-2'' (3.26)
- entre H-3 (3.11) et H-2 _{α,β} (1.72 ;1.52)
- entre H-18 (2.89) H-19 _{α,β} (1.36 ;1.11)
- entre H-5 (0.71) et H-6 _{α,β} (1.52 ;1.31)

Les taches de corrélations détectées dans les spectres HMQC (Figure IV-59, 60 et 61) sont entre:

- H-12 (δ 5.64) et C-12 (δ 127.9)
- H-1' (δ 4.28) et C-1' (δ 106.7)
- H-1'' (δ 5.39) et C-1'' (δ 95.6)
- H-6' _{α,β} (δ 3.66 ; δ 3.82) et C-6' (δ 62.75)
- H-6'' _{α,β} (δ 3.64/ δ 3.80) avec C-6'' (δ 62.43)
- H-18 (δ 2.89) et C-18 (δ 44.6)
- H-23 (δ 1.006) et C-23 (δ 28.5)
- H-24 (δ 0.82) et C-24 (δ 17)
- H-25 (δ 0.867) et C-25 (δ 19.0)
- H-26 (δ 0.95) et C-26 (δ 16.9)
- H-29 (δ 0.869) et C-29 (δ 33.6)
- H-30 (δ 0.91) et C-30 (δ 24)

L'expérience HMQC a établi la connectivité entre C-18 (δ 44.6) et H-18 (δ 2.89, d , J 14.1 et 3.0 Hz). Cette dernière est très importante pour distinguer entre le squelette α et β amyriane.

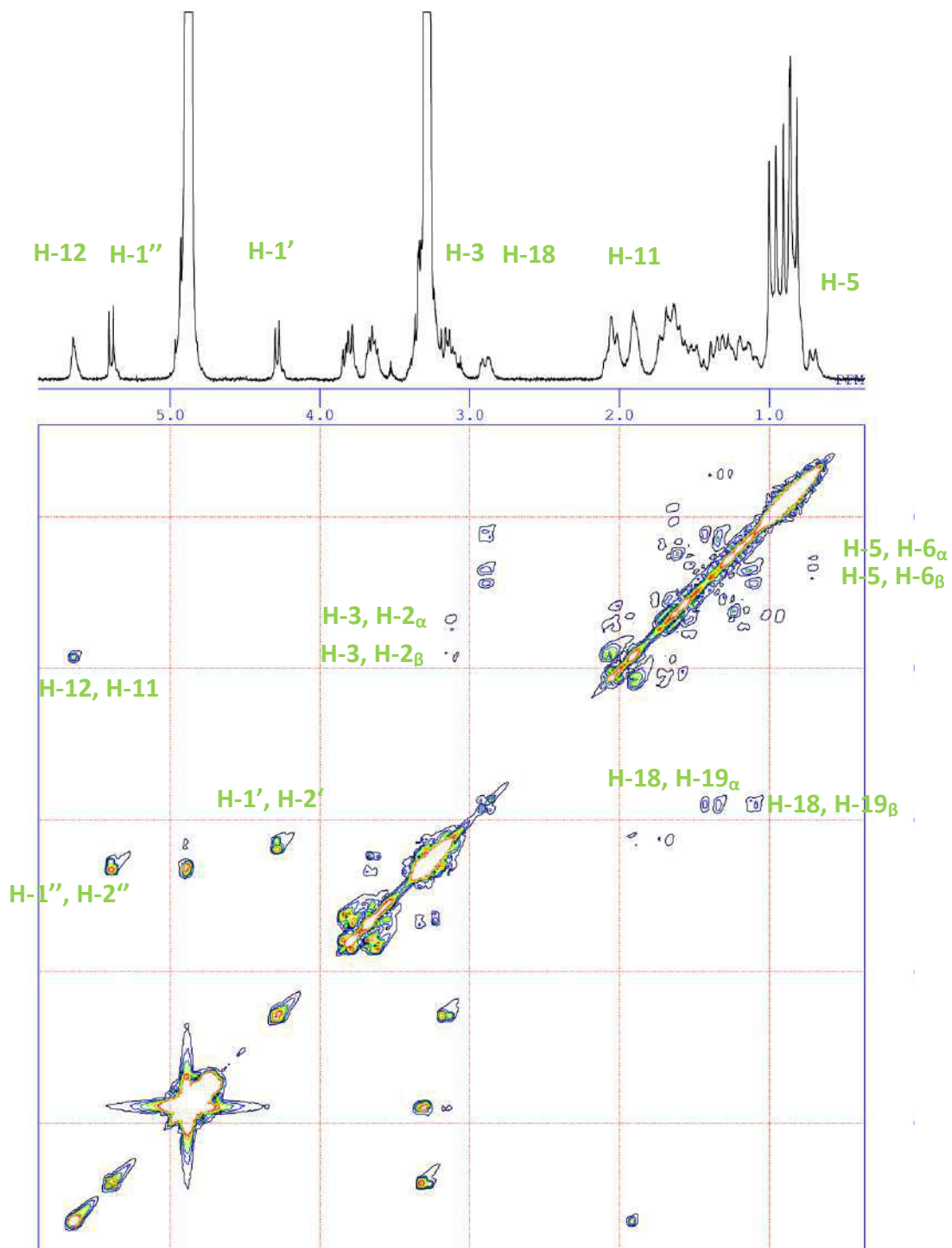


Figure IV-58 : Spectre COSY du composé B9

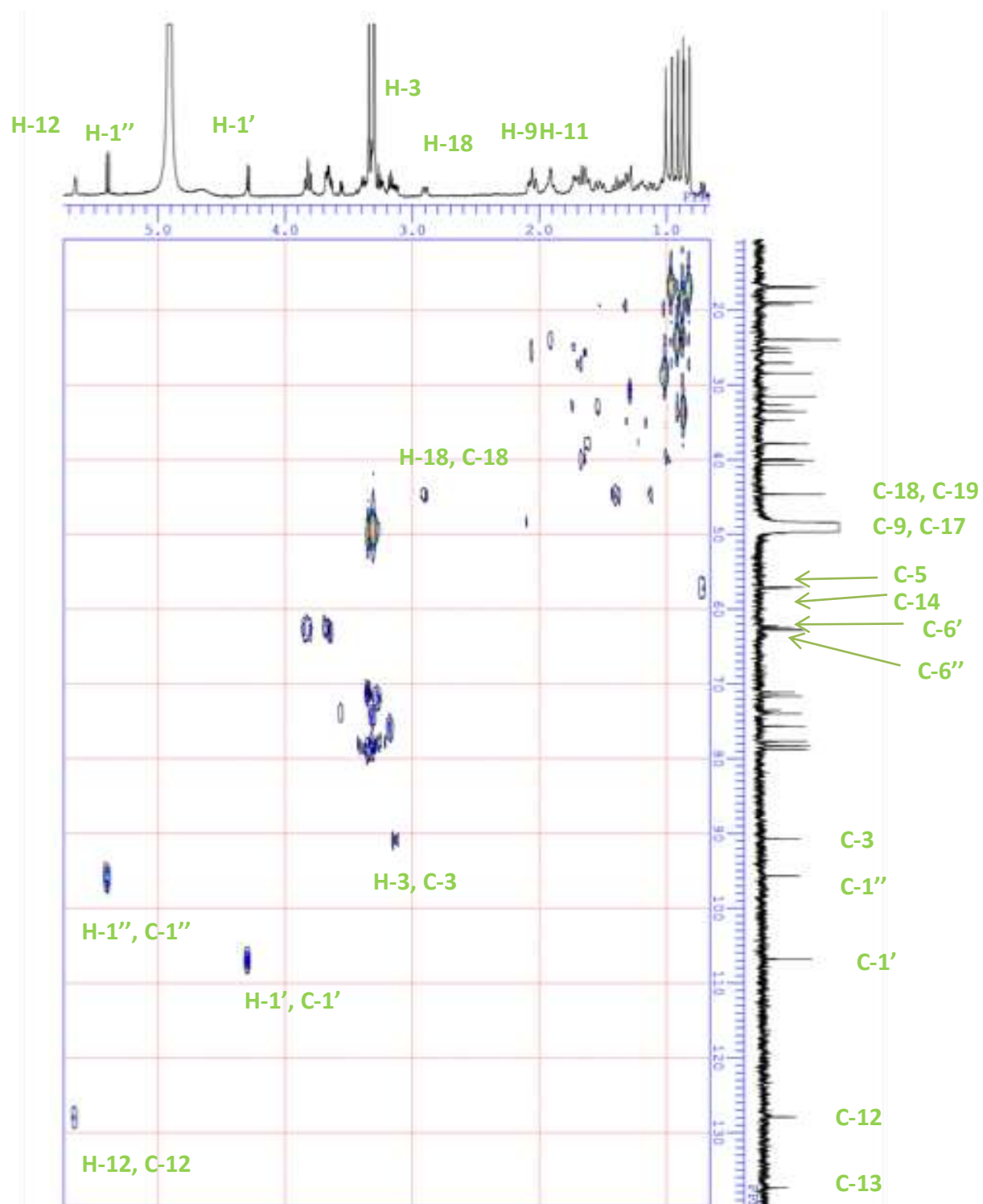


Figure IV-59 : Spectre HMQC (500MHz, CD₃OD) du composé B9

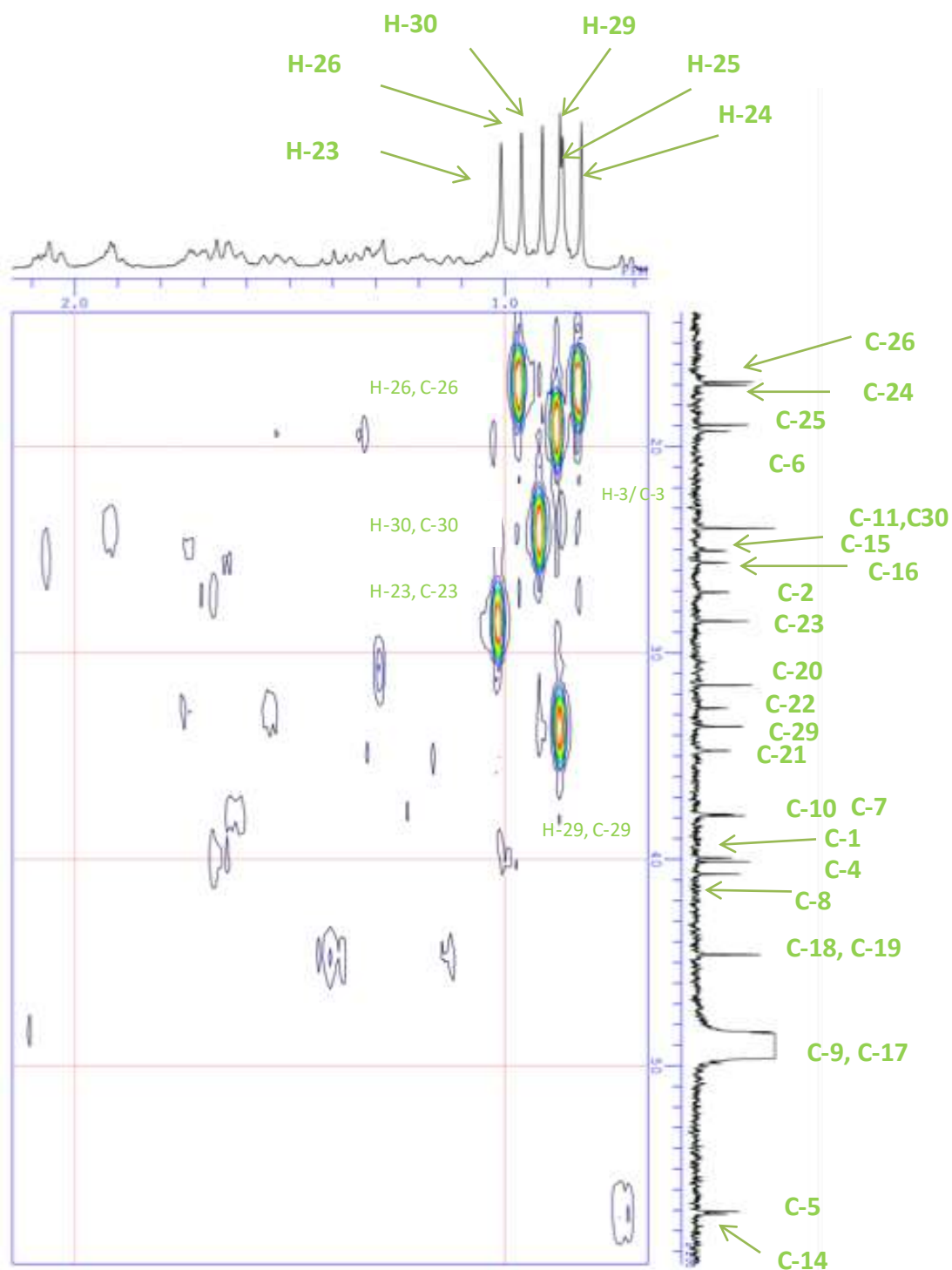


Figure IV-60: Spectre HMQC étalé du composé B9

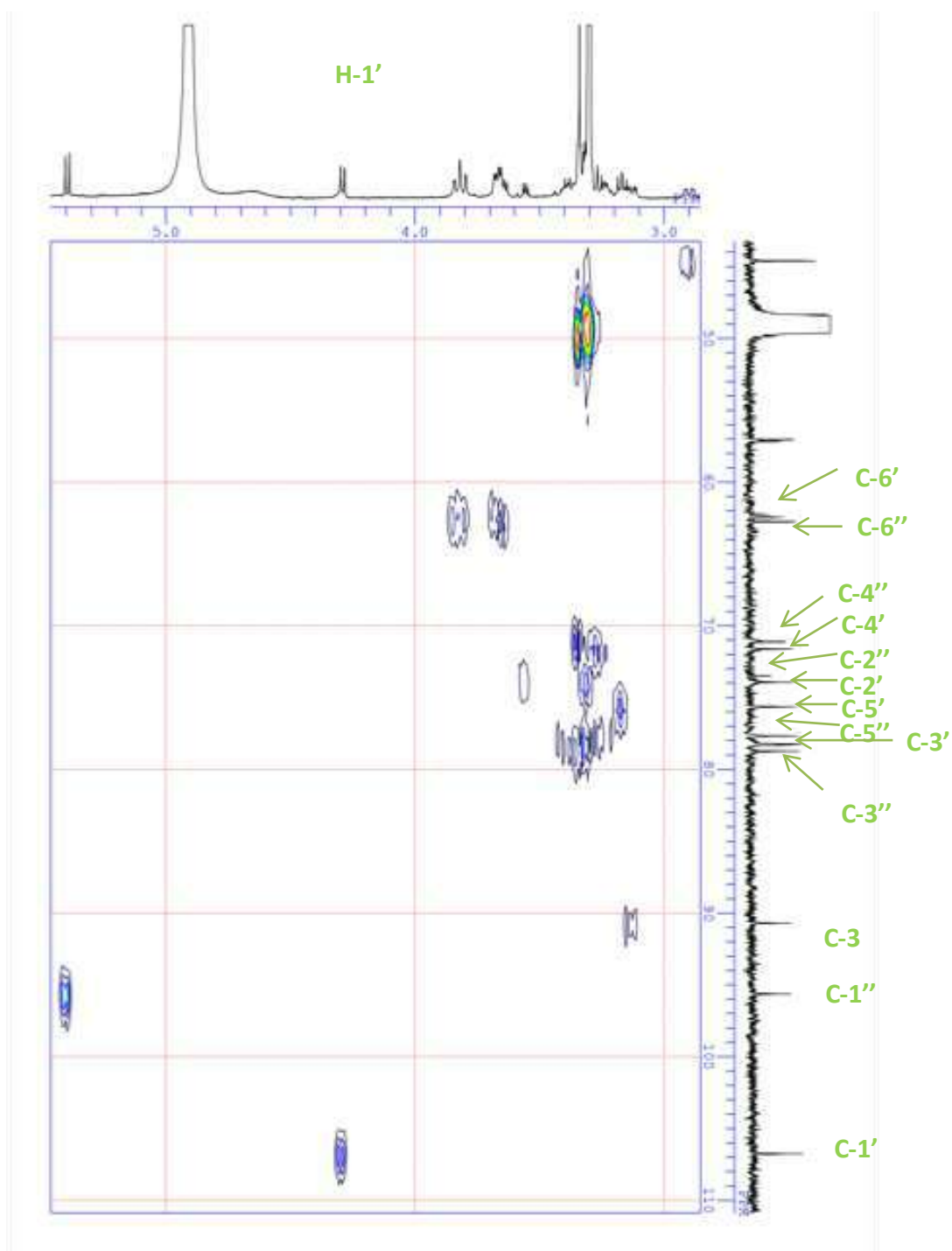


Figure IV-61: Spectre HMQC étale du composé B9

L'expérience HMBC (Figure IV-63, 64 et 65) montre :

- cinq corrélations observées entre C-5 (δ 0.71 ppm) est:
 - H-12 (δ 5.64)
 - H-23 (δ 1.006)
 - H-24 (δ 0.82)
 - H-25 (δ 0.867)
 - H-26 (δ 0.959)
- deux corrélations observées entre C-9 (δ 2.075 ppm) et
 - H-25 (δ 0.867)
 - H-26 (δ 0.959)
- deux corrélations enregistrées entre C-18 (δ 2.89 ppm) et
 - H-29 (δ 0.869)
 - H-30 (δ 0.91)
- trois corrélations distinguées entre C-3 (δ 3.11 ppm) et
 - H-23 (δ 1.006)
 - H-24 (δ 0.82)
 - H-1'' (δ 4.28)
- une corrélation observée entre C-23 (δ 28.5) et H-24 (δ 0.82) et vice versa
- des corrélations de C-20 (δ 31.6), C-21 (δ 34.7) et C-22 (δ 32.7) avec H-29 (δ 0.869) et H-30 (δ 0.91)
- C-30 (δ 24) et H-29 (δ 0.869) et vice versa
- C-1 (δ 39.9), C-4 (δ 40.1) et C-10 (δ 37.9) avec H-23 (δ 1.006), H-24 (δ 0.82), H-25 (δ 0.867) et H-26 (δ 0.959)
- C-7 (37.8) et C-8 (40.8) avec H-25 (0.867) et H-26 (δ 0.959)
- une corrélation est observée entre C-28 (δ 178) et H-1' (δ 5.39)
- une tache de corrélation entre C-14(57.2) et H-12 (5.64).

Dans le spectre HMBC, on a observé un couplage à longue distance entre le carboxyle C-28 (δ 178 ppm) de la génine et le proton anomérique H-1'' (δ 5.39 ppm, *d*, *J* 8.1 Hz). Ces résultats ont indiqué l'estérification du groupe carboxyle (C-28) avec un β -D-glucose. Les corrélations HMBC sont démontrées dans la figure IV-62.

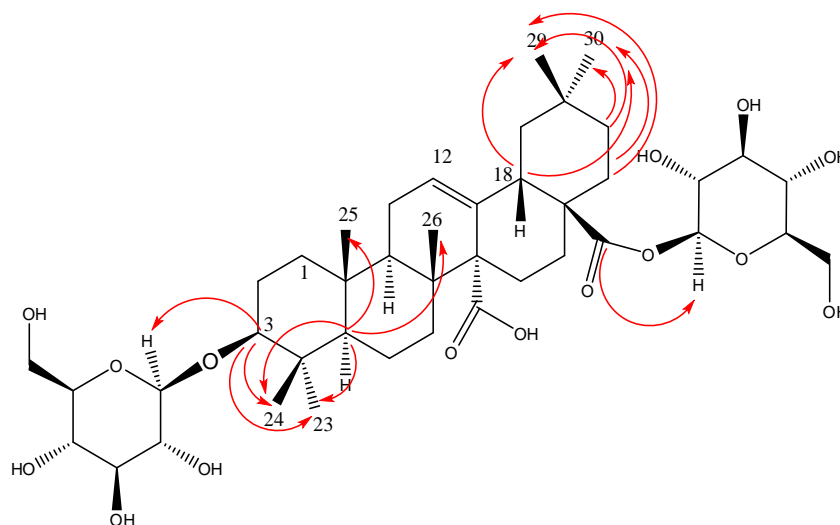


Figure IV-62 : Corrélation selon l'expérience HMBC du composé B9

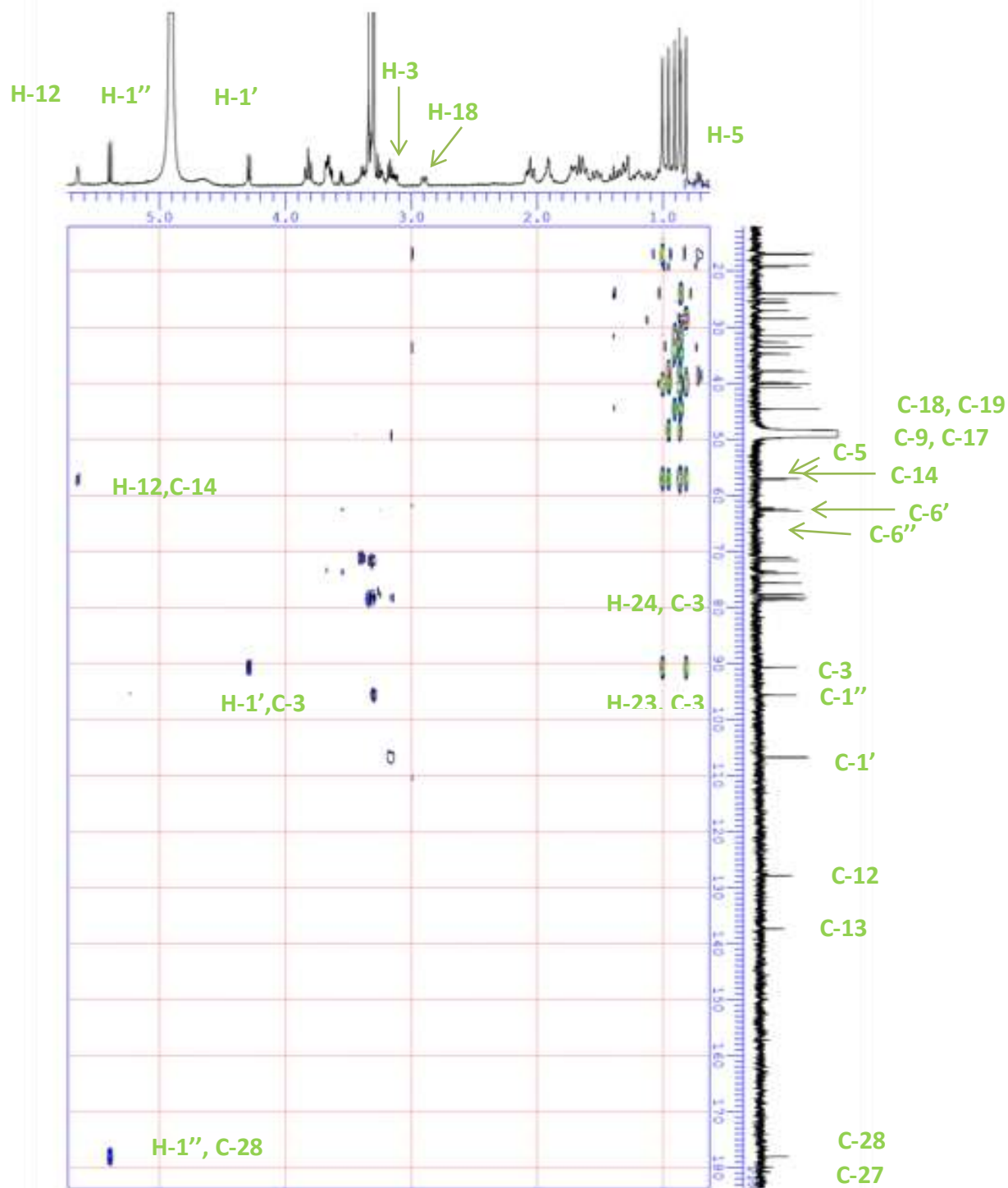


Figure IV-63: Spectre HMBC du composé B9

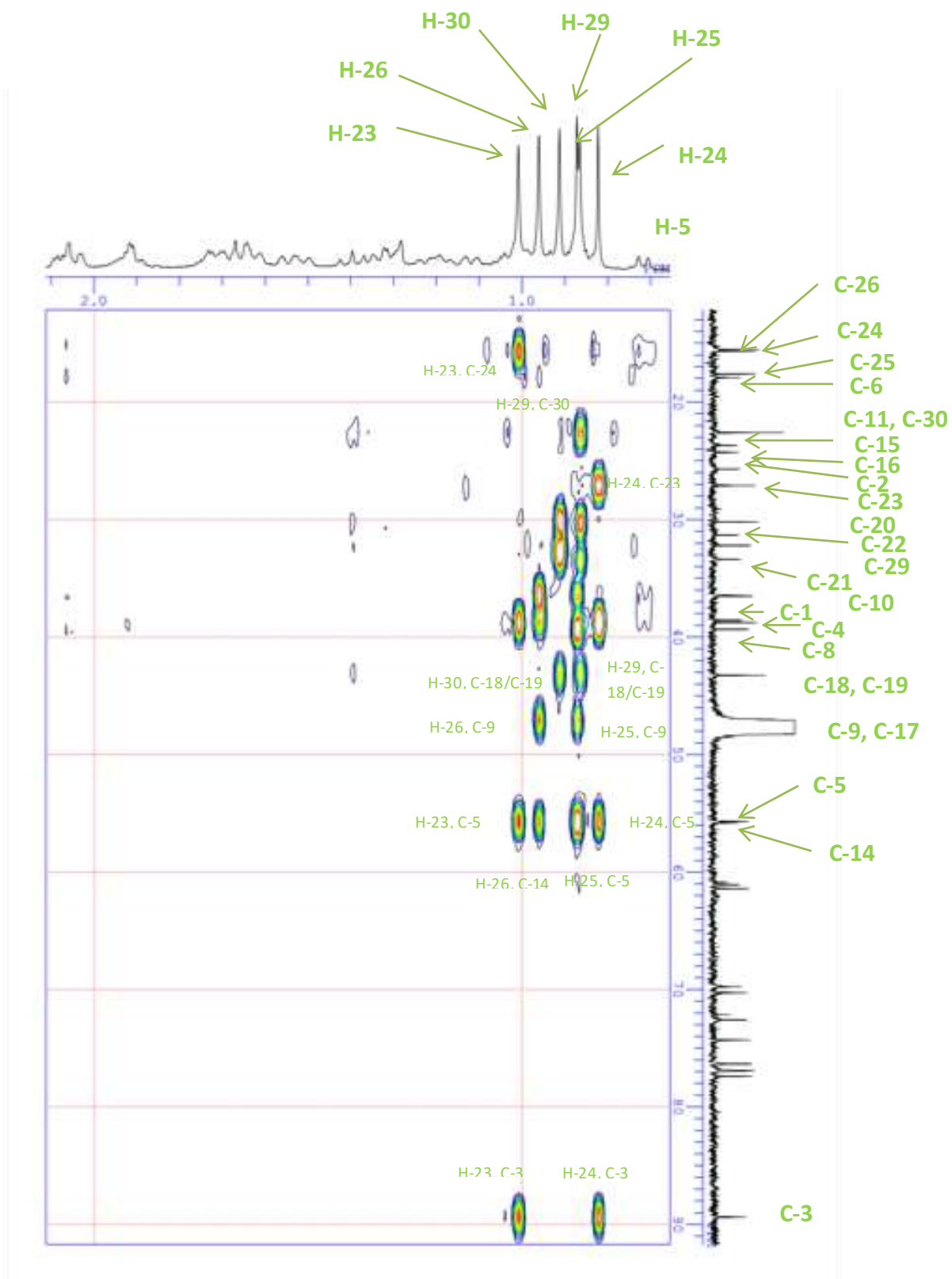


Figure IV-64: Spectre HMBC étalé du composé B9

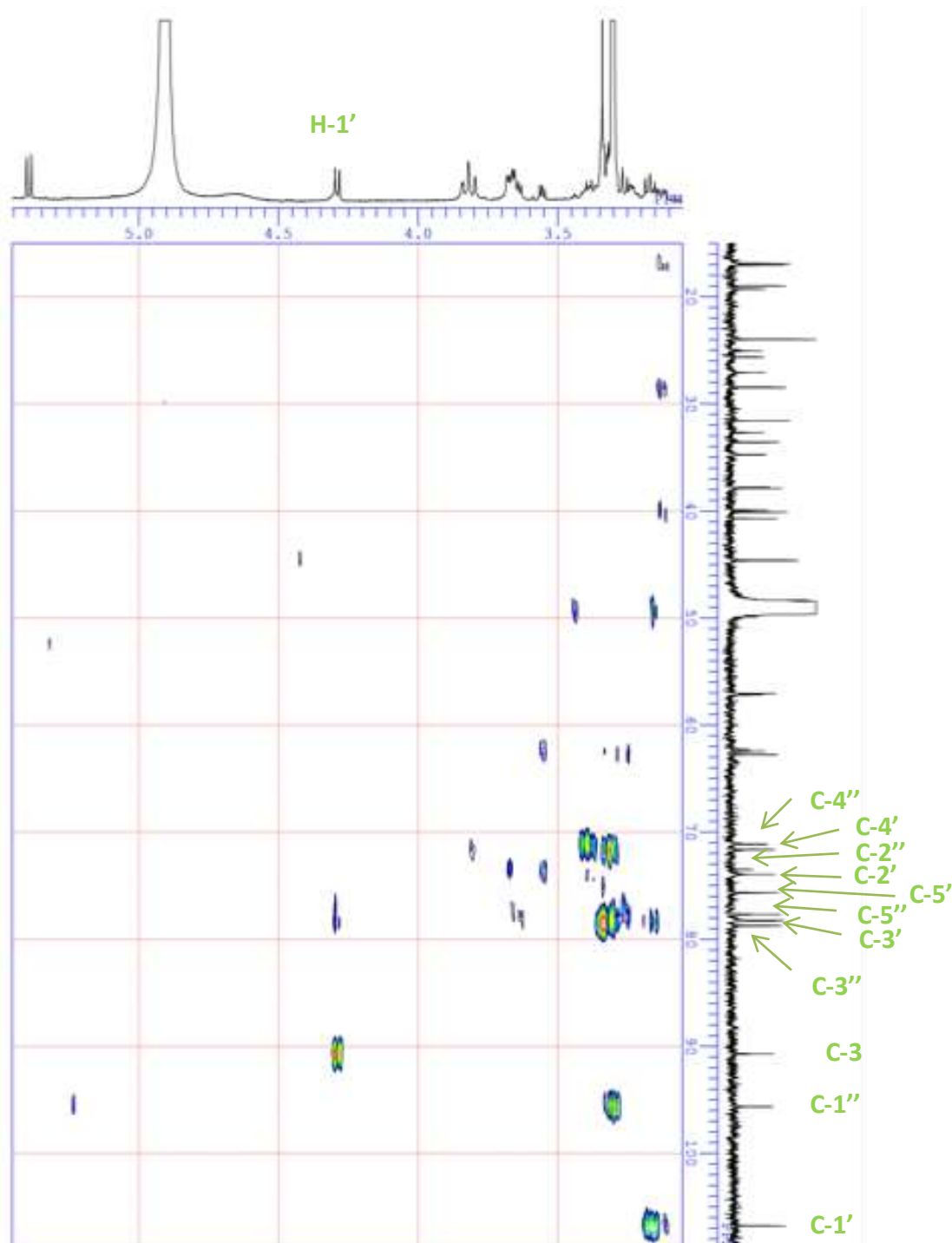


Figure IV-65: Spectre HMBC étalé du composé B9

Les corrélations hétérocycliques de connectivité à liaison multiple (HMBC) détectées entre H-1' (δ 4.28 ppm, d , $J = 7.8$ Hz) de glucose et C-3 (δ 90.7 ppm), met en évidence la liaison éther de l'hydroxyle en C-3 avec un β -D-glucose.

Par conséquent, la structure du composé **B9** a été déterminée comme étant un 3-*O*- β -D-glucopyranoside cincholic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester. Les données RMN ^1H et ^{13}C , récapitulées dans le tableau IV-12, sont en accord avec la littérature [106]. Ce composé appelé mussaendoside S (Figure IV-66), il a été isolé pour la première fois de *Mussaenda pubescens* [111, 112]. On rapporte la séparation de ce composé pour la première fois dans la famille Zygophyllaceae.

Tableau IV-12: Déplacements chimiques en RMN ^1H (500MHz) et ^{13}C (125MHz) dans CD_3OD du composé B9 (δ en ppm et J en Hz)

position	δ (H) (500MHz) ppm, m, J en Hz	δ (C) (125Hz) ppm	COSY	HMBC	DEPT
1	α 1.015	39.9		C-1/H-24,H-25	CH2
	β 1.653				
2	α 1.015	27.1		C-5/H-25,H-26	CH2
	β 1.653				
3	3.11 dd	90.7	H-3/2H-2	C-3/H-23,H-24,H-1'	CH
4		40.1		C-4/H-23,H-24	C
5	0.711 dl 11.1	57.1		C-5/H-23,H-24,H-25,H-26	CH
6	α 1.331	19.3			CH2
	β 1.70				
7	α 1.22	37.8		C-7/H-25,H-26	CH2
	β 1.624				
8		40.8		C-8/H-25,H-26	C
9	2.075	48.4		C-9/H-25,H-26	CH
10		37.9			C
11	α 1.68	24.0			CH2
	β 1.913				
12	5.647 sl	127.9	H-12/H-11		CH
13		137.3			C
14		57.2		C-14/H-12	C
15	α 1.97	25.1			CH2
	β 1.68				
16	α 1.97	25.6			CH2
	β 1.68				
17					C
18	2.897 dd 14.1, 3.0	44.6		C-18/H-19,H-29,H-30	CH
19	α 1.115 d 14	44.6		C-19/H-29,H-30	CH2
	β 1.37.9 d 13.5				
20		31.6		C-20/H-19,H-29,H-30	C
21	α 1.18	34.7		C-21/H-29,H-30	CH2
	β 1.38				
22	α 1.557	32.7		C-22/H-29,H-30	CH2

	β	1.729				
23		1.006 <i>s</i>	28.5		C-23/H-24	CH ₃
24		0.820 <i>s</i>	17.0		C-24/H-23	CH ₃
25		0.867 <i>s</i>	16.9			CH ₃
26		0.959 <i>s</i>	19.0			CH ₃
27			179.8			C
28			178.0		C-28/H-1''	C
29		0.869 <i>s</i>	33.6		C-29/H-30	CH ₃
30		0.910 <i>s</i>	24.0		C-30/H-19.H-29	CH ₃
Glucose	1'	4.288 <i>d</i> 7.8	106.7	H-1'/H-2'	C-1'/H-3	CH
	2'	3.168 <i>t</i> 8.5	75.63			CH
	3'		78.28			CH
	4'		71.63			CH
	5'	3.26	77.66			CH
	6'	α	3.829 <i>dl</i> 10	62.75		
	β	3.66 <i>dd</i> 9.5 ; 4				
Glucose	1''	5.393 <i>d</i> 8.1	95.6	H-1''/H-2''	C-1''/H-2''	CH
	2''		73.32			CH
	3''		78.72			CH
	4''		71.11			CH
	5''		78.22			CH
	6''	α	3.807 <i>dl</i> 12	62.43		
	β	3.646 <i>dd</i> 10.5 6.5				

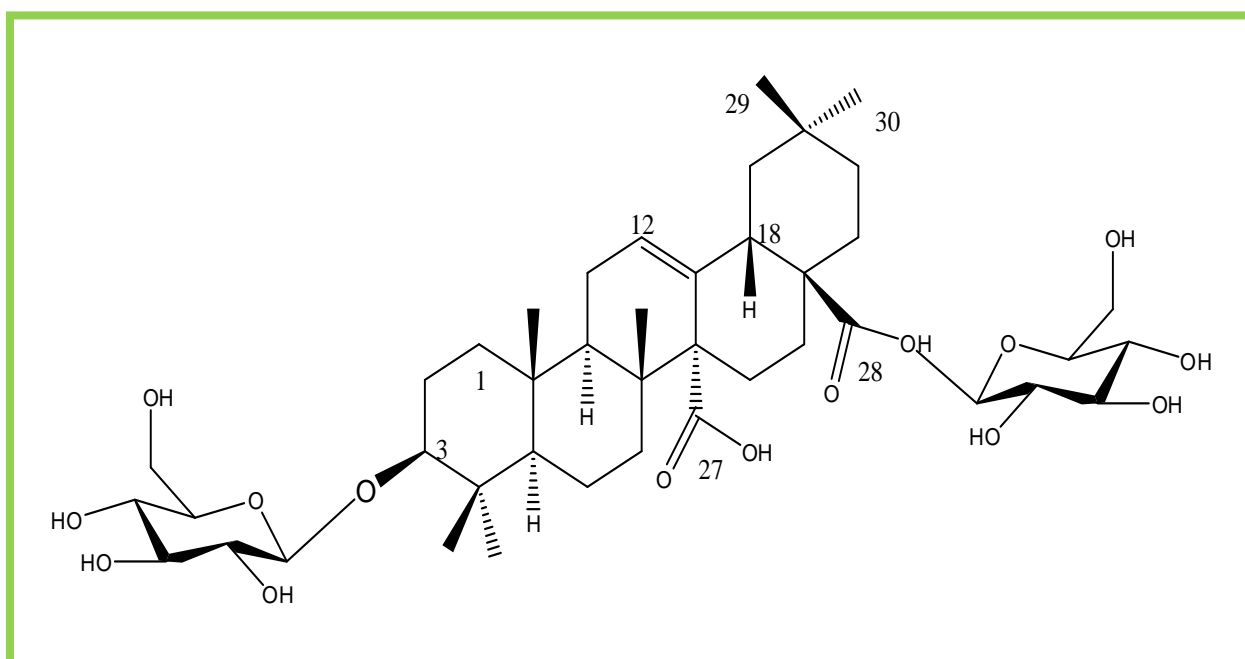


Figure IV-66 : Structure du composé B9 ; 3-O- β-D-glucopyranoside cincholic acid
28-O- β-D-glucopyranoside ester

IV-4-11. Composé CA4

Ce composé a été isolé sous forme de cristaux blancs. Le spectre RMN ^1H (Figure IV-67) enregistré dans CD_3OD , montre six signaux de méthyle sous forme de singulets à δ 0.821; δ 0.864 ; δ 0.882 ; δ 0.919 ; δ 0.96 et δ 1.004 ppm. Cela nous conduit à un squelette de triterpène pentacyclique :

- Un signal à δ 5.64 ppm caractéristique du proton oléfinique.
- Un seul proton anomérique est observé à δ 4.26 ppm (1H, *d*, $J=7.5$ Hz) indiquant la forme β -D-pyranoside du sucre, qui sera le quinovose par l'apparition d'un pic sous forme de doublet d'intégration de trois protons à 1.25 ppm
- Un signal sous forme de doublet de doublets à δ 3.10 (1H, $J = 15.6$ et 4.0 Hz) attribuable au proton H-3. La valeur de constante de couplage 15.6 Hz indique une orientation α -axiale du H-3 et par conséquent une orientation β -équatoriale du groupement OH de la même position [110].
- Un signal sous forme de doublet de doublet d'une intégrale d'un proton à δ 2.89 (1H, J 14.1 et 3.6 Hz) attribuable à H-18. La multiplicité indique la présence d'un méthylène à C-19, et la valeur de constante de couplage nous oriente vers une forme β -axiale de H-18.

À partir des données collectées du spectre RMN ^1H , on déduit qu'il s'agit d'un squelette triterpène pentacyclique d'une forme β -amyrine bien précisément d'un 3-hydroxy- oléan-12-ène contenant un sucre.

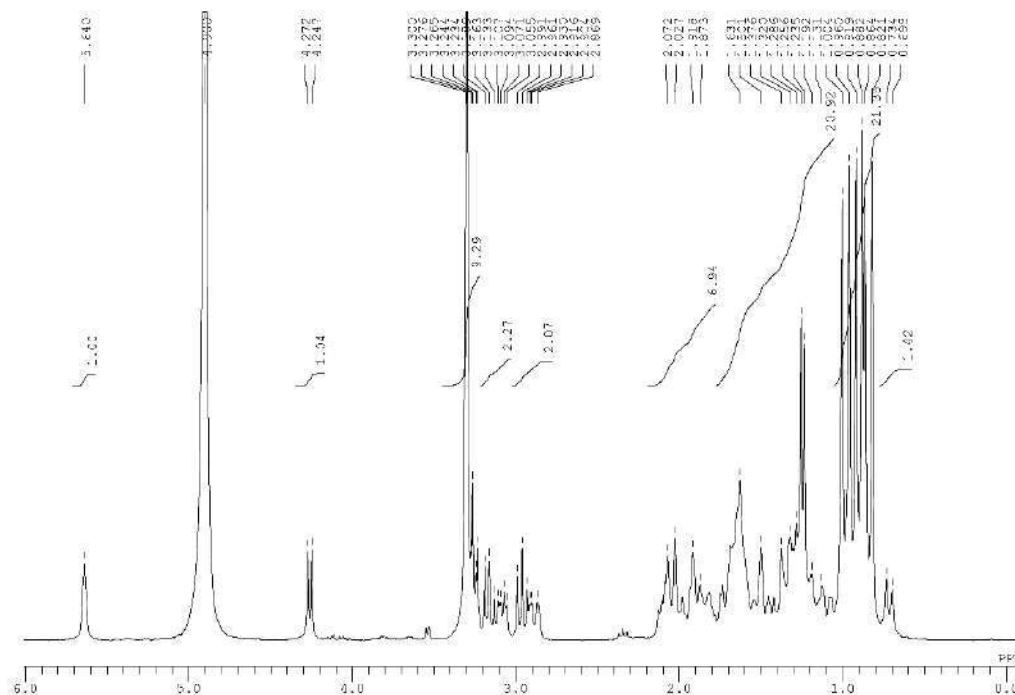


Figure IV-67 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé CA4

Selon le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-68) on aperçoit trente-six signaux confirmant la présence d'un seul sucre et un aglycone triterpénoïde. Et selon le spectre DEPT 135 (Figure IV-69) on compte sept carbones tertiaires, dix carbones secondaires et dix carbones primaires. On déduit ainsi neuf carbones quaternaires :

- Les signaux appartenant au sucre sont C-1' (δ 106.6) C-2' (δ 75.9) C-3' (δ 78) C-4' (δ 77) C-5' (δ 73) C-6' (δ 18.2). Ces valeurs appartiennent au quinovose.
- Les valeurs de déplacement chimique de deux carbones oléfiniques dont un carbone quaternaire à δ 137.816 ppm et un carbone primaire à δ 127.516 ppm attribuable à C-13 et C-12 respectivement. caractéristiques de la structure β -amyrine [103], le déplacement chimique des carbones oléfinique est très utile pour distinguer entre urs-12-ene et oléan-12-ene.
- Deux signaux à C-27 (δ 179.742) et à C-28 (δ 181.649) caractéristique de deux groupes carboxyliques libres.
- Un signal à δ 90.67 ppm caractéristique d'un carbone lié à un oxygène.

Le déplacement chimique des carbones oléfiniques C-12 à 127.9 et C-13 à 137.3 nous conduit à la structure β -amyrine. Ainsi que l'apparition du pique H-18 à 2.90 (1H;dd ; $J=9.9$ et 3.9HZ) qui est typique de la série oléanane [103].

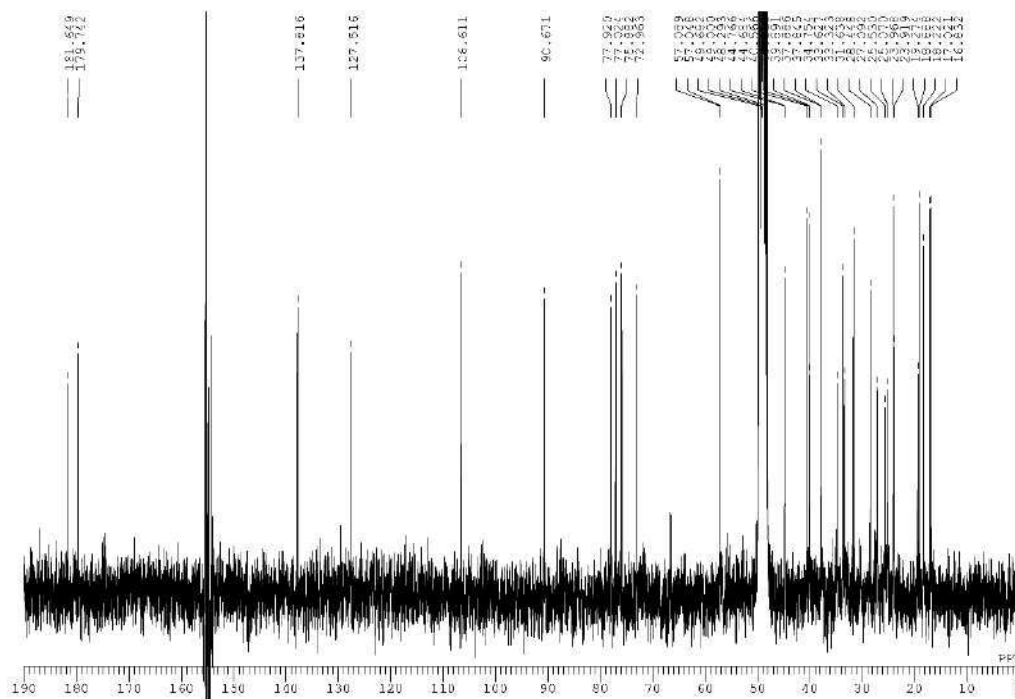


Figure IV-68 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé CA4

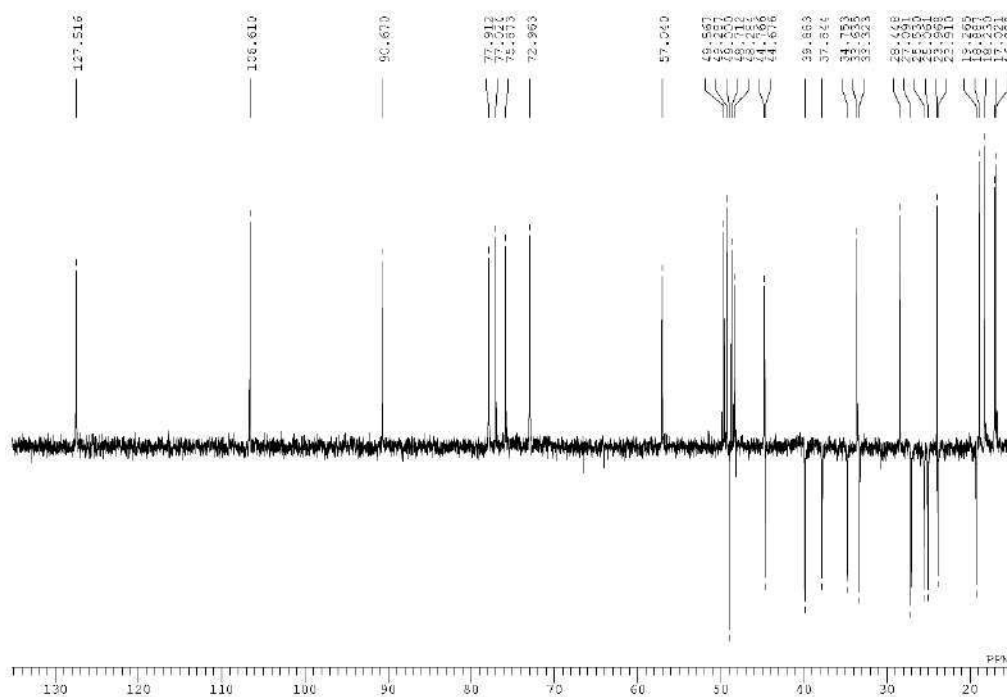


Figure IV-69: Spectre DEPT 135 du composé CA4

La présence d'une unité quinovose liée à l'aglycone avec une liaison éther est suggéré par le signal anomérique de la RMN ^1H ($\delta= 4.26$;1 H; *d*; $J=7.5$ Hz) et de la RMN ^{13}C ($\delta=106.6$; C-1'). Le site de glycosidation de type éther a été montré d'être au C-3 de l'acide cincholique par l'adsorption du RMN ^{13}C du C-3 à δ 90.7 ppm ; C-2 (δ 27.1) et C-4 (δ 40.1) où ils étaient en accord avec les modèles de l'acide cincholique substitué à C-3 [109].

Selon les spectres DIFNOE (Figure IV-71) on peut déterminer la stéréochimie du composé. On remarque la présence d'un effet NOE entre :

- H-23 et H-30
- H-26 et H-24. H-25 et H-29
- H-23 et H-1'

Les différences majeures entre l'acide quinovique et l'acide cincholique ont été trouvées dans les déplacements chimiques pour les atomes de carbone oléfiniques (C-12 et C-13) et pour les atomes de carbone appartenant au cycle E. Une comparaison dans $\Delta\delta$ entre les signaux de carbone oléfinique (C-12 et C-13) pour les deux séries a indiqué une valeur δ plus élevée pour le type β -amyrine. La

différence entre les deux valeurs a été rationalisée par la présence d'un groupe méthyle à 19 β (équatorial) qui se trouve à proximité immédiate de la double liaison (γ et δ à C-13 et C-12 respectivement) dans la série Ursa-12ene (type α -amyrine), cet effet stérique influence sur les changements chimiques de ces carbones. L'atome de carbone de l'anneau E qui présente la valeur $\Delta\delta$ la plus élevée entre les deux séries est C-18, dont l'absorption est déplacée dans le champ fort ($\Delta\delta$ 10.9) dans l'acide cincholique en raison d'un effet de protection du groupe méthyle à 20 β (axial) qui est disposé γ -gauche de C-18. Le C-29 d'acide quinovique a montré deux interactions blindées γ -gauche avec C-13 et C-30, ce qui a pour conséquence que son déplacement chimique est observé à un champ faible (environ δ 14.0). Les autres déplacements chimiques des carbones pour le cycle E sont conformes aux valeurs indiquées dans la littérature pour les composés à base de squelettes d'oléanane [113].

Les données RMN nous conduisent que la structure du composé **CA4** est un 3-O- β -D-quinovopyranoside cincholic acid (Figure IV-70). Les valeurs de déplacements chimiques (Tableau IV-13) sont en accord total avec celles reportées dans la littérature [113]. Ce composé est appelé aussi Quinivin glycoside B [114], il a été isolé aussi de *Z. fabago*. C'est la deuxième fois qu'on rapporte la séparation de ce composé dans la famille Zygophyllaceae et la première fois pour l'espèce *Z. gaetulum*.

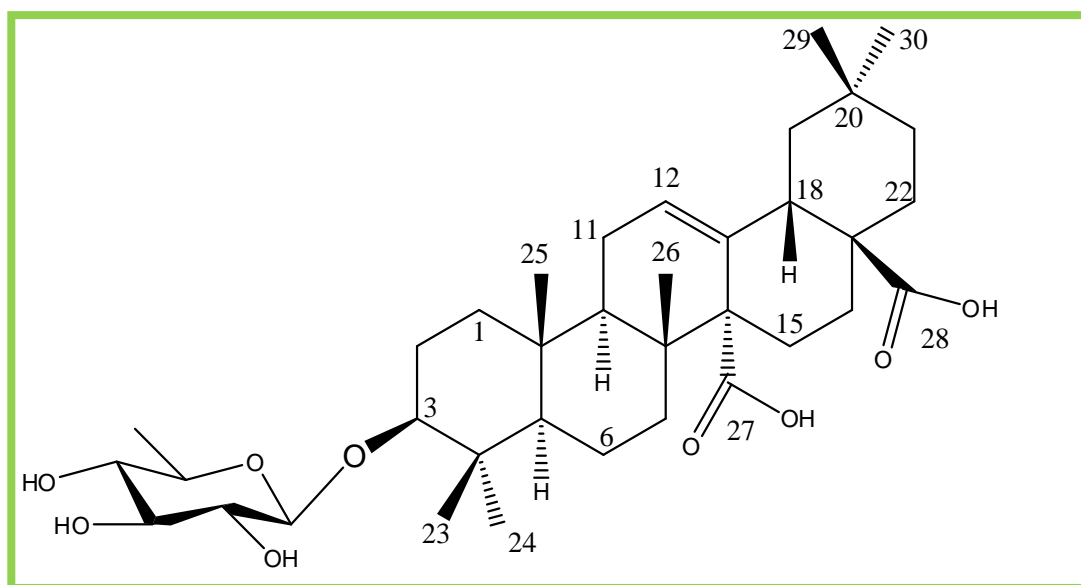


Figure IV-70 : Structure du composé CA4 ; 3-O- β -D-quinovopyranoside cincholic acid

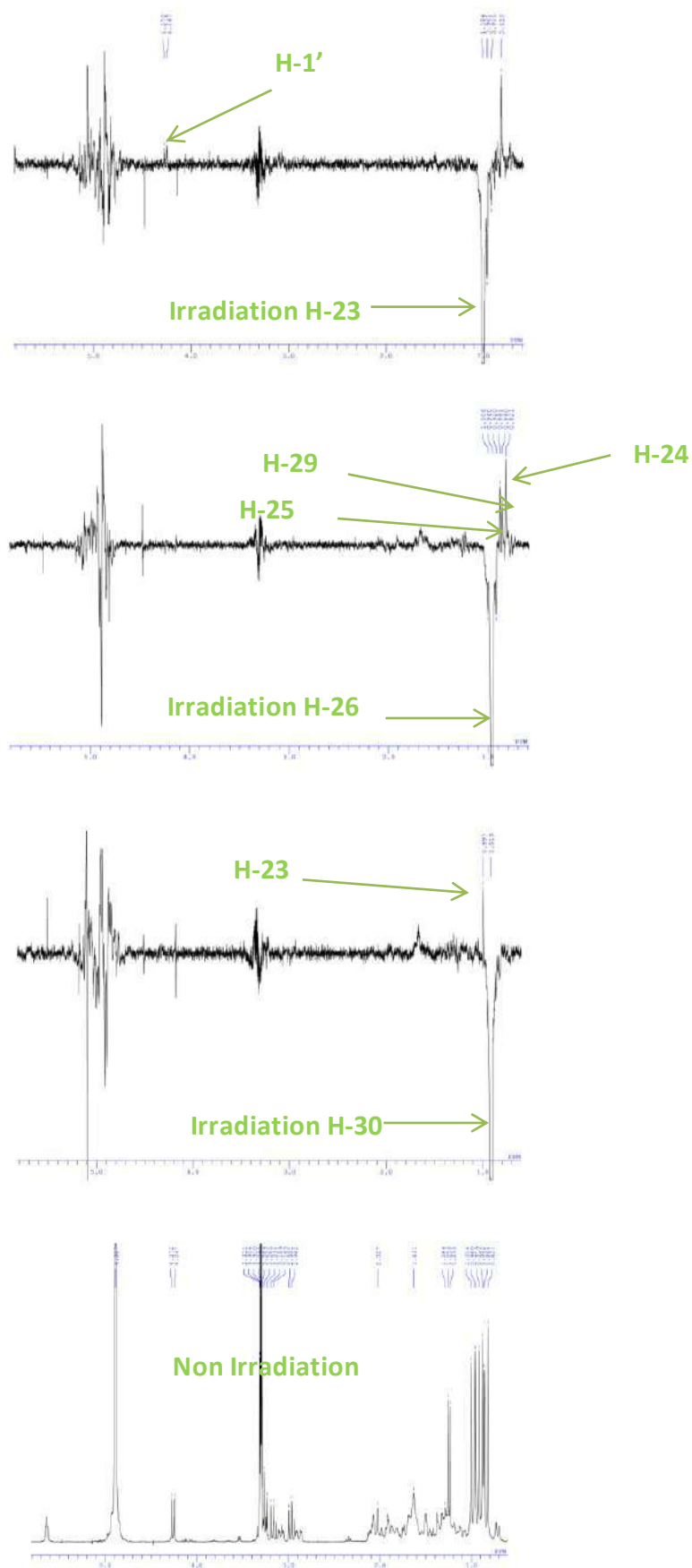


Figure IV-71 : Spectre RMN DIFNOE du composé CA4

Tableau IV-13 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé CA4 (δ en ppm et J en Hz)

<i>position</i>	δ (H) ppm, m, J Hz	δ (C) ppm	<i>effet Noe</i>	<i>DEPT</i>	
1	1.004	39.9		CH2	
	1.695				
2	1.007	27.1		CH2	
	1.695				
3	3.082 <i>dd</i> 10.8 ; 3.9	90.7		CH	
4		40.1		C	
5	0.716 <i>d</i> 10.8	57		CH	
6	1.32	19.3		CH2	
	1.501				
7	1.286	37.9		CH2	
	1.631				
8		40.6		C	
9	2.1	48.3		CH	
10		37.9		C	
11	1.68	23.9		CH2	
	1.918				
12	5.64 <i>sl</i>	127.5		CH	
13		137.8		C	
14		57.1		C	
15	1.646	25.1		CH2	
	2.036				
16	1.646	25.5		CH2	
	2.036				
17		48.5		C	
18	2.886 <i>dd</i> 14.1 3.6	44.8		CH	
19	1.1 <i>dd</i>	44.7		CH2	
	1.376				
20		31.6		C	
21	1.192	34.8		CH2	
	1.32				
22	1.501	33.3		CH2	
	1.72				
23	1.004 <i>s</i>	28.4	H-23/H-30 ; H-1'	CH3	
24	0.821 <i>s</i>	16.8		CH3	
25	0.882 <i>s</i>	17	H-25/H-26	CH3	
26	0.96 <i>s</i>	18.9	H-26/H-24, H-25 et H-29	CH3	
27		179.7		C	
28		181.6		C	
29	0.864 <i>s</i>	33.6		CH3	
30	0.919 <i>s</i>	24		CH3	
Quinovose	1'	4.259 <i>d</i> 7.5	106.6	H-1'/H-23	CH
	2'	3.163 <i>t</i> 9.0	75.9		CH
	3'	3.28	77.9		CH
	4'	2.961 <i>t</i> 9.3	77		CH
	5'	3.28	73		CH
	6'	1.245 <i>d</i> 6.3	18.2		CH3

IV-4-12. Composé CA7

Ce composé a été isolé d'une petite quantité qui a permis uniquement d'enregistrer le spectre RMN ^1H . Ce spectre (Figure IV-72) est identique avec celui du composé CA6, mais avec l'apparition des signaux caractéristiques de la série β -amyrine :

- La disparition de signal de H-18 sous forme de doublet à δ 2.24 ppm et l'apparition d'un autre signal sous forme de doublet de doublet à δ 2.89 ppm (H-18), la multiplicité de H-18 confirme la structure d'un triterpène de la série d'oléanane.

Les valeurs de déplacements chimiques sont récapitulées dans le tableau IV-14, donc on peut déduire que le composé CA7 est un cincholic acid 28-O- β -D-glucopyranoside ester (Figure IV-73), il a été isolé pour la première fois de *Cephalanthus occidentalis* [115]. On rapporte la séparation de ce composé pour la première fois dans la famille Zygophyllaceae.

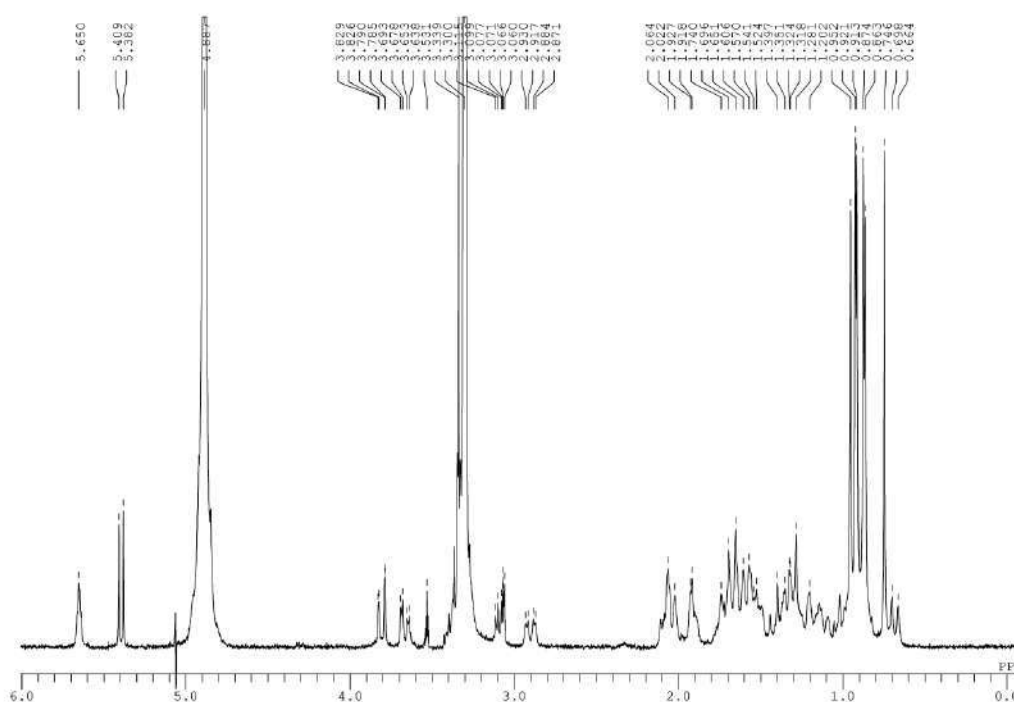


Figure IV-72: Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé CA7

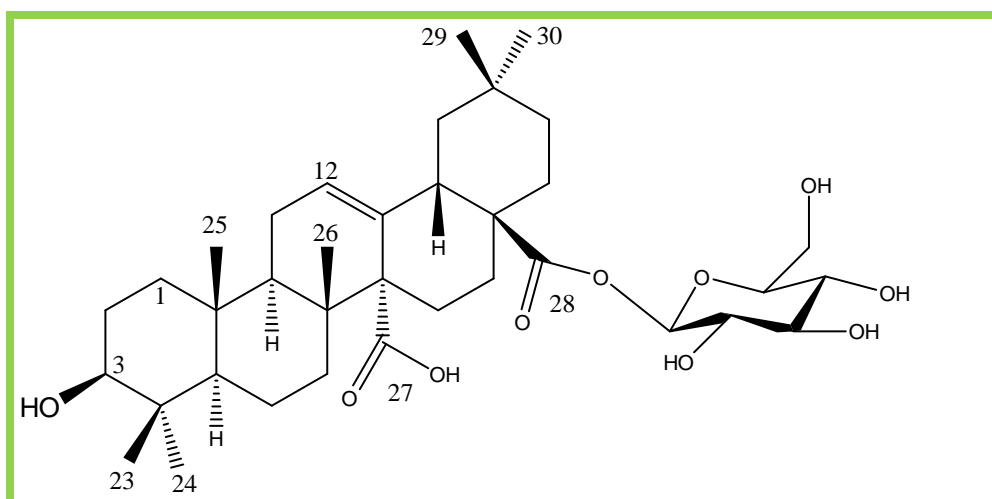


Figure IV-73 : Structure du composé CA7 ; cincholic acid 28-O-β-D-glucopyranoside ester

Tableau IV-14: Déplacements chimiques en RMN ¹H (300MHz) et ¹³C (75MHz) dans CD₃OD du composé CA7 (δ en ppm et J en Hz)

posit	δ (H) ppm	J Hz	DEPT	posit	δ (H) ppm	J Hz	DEPT
1	α	0.974 dl 4.5	CH2	19	α	1.14	CH2
	β	1.74			β	1.46	
2	α	0.974 dl 4.5	CH2	20			C
	β	1.696					
3	3.088 dd 11.4;4.8		CH	21	α	0.91	CH2
4			C		β	1.397	
	5	0.681 d 10.2		CH	22	α	1.532 dl 5.1
6	α	1.281	CH2	β		1.74	
	β	1.397		23	0.952 s		CH3
7	α	1.202	CH2		24	0.746 s	
	β	1.524					
8			C	25	0.874 s		CH3
9	2.08		CH		26	0.921 s	
	10		C	27			
11	0.952 cv		CH2		28		
	1.92			29		0.863 s	
12	5.65 sl		CH		30	0.913 s	
13			C	1'		5.395 d 8.1	
14			C		2'	3.099 t	
15	α	1.555 dl 8.7	CH2	3'			
	β	2.043 dl 12.6			4'		
16	α	1.555 dl 8.7	CH2	5'			
	β	2.043 dl 12.6			6'	3.808 dd 12.3. 1.5	
17			C	3.665 dd 9.0. 4.5			
18	2.90 dd 13.8 ; 3.9		CH				

IV-4-13. Composé CA8

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-74), ^{13}C (Figure IV-75) et DEPT 135 (Figure IV-76) sont superposables avec ceux du composé CA4 avec quelques différences dans les pics de sucre. On déduit alors qu'il est l'acide cincholique attaché à un sucre.

Les valeurs de déplacement chimique attribuées au sucre C-1' (δ 106.7), C-2' (δ 75.9), C-3' (δ 78.2), C-4' (δ 71.6), C-5' (δ 77.6) et C-6' (δ 62.8) appartiennent au glucose. Cela est confirmé par l'apparition d'un signal du proton anomérique à δ 4.29 ppm (1H, *d*; $J=7.8$ Hz), et prouvant la β - orientation du glucose.

L'unité glucose est liée à l'aglycone avec une liaison éther, cela est suggéré par l'apparition des signaux anomériques de la RMN ^1H (δ 4.29 ppm ; 1 H; *d* ; J 7.8 Hz) et de la RMN ^{13}C (δ 106.7 ppm; C-1'). Le site de glycosidation de type éther a été montré d'être au C-3 de l'acide cincholique par l'apparition dans RMN ^{13}C le C-3 à δ 90.7 ppm ; C-2 (δ 27.1 ppm) et C-4 (δ 40.1 ppm) où ils étaient en accord avec les modèles de l'acide cincholique substitué à C-3 [113].

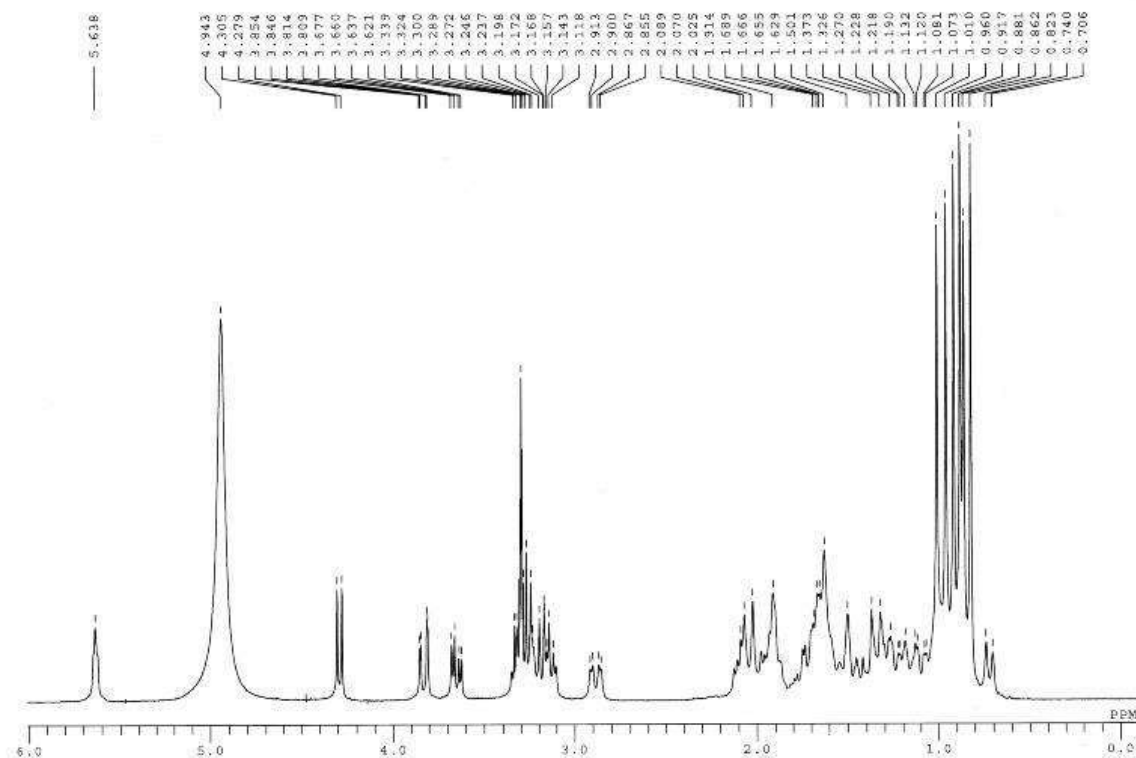


Figure IV-74 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé CA8

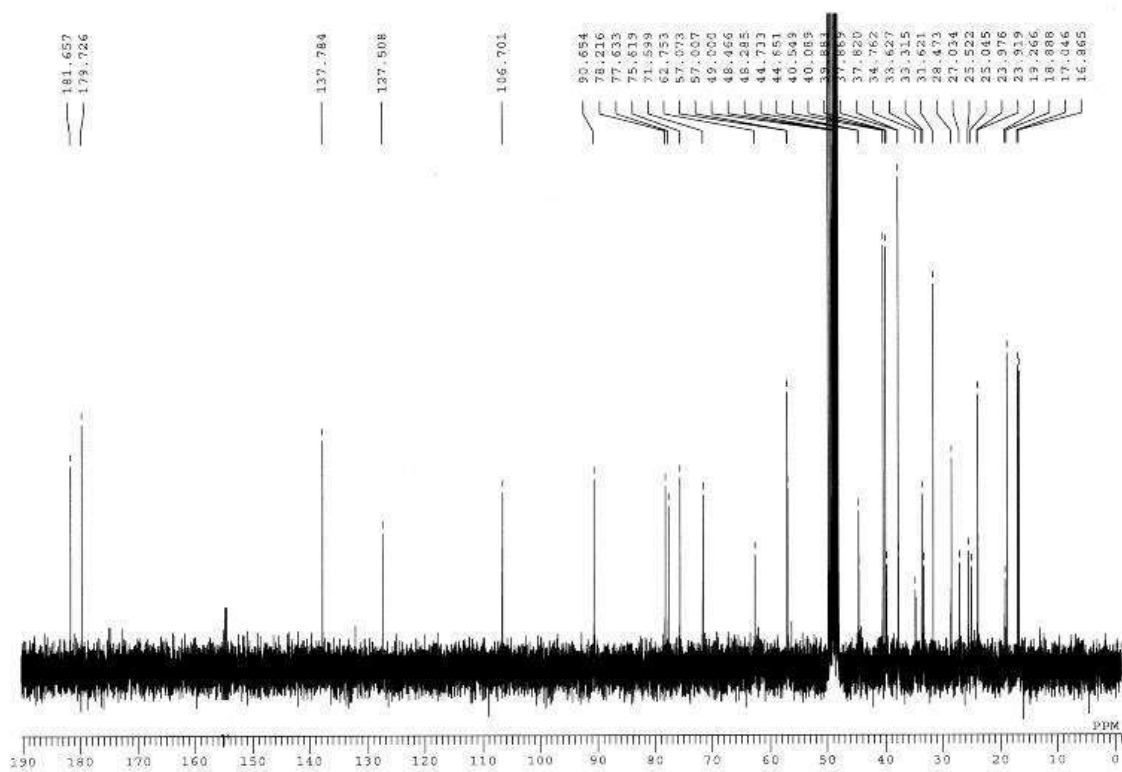


Figure IV-75 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé CA8

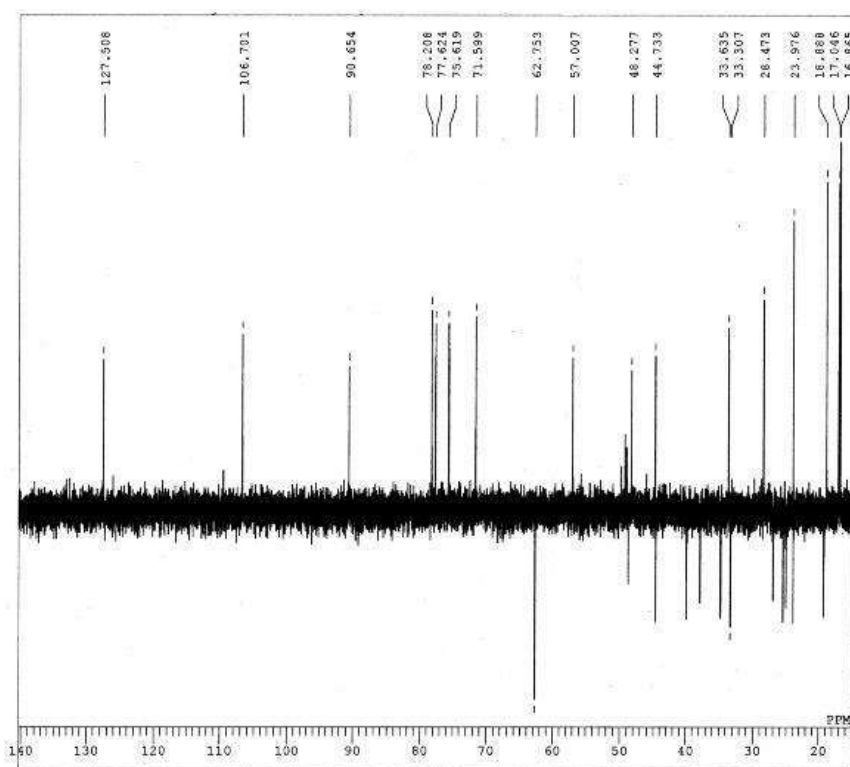


Figure IV-76 : Spectre DEPT 135 du composé CA8

Selon le spectre COSY (Figure IV-78), on distingue les taches de corrélations suivantes :

- H-12 et H-11
- H-1' et H-2'
- H-2' et H-3'
- H-3' et H-4'
- H-4' et H-5'
- H-5' et H-6'
- H-3 et H-2
- H-2 et H-1
- H-18 et H-19
- H-5 et H-6
- H-9 et H-11

Selon les données RMN regroupées dans le tableau IV-15. On conclut que le composé CA8 est un 3-O-β-D-glucopyranoside cincholic acid (Figure IV-77), isolé pour la première fois de *Cephalanthus occidentalis* [115]. On rapporte la séparation de ce composé pour la première fois de la famille Zygophyllaceae.

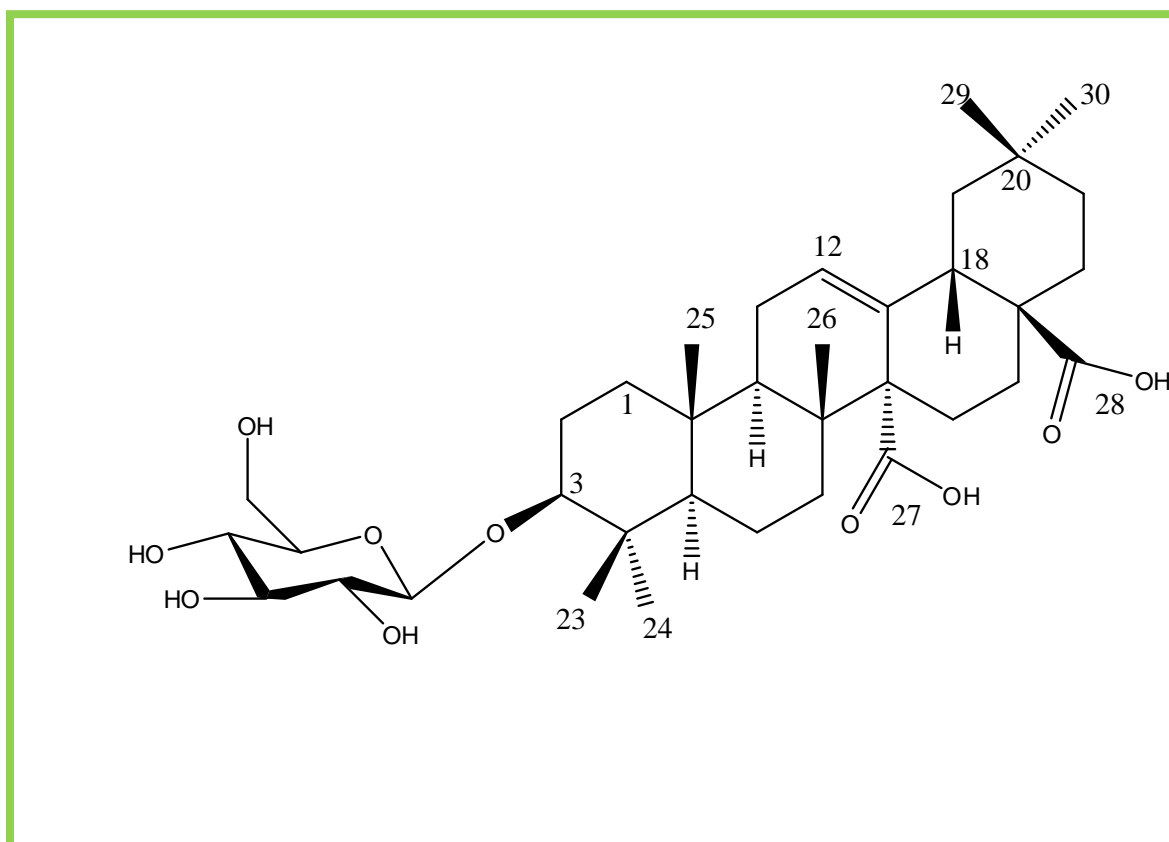


Figure IV-77: Structure du composé CA8 ; 3-O-β-D-glucopyranoside cincholic acid

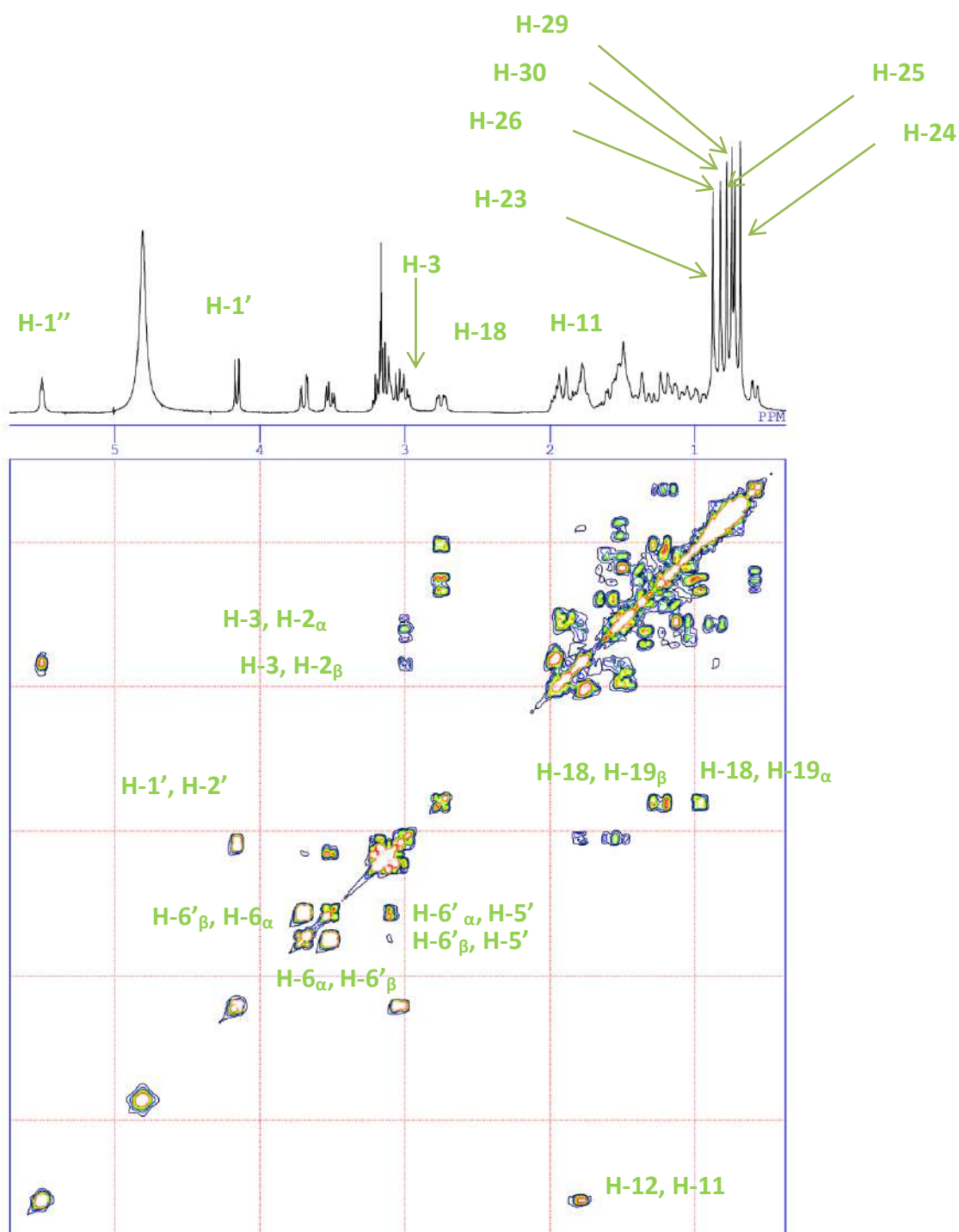


Figure IV-78 : Spectre RMN COSY du composé CA8

Tableau IV-15 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé CA8 (δ en ppm et J en Hz)

position	δ (C)ppm	δ (H) ppm,m , J Hz	COSY	DEPT
1	39.9	1.01 1.66		CH2
2	27	1.01 1.66	H-3	CH2
3	90.7	3.13 <i>dd</i> 11.7 ;4.2		CH
4	40.1			C
5	57	0.72 <i>dl</i> 10.2	H-6	CH
6	19.2	1.349 <i>dldd</i> 14.1		CH2
7	37.8	1.204 <i>dd</i> 11.4 ;8.4 1.629		CH2
8	40.5			C
9	48.3	2.09 <i>dd</i> 11.1 5.7	H-11	CH
10	37.9			C
11	23.9	1.914 <i>dl</i> 1.66 <i>dl</i> 3.3	H-9	CH2
12	127.5	5.64 <i>sl</i>	H-11	CH
13	137.8			C
14	57.1			C
15	25	1.62 2.047 <i>dl</i> 10.5		CH2
16	25.5	162 2.047 <i>dl</i> 10.5		CH2
17	48.5			C
18	44.7	2.88 <i>dd</i> 3.9 ;9.9	$\text{H}_\alpha\text{-19}$ $\text{H}_\beta\text{-19}$	CH
19	44.7	1.1 <i>dd</i> 15.3;3.6 1.396 <i>dl</i>		CH2
20	31.6			C
21	34.8	1.27 1.501		CH2
22	33.3	1.54 1.76		CH2
23	28.5	1.010 <i>s</i>		CH3
24	16.9	0.823 <i>s</i>		CH3
25	17	0.881 <i>s</i>		CH3
26	18.9	0.960 <i>s</i>		CH3
27	179.7			C
28	181.7			C
29	33.6	0.862 <i>s</i>		CH3
30	24.0	0.917 <i>s</i>		CH3
1'	106.7	4.29 <i>d</i>	H-2	CH
2'	75.6	3.15 <i>t</i>		CH
3'	78.2	3.33 <i>t</i>		CH
4'	71.6	3.28 <i>t</i>		CH
5'	77.6	3.26		CH
6'	62.8	α 3.65 <i>dd</i> β 3.83 <i>dd</i>		CH2

Glucose

IV-4-14. Composé B6

Les caractéristiques spectrales de RMN ^1H (Figure IV-79) ont montré une analogie avec celles du composé **B9**, sauf quelques changements sont observés au niveau des signaux du sucre.

- Deux signaux de protons anomériques à δ 4.26 ppm (d , $J = 7.5$ Hz) et δ 5.40 ppm (d , $J = 8.4$ Hz), avec l'apparition d'un méthyle sous forme de doublet à 1.24 ppm dû à un quinovose.

Le spectre de RMN ^{13}C (Figure IV-80) et DEPT 135 (Figure IV-81) du composé B6 ont montré, outre 12 signaux dus à deux fragments d'hexose. 30 signaux de carbone qui ont été observés dans les fréquences presque identiques à celles du composé B9, indiquant un acide cincholique en tant qu'unité aglycone :

- Les signaux appartenant aux sucres sont C-1' (δ 95.7) C-2' (δ 74) C-3' (δ 78.4) C-4' (δ 71.2) C-5' (δ 78.8) C-6' (δ 62.5) correspondent au glucose et C-1'' (δ 106.7) C-2'' (δ 76.0) C-3'' (δ 78) C-4'' (δ 77.1) C-5'' (δ 73) C-6'' (δ 18.3) correspondent au quinovose.
- Deux carbones carboxyliques C-27 à δ 179.8 ppm et C-28 à δ 177.9 ppm.

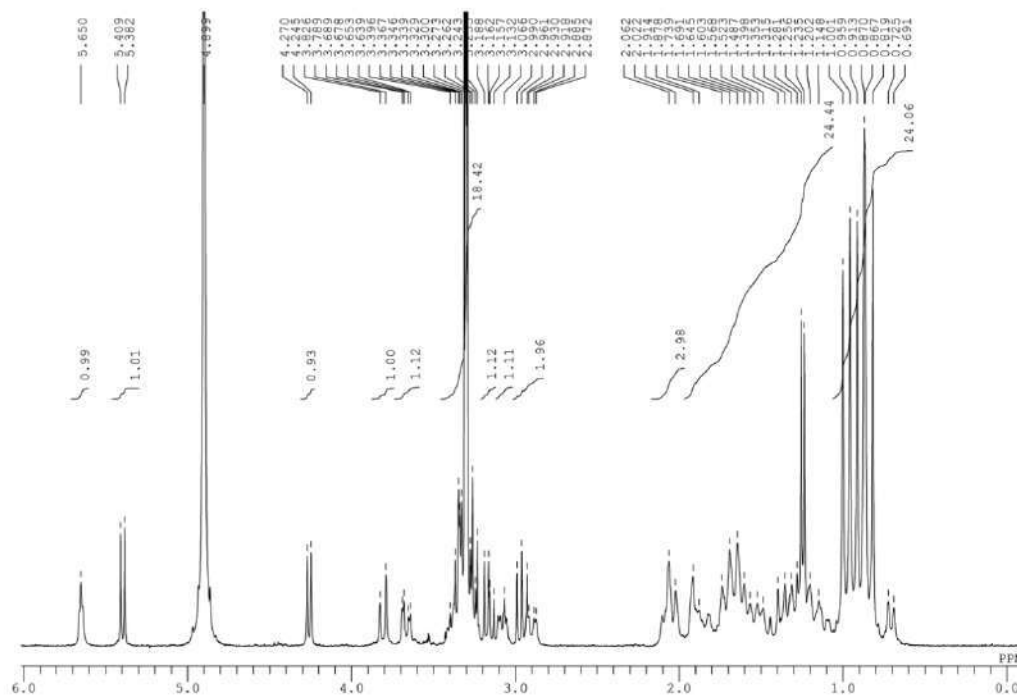


Figure IV-79: Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B6

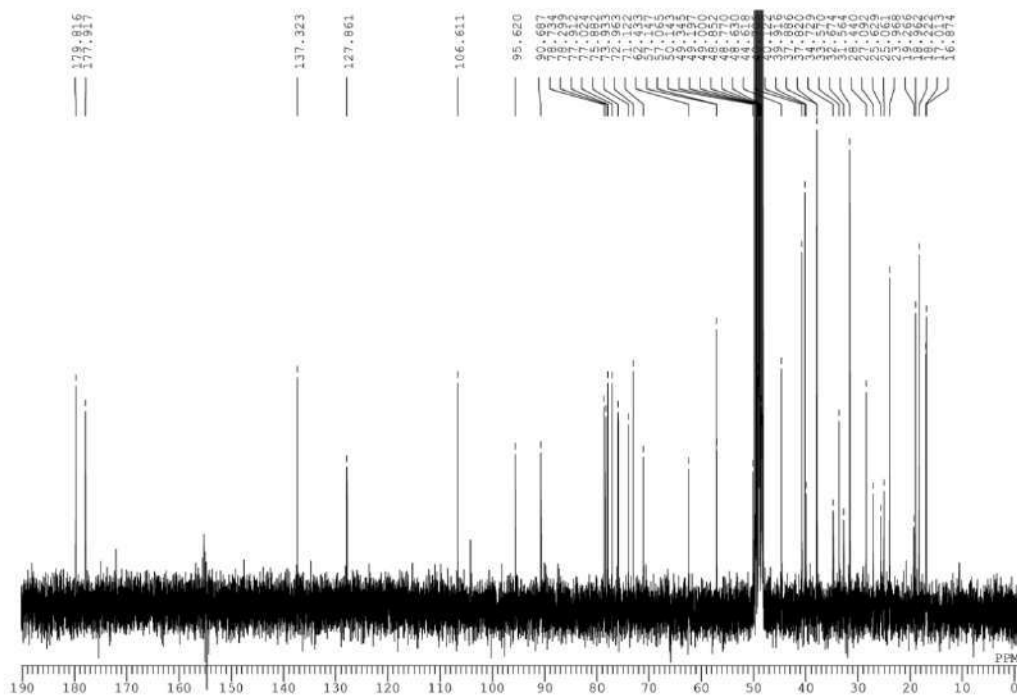


Figure IV-80: Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B6

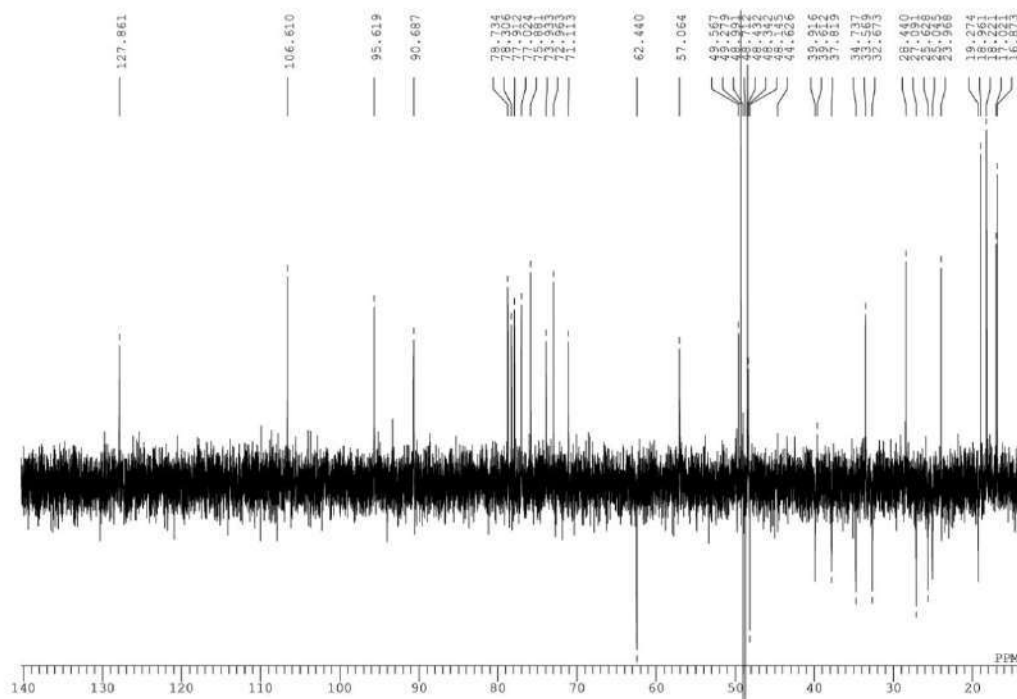


Figure IV-81 : Spectre DEPT 135 du composé B6

La forme β -D-pyranoside des deux sucres est déduite par les valeurs de constantes de couplages des protons anomériques à δ 4.26 ppm (1H ; d ; $J=7.5$ Hz) et δ 5.37 ppm (1H ; d ; $J= 8.1$ Hz).

C-28 est engagé dans une liaison ester avec le glucose causant un blindage de C-28 (δ 177.9 ppm) par rapport à C-28 libre (δ 181.8 ppm) et C-1' (δ 95.7 ppm) du glucose.

Selon les données récoltées des spectres RMN, le composé **B6** est édnifié comme 3-*O*- β -D-quinovopyranoside cincholic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside (Figure IV-82). Les valeurs de déplacements chimiques (Tableau IV-16) sont cohérentes avec celles de la littérature [103]. Ce composé a été isolé pour la première fois de la plante *Iseria Haenkena* [103]. On rapporte la séparation de ce composé pour la première fois de la famille Zygophyllaceae.

Tableau IV-16 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B6 (δ en ppm et J en Hz)

pos itio n	δ (C)	δ (H) ppm, m, J Hz	DEPT	position	δ (C) ppm	δ (H) ppm, m, J Hz	DEPT		
1	39.9	α 1.002	CH2	22	32.7	α 1.001	CH2		
		β 1.773				β 1.694			
2	27.0	α 1.002	CH2	23	28.5	1.001 s	CH2		
		β 1.735							
3	90.8	3.089 dd 11.4 ;4.5	CH	24	17.0	0.819 s	CH		
4	40.1		C	25	17.1	0.87 s	C		
5	57.1	0.73 dl 10.5	CH	26	19.0	0.959 s	CH		
6	19.3	α 1.483	CH2	27	179.8		CH2		
		β 1.602							
7	37.8	α 1.43	CH2	28	177.9		CH2		
		β 1.656							
8	40.7		C	29	33.7	0.867 s	C		
9	48.4	2.09 dd 11.1 5.7	CH	30	24.0	0.913 s	CH		
10	37.9		C	Quinose	1'	106.7	4.257 d 7.5	CH	
11	23.9	1.945	CH2		2'	76.0	3.162 t 7.8	CH	
12	127.9	5.65 sl	CH		3'	78.0		CH	
13	137.3		C		4'	77.1	2.961 t 9.0	CH	
14	57.1		C		5'	73.0	3.35	CH	
15	25.1	α 1.714	CH2		6'	18.3	1.245 d 6.3	CH3	
		β 2.031							
16	25.7	α 1.714	CH2		Glucose	1''	95.7	5.369 d 7.5	CH
		β 2.031				2''	74.0	3.19 t 7.5	CH
17	48.6		C			3''	78.4		CH
18	44.6	2.901 dd 13.8 3.9	CH	4''		71.2		CH	
19	44.6	α 1.148	CH2	5''		78.8		CH	
		β 1.334 dl 11.4		6''		62.5	3.666 dd 11.7 ; 4.2 3.792 dl 7.8	CH2	
20	31.6		C						
21	34.8	1.002	CH2						
		1.54							

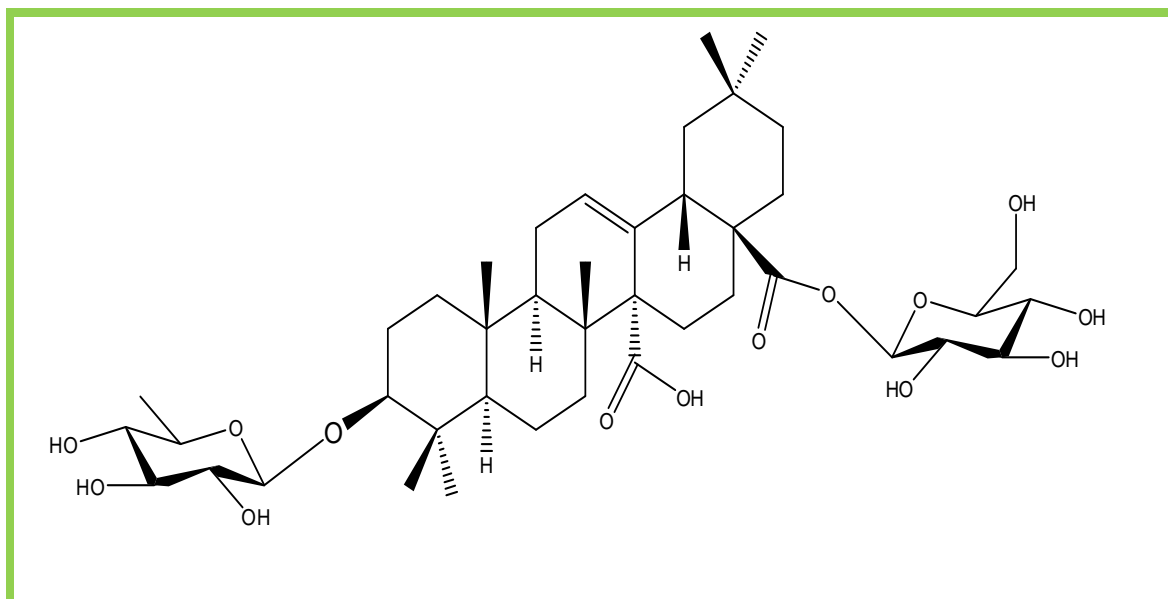


Figure IV-82 : Structure du composé B6 ; 3-*O*- β -D-quinovopyranoside cincholic acid
28- *O*- β -D-glucopyranoside

IV-4-15. Composé CA2

Le composé a été obtenu sous forme de cristaux blancs solubles dans le chloroforme. L'examen du spectre RMN ^1H (Figure IV-83) montre des signaux caractéristiques d'un triterpène stéroïdique :

- Un proton oléfinique apparaît sous forme de doublet à δ 5.35 $J= 5.1$ Hz
- Un multiplet à δ 3.25 caractéristique du proton géminé à un groupement hydroxyle porté par C-3.
- Des signaux de méthyles, méthylènes et méthines dans l'intervalle δ 0.67 et δ 2.3 ppm

Selon les données extraites du spectre RMN proton, il s'agit d'un stérol.

Le spectre ^{13}C (Figure IV-84) compte 29 pics :

- Des carbones oléfiniques à δ 121.39 et δ 140.87 attribuables à C-6 et C-5
- Un signal à δ 71.79 caractéristique d'un carbone lié à un hydroxyle libre à C-3

D'après les spectres RMN, il s'agit de β -sitosterol (Figure IV-85). Les valeurs de déplacement chimique (Tableau IV-17) sont en accord avec la littérature [116]. Ce composé est isolé de *Z. cornutum* [117] et de *Z. eurypterum* [118] mais en général il est très répandu dans le règne végétal.

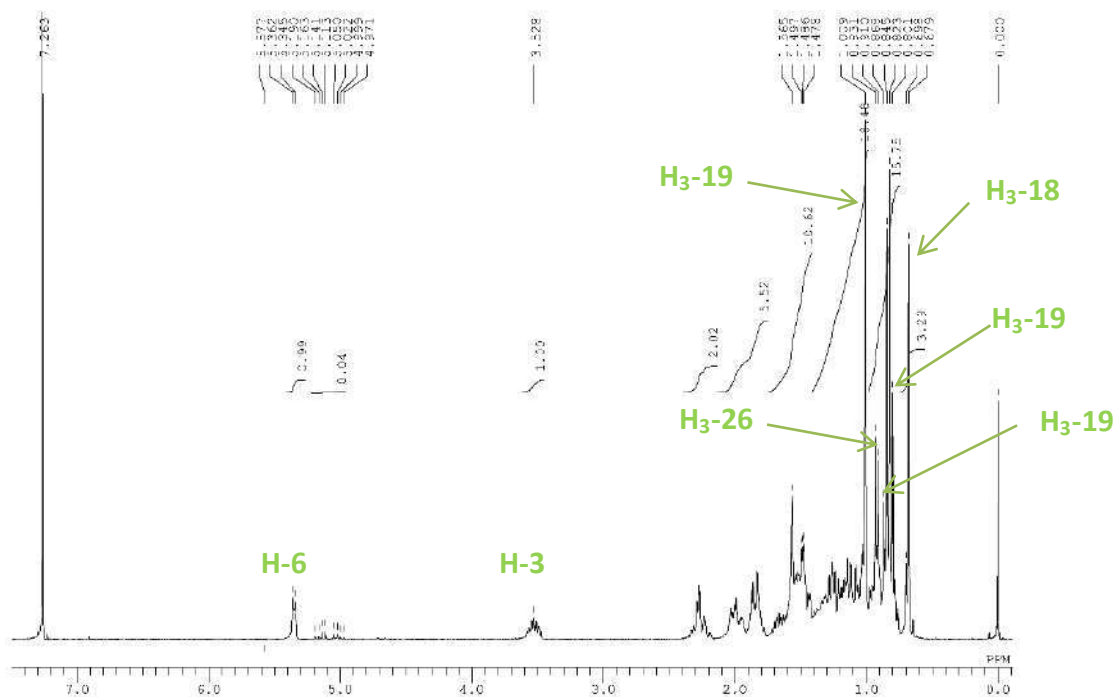


Figure IV-83 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) du composé CA2

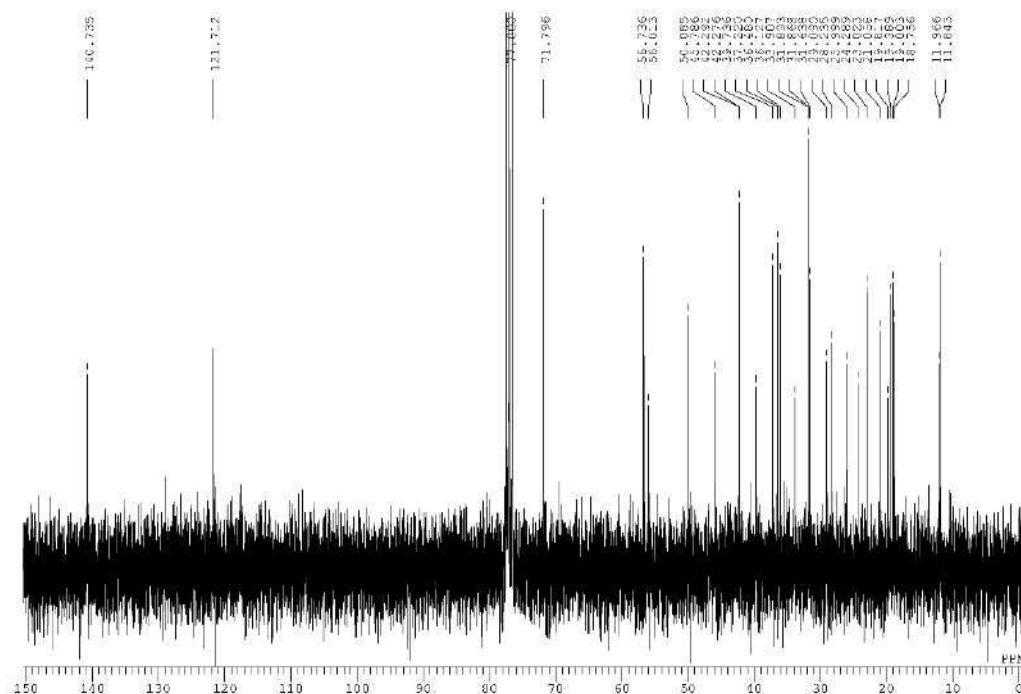


Figure IV-84 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) du composé CA2

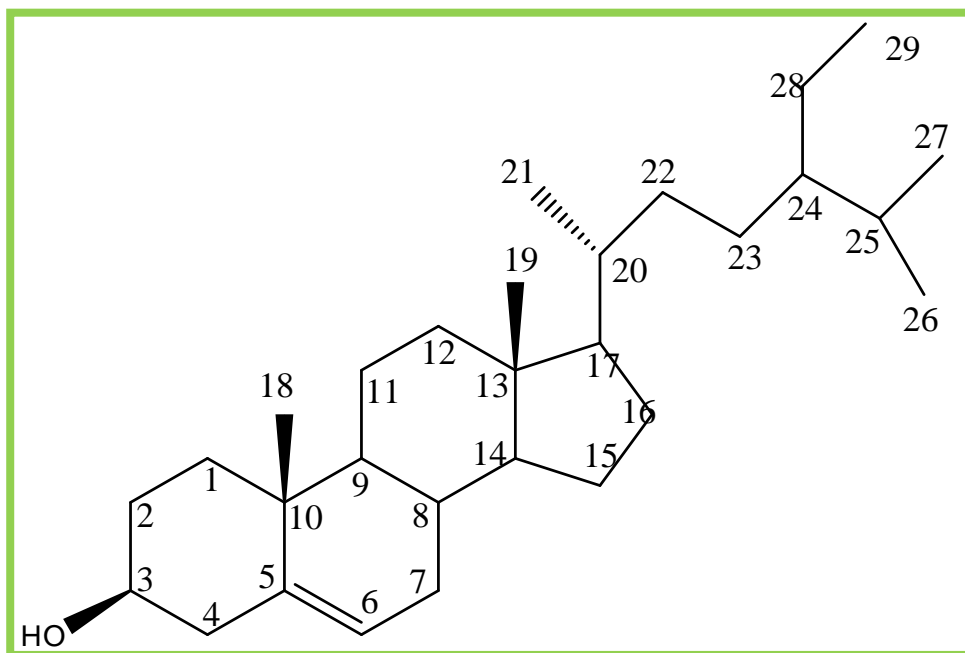


Figure IV-85 : Structure du composé CA2 ; β -sitosterol

IV-4-16. Composé CA3

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-86) est identique avec celui du β -sitostérol (CA2) en plus on enregistre l'apparition des pics du sucre.

- Un signal anomérique est apparu à δ 5.06 ppm $J=7.5$ Hz sous forme d'un doublet

Le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-87) est identique avec celui du CA2 (β -sitostérol), avec l'apparition de six signaux qui sont caractéristique d'un hexose

- Six pics attribuables à C-1' (δ 102.5), C-2' (δ 75.3), C-3' (δ 78.5), C-4' (δ 71.6), C-5' (δ 78) et C-6' (δ 62.8), caractéristique d'un β -D-glucose.
- Un effet déblindage est remarqué sur C-3 (δ 78.62 ppm). montrant que le sucre est lié par une liaison éther en C-3 de la génine.

L'élucidation structurale du composé nous conduit vers la β -sitostérol 3-O-glucopyranoside (Figure IV-88), appelé aussi daucostérol. Les valeurs du déplacement chimique (Tableau IV-17) sont en accord avec les données de ^{13}C du 3-O-[β -D-glucopyranoside]- β -sitosterol trouvées dans la littérature [53, 119]. Ce composé est isolé de *Z. eurypterum* [118].

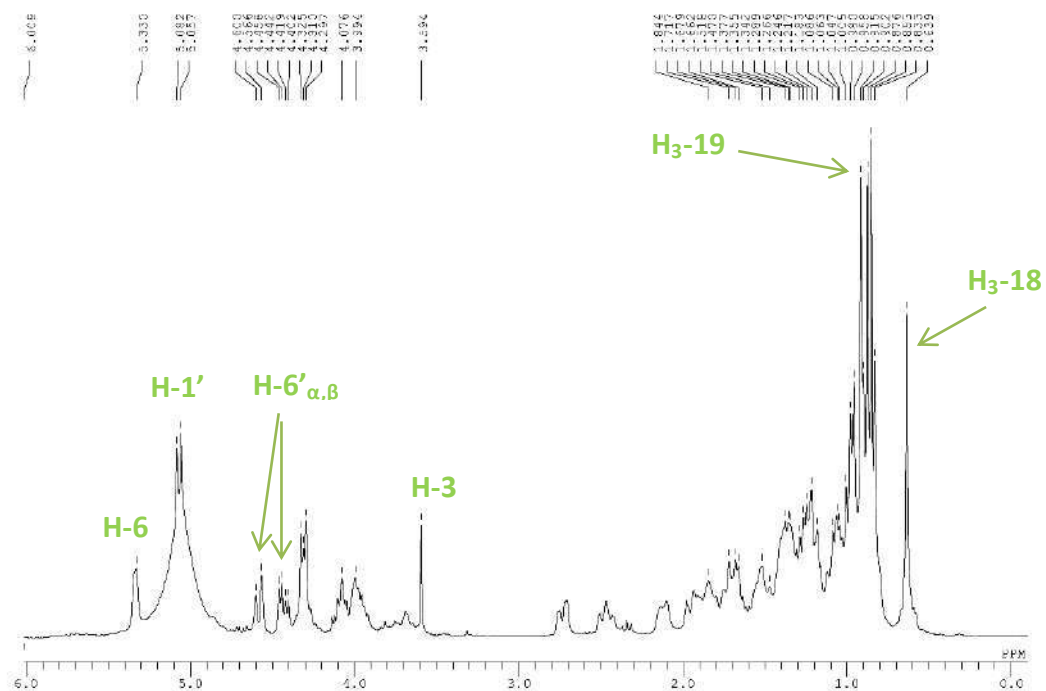


Figure IV-86 : Spectre RMN ^1H (300MHz, pyridine- d_5) du composé CA3

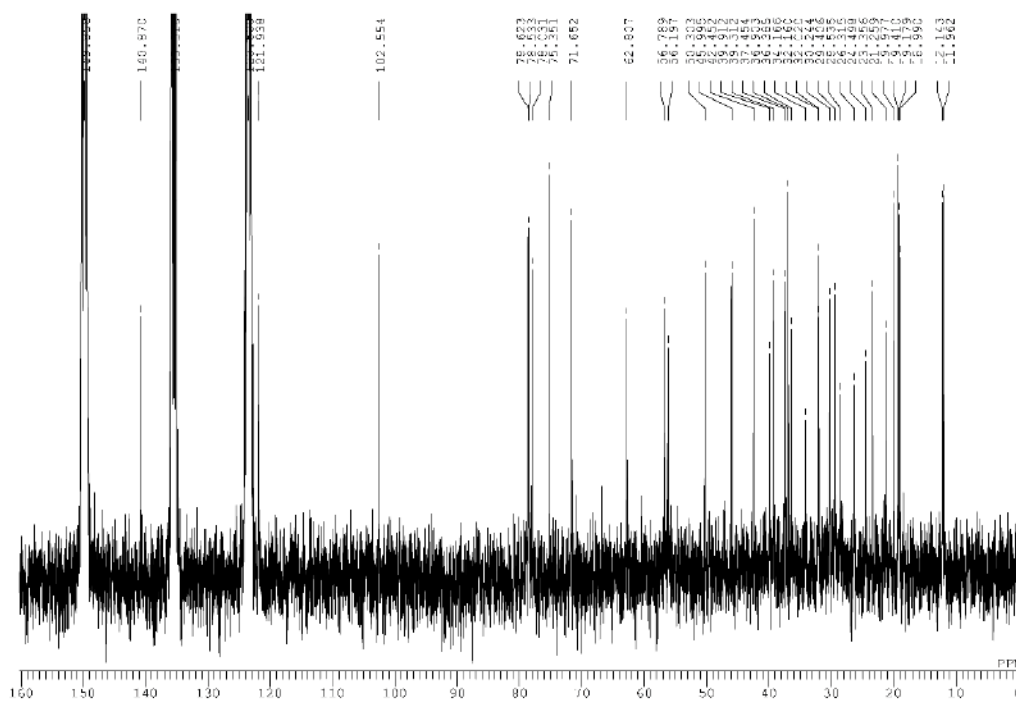


Figure IV-87 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz, pyridine- d_5) du composé CA3

Tableau IV-17: Déplacements chimiques en RMN ¹H (300MHz) et ¹³C (75MHz) des composés CA2 (dans le CDCl₃) et CA3 (dans le pyridine-*d*₅) (δ en ppm et *J* en Hz)

position	CA2		CA3		position	CA3		CA4	
	δ (C)	δ (H)	δ (C)	δ (H)		δ (C)	δ (H)	δ (C)	δ (H)
1	37.2		37.4		19	19	1.009 <i>s</i>	19.2	0.95 <i>s</i>
2	31.6		30.2		20	36.1		36.4	
3	71.8	3.52 <i>m</i>	78.6	3.59 <i>m</i>	21	18.8	0.92 <i>d</i> 6.3	19	0.98 <i>dl</i>
4	42.1		39.9		22	34		34.2	
5	140.7		140.9		23	26		26.3	
6	121.7	5.35 <i>dl</i> 5.1	121.9	5.33 <i>dl</i>	24	45.8		46	
7	31.9		32.2		25	29		29.4	
8	31.8		32.0		26	19.4	0.85 <i>d</i> 6.9	19.4	0.91 <i>d</i> 3.9
9	50.1		50.3		27	19.8	0.81 <i>d</i> 6.6	20	0.86 <i>d</i> 6.9
10	36.5		36.9		28	23		23.3	
11	21		21.2		29	12	0.69 <i>t</i>	12.1	0.83 <i>t</i>
12	39.7		39.3						
13	42.3		42.4		1'			102.5	5.06 <i>d</i> 7.5
14	56.7		56.8		2'			75.3	4.07 <i>t</i>
15	24.3		24.5		3'			78.5	4.31 <i>t</i>
16	28.2		28.5		4'			71.6	4.31 <i>t</i>
17	56.1		56.2		5'			78	3.99 <i>t</i>
18	11.8	0.67 <i>s</i>	11.2	0.63 <i>s</i>	6'			62.8	4.58 <i>d</i> 10.2 4.45 <i>d</i> 11.7

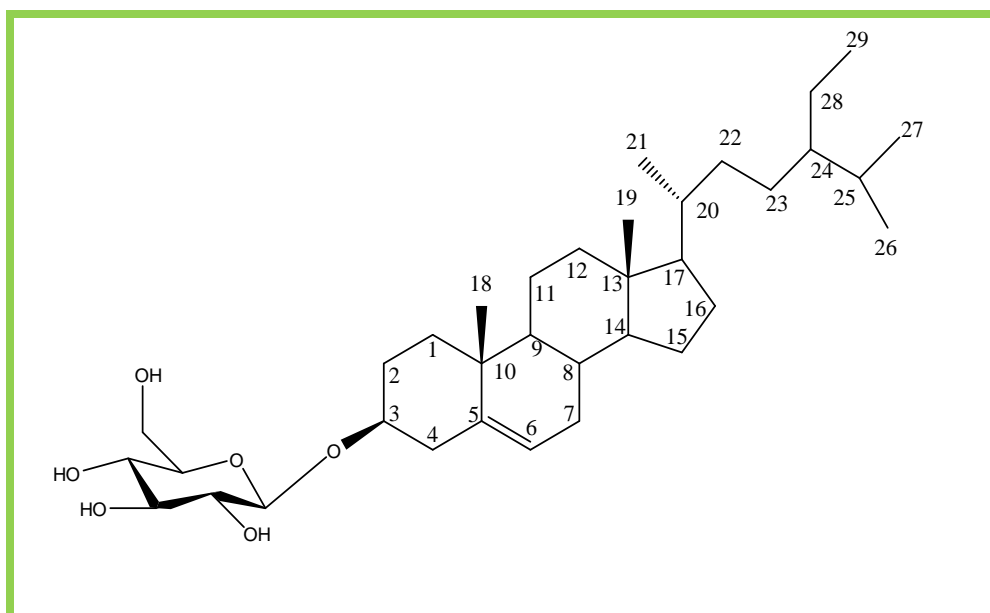


Figure IV-88 : Structure du composé CA3; 3-*O*-[β-D-glucopyranoside]-β-sitosterol

IV-4-17. Composé CA1

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-89) montre des pics caractéristiques d'un squelette tri-terpène (stéroïde) :

- Deux signaux oléfiniques à $\delta = 4.68$ ppm (1H, *d*, $J = 2.10$ Hz) et à $\delta = 4.56$ ppm (1H, *d*, $J = 1.32$ Hz)
- Un pic sous forme de doublet de doublet à 3.19 ppm ($J = 10.8$ et 5.1 Hz) caractéristique d'un proton oxyméthine à proximité d'un hydroxyle.
- Sept pics de méthyles sous forme de singulet

Les valeurs de déplacement chimique sont regroupées dans le tableau (Tableau IV-18), les résultats sont en accord avec la littérature [116, 120-122]. Le composé **CA1** est désigné comme lupeol (Figure IV-90).

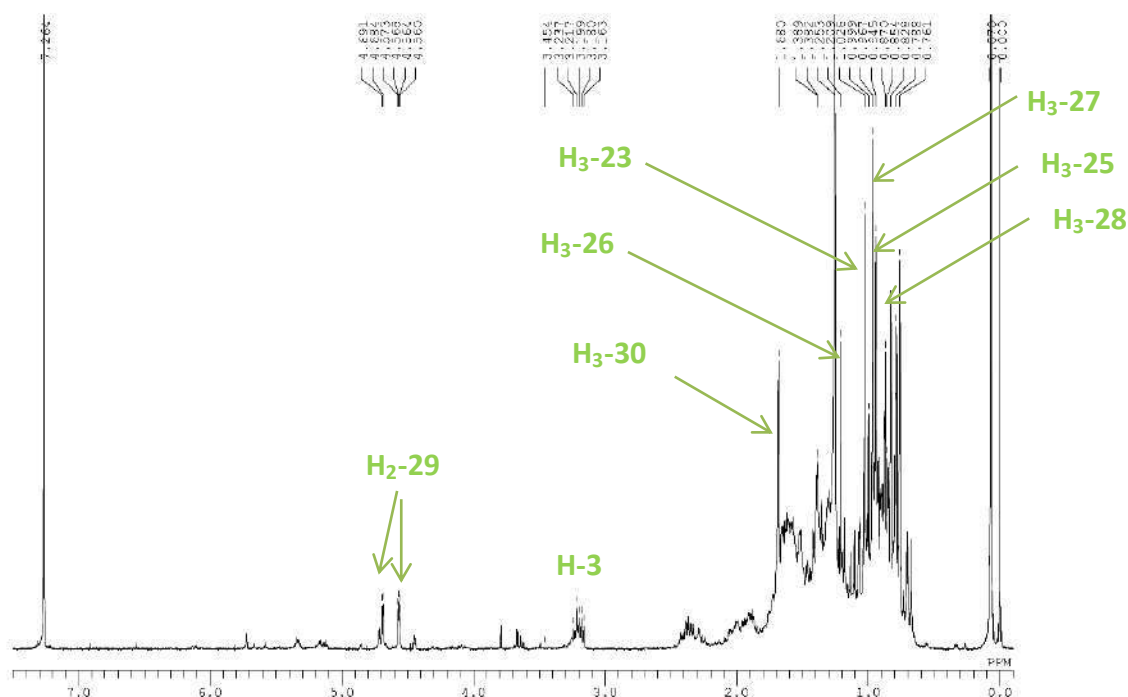


Figure IV-89: Spectre RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) du composé CA1

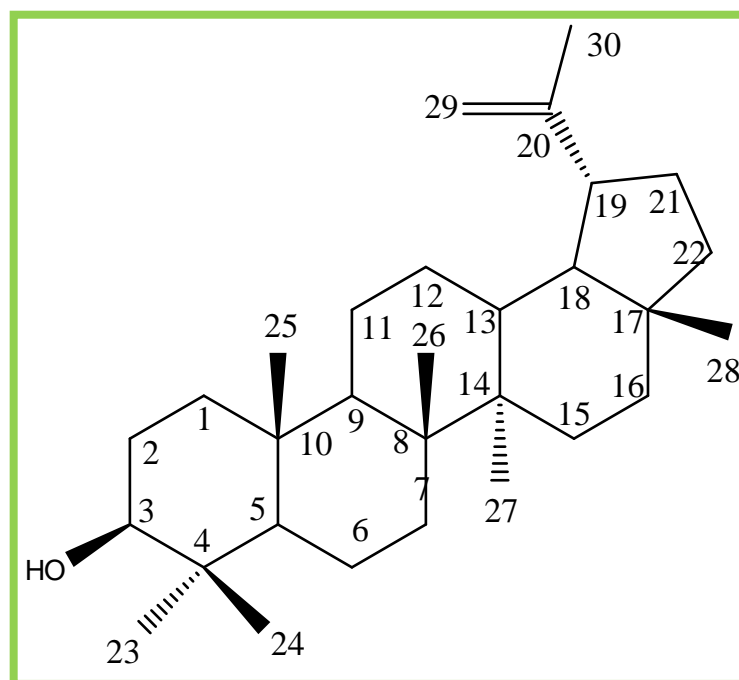


Figure IV-90 : Structure du composé CA1 ; lupeol

Tableau IV-18 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) dans CDCl_3 du composé CA1 (δ en ppm et J en Hz)

position	δ (H) ppm, m, J en Hz	position	δ (H) ppm, m, J en Hz
1	1.51 <i>m</i>	18	1.3
	1.62		
2	1.42 <i>m</i>	19	2.37
	1.56		
3	3.19 <i>dd</i> 10.8, 5.1 Hz	21	0.81
			1.21
5	0.67 <i>m</i>	22	1.33
			1.46
6	1.23	23	1.028 s
	1.43		
7	1.31	24	0.761 s
	1.47		
9	1.21	25	0.945 s
11	1.24	26	1.21 s
	1.39		
12	1.46	27	0.967 s
	1.56		
13	1.58	28	0.828 s
15	1.09	29	4.68, <i>d</i> , J 2.10 Hz
	1.6		4.56 <i>d</i> , J 1.32
16	1.35	30	1.68 s
	1.4		

IV-4-18. Composé B12

Le composé a été obtenu sous forme d'une poudre jaune. Selon le spectre RMN ^1H (Figure IV-91), on distingue les signaux dans le domaine faible caractéristique des protons aromatiques, plus précisément d'un flavonoïde :

- Des protons anomériques à δ 4.52 ppm (d , $J= 1.3$ Hz) et à δ 5.23 ppm (d , $J= 7.2$ Hz) avec des constantes de couplage caractéristiques de la configuration α et β respectivement.
- Des pics à δ 6.90 ppm (d , $J= 8.4$ Hz, H-5), δ 7.61 (dd , $J = 1.5$ et 8.4 Hz, H-6') et 7.94 (d , $J = 1.5$ Hz, H-2') sont assignables à trois protons aromatiques caractéristiques pour un anneau B 3,4-disubstitué.
- Deux singulets larges à δ 6.4 et δ 6.2 ppm, indiquant la bisubstitution du cycle A.
- L'absence d'un pic sous forme de singulet dans la région faible attribuable au H-3 du cycle C
- Un singlet d'intégration de trois protons à δ 3.94 ppm, caractéristique d'un groupe méthoxyle.

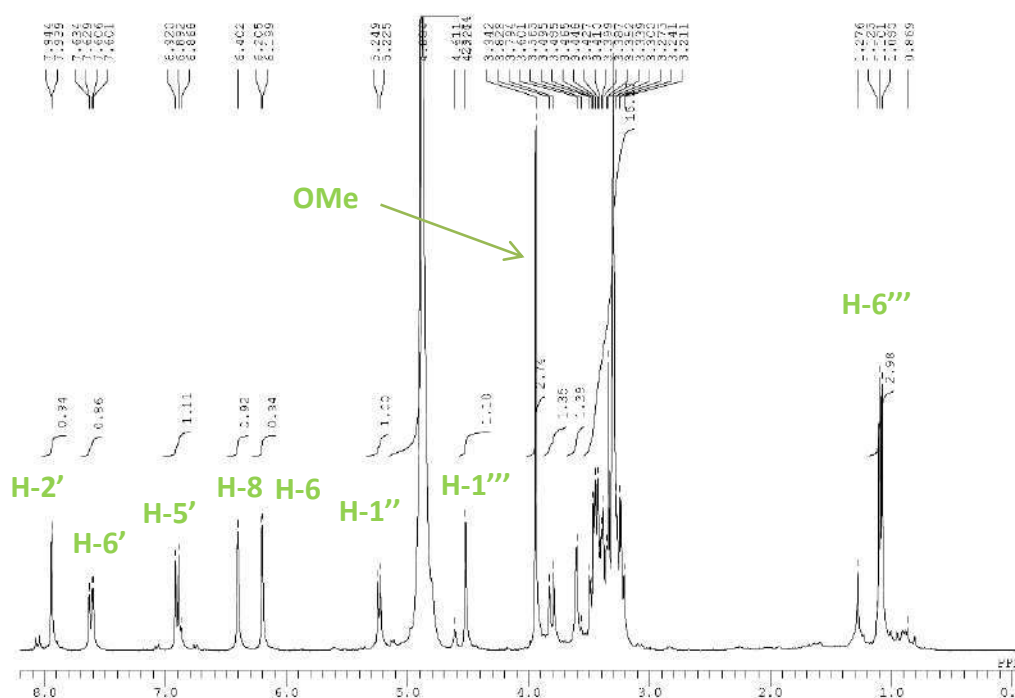


Figure IV-91 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B12

De plus, le spectre RMN ¹³C (Figure IV-92) a montré 28 signaux de carbones suivants :

- Les pics δ 104.4 ppm (C-1'') et δ 77.3 (C-2''), 78.1 (C-3''), 71.6 (C-4''), 79.5 (C-5'') et 68.5 (C-6'') correspond au glucose.
- Les pics δ 102.5 ppm (C-1'''), δ 72.2 (C-2'''), 73.8 (C-3'''), 75.9 (C-4'''), 69.8 (C-5''') et 17.9 (C-6''') correspond au rhamnose.
- Le décalage vers le champ faible du signal δ 68.5 ppm assignable à C-6'' par rapport au glucose, indique que le carbone C-6'' est le site de glycosylation.
- Un groupe méthoxyle à 56.7 ppm.

L'attachement rhamnose C-1''' → C-6'' glucose est déduit par l'effet déblindage remarqué sur le C-6'' du glucose, cet attachement des deux sucres appelé rutinose [123].

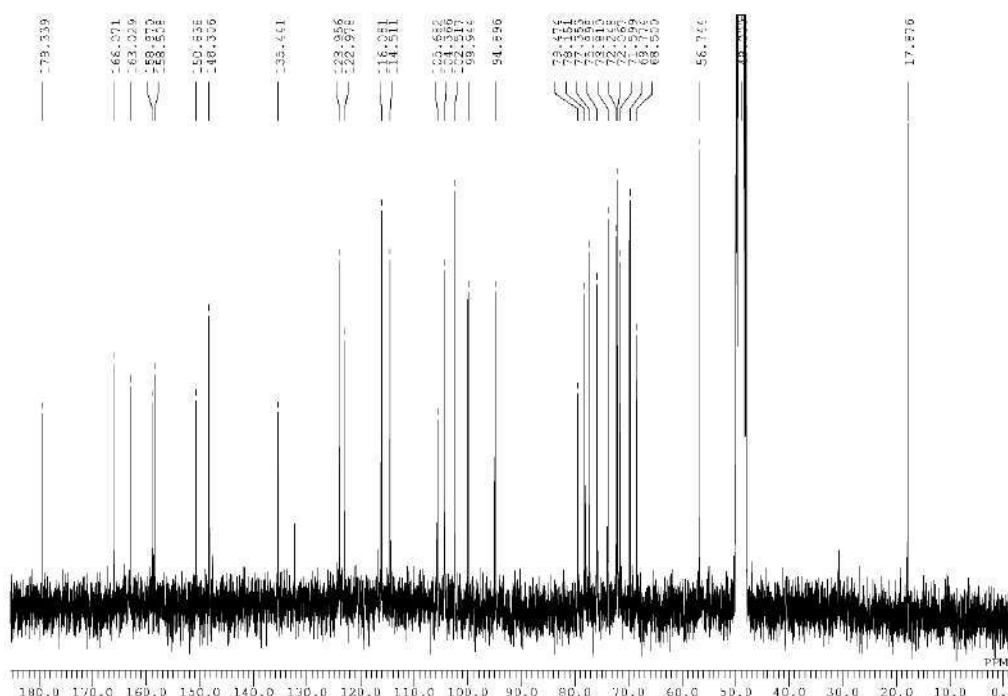


Figure IV-92 : Spectre RMN ¹³C (75MHz, CD₃OD) du composé B12

La série spectrale du composé (Figure IV-94) a été effectuée par la spectrophotométrie UV-visible en utilisant des réactifs caractéristiques [124], montre :

- Apparition de la bande I dans le méthanol à λ_I = 342 nm nous conduit vers un flavone ou flavonol substitué en 3 et comme le spectre RMN ¹H a exclu la structure d'un flavone, donc la structure ne peut être qu'un flavonol substitué en 3.
- En ajoutant quelques gouttes de NaOH, on remarque un déplacement bathochromique de la bande I sans la diminution de la densité optique Δλ_I(NaOH/MeOH)=66nm, indiquant un groupe OH en position 4'. Ainsi que

la stabilité du spectre après cinq minutes indique l'absence d'un système 3,4 dihydroxy.

- Ainsi, l'apparition d'un nouveau pic à 330 nm, indiquant que la position 7 possède un groupe hydroxyle libre. Cela est justifié par l'apparition d'un déplacement bathochromique de la bande II d'un $\Delta\lambda_{II} = 20\text{nm}$ en ajoutant la base NaOAc.
- Le déplacement bathochromique du spectre AlCl_3+HCl par rapport au spectre du méthanol de la bande I indiquant la présence d'un groupe OH dans la position 5.
- L'absence d'un déplacement hypsochromique en comparant les spectres $\Delta\lambda_I \text{AlCl}_3+\text{HCl}/ \text{AlCl}_3$ indiquant l'absence d'un système ortho-dihydroxy.

En assemblant tous ces données, on obtient la structure partielle représentée dans la figure IV-93 :

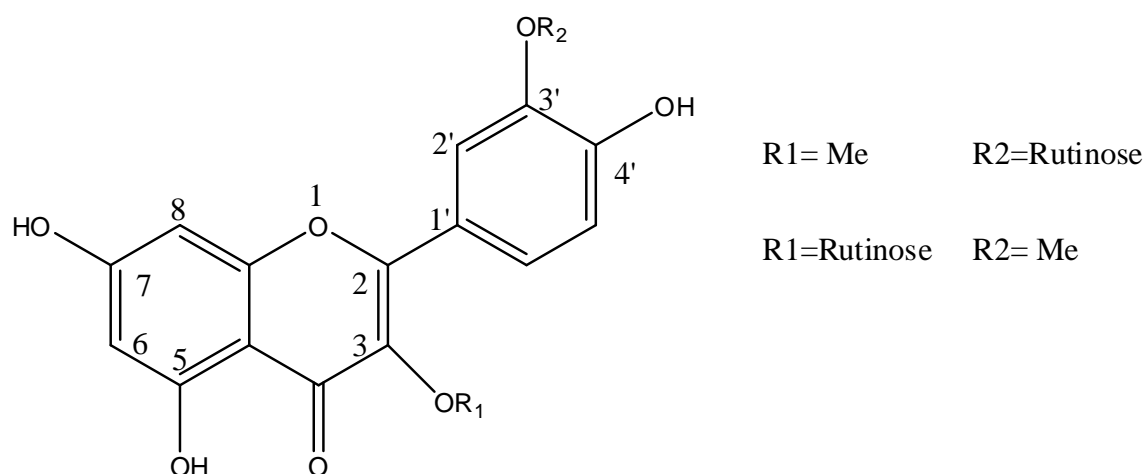


Figure IV-93 : La structure partielle de B12

Pour définir la position des deux substituants : méthoxyle et sucre, on a effectué une hydrolyse acide (HCl , 6N). Le spectre UV de l'aglycone enregistré dans le méthanol (Figure IV-95) a montré deux bandes : $\lambda_{II} = 256$ et $\lambda_I = 371$ nm, ce qui prouve que l'aglycone est un flavonol, où C-3 est devenue contenir un groupe hydroxyle, ce qui montre que le sucre libéré a été localisé à la position C-3 et le méthoxyle à la position C-3'.

Sur la base de ces données, le composé est attribué en tant qu'isorahmnetin 3-O-rutinoside ou appelé encore narcissin. Sa structure est représentée dans la figure IV-95. Les données RMN ^1H et ^{13}C (Tableau IV-19) sont en accord avec la littérature [123]. Ce composé a été isolé de *Z. album*, *Z. decumbens*, *Z. coccineum* et *Z. aegyptium*. On rapporte la séparation de ce composé pour la première fois de l'espèce *Z. gaetulum*.

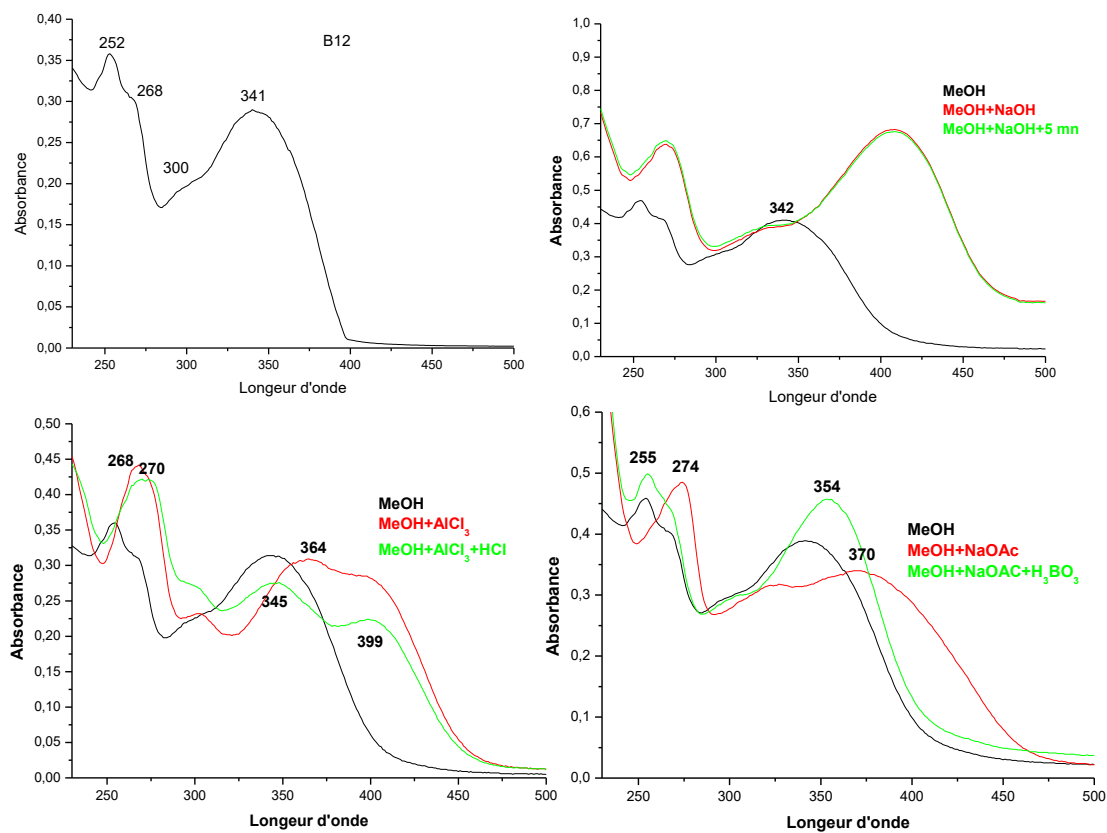


Figure IV-94 : La série spectrale UV du composé B12

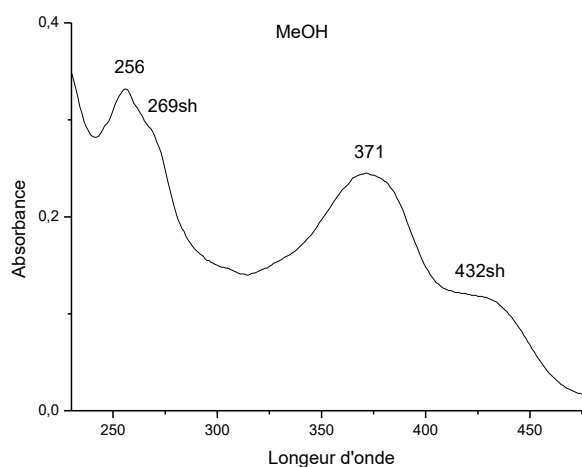


Figure IV-95 : Spectre UV de la génine dans le méthanol après hydrolyse acide du composé B12

Tableau IV-19: Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B12

position	δ (C)	δ (H)	position	δ (C)	δ (H)
2	158.87		6'	123.96	7.61 <i>dd</i> 8.4 1.5
3	135.44		OMe	56.744	3.94 <i>s</i>
4	179.34		Glucose	1''	104.37
5	163.03			2''	77.35
6	99.94	6.2 <i>d</i> 1.8		3''	78.15
7	166.07			4''	71.6
8	94.9	6.4 <i>d</i> 1.8		5''	79.47
9	158.50			6''	68.5
10	105.69		Rhamnose	1'''	102.52
1'	122.98			2'''	72.25
2'	114.51	7.94 <i>d</i> 1.5		3'''	73.81
3'	148.30			4'''	75.9
4'	150.84			5'''	69.77
5'	116.8	6.90 <i>d</i> 8.4		6'''	17.88

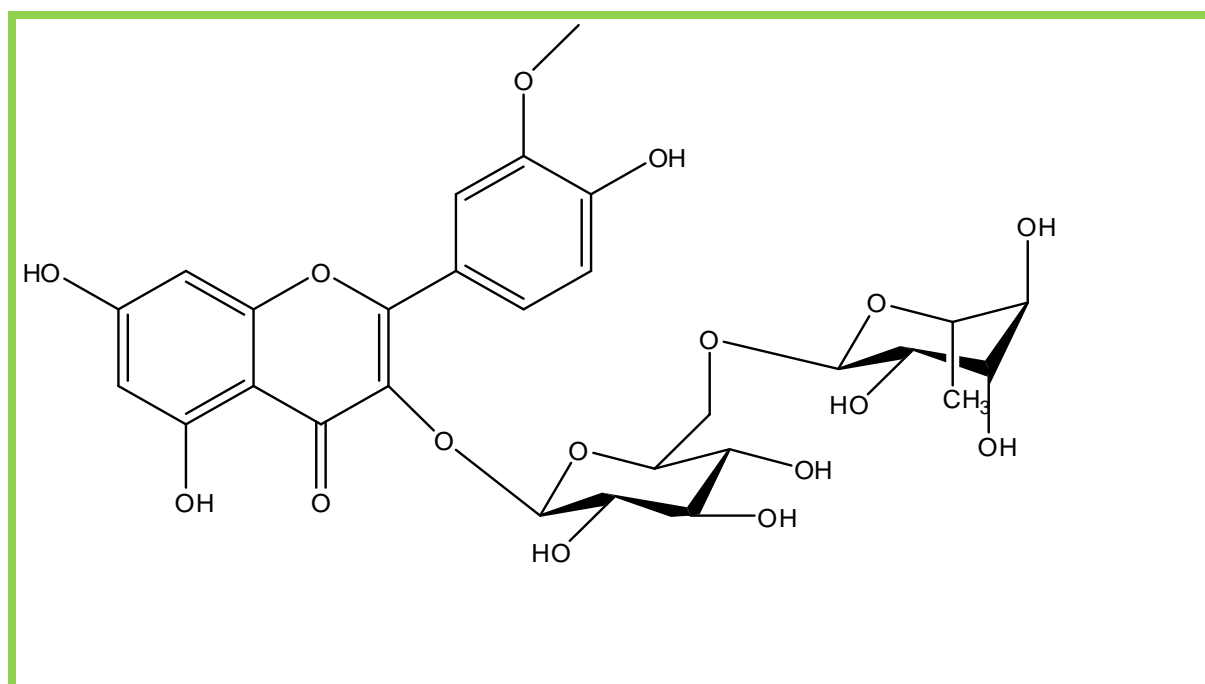


Figure IV-96: Structure du composé B12 ; isorahmetin 3-*O*-rutinoside = narcissin

IV-4-19. Composé B1

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-96) montre les signaux caractéristiques d'un lignane :

- Deux pics sous forme de singulet d'intégration 3H pour chacun à δ 3.82 ppm et δ 3.83ppm caractéristiques des groupes méthoxys.
- Des protons aromatiques de δ 6.62 ppm à δ 6.90 ppm.

L'analyse du spectre RMN ^{13}C (Figure IV-97) montre :

- Signal intense à 56.34 ppm indique l'existence de deux méthoxys.
- Douze carbones aromatiques entre δ 115 ppm et δ 150 ppm
- Huit carbones non-aromatiques

Toutes ces données spectrales sont caractéristiques d'un lignane.

Selon le spectre COSY (Figure IV-99), on aperçoit les corrélations suivantes :

- entre H-7 et H-8
- entre H-8 et H-9 $_{\alpha}$ et entre H-8 et H-9 $_{\beta}$
- entre H-9 $_{\alpha}$ et H-9 $_{\beta}$
- entre H-8' et H-7' $_{\beta}$
- entre H-7' $_{\alpha}$ et H-7' $_{\beta}$
- entre H-9' $_{\alpha}$ et H-9' $_{\beta}$

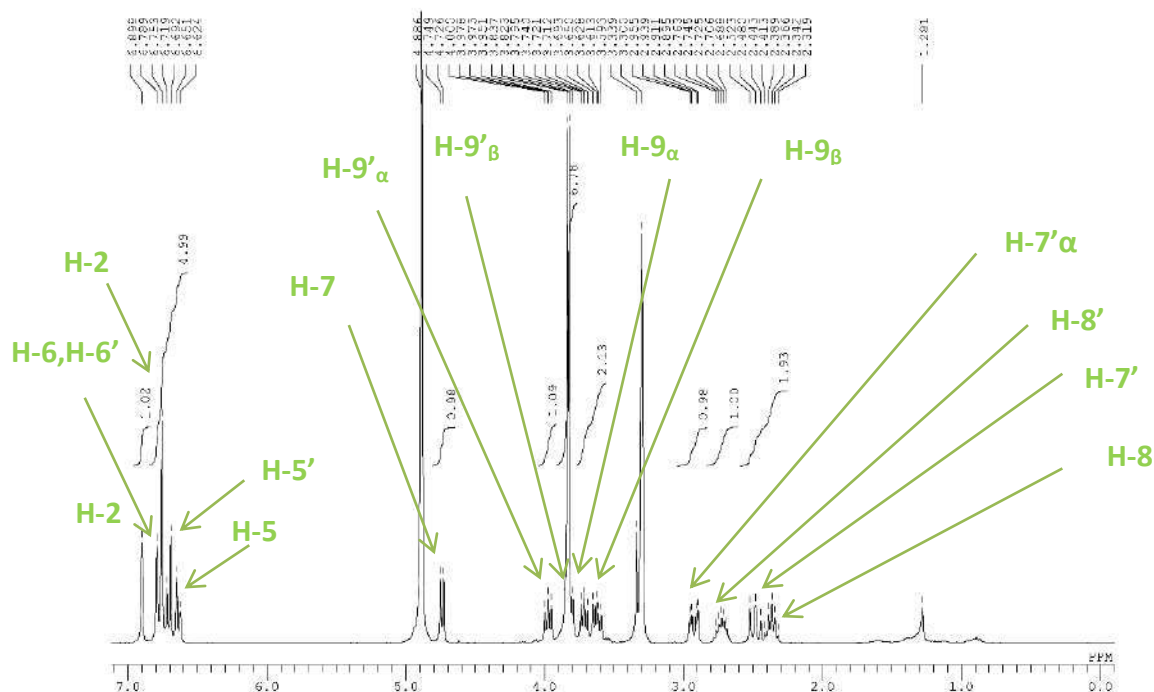


Figure IV-97: Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B1

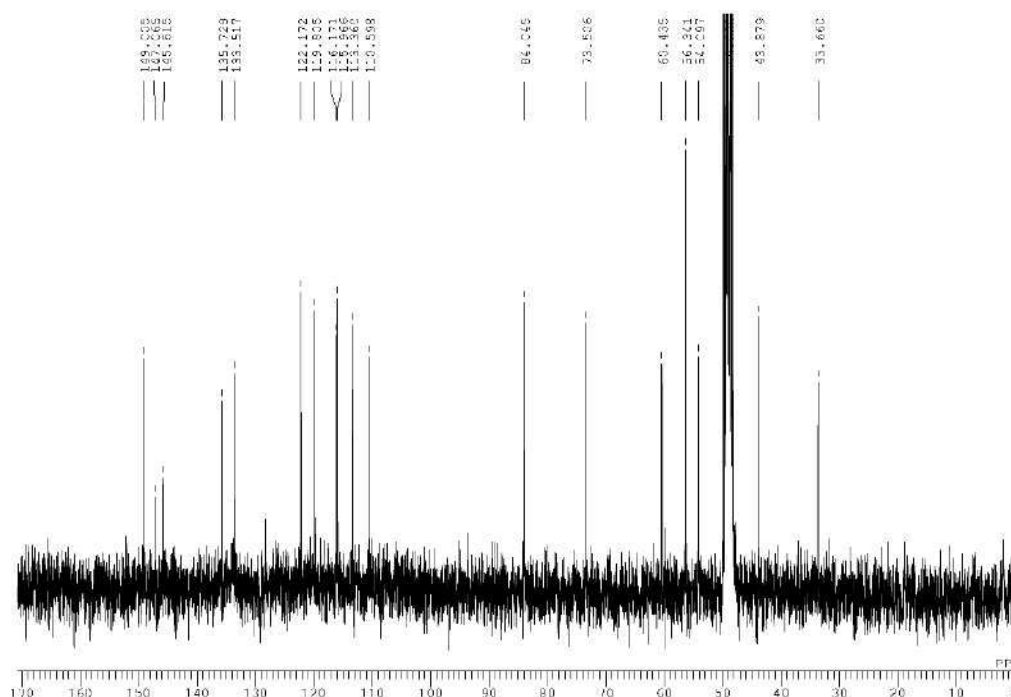


Figure IV-98 : Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé **B1**

D'après les informations tirées des différents spectres RMN, le composé **B1** est suggéré d'être lariciresinol. Le lariciresinol présente trois centres chiraux, donc la possibilité de (+) ou (-) lariciresinol est présente. La mesure du pouvoir rotatoire du composé **B1** a fourni $[\alpha]_D = 0$, cette valeur montre qu'il est un mélange racémique. (\pm) lariciresinol (Figure IV-91). Les valeurs de déplacement chimiques (Tableau IV-20) sont en accord avec la littérature [125, 126]. Ce composé est isolé pour la première fois dans l'espèce *Z. gaetulum* et la famille Zygophyllaceae.

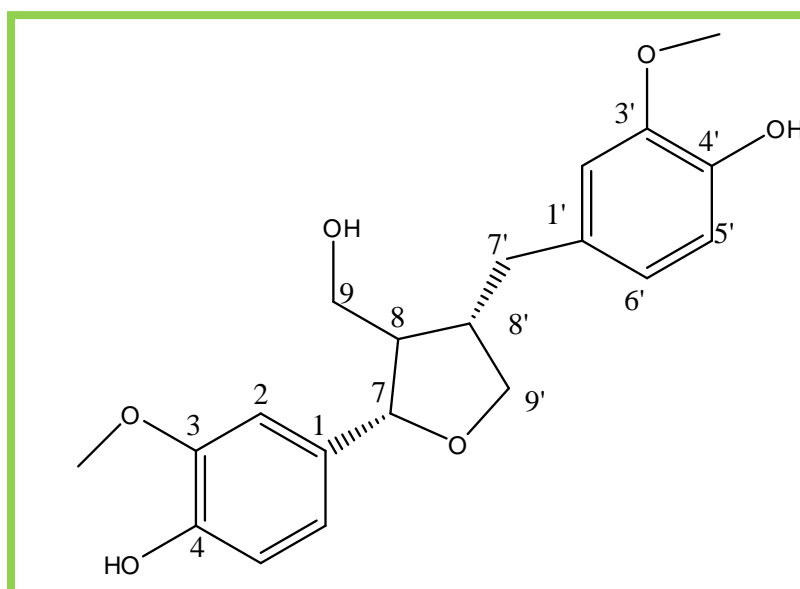


Figure IV-99 : Structure du composé **B1**; lariciresinol

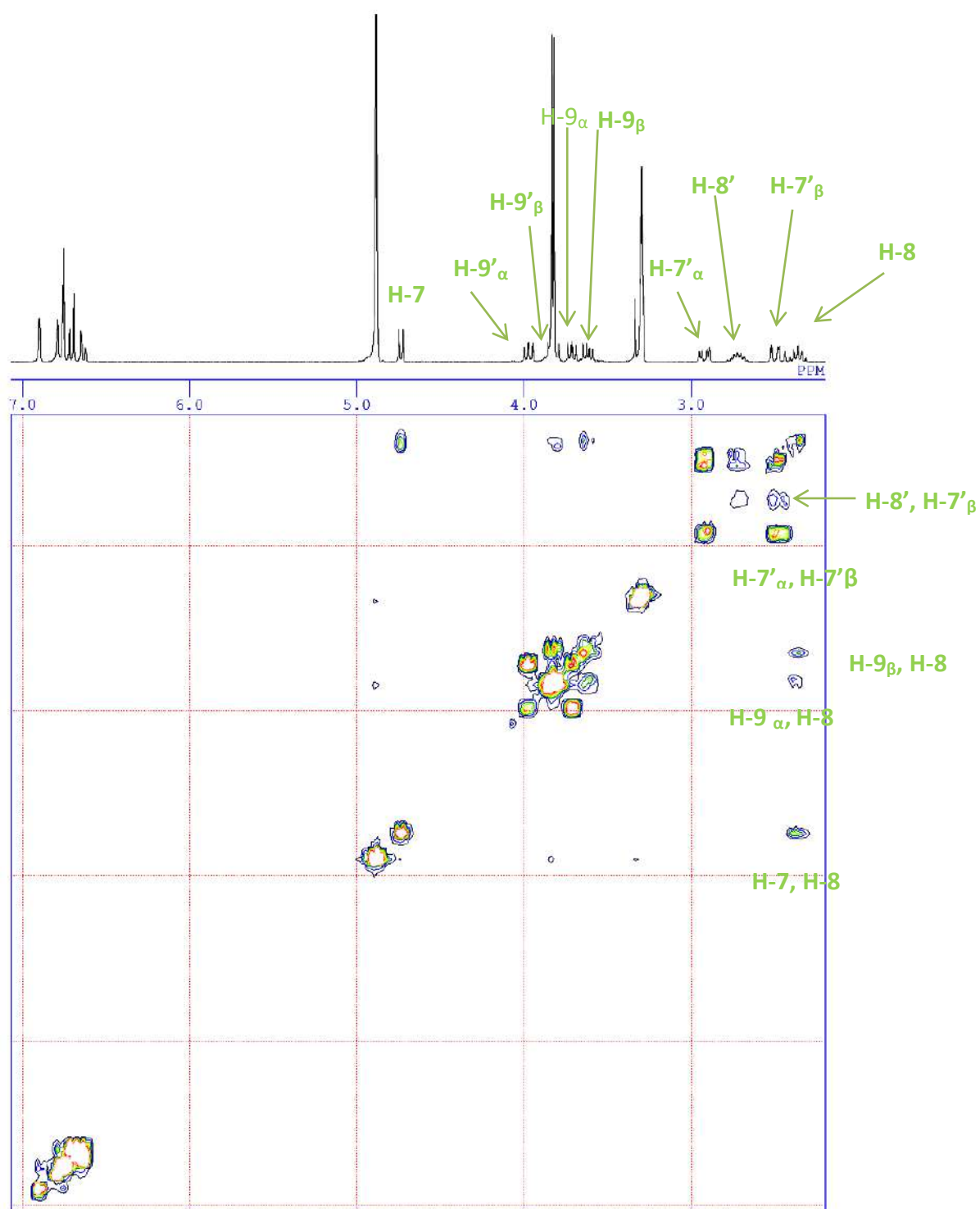


Figure IV-100: Spectre RMN COSY du composé B1

IV-4-20. Composé B2

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-100) du composé **B2** et superposable à celui du composé **B1**, il s'agit donc d'un lignane.

- Un signal sous forme de singulet d'intégration de neuf protons apparut à δ 3.81 ppm attribuables aux groupes méthoxy.
- L'apparition d'un signal sous forme de singulet à δ 6.61 ppm indique que la substitution du groupe méthoxy est au niveau de 5'.

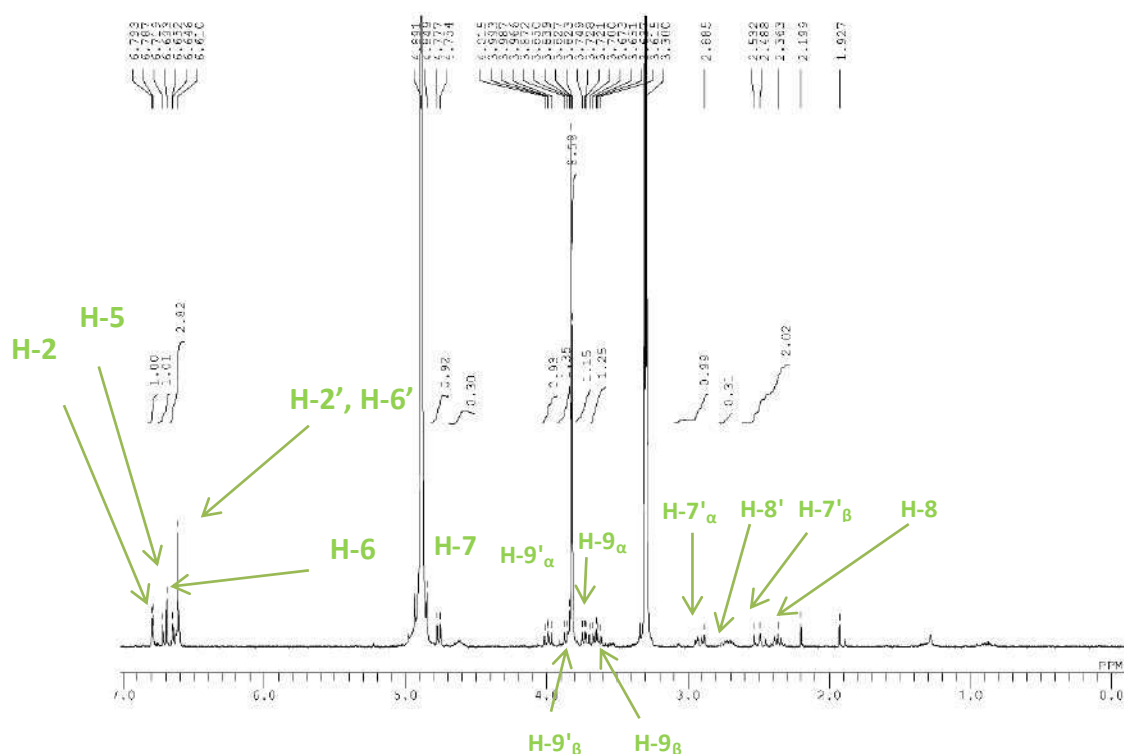


Figure IV-101: Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé **B2**

En utilisant les données RMN ^1H et par comparaison avec ceux du composé **B1**, le composé est identifié comme 5'-methoxyariciresinol. La mesure du pouvoir rotatoire du composé **B2** donne une valeur $[\alpha]_D = 0$, cela indique qu'il est un mélange racémique (\pm) 5'-methoxyariciresinol (Figure IV-101). Les valeurs de déplacement chimique (Tableau IV-20) sont en accord avec la littérature [127].

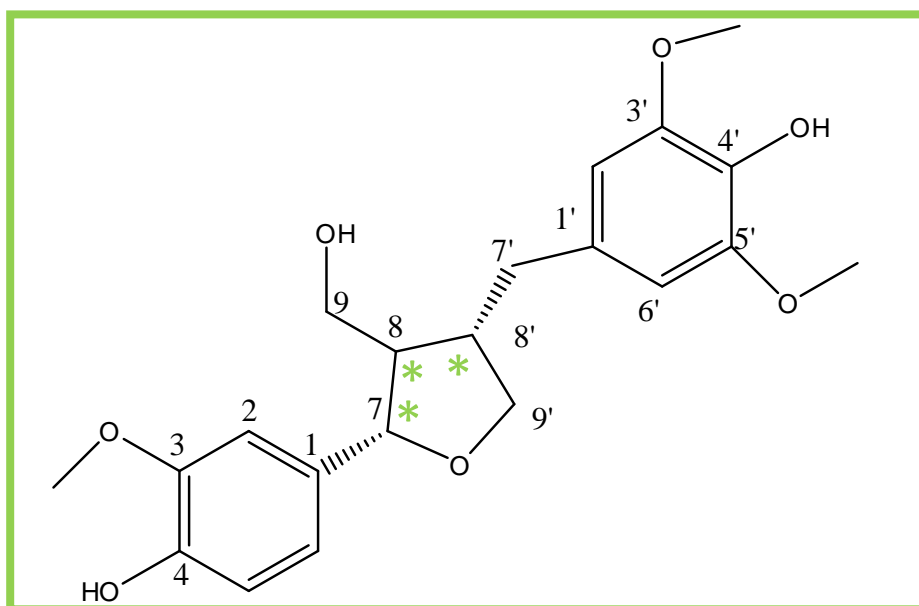


Figure IV-102 : Structure du composé B2; 5'-methoxylariciresinol

Tableau IV-20 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD des composés B1 et B2 (δ en ppm et J en Hz)

composé	B1		B2
	δ (C) ppm	δ (H) ppm J Hz	δ (H) ppm
1	135.72		
2	113.36	6.898 <i>sl</i>	6.79 <i>d</i> 1.8
3	149		
4	145.81		
5	116.17	6.637 <i>d</i> 8.1	6.70 <i>d</i> 7.8
6	122.17	6.771 <i>dl</i> 10.8	6.64 <i>d</i> 12.6 ;1.8
7	84.04	4.73 <i>d</i> 6.9	4.765 <i>d</i> 6.9
8	54.1	2.36 <i>q</i>	2.36 <i>q</i>
9	60.435	3.72 <i>dd</i> 8.4 5.7 3.62 <i>dd</i> 10.5 6.0	3.72 <i>dd</i> 8.4 6.3 3.64 <i>dd</i> 10.8 6.6
1'	133.51		
2'	110.6	6.753 <i>sl</i>	6.61 <i>s</i>
3'	149		
4'	147.06		
5'	115.96	6.70 <i>d</i> 8.1	
6'	119.8	6.771 <i>dl</i> 10.8	6.61 <i>s</i>
7'	33.66	2.92 <i>dd</i> 4.8 13.2 2.48 <i>ddl</i> 12.9 Hz	2.48 <i>ddl</i> 13.2 2.92 <i>dd</i>
8'	43.88	2.72 <i>q</i>	2.72 <i>q</i>
9'	73.5	3.97 <i>dd</i> 8.1 6.6 3.80 <i>d</i>	3.833 <i>dd</i> 9.9. 6.6 3.99 <i>dd</i> 6.6. 8.4
3 OMe	56.34	3.83 <i>s</i>	3.82 <i>s</i>
3' OMe	56.34	3.82 <i>s</i>	3.82 <i>s</i>
5' OMe	-	-	3.82 <i>s</i>

IV-4-21. Composé B5

L'examen du spectre RMN ^1H (Figure IV-102) montre des pics caractéristiques d'un lignane, dont:

- Deux pics sous forme de singulet large d'intégration de deux à δ 6.64 ppm et δ 6.70 ppm, et puisque l'intégration du pic sous forme de doublet à 3.66 ppm attribuable à H-6' $_{\alpha}$ est égal à 0.56 donc l'intégration de 2.06 représente quatre protons caractéristiques de deux cycles benzéniques tetrasubstitués.
- Deux pics sous forme de singulet d'intégration six (donc douze protons) apparus à δ 3.83 ppm et δ 3.84 ppm appartenant à quatre groupes OMe.
- un proton anomérique à δ 4.85 ppm sous forme de doublet et $J=7.5$ Hz.

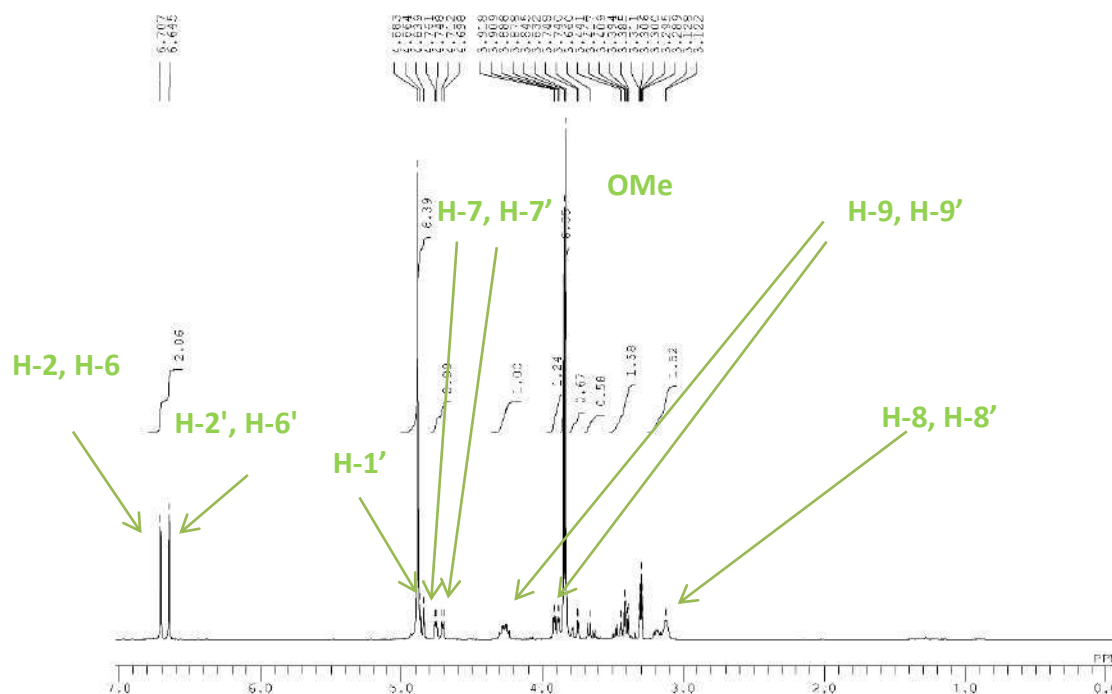


Figure IV-103 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B5

Le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-103) du composé B5 dévoile :

- 12 signaux oléfiniques entre δ 104.4 ppm et δ 154.4 ppm caractéristiques de deux cycles benzéniques
- six signaux à δ 105.3, δ 75.67, δ 77.78, δ 71.3, δ 78.32 et δ 62.53 ppm caractéristiques d'un glucose

Les valeurs de déplacements chimiques (Tableau IV-21) sont en accord avec celles de littérature [128-130]. Le composé B5 est identifié comme étant syringaresinol 4-O-glucoside (Figure IV-104).

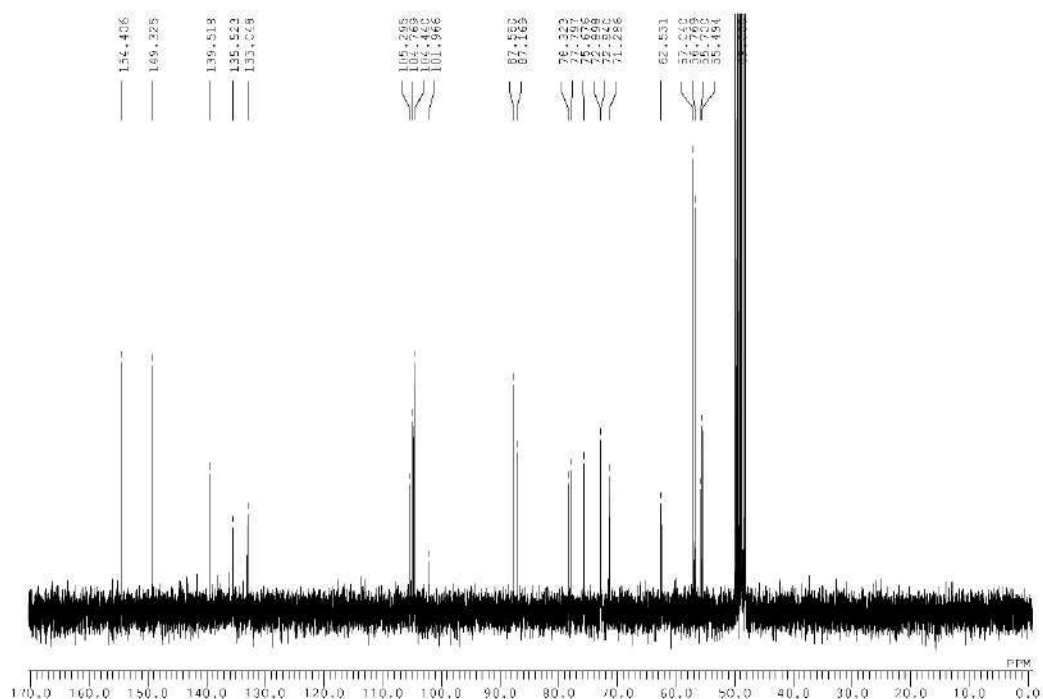


Figure IV-104: Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B5

Tableau IV-21 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B5 (δ en ppm et J en Hz)

Position	δ (C)	δ (H)	position	δ (C)	δ (H)
1	133.05		4'	135.52	
2	104.44	6.70 <i>sl</i>	5'	154.4	
3	149.32		6'	104.8	6.64 <i>sl</i>
4	135.52		7'	87.7	4.70 <i>d</i> 4.2 Hz
5	149.32		8'	55.7	3.14 <i>m</i>
6	104.44	6.70 <i>sl</i>	9'	72.84	3.89 <i>dd</i> 9.3, 2.7 Hz 4.27 <i>m</i>
7	87.58	4.75 <i>d</i> 3.9 Hz	3'OMe	56.77	3.84 <i>s</i>
8	55.5	3.14 <i>m</i>	5'OMe	56.77	3.84 <i>s</i>
9	72.9	3.89 <i>dd</i> 9.3, 2.7 Hz 4.27 <i>m</i>	1''	105.3	4.85 <i>d</i> 7.5 Hz
3OMe	57.04	3.83 <i>s</i>	2''	75.67	3.40 <i>dd</i> 7.2, 2.7 Hz
5OMe	57.04	3.83 <i>s</i>	3''	77.78	3.44 <i>m</i>
1'	139.52		4''	71.3	3.30 <i>m</i>
2'	104.8	6.64 <i>sl</i>	5''	78.32	3.19 <i>m</i>
3'	154.4		6''	62.53	3.66 <i>d</i> 3.75 <i>dd</i> 2.4 Hz

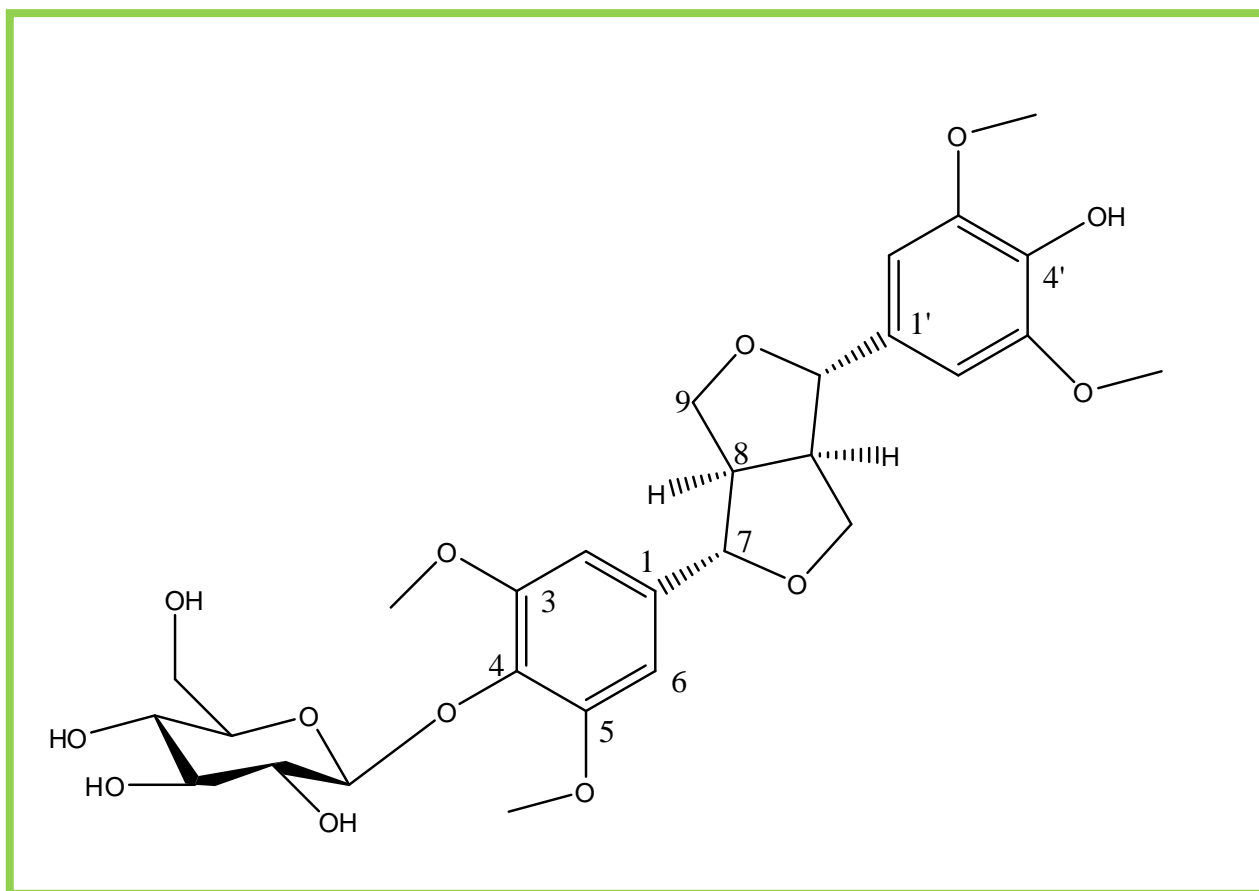


Figure IV-105: Structure du composé B5 ; syringaresinol 4-*O*-glucoside

IV-4-23. Composé B4

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-107) du composé **B4** montre des pics caractéristiques d'un acide phénolique :

- Un signal singulet d'intégration de trois protons à δ 3.88 ppm caractéristiques d'un OMe
- Trois signaux de proton benzénique à δ 7.54 ppm, δ 7.56 ppm et δ 6.82 ppm.

Le spectre RMN ^{13}C (Figure IV-108) montre huit pics dont :

- Un signal à δ 170.04 ppm caractéristique d'un carboxyle.
- Six signaux oléfinique caractéristiques d'un cycle benzénique.
- Un signal à δ 56.4 ppm caractéristique d'un carbone lié à un oxygène.

Les valeurs de déplacements chimiques des protons et des carbones (Tableau IV-23) sont en accord avec la littérature [131]. L'élucidation de la structure du composé B4 nous conduit vers un vanillic acid (Figure IV-109).

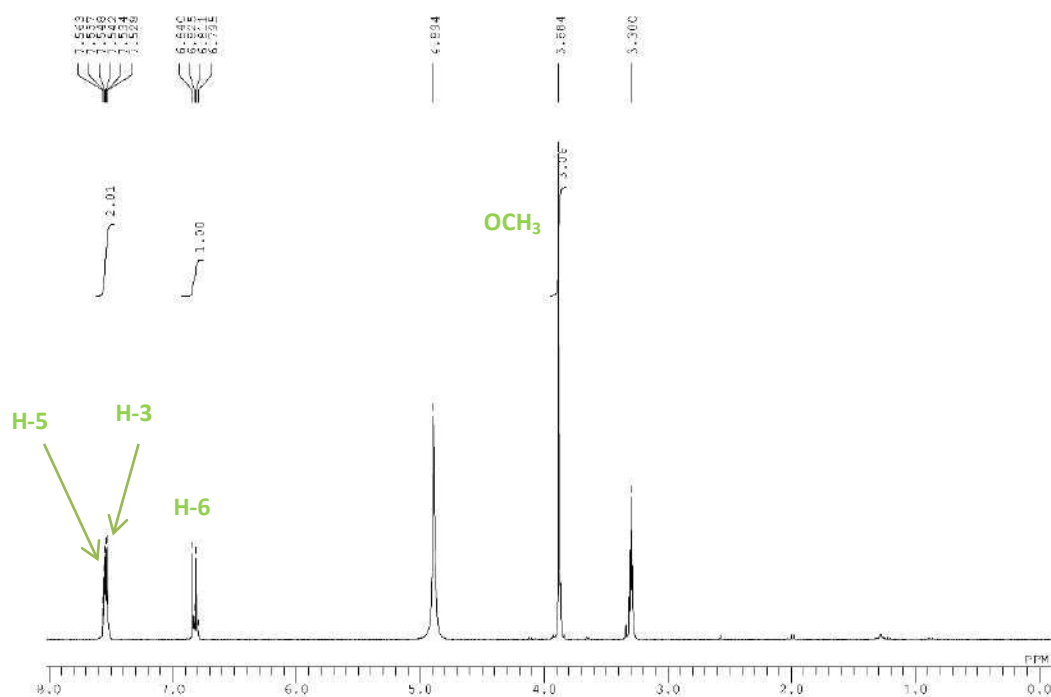


Figure IV-106: Spectre RMN ^1H (300MHz, CD_3OD) du composé B4

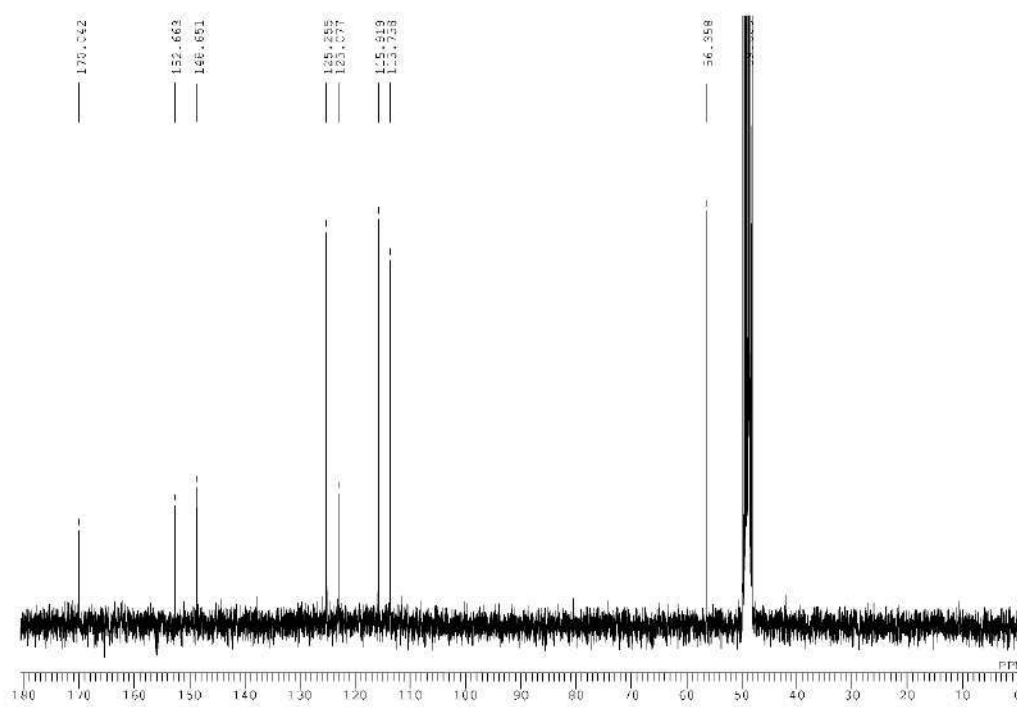


Figure IV-107: Spectre RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD) du composé B4

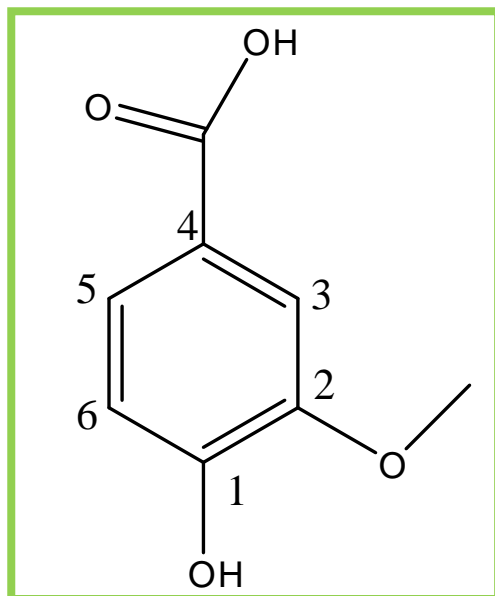


Figure IV-108: Structure du composé B4 ; vanillic acid

Tableau IV-22: Déplacements chimiques en RMN ^1H (300MHz) et ^{13}C (75MHz) dans CD_3OD du composé B4 (δ en ppm et J en Hz)

position	δ (C)	δ (H)
1	148.65	
2	152.66	
3	115.81	7.53 <i>d</i> J 1.8
4	125.25	
5	123.07	7.54 <i>dd</i> 8.7 , 1.8
6	113.73	6.82 <i>d</i> 8.3
COOH	170.04	
OCH ₃	56.35	3.88 <i>s</i> 3H

IV-4-22. Composé B3

Le spectre RMN ^1H (Figure IV-105) a montré des signaux caractéristiques d'un acide phénolique :

- Un groupe méthoxy apparaît à δ 3.88 ppm sous forme d'un singulet.
- Trois protons aromatiques à δ 6.8 ppm (1H, *d*, $J= 8.1$ Hz, H-5), δ 7.05 ppm (1H, *d*, $J= 8.1$ Hz, H-6) et δ 7.17 ppm (1H, *sl*, H-3) indiquant la présence d'un noyau aromatique trisubstitué.
- Deux doublets dans le champ faible à δ 6.3 ppm et δ 7.57 ppm avec une constante de couplage $J= 15.9$ Hz, cette grande valeur de couplage apparaît dans le composé **B3** et s'absente dans le vanillic acid (**B4**), nous oriente vers deux protons éthéliques de configuration *trans* H-1' et H-2' d'une chaîne latérale.

Selon les données RMN ^1H et par comparaison des spectres RMN du vanillic acid, le composé **B3** est un ferulic acid (Figure IV-106). Les valeurs de déplacement chimique (Tableau IV-22) sont en accord avec la littérature [132].

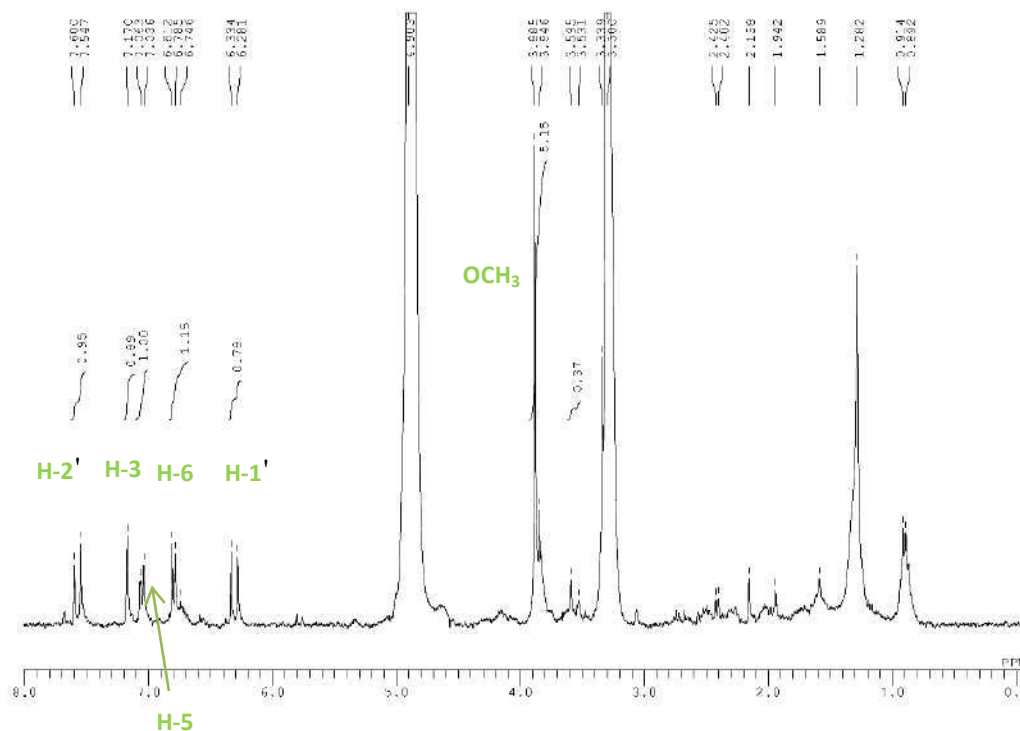


Figure IV-109 : Spectre RMN ^1H (300MHz, CD₃OD) du composé B3

Tableau IV-23: Déplacements chimiques en RMN ¹H (300MHz) dans CD₃OD du composé B3 (δ en ppm et *J* en Hz)

position	δ (H)
3	7.17 <i>sl</i>
5	6.8 <i>dl</i> 8.1
6	7.05 <i>d</i> 8.1
1'	6.3 <i>d</i> 15.9
2'	7.57 <i>d</i> 15.9
OCH ₃	3.88 <i>s</i>
CH ₃	1.82 <i>s</i>

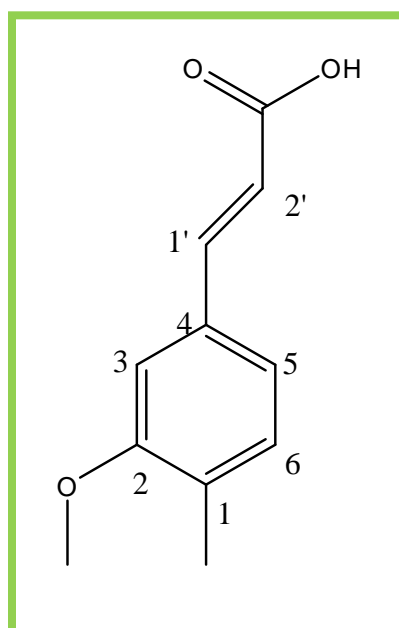


Figure IV-110 : Structure du composé B3 ; ferulic acid

IV-5. Discussion :

Les résultats de la séparation des composés de l'espèce *Z. gaetulum* sont en accord total avec les résultats de dosage des phénols totaux et flavonoïdes ; on a mentionné dans la partie dosage et activité antioxydante que l'espèce *Z. gaetulum* (ainsi que *Z. album* et *Z. cornutum*) présente un faible taux de phénols et flavonoïdes et très faible en tanins. La séparation des métabolites secondaires a donné six composés phénoliques dont un flavonoïde avec des rendements minimaux (à part le flavonoïde) ce qui justifie la faible teneur trouvée par le dosage. Pour les tanins, soit ces composés sont mineurs où ils n'ont pas été détectés soit ils ont été hydrolysés pendant les étapes d'extractions et de séparations. Ce travail présente pour la première fois la séparation des composés phénoliques tels que les lignanes et les acides phénoliques dans le genre *Zygophyllum*. Plusieurs travaux entamés sur les espèces de ce genre ont indiqué l'identification des saponines et les flavonoïdes.

Parmi les 23 composés isolés, 20 composés sont rapportés pour la première fois pour l'espèce *Z. gaetulum*. Quatre dérivés glycosydés de l'acide cincholique ont été isolés pour la première fois de la famille *Zygophyllaceae*. Les dérivés glycosidés de l'acide

cincholiques sont trouvés pour la première fois dans la famille, on trouve seulement 3-*O*-quinopyranoside cincholic acid isolé de *Z. fabago*.

C'est la deuxième fois seulement qu'on rapporte l'isolement et l'identification d'un lignane dans le genre *Zygothymus* ; seulement un nouveau lignane a été séparé de *Z. aegyptium*.

Les dérivés glycosylés de l'acide quinovique sont largement distribués principalement dans les familles Rubiaceae et Zygothymaceae [35]. Plusieurs plantes appartenant à ces deux familles ont montré divers effets biologiques. Les dérivés de l'acide cincholic sont très abondants dans la famille Rubiaceae [133].

La spectroscopie RMN ¹³C est l'outil le plus précis pour distinguer les triterpènes pentacycliques du type α -amyrine (Ursa-12-en-3 β -ol) et β -amyrine (oleana-12-en-3 β -ol). ce qui n'est pas facile avec d'autres techniques [113].

L'acide quinovique et ces dérivés ainsi que l'isorhamnétine 3-*O*-rutinoside paraissent d'être des marqueurs chimio taxonomiques du genre *Zygothymus* et présentent une bonne liaison entre le genre et la famille Zygothymaceae [19, 51].

Les dérivés sulfatés de l'acide quinovique sont spécifiques du genre *Zygothymus*. Le groupe sulfate paraît d'être la fonction la plus active pour le test in vitro de l'inhibition d'uréase, où Zygothymoside E a donné la meilleure activité [134].

Dans une étude, tous les glycosides de l'acide quinovique ont démontré une activité inhibitrice contre le virus d'ARN à résistance négative (VSV : virus stomatitis vesicular) avec une activité maximale dans les composés ayant seulement une glycosidation au C-3 [35].

D'après une autre étude, l'acide ursolique a une activité cytotoxique meilleure que l'acide quinovique. L'attachement d'un sucre à l'acide quinovique semble d'être le responsable d'abaissement de l'activité, par contre la substitution du sucre par un groupement sulfonyl augmente l'activité [135]. L'acide quinovique et son dérivé glucosylé en 3 ont une activité significative contre le venin de serpent phosphodiesterase I [136].

D'autre part, la glycosidation de l'acide quinovique a montré une très bonne activité anti-leishmaniose contre *Leishmania infantum*, les résultats suggèrent que la présence de β -D-glucose et/ou α -L-rhamnose en position 3 est essentielle pour des propriétés anti-leishmaniose [137]. L'acide quinovique et ses dérivés glucosylés en (3) et en (3 et 28) ainsi que le lupeol engendrent une activité inhibitrice de Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4), qui est un enzyme physiologique impliqué dans la destruction des hormones [138].

Pour l'activité contre les cellules cancéreuses, les dérivés quinovosylés en 3 et glucosylés en 28 de l'acide quinovique ont montré une activité cytotoxique envers une lignée cellulaire cancéreuse du poumon à non petites cellules A549 [139]. Les saponines possèdent un potentiel anti-tumoral ainsi ils sont utilisés comme des adjuvants pour des différents vaccins contre le cancer [140].

CONCLUSION

Conclusion

Notre recherche s'intéresse à la valorisation et la promotion des plantes sahariennes afin de trouver de nouvelles molécules possédantes des effets thérapeutiques et industrielles.

Le dosage de trois plantes *Zygophyllum album*, *Z. cornutum* et *Z. gaetulum* par des méthodes spectroscopiques a montré que ces plantes ne sont pas très riches en polyphénols et en flavonoïdes. En revanche, elles possèdent une bonne activité antioxydante, cela peut être lié à leurs richesses en composés triterpéniques, spécifiquement en saponines.

L'étude minutieuse des différents extraits de *Z. gaetulum* a dévoilé la présence de composés supplémentaires trouvés pour la première fois dans cette espèce.

L'usage combiné des différentes techniques chromatographiques à savoir colonne ouverte en gel de silice normal, en phase inverse et en séphadex, HPLC, CCM et CCMP nous a permis de séparer et purifier plusieurs métabolites secondaires.

L'utilisation de différentes techniques spectroscopiques nous a conduits à identifier et caractériser les produits isolés. Parmi ces techniques on note : la RMN monodimensionnelle proton ^1H carbone ^{13}C et DEPT 135 la RMN bidimensionnelle COSY H-H HMQC HMBC DIFNOE et le pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$. Nous a conduit à l'élucidation structurale de 23 composés dont :

17 composés triterpéniques :

- lupeol
- β -sitosterol
- 3-*O*- β -D-glucopyranoside sitosterol
- 3-*O*- β -D-quinovopyranoside acid quinovic
- 3-*O*- β -D-quinovopyranoside cincholic acid
- Quinovic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester
- Cincholic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester
- 3-*O*- β -D-glucopyranoside quinovic acid
- 3-*O*- β -D-glucopyranoside cincholic acid
- 3-*O*- β -D-quinovopyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D- glucopyranoside ester
- 3-*O*- β -D-quinovopyranoside cincholic acid 28-*O*- β -D- glucopyranoside ester
- 3-*O*- β -D-2-*O*-sulfonylglucopyranoside quinovic acid
- 3-*O*- β -D-glucopyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D- glucopyranoside ester
- 3-*O*- β -D-glucopyranoside cincholic acid 28-*O*- β -D- glucopyranoside ester
- 3-*O*- α -L-arabinopyranoside (1 \rightarrow 2) β -D-quinovopyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester (Zygophyloside H)
- 3-*O*- β -D-2-*O*-sulfonylquinovopyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D- glucopyranoside (Zygophyloside E)
- 3-*O*- β -D-2-*O*-sulfonylglucopyranoside quinovic acid 28-*O*- β -D-glucopyranoside ester (Zygophyloside G)

Six composés phénoliques dont :

- Un flavonol : isorhamnetin 3-*O*-rutinoside (narcissin)

CONCLUSION

- Deux acides phénoliques : ferulic acid et vanillic acid
- Trois lignans : (±)-lariciresinol, 5'-methoxylariciresinol et syringaresinol glucoside

Il est bien clair que la classe des métabolites secondaires dominante dans cette étude est celle des triterpènes saponines, dont ces composés sont connus de leurs activités biologiques intéressantes. Il est important de signaler la présence d'une série de dérivés glycosidés de l'acide cincholique dans *Z. gaetulum* pour la première fois non seulement pour le genre, mais aussi pour la famille Zygophyllaceae [29].

Malgré le développement des techniques chromatographiques et spectroscopiques, la séparation et l'identification des saponines restent très délicates. En effet, on est confronté à une grande difficulté lors de la séparation et la distinction entre les dérivés glycosidés de l'acide quinovique avec leurs analogues de l'acide cincholique.

L'originalité de ce travail se distingue par la séparation et l'identification d'une série d'acide cincholique pour la première fois dans la famille Zygophyllaceae. Ce travail ajoute comme nouveauté la séparation des acides phénoliques et des lignanes pour la première fois dans le genre.

Nous avons comme perspective d'achever et compléter ce travail allant aux produits qui n'ont pas été séparés à cause de leurs complexités, de tester les activités antidiabétiques, anti inflammatoire, cytotoxique, antifongique et anticancéreuse, ainsi que déterminer la relation structure-activité pour chaque produit, et puis de continuer l'investigation phytochimique des autres espèces du genre *Zygophyllum* trouvées en Algérie.

REFERENCES

Références

- [1] V. A. Vinci, S. R. Parekh, Handbook of industrial cell culture Vol. 1. 2003 Humana Press.
- [2] P. Ozenda, Flore du Sahara : septentrional et central. 1958, Paris Centre National de la Recherche Scientifique.
- [3] P. Quezel, S. Santa, Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desertiques meridionales. CNRS. Vol. 2. 1963, Paris.
- [4] B. A. Beier, M. W. Chase, M. Thulin, Phylogenetic relationships and taxonomy of subfamily Zygophylloideae (Zygophyllaceae) based on molecular and morphological data, *Plant Systematics and Evolution*, 2003, 240(1-4),11-39.
- [5] M. C. Sheahan, Zygophyllaceae, *Flowering Plants · Eudicots*, 2007, 9,488-500.
- [6] M. C. Sheahan, M. W. Chase, A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae R Br based on morphological, anatomical and rbcL DNA sequence data, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1996, 122(4),279-300.
- [7] N. a. M. Saleh, M. N. El-Hadidi, An approach to the chemosystematics of the Zygophyllaceae, *Biochemical Systematics and Ecology*, 1977, 5(2),121-128.
- [8] S. R. Hussein, M. M. Marzouk, L. F. Ibrahim, S. A. Kawashty, N. a. M. Saleh, Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L. (Zygophyllaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, 39(4-6),778-780.
- [9] A. M. Y. Moustafa, A. I. Kodair, F. M. Hammouda, H. A. Housseiny, Phytochemical and toxicological studies of *Zygophyllum album* L.F., *Journal of pharmacology and toxicology*, 2007, 2(3),220-237.
- [10] N. Tigrine-Kordjani, B. Y. Meklati, F. Chemat, Analysis by gas chromatography–mass spectrometry of the essential oil of *Zygophyllum album* L., an aromatic and medicinal plant growing in Algeria, *International Journal of Aromatherapy*, 2006, 16(3–4),187-191.
- [11] N. Tigrine-Kordjani, B. Y. Meklati, F. Chemat, Contribution of microwave accelerated distillation in the extraction of the essential oil of *Zygophyllum album* L., *Phytochemical Analysis*, 2011, 22(1),1-9.
- [12] M. Ait El Cadi, S. Makram, M. Ansar, Y. Khabbal, K. Alaoui, M. A. Faouzi, Y. Cherrah, J. Taoufik, Anti-inflammatory activity of aqueous and ethanolic extracts of *Zygophyllum gaetulum*, *Annales pharmaceutiques francaises*, 2012, 70(2),113-6.
- [13] M. A. El Cadi, Y. Khabbal, K. Alaoui, M.-A. Faouzi, E. Bruno, L. Mahraoui, Y. Cherrah, Antidiarrhoeal activity of *Zygophyllum gaetulum*, *Phytothérapie*, 2008, 6(1),2-4.
- [14] Y. Khabbal, M. a. E. Cadi, K. Alaoui, M. A. Faouzi, Y. Cherrah, Antiinflammatory activity of *Zygophyllum gaetulum*, *Phytothérapie*, 2006, 4(5),227-229.
- [15] A. Capasso, S. Omar, S. Fkih-Tetouani, L. Sorrentino, R. Aquino, Properties and effects on isolated Guinea-Pig Ileum of *Zygophyllum gaetulum* Spe, *Pharmaceutical Biology*, 1998, 36(5),320–326.
- [16] J. T. Jaouhari, H. B. Lazrek, M. Jana, The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 69(1),17-20.
- [17] Unesco, Medicinal plants of the arid zones. Arid zone research. Vol. 13. 1960, Paris UNESCO. 96.
- [18] D. Smati, A. Longeon, M. Guyot, 3 beta-(3,4-dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara, *Journal of Ethnopharmacology*, 2004, 95(2-3),405-407.
- [19] H. A. Hassanean, E. K. Desoky, An acylated isorhamnetin glucoside from *Zygophyllum simplex*, *Phytochemistry*, 1992, 31(9),3293-3294.

- [20] S. Gibbons, M. A. Oriowo, Antihypertensive effect of an aqueous extract of *Zygophyllum coccineum* L. in rats, *Phytother Res*, 2001, 15(5),452-5.
- [21] K. J. Chavez, X. Feng, J. A. Flanders, E. Rodriguez, F. C. Schroeder, Spirocyclic lignans from *Guaiacum* (Zygophyllaceae) induce apoptosis in human breast cancer cell lines, *Journal of Natural Products*, 2011, 74,1293–1297.
- [22] H. M. Hammoda, N. M. Ghazy, F. M. Harraz, M. M. Radwan, M. A. Elsohly, I. I. Abdallah, Chemical constituents from *Tribulus terrestris* and screening of their antioxidant activity, *Phytochemistry*, 2013, 92,153–159.
- [23] J.-W. Hung, C.-H. Tan, S.-H. Jiang, D.-Y. Zhu, Terrestriins A and B, two new steroid saponins from *Tribulus terrestris*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 2003, 5(4),285-290.
- [24] J. El Ghouli, N. Ghanem-Boughanmi, M. Ben-Attia, Biochemical study on the protective effect of ethanolic extract of *Zygophyllum album* on streptozotocin-induced oxidative stress and toxicity in mice, *Biomedicine and preventive nutrition*, 2011, 1,79-83.
- [25] J. El Ghouli, M. Smiri, S. Ghrab, N. A. Boughattas, M. Ben-Attia, Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of traditional aqueous extract of *Zygophyllum album* in streptozotocin diabetic mice, *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology*, 2012, 19(1),35-42.
- [26] J. T. Jaouhari, H. B. Lazrek, A. Seddik, M. Jana, Hypoglycaemic response to *Zygophyllum gaetulum* extracts in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus, *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 64(3),211-217.
- [27] F. Skim, B. H. Lazrek, H. El Amri, A. Kaaya, M. Jana, Toxicological studies on *Globularia alypum* and *Zygophyllum gaetulum* in rats, *Phytotherapy Research*, 1998, 12(8),592-594.
- [28] Y. L. Feng, B. Xie, H. R. Li, Q. M. Xu, X. J. Zhang, Y. S. Wang, S. L. Yang, A new sulfated triterpenoid from the bark of *Zygophyllum fabago* L, *Chinese Chemical Letters*, 2010, 21(9),1100-1102.
- [29] Y. L. Feng, H. R. Li, L. Z. Xu, S. L. Yang, 27-nor-triterpenoid glycosides from the barks of *Zygophyllum fabago* L, *J Asian Nat Prod Res*, 2007, 9(6-8),505-10.
- [30] S. A. Ouf, F. K. A. Hady, M. H. Elgamal, K. H. Shaker, Isolation of antifungal compounds from some *Zygophyllum* species and their bioassay against 2 soil borne plant pathogens, *Folia Microbiologica*, 1994, 39(3),215-221.
- [31] E. Amin, S. S. El-Hawary, M. M. Fathy, R. Mohammed, Z. Ali, N. Tabanca, D. E. Wedge, J. J. Becnel, I. A. Khan, Triterpenoidal saponins: bioactive secondary metabolites from *Zygophyllum coccineum*, *Planta Med*, 2011, 77(5),488-91.
- [32] H. Abou-Gazar, E. Bedir, S. Takamatsu, D. Ferreira, I. A. Khan, Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*, *Phytochemistry*, 2004, 65(17),2499-2505.
- [33] S. A. M. Al-Wakeel, I. El-Garf, N. A. M. Saleh, Differences in flavonoid constituents among the species of *Fagonia sinaica complex* (Zygophyllaceae), *Plant Systematics and Evolution*, 1988, 161(1),87-89.
- [34] S. I. El-Negoumy, S. a. M. El-Wakeel, M. N. El-Hadidi, N. a. M. Saleh, The flavonoids of the *Fagonia arabica-complex* (Zygophyllaceae), *Phytochemistry*, 1986, 25(10),2423-2424.
- [35] H. H. Hassanean, E. K. Desoky, M. M. A. El-Hamouly, Quinovic acid glycosides from *Zygophyllum album*, *Phytochemistry*, 1993, 33(3),663-666.
- [36] A. A. Zaki, Z. Ali, Y. A. El-Amier, I. A. Khan, A new lignan from *Zygophyllum aegyptium*, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2016, 54(9),771-773.
- [37] A. Temraz, O. D. El Gindi, H. A. Kadry, N. De Tommasi, A. Braca, Steroidal saponins from the aerial parts of *Tribulus alatus* Del, *Phytochemistry*, 2006, 67(10),1011-1018.

- [38] D. Dinchev, B. Janda, L. Evstatieva, W. Oleszek, M. R. Aslani, I. Kostova, Distribution of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* from different geographical regions, *Phytochemistry*, 2008, 69(1),176-186.
- [39] C. Ganbaatar, M. Gruner, J. Tunsag, D. Batsuren, B. Ganpurev, L. Chuluunnyam, B. Sodbayar, A. W. Schmidt, H. J. Knolker, Chemical constituents isolated from *Zygophyllum melongena* Bunge growing in Mongolia, *Nat Prod Res*, 2016, 30(14),1661-4.
- [40] Thomas J. Schmidt, Sebastian Rzeppa, Marcel Kaiser, Reto Brun, *Larrea tridentata*—Absolute configuration of its epoxyignans and investigations on its antiprotozoal activity, *Phytochemistry Letters*, 2012, 5(3),632-638.
- [41] J. N. Gnabre, Y. Itob, Y. Mab, R. C. Huang, Isolation of anti-HIV-1 lignans from *Larrea tridentata* by counter-current chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1996, 719,353-364
- [42] J. D. Lambert, S. Sang, A. Dougherty, C. G. Caldwell, R. O. Meyers, R. T. Dorr, B. N. Timmermann, Cytotoxic lignans from *Larrea tridentata*, *Phytochemistry*, 2005, 66,811–815.
- [43] S. S. Khan, A. Khan, A. Ahmed, V. U. Ahmad, U. Farooq, S. Arshad, S. Bader, A. Zahoor, I. N. Siddiqui, B. Sener, N. Erdemoglu, Two new disulfated triterpenoids from *Zygophyllum fabago*, *Helvetica Chimica Acta*, 2010, 93(10),2070-2074.
- [44] S. Bencharif-Betina, T. Miyamoto, C. Tanaka, Z. Kabouche, A. C. Mitaine-Offer, M. A. Lacaille-Dubois, Ursane-type saponins from *Zygophyllum cornutum*, *Natural Product Communications*, 2013, 8(5),573-574.
- [45] K. Pollmann, S. Gagel, M. H. A. Elgamel, K. H. Shaker, K. Seifert, Triterpenoid saponins from the roots of *Zygophyllum* species, *Phytochemistry*, 1997, 44(3),485-489.
- [46] M. H. A. Elgamel, K. H. Shaker, K. Pöllmann, K. Seifert, Triterpenoid saponins from *Zygophyllum* species, *Phytochemistry*, 1995, 40(4),1233-1236.
- [47] V. U. Ahmad, Ghazala, S. Uddin, S. Bano, Saponins from *Zygophyllum propinquum*, *Journal of Natural Products*, 1990, 53(5),1193-1197.
- [48] V. U. Ahmad, G. S. Uddin, M. S. Ali, Saponins from *zygophyllum propinquum*, *Phytochemistry*, 1993, 33(2),453-455.
- [49] D. Smati, A. C. Mitaine-Offer, T. Miyamoto, V. Hammiche, M. A. Lacaille-Dubois, Phytochemical study of the aerial parts of *Zygophyllum geslini*, *Planta Medica*, 2007, 73(9),954-954.
- [50] O. Safir, S. Fkih-Tetouani, N. De Tommasi, R. Aquino, Saponins from *Zygophyllum gaetulum*, *J Nat Prod*, 1998, 61(1),130-4.
- [51] H. A. Hassanean, M. M. A. El-Hamouly, S. A. El-Moghazy, D. W. Bishay, 14-decarboxyquinovic and quinovic acid glycosides from *zygophyllum album*, *Phytochemistry*, 1993, 33(3),667-670.
- [52] D. Smati, A.-C. Mitaine-Offer, T. Miyamoto, V. Hammiche, M.-A. Lacaille-Dubois, Ursane-type triterpene saponins from *Zygophyllum geslini*, *Helvetica Chimica Acta*, 2007, 90(4),712-719.
- [53] V. U. Ahmad, Ghazala, S. Uddin, A triterenoid saponin from *zygophyllum propinquum*, *Phytochemistry*, 1992, 31(3),1051-1054.
- [54] S. A. Sasmakov, Z. M. Putieva, V. V. Kachala, Z. Saatov, A. S. Shashkov, Triterpene glycosides of *Zygophyllum eichwaldii*. III. Structure of zygoeichwaloside G, *Chemistry of Natural Compounds*, 2002, 38(6),568-569.
- [55] S. A. Sasmakov, Z. M. Putieva, U. Lindequist, New pomolic acid triterpene glycosides from *Zygophyllum eichwaldii*, *Pharmazie*, 2007, 62(12),957-9.
- [56] S. A. Sasmakov, Z. M. Putieva, V. V. Kachala, Z. Saatov, A. S. Shashkov, Triterpene glycosides of *Zygophyllum eichwaldii*. II. Structure of zygoeichwaloside I, *Chemistry of Natural Compounds*, 2001, 37(4),347-350.

- [57] K. H. Shaker, M. Bernhardt, M. H. A. Elgamal, K. Seifert, Triterpenoid saponins from *Fagonia indica*, *Phytochemistry*, 1999, 51(8),1049-1053.
- [58] T. Miyase, F. R. Melek, O. D. El-Gindi, S. M. Abdel-Khalik, M. R. El-Gindi, M. Y. Haggag, S. H. Hilal, Saponins from *Fagonia arabica*, *Phytochemistry*, 1996, 41(4),1175-1179.
- [59] K. H. Shaker, Triterpenoid saponin from *Zygophyllum dumosum*, *Bull. Pharm. Sci., Assiut University*, 2004, 27(1),123-126.
- [60] V. U. Ahmad, S. Perveen, S. Bano, Saponins from the leaves of *Guaiacum officinale*, *Phytochemistry*, 1990, 29(10),3287-3290.
- [61] V. U. Ahmad, S. Uddin, S. Bano, I. Fatima, Two saponins from fruits of *Guaiacum officinale*, *Phytochemistry*, 1989, 28(8),2169-2171.
- [62] M. Jitsuno, Y. Mimaki, Triterpene glycosides from the aerial parts of *Larrea tridentata*, *Phytochemistry*, 2010, 71(17),2157-2167.
- [63] T. M. De Almeida Alves, T. J. Nagem, A. Ribeiro, N. M. Mendes, J. D. Gómez, C. L. Zani, M. Hamburger, K. Hostettmann, Molluscicidal Saponins from *Guaiacum officinale* (Zygophyllaceae), *International Journal of Pharmacognosy*, 1996, 34(2),81-86.
- [64] S. M. A. Khalik, T. Miyase, H. A. El-Ashaal, F. R. Melek, Triterpenoid saponins from *Fagonia cretica*, *Phytochemistry*, 2000, 54(8),853-859.
- [65] F. R. Melek, T. Miyase, O. D. El-Gindi, S. M. Abdel-Khalik, M. Y. Haggag, Saponins from *Fagonia mollis*, *Phytochemistry*, 1996, 42(5),1405-1407.
- [66] D. Dinchev, B. Janda, L. Evstatieva, W. Oleszek, M. R. Aslani, I. Kostova, Distribution of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* from different geographical regions, *Phytochemistry*, 2008, 69,176–186.
- [67] W. Yan, K. Ohtani, R. Kasai, K. Yamasak, Steroidal saponins from fruits of *Tribulus terrestris*, *Phytochemistry*, 1996, 42(5),1417-1422.
- [68] G. Wu, S. Jiang, F. Jiang, D. Zhu, H. Wut, S. Jiang, Steroidal glycosides from *Tribulus terrestris*, *Phytochemistry*, 1996, 42(6),1677-1681.
- [69] K. Pöllmann, K. Schaller, U. Schweizer, M. H. A. Elgamal, K. H. Shaker, K. Seifert, Triterpenoid saponins from *Zygophyllum decumbens*, *Phytochemistry*, 1998, 48(5),875-880.
- [70] C. Konno, Z.-Z. Lu, H.-Z. Xue, C. a. J. Erdelmeier, D. Meksuriyen, C.-T. Che, G. A. Cordell, D. D. Soejarto, D. P. Waller, H. H. S. Fong, Furanoid Lignans from *Larrea tridentata*, *Journal of Natural Products*, 1990, 53(2),396-406.
- [71] R. Torres, A. Urzua, B. Modak, Isopregomisin, A 1,4-bis(phenyl)-2,3-dimethylbutane lignan from *Porieria chilensis*, *Journal of Natural Products*, 1989, 52(2),402-403.
- [72] S. D. Elakovich, K. L. Stevens, Phytotoxic properties of nordihydroguaiaretic acid, a lignan from *Larrea tridentata* (Creosote bush), *Journal of Chemical Ecology*, 1985, 11(1),27-33.
- [73] A. Yokosuka, Y. Matsuo, M. Jitsuno, K. Adachi, Y. Mimaki, Larrealignans A and B, novel lignan glycosides from the aerial parts of *Larrea tridentata*, *Chem. Pharm. Bull.*, 2011, 59(12),1467—1470.
- [74] J. Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4. 2009 Tec&Doc. 1269.
- [75] S. Sarker, L. Nahar, *Chemistry for Pharmacy Students - General, Organic and Natural Product Chemistry*. 2007. 396.
- [76] W. Vermerris, R. Nicholson, *Phenolic compound biochemistry*. 2006 Springer.
- [77] Alan Crozier, Michael N. Clifford, H. Ashihara, *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*, 2006, Blackwell p. 384.
- [78] J. B. Harborne, T. J. Mabry, H. Mabry, *The flavonoids*. 1975 Springer Science+Business Media Dordrecht.

- [79] J. B. Harborne, The flavonoids advances in research since 1980. 1988 Springer Science+Business Media Oordrecht.
- [80] J. Buckingham, Dictionary of natural products. 2004.
- [81] Hongjie Zhang, Minghua Qiu, Yegao Chen, Jinxiong Chen, Yun Sun, Cuifang Wang, H. H. S. Fong, Phytochemistry and pharmacognosy – Plant terpenes, Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS).
- [82] J. B. Harborne, Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. 1984 Chapman and Hall.
- [83] V. L. Singleton, J. A. Rossi, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am J Enol Vitic.*, 1965, 16(January),144-158.
- [84] R. María, M. Shirley, C. Xavier, S. Jaime, V. David, S. Rosa, D. Jodie, Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador, *Journal of King Saud University - Science*, 2017.
- [85] H. Wang, X. D. Gao, G. C. Zhou, L. Cai, W. B. Yao, In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit, *Food Chemistry*, 2008, 106(3),888-895.
- [86] S. Mariem, F. Hanen, J. Inès, S. Mejdj, K. Riadh, Phenolic profile, biological activities and fraction analysis of the medicinal halophyte *Retama raetam*, *South African Journal of Botany*, 2014, 94(1),114-121.
- [87] M. Oyaizu, Studies on products of the browning reaction: antioxidative activities of browning reaction, *Japanese Journal of Nutrition*, 1986, 44(6),307–315.
- [88] Z. Rahmani. Etude de la relation structure-activité antioxydante et antihémolyse des érythrocytes humaines par quelques dithiolethiones et composés phénoliques. Doctorat. 2015.Université Kasdi Merbah.
- [89] I. J. Sagbo, A. J. Afolayan, G. Bradley, Antioxidant, antibacterial and phytochemical properties of two medicinal plants against the wound infecting bacteria, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2017.
- [90] B. Hsu, I. M. Coupar, K. Ng, Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaene thebaica*, *Food Chemistry*, 2006, 98(2),317-328.
- [91] H. Falleh, I. Jalleli, R. Ksouri, M. Boulaaba, S. Guyot, C. Magné, C. Abdelly, Effect of salt treatment on phenolic compounds and antioxidant activity of two *Mesembryanthemum edule* provenances, *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 52(1),1-8.
- [92] Q. D. Do, A. E. Angkawijaya, P. L. Tran-Nguyen, L. H. Huynh, F. E. Soetaredjo, S. Ismadji, Y.-H. Ju, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*, *Journal of Food and Drug Analysis*, 2014, 22(3),296-302.
- [93] U. Złotek, S. Mikulska, M. Nagajek, M. Świeca, The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2016, 23(5),628-633.
- [94] B. Boulanouar, G. Hadjira, R. Maria, G. Abdelaziz, DPPH Free Radical Scavenging Activity of Ethanolic Extracts of Twenty Two Medicinal Species from South Algeria (Laghouat Region), *Medicinal & Analytical Chemistry International Journal*, 2017, 1(1),1-7.
- [95] M. A. Khasawneh, A. A. Hamza, N. M. Fawzi, Antioxidant activity and phenolic content of some Emirates medicinal plants, *Advances in Food Sciences*, 2010, 32(2),62-66.
- [96] M. Debouba, R. Balti, S. Hwiwi, S. Zouari, Antioxidant capacity and total phenols richness of *Cistanche violacea* hosting *Zygophyllum album* *International Journal of Phytomedicine*, 2012, 4,399-402.

- [97] A. Djeridane, M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker, N. Vidal, Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, *Food Chemistry*, 2006, 97(4),654-660.
- [98] N. Benhammou. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. doctoart. 2012.Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen.
- [99] A. Belfar, M. Hadjadj, M. Dakmouche, Z. Ghiaba, Evaluation of antioxidants in ethanol extracts of *Limoniastrum guyonianum* (Zeïta) in Sahara of Algeria, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2015, 7(7),41-47.
- [100] M. Xi, C. Hai, H. Tang, A. Wen, H. Chen, R. Liu, X. Liang, M. Chen, Antioxidant and antiglycation properties of triterpenoid saponins from *Aralia taibaiensis* traditionally used for treating diabetes mellitus, *Redox Rep*, 2010, 15(1),20-8.
- [101] R. Aquino, F. De Simone, C. Pizza, R. Cerri, J. F. De Mello, Quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda*, *Phytochemistry*, 1988, 27(9),2927-2930.
- [102] S. B. Mahato, A. P. Kundu, 13C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features, *Phytochemistry*, 1994, 37(6),1517-1575.
- [103] F. J. Arriaga, A. Rumbero, P. Vazquez, Two triterpene glycosides from *Isertia haenkeana*, *Phytochemistry*, 1990, 29(1),209-213.
- [104] A. Itoh, T. Tanahashi, N. Nagakura, T. Nishi, Two Triterpenoid Saponins from *Neonauclea sessilifolia*, *Chem. Pharm. Bull.*, 2003, 51(11),1335—1337.
- [105] A. M. P. Yépez, O. L. De Ugaz, C. M. P. Alvarez, V. De Feo, R. Aquino, F. De Simone, C. Pizza, Quinovic acid glycosides from *Uncaria guianensis*, *Phytochemistry*, 1991, 30(5),1635-1637.
- [106] P. R. N. D. Oliveira, G. Testa, S. B. D. Sena, W. F. D. Costa, M. H. Sarragiotto, S. M. D. O. Santin, M. C. D. Souza, Saponinas triterpênicas das raízes de *guettarda pohliana* müll. Arg. (Rubiaceae), *Química Nova*, 2008, 31,755-758.
- [107] R. Aquino, F. De Simone, C. Pizza, C. Conti, M. L. Stein, Plant metabolites. Structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guettarda platypoda*, *J Nat Prod*, 1989, 52(4),679-85.
- [108] R. Aquino, F. De Simone, C. Pizza, J. F. De Mello, Further quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda*, *Phytochemistry*, 1989, 28(1),199-201.
- [109] L. Hamerski, C. A. Carbonezi, A. J. Cavalheiro, V. D. S. Bolzani, M. C. M. Young, Saponinas triterpenicas de *Tocoyena bras*, *Quim. Nova*, 2005, 28(4),601-604.
- [110] S. Boussaha. Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires à activité biologique potentielle de plantes sahariennes activités biologiques. Doctorat. 2015.Université Frères Mentouri Constantine.
- [111] W. Zhao, J.-L. Wolfender, K. Hostettmann, K. Cheng, R. Xu, G. Qin, Triterpenes and triterpenoid saponins from *Mussaenda pubescens*, *Phytochemistry*, 1997, 45(5),1073-1078.
- [112] Z. Weimin, X. Junping, Q. Guowei, X. Rensheng, Saponins from *Mussaenda pubescens*, *Phytochemistry*, 1995, 39(1),191-193.
- [113] A. Rumbero-Sanchez, P. Vazquez, A nor-triterpene glycoside from *Isertia haenkeana* and a 13C NMR study of cincholic acid, *Phytochemistry*, 1991, 30(2),623-626.
- [114] V. U. Ahmad, A. Basha, Spectroscopic data of saponins: The triterpenoid glycosides. Vol. 1. 2000, USA CRC.
- [115] Z. Zhang, S. Li, S. Zhang, Six new triterpenoid saponins from the root and stem bark of *Cephalanthus occidentalis*, *Planta Med*, 2005, 71(04),355-361.
- [116] S. Parvin, M. A. Kader, M. A. Muhit, M. E. Haque, M. A. Mosaddik, M. I. I. Wahed, Triterpenoids and phytosteroids from stem bark of *Crataeva nurvala* buch ham., *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2011, 1(9),47-50.

- [117] R. Ayad, M. Rahai, S. Azouzi, S. Louaar, H. Dendougui, S. Akkal, K. Medjroubi, Phytochemical investigation of the endemic plant *Zygophyllum cornutum*, Chemistry of Natural Compounds, 2012, 48(2),313-314.
- [118] Z. Shah. Phytochemical investigation on the chemical constituents of *Zygophyllum eurypterum* and synthesis with biological evaluation of schiff bases of substituted phenyl hydrazine and benzimidazole derivatives Ph D. 2011 Université Karachi.
- [119] H. Kojima, N. Sato, A. Hatano, H. Ogura, Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*, Phytochemistry, 1990, 29(7),2351-2355.
- [120] Q.-W. Tan, M.-A. Ouyang, B. Gao, Three new ring-A modified ursane triterpenes from *Davidia involucrata*, Molecules, 2014, 19(4),4897.
- [121] D. Burns, W. F. Reynolds, G. Buchanan, P. B. Reese, R. G. Enriquez, Assignment of ¹H and ¹³C spectra and investigation of hindered side-chain rotation in lupeol derivatives, Magn. Reson. Chem., 2000, 38,488-493.
- [122] A. Ben Nejma, M. Besbes, V. Guérineau, D. Touboul, H. Ben Jannet, M. H. A. Hamza, Isolation and structure elucidation of acetylcholinesterase lipophilic lupeol derivatives inhibitors from the latex of the Tunisian *Periploca laevigata*, Arabian Journal of Chemistry, 2017, 10(Supplement 2),S2767-S2772.
- [123] E. H. Lee, H. J. Kim, Y. S. Song, C. Jin, K. T. Lee, J. Cho, Y. S. Lee, Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. saboten, Arch Pharm Res, 2003, 26(12),1018-23.
- [124] ح. دندوقي. دراسة الأيض الفلافونيدي و التريبيني لبعض أنواع نباتات ضايات الصحراء الجزائرية. دكتوراه 2002. جامعة منتوري - قسنطينة.
- [125] C. Y. Ragasa, V. a. S. Ng, E. M. G. Ago, C.-C. Shen, Chemical constituents of *Cycas vespertilio*, Revista Brasileira de Farmacognosia, 2015, 25(5),526-528.
- [126] S. F. Fonseca, J. De Paiva Campello, L. E. S. Barata, E. A. Rúveda, ¹³C NMR spectral analysis of lignans from *Araucaria angustifolia*, Phytochemistry, 1978, 17(3),499-502.
- [127] S. L. Shyaula, M. D. Manandhar, M. Choudhary, Lignans from The Nepalese Sandal Wood *Osyris wightiana* Wall ex Wight, 2013, 2013, 28,5.
- [128] A. Fiorentino, M. Della Greca, B. D'abrosca, P. Oriano, A. Golino, A. Izzo, A. Zarrelli, P. Monaco, Lignans, neolignans and sesquilignans from *Cestrum parqui* l'Her, Biochemical Systematics and Ecology, 2007, 35(6),392-396.
- [129] A. R. Gohari, S. Saeidnia, M. Bayati-Moghadam, G. Amin, Lignans and neolignans from *Stelleropsis antoninae*, DARU, 2011, 19(1),74-79.
- [130] A. A. Shahat, N. S. Abdel-Azim, L. Pieters, A. J. Vlietinck, Isolation and NMR spectra of syringaresinol-β-D-glucoside from *Cressa cretica*, Fitoterapia, 2004, 75(7),771-773.
- [131] S. W. Chang, K. H. Kim, I. K. Lee, S. U. Choi, S. Y. Ryu, K. R. Lee, Phytochemical Constituents of *Bistorta manshuriensis*, Natural Product Sciences, 2009, 15(4),234-240.
- [132] S. E. Sajjadi, Y. Shokoohinia, N.-S. Moayedi, Isolation and identification of ferulic acid from aerial parts of *Kelussia odoratissima* Mozaff, Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 2012, 7(4),159-162.
- [133] D. Martins, C. V. Nunez, Secondary Metabolites from Rubiaceae Species, Molecules, 2015, 20,13422-13495.
- [134] S. S. Khan, A. Khan, A. Khan, A. Wadood, U. Farooq, A. Ahmed, A. Zahoor, V. U. Ahmad, B. Sener, N. Erdemoglu, Urease inhibitory activity of ursane type sulfated saponins from the aerial parts of *Zygophyllum fabago* Linn, Phytomedicine, 2014, 21(3),379-382.

- [135] L. A. Taponjoui, D. Lontsi, B. L. Sondengam, M. I. Choudhary, H.-J. Park, J. Choi, K.-T. Lee, Structure-Activity Relationship of Triterpenoids Isolated from *Mitragyna stipulosa* on Cytotoxicity, *Arch Pharm Res*, 2002, 25(3),270-274.
- [136] N. Fatima, L. A. Taponjoui, D. Lontsi, B. L. Sondengam, Atta-Ur-Rahman, M. I. Choudhary, Quinovic acid glycosides from *Mitragyna stipulosa* – First exemple of natural inhibitors of snake venom phosphodiesterase I, *Natural Product Letters*, 2002, 16(6),389–393.
- [137] C. D. Giorgio, M. Lamidi, F. Delmas, G. Balansard, E. Ollivier, Antileishmanal activity of quinovic acid glycosides and cadambine acid isolated from *Nauclea diderrichii*, *Planta Med*, 2006, 72,1396-1402.
- [138] S. Saleem, L. Jafri, I. U. Haq, L. C. Chang, D. Calderwood, B. D. Green, B. Mirza, 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.
- [139] Y.-M. Zhang, N.-H. Tan, H.-Q. Huang, G.-Z. Zeng, Triterpenoid saponins from *Metadina trichotoma*, *Z. Naturforsch.*, 2007, 62b,745 – 748.
- [140] P. Wang, S. Ownby, Z. Zhang, W. Yuan, S. Li, Cytotoxicity and inhibition of DNA topoisomerase I of polyhydroxylated triterpenoids and triterpenoid glycosides, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010, 20(9),2790-2796.

ANNEXE

Annexe

Figure V-1: Colonne chromatographique pour séparation de la phase chloroforme+acétate d'éthyle



Figure V-2 : Colonne chromatographique pour séparation de la phase Butanolique

Polarimètre : JASCO DIP370 polarimètre avec cellule en quartz (3.5 mm i.d. x 50 mm)



Figure V-3 : Polarimètre

HPLC analytique : pompe Hitachi L-6000 équipé d'un détecteur Hitachi L-4200 UV-VIS, a Shimizu DGU-12A dégazeur et a Hitachi D-2500 chromato-integrator. La détection a 215 nm. Colonne prepacked RP HPLC (Inertsil ODS-3 5 μ m (GL Sciences Ltd., 4.6 mm i.d. x 250 mm, 20 mm i.d. x 250 mm), Inertsil PH-3 5 μ m (GL Sciences Ltd., 4.6 mm i.d. x 250 mm, 20 mm i.d. x 250 mm), et Cosmosil Cholesterol (Nakalai Tesque Ltd., 4.6 mm i.d. x 150 mm, 10 mm i.d. x 250 mm).



Figure V-4 : L'appareil HPLC

Spectrophotomètre RMN : JEOL ECP-500 (500 MHz pour ^1H et 125 MHz pour ^{13}C) et JEOL AL-300 spectromètre (300 MHz pour ^1H et 75 MHz pour ^{13}C)



Figure V-5 : Photo de l'appareil de RMN

Publications internationales

- **In vitro antioxidant properties and phenolic contents of *Zygophyllum album* L. from Algeria.** Mahdi Belguidoum. Hocine Dendougui. Zaouia Kendour. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2015. 7(1):510-514.
- **Antioxidant activities, phenolic, flavonoid and tannin contents of endemic *Zygophyllum cornutum* Coss. from Algerian Sahara.** Mahdi Belguidoum. Hocine Dendougui. Zaouia Kendour. Mohamed Hadjadj. Der Pharma Chemica. 2016. 8(1):22-27.

Publications prochaines

- **Antioxidant activity of endemic *Zygophyllum gaetulum* Emb. & Maire from Algeria**
- **Ursane and oleanane type triterpen saponins from *Zygophyllum gaetulum* Emb & Maire**

Communication internationale

- **Antioxidant activities and phenolic contents of two *Zygophyllum* species from Algerian Sahara.** International Conference on Chemical and Biochemical Engineering. 20- 22 July 2015. Paris. poster
- **Antioxidant activity of endemic *Zygophyllum gaetulum* emb. & maire from Algeria,** 2eme séminaire international en biologie « valorisation des bio-ressources dans les zones arides », 10-11 December 2017.Bechar. Algeria. poster

Communication nationale

- **Étude phytochimique de la plante *Zygophyllum gaetulum* Emb& Maire.** Séminaire National sur les plantes spontanées (SNPS 2017), 15 Novembre 2017. Université de Ghardaïa. poster

Available online www.jocpr.com

Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015, 7(1):510-514



Research Article

ISSN : 0975-7384
CODEN(USA) : JCPRC5

***In vitro* antioxidant properties and phenolic contents of *Zygophyllum album* L. from Algeria**

Mahdi Belguidoum*, Hocine Dendougui and Zaouia Kendour

*Univ Ouargla, fac. des mathématiques et des sciences de la matière
Lab. valorisation et promotion des ressources sahariennes (VPRS)30 000 Ouargla, Algeria*

ABSTRACT

The ethanolic extract of *Zygophyllum album* was extracted successively with chloroform, ethyl acetate and butanol. Using colorimetric methods, the higher content of phenols was recorded in crude extract and water fraction (5.118 ± 0.105 and 2.088 ± 0.012 mg GAE/g DW respectively), the higher content of flavonoids was found in crude extract and butanol fraction (2.393 ± 0.061 and 0.506 ± 0.013 mg QE/g DW respectively), and the higher content of tannins was recorded in crude extract and water fraction (197.875 ± 25.46 and 103.611 ± 49.235 mg RE/g DW respectively). All extracts showed very good activity of ferric reducing power, the higher power was in crude extract and butanol fraction (11.262 ± 0.38 and 30.177 ± 2.397 mM respectively) more effective than BHA and BHT. IC_{50} of inhibition of radical DPPH in chloroform fraction was $22.127 \pm 0.837 \mu\text{g/ml}$ more effective than BHT.

Keywords: DPPH; Ferric reducing activity; Flavonoid; Phenol; Tannin; *Zygophyllum album* L.

INTRODUCTION

Plants are the main source of phenolic compounds as other secondary products. Polyphenols are known as natural antioxidant [1]. Antioxidants have been used to protect food from oxidative degradation, also used in cosmetology and dermatology [2, 3]. Synthetic antioxidants like BHA and BHT have been widely used in industry but suspected to have toxicological effects [4].

Plants growing in Sahara and salty areas (Sabhka) are exposed to extreme conditions as salinity, heat and luminosity which contribute in the quality of their antioxidants [5].

Zygophyllum album is a Saharian plant belonging to the genus *Zygophyllum*, family Zygophyllaceae. The local population in Algeria used it as remedy for rheumatism, gout, asthma, diuretic, diabetes, dermatitis, spasm, dysmenorrhea, hypertension, local anesthetic and antihistamic [6, 7].

There are studies on crude ethanolic and water extract of *Z. album* suggest that the antioxidant properties of this extracts could be responsible for their antidiabetic activity and antihypercholesterolemic [8, 9]. Another study provides the possibility of the use of *Z. album* in the development of antiobesity drugs [10].

The aim of our study was to evaluate the antioxidant properties of the crude extract of *Z. album* and its fractions and also to determine their content of phenolic, flavonoid and tannin compounds. Which, to the best of our knowledge, have not yet been reported.

EXPERIMENTAL SECTION

2.1 Plant material

The aerial parts of *Z. album* were collected in the month of April 2013 from Ouargla Sahara, southeast of Algeria. The identification was done on the basis of Quezel and Santa [11] by Halis youcef researcher in Touggourt's Scientific and Technical Research Centre for Arid Areas.

2.2 Preparation of the extract and fractions

Air dried aerial parts (100 g) of *Z. album* were macerated at room temperature with EtOH-H₂O (70:30, v/v) for 24 h, two times. After filtration, the filtrate was evaporated till dryness, recovered with distilled water and partitioned successively using chloroform, ethyl acetate and n-butanol. The extracts, also the remaining water fraction, were concentrated under reduced pressure and then re-dissolved with minimum of ethanol or water and kept at 4°C.

2.3 Determination of total phenolic content

The total phenolic content in the crude extract and the fractions of *Z. album* was estimated by using Folin-Ciocalteu reagent [12]. Briefly; 0.1 ml of the extract sample was mixed with 0.5 ml of a (10%) Folin-Ciocalteu reagent. After 5 min, 2.0 ml of (20%) sodium carbonate were added, the mixture was shaken and reacted for 30 min at room temperature in the dark. The absorbance was measured at 760 nm and the results were expressed as mg gallic acid equivalent per gram of plant dry weight (mg GAE/g).

2.4 Determination of total flavonoid content

The total flavonoid content in the crude extract and the fractions of *Z. album* was estimated by using aluminum chloride colorimetric method [13]. Briefly, 0.5 ml of 2% AlCl₃ ethanol solution was added to 0.5 ml of extract. After 30 min incubation at room temperature, the absorbance was measured at 430 nm and the results were expressed as mg quercetin equivalent per gram of plant dry weight (mg QE/g).

2.5 Determination of total tannin content

The total tannin content in the crude extract and the fractions of *Z. album* was estimated by colorimetric method [14]. 3 ml of 4% ethanol vanillin solution and 1.5 ml of concentrated hydrochloric acid were added to 0.4 ml of extract. The mixture was allowed to stand for 15 min, and the absorbance was measured at 500 nm. The results were expressed as mg catechin equivalent per gram of plant dry weight (mg CE/g).

2.6 Determination of ferric reducing power

Reducing power of the crude extract and the fractions of *Z. album* was determined by the method of Oyaizu [15]. Different concentrations of the sample (1 ml) were mixed with 2.5 ml phosphate buffer solution (pH 6.6) and 2.5 ml potassium ferricyanide (1%). The resulting solutions were incubated at 50°C for 20 minutes. After incubation, the reaction mixture mixed with 2.5 ml of 10% TCA and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. 2.5 ml of the supernatant was taken and 2.5 ml distilled water and 0.5 ml of ferric chloride (0.1%) were added to it. The absorbance was measured at 700 nm, using ascorbic acid as a positive control, and the results were expressed as mM equivalent ascorbic acid.

2.7 Determination of antiradical activity

The free radical scavenging activity of *Z. album* was measured by using DPPH assay [16]. 1 ml of diluted plant extract was added to 1 ml of a 0.25 mmol/l DPPH• ethanol solution. The solutions were placed in the dark at room temperature for 30 min. The absorbance of the resulting solution was then read at 517 nm and ascorbic acid was used as a positive control. Inhibition of DPPH radical was calculated as follows:

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = [A_0 - A_1 / A_0] \times 100$$

Where A₀ and A₁ are the absorbance at 30 min of the control and the sample, respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Total phenolic, flavonoid and tannin contents

The total phenolic content of the crude extract and the fractions, expressed as gallic acid equivalent per gram dry weight (mg GAE/g DW), varied between 5.118 ± 0.105 and 0.116 ± 0.002 mg GAE/g DW (Table 1). The highest total phenolic content was found in the crude extract and the water fraction while the lowest was in the chloroform fraction. The total flavonoid content of the extracts, expressed as quercetin equivalent per gram dry weight (mg QE/g DW), ranged from 2.393 ± 0.061 to 12 ± 0.582 µg QE/g DW (Table 1). Crude extract and butanol fraction contained high amount of flavonoids while chloroform fraction contained lower amount of flavonoids. For the

determination of the total tannin content of the crude extract and the fractions, expressed as catechin equivalent per gram dry weight (mg CE/g DW), the crude extract and the butanol fraction exhibited a highest content of tannins, on the other hand, the ethyl acetate fraction showed a lowest value of tannin content (Table 1).

Flavonoid and triterpene glycosides, tannins and saponins were the major compounds found and isolated from *Z. album*. These families of compounds are known as great antioxidant and widely used in industrial fields [17-21].

Table 1: Total phenolic, flavonoid and tannin contents

Extract	Total phenolics (mg GAE/g)*	Total flavonoids (μ g QE/g)*	Total tannins (μ g CE/g)*
Crude extract	5.118 \pm 0.105	2393.25 \pm 61.905	197.875 \pm 25.46
Chloroform fraction	0.116 \pm 0.002	12.152 \pm 0.582	8.194 \pm 1.554
Ethyl acetate fraction	0.122 \pm 0.004	32.762 \pm 0.771	3.162 \pm 0.248
Butanol fraction	0.919 \pm 0.021	506.305 \pm 13.317	13.746
Water fraction	2.088 \pm 0.012	340.926 \pm 4.295	103.611 \pm 49.235

*Results are expressed as mean of 3 values \pm standard deviation

3.2 Antioxidant activities

The ability of the extracts to reduce iron (III) to iron (II) can be monitored by measuring the formation of Perl's Prussian blue at 700 nm. Yellow color of the test solution changes to green or blue color depending on the reducing power of antioxidant samples. A higher absorbance indicates a higher ferric reducing power. The reducing power of the crude extract and the fractions of *Z. album* are summarized in Table 2. The values of reducing activity varied between 30.177 \pm 2.397 and 7.689 \pm 0.562 mmol/ml. The butanol fraction gave the higher result of reducing activity while the lowest was recorded in the chloroform fraction (Figure 1). All the extracts showed a very good activity of reducing power and better than the synthetic antioxidants BHA (0.55 \pm 0.01 mmol/ml), BHT (0.75 \pm 0.005 mmol/ml) and gallic acid (1.122 \pm 0.49 mmol/ml).

DPPH is used to evaluate the free radical scavenging activity of natural antioxidants and extracts, the method is based on the reduction of the stable free radical DPPH by donating hydrogen from the phenolic hydroxyl groups. This reduction can be monitored at 517 nm by measuring the bleaching of DPPH (violet) to DPPH-H (yellow). Figure 2 shows DPPH inhibition activities of crude extract and fractions of *Z. album*. The values of IC₅₀ ranged from 84.104 \pm 3.989 to 22.127 \pm 0.837 μ g/ml (Table 2). The highest scavenging activity was observed in the chloroform fraction (22.127 \pm 0.837 μ g/ml) and ethyl acetate fraction (26.138 \pm 01.542 μ g/ml), the lowest scavenging activity was recorded in the crude extract and butanol fraction (84.104 \pm 3.989 and 62.1506 \pm 10.213 μ g/ml respectively). The fractions showed better scavenging action than the crude extract. IC₅₀ values of all these compounds were greater than that of BHT where IC₅₀ was achieved at 62.652 \pm 3.016 μ g/ml but lower than ascorbic acid (14.657 \pm 0.698 μ g/ml).

Table 2: reducing power and DPPH scavenging

Extract	Reducing power (mM)*	DPPH (IC ₅₀ in μ g/ml)*
Crude extract	11.262 \pm 0.38	84.104 \pm 3.989
Chloroform fraction	8.723 \pm 0.732	22.127 \pm 0.837
Ethyl acetate fraction	7.689 \pm 0.562	26.138 \pm 01.542
Butanol fraction	30.177 \pm 2.397	62.15 \pm 10.213
Water fraction	26.637 \pm 2.928	33.254 \pm 0.162
Ascorbic acid	-	14.657 \pm 0.698
BHA	0.556 \pm 0.012	13.145 \pm 0.304
BHT	0.751 \pm 0.005	62.652 \pm 3.016
Gallic acid	1.122 \pm 0.049	-

*Results are expressed as mean of 3 values \pm standard deviation

Polyphenol possess ideal structural chemistry for radical scavenging, this properties arise from its high reactivity as hydrogen or electron donator, and the stability and delocalization of the impaired electron of polyphenol-derived radical [22]. Many flavonoids have strong antioxidant capacities. Flavonoids can prevent injury caused by free radicals by direct scavenging of reactive oxygen species, activation of antioxidant enzymes and increasing in antioxidant properties of low molecular antioxidants [23].

Concerning the correlation between phenolic, flavonoid and tannin contents and DPPH scavenging activity, the values of correlation coefficient were 0.66, 0.81 and 0.48 respectively. According to this result, the contribution of phenols, flavonoids and tannins was 66%, 81% and 48% in radical scavenging activity.

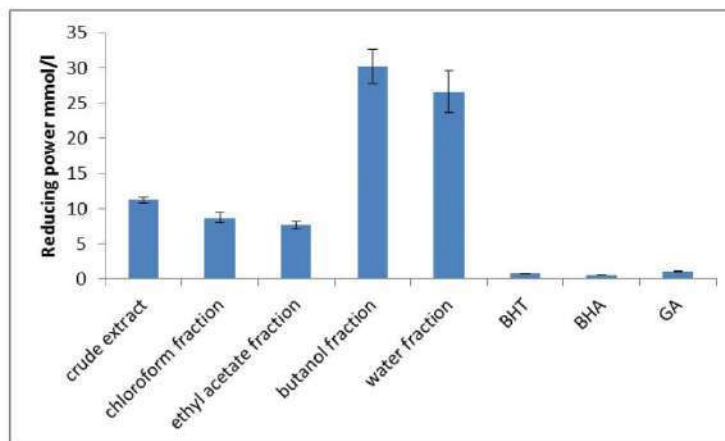


Figure 1: Reducing power activities of crude extract and fractions of *Z. album*

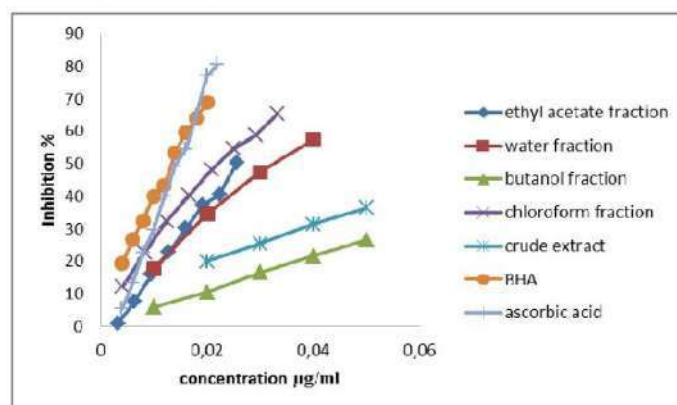


Figure 2: Percentage scavenging of DPPH in crude extract and fractions of *Z. album*

CONCLUSION

The crude ethanolic extract and four fractions of *Z. album* were investigated for their polyphenolic contents and antioxidant activities. The results obtained from this study indicate that the fractions of *Z. album* have a good antioxidant activity. All extracts have strong reducing activity, while chloroform and ethyl acetate have good antiradical activity. The antioxidant activity in the fractions of *Z. album* arising from the rich content on polyphenol in this plant.

REFERENCES

- [1] I Ignat; I Volf; V I Popa. *Food Chemistry*, **2011**, 126(4), 1821-1835.
- [2] I A El-Haci; F A Bekkara; W Mazari; M Gherib. *Pharmacognosy Journal*, **2013**, 5(3), 108-112.
- [3] E Bursal; E Köksal. *Food Research International*, **2011**, 44(7), 2217-2221.
- [4] M A Shah; S J D Bosco; S A Mir. *Meat Science*, **2014**, 98(1), 21-33.
- [5] N Trabelsi; W Megdiche; R Ksouri; H Falleh; S Oueslati; B Soumaya; H Hajlaoui; C Abdelly. *LWT - Food Science and Technology*, **2010**, 43(4), 632-639.
- [6] D Smati; A Longeon; M Guyot. *Journal of Ethnopharmacology*, **2004**, 95(2-3), 405-407.
- [7] N Tigrine-Kordjani; B Y Meklati; F Chemat. *International Journal of Aromatherapy*, **2006**, 16(3-4), 187-191.
- [8] J El Ghoul; N Ghanem-Boughanni; M Ben-Atia. *Biomedicine and preventive nutrition*, **2011**, 1, 79-83.

- [9] J El Ghoul; M Smiri; S Ghrab; N A Boughattas; M Ben-Attia. *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology / ISP*, **2012**, 19(1), 35-42.
- [10] S A Ouf; F K A Hady; M H Elgamal; K H Shaker. *Folia Microbiologica*, **1994**, 39(3), 215-221.
- [11] P Quezel; S Santa. *Nouvelle flore de l'Algerie : et des regions desertiques meridionales*, CNRS, [s.n.], Paris, 1963; 585-588.
- [12] S T Chang; J H Wu; S Y Wang; P L Kang; N S Yang; L F Shyur. *J Agric Food Chem.*, **2001**, 49(7), 3420-4.
- [13] H Wang; X D Gao; G C Zhou; L Cai; W B Yao. *Food Chemistry*, **2008**, 106(3), 888-895.
- [14] B Sun; J M Ricardo-da-Silva; I Spranger. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1998**, 46(10), 4267-4274.
- [15] M Oyaizu. *Japanese Journal of Nutrition* **1986**, 44(6), 307-315.
- [16] B Hsu; I M Coupar; K Ng. *Food Chemistry*, **2006**, 98(2), 317-328.
- [17] A M Y Moustafa; A I Kodair; F M Hammouda; H A Housseiny. *Journal of pharmacology and toxicology*, **2007**, 2(3), 220-237.
- [18] H H Hassanean; E K Desoky; M M A Elhamouly. *Phytochemistry*, **1993**, 33(3), 663-666.
- [19] H A HASSANEAN; M M A EL-HAMOULY; S A EL-MOGHAZY; D W BISHAY. *Phytochemistry*, **1993**, 33(3), 667-670.
- [20] S R Hussein; M M Marzouk; L F Ibrahim; S A Kawashty; N A M Saleh. *Biochemical Systematics and Ecology*, **2011**, 39(4-6), 778-780.
- [21] W M Ksouri; F Medini; K Mkadmini; J Legault; C Magne; C Abdelly; R Ksouri. *Food Chemistry*, **2013**, 139(1-4), 1073-1080.
- [22] V Pandhair; B S Sekhon. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, **2006**, 15(2), 71-78.
- [23] D Procházková; I Boušová; N Wilhelmová. *Fitoterapia*, **2011**, 82(4), 513-523.



ISSN 0975-413X
CODEN (USA): PCHHAX

Der Pharma Chemica, 2016, 8(1):22-27
(<http://derpharmachemica.com/archive.html>)

Antioxidant activities, phenolic, flavonoid and tannin contents of endemic *Zygophyllum Cornutum* Coss. from Algerian Sahara

Mahdi Belguidoum*, Hocine Dendougui, Zaouia Kendour, Belfar Assia, Bensaci Cheyma and Mohamed Hadjadj

Univ Ouargla, fac. des mathématiques et des sciences de la matière, Lab. valorisation et promotion des ressources sahariennes (VPRS) Route de Ghardaïa, Ouargla, Algeria

ABSTRACT

Zygophyllum cornutum Coss. is an endemic plant growing in the northern Sahara of Algeria. It is used in traditional medicine against diabetes, hypertension and dermatitis. The antioxidant activities of the crude hydro-alcoholic extract and the organic fractions of *Z. cornutum* were investigated by DPPH test, ferric reducing activity and phosphomolybdenum assay. Also the content of phenols, flavonoids and tannins was estimated by spectrophotometric methods. The best DPPH scavenging activity was found in water fraction followed by chloroform fraction (IC_{50} = 25 and 38.5 μ g/ml, respectively), more effective than BHT. For the ferric reducing activity and phosphomolybdenum assay, the best activity was found in water and butanol fractions, the results were better than BHA and BHT. The content in phenolics, flavonoids and tannins may be responsible for the good activities of the plant *Z. cornutum*.

Keywords: *Zygophyllum cornutum* Coss., Phenol, Flavonoid, Tannin, DPPH, Ferric reducing activity, Total antioxidant activity.

INTRODUCTION

The importance of medicinal plants has increased recently with the aim to find drugs against diabetes, hypertension and cancer as well as finding new molecules that possess antioxidant activities for using them in agri-food sector, pharmaceuticals and cosmetic industries. The synthetic antioxidants have shown toxic effects on health, for that reason many studies have occurred to find new natural antioxidants as an alternative [1].

Zygophyllum are shrubby plants with leaves in two leaflets belongs to the family Zygophyllaceae [2]. The plants of this genus have been the object of several studies where they could confirm their biological activities [3].

Zygophyllum cornutum is an endemic xerophyte plant characterized by its dilated fruits on top in a free portion of carpels recurved into hooks as long as the welded portion [2]. In Algeria, *Z. cornutum* is used for the treatment of dermatitis, diabetes, hypertension, rheumatism, gout and asthma as other *zygophyllum* species [4, 5].

Many studies were confirmed the antidiabetic, antihypercholesterolemic, anti-inflammatory and antidiarrhoeal activities of *Z. album* and *Z. gaetulum* [6-12]. While only hypoglycemic activity of *Z. cornutum* was confirmed in a preliminary investigation [13, 14].

The aim of our study was to evaluate the antioxidant properties of the crude extract of *Z. cornutum* and its fractions and also to determine their content of phenolic, flavonoid and tannin compounds.

Which, to the best of our knowledge, have not yet been reported.

MATERIALS AND METHODS

2. 1. Chemicals and reagents

All solvents were analytic grade purity purchased from Biochem. sodium carbonate, Folin-Ciocalteu reagent, aluminum chloride, phosphate buffer, potassium ferricyanide, trichloroacetic acid (TCA), ferric chloride, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), ammonium molybdate, gallic acid, quercetin, catechin, ascorbic acid, BHA and BHT were obtained from Sigma-Aldrich and Biochem.

2. 2. Plant material

The aerial parts of *Z. cornutum* were collected in the month of April 2013 from Biskra, southeast of Algeria (northern Sahara). The identification was done on the basis of Quezel and Santa [2] by Doctor Halis Youcef researcher in Touggourt's Scientific and Technical Research Centre for Arid Areas.

2. 3. Preparation of the extract

The plant was air-dried in shadow. Defatted aerial parts of *Z. cornutum* (100 g) were macerated at room temperature with EtOH-H₂O (70:30, v/v) for 24 h, two times. After filtration, the filtrate was evaporated till dryness, recovered with distilled water and partitioned successively using chloroform, ethyl acetate and n-butanol. The extracts, also the remaining water fraction, were concentrated under reduced pressure to calculate the yield and then re-dissolved with minimum of ethanol or water and kept at 4°C. We have obtained: crude extract (CE), chloroform fraction (CF), ethyl acetate fraction (EF), butanol fraction (BF) and water fraction (WF).

2. 4. Total phenolic content TPC

The total phenolic content in the crude extract and the fractions of *Z. cornutum* was estimated by using Folin-Ciocalteu reagent [15]. Briefly: 0.1 ml of the extract was mixed with 0.5 ml of a (10%) Folin-Ciocalteu reagent. After 5 min, 2.0 ml of (20%) sodium carbonate were added, the mixture was shaken and reacted for 30 min at room temperature in the dark. The absorbance was measured at 760 nm and the results were expressed as mg gallic acid equivalent per gram of plant dry weight (mg GAE/g).

2. 5. Total flavonoid content TFC

The total flavonoid content in the crude extract and the fractions of *Z. cornutum* was estimated by using aluminum chloride colorimetric method [16]. Briefly, 0.5 ml of 2% AlCl₃ ethanol solution was added to 0.5 ml of extract. After 30 min incubation at room temperature, the absorbance was measured at 430 nm and the results were expressed as mg quercetin equivalent per gram of plant dry weight (mg QE/g).

2. 6. Total tannin content TTC

The total tannin content in the crude extract and the fractions of *Z. cornutum* was estimated by colorimetric method [17]. 3 ml of 4% ethanol vanillin solution and 1.5 ml of concentrated hydrochloric acid were added to 0.4 ml of extract. The mixture was allowed to stand for 15 min, and the absorbance was measured at 500 nm. The results were expressed as mg catechin equivalent per gram of plant dry weight (mg CE/g).

2. 7. Determination of ferric reducing power

Reducing power of the different extracts of *Z. cornutum* was determined by the method of Oyaizu [18]. Different concentrations of the extract (1 ml) were mixed with 2.5 ml phosphate buffer solution (pH 6.6) and 2.5 ml potassium ferricyanide (1%). The resulting solutions were incubated at 50°C for 20 minutes. After incubation, the reaction mixture mixed with 2.5 ml of 10% TCA and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. 2.5 ml of the supernatant was taken and 2.5 ml distilled water and 0.5 ml of ferric chloride (0.1%) were added to it. The absorbance was measured at 700 nm, using ascorbic acid as a positive control, and the results were expressed as mM equivalent ascorbic acid.

2. 8. Determination of antiradical activity

The free radical scavenging activity of *Z. cornutum* was measured by using DPPH assay [19]. 1 ml of diluted plant extract was added to 1 ml of a 0.250 mmol/l DPPH• ethanol solution. The solutions were placed in the dark at room temperature for 30 min. The absorbance of the resulting solution was then read at 517 nm and ascorbic acid was used as a positive control. Inhibition of DPPH radical was calculated as follows:

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = [A_0 - A_1 / A_0] \times 100$$

Where A₀ and A₁ are the absorbance at 30 min of the control and the sample, respectively.

2. 9. Determination of total antioxidant activity

The total antioxidant activity of the different extracts of *Z. cornutum* was determined by the phosphomolybdenum assay [20]. Different concentrations of the extract (0.1 ml) were mixed with 1 ml reagent solution (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate, and 4 mM ammonium molybdate). The resulting solutions were incubated in a water bath at 95°C for 90 min. The mixture was left to cool at room temperature, the absorbance of the mixture was measured at 695 nm, using ascorbic acid as a positive control, and the results were expressed as mM equivalent ascorbic acid.

Statistical analysis

All tests were taken in triplicate. The results were expressed as means \pm SD. Curve was drawn by Microsoft Excel 2010. IC₅₀ was calculated from linear regression.

RESULTS AND DISCUSSION**3. 1. Extraction yield, total phenolic, flavonoid and tannin contents**

The extraction yield for the crude hydro-alcoholic extract of *Z. cornutum* was 28.089 %. For the fractions, the highest yield was in WF (18.242 %) followed by BF (4.776 %). In the other hand, the lowest yield of extraction was in EF (0.221 %) (Table 1).

TPC of *Z. cornutum* extracts, expressed as gallic acid equivalent per gram dry weight (mg GAE/g DW), ranged from 0.133 \pm 0.003 to 3.755 \pm 0.050 mg GAE/g DW (Table 1). The highest content was found in CE and WF, the lowest content was registered in CF. TPC of the crude extract of *Z. cornutum* and its fractions were in the following order: CF < EF < BF < WF < CE.

TFC of the crude extract and the fractions of *Z. cornutum*, expressed as quercetin equivalent per gram dry weight (μ g QE/g DW), was between 18.473 \pm 0.602 and 1320.500 \pm 54.848 μ g QE/g DW. The highest amounts of flavonoids were present in the CE and WF, while the lowest were recorded in the CF. TFC increased in the following order: CF < EF < BF < WF < CE. The amount of phenol and flavonoid present in the crude extract was very low when comparing with other studies [21, 22]

TTC in the fractions and the crude extract of *Z. cornutum*, expressed as catechin equivalent per gram dry weight (μ g CE/g DW), varied between 3.737 \pm 0.248 and 143.350 \pm 22.960 CE μ g/g DW. The highest content was found in CE and WF, while the lowest was found in EF and CF. The values of tannin content in the crude extract was lower compared with *Borago officinalis* L. [21].

Table 1 Extraction yield, total phenolic, flavonoid and tannin contents

	Yield %	TPC mg GAE/g DW	TFC μ g QE/g DW	TTC μ g CE/g DW
Crude extract	28.089	3.755 \pm 0.050	1320.500 \pm 54.848	143.350 \pm 22.962
Chloroform fraction	0.229	0.133 \pm 0.003	18.473 \pm 0.602	10.925 \pm 1.085
Ethyl acetate fraction	0.221	0.166 \pm 0.011	50.657 \pm 0.203	3.737 \pm 0.248
Butanol fraction	4.776	0.820 \pm 0.005	306.881 \pm 0.462	20.161 \pm 25.397
Water fraction	18.242	2.184 \pm 0.067	543.859 \pm 8.590	142.605 \pm 45.501

We have remarked that phenolic and flavonoid contents are bigger in the polar fraction (water and butanol fractions), that may indicate that these polyphenol compounds are more hydroxylated and/or glycosylated. The content of phenolic or flavonoid compounds in fractions was affected by their solubility in solvent used for extraction. Polar fractions had more polyphenols than non-polar fractions, similar results was found by [23].

Seven known saponins were isolated from the methanolic extract of the whole plant of *Zygophyllum cornutum* Coss [24], β -sitosterol, isorhamnetin-3-rutinoside [25] and one flavonoid [26].

When comparing this results with those of *Z. album* [27], we found that crude extract also the butanol and water fractions of *Z. album* contain more TPC than the same fractions of *Z. cornutum*. Whereas, chloroform and ethyl acetate fractions of *Z. cornutum* are richer than those of *Z. album*.

The amount of flavonoids found in crude extract and butanol fraction of *Z. cornutum* are less than those of *Z. album*, while the other fractions of *Z. cornutum* are richer than the same fractions of *Z. album*. The amount of tannins found in *Z. cornutum* was a little lower than *Z. album* [27], but generally the results are similar.

3. 2. Antioxidant activities

The antiradical activity of the crude extract and fractions of *Z. cornutum* was measured by the DPPH assay. The method is based on the reduction of the stable radical DPPH with a violet color to non-radical DPPH-H with a yellow color. The disappearance of the violet color can be monitored spectrophotometrically at 517 nm. Fig 1 shows the percentage of scavenging DPPH in crude extract and fractions of *Z. cornutum*. The values of IC_{50} varied between 24.955 ± 1.983 and 67.059 ± 4.727 $\mu\text{g/ml}$ (Table 2). The best activity was found in the WF with an IC_{50} value of 24.935 ± 1.983 $\mu\text{g/ml}$ followed by CF with an IC_{50} value of 38.478 ± 2.085 $\mu\text{g/ml}$. All fractions had better activity than crude extract. All extracts showed a good antiradical activity and better than BHT (62.652 ± 3.016 $\mu\text{g/ml}$).

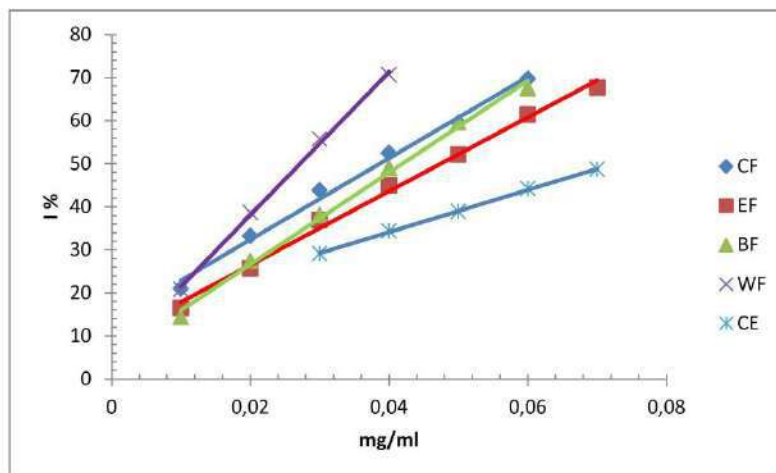


Fig 1 Free radical scavenging activity of chloroform (CF), ethyl acetate (EF), butanol (BF), water (WF), crude (CE) extracts of *Z. cornutum*

The ability of the different extracts of *Z. cornutum* to reduce the ferricyanide complex (Fe^{3+}) to the ferrous form (Fe^{2+}) was recorded by measuring the formation of Perl's Prussian blue at 700 nm.

Fig 2 shows the reducing power activities of crude extract and fractions of *Z. cornutum* expressed as absorbance in terms of the inverse of dilution factor. Ferric reducing activity of the different extracts of *Z. cornutum* ranged from 3.827 ± 0.131 to 15.461 ± 0.282 mM. WF had the best reducing activity with a value of 15.461 ± 0.282 mM, the lowest reducing activity was recorded in CF and EF (3.964 ± 0.071 and 3.827 ± 0.131 mM, respectively). All fractions are better than crude extract. All extracts showed a very good ferric reducing activity, better than BHA, BHT and gallic acid.

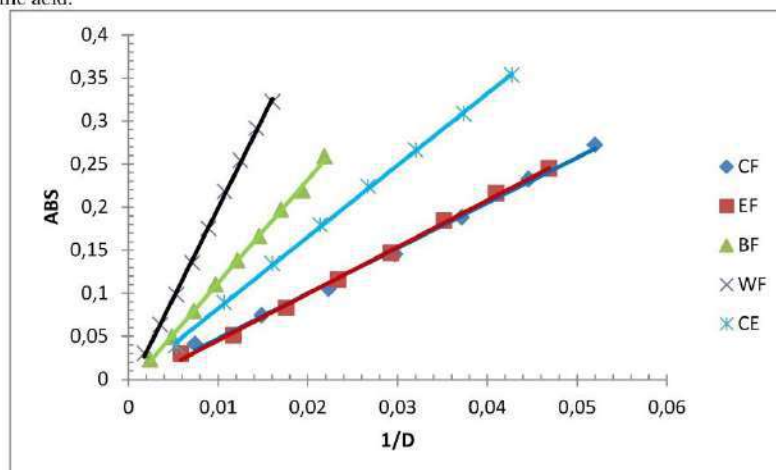


Fig 2 Reducing power activities of chloroform (CF), ethyl acetate (EF), butanol (BF), water (WF), crude (CE) extracts of *Z. cornutum*

The total antioxidant activity of the different extracts of *Z. cornutum* was measured by the phosphomolybdenum method, which is based on the reduction of Mo (VI) to Mo (V). The formation of green phosphate/Mo (V) compounds measured at 695. Fig 3 shows the total antioxidant activity of crude extract and fractions of *Z. cornutum* expressed as absorbance in terms of the inverse of dilution factor. Total antioxidant activity of all extracts varied between 14.434 ± 0.263 and 98.707 ± 0.382 mM. WF had a strong antioxidant activity with a value of 98.707 ± 0.382 mM followed by BF with a value of 45.576 ± 3.341 mM. The lowest antioxidant activity was recorded in EF with a value of 14.434 ± 0.263 mM. The crude extract and the fractions of *Z. cornutum* showed a very good antioxidant activity better than BHA and BHT (0.978 ± 0.041 and 0.841 ± 0.031 mM, respectively).

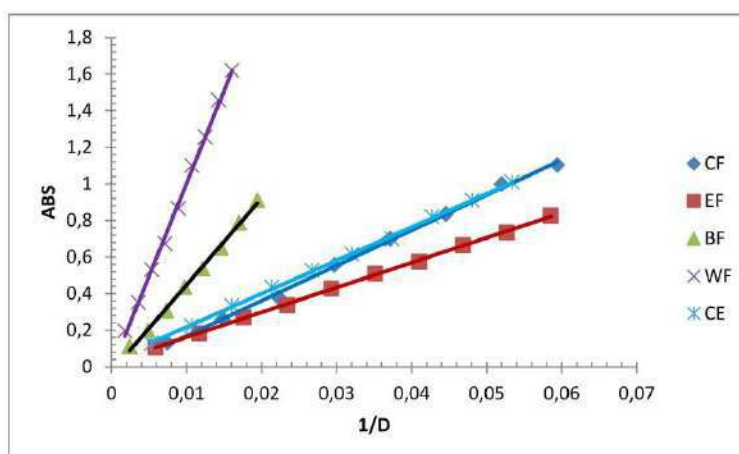


Fig 3 Total antioxidant activity of chloroform (CF), ethyl acetate (EF), butanol (BF), water (WF), crude (CE) extracts of *Z. cornutum*

There are a weak correlation between the phenolic, flavonoid and tannin contents and the antioxidant activities. , similar results were found in three *Veronica* species [28]. The contribution of phenols and flavonoids in the DPPH scavenging activity was 20.15% and 35.34% respectively. We have found also 43.92% of the ferric reducing activity and 22% of the activity to reduce molybdate were due to tannins. The chloroform fraction had a very good scavenging activity in spite of the low content of polyphenols, that is explained by the interference of non-phenolic compounds [29] like terpenoids already isolated from *Z. cornutum* [24].

The mechanism for the reaction of DPPH[•] with phenols depend on the reactivity as hydrogen or electron donor. the high activity is due to the number of hydroxyl groups available [30]. Flavonoids and tannins are among the main groups of polyphenols. Flavonoids have a high redox potential, permitting them to act as reducing agents, hydrogen donors, singlet oxygen quenchers and metal chelating potential [31]. Flavonoids are known to scavenger various oxidizing species and to have an ability to stabilize membranes by decreasing membrane fluidity [32]. Tannins are metal ion chelators, protein precipitating agents and biological antioxidants [31].

Table 2 DPPH scavenging, reducing power and total antioxidant activity

	DPPH IC ₅₀ µg/ml	FRAP mM	Molybdate mM
Crude extract	67.059 ± 4.727	6.487 ± 0.454	19.152 ± 0.077
Chloroform fraction	38.478 ± 2.085	3.964 ± 0.071	18.103 ± 1.104
Ethyl acetate fraction	47.767 ± 1.571	3.827 ± 0.131	14.434 ± 0.263
Butanol fraction	42.159 ± 3.029	8.440 ± 0.578	45.576 ± 3.341
Water fraction	24.935 ± 1.983	15.461 ± 0.282	98.707 ± 0.382
Ascorbic acid	14.657 ± 0.698		
BHA	13.145 ± 0.304	0.556 ± 0.012	0.978 ± 0.041
BHT	62.652 ± 3.016	0.751 ± 0.005	0.841 ± 0.031
Gallic acid	-	1.122 ± 0.049	-

CONCLUSION

The crude extract of *Z. cornutum* and its fractions were found to have very good antioxidant activities and to contain a considerable content in polyphenolic compounds. These results may confirm the traditional use of the plant. Further work must be done like biological, antihyperglycemic and antihypercholesterolemic activities.

REFERENCES

- [1] E. Bursal, E. Köksal, *Food Research International*, **2011**, 44,7, 2217-2221.
- [2] P. Quezel, S. Santa, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. CNRS. Vol. 2. Paris, **1963**.
- [3] H. A. Hassanean, M. M. A. El-Hamouly, S. A. El-Moghazy, D. W. Bishay, *Phytochemistry*, **1993**, 33,3, 667-670.
- [4] N. Tigrine-Kordjani, B. Y. Meklati, F. Chemat, *Phytochem. Anal.*, **2011**, 22,1, 1-9.
- [5] D. Smati, A. Longeon, M. Guyot, *Journal of Ethnopharmacology*, **2004**, 95,2-3, 405-407.
- [6] M. Ait El Cadi, S. Makram, M. Ansar, Y. Khabbal, K. Alaoui, M. A. Faouzi, Y. Cherrah, J. Taoufik, *Annales pharmaceutiques françaises*, **2012**, 70,2, 113-6.
- [7] J. El Ghoul, N. A. Boughattas, M. Ben-Attia, *Toxicol. Ind. Health*, **2013**, 29,1, 43-51.
- [8] J. El Ghoul, N. Ghanem-Boughanmi, M. Ben-Attia, *Biomedicine and preventive nutrition*, **2011**, 1, 79-83.
- [9] J. El Ghoul, M. Smiri, S. Ghrab, N. A. Boughattas, M. Ben-Attia, *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology / ISP*, **2012**, 19,1, 35-42.
- [10] J. T. Jaouhari, H. B. Lazrek, M. Jana, *Journal of Ethnopharmacology*, **2000**, 69,1, 17-20.
- [11] J. T. Jaouhari, H. B. Lazrek, A. Seddik, M. Jana, *Journal of Ethnopharmacology*, **1999**, 64,3, 211-217.
- [12] W. M. Ksouri, F. Medini, K. Mkadmini, J. Legault, C. Magne, C. Abdelly, R. Ksouri, *Food Chem.*, **2013**, 139,1-4, 1073-1080.
- [13] UNESCO, *Medicinal plants of the arid zones*. Arid zone research. Vol. 13. UNESCO, Paris, **1960**, 96.
- [14] C. Perez, R. Paris, *Ann Pharm Fr.*, **1958**, 16,2, 86-90.
- [15] S. T. Chang, J. H. Wu, S. Y. Wang, P. L. Kang, N. S. Yang, L. F. Shyur, *J Agric Food Chem.*, **2001**, 49,7, 3420-4.
- [16] H. Wang, X. D. Gao, G. C. Zhou, L. Cai, W. B. Yao, *Food Chem.*, **2008**, 106,3, 888-895.
- [17] S. Mariem, F. Hanen, J. Inès, S. Mejdi, K. Riadh, *South African Journal of Botany*, **2014**, 94,1, 114-121.
- [18] M. Oyaizu, *Japanese Journal of Nutrition* **1986**, 44,6, 307-315.
- [19] B. Hsu, I. M. Coupar, K. Ng, *Food Chem.*, **2006**, 98,2, 317-328.
- [20] H. Falleh, I. Jalleli, R. Ksouri, M. Boulaaba, S. Guyot, C. Magné, C. Abdelly, *Plant Physiology and Biochemistry*, **2012**, 52,1, 1-8.
- [21] H. Zemmouri, S. Ammar, A. Boumendjel, M. Messarah, A. El Feki, M. Bouaziz, *Arabian Journal of Chemistry*, **Article in press**.
- [22] J.-H. Lee, *Research Journal of Medicinal Plant* **2014**, 8,6, 258-268.
- [23] O. Khedher, Y. Moussaoui, R. B. Salem, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **2014**, 5,2, 66-76.
- [24] S. Bencharif-Betina, T. Miyamoto, C. Tanaka, Z. Kabouche, A. C. Mitaine-Offer, M. A. Lacaille-Dubois, *Nat. Prod. Commun.*, **2013**, 8,5, 573-574.
- [25] R. Ayad, M. Rahai, S. Azouzi, S. Louaar, H. Dendougui, S. Akkal, K. Medjroubi, *Chem. Nat. Compd.*, **2012**, 48,2, 313-314.
- [26] P. Aclinou, K. Abdessemed, G. Massiot, L. Le Men-Olivier, *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **1988**, 22, 212-218.
- [27] M. Belguidoum, H. Dendougui, Z. Kendour, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **2015**, 7,1, 510-514.
- [28] J. Živković, T. Čebović, Z. Maksimović, *cent.eur.j.biol.*, **2012**, 7,3, 559-568.
- [29] P. Hemali, C. Sumitra, *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, **2014**, 9,5, 28-37.
- [30] D. Villano, M. S. Fernández-Pachón, M. L. Moya, A. M. Troncoso, M. C. García-Parrilla, **2007**, 71, 230-235.
- [31] I. Ignat, I. Volf, V. I. Popa, *Food Chem.*, **2011**, 126,4, 1821-1835.
- [32] J. B. Harborne, C. A. Williams, *Phytochemistry*, **2000**, 55, 481-504.