

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

UNIVERSITE FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE 1

FACULTE DES SCIENCES EXACTES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre :

Série :

THESE

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

Spécialité : Chimie pharmaceutique

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

PAR

M^{me} Imene Achili

Etude phytochimique et pharmacologique de plantes
médicinales algériennes, cas des espèces *Pistacia*
atlantica* et *Salvia microphylla

Devant le jury :

Mme ZAMA Djamila Pr. Université Frères Mentouri, Constantine 1 Présidente

M. BENAYACHE Samir Pr. Université Frères Mentouri, Constantine 1 Directeur de thèse

M. BENAYACHE Fadila Pr. Université Frères Mentouri, Constantine 1 Rapporteuse pour
la soutenance de thèse

Mme. AMRANI Amel Pr. Université Frères Mentouri, Constantine 1 Examinatrice

Mme. BENAÏSSA Ouahiba Pr. Université Mustapha Ben Boulaïd, Batna2 Examinatrice

16 Juin 2021

Remerciements

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

Je tiens particulièrement à remercier mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur **Samir BENAYACHE**, pour m'avoir accueillie au sein de son équipe et m'avoir donné la possibilité de mener à bien ce travail de thèse. Je le remercie également pour sa gentillesse, ses précieux conseils, ses critiques constructives, ses encouragements et sa disponibilité.

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

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

J'adresse également mes remerciements à Madame **Amel Amrani** Professeure à l'université Constantine 1 pour sa gentillesse et son aide, et pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de juger ce travail.

Je tiens également à remercier Madame **OuahibaBenaissa** Professeure à l'UniversitéMustapha Ben BoulaidBatna 2, qui m'honore en acceptant de faire partie du jury de ma thèse.

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

J'exprime ma sincère reconnaissance au professeur **Ibrahim Demirtas** de l'université de ÇankiriKaratekin, Türkiye qui m'a accueillie au sein de son laboratoire pour un stage où j'ai effectué une partie de mes travaux. J'adresse également mes remerciements à Monsieur **AliRizapour** pour son aide durant mon séjour en Turquie.

Je remercie aussi le Docteur **Chawki BENSOUICI**, responsable du laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie à Constantine, je le remercie pour tout ce que j'ai appris en matière d'évaluation des activités biologiques durant mon stage.

Je tiens à remercier tous les membres de notre unité de recherche **VARENBIOMOL** pour leur disponibilité, leur soutien, leur encouragement et leur bonne humeur, qui assurent une atmosphère donnant envie de travailler plus. Je cite en particulier : **Widad, Nihed, Randa, Nassima, Leila, Ilhem, Houria, Soumia, Hanane, Wassila, Ferial, Nawel...**

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

Dédicaces

*Je dédie ce travail et ma profonde reconnaissance à mes chers parents **Fatima** et **Mohamed** qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite. J'espère qu'un jour je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, Sans vous je n'en serais pas là aujourd'hui. Que ce travail soit le fruit de votre soutien et de vos sacrifices.*

A mon mari qui par sa compréhension m'a donné vraiment une grande motivation pour progresser et arriver à l'achèvement de ce travail

*A mes très chère petites fillettes, **Malak** et **Eline Jana** qui m'ont apporté tout le bonheur du monde.*

*A ma chère sœur **Ahlem** pour son encouragement permanent, et son soutien moral,*

*A mon cher frère **Seif-Eddine** pour son appui et son encouragement,*

A toute ma famille et mes amies pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Liste des figures

N°	Titre	N°
Chapitre I : Aperçu bibliographique sur le genre <i>Pistacia</i>.		
Figure 01	Répartition géographique de la famille Anacardiaceae	6
Figure 02	Répartition géographique du genre <i>Pistacia</i> (Xie et al, 2014).	7
Figure 03	Image de pistachier de l'Atlas : Arbuste.	19
Figure 04	Représentent les fruits [A], les feuilles [B] et l'écorce [C] de <i>P. atlantica</i> .	20
Figure 05	Répartition géographique de l'espèce <i>P. atlantica</i> Desf.	21
Figure 06	Les produits isolés <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> du Maroc et celui de l'Algérie.	29
Chapitre II : Aperçu bibliographique sur le genre <i>Salvia</i>		
Figure 07	Répartition géographique de la famille des lamiacées (en rouge).	34
Figure 08	Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde (Walker et al., 2004).	36
Figure 09	Principaux sesquiterpènes isolés du genre <i>Salvia</i>	40
Figure 10	Principaux triterpènes et stéroïdes isolés du genre <i>Salvia</i> .	50
Figure 11	Principaux polyphénols et autres composés isolés du genre <i>Salvia</i> .	61
Chapitre III : Evaluation biologique de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>		
Figure 12	Principaux composés naturels (ou synthétisés) possédant des propriétés antioxydantes	84
Figure 13	Structure 2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazyl et 2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazine	86
Figure 14	Transformation du radical DPPH en DPPH	87
Figure 15	Oxydation de l'ABTS avec K ₂ S ₂ O ₈ et génération du radical cation ABTS.	88
Figure 16	Réduction du complexe chromogène de Cu ⁺² -Nc.	89
Figure 17	Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman	90

Chapitre IV : Partie Expérimentale		
I. Matériel utilisé		
Figure 18	<i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	95
Figure 19	<i>Salvia microphylla</i> .	95
Figure 20	Appareil Flash chromatographie.	97
II. Extraction et séparation des métabolites secondaires de la plante <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>		
Figure 21	Protocole d'extraction des feuilles de l'espèce <i>P. atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	101
Figure 22	Extraction des fruits et tiges de l'espèce <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	102
Figure 23	Schéma de séparation de l'extrait chloroforme des feuilles de <i>P. atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	107
Figure 24	Schéma de séparation et purification des produits issus de l'extrait méthanolique de l'espèce <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	111
III. Extraction et séparation des métabolites secondaires de la plante <i>Salvia microphylla</i>		
Figure 25	Extraction des parties aériennes de la plante <i>Salvia microphylla</i>	113
Figure 26	Profil chromatographique de fractions issues de l'extrait chloroformique	115
Figure 27	Schéma de séparation de l'extrait chloroformique de <i>Salvia microphylla</i>	117
Figure 28	Profil chromatographique de fractions issues de l'extrait acétate d'éthyle	118
Figure 29	Affrontement par un système de <i>n</i> -butanol et eau de la fraction F5.	119
Figure 30	Schéma de séparation de l'extrait acétate d'éthyle de <i>Salvia microphylla</i>	123
Chapitre V : Résultats et discussions		
I. Identification des produits isolés de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>.		
Figure 31	Spectre de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-28.	125
Figure 32	Spectre de RMN ¹ H étalé (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-28.	126

Figure 33	Spectre RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-28.	127
Figure 34	Spectre Dept (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-28.	128
Figure 35	Spectre RMN HSQC (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-28.	128
Figure 36	Spectre de HMBC étalé (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-28.	130
Figure 37	Structure finale du composé IA-28, l'acide masticadienonique	130
Figure 38	La structure d'un acide oléanonique.	133
Figure 39	Spectre de RMN ¹ H (acétone-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-27.	133
Figure 40	Spectre de RMN ¹ H étalé (acétone- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-27.	134
Figure 41	Spectre RMN HSQC (acétone- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-27.	134
Figure 42	Spectre RMN ¹³ C (acétone- d ₆ , 150 MHz) du composé IA-27.	135
Figure 43	Spectre DEPT (acétone- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-27.	136
Figure 44	Spectre de HMBC étalé –a-(acétone- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-27.	138
Figure 45	Spectre de HMBC étalé-b- (acétone- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-27	138
Figure 46	Spectre de HMBC étalé-c- (acétone- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-27.	139
Figure 47	Structure finale du composé IA-27, β-amyrénone (3-ceto- oléan-12-ène, oléan-12-ène-3-one)	139
Figure 48	Spectre de RMN ¹ H (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-29.	142
Figure 49	Spectre de RMN ¹ H étalé (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-29.	142
Figure 50	Spectre RMN ¹³ C (DMSO- d ₆ , 150 MHz) du composé IA-29.	143
Figure 51	Spectre DEPT (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-29.	143
Figure 52	Spectre HSQC (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-29.	144
Figure 53	Spectre HSQC étalé (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-29.	144
Figure 54	Spectre HMBC (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-29.	145
Figure 55	Structure finale du composé IA-29, Daucostérol.	145
Figure 56	Spectre de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-25.	148
Figure 57	Spectre RMN ¹ H étalé (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-25.	148
Figure 58	Structure finale du composé IA-25, β- <i>sitostérol</i> .	149
Figure 59	Spectre RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 150 MHz) du composé IA-25.	150

Figure 60	Spectre RMN ¹³ C étalé (CDCl ₃ ,150 MHz) du composé IA-25.	150
Figure 61	Spectre RMN HSQC (CDCl ₃ ,600 MHz) du composé IA-25.	151
Figure 62	Spectre de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-22.	152
Figure 63	Spectre de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 150 MHz) du composé IA-22.	152
Figure 64	Spectre de RMN ¹ H étalement (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-22.	153
Figure 65	Structure finale du composé IA-22, Stigmastérol et β -Sitostérol	153
Figure 66	Spectre RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 150 MHz) du composé IA-14.	154
Figure 67	Spectre DEPT (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	155
Figure 68	Spectre RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	156
Figure 69	Spectre HSQC (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	157
Figure 70	Spectre HMBC (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	157
Figure 71	Spectre HMBC étalement (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	158
Figure 72	Spectre COSY (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	159
Figure 73	Spectre RMN ¹ H-b (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	160
Figure 74	Spectre COSY-b (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	160
Figure 75	Spectre HMBC-b (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	161
Figure 76	Spectre HMBC étalement (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-14.	162
Figure 77	Structure finale du composé IA-14, loliolide	162
Figure 78	Spectre de masse TOF-MS en mode négatif du composé IA-7	163
Figure 79	Spectre RMN ¹ H ((acétone-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-7.	164
Figure 80	Spectre RMN ¹³ C (acétone-d ₆ , 150 MHz) du composé IA-7.	164
Figure 81	Spectre DEPT (acétone-d ₆ ,600 MHz) du composé IA-7.	165
Figure 82	Spectre RMN HSQC (acétone-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-7	165
Figure 83	Spectre RMN HMBC (acétone- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-7.	166
Figure 84	Spectre RMN HMBC étalé (acétone-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-7.	166
Figure 85	Structure finale du composé IA-7, 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle	167
II : Identification des produits isolés <i>Salvia microphylla</i>		
Figure 86	Série spectrale UV du composé IA-37.	169
Figure 87	Spectre de RMN ¹ H et son étalement (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du	170

	composé IA-37.	
Figure 88	Spectre de HSQC (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-37.	171
Figure 89	Spectre de RMN ¹³ C (DMSO-d ₆ , 150 MHz) du composé IA-37.	171
Figure 90	Spectre de HMBC-a (DMSO-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-37.	172
Figure 91	Spectre de HMBC-b (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-37.	172
Figure 92	Spectre de HMBC-c (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-37.	173
Figure 93	Spectre de HMBC-d (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-37	174
Figure 94	Spectre de RMN ¹³ C-b (DMSO-d ₆ , 150 MHz) du composé IA-37.	174
Figure 95	Structure finale du composé IA-37 : Scutelaréine-7,4'- dimethylether.	175
Figure 96	Série spectrale UV du composé IA-38.	177
Figure 97	Spectre de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-38.	178
Figure 98	Spectre de RMN ¹³ C (DMSO-d ₆ , 150 MHz) du composé IA-38.	179
Figure 99	Spectre DEPT (DMSO-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-38.	179
Figure 100	Spectre de HSQC (DMSO-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-38.	180
Figure 101	Spectre de HMBC (DMSO-d ₆ , 600 MHz) du composé IA-38.	182
Figure 102	Structure finale du composé IA-38, le Cirsiliol.	182
Figure 103	Spectre RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 600 MHz) du composé SML/6/8.	185
Figure 104	Spectre HSQC (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé SML/6/8.	185
Figure 105	La structure partielle du composé SML/6/8.	186
Figure 106	Spectre de HMBC (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé SML/6/8.	187
Figure 107	Structure finale du composé SML/6/8, L'oresbuchin A.	187
Figure 108	Spectre de RMN ¹ H (MeOD, 600 MHz) du composé SML/8/5.	189
Figure 109	Spectre HSQC (MeOD, 600 MHz) du composé SML/8/5.	190
Figure 110	Spectre HMBC (MeOD, 600 MHz) du composé SML/8/5.	191
Figure 111	Spectre RMN ¹³ C (MeOD, 150 MHz) du composé SML/8/5.	192
Figure 112	Structure finale du composé SML/8/5, l'acide rosmarinique	193
Figure 113	Spectre RMN ¹ H (MeOD, 600MHz) du composé SML/8/12	194
Figure 114	Structure finale du composé SML/8/12, Rosmarinate de méthyle.	195
Figure 115	Spectre de masse TOF-MS en mode négatif du composé IA-30.	196
Figure 116	Spectre de RMN ¹³ C (DMSO- d ₆ , 150 MHz) du composé IA-30.	197
Figure 117	Spectre DEPT (DMSO- d ₆ , 150 MHz) du composé IA-30.	197

Figure 118	Spectre RMN ¹ H (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-30.	198
Figure-119	Spectre HSQC (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-30.	199
Figure 120	Spectre HMBC ((DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-30.	200
Figure 121	Structure finale du composé IA-30, Hespéridine	200
Figure 122	Spectre de RMN ¹ H (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-39.	202
Figure 123	Spectre RMN ¹³ C (DMSO- d ₆ , 150 MHz) du composé IA-39.	203
Figure 124	Spectre DEPT (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-39.	203
Figure 125	Spectre COSY (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-39.	204
Figure 126	Spectre HSQC (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-39.	204
Figure 127	Spectre de HMBC (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-39	205
Figure 128	Spectre de HMBC-b (DMSO- d ₆ , 600 MHz) du composé IA-39.	205
Figure 129	Structure finale du composé IA-39, Daucostérol.	206
Figure 130	Profil HPLC des différents extraits de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	210
Figure 131	Histogrammes du profil HPLC des différents extraits de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	211
Figure 132	Piégeage du radical DPPH	213
Figure 133	Pouvoir réducteur du radical ABTS	215
Figure 134	L'activité antiproliférative des extraits EAPAF, EBPAF, EAPAT, EBPAT et EMPA contre les cellules HeLa (carcinome du col de l'utérus humain) à différentes concentrations (50, 100, 250 µg/ml).	221

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Chapitre I : Aperçu bibliographique sur le genre <i>Pistacia</i>.		
Tableau 01	La composition de la famille Anacardiaceae en genres et en espèces selon différents auteurs.	05
Tableau 02	Répartition géographique des principaux genres des Anacardiaceae d'après Mabberley (1987).	05
Tableau 03	Quelques métabolites secondaires isolés du genre <i>Pistacia</i> .	10
Tableau 04	Classement de <i>P. atlantica</i> dans la systématique	20
Tableau 05	Utilisation traditionnelle de différentes parties de pistachier de l'Atlas dans la ville de Béchar.	22
Tableau 06	Composés chimiques isolés de l'espèce <i>Pistacia atlantica</i> .	23
Chapitre II : Aperçu bibliographique sur le genre <i>Salvia</i>		
Tableau 07	Place de la famille Lamiaceae dans la systématique	34
Tableau 08	Les sesquiterpènes isolés du genre <i>Salvia</i>	45
Tableau 09	Les triterpènes et les stéroïdes isolés du genre <i>Salvia</i>	55
Tableau 10	Les polyphénols et autres composés isolés du genre <i>Salvia</i>	68
Tableau 11	Produits isolés du <i>Salvia microphylla</i>	77
Tableau 12	Produits isolés du <i>Salvia microphylla</i> (suite).	78
Tableau 13	Produits isolés du <i>Salvia microphylla</i> (suite).	79
Tableau 14	Produits isolés du <i>Salvia microphylla</i> (suite).	81
Tableau 15	Produits isolés du <i>Salvia microphylla</i> (suite).	81
Chapitre III :		
Evaluation biologique de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>.		
Tableau 16	Programme de la phase mobile A et B.	94
Chapitre IV : Partie Expérimentale		
II. Extraction et séparation des métabolites secondaires de la plante <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>.		
Tableau 17	Masses et rendements des extraits de <i>P. atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	103
Tableau 18	Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> subsp.	104

	<i>atlantica.</i>	
Tableau 19	Résultats de la séparation de la fraction F14 sur colonne de Sephadex.	106
Tableau 20	Résultats de séparation par Flash chromatographie de l'extrait méthanolique.	108
Tableau 21	Résultat de séparation de la fraction F4 sur colonne de Sephadex LH-20.	109
III. Extraction et séparation des métabolites secondaires de la plante		
<i>Salvia microphylla</i>		
Tableau 22	Masse et rendement des extraits de l'espèce <i>S. microphylla</i> .	112
Tableau 23	Résultats de la séparation par Flash chromatographie de l'extrait chloroformique.	114
Tableau 24	Séparation par Flash chromatographie de l'extrait acétate d'éthyle.	118
Tableau 25	Séparation par chromatographie sur colonne de Sephadex® LH20 de l'extrait butanolique.	120
Chapitre V : Résultats et discussion		
Chapitre I : Identification des produits isolés de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>.		
Tableau 26	Données du spectre RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) du composé IA-28.	125
Tableau 27	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du produit IA-28 dans CDCl ₃ .	131
Tableau 28	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du produit IA-27 dans l'acétone-d ₆ .	140
Tableau 29	Données du spectre RMN ¹³ C et RMN ¹ H du produit IA-29.	146
Tableau 30	Données du spectre RMN ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) du composé IA-25.	147
Tableau 31	Données des spectres RMN ¹ H et RMN ¹³ C du produit IA-14.	163
Tableau 32	Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C du composé IA-7	167
II : Identification des produits isolés de l'espèce <i>Salvia microphylla</i>		
Tableau 33	Données de la série spectrale UV du composé IA-37	168
Tableau 34	Données de la série spectrale RMN 1H du composé IA-37	170
Tableau 35	Données de la série spectrale UV du composé IA-38	176

Tableau 36	Données de la série spectrale RMN ¹ H et RMN ¹³ C du composé IA-38.	183
Tableau 37	Données des spectres RMN ¹ H et ¹³ C du produit SML/6/8.	188
Tableau 38	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et ¹³ C du composé SML/8/5 dans CD ₃ OD.	192
Tableau 39	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et ¹³ C (150 MHz) du Composé SML/8/12 dans MeOD.	194
Tableau 40	Déplacements chimiques en RMN ¹ H (600 MHz) et RMN ¹³ C (150 MHz) du Composé IA-30 dans DMSO-d ₆ .	201
Tableau 41	Données du spectre RMN ¹³ C et RMN ¹ H du produit IA-39.	206
Tableau 42	Evaluation quantitative des acides phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits de la plante <i>P. atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> exprimés en (mg phénolique/ kg plante).	208
Tableau 43	Inhibition du radical DPPH par les extraits de <i>P. atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	212
Tableau 44	Pouvoir d'inhibition de l'ABTS ⁺ par les extraits étudiés.	214
Tableau 45	Réduction du CUPRAC par les extraits étudiés.	215
Tableau 46	Pouvoir réducteur des extraits étudiés.	216
Tableau 47	Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	218
Tableau 48	Inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i> .	219

Liste des abréviations

Solvants et réactifs :

BAW: *n*-Butanol / Acide acétique / H₂O.

BuOH : *n*-Butanol

CD₃OD : méthanol deutéré

DMSO : diméthylsulfoxyde

MeOH : méthanol

Techniques de chromatographie :

CC : Chromatographie sur Colonne

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

Détermination structurale :

ax : axial

COSY : correlated spectroscopy

d : doublet

dd : doublet de doublets

dl : doublet large

dt : doublet de triplet

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfert.

eq : équatorial

ESI : Ionisation par électrospray

g: Gramme.

GC/MS : Analyse par Chromatographie gazeuse couplé à la Spectrométrie de Masse

Glc: Glucose

HMBC: Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity

HPLC-TOF/MS : La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse munie d'un analyseur à temps de vol.

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Connectivity

***J* (Hz) :** constante de couplage exprimée en Hz

kg: Kilogramme.

m : multiplet

mg: milligramme.

m/z : masse/charge d'un ion

q: quadruplet.

quint :quintuplet

Rha : Rhamnose

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RMN ¹H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton

RMN ¹³C : Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13

s : singulet

sl : singulet large

t : triplet

UV : ultra-violet

δ : déplacement chimique exprimé en ppm

δ_C : Déplacement chimique du carbone en ppm

δ_H : Déplacement chimique du proton en ppm

μg : microgramme

Activité biologique :

ABTS : 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)

BHA: Butylated hydroxyanisole

BHT: Butylated hydroxytoluene

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxidant Capacity

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

DPPH : 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl

EAPAF : Extrait acétate d'éthyle des feuilles de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

EAPAT : Extrait acétate d'éthyle des tiges de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

EBPAF : Extrait *n*-butanol des feuilles de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

EBPAT : Extrait *n*-butanol des tiges de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

EMPA : Extrait méthanolique de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

Sommaire

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Chapitre I : Aperçu bibliographique sur le genre *Pistacia*

I. Introduction sur la famille Anacardiaceae	4
Description botanique.....	4
Systématique de la famille Anacardiaceae	4
Répartition géographique	5
Intérêt de la famille Anacardiaceae	6
II. Présentation du genre <i>Pistacia</i>.....	6
Description botanique et répartition géographique... ..	6
Intérêts nutritionnel, médicaux et industriels du genre <i>Pistacia</i>	7
Principaux métabolites secondaires du genre <i>Pistacia</i>	9
Quelques activités biologiques reconnues du genre <i>Pistacia</i>	15
III. Présentation de l'espèce <i>Pistacia atlantica</i>	19
Description Botanique	19
Place dans la systématique.....	20
Répartition géographique.....	20
Usages traditionnels	21
Travaux antérieurs sur l'espèce <i>P. atlantica</i>	22
Principaux métabolites secondaires du <i>Pistacia atlantica</i>	22
Métabolites secondaires identifiés dans l'espèce <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>	27
Quelques activités biologiques reconnues de l'espèce <i>Pistacia atlantica</i>	29

Chapitre II : Aperçu bibliographique sur le genre *Salvia*

I. Généralités sur la famille des Lamiaceae.....	33
Description botanique	33
Position systématique de la famille Lamiaceae	33
Répartition géographique des Lamiacées.....	34
Intérêt de la famille Lamiaceae	35
Métabolites secondaires chez les Lamiaceae	35
II. Présentation du genre <i>Salvia</i>	35
Description botanique et répartition géographique... ..	35
Usage et importance des sauges... ..	36
Principaux métabolites secondaires du genre <i>Salvia</i>	38
Sesquiterpènes... ..	38
Triterpènes et stéroïdes	49
Les Polyphénols	59
Autres composés	61
Quelques activités biologiques reconnues du genre <i>Salvia</i>	74
III. Présentation de l'espèce <i>Salvia microphylla</i>.....	75
Description Botanique	75
Distribution... ..	76
Usages.....	76
Principaux métabolites secondaires de <i>Salvia microphylla</i>	76

Chapitre III : Evaluation biologique de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.

I.	Introduction... ..	83
II.	Activité antioxydante.....	83
	Les radicaux libres... ..	83
	Les antioxydants.....	84
	Le stress oxydant... ..	86
	Les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante	86
	Méthode du DPPH.....	86
	Piégeage de l'ABTS ⁺	87
	Méthode du CUPRAC.....	88
	Pouvoir réducteur.....	89

III. Activité Anticholinestérase.....	90
IV. Activité antiproliférative utilisant le système xCELLigence	91
Définition du système... ..	91
Conditions de la culture cellulaire	92
Préparation de la solution d'extrait.....	92
Préparation de la plaque à 96-puits... ..	92
V. Analyse qualitative et quantitative des extraits par HPLC-TOF/MS.....	93
Préparation des échantillons	93
Conditions opératoires	93

Chapitre IV : Partie Expérimentale

I. Matériel utilisé.....	95
Matériel végétal... ..	95
<i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>	95
<i>Salvia microphylla</i>	95
Matériel chromatographique.....	96
Chromatographie sur couche mince (CCM)	96
La chromatographie sur couche mince préparative	96
La chromatographie d'adsorption sur colonne... ..	96
Flash Chromatographie... ..	97
Chromatographie liquide haute performance (CLHP)... ..	97
Méthodes physico-chimiques... ..	98
Spectrométrie de masse	98
Spectroscopie de RMN.....	98
a) RMN monodimensionnelle	98
b) RMN bidimensionnelle	98
 II. Extraction et séparation des métabolites secondaires de l'espèce <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>.....	 99

Macération et extraction...	99
Séparation chromatographique des extraits de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>	103
Traitement de l'extrait Acétate d'éthyle...	103
Séparation chromatographique.....	103
Purification des fractions de l'extrait acétate d'éthyle.....	105
Traitement de l'extrait méthanolique.....	108
Séparation chromatographique.....	108
Purification des fractions de l'extrait méthanolique.....	109
III. Extraction et séparation des métabolites secondaires de l'espèce <i>Salvia microphylla</i>	112
Macération et extraction.....	112
Etude des extraits	114
Traitement de l'extrait chloroformique	114
Séparation chromatographique.....	114
II.2.1.2. Purification des fractions de l'extrait chloroformique.....	115
Traitement de l'extrait acétate d'éthyle	117
Séparation chromatographique.....	117
Purification des fractions de l'extrait acétate d'éthyle.....	118

Chapitre V : Résultats et discussion

I. Identification des produits isolés de <i>Pistacia atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>	124
Elucidation structurale du composé IA-28.....	124
Elucidation structurale du composé IA-27.....	132
Elucidation structurale du composé IA-29.....	141
Elucidation structurale du composé IA-25.....	147
Elucidation structurale du composé IA-22.....	151
Elucidation structurale du composé IA-14.....	154
Elucidation structurale du composé IA-7.....	163
II. Identification des produits isolés de <i>Salvia microphylla</i>.....	167

Elucidation structurale du composé IA-37...	167
Elucidation structurale du composé IA-38...	175
Elucidation structurale du composé SML.6.8.....	183
Elucidation structurale du composé SML.8.5.....	188
Elucidation structurale du composé SML.8.12.....	193
Elucidation structurale du composé IA-30... ..	195
Elucidation structurale du composé IA-39... ..	202
III. Identification des acides phénoliques et des flavonoïdes par HPLC-TOF/MS	208
IV. Evaluation des activités biologiques de l'espèce <i>P. atlantica</i> subsp. <i>atlantica</i>	212
Evaluation de l'activité antioxydante.....	212
Activité anti-radicalaire DPPH	212
IV.1.2. Essai de décoloration du radical cation ABTS	214
La réduction cuprique (CUPRAC).....	215
Pouvoir réducteur.....	216
Activité anti-cholinestérase	218
Acétylcholinestérase.....	218
Butyrylcholinestérase	218
III.3. L'évaluation de l'activité antiproliférative	219
Références bibliographiques.....	224
Conclusion générale	
Résumé	



Introduction générale

Introduction générale

Depuis les temps les plus reculés, l'utilisation des plantes fut le principal recours de l'homme pour se nourrir et lutter contre les maladies (Botineau., 2011) et aujourd'hui encore de nombreux médicaments sont issus de produits naturels ou de leurs dérivés (Kumar et al., 2012). Au cours des dernières années, et malgré les progrès des sciences pharmaceutiques et le grand nombre des produits synthétiques, la diminution de l'efficacité des drogues synthétiques, les contre-indications croissantes ainsi que les nombreux effets secondaires qu'elles induisent ont fait croître à nouveau l'intérêt pour la recherche de nouvelles molécules naturelles plus efficaces et moins nocives (Braithwaite et al., 2014 ; Materska et al., 2014).

En Algérie, le traitement par les plantes médicinales fait partie intégrante de la culture populaire (Nouara et al., 2016). De par sa situation géographique et sa diversité climatique, l'Algérie est l'un des pays arabes les plus riches, elle dispose d'une flore singulièrement riche et variée avec 4450 espèces végétales dont 6.5% sont endémiques et appartiennent à plusieurs familles botaniques (Nouara et al., 2016 ; Dobignard et Chatelain., 2010).

Cette grande biodiversité floristique a contribué au développement de la recherche scientifique en Algérie, dans plusieurs domaines tels que : l'ethnomédecine, la pharmacopée traditionnelle et la valorisation des substances naturelles. A cet effet, deux espèces ont attiré notre attention, particulièrement du fait de leur utilisation ethnopharmacologique.

L'espèce *Salvia microphylla* appartenant à la famille des Lamiacées ou Labiacées, une famille répandue dans le monde entier, mais principalement en région méditerranéenne, caractérisée par sa richesse et sa biodiversité (Piozzi et al., 2011). Cette région offre le meilleur exemple de la grande diversité de cette famille. C'est une vaste famille, très typique du monde végétal, et qui possède une importance économique due à la production des huiles essentielles (Guignard et al., 2001), telles que : celles des fleurs de la menthe (*Mentha*), de la lavande (*Lavandula*) et du patchouli (*Pogostemon*). C'est une famille de plantes aromatiques utilisées en parfumerie, en pharmacie et dans les préparations culinaires en condiment telles que : le basilic (*Ocimum basilicum*), le romarin (*Rosmarinus officinalis*), le thym (*Thymus vulgaris*), et la sauge (*Salvia officinalis*) (Wu et al., 2012 ; Ben Farhat et al., 2009)

C'est pour cette raison que notre choix a porté sur l'espèce *Salvia microphylla*, qui est étudiée pour la première fois en Algérie dans le cadre de ce travail.

Notre deuxième choix a concerné la famille des Anacardiaceae. L'importance de cette famille est considérable. Elle fournit à l'alimentation des produits agricoles qui sont les noix de cajou, les mangues, les poivres roses et les pistaches (Pell., 2004). Certaines espèces d'Anacardiaceae sont utilisées depuis longtemps pour leurs propriétés médicinales (antifongique, anti-inflammatoire, antipaludique, antimicrobien, antitumorigène, antioxydante, antivirale, hypoglycémiant (Pourahmad et al., 2009 ; Peksel., 2010)) comme : le genre *Rhus*, *Pistacia*.

Les espèces de cette famille et notamment celles du genre *Pistacia* ont fait l'objet de nombreuses recherches phytochimiques et pharmacologiques (Saitta et al., 2009 ; Abdelwahed et al., 2007 ; Roitman et al., 2011 ; Kawashty et al., 2000 ; Hou et al., 2000), Parmi ces espèces, *Pistacia atlantica* est l'une des espèces sauvages les plus répandues de ce genre, c'est une plante médicinale à propriété analgésique, elle est impliquée dans le traitement de la dyspepsie, de l'ulcère peptique, du diabète et de l'infection des yeux (Benamar et al., 2018). De plus, d'autres études antérieures prouvent qu'elle a aussi des effets antipyrétiques, antiviraux, anti insectes (Orhan et al., 2008), anti athérogéniques (Dedoussis et al., 2004), anticancéreuse (Balan et al. 2007), activité hépato-protective (Triantafyllou et al., 2007), antiinflammatoires, antitumorales et antiasthmatique (Bozorgi et al., 2013). Cette espèce est classée en 4 sous-espèces (Zohary., 1952), dont nous nous sommes intéressés à *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* qui est une plante endémique du grand Maghreb, elle est connue par sa vaste utilisation en médecine traditionnelle contre divers types de maladies (Peksel et al., 2013), pour ses propriétés antioxydantes (Hatamnia et al., 2014; Rezaie et al., 2015), mais aussi pour ses propriétés antidiabétiques (Kasabri et al., 2011), antimicrobiennes (Hosseini et al., 2013), anti-inflammatoires et cytotoxiques (Sifi et al., 2015, Minaiyan et al., 2015). C'est pour cette raison que notre choix a porté sur l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* qui pousse en Algérie.

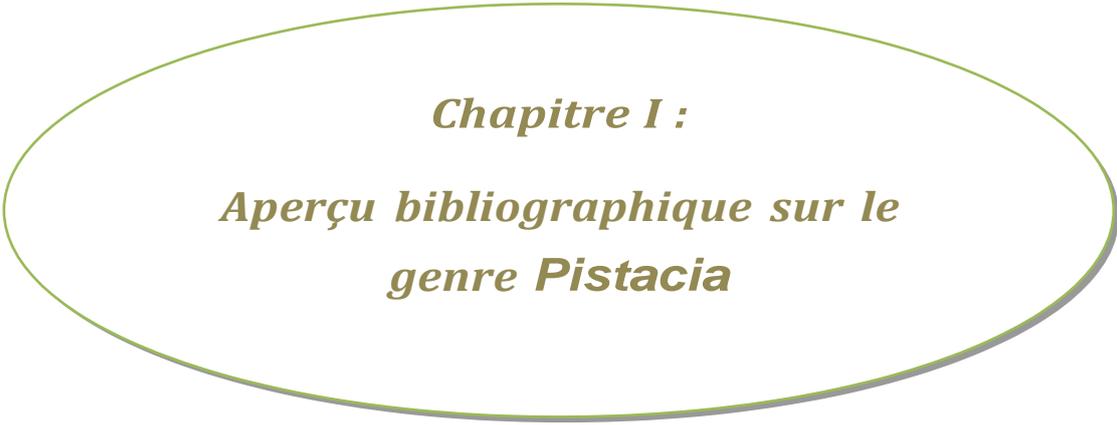
Nous étudierons dans le cadre de ce travail les propriétés phytochimiques et pharmacologiques de deux espèces citées plus haut : *Salvia microphylla* et *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*, en nous concentrant particulièrement sur la validation des propriétés ethnopharmacologiques qui leur ont été attribuées et l'isolation des métabolites secondaires responsables de ces activités.

Nos travaux reportés dans ce manuscrit sont répartis en cinq chapitres :

- ✓ Le premier chapitre de cette partie est un aperçu bibliographique sur le genre *Pistacia*, sa distribution botanique, les métabolites secondaires qui caractérisent ce genre et les différentes activités biologiques pour lesquelles ils ont été testés ainsi qu'une présentation de l'espèce *Pistacia atlantica*. On abordera également les principales propriétés biologiques reportées pour cette espèce.

- ✓ Le deuxième chapitre renferme une synthèse bibliographique consacrée à la famille des Lamiaceae et au genre *Salvia*, nous aborderons également l'utilisation de ce genre en médecine traditionnelle ainsi que les différentes activités biologiques et les métabolites secondaires rencontrés dans ce genre plus particulièrement chez l'espèce *Salvia microphylla*.
- ✓ Le troisième chapitre comprend les protocoles utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante, anticholinestérase et antiproliférative de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp.*atlantica*. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour l'activité antioxydante : la méthode de DPPH, ABTS, CUPRAC et du pouvoir réducteur.
- ✓ Le quatrième chapitre est consacré aux travaux expérimentaux de type phytochimique, il résume les différentes étapes de l'extraction et de la purification des molécules isolées des deux espèces *Pistacia atlantica* subsp.*atlantica* et *Salvia microphylla* par l'utilisation des diverses techniques chromatographiques (CC, CCM, CLHP).
- ✓ Le dernier chapitre inclut les résultats obtenus suivis de discussions, en particulier l'élucidation structurale des composés isolés qui a été effectuée en utilisant diverses expériences de résonance magnétique nucléaire (^1H , ^{13}C . DEPT, COSY, HSQC, HMBC), ainsi que l'utilisation de la spectrométrie de masse à haute résolution avec ionisation par électrospray (electrospray) ainsi que les résultats des tests d'activités antioxydante, anticholinestérase et antiproliférative.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale et la liste des références bibliographiques.



Chapitre I :
Aperçu bibliographique sur le
genre Pistacia

I. Introduction sur la famille Anacardiaceae

Description botanique

Les plantes de la famille Anacardiaceae sont des arbres, des arbustes (exceptionnellement des plantes grimpantes), à canaux résinifères schizogènes, à feuilles composées pennées ou trifoliolées, généralement alternes, dépourvues de glandes ponctiformes. Leurs inflorescences sont en panicules (Gausson et al., 1982).

Les Fleurs de cette famille sont actinomorphes, hétérochlamydées, parfois apétales, 5-mères, (hétérosexées) et/ou unisexuées, généralement hypogynes, diplostémones ou haplostémones (à filets souvent concrescents, à la base), apocarpes ou syncarpes. Disque intrastaminal. Gynécée isomère ou réduit à 3-1 carpelle, mais généralement 1-loculaire par avortement, à placentation axile, chaque carpelle étant 1-ovules apotropes 2 (-1)-tegminés (Gausson et al., 1982).

Le fruit est généralement une drupe souvent à mésocarpe résineux. Graine exalbuminée ou presque, à embryon courbe. Pollen divers, souvent 2-3-colporé, ou avec 3-8 ouvertures circulaires ou non. Cloisons des vaisseaux à perforation unique (sauf quelques cas) (Gausson et al., 1982).

Systématique de la famille Anacardiaceae

La famille Anacardiaceae a été proposée pour la première fois par Lindley en 1830, les Anacardiaceae appartiennent à l'ordre des Sapindales, à la sous-classe des Rosidae ou Eudicots moyennes dialypétales (plus de 90 000 espèces connues), à la classe des Magnoliopsida ou Eudicots, au sous-embranchement des Magnoliophyta ou Angiospermes et à l'embranchement des Spermaphytes (Guignard et Dupont, 2004 ; Pell, 2004).

Les espèces de cette famille sont des arbres, des arbustes ou des lianes à feuilles alternes, composées et imparipennées (Arbonnier, 2002) que l'on rencontre surtout dans les régions tropicales à subtropicales et dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord.

La composition de cette famille en genres et espèces selon différents auteurs est représentée dans le tableau ci-dessous

Tableau 01 : La composition de la famille des Anacardiaceae en genres et en espèces selon différents auteurs.

Auteurs	Composition en genre et en espèce
Kokwaro (1986) et Guyot (1992)	60 genres et 600 espèces
Mabberley (1987)	73 genres et 850 espèces, le genre le plus grand en nombre d'espèce est <i>Rhus</i> avec 100 espèces
Pell (2004)	82 genres et plus de 700 espèces.

Tableau 02 : Répartition géographique des principaux genres des Anacardiaceae d'après Mabberley (1987).

	Genre	Nombre d'espèces	Origine (région)
1	<i>Anacardium</i>	8	Amérique tropicale
2	<i>Haematostaphis</i>	2	Afrique tropicale – Ouest
3	<i>Lannea</i>	40	Régions tropicales, Indomalaisie
4	<i>Mangifera</i>	35	Régions tropicales, Indoma Laisie
5	<i>Ozoroa</i>	40	Afrique tropicale
6	<i>Pistacia</i>	9	Région méditerranéenne
7	<i>Pseudospondias</i>	2	Afrique tropicale: Ouest et Centre
8	<i>Rhus</i> (incluant <i>Toxicodendron</i>)	200	Régions tempérées.
9	<i>Schinus</i>	27	Amérique tropicale
10	<i>Sclerocarya</i>	4	Afrique tropicale australe
11	<i>Sorindeia</i>	50	Afrique tropicale et Madagas car
12	<i>Spondias</i>	10	Indomalaisie (au sud-est d'Asie), Amérique tropicale.

Répartition géographique

La famille des Anacardiaceae est largement répartie dans la région méditerranéenne, bien représentée en régions tropicale à subtropicale s'étendant jusqu'aux zones tempérées de l'hémisphère Nord et l'Est de l'Asie et en Amérique (Kokwaro et al., 1986 ; Mabberley et al., 1987).



Figure 01 : Répartition géographique de la famille d'Anacardiaceae (www.plantes-botanique.org/famille_anacardiaceae).

Intérêt de la famille des Anacardiaceae

Les plantes de la famille des Anacardiaceae produisent des résines ou des vernis précieux (laque de Chine, etc.), plusieurs sont riches en tannin (*Rhus*), d'autres sont comestibles (fruits de *Mangifera indica* et de *Spondias* et les graines grillées d'*Anacardium occidentale* et de *Pistacia vera*), quelques espèces sont ornementales (*Cotinus*, *Rhus* et *Schinus*). Il est bien connu que les mangues et noix cajou, bien que comestibles, peuvent cependant être à l'origine de réactions allergiques (Walter et al., 2002 et Coombes, 1992).

II. Présentation du genre *Pistacia*

Description botanique et répartition géographique

Le genre *Pistacia* appartient à la famille Anacardiaceae qui est largement distribuée, il englobe les plantes alimentaires, médicinales et ornementales. D'origine asiatique ou méditerranéenne, le genre *Pistacia* se compose de 11 espèces, arbustes ou arbres à écorce résineuse, qui sont distribués dans la région méditerranéenne, l'Asie de l'est, le sud des États-Unis et le Mexique (Yi et al. 2008 ; Bozorgi et al. 2013 ; Xie et al. 2014). Le genre entier est dioïque, où les fleurs mâles et femelles sont sur des arbres indépendants (Sola-Campoy et al., 2015), les feuilles persistantes ou caduques qui sont caractéristiques comme des arbres xérophytiques et qui poussent jusqu'à 8 à 10 m de hauteur (Mozaffarian et al., 2005 ; Kole et al., 2011). Les fleurs d'une couleur plus ou moins marron, sont groupées en racèmes. Les fruits sont des drupes (Bailey., 1949 ; Mitchel., 1986). De par sa diécie et ses fleurs nues, *Pistacia* est un genre

particulier des Anacardiaceae pouvant constituer une famille à part : les Pistaciacées (Gausсен et al., 1982)

Les espèces les plus importantes dans le monde du genre *Pistacia* sont : *Pistacia atlantica*, *Pistacia chinensis*, *Pistacia lentiscus* L, *Pistacia terebinthus* L, *Pistacia vera* L, *Pistacia integerrima*, *Pistacia palestina* et *Pistacia khinjuk* (Quezel et Santa, 1962).

Quatre espèces appartenant au genre *Pistacia* sont présentes en Algérie : *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica*. (Ait yousef, 2006).

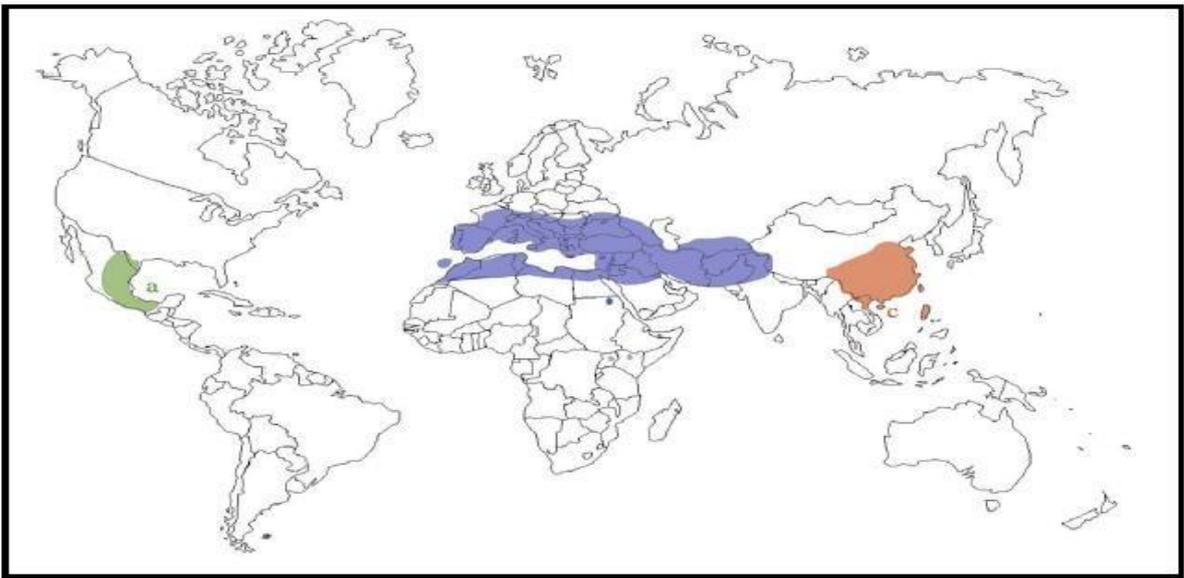


Figure 02 : Répartition géographique du genre *Pistacia* (Xie et al, 2014).

Intérêts nutritionnels, médicaux et industriels du genre *Pistacia*

Les espèces *Pistacia* sont connues pour leurs effets biologiques importants : anti-athérogène, hypoglycémie, anti-inflammatoire, antipyrétique, antifongique, antimicrobien, antiviral, anti-insecticide et anticancéreux. L'utilisation généralisée d'espèces de *Pistacia* en médecine provient peut-être de sa forte teneur en antioxydants (Peksel, 2008).

Duru et al. (2003) rapportent que les espèces de *Pistacia* sont utilisées, généralement, dans le traitement de l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, les infections de la gorge, les calculs rénaux, la jaunisse, l'asthme et les maux d'estomac.

Sur le plan industriel, la résine est utilisée comme un rafraîchissant dans les boissons alcoolisées et non alcoolisées, dans certains mélanges de cosmétiques et de parfumerie, et dans la production de dentifrice (Baytop, 1999). Les pistaches sont utilisées principalement fraîches, Les usages

traités comprennent les bonbons, les produits de boulangerie et les glaces (Al-Saghir et al., 2012).

Les espèces de *Pistacia* sont utilisées dans l'industrie alimentaire, par exemple, la consommation de noix de pistache (*P. Vera*) comme additif alimentaire (der Marderosian et al., 2010), les fruits du *Pistachier térébinthe* et de *Pistachia khinjuk* comme grignotines ou dans la fabrication de boissons comme le café (Durmaz et al., 2011 ; Gogus et al., 2011 ; Baytop 1984) et la composition anthocyanique des fruits de *P. lentiscus* comme colorant alimentaire (Longo et al., 2007).

De plus, les usages alimentaires sont également signalés et les huiles essentielles de *Pistacia* sont utilisées dans les industries cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires (Ballero et al., 2001 ; Atzei., 2003; Loi et al., 2004; Lancioni et al., 2007; Maxia et al., 2008; Aissi et al., 2016).

On peut citer quelques espèces de *Pistacia* qui ont été étudiées pour leurs effets pharmacologiques :

- ***Pistacia lentiscus***

Depuis l'antiquité, les vertus thérapeutiques des produits issus de cet arbuste font partie de la pharmacopée traditionnelle de plusieurs pays du pourtour méditerranéen (Riddle, 2000 ; Sharifi et al., 2009). Selon les pharmacopées traditionnelles de ces régions, pratiquement toutes les parties de la plante peuvent être utilisées à des fins médicinales (Boulebdia et al., 2009)

La partie aérienne a été traditionnellement utilisée comme stimulant, pour ses propriétés diurétiques, et pour traiter l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma, les maux d'estomac, les calculs rénaux et l'ictère [Bentley et al., 1980 ; Palevitch et al., 2000]. La partie résineuse de cette plante connue sous le nom de résine de mastic et de plante appelée l'arbre de mastic (majeedi., 2005 ; Predrag et al., 2005), elle a une grande valeur médicinale et a déjà été employée dans les médecines traditionnelles comme les systèmes de Unani et d'Ayurveda (Palevitch et al., 2000). Il a également été rapporté un effet anticancéreux pour cette résine (Duke et al., 1983) et une activité antiulcère (Al-Said et al., 1986).

- ***Pistacia integerrima***

P. integerrima est une plante médicinale importante utilisée comme remède pour les traitements de différents maux tels que l'inflammation, les troubles gastro-intestinaux, la toux, l'asthme, la fièvre, les vomissements et la diarrhée. Elle est utilisée également pour purifier le sang et pour

son effet expectorant (Pant et al., 2010, Upadhye et al., 2010 ; Uddin et al., 2011 ; Ahmad et al., 2008). Les Galles de *P. integerrima* sont également utilisées pour le traitement de l'hépatite et d'autres troubles hépatiques (Ahmad et al., 2010). *P. integerrima* est également utilisée contre le stress oxydatif et a le potentiel de contrer l'hyper uricémie (Chopra et al., 1982). Les Galles de *P. integerrima* sont utilisées pour leurs effets : astringent, expectorant et en médecine traditionnelle indienne pour le traitement de l'asthme, la phtisie, les troubles des voies respiratoires, la dysenterie, la bronchite chronique, les vomissements chez les enfants, les maladies de la peau, le psoriasis et la fièvre. Elle est également utilisée comme apéritif (Ansari et al., 1993). En outre, ses Galles en combinaison avec d'autres médicaments à base de plantes sont également utilisées pour le traitement contre les morsures de serpent et piqûres de scorpion (Anonymous., 1998).

- ***Pistacia chinensis***

Les Galles dures et creuses de *Pistacia chinensis* connues localement sous le nom de « kakadshringi » ont été utilisés comme anti-inflammatoire, anti-asthmatique, anti-diarrhéique, antipyrétique, analgésique, nettoyeurs du sang, émollient de la peau, digestif, et comme agent antiémétique. Les effets antimicrobiens des extraits de Galles sur le bacille, le *Pseudomonas* et les champignons filamenteux ont été prouvés (Gerchman et al., 2011).

- ***Pistacia weinmannifolia***

P. weinmannifolia est une plante largement répandue dans la province du Yunnan en Chine. Elle révèle de présence d'activités anti-inflammatoire, antimutagène, anticancérogène et antioxydante. Les feuilles de cette plante sont utilisées quotidiennement comme boisson aux herbes et contre la dysenterie, l'entérite, la grippe, les saignements post-traumatiques, pour soulager des maux de tête et contre le cancer des poumons (Zhao et al., 2005).

Principaux métabolites secondaires du genre *Pistacia*

De nombreuses études phytochimiques sur les espèces du genre *Pistacia* ont révélé la richesse de ces dernières en métabolites secondaires tels que les monoterpènes (Monaco et al., 1982; Ansari et al., 1994a,b), les triterpénoïdes (Tabacik-wlotzka et al., 1967; Monaco et al., 1974; Caputo et al., 1979; Ansari et al., 1994a,b), les stérols (Caputo and Mangoni, 1970; Hiroi et al., 1966), les

acides dihydromalvaliques (Vickery, 1981) et les flavonoïdes (Hiroi et al., 1966; Kalidhar and Sharma, 1985), comme le montre le tableau 03.

Tableau 03 : quelques métabolites secondaires isolés du genre *Pistacia*.

Composés isolés	Partie	Espèce
Acide Gallique, Catechine, Epicatechine, Naringenine, Eriodictyol, Daidzeine, Genisteine, Quercetine, Kaempferol, Apigenine, Luteoline, Quercetin 3-orutinoside, Naringenine 7- <i>O</i> -neohesperidoside, Eriodictyol 7- <i>O</i> -glucoside, Genistein 7- <i>O</i> -glucoside (Tomaino et al., 2010).	Graine et peau	<i>P. vera</i>
3-(8-Pentadecenyl)- phenol (Saitta et al., 2009)	Noyau	
Trans-resveratrol (Tokus et al., 2005 ; Grippi et al., 2008 ; Ballistreri et al., 2009) Cis-resveratrol (Tokus et al., 2005)		
Cyanidin 3- <i>O</i> -glucoside, Cyanidin 3-galactoside (Tomaino et al., 2010; Bellomo et al., 2007)		
Cyanidin 3-galactoside, Cyanidin 3- <i>O</i> -glucoside (Wu et al., 2005)	Écrous	
Masticadienonate, 3- <i>O</i> -Acétyl-3-epi-masticadienolate, Isomasticadienonate, Masticadienolate, 3- <i>O</i> -Acétyl-3-epi-isomasticadienolate, 3-Epi-masticadienolate 24,25-Dihydromasticadienonate, 24,25-Dihydro-3-epimasticadienolate, Oléanonate Tirucallol, Dipterocarpol, Dammarenediol, 26-Hydroxy-tirucallone, Amirone, Isomasticadienedrol Aldéhyde oléanonique, Masticadienediol, Tirucallone, Aldéhyde oléanolique, Aldéhyde masticadienonique (Romualdo et al., 1977).	Résine	<i>P. vera</i>
Limonene Terpinolene, β -Ocimene (Roitman et al., 2011)	Feuilles, fruits Feuilles	

Camphene, Carvacrol, Abietadiene, Abietatriene (Alma et al., 2004)	Résine	
α -Pinene (Tsokou et al., 2007) (Alma et al., 2004 ; Ramezani et al., 2004)	Feuilles, fruits non mûrs Résine	
3,4,5-tri- <i>O</i> -galloyl acide quinique, monogalloylglucose, Catechine (Romani et al., 2002)	Feuilles	<i>P. lentiscus</i>
Acide gallique (Romani et al., 2002) (Abdelwahed et al., 2007)	Feuilles Fruits	
Acide digallique (Bhourri et al., 2010)	Fruits	
Kaemferol-3-glucoside, Quercetin-3-glucoside, quercetin 3-rutinoside, myricetin 3-glucoside, vicenin-2 (Kawashty et al., 2000)	Parties aériennes, feuilles et tiges	<i>P. lentiscus</i>
Cyanidin 3- <i>O</i> -glucoside, Delphinidin3- <i>O</i> -glucoside (Longo et al., 2007) (Romani et al., 2002)	Baies Feuilles	
3,5-di- <i>O</i> -galloyl quinic acid, 5- <i>O</i> -galloyl quinic acid, Myricetine glucuronide, Quercetine- 3- <i>O</i> - Rhamnoside(Romani et al., 2002)	Feuilles	<i>P. lentiscus</i>
Cyanidine -3- <i>O</i> -arabinoside (Longo et al., 2007)	Baies	
1,2,3,4,6-Pentagalloyl glucose (Abdelwahed et al., 2007)	Fruits	

Lupeol, β -Amyrine, Dammaradienone, Tirucallol, acidesOleanolique, Morolique, Masticadienolique, Masticadienonique (Assimopoulou et al., 2005).	Résine	<i>P. lentiscus</i>
Longifolene (Dob et al., 2006)	Parties aériennes	
β -Caryophyllene (Congiu et al., 2002) (Fernandez et al., 2000)	Feuilles Galles	
Germacrene-D (Roitman et al., 2011) Camphene (Alma et al., 2004)	Feuilles Résine	
β -Pinene (Duru et al., 2003)	Résine	
Trans-pinocarveol, Linalool(Paraschos et al., 2011).	Mastic water	
α -terpineol, Verbenone (Paraschos et al., 2011). (Koutsoudaki et al., 2005)	Mastic water Mastic oil	
Myrcene (Congiu et al., 2002 ; Castola et al., 2000) (Tzakou et al., 2007)	Feuilles, Fruits Bourgeons foliaires	
Sabinene (Roitman et al., 2011)	Feuilles, Fruits	
Terpinene-4-ol (Zrira et al., 2003) (Duru et al., 2003 ; Benyoussef et al., 2005)	Parties aériennes Feuilles	
Limonene (Roitman et al., 2011) (Roitman et al., 2011 ; Castola et al., 2000)	Fruit Feuilles	

(Couladis et al., 2003)	Fruits non mûrs et mûrs	
α -Pinene (Mecherara-Idjeri et al., 2008 part I)(Mecherara-Idjeri et al., 2008 part II) (Zrira et al., 2003 ;Fernandez et al., 2000 ; Gardeli et al., 2008)	Fruits	
β -Ocimene (Flamini et al., 2004) (Roitman et al., 2011)	Fruits non mûrs et mûrs Feuilles	
α -Pinene (Ozcan et al., 2009) (Usai et al., 2006).	Fruits Parties aériennes	
6'-Hydroxyhypolaetine 3'-methyl ether, Apigénine, Luteoline, Luteoline 7-O-glucoside, Quercétine, Quercétine 3-methyl ether 7-O-glucoside, Isoscutellareine 8-O-glucoside (topçu et al., 2007)	Fruits	<i>P. terebinthus</i>
Apigénine 7-glucoside (kavak et al., 2010)	Feuilles	
Lupeol, β -Amyrine, Dammaradiénone, Tirucallol, acides Oleanolique , Morolique, Masticadiénolique , Masticadiénonique (Assimopoulou et al., 2005)	Résine	
β -caryophyllène (Roitman et al., 2011)	Feuilles	
Germacrene-D (Couladis et al., 2003) <i>p</i> -Cymène (Couladis et al., 2003)	Fleurs Jeunes pousses	<i>P. terebinthus</i>
Terpinène-4-ol (Duru et al., 2003)	Feuilles	
Myricétine-3-rutinoside, Myricétine-3-galactoside, Myricétine-3-glucoside, Quercétine-3-glucoside, Quercétine-3-rutinoside (Kawashty et al., 2000)	Parties aériennes	<i>P. khinjuk</i>

Spathulenol (Taran et al., 2010)	Feuilles	
Dihydroquercetine, taxifoline, distyline, fistine, Kaemferol-3-glucoside, Quercetine 3- <i>O</i> -glucoside, Vicenine 2 (Kawashty et al., 2000)	Parties aériennes, Feuilles et tiges	<i>P. chinensis</i>
Acide 4-hydroxy-5-(2-oxo-1-pyrrolidin-1-yl) -benzoïque (Kawashty et al., 2000; Hiroi et al., 1966; Liu et al., 2008).	Bourgeons, bois et branches	
Kaemferol, Quercetine, Rutine, Kaemferol-3- <i>O</i> -(4"- <i>O</i> -galloyl)- α -L-arabinopyranoside, Quercetine-3- <i>O</i> -(6"-syringyl)- β -D-glucopyranoside, Kaemferol-3- <i>O</i> - β -glucopyranoside, Quercetine-3- <i>O</i> - β -glucopyranoside, Apigenine (Ahmad et al., 2008, 2010, 2011 ;Rauf et al., 2014)	Feuilles	<i>P.integerrima</i>
Acide Pisticialanstenoiqne, β -sitosterol, Hydroxydecanylarchidate, acide Pistagremique (Ahmad et al, 2010).	Galles	<i>P.integerrima</i>
Integrises A et B (Ullah et al., 2013)	Parties aériennes	
14'-phenoxytetradecanyl 3,5-dihydroxy-benzoate Acide 4'-Phenoxy- <i>n</i> -butyl-1'-(3-oxy-5-hydroxy) benzoïque 3'-(1,3-dihydroxy-5-phenoxy-1', 5'-dimethoxybenzene β -sitosterol (Ahmad et al, 2011).	Galles	
Acide 3- <i>O</i> -galloylquinique, Methyl gallate, Ethyl gallate, Penta- <i>O</i> -galloyl- β -D glucopyranoside, Myricetine 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside, Myricetine-3 <i>O</i> -(3"-Ogalloyl)- α -L-	Feuilles	<i>P.weinnannifolia</i>

rhaamnopyranoside (Minami et al., 2006)		
Pistafoline A, Pistafoline B, Catechin, Gallocatechine, Acide gallique (Hou et al., 2000)	Feuilles	
Ester ethylique de l'acide gallique (Dominguez et al., 1974).	Parties aériennes	<i>P. mexicana</i>
Oleoanolate, Masticadienonate, Isomasticadienonate (Caputo et al., 1979)	Galles	<i>P. palaestina</i>

Sur la base de l'importance ethnobotanique et la composition chimique du genre *Pistacia*, Les espèces de ce genre ont été sujettes à plusieurs études scientifiques mettant en avant leurs propriétés et leurs intérêts biologiques. Nous rapportons dans notre étude bibliographique certaines activités du genre *Pistacia* :

Quelques activités biologiques reconnues du genre *Pistacia*

- **Activité antioxydante**

Dans une étude menée par Kavak et al., 2010, l'extrait des feuilles de *P. terebinthus* a montré une capacité antioxydante de près de 12 fois supérieure à celle de la BHA et de l'acide ascorbique.

Différentes parties et constituants de *P. lentiscus* ont montré des propriétés de piégeage des radicaux libres *in vitro* (Gardeli et al., 2008 ; Bhourri et al., 2010 ; Abdelwahed et al., 2007, Barra et al., 2007 ; Atmani et al., 2009 ; Sakagami et al., 2009). Les résines de *Pistacia lentiscus* var. *chia* et *P. terebinthus* var. *chia* ont été efficaces dans la protection du LDL contre l'oxydation (Andrikopoulos et al., 2003).

D'après Goli et al., 2005, Le fruit de *P. Vera* a révélé une activité antioxydante significative semblable à l'antioxydant synthétique.

- **Activité antimutagène**

L'huile essentielle et les différents extraits des feuilles de *P. lentiscus* ont montré un effet inhibiteur significatif de la mutagénicité *in vitro* (Douissa et al., 2005 ; Hayder et al., 2005). L'acide gallique, l'acide digallique et le 1, 2, 3, 4, 6-pentalloylglucose, les polyphénols isolés des fruits de *P. lentiscus*, ont induit une activité inhibitrice contre la mutagénicité et la génotoxicité dans les essais *in vitro* (Bhourri et al., 2010 ; Abdelwahed et al., 2007)

- **Activités antimicrobiennes et antivirales**

Les espèces de *Pistacia* ont démontré une activité antibactérienne significative contre diverses bactéries Gram positif et Gram négatif.

L'activité antimicrobienne de la résine de *P. lentiscus* et la gomme de *P. Vera*, contre *Helicobacter pylori* ont été enregistrées (Ramezani et al., 2004 ; Paraschos t al., 2011).

Une étude de Koutsoudaki et al., 2005 a indiqué que l'activité antibactérienne de l'huile de gomme de *P. lentiscus* peut être attribuée à la combinaison de plusieurs composants plutôt qu'à un composé particulier. La verbenone, le (R)-terpineol et le Linalool montrent une forte activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, ce qui est comparable à celui de l'huile de mastic elle-même.

La gomme de *P. lentiscus* a révélé une activité antibactérienne sélective contre *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella melaninogenicus* et une activité antiplaque sur les dents en inhibant la croissance bactérienne de la salive (Sakagami et al., 2009).

Une activité antifongique significative a été observée à partir de l'huile essentielle des feuilles et de la gomme de *P. lentiscus*, de différents extraits de feuilles de *P. khinjuk* et de l'huile essentielle de la gomme de *P. Vera* (Ramezani et al., 2004 ; Koutsoudaki et al., 2005 ; Benhammou et al., 2008 ; Taran et al., 2010).

L'évaluation de l'effet de l'huile essentielle de gomme de *P. Vera* sur la croissance de 13 bactéries et de 3 levures a démontré un effet inhibiteur sur chacun d'eux, sauf *Bacillus cereus*,

Pseudomonas aeruginosa, et la pneumonie *Klebsiella* et plus efficace yeasticide que nystatine. Le carvacrol s'est révélé être le constituant le plus efficace (Alma et al., 2004 ; Ramezani et al., 2004).

Des extraits lipophiliques de différentes parties de *P. Vera* ont montré une légère activité antibactérienne et un effet antifongique notable contre *C. albicans* et *C. parapsilosis*. Les noyaux et les extraits de graines ont montré une activité antivirale significative (Ozcelik et al., 2005).

L'extrait de la branche de *P. Vera* a eu une activité inhibitrice significative contre *Leishmania donovani* et l'extrait de feuille a inhibé *Plasmodium falciparum* sans cytotoxicité des cellules de mammifères (Orhan et al., 2006).

- **Activité anti-inflammatoire et antinociceptive**

Les galles de *P. terebinthus* ont montré une activité anti-inflammatoire dans différents modèles *in vivo* de l'inflammation aiguë et chronique (Giner-Larza et al., 2000).

L'acide masticadienonique, l'acide masticadiénolique et l'acide morolique, trois triterpènes isolés de *P. terebinthus*, semblent être responsables de son activité anti-inflammatoire (Giner-Larza et al., 2002). De plus, l'acide oléanonique (29) des Galles de *P. terebinthus* a réduit la production de leucotriène B4 à partir de leucocytes péritonéaux de rat et a montré une activité antioedémateuse chez les souris (Giner-Larza et al., 2001).

L'oléorésine et l'extrait de feuilles de *P. Vera* ont montré une activité anti-inflammatoire et antinociceptive significative (Hosseinzadeh et al., 2011).

L'extrait de la résine de *P. lentiscus* var. *Chia* et de son phytostérol isolé tirucalol (31) ont montré une activité anti-inflammatoire sur les cellules endothéliales de l'aorte humaine et ont eu une activité inhibitrice significative sur l'expression des molécules d'adhérence chez les humains stimulés par le TNF- α cellules endothéliales aortiques (Loizou et al., 2009). Il a été proposé que l'effet anti-inflammatoire de la gomme de *P. lentiscus* var. *Chia* peut être relié à l'inhibition de la protéine kinase C, ce qui conduit à une diminution de la production de superoxyde et de H₂O₂ par la NADPH oxydase (Triantafyllou et al., 2011).

- **Effets sur les troubles gastro-intestinaux**

Une des utilisations traditionnelles les plus importantes de la gomme des espèces de *Pistacia* concerne les désordres gastro-intestinaux. En outre, il existe plusieurs études scientifiques qui confirment cette propriété (Rahimi et al., 2010 ; Rahimi et al., 2009 ; Farzaei et al., 2013).

La résine de *P. lentiscus* a significativement réduit l'intensité des lésions de la muqueuse gastrique induites par la ligature pylorique, l'aspirine, la phénylbutazone, la réserpine et la contrainte à froid par le biais de ses activités antisécrétrices et cytoprotectrices (Al-Said et al., 1986).

La supplémentation avec l'huile de *P. lentiscus* dans le modèle expérimental de la colite a retardé l'apparition et la progression de la colite aiguë et a conduit à diminuer la perte de poids causée par la maladie (Kimand et al., 2009). Une formule polyherbacée qui contient de la gomme de *P. lentiscus* a provoqué une diminution significative des lésions coloniques et des marqueurs biochimiques liés à la pathophysiologie de l'IBS dans le modèle de la colite du rat (Rahimi et al., 2013).

L'administration de la résine de *P. lentiscus* aux patients atteints de la maladie de Crohn active légère à modérée (CD) pendant 4 semaines a provoqué une réduction significative de l'indice d'activité de CD et des médiateurs inflammatoires plasmatiques sans aucun effet secondaire. Elle a agi également comme un immunomodulateur entraînant une réduction significative du facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) et un facteur inhibiteur de migration de macrophages amélioré chez ces patients (Kaliora et al., 2007).

- **Activité antitumorale :**

L'huile essentielle de *P. lentiscus* a démontré une inhibition significative de la croissance tumorale chez les souris immunocompétentes sans signes de toxicité, liées à l'induction de l'apoptose, à la néovascularisation réduite et à l'inhibition de l'expression de la chimiokine (Magkouta et al., 2009). En outre, il a eu un effet antiprolifératif et proapoptotique sur les cellules leucémiques humaines et a inhibé la libération du facteur de croissance endothéliale vasculaire de ces cellules (Loutrari et al., 2006). Malgré de nombreux rapports sur les activités antitumorales de *P. lentiscus*, une étude *in vivo* a montré qu'une forte dose de gomme de *P. lentiscus* favorise le développement des lésions préneoplasiques dans le foie de rat avec augmentation du poids relatif du foie. Ceci a conduit à la conclusion que les effets anticarcinogènes du mastic pourraient être plus efficace à des doses relativement faibles (Doi et al., 2009).

Dans une étude récente, les données actuelles sur les activités anticancéreuses de la gomme, de l'huile et des extraits de *P. lentiscus* et de son principal constituant ont été examinées de manière exhaustive, en accordant une attention particulière aux mécanismes probables de l'effet anticancéreux (Giaginis et al., 2011).

P. Vera oléorésine a démontré un effet cytotoxique modéré contre la lignée cellulaire du cancer du sein, la lignée cellulaire du carcinome hépatocellulaire, la lignée des cellules cancéreuses du col de l'utérus et les mélanocytes normaux (Almehdar et al., 2012).

III. Présentation de l'espèce *Pistacia atlantica*

Description botanique

Le pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.), fait partie de l'ordre des Sapindales et de la famille des Anacardiaceae (Judd et al., 2002 ; Lieutaghi., 2004 ; Yaaqobi et al., 2009). C'est l'espèce végétale la plus caractéristique des régions pré-Saharienne de l'Algérie (Yousfi et al., 2002).

Le nom commun de cette espèce est Elbetoum ou Btouma dans la région arabe et Igth en berbère, se réfère aux montagnes de l'Atlas où l'espèce grandit (Sheibani.,1996).



Figure 03 : Image de pistachier de l'Atlas : Arbuste. (www.marocatlantis.org)

C'est un arbre qui peut atteindre 10 à 20 mètres de hauteur, à feuillage caduque (Monjause.,1980), les fruits sont des drupes comestibles de la taille des pois, légèrement ovales, aplatis, et très riche en huile d'énergie dense, en avril, ils sont de couleur jaune, qui change graduellement du rouge au bleu et quand ils atteignent la maturité en septembre ils deviennent vert foncé (Yaaqobi et al., 2009) et en raison de la prédominance de cette couleur, ils sont apellés "El Khodiri" par les populations locales (Benhssaini et al., 2004).

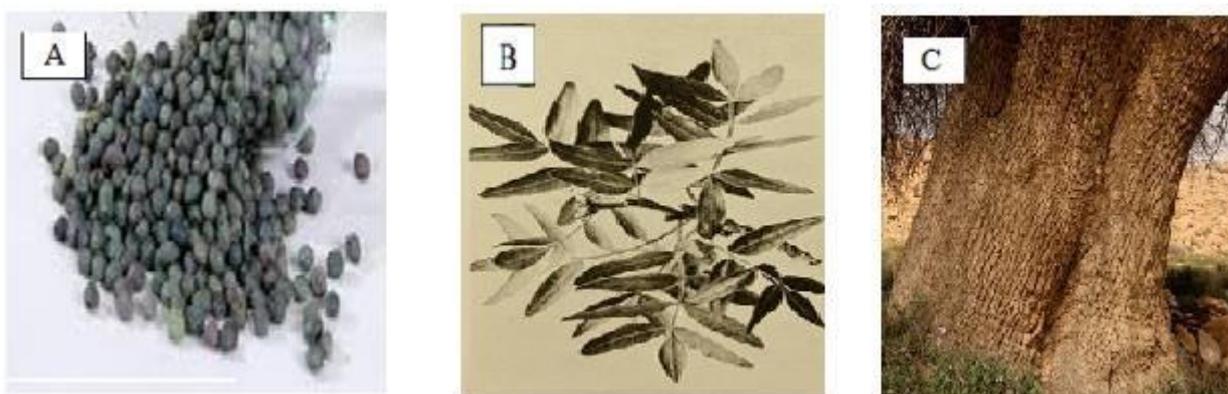


Figure 04 (A, B, C) : Représentent les fruits [A], les feuilles [B] et l'écorce [C] de *P. atlantica*. (www.alamyimages.fr)

Le pistachier de l'atlas peut être classé en 4 sous-espèces, à savoir la subsp. *mutica*, subsp. *calibula* qui se trouve au Pakistan, Afghanistan et au sud de l'Iran, subsp. *kurdica* qui se répartit dans la région de Zagros (Ouest de l'Iran), au sud de la Turquie, en Syrie et en Palestine et enfin subsp. *atlantica* native du grand Maghreb (Belhadj et al, 2008 et Yaaqobi et al., 2009).

Place dans la systématique

Le classement de *P. atlantica* dans la systématique est comme dans le tableau 04.

Règne	<i>Plantae</i>
Division	Angiosperms
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Térébinthales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>P. atlantica</i> Desf.

Répartition géographique

La pistache est native de l'Asie centrale. En Turquie depuis (7000 ans avant JC.), elle a été introduite en Italie au premier siècle (BC), et par la suite, sa culture s'est propagée à d'autres pays méditerranéens et aux Etats-Unis en 1854 (Moghtader., 2010 ; Khelil et al., 1980). En outre, elle couvre une vaste zone englobant le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, la Syrie, la Jordanie, la Palestine, Israël, l'Iran et l'Afghanistan (Kaska et al., 1996).

P. atlantica pousse à l'état sauvage, en particulier dans les régions semi arides, arides, voire même sahariennes (Belhadj., 2003 ; Saadoun., 2005 ; Choaki., 2006).

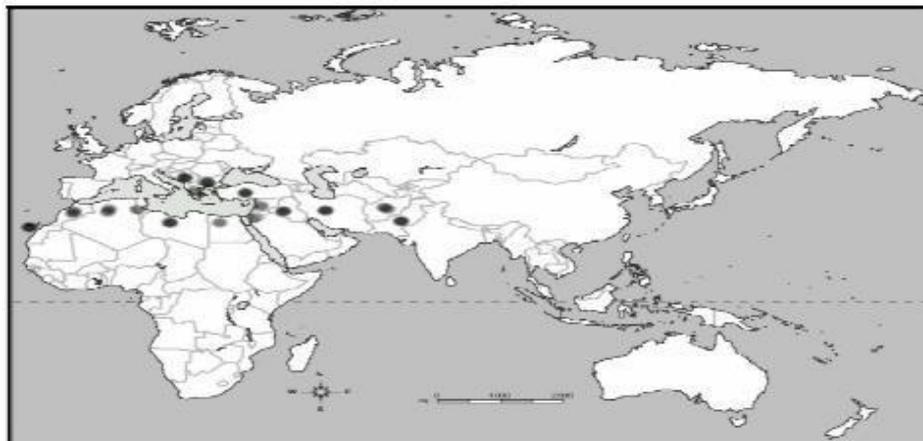


Figure 05 : Répartition géographique de l'espèce *P. atlantica* Desf. (Zohary., 1952).

Usages traditionnels

Pistacia atlantica est une plante médicinale par excellence ; Ceci est prouvé par les résultats obtenus sur son utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle et pharmaceutique (Hamdan., 2004). Les différentes parties de la plante sont utilisées dans le traitement des maladies buccales, l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, les infections de la gorge, les calculs rénaux et l'asthme. Il est considéré comme un astringent, anti-inflammatoire, antipyrétique, antibactérien et antiviral (Benhammou et al., 2007 ; Benhammou et al., 2008). La plante est également utilisée dans la préparation de certains produits cosmétiques tels que le célèbre savon (Daoudi et al., 2013). La résine est utilisée dans l'industrie alimentaire pour préparer la gomme à mâcher, et est largement utilisé en dentisterie (Delazar et al., 2004). La résine et les fruits sont utilisés traditionnellement pour le traitement des troubles du foie, des reins, du cœur et du système respiratoire (Aghili., 2009).

Dans la région de Béchar (sud-ouest de l'Algérie), il est notable selon Abdenbi et al., (2016), que *P. atlantica* subsp. *atlantica* est considérée comme une source de plusieurs remèdes contre de multiples maux (tableau 05).

Tableau 05 : Utilisation traditionnelle de différentes parties de pistachier de l'Atlas dans la ville de Béchar.

Les parties de la plante	Utilisation ethnobotanique	Méthodes de préparation
	Usages	
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fruits ayant une capacité antioxydante à usage interne par voie orale, recommandé pour traiter : Estomac Problèmes cardiovasculaires Maladies rénales 	Infusion et décoction
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les feuilles habituellement pour usage interne, oralement pour traiter certaines maladies selon le cas : Infections bactériennes Douleur dentaire 	Peut se prendre soit comme thé, décoction, ou même en infusion ou mastication pure ou mélangée avec du miel.
Galles	Les Galles de la pistache sont utilisées comme anti-diarrhéiques.	Comme poudre
Huiles	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pour usage interne, oral : soins dentaires ▪ Pour l'usage externe, appliquez sur la poitrine contre la toux et la bronchite, la guérison de plaies cutanées et soins capillaires. 	Les extraits ou les huiles liquides de fruits
Écorce du tronc	Recommandé en cas de maux d'estomac et de douleurs à l'estomac.	Par décoction

Travaux antérieurs sur l'espèce *Pistacia atlantica*

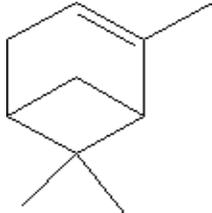
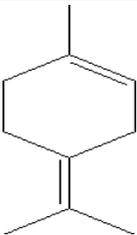
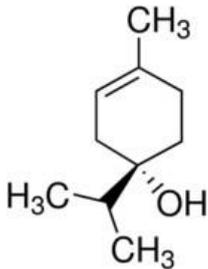
Principaux métabolites secondaires identifiés dans l'espèce *Pistacia atlantica*

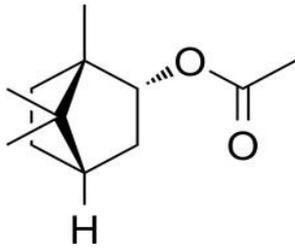
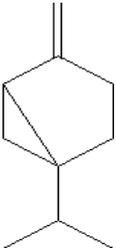
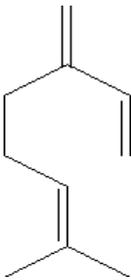
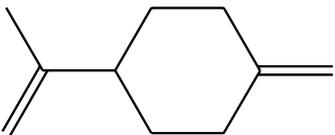
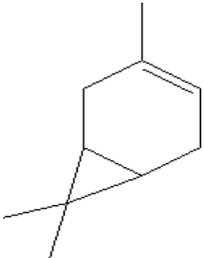
D'après Kawashty et al., 2000, l'extrait hydroéthanolique de l'espèce *Pistacia atlantica* de l'Égypte contient des flavonoïdes.

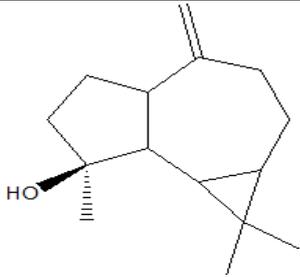
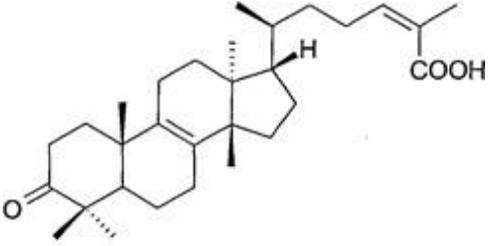
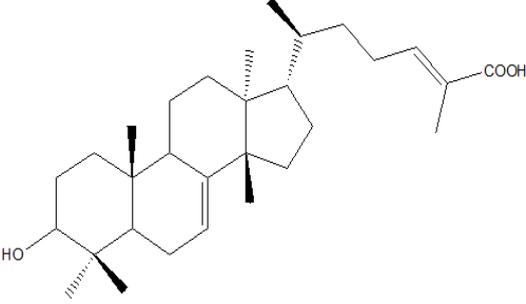
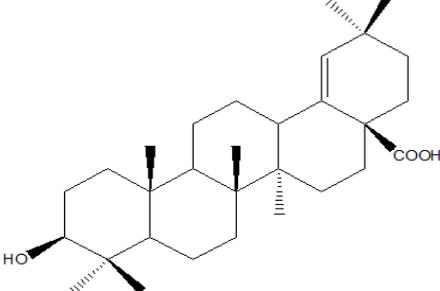
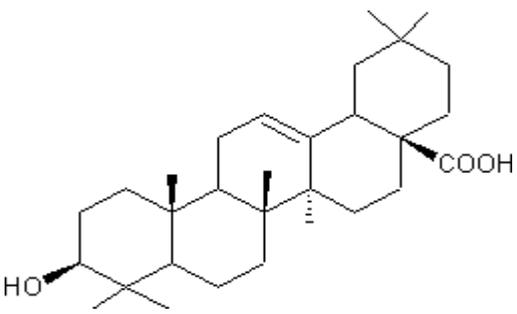
L'extrait hydrométhanolique des fruits l'espèce *Pistacia atlantica* subsp *kurdica* contient de la lutéoline. L'extrait méthanolique des fruits contient : l'acide gallique, la rutine, l'acide caféique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide *p*-coumarinique, l'acide syringique, l'acide férulique et l'acide sinapique (Hatamnia et al., 2014).

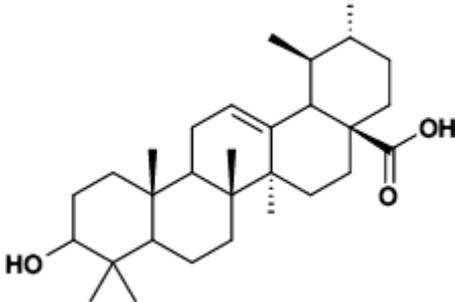
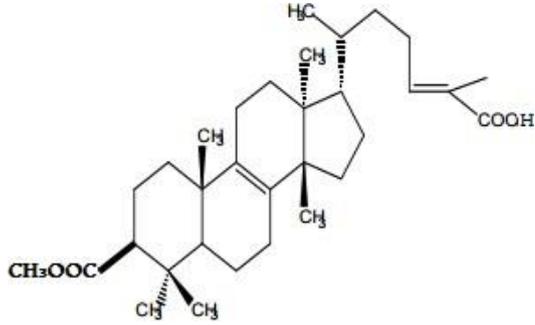
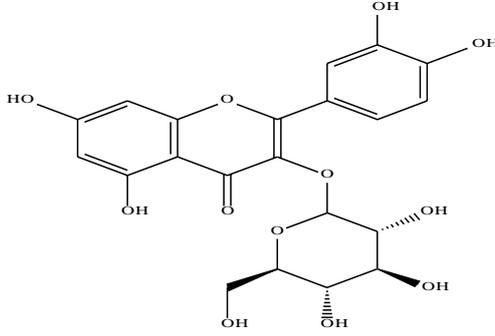
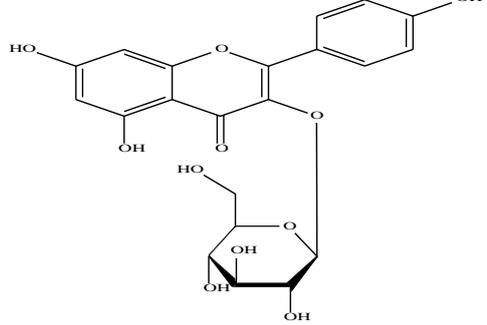
D'autres métabolites identifiés dans différents extraits et parties végétaives sont reportés dans le tableau 06.

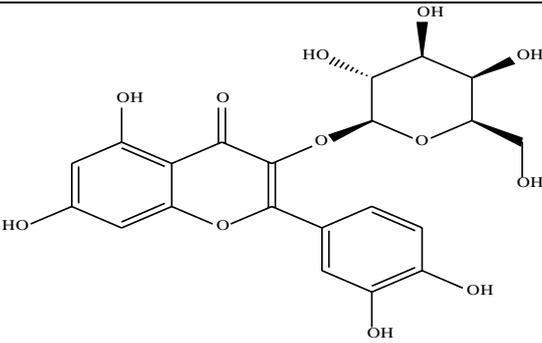
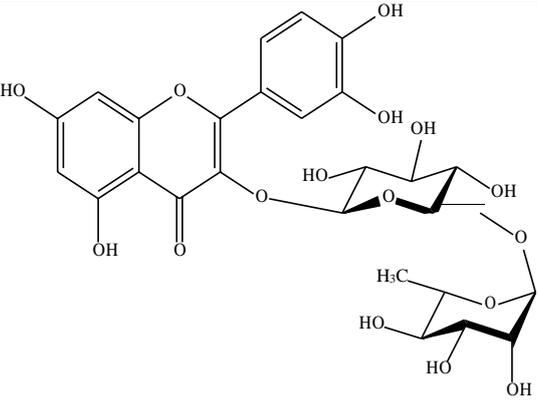
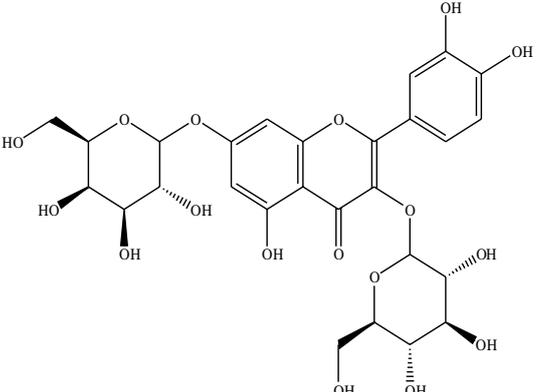
Tableau 06 : Composés chimiques isolés de l'espèce *Pistacia atlantica*.

Composés isolés	Structure	Partie	Référence
α -pinene	<p>Monoterpènes, sesquiterpènes et huile essentielle</p> 	<p>Feuilles, fruits, galles</p> <p>Résine</p>	<p>Mecherara-Idjeri et al., 2008</p> <p>Delazar et al., 2004 ; Barrero et al., 2005</p>
Terpinolene		Feuilles	Roitman et al., 2011
Terpinene-4-ol		<p>Fruits non mûrs</p> <p>Feuilles</p>	<p>Tzakou et al., 2007</p> <p>Barrero et al., 2005 ; Tzakou et al., 2007</p>

Acétate de bornyle		Fruits	Barrero et al., 2005
Sabinene		Fruits Fruits non mûrs	Roitman et al., 2011 Tzakou et al., 2007
Myrcene		Fruits non mûrs Feuilles	Tzakou et al., 2007
p-Mentha-1 (7),8 diène		Feuilles Bourgeons foliaires	Tzakou et al., 2007
Δ^3 -carene		Galles non mûres	Gourine et al., 2010

<p>Spathulenol</p>		<p>Feuilles</p>	<p>Ait Said et al., 2011</p>
<p>Acide Masticadienonique</p>	<p style="text-align: center;">Triterpènes</p> 		
<p>Acide Masticadienolique</p>		<p>Résine</p>	<p>Sharifi et al., 2012</p>
<p>Acide Morolique</p>			
<p>Acide Oleanolique</p>			

<p>Acide Ursolique</p>			
<p>Acide 3-O-acetoxy-3-epi-isomasticadienolique</p>		<p>Résine</p>	<p>Sharifi et al., 2012</p>
<p>Quercetin 3-glucoside</p>	<p style="text-align: center;">Composés phénoliques</p> 	<p>Parties aériennes</p>	<p>Kawashty et al., 2000</p>
<p>Kaemferol 3-glucoside</p>			

<p>Quercetine3-galactoside</p>	 <p>The structure shows a quercetin aglycone core with a galactose molecule attached to the 3-position of the flavone ring. The galactose is in its pyranose form with specific stereochemistry indicated by wedges and dashes.</p>	<p>Parties aériennes</p>	<p>Kawashty et al., 2000</p>
<p>Quercetine3-rutinoside</p>	 <p>The structure shows a quercetin aglycone core with a rutinoside molecule attached to the 3-position. The rutinoside consists of a glucose molecule linked to a rhamnose molecule, both in their pyranose forms.</p>		
<p>Quercetine3-glucoside-7-galactoside</p>	 <p>The structure shows a quercetin aglycone core with a glucose molecule attached to the 3-position and a galactose molecule attached to the 7-position of the flavone ring.</p>		

Métabolites secondaires identifiés dans l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

D'après Toul et al., 2017, l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait *n*-butanol des feuilles et racines de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* contiennent dix composés phénoliques : acide tannique, rutine, acide gallique, acide vanillique, acide ρ -coumarique, catéchine, acide syringique, acide ferulique, quercétine and naringenine.

Les feuilles de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* de l'Algérie a conduit à l'identification de douze dérivés de l'acide gallique qui sont : glucogalline, acide gallique, acide galloylquinique, acide gentisique, acide galloylshikimique, methylgallate, acide quinique, acide digalloylquinique,

acide digallique, trigalloylglucose, tetragalloylglucose et l'acide tetragalloylquinique (Ben Ahmed et al., 2016).

En outre, Khallouki et al. (2017) ont identifié vingt sept composés phénoliques à partir de des extraits méthanoliques des fruits de l'espèce algérienne : *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* : acide gallique, galloyl quinate, galloyl glucoside digalloyl quinate-1, digalloyl quinate-2, methyl gallate, digalloyl glucoside, trigalloyl glucoside, tetragalloyl glucoside-1, tetragalloyl glucoside-2, pentagalloylglucose, 2-O-galloyl-quercetin-3-O-glucose, quercetin-3-O-rhamnogalactoside, quercetin-3-O-galactoside, luteolin-4-O-glucose, 2-O-galloyl-luteolin-4-O-glucose, quercetin-3-O-glucuronide, kaempferol-3-O-glucose, eriodictyol, luteoline, apigénine, acide ellagique, acide ellagique diglucose, acide ellagique glucose, acide méthylellagique glucose.

Les extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol des parties des feuilles de l'espèce *P. atlantica* subsp. *atlantica* récolté de la région d'Ain Benkhelil de la wilaya de Naama (Algérie) a conduit à l'identification de 14 dérivés de l'acide gallique nommé : acide quinique, acide galloylquinique, acide digalloylquinique, methyl gallate, acide digallique, acide trigalloylquinique, acide trigallique, methyl digallate, rutine, myricetin-galloylhexoside et quercitrin-O-gallate (Benamar et al., 2018).

Adams et al. (2009) ont isolé un nouveau flavonoïde nommé : flavone 3-Methoxycarpachromene à partir des feuilles de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* de la région Tiflet du Maroc.

La lutéoline, l'acide gallique et le méthyl ester de l'acide gallique ont été isolé de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* récolté de la région Tadjrouna dans la wilaya de Laghouat (Algérie). En plus d'un nouveau antioxydant naturel nommé le methyl 5-(3,4-dihydroxyphenyl)-3-hydroxypenta-2,4-dienoate, hispolone et hispidine Yousfi et al., (2009).

La figure suivante regroupe les produits isolés *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* du Maroc et celui de l'Algérie (figure 6).

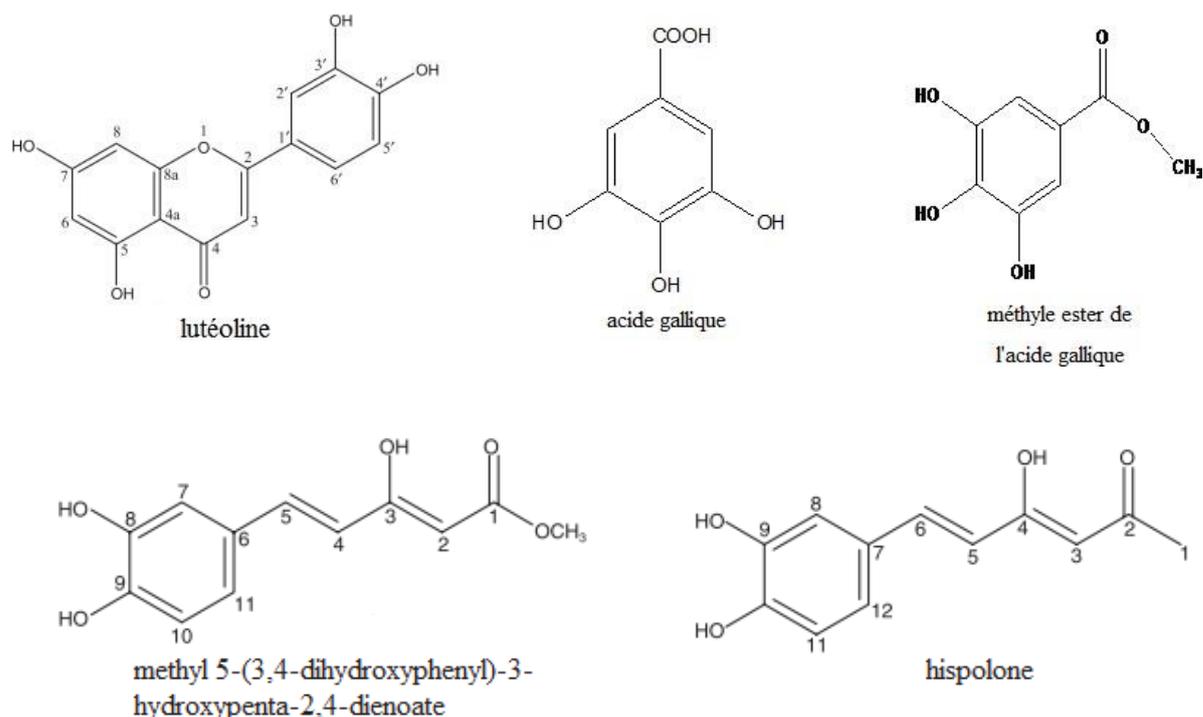


Figure 06 : Les produits isolés *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* du Maroc et celui de l'Algérie

Quelques activités biologiques reconnues de l'espèce *Pistacia atlantica*

- **Activité antioxydante**

Les feuilles et les fruits de *P. atlantica* ont montré une activité antioxydante semblable ou significativement plus élevée que celle des standards utilisés dans différents dosages *in vitro* (Peksel et al., 2008 ; Farhoosh et al., 2009 ; Farhoosh et al., 2011).

Les extraits éthanolique et méthanolique des parties feuilles, tiges et racines, des sous espèces du *P. atlantica* ont présenté une activité antioxydante (Toul et al., 2017; Rezaie et al., 2015)

- **Activité antidiabétique**

L'extrait aqueux de feuilles de *P. atlantica* a montré un effet inhibiteur significatif sur l' α -amylase et l' α -glucosidase *in vitro* (Hamdan et al., 2004 ; Kasabri et al., 2011). Il a montré une activité antihyperglycémique aiguë post-prandiale significative comparable à la metformine et au glipizide chez les rats nourris avec de l'amidon. Il a également amélioré l'intolérance au glucose (Kasabri et al., 2011). Cependant, une autre étude sur cet extrait n'a pas montré d'activité

hypoglycémique significative lorsqu'elle a été testée dans des cas d'hyperglycémie induite par la streptozotocine chez les rats (Hamdan et al., 2004).

Plus récemment, Ben Ahmed et al. (2018) a évalué la capacité des feuilles de *P. atlantica* Desf. A inhiber les enzymes liées au diabète type 2. Les valeurs moyennes d'IC₅₀ contre l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase étaient de 48.0 et 14.0 µg/ml, respectivement. L'activité antidiabétique des extraits testés était plus puissante que celle du standard utilisé, l'acarbose.

Behmanesh et al. (2020) ont étudié les effets de l'extrait de fruit de *P. atlantica* administré par voie orale, sur la glycémie et les changements histomorphologiques dans les ovaires de rats atteints de diabète sucré induit par la streptozotocine (STZ). L'extrait de fruits de *P. atlantica* pourrait être utilisé dans le traitement de rats atteints de diabète induit par STZ, afin de réduire les complications ovariennes.

- **Activité anticholinestérase**

Des extraits aqueux des feuilles de *P. atlantica* a montré une forte inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) (Benamar et al., 2010) ; en outre, les extraits de méthanol et d'acétate d'éthyle des feuilles de *P. atlantica* ont montré une activité inhibitrice relativement faible de l'AChE (Peksel et al., 2010).

Dans les travaux menés par Labed-Zouad et al. (2017), l'huile essentielle de feuilles et de fleurs de *P. atlantica* Desf., présentait une bonne activité anticholinestérase avec une IC₅₀ de 18,5 et 20,5 0.5g/ml, respectivement.

L'activité anticholinestérase in vitro d'extraits aqueux des feuilles de *P. atlantica* Desf. A également été déterminé par Peksel et al. (2013). L'extrait aqueux a inhibé efficacement l'activité de l'acétylcholinestérase avec une valeur IC₅₀ de 58,0 g/ml, tandis que le pourcentage d'inhibition était de 5,6% à une concentration de 0,1 mg/ml.

- **Activité antitumorale**

L'extrait de fruit de *P. atlantica* subsp. *Kurdica* a montré une inhibition de la croissance dans les cellules de carcinome du côlon humain semblables à la doxorubicine (Rezaei et al., 2012).

- **Activité antimicrobienne**

Comme l'a rapporté Adams et al., 2009, les feuilles et les brindilles de *P. atlantica* et de sa substance active 3-méthoxycarpachromène ont montré une activité antiprotozoale contre le *Plasmodium falciparum*.

Les huiles essentielles de fruits de *P. atlantica* Desf. d'Algérie ont été extrait par deux méthodes à savoir la méthode traditionnelle et soxhlet (Abdenbi et al., 2016). Ils ont été testés pour leur activité antimicrobienne contre divers organismes Gram positif (*S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*) et Gram négatif (*E. coli*, *P. aeruginosa* et *Acenitobacter boumanii*). L'huile extraite par la méthode soxhlet présentait une forte activité antibactérienne contre *E. coli*, *Acenitobacter boumanii* et *P. aeruginosa*, tandis que l'activité antibactérienne de l'huile extraite par la méthode traditionnelle n'a été appréciée que contre deux bactéries, *E. coli* et *Acenitobacter boumanii*.

Les huiles essentielles de différentes parties de *P. atlantica* Desf. ont été examinés par Benabdallah et al. (2017) pour leur activité contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Ces huiles essentielles ont montré des résultats très prometteurs sur les pathogènes humains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*). Les huiles essentielles de *P. atlantica* Desf. des feuilles, collectées à Ouled Djellel (Algérie), ont été examinées pour leur activité antimicrobienne contre deux souches bactériennes d'origine clinique, à savoir *S. aureus* et *C. albicans*. Les huiles essentielles ont montré des zones d'inhibition de 8 à 12 mm contre *S. aureus* et de 12 à 14 mm contre *C. albicans* avec des concentrations minimales inhibitrices de 52 et 257 mg/ml, respectivement.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de la résine de *P. atlantica* Desf., collectée dans trois localités de l'ouest et du sud-ouest de l'Algérie, a été testée *in vitro* sur des isolats cliniques de sept espèces de bactéries (*E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Xanthomonas maltophilia*, *Enterococcus faecalis*, et *S. aureus*) (Benabderrahmane et al., 2009). Les huiles essentielles présentaient une forte activité antibactérienne contre *S. aureus* et *Enterococcus faecalis* avec une CMI inférieure à 10 mg/ml. *Candida albicans* a montré une résistance à toutes les huiles volatiles testées.

Conclusion

L'étude bibliographique de la famille des Anacardiaceae et du genre *Pistacia* a montré la richesse des espèces de cette famille en métabolites secondaires notamment les composés triterpéniques comme représentants majoritaires, les stérols et les flavonoïdes. Chacune de ces familles possèdent une très large gamme d'activités biologiques

Quant à l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*, si elle a fait l'objet de plusieurs études biologiques, à part quelques études effectuées sur les huiles essentielles, peu de travaux ont été effectués sur cette espèce du point de vue phytochimique en Algérie. C'est pour cette raison que nous l'avons choisie pour effectuer une investigation phytochimique et une évaluation biologique approfondie, ces travaux seront développés dans les chapitres suivants.



Chapitre II :
Aperçu bibliographique sur le
genre Salvia

I. Généralités sur la famille des Lamiaceae

Description botanique

La famille des Lamiaceae (labiées) du Latin (Labia : lèvre) signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Couplan., 2000 ; Naghibi et al., 2005), constituent une importante famille de plantes angiospermes dicotylédones herbacées ou légèrement ligneuses et comprennent, selon les auteurs, de 233 à 263 genres (Heywood et al., 2007) et de 6900 à 7200 espèces (Heywood et al., 2007 ; Grayer et al., 2003). Selon Quezel et Santa (1963), les Lamiacées constituent une famille très importante dans la flore algérienne représentée par 28 genres et 146 espèces contre 8 genres et 12 espèces décrites par Ozenda (1991) dans tout le Sahara. Selon la répartition de Cantino en 1992, la famille des Lamiacées est divisée en 8 sous-familles : *Viticoideae*, *Teucroideae*, *Chloanthoideae*, *Ajugoideae*, *Scutellarioideae*, *Lamioideae*, *Pogostemoideae*, *Nepetoideae*, Harley et al., selon la nouvelle classification **APGII** (AngiospermPhylogeny Group) des Lamiacées, ont reconnu 7 sous-familles ; une nouvelle sous-famille a été créée, celle des *Symphorematoideae* (*Symphoremataceae*) ; 2 sous-familles ont été supprimées (*Teucroideae* et *Pogostemoideae*) (Harley et al., 2004).

Les plantes de cette famille sont rarement ligneuses, souvent velues. Les feuilles sont décussées (déposées en paire se croisant d'un noeud à l'autre), dépourvues de stipules, à limbes généralement dentées. Inflorescence en cymes axillaires ou contractées simulant souvent des verticilles, ou condensées au sommet des tiges et simulant des épis. Fleurs pentamères en générale hermaphrodites. Calice à cinq divisions. Corolle en général bilabée longuement tubuleuse parfois à 4-5 lobes sub-égaux ou à une seule lèvre. Lèvre inférieure trilobée, la supérieure bilobée. En générale à 4 étamines, la cinquième nulle ou très réduite. Ovaire supérieure à carpelles originellement bi-ovulés ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison. Fruit constitué par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne et diversement ornés (Quezel P., et Santa S., 1962). Ces caractères varient selon les genres : corolle presque régulière (*Mentha*) ou unilabée (*Teucrium*); deux étamines (*Salvia*) (Quezel., 1963 ; Ozenda., 1977).

Position systématique de la famille des Lamiaceae

La place des Lamiacées dans la classification systématique botanique APGII (*Angiospermphylogeny group*) est la suivante (APGII., 2002 ; Guignard., 2001 ; Bray., 2005) :

Tableau 07 : Place des Lamiaceae dans la systématique

Ordre Lamiales	(17800 espèces regroupées en vingt familles)
Embranchement	Spermatophytae
Sous-embranchement	Angiospermae
Classe	Dicotyledonae
Sous Classe	Asteropsidae
Groupe	Euasterideae
Super-ordre	Lamianeae
Ordre	Lamiale
Famille	Lamiaceae

Répartition géographique des Lamiaceae

C'est une famille se répartie sur tout le globe (Fig. 07), elle est répandue dans les régions tropicales et subtropicales, mais principalement en région méditerranéenne (Piozzi et al., 2011). Elle est surtout constituée de plantes méditerranéennes (Carrubba et al., 2006), qui ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptiaca* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues (Ozenda., 1977).

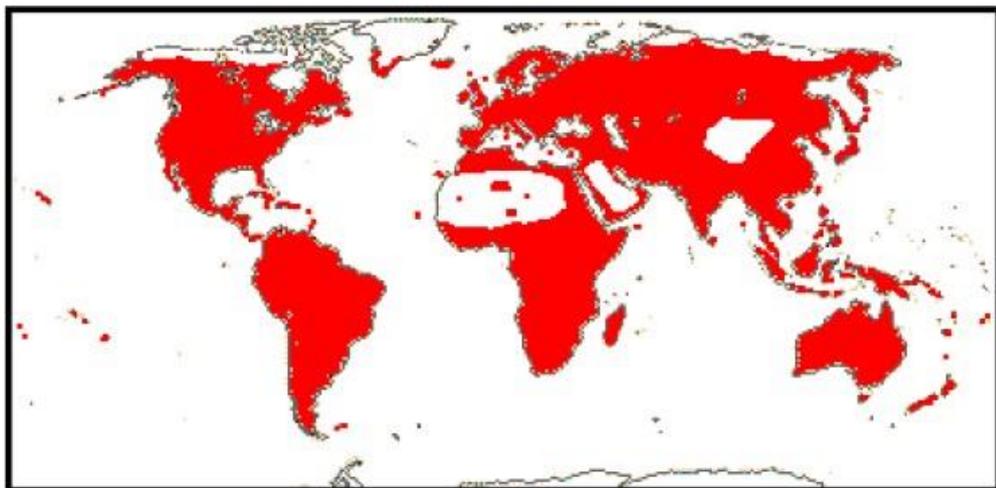


Figure 07 : Répartition géographique de la famille des lamiacées (en rouge). D'après Tabti et Tahdjerit, 2017).

Intérêts de la famille des Lamiaceae

C'est une famille de plantes aromatiques utilisées en parfumerie, en pharmacie et dans les préparations culinaires en condiment comme par exemple la ballote, le basilic, la bugle, l'hysope, la lavande, la marjolaine, la mélisse, ...). Ces plantes doivent leurs propriétés aux essences localisées dans les poils sécréteurs (Messali., 1995). Il s'agit d'une vaste famille, très typique du monde végétal, et qui possède une importance économique due à la production des huiles essentielles (Guignard et al., 2001) et conduit à des miels spécifiques (les miels de lavande, et de romarin sont réputés). Les genres faisant partie de cette famille (*Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus*, *Ocimum*...) sont utilisés comme arômes alimentaires et dans l'industrie pharmaceutique. Plusieurs genres de cette famille sont utilisés en médecine traditionnelle et moderne, comme *Lavandula*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* (Naghbi et al., 2005).

Métabolites secondaires chez les Lamiaceae

Les investigations phytochimiques des plantes de la famille Lamiaceae ont conduit à la détermination d'un grand nombre de métabolites secondaires connus pour leurs diverses activités biologiques. Ce sont majoritairement des composés terpéniques et plus particulièrement des diterpènes dont les noyaux sont de type clerodane, kaurane, labdane, pimarane, abietane et autres (Menezes et al., 1993), stéroïdes, iridoïdes (Esquivel et al., 1996), On y trouve également un nombre important de flavonoïdes (Tomas-Barberanet al., 1990) et des phénylpropanoïdes (Jimenez., 1994).

II. Présentation du genre *Salvia*

Description botanique et répartition géographique

Le genre *Salvia* appartient à la sous-famille Nepetoideae de la famille Lamiacées, se compose d'environ 900 espèces réparties à travers le monde (Çadirci et al., 2012) et 23 espèces en Algérie (Quezel et Santa., 1963). Ce genre présente des variations morphologiques et génétiques en fonction des origines géographiques (Mirjalili et al., 2006).

Ce sont des arbustes ou des plantes herbacées. Le calice est bilabié, variable, à lèvre supérieure tridentée, l'inférieure bidentée. La corolle est bilabiée. Elle comporte 2 étamines, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthere et l'autre, le plus court, une écaille, ou bien terminé en pointe (Quezel et Santa., 1963).

- Arbrisseaux ou sous- arbrisseaux à tiges pérennantes, ligneuse

Plante annuelle, ou vivaces à tiges herbacées.

- Feuilles linéaires de plus de 10 fois plus longues que larges fortement sinuées ou denticulées sur les marges.

Feuilles ovales ou ovales-lancéolées planes, pas plus de 4-5 fois plus longues que larges, planes

- Feuilles gaufrées, tomenteuses en dessous, longues de 5-10 cm. Calice finement pubescent, fendu en 2 lèvres profondes. Corolle de plus de 2 cm. Arbuste de 30-70 cm.

Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde : 530 espèces en Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en région méditerranéenne, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (Fig. 08) (Walker *et al.*, 2004).

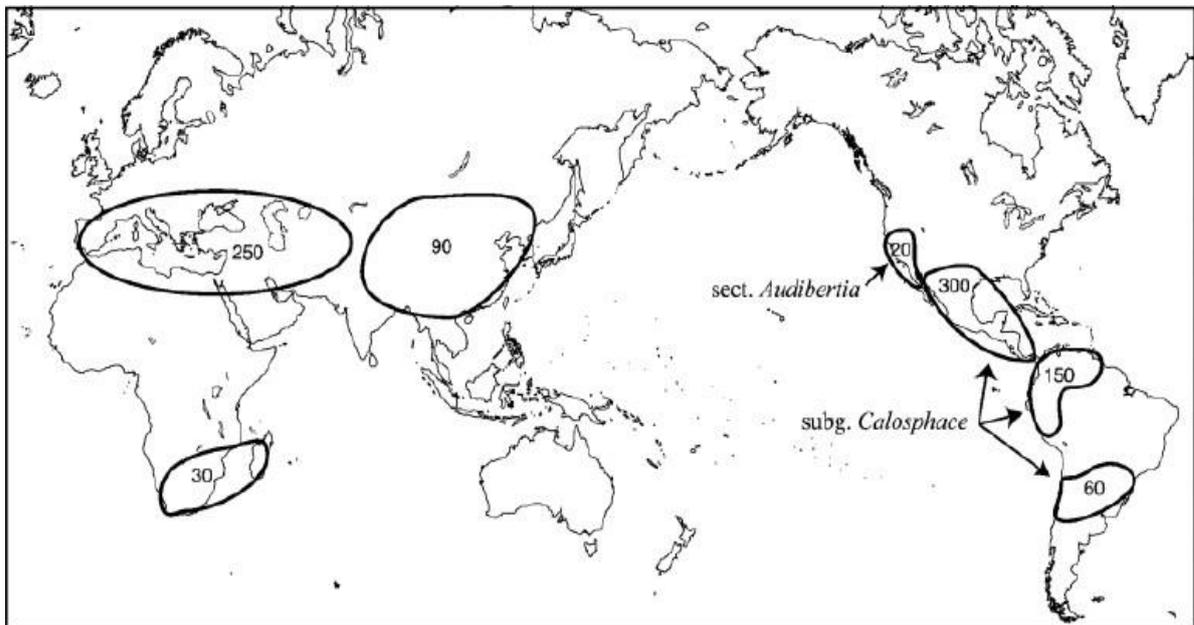


Figure 8: Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (Walker *et al.*, 2004).

Usage et importance des sauges

L'appellation latine démontre bien l'importance de la sauge dans la pharmacopée traditionnelle. En effet *Salvia* en latin signifie guérir et "salvare" qui veut dire sauver.

La majorité des espèces du genre *Salvia* sont utilisées à des fins diverses : alimentaire, médicinales, parfumerie et cosmétiques (Karaman et al., 2007 ; Baggi et al., 2008).

Dès l'antiquité, quelques membres de ce genre ont servi à parfumer les corps et les temples (Arslan et al., 2008).

Les espèces de *Salvia* (sauge) ont été utilisées comme plantes médicinales pour traiter les affections dues au froid, la bronchite, la tuberculose, les troubles menstruels et digestifs dans le monde entier. Leurs parties aériennes et leurs feuilles sont utilisées comme épices et thé (Foster & Tyler., 2000).

On peut citer l'utilisation de quelques espèces du genre *Salvia* :

- ***Salvia verbenaca*** : les feuilles en poudre sont utilisées en cataplasme pour traiter les plaies (Salhi et al., 2010).
- ***Salvia divinorum*** : elle est utilisée sous forme d'infusion comme un tonique ou remède pouvant guérir plusieurs maux. La feuille peut être appliquée sur le front du patient comme un cataplasme. Elle est utilisée contre la diarrhée, l'anémie et les rhumatismes (Daniel et al., 1994).
- ***Salvia sclarea*** : l'huile essentielle est utilisée comme parfum et comme insectifuge et dans les traitements contre les puces et les tiques pour les animaux domestiques et comme désinfectant pour les tapis. (Miller et al., 1785)
- ***Salvia officinalis*** : Aromes, remède efficace en gargarisme. Elle peut calmer les crises de la maladie d'Alzheimer et a une activité tranquillisante, antiseptique et astringente. Régularise le cycle menstruel, la transpiration, les bouffées de chaleur et les modifications hormonales. Les feuilles séchées sont utilisées contre l'asthme, les morsures, les piqûres, les sueurs nocturnes, la diarrhée, les aphtes et les angines (Iserin., 2001). Une décoction de racines est utilisée en cas de maladies cardiaques et lors de la ménopause (Salhi et al., 2010).
- ***Salvia miltiorrhiza*** : Elle est utilisée pour traiter les affections causées par les troubles circulatoires, de l'utérus (aménorrhées, règles douloureuses et fibromes) et l'angine de poitrine. Elle est également utilisée contre l'angoisse et le stress, l'irritabilité et les insomnies. Les racines sont utilisées pour la suppression de la stase sanguine, soulager les inflammations cutanées, les problèmes liés à la menstruation, comme tranquillisant et le traitement des maladies cardio-vasculaires, hépatiques, rénales et cérébro-vasculaires (Iserin., 2001).

Principaux métabolites secondaires du genre *Salvia*

Les analyses phytochimiques des espèces de *Salvia* ont montré la présence de divers types de composés, y compris les terpénoïdes, particulièrement diterpénoïdes (Topcu et al., 2007 ; Ulubelen, et al., 1997) avec des squelettes d'abiétane et de néo-clérodane. Certains de ces diterpènes ont montré des squelettes de carbone rares (Gang, X et al., 2012 ; Gang, X et al., 2007). On rencontre également des triterpénoïdes, et les composés phénoliques, de glycosides phénoliques et de flavonoïdes (Lu et al., 2002).

Les sesquiterpènes :

Les sesquiterpènes sont une classe de terpènes formés de trois unités isopréniques et de formule moléculaire $C_{15}H_{24}$. Le précurseur universel des sesquiterpènes lactones est le farnésyle diphosphate (FDP) qui résulte de la condensation de type tête-à-queue entre l'isopentényle Pyrophosphate (IPP) et le géranyle diphosphate (GDP). La cyclisation du farnésyl pyrophosphate donne le germacradiène qui est le squelette de base de tous les types de lactones sesquiterpéniques.

Plusieurs sesquiterpènes ont été rapportés dans le genre *Salvia*. Ce groupe est distribué dans 15 espèces du genre *Salvia* et peut être divisé en plusieurs sous-groupes : aliphatiques, de type caryophyllane, Guaiane, et autres sesquiterpènes.

- ✚ **Sesquiterpènes aliphatiques** : Seulement la salvinine (1), a été isolée et identifiée comme le seul sesquiterpène aliphatique à partir de *S. divaricata* (Ulubelen et al., 1992).

- ✚ **Les germacrane** : Les germacrane sont un groupe de sesquiterpènes avec un système à 10 chaînons avec différents arrangements dans la fonctionnalité. salviadienol A (2) et salviadienol B (6) étaient les premiers germacrane obtenues de *S. chinensis*. En 2003, quatre nouveaux esters de type germacrane, (3), (4), (5) et 16, ont été isolés de la plante entière de *S. roborowskii*(Li et al., 2003). En 2005, le même composé 16 était isolé de *S. castanea*Diels. et nommé différemment : castanine B (16) (Xu et al., 2005). Les trijugines A-I (7-15) ont toutes été isolées de *S. trijuga* et la structure de 7 a été confirmée par analyse aux rayons X. Le composé (15) a présenté une toxicité modérée contre HL-60, SMMC-7721 et SW480 avec des valeurs de IC_{50} de 17,9 ; 34,5 et 24,88 μ M, respectivement (Pan et al., 2010). Six germacrane, la castanine A (22) (Xu et al.,

2005), la castanine B (16) (Xu et al., 2005), et les castanines C – F (18–21) (Xu et al., 2008), ont été isolés de *S. castanea* Diels. Parmi lesquels : la castanine A (22) représente un nouveau germacranolide, avec un anneau contracté A, dérivé de l'eudesmanolide. La détermination structurale de 18-21 était complexe car ils existaient sous la forme de deux mélanges d'isomères interconvertibles. Les deux autres membres appartenant aux sesquiterpènes de type germacrane, le composés (17) (González et al., 1989) et (23) (Liu et al., 2009) ont été isolés de *S. palaefolia* et de *S. roborowskii* Maxim., respectivement.

✚ Les Carotanes :

La classe de sesquiterpènes daucane est un groupe relativement petit de composés qui, pendant longtemps, semblait être limité aux membres de la famille des plantes Umbelliferae. Ces dernières années, des dérivés de type daucane ont également été trouvés dans les Compositae, Rosaceae, Bryophyta, champignons et les sources marines. Un seul sesquiterpène carotane (24) a été découvert à partir de *Salvia sclarea* (Maurer et al., 1983).

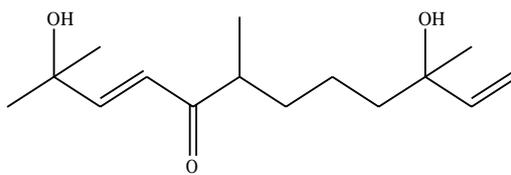
✚ **Les caryophyllènes :** Les Caryophyllènes sont un groupe de sesquiterpènes bicycliques naturels à système 4/9 cycles. Trois composés (25 - 27) ont été rapportés de *S. sclarea* L. L'oxyde de caryophyllène (28) a été obtenu dans les espèces : *S. palaefolia* et *S. sclarea* (González et al., 1989 ; González et al., 1991a ; Ulubelen et al., 1994).

✚ **Les guaïanes:** Neuf sesquiterpènes de type guaïane (29-37) ont été obtenus à partir de *S. nubicola*. Dans les études menées par Ali et al., Le nubiol (33), le nubénolide (34), le nubénolide acétate 35), le bisnubidiol (36) et le bisnubénolide (37) ont été identifiés dans cette espèce (Ali et al., 2006 ; Ali et al., 2007).

✚ Autres sesquiterpènes :

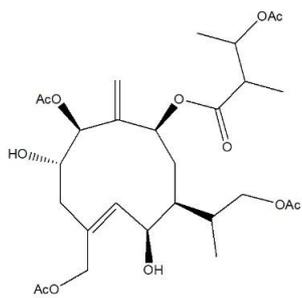
Le composé (38) est un dibenzoate de β -agarofurane sesquiterpénique isolé de la partie aérienne de *S. palaefolia* (González et al., 1991a). Des recherches supplémentaires sur la même espèce ont montré la présence des composés (39, 40, 43-46). Parmi lesquels les composés (43-46) sont de type eudesmanolides (González et al., 1991b ; González et al., 1990)

Une étude menée par (Aydoğ mus et al., 2006) a conduit aux composés (41) et (42), deux sesquiterpènes isolés de l'extrait acétone de *S. microphylla*.

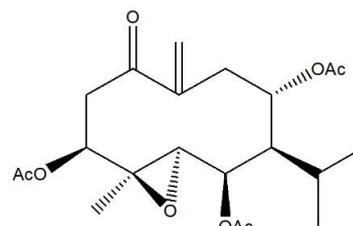


1

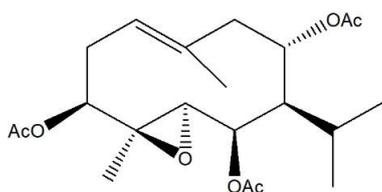
Sesquiterpènes aliphatiques



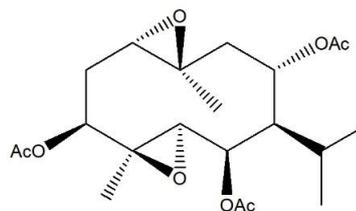
2



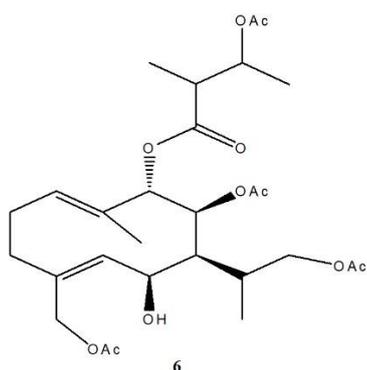
3



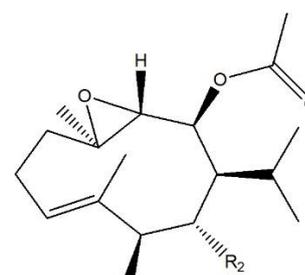
4



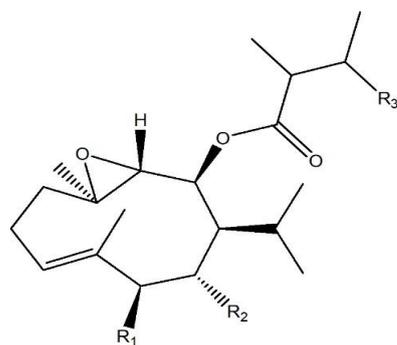
5



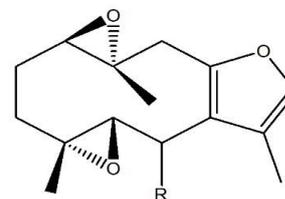
6



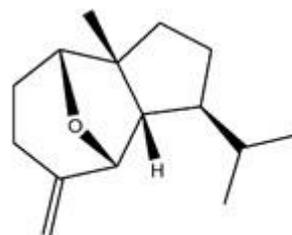
7	R₁	R₂
8	OTig	OH
9	OH	OAc



	R ₁	R ₂	R ₃
10	OTig	OH	OAc
11	OTig	OAc	OAc
12	OH	OTig	OAc
13	OAc	OTig	OH
14	H	OTig	OH
15	H	OTig	OAc

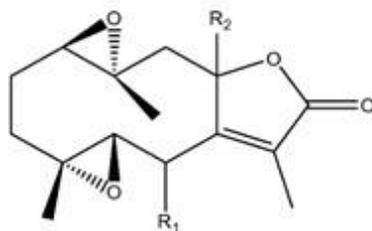


	R
16	B-OAc
17	H

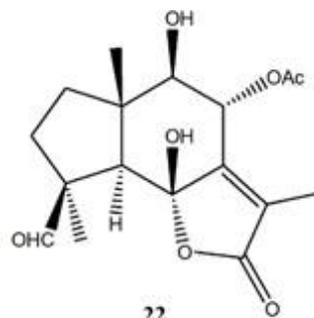


24

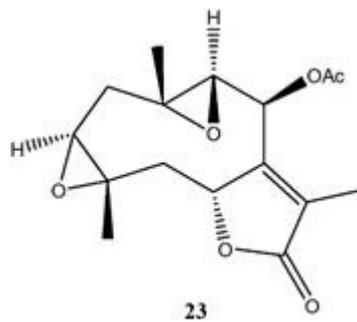
Germacrane et carotane



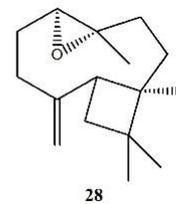
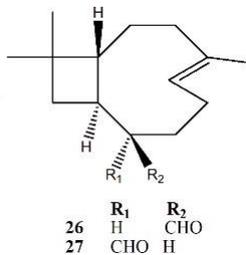
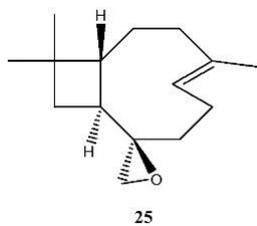
	R ₁	R ₂
18	OAc	β-OH
19	OAc	α-OH
20	OH	β-OH
21	OH	α-OH



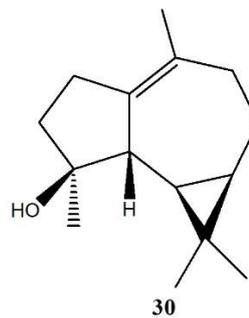
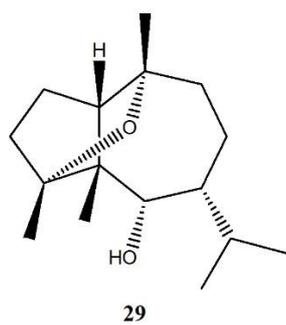
22

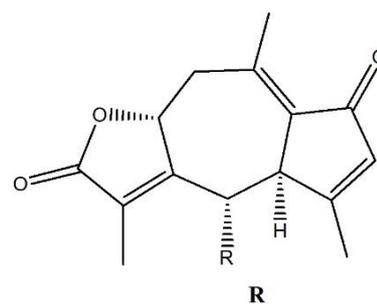
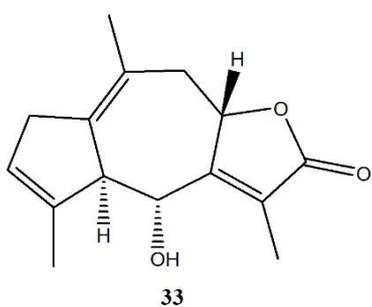
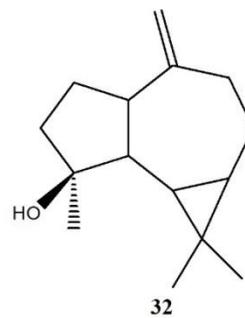
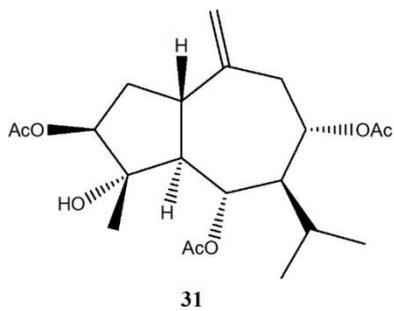


Germacranolides

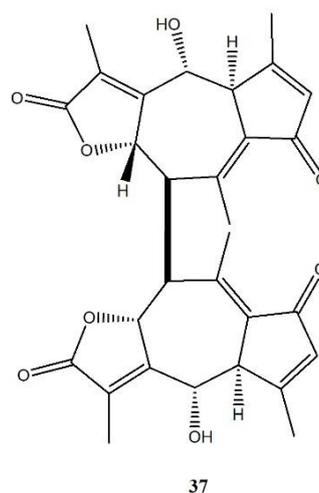
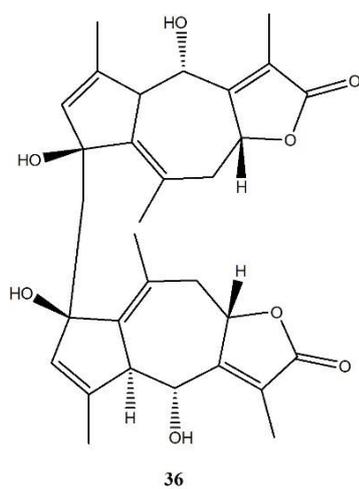


Caryophyllènes

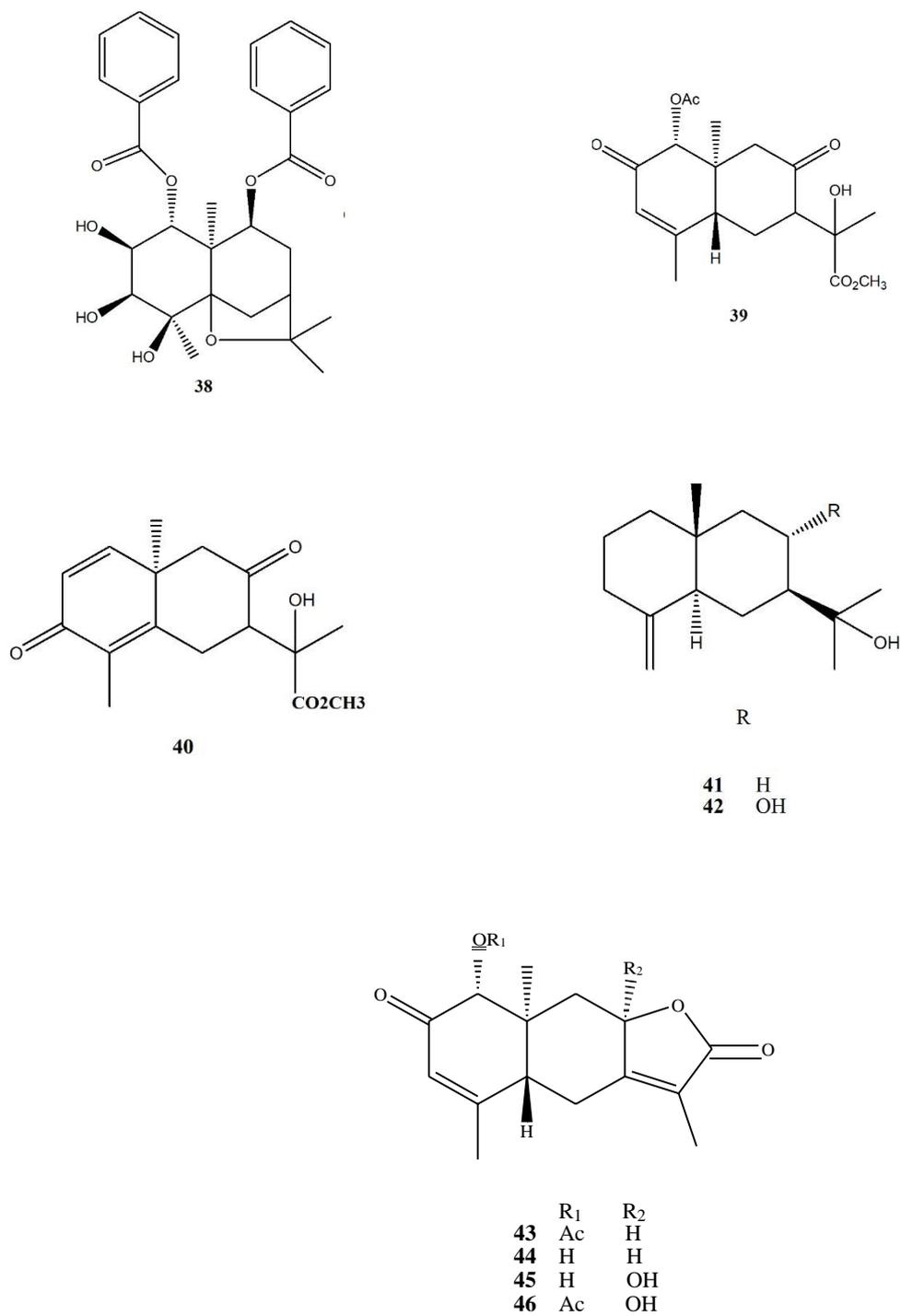




34 OH
35 OAc



Guianes



Autres Sesquiterpènes

Figure 9: Principaux sesquiterpènes isolés du genre *Salvia*.

Tableau 8 : Les sesquiterpènes isolés du genre *Salvia*

N ^o	Composé	Espèce	Référence
Sesquiterpènes aliphatiques			
1	Salvinine	<i>S. divaricata</i>	(Ulubelen et al., 1992) (Ahmed et al., 2004)
Germacranes			
2	salviadienol A	<i>S. chinensis</i>	(Wang et al., 2008)
3	3 β ,6 β ,8a-triacetoxy-4 β ,5 α -epoxy-1-oxogermacr-10(14)-ene	<i>S. roborowskii</i>	(Li et al., 2003)
4	3 β ,6 β ,8a-triacetoxy-4 β ,5 α -epoxygermacr-1(10)E-ene	<i>S. roborowskii</i>	(Li et al., 2003)
5	3 β ,6 β ,8a-triacetoxy-4 β ,5 α :1 α ,10 β -diepoxygermacrane	<i>S. roborowskii</i>	(Li et al., 2003)
6	salviadienol B	<i>S. chinensis</i>	(Wang et al., 2008)
7	trijugin A	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)
8	trijugin B	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)
9	trijugin C	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)
10	trijugin D	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)
11	trijugin E	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)
12	trijugin F	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)
13	trijugin G	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)

14	trijugin H	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)
15	trijugin I	<i>S. trijuga</i>	(Pan et al., 2010)
16	(1aS*,6R*,6aS*,7aR*,9aR*)1a,2,6,6a,7a,8,9,9a-octahydro 1a,5,7atrimethylbisoxireno[4,5:8,9]cyclodeca[1,2-b]furan-6-yl acetate (=castanin B) 6-acetoxyglechomafuran	<i>S. castanea</i> <i>S. roborowskii</i>	(Xu et al., 2005) (Li et al., 2003)
17	Glechomafuran	<i>S. palaefolia</i>	(González et al., 1989)
18	castanin C	<i>S. castanea</i>	(Xu et al., 2008)
19	castanin D	<i>S. castanea</i>	(Xu et al., 2008)
20	castanin E	<i>S. castanea</i>	(Xu et al., 2008)
21	astanin F	<i>S. castanea</i>	(Xu et al., 2008)
22	(4R*,5R*,5aS*,8S*,8aR*,8bR*)-8-formyl 4,5,5a,6,7,8,8a,8b-octahydro-5,8b-dihydroxy-3,5a,8-trimethyl-2-oxo-2H-indeno[4,5-b]furan-4-yl acetate (= castanin A)	<i>S. castanea</i>	(Xu et al., 2005)
23	(3β,4α,6α,8β,9β,10α)-8-(acetyloxy)-3,4:9,10 diepoxygermacr-7(11)-eno- 12,6-lactone	<i>S. roborowskii</i>	(Liu et al., 2009)
24	(1R,5R)-1,5-epoxysalvial-4(14)-ene	<i>S. sclarea</i>	(Maurer et al., 1983)
Caryophyllénes			
25	(2R,5E)-2,12-epoxycaryophyll-5-ene	<i>S. sclarea</i>	(Maurer et

			al., 1983)
26	(2R,5E)-caryophyll-5-en-12-al	<i>S. sclarea</i>	(Maurer et al., 1983)
27	(2S,5E)-caryophyll-5-en-12-al	<i>S. sclarea</i>	(Maurer et al., 1983)
28	Oxide de caryophyllène	<i>S. sclarea</i>	(González et al., 1991a)
		<i>S. palaefolia</i>	(González et al., 1989)
Guaianes			
29	4,10-epoxy-6 α -hydroxyguaiane (= buchariol)	<i>S. bucharica</i>	(Ahmad et al., 1999)
30	Isospathulenol	<i>S. sclarea</i>	(Maurer et al., 1983)
31	(1 β ,3 β ,4 α ,5 α ,6 α ,8 α)-guai-10(14)-ene-3,4,6,8-tetrol 3,6,8-triacetate	<i>S. roborowskii</i>	(Liu et al., 2009)
32	Spathulenol	<i>S. eupatorium</i> <i>S. sclarea</i>	(González et al., 1990b) (Ulubelen et al., 1994)
33	Nubiol	<i>S. nubicola</i>	(Ali et al., 2007)
34	Nubenolide	<i>S. nubicola</i>	(Ali et al., 2006) (Ali et al., 2006)
35	Nubenolideacetate	<i>S. nubicola</i> <i>S. nubicola</i>	2006) (Ali et al., 2007)
36	Bisnubidiol		(Ali et al., 2007)
37	Bisnubenolide	<i>S. nubicola</i>	2006)
Autres sesquiterpènes			

38	1 α ,9 β -dibenzoyloxy-2 β ,3 β ,4 β - agarofuran	trihydroxydihydro- β -	<i>S. palaefolia</i>	(González et al., 1991a)
39	Ester méthylique de l'acide α -acétoxy-11-hydroxy-2,8- dioxoeudesman-3-èn-12-oïque		<i>S. palaefolia</i>	(González et al., 1991b)
40	Ester méthylique de l'acide 11-hydroxy-3,8-dioxo- eudesman-1,4-diène-12-oïque		<i>S. palaefolia</i>	(González et al., 1991b)
41	β -eudesmol		<i>S. microphylla</i>	(Aydoğmuş et al., 2006)
42	8 α -hydroxy- β -eudesmol		<i>S. microphylla</i>	(Aydoğmuş et al., 2006)
43	1 α -acetoxy-2-oxoeudesman- 3,7(11)-dien-8 β ,12-olide		<i>S. palaefolia</i>	(González et al., 1991b)
44	1 α -hydroxy-2-oxoeudesman- 3,7(11)-dien-8 β ,12-olide		<i>S. palaefolia</i>	(González et al., 1991b)
45	1 α ,8 α -dihydroxy-2-oxoeudesman- 3,7(11)-dien-8 β ,12- olide		<i>S. palaefolia</i>	al., 1991b; González et al., 1990)
46	1 α -acetoxy-8 α -hydroxy-2-oxoeudesman-3,7(11)-dien- 8,12- olide		<i>S. palaefolia</i>	(González et al., 1990)

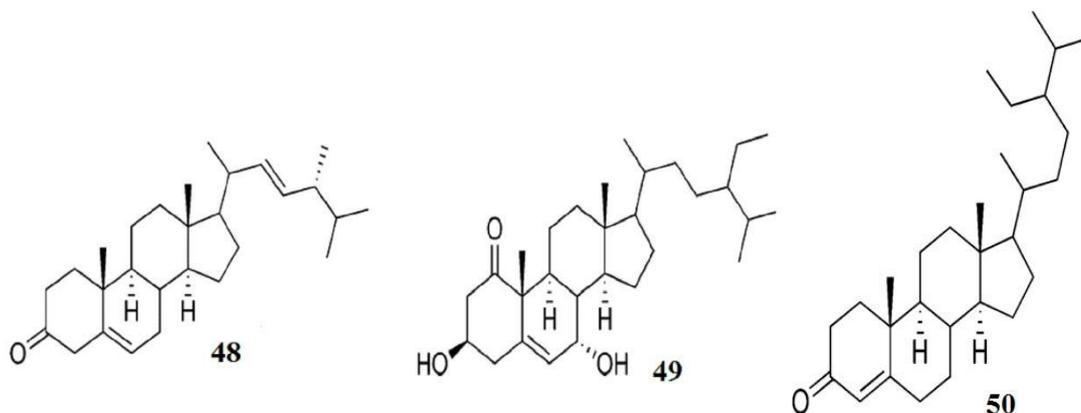
Triterpènes et stéroïdes :

Un total de 74 triterpénoïdes et stéroïdes ont été trouvés chez les espèces de *Salvia* depuis 1976. Selon leurs structures, ce groupe est en outre classé en six sous-groupes : triterpénoïdes de type ursane, oleanane, lupane, dammarane, stéroïdes et autres triterpénoïdes.

- ✚ **Stéroïdes** : Brassicasterone (48), le 1-oxo-7 α -hydroxysitostérol (49) et le stigmast-4-ène-3-one (50) sont trois stéroïdes isolés de *S. multicaulis*, *S. glutinosa* et *S. amplexicaulis*, respectivement (Ulubelen et al., 1998 ; Kolak et al., 2001 ; Topçu et al., 1997).
- ✚ **Ursanes** : L'acide oléanolique (52) et le salvistamineol (53) ont été isolés de *S. officinalis* et de *S. staminea*, respectivement (Horiuchi et al., 2007 ; Topçu et al., 2003). Six nouveaux triterpénoïdes de type ursane (54-58 et 71) ont été isolés des racines de *S. kronenburgii* (Topçu et al., 2004 ; Topçu et al., 1992). Quatre nouveaux triterpénoïdes de type ursane (59-62) ont été obtenus à partir des parties aériennes de *S. argentea* (Bruno et al., 1987). 3-oxours-12-ène-1 β , 11 α -diol (63) (de *S. haenkei*) (Almanza et al., 1997), Acide 3-épiursolique (64) (de *S. lanata*) (Mukherjee et al., 1982), L'acide santolinoïque (65) (de *S. santolinifolia*) (Ahmad et al., 2007) et Salvin A (66) (de *S. santolinifolia*) (Mehmood et al., 2006) étaient quatre exemples dans ce sous-groupe. En 2009, un nouveau triterpénoïde de type ursane (74) a été isolé des parties aériennes de *S. chinensis* (Wang et al., 2009). 73 et 75 étaient deux triterpénoïdes isolés à partir de *S. hierosolymitana* (De Felice et al., 2006).
- ✚ **Oleananes** : le composé (76) est un triterpénoïde de type oleanane isolé de *S. hierosolymitana* (De Felice et al., 2006). Les composés (77 à 81) sont cinq triterpénoïdes du type oleanane, tous avec une double liaison entre C-12 et C-13, isolés de quatre espèces de *Salvia* : *S. kronenburgii*, *S. argentea*, *S. virgata* et *S. santolinifolia* (Mehmood et al., 2006 ; Topçu et al., 1999 ; Bruno et al., 1987 ; Ulubelen et al., 1976). Les composés (83 à 85) sont trois triterpénoïdes du type oleanane, avec deux doubles liaisons entre C-12 et C-13, C-4 et C-23, isolés de trois espèces de *Salvia* : *S. hierosolymitana*, *S. carduacea* et *S. palaestina* (Cioffi et al., 2008 ; De Felice et al., 2006 ; Ballesta-Acosta et al., 2002). Les acides Przewanoïque A et B (87 et 86), isolés de *S. przewalskii*, ont un cycle 12,13-cyclogroupe (Wang et al., 1988). L'investigation de *S. lanigera* a donné un triterpène de type oleanane (92), avec une lactone entre C-28 et C-13 (Al-Hazimi et al., 1987).

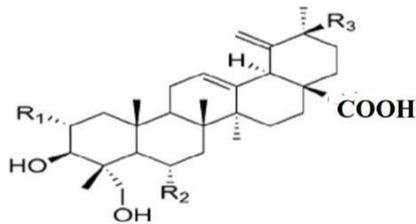
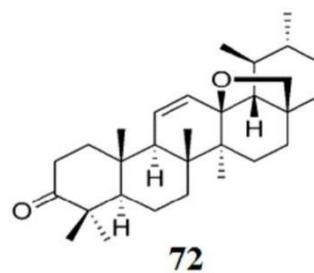
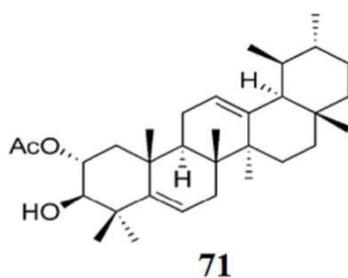
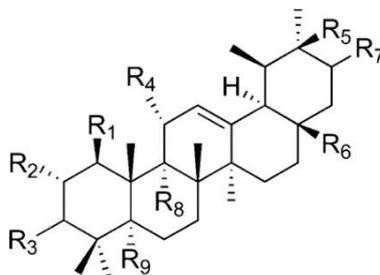
Reglin (95) est un ester composé d'un groupe d'abiétane quinone diterpénique et d'un groupe acyle triterpénoïde isolé de *S. regia* (Ortega et al., 1995).

- ✚ **Lupanes** : À partir d'un extrait acétone des racines de *S. palaestina*, quatre triterpènes de type lupane (96 à 99) ont été obtenus, avec une double liaison entre C-20 et C-29 (Hussein et al., 1997). Les composés (105 à 109, 111 et 112) sont sept autres triterpènes de type lupane isolés de quatre espèces de *Salvia* : *S. deserta*, *S. phlomoides*, *S. macrochlamys* et *S. montbretii*, avec un groupe hydroxy en C-20 (Topçu et al., 2007 ; García-Alvarez et al., 1981 ; Savona et al., 1987).
- ✚ **Dammaranes.** : Trois nouveaux 20,24-époxydammaranetriterpènes, les santolines A (114), B (113) et C (115) ont été isolées de *S. santolinifolia* (Ahmad et al., 2008). Salvilymitone (117) et salvilymitol (118) sont deux nouveaux triterpénoïdes obtenus de *S. hierosolymitana* (Pedreros et al., 1990).
- ✚ **Autres triterpénoïdes** : Ahmad et ses collaborateurs ont publié deux articles sur *S. bucharica* en 1999, faisant état de l'isolement et de l'identification de salvadiol (119) et de salvadiones A (120) et B (121) (Ahmad et al., 1999a ; Ahmad et al., 1999b).

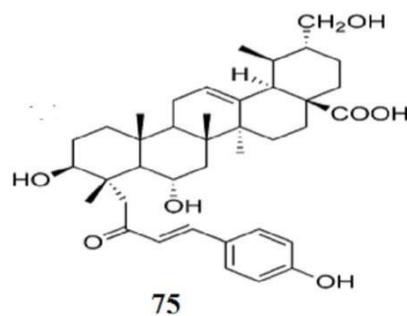


Stéroïdes

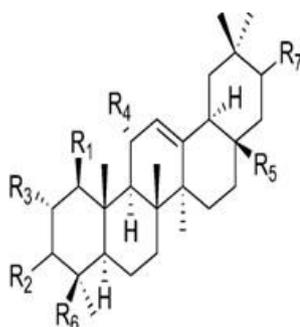
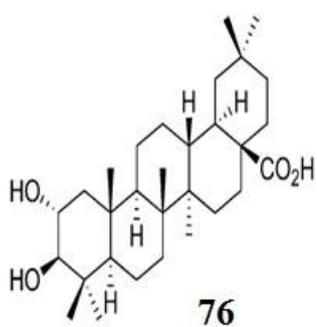
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
51	H	OH	βOH	H	H
52	H	H	βOH	H	H
53	H	H	βOH	OH	H
54	OH	OH	βOAc	O	H
55	OH	OH	βOH	OH	H
56	OH	H	αOAc	OH	H
57	OH	H	αOH	OH	H
58	H	OH	βOH	OH	H
59	H	OH	βOAc	OH	H
60	OH	OH	βOAc	OH	H
61	OH	OH	βOAc	OH	OH
62	H	OH	βOAc	OH	OH
63	OH	H	O	OH	H
64	H	H	αOH	H	H
65	H	OH	βOH	H	H
66	H	OH	βOH	H	H
67	H	H	O	O	H
68	H	H	αOH	OH	H
69	H	H	αOH	H	H
70	H	H	αOH	H	CO



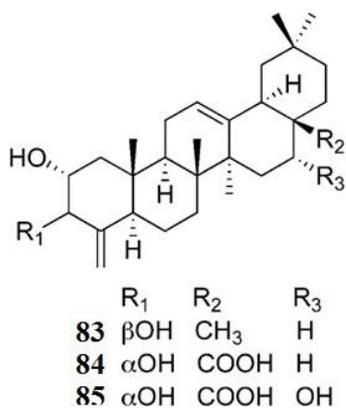
	R ₁	R ₂	R ₃
73	H	OH	H
74	OH	H	OH



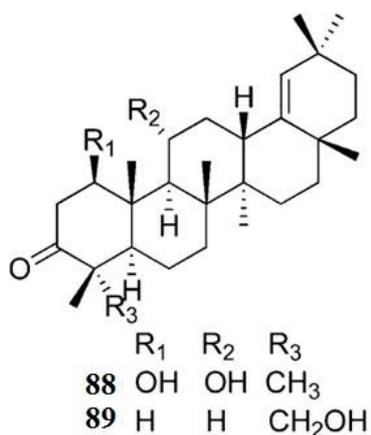
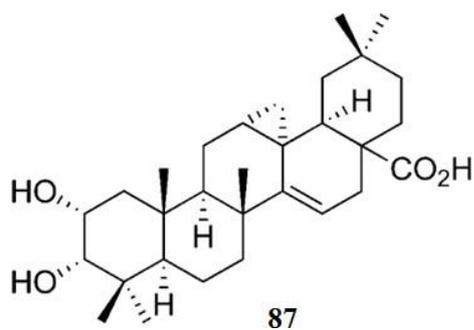
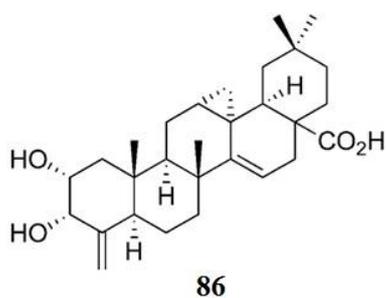
Ursanes



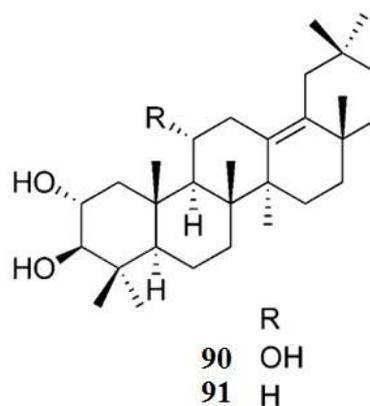
	R ₁	R ₃	R ₂	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
77	OH	OH	βOH	OH	CH ₃	CH ₃	H
78	H	OH	βOAc	OH	CH ₃	CH ₃	H
79	OH	OH	βOAc	OH	CH ₃	CH ₃	H
80	O	H	βOH	H	CO ₂ H	CH ₃	H
81	H	H	αOH	H	CO ₂ H	CH ₂ OH	H
82	H	H	βOH	OH	CH ₃	CH ₃	αOH



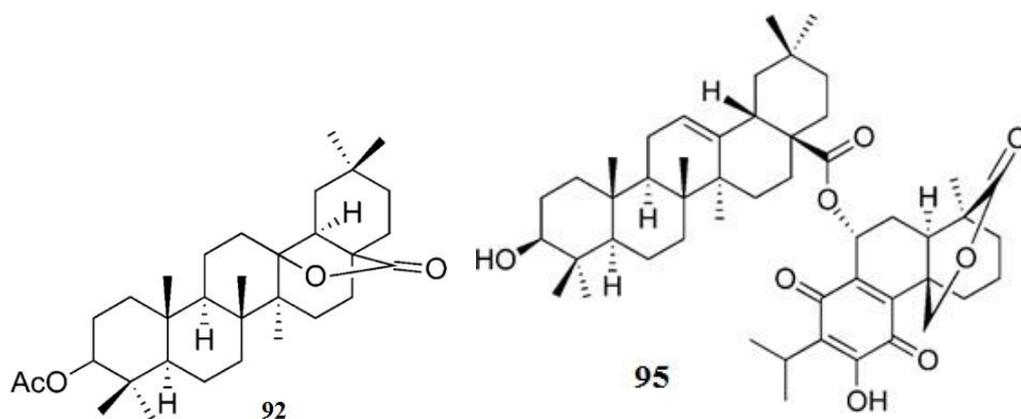
	R ₁	R ₂	R ₃
83	βOH	CH ₃	H
84	αOH	COOH	H
85	αOH	COOH	OH



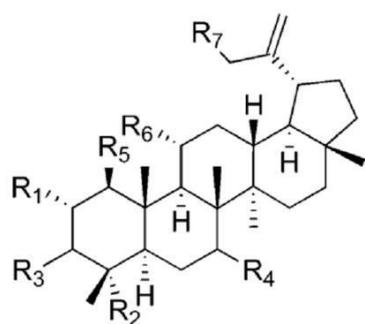
	R ₁	R ₂	R ₃
88	OH	OH	CH ₃
89	H	H	CH ₂ OH



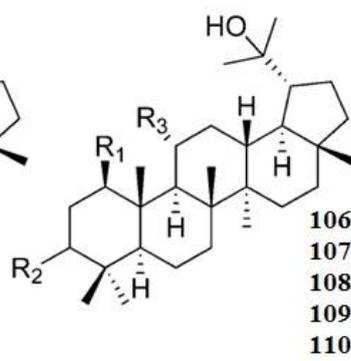
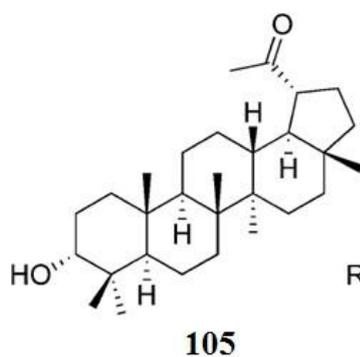
	R
90	OH
91	H



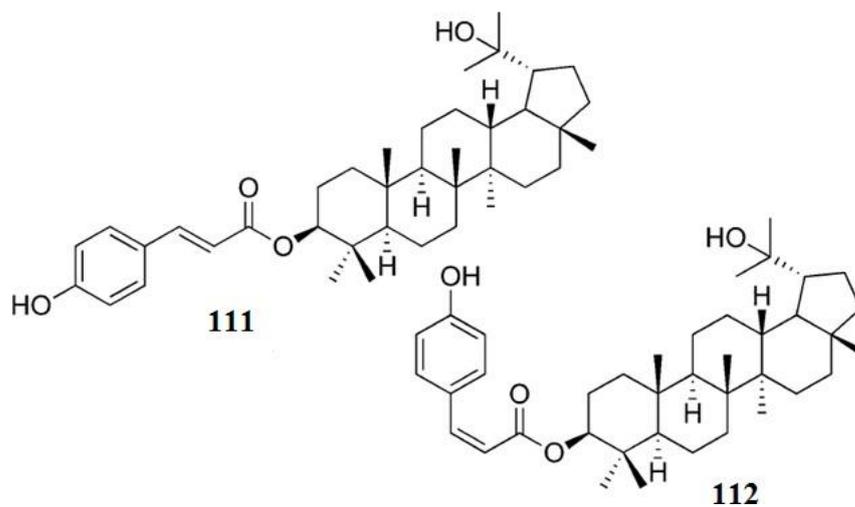
Oléanes



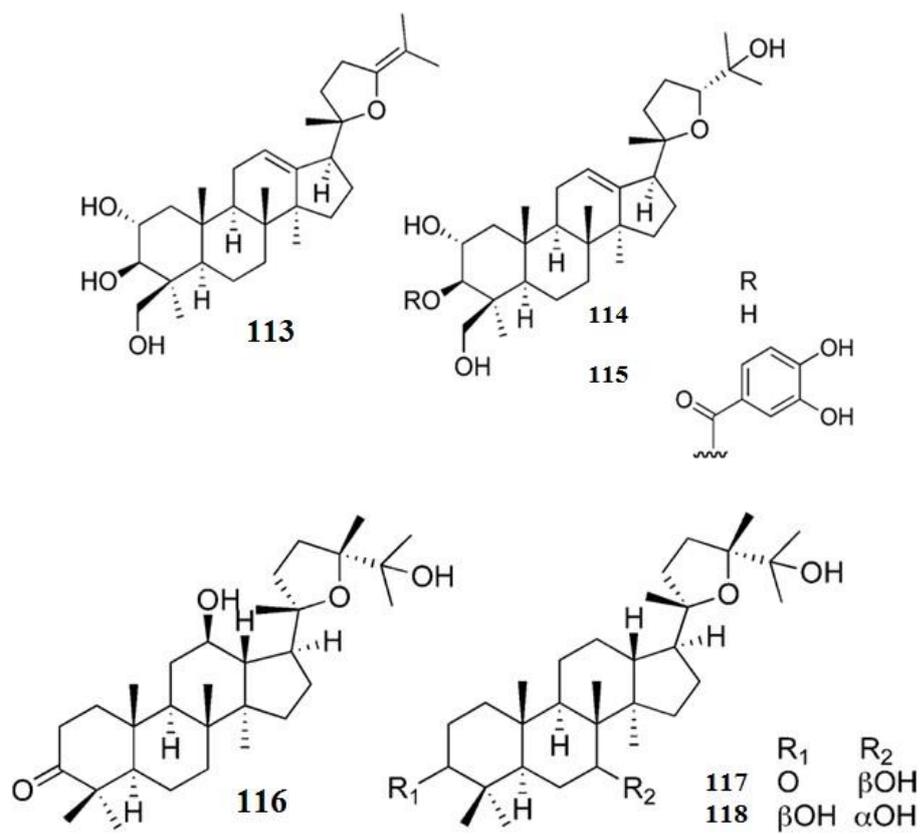
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
96	H	CH ₃	βOH	H	H	H	H
97	OH	CH ₃	βOH	H	H	H	H
98	H	CH ₂ OH	βOH	H	H	H	H
99	OCH ₃	CH ₃	βOH	H	H	H	H
100	OH	CH ₃	H	H	H	H	H
101	H	CH ₃	O	βOH	H	H	H
102	H	CH ₃	O	H	OH	OH	H
103	H	CH ₃	βOH	H	OH	H	OH
104	OH	CH ₃	αOAc	H	H	H	H



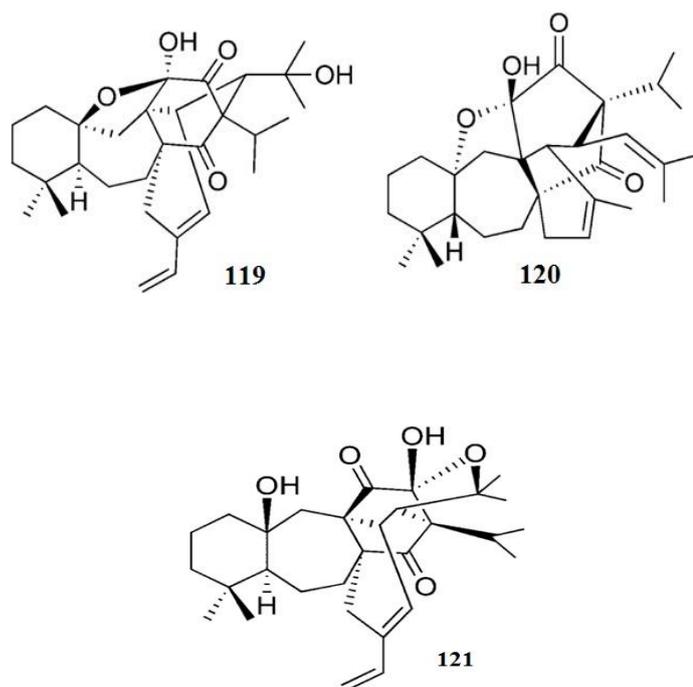
	R ₁	R ₂	R ₃
106	OH	O	OH
107	H	βOH	OH
108	H	βOAc	OH
109	H	O	OH
110	H	βOH	H



Lupanes



Dammaranes.



Autres triterpènes

Figure 10 : Principaux triterpènes, stéroïdes isolés du genre *Salvia*.

Tableau 09 : Les triterpènes et les stéroïdes isolés du genre *Salvia*.

N°	Composé	Espèce	Référence
Stéroïdes			
48	Brassicasterone	<i>S. multicaulis</i>	(Ulubelen et al., 1998)
49	1-oxo-7 α -hydroxysitosterol	<i>S. glutinosa</i>	(Topçu et al., 1997)
50	Stigmast-4-en-3-one	<i>S. amplexicaulis</i>	(Kolak et al., 2001)
Ursanes			
51	Acide maslinique (acide 2 α -hydroxyoléanolique)	<i>S. canariensis</i>	(Savona et al., 1983)
52	Acide oleanolique	<i>S. officinalis</i> <i>S. amplexicaulis</i> <i>S. ballotaeflora</i> <i>S. longistyla</i>	(Horiuchi et al., 2007) (Ulubelen et al., 1977) (Domínguez et al., 1972)

			(Delgado et al., 1990)
53	3 β ,11 α ,21 α -trihydroxyurs-12-ene (salvistamineol)	<i>S. staminea</i>	(Topçu et al., 2003)
54	1 β ,2 α -dihydroxy-3 β -acetoxy-11-oxours-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 2004)
55	1 β ,2 α ,3 β ,11 α -tetrahydroxyurs-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 1999)
56	3 α -acetoxyurs-12-ene-1 β ,11 α -diol	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 1999)
57	1 β ,3 α ,11 α -trihydroxyurs-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 1999)
58	2 α ,3 β ,11 α -trihydroxyurs-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 1999)
59	3 β -acetoxy-urs-12-ene-2 α ,11 α -dial	<i>S. argentea</i>	(Bruno et al., 1987)
60	3 β -acetoxy-urs-12-ene-1 β ,2 α ,11 α -triol	<i>S. argentea</i>	(Bruno et al., 1987)
61	3 β -acetoxy-urs-12-ene-1 β ,2 α ,11 α ,20 β -tetraol	<i>S. argentea</i>	(Bruno et al., 1987)
62	3 β -acetoxy-urs-12-ene-2 α ,11 α ,20 β -triol	<i>S. argentea</i>	(Bruno et al., 1987)
63	3-oxours-12-ene-1 β ,11 α -diol	<i>S. haenkei</i>	(Almanza et al., 1997)
64	Acide 3-epi-ursolique	<i>S. lanata</i>	(Mukherjee et al., 1982)
65	Acide santolinoïque	<i>S. santolinifolia</i>	(Ahmad et al., 2007)
66	Acide 2 α ,3 β ,5 α -trihydroxyurs-12-en-28-oïque (salvin A)	<i>S. santolinifolia</i>	(Mehmood et al., 2006)
67	3,11-dioxoursun-12-ene	<i>S. mellifera</i>	(Gonzalez et al., 1990)
68	Urs-12-ene-3 α ,11 α -diol	<i>S. willeana</i>	(De la Torre et al., 1990)
69	Acide 3 α ,24-dihydroxyolean-12-en-28-oïque	<i>S. nicolsoniana</i>	(Pereda-Miranda et al., 1986)
70	Acide 3 α ,24-dihydroxyolean-12-en-28,30-dioïque	<i>S. nicolsoniana</i>	
71	2 α -acetoxyurs-5,12-diene-3 β ,11 α -diol	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 1999)
72	3-oxo-13(28)-epoxyursan-11-ene	<i>S. mellifera</i>	(Gonzalez et al., 1990)
73	Acide 3 β ,6 α ,23-trihydroxyurs-12,19(29)	<i>S. hierosolymitana</i>	(De Felice et al.,

	dien-28- Oique		2006)
74	Acide 2 α ,3 β ,20 β ,23-tetrahydroxyurs-12,19 (29) - dien-28-oique	<i>S. chinensis</i>	(Wang et al., 2009)
75	Acide (trans-p-coumaroyloxy)-3 β ,6 α ,30- trihydroxyurs-12-en-28-oique	<i>S.hierosolymitana</i>	(De Felice et al., 2006)
Oléanes			
76	Acide 2 α ,3 β -dihydroxyolean-28-oique	<i>S.hierosolymitana</i>	(De Felice et al., 2006)
77	1 β ,2 α ,3 β ,11 α -tetrahydroxyolean-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 1999)
78	3 β -acetoxyolean-12-ene-2 α ,11 α -dial	<i>S. argentea</i>	(Bruno et al., 1987)
79	3 β -acetoxyolean-12-ene-1 β ,2 α ,11 α -triol	<i>S. argentea</i>	(Bruno et al., 1987)
F80	Acide 3 β -hydroxy-1-oxoolean-12-en-28-oic (= <i>S. virgata</i> acide virgatique)	<i>S. virgata</i>	(Ulubelen et al., 1976)
81	Acide 3 α ,6 α ,24-trihydroxyolean-12-en-28- oique (= salvin B)	<i>S. santolinifolia</i>	(Mehmood et al., 2006)
82	Salvinemorol	<i>S. nemorosa</i>	(Ulubelen et al., 2004)
83	24-nor-2 α ,3 β -dihydroxyolean-4(23),12-ene	<i>S.hierosolymitana</i>	(De Felice et al., 2006)
84	Acide 2R,3R-dihydroxy-24-nor-4(23),12- oleanadien-28-oique	<i>S. carduacea</i>	(Ballesta-Acosta et al., 2002)
85	Acide 2 α ,3 α ,16 α -trihydroxy-24-nor-4(23),12- oleandien-28-oique	<i>S. palaestina</i>	(Cioffi et al., 2008)
86	Acide B przewanoique	<i>S. przewalskii</i>	(Wang et al., 1988)
87	Acide A przewanoique	<i>S. przewalskii</i>	(Wang et al., 1988)
88	1 β ,11 α -dihydroxyolean-18-en-3-one	<i>S. deserta</i>	(Savona et al., 1987)
89	23-hydroxygermanicone	<i>S. pomifera</i>	(Topçu et al., 1994)
90	Olean-13(18) -ene-2 α ,3 β ,11 α -triol	<i>S. pinnata</i>	(Ulubelen et al., 1984)
91	olean-(13)18-ene-2 β ,3 β -diol	<i>S. horminum</i>	(Ulubelen et al., 1977)

92	3 β -hydroxyoleanan-13 β →28 lactone	<i>S. lanigera</i>	(Al-Hazimi et al., 1987)
93	2 α ,20 β -dihydroxy-3 β -acetoxyurs-9(11),12-Diene	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 2004)
94	1 β ,2 α -dihydroxy-3 β -acetoxyurs-9(11),12-Diene	<i>S. kronenburgii</i>	(Topçu et al., 2004)
95	Deacetyloxysessein-7 α -(3 β -hydroxyolean-12-en-28-oate) (= reglin)	<i>S. regla</i>	(Ortega et al., 2008)
Lupanes			
96	671 lupeol	<i>S. palaestina</i>	(Hussein et al., 1997)
97	Lup-20(29)-ene-2 α ,3 β -diol	<i>S. palaestina</i>	(Hussein et al., 1997)
98	Lup-20(29)-ene-3 β ,23-diol	<i>S. palaestina</i>	(Hussein et al., 1997)
99	2 α -methoxylup-20(29)-en-3 β -ol	<i>S. palaestina</i>	(Hussein et al., 1997)
100	Palestinol	<i>S. triloba</i>	(Firdous et al., 1999)
101	7 β -hydroxylup-20(29)-en-3-one	<i>S. pratensis</i>	(Anaya et al., 1989)
102	1 β ,11 α -dihydroxylup-20(29)-en-3-one	<i>S. deserta</i>	(Savona et al., 1987)
103	(1 β ,3 β)-lup-20(29)-ene-1,3,30-triol	<i>S. sclareoides</i>	(Rauter et al., 2007)
104	3 α -O-acetyl-20(29)-lupen-2 α -ol	<i>S. trijuga</i>	45
105	1 β ,11 α ,20-trihydroxylupan-3-one	<i>S. deserta</i>	(Savona et al., 1987)
106	Lupane-3 β ,11 α ,20-triol	<i>S. phlomoides</i>	(García-Alvarez et al., 1981)
107	3 β -acetoxylupane-11 α ,20-diol	<i>S. phlomoides</i>	(García-Alvarez et al., 1981)
108	3-oxolupane-11 α ,20-diol	<i>S. phlomoides</i>	(García-Alvarez et al., 1981)
109	monogynol A	<i>S. macrochlamys</i>	(Topçu et al., 2007)
110	3 α -hydroxy-20-oxo-30-norlupane	<i>S. nubicola</i>	(Ali et al., 2005)
111	3 β -O-trans-p-coumaroylmonogynol A	<i>S. montbretii</i>	(Ulubelen et al., 1994)
112	3 β -O-cis-p-coumaroylmonogynol A	<i>S. montbretii</i>	(Ulubelen et al., 1994)
Dammaranes			
113	santolin B	<i>S. santolinifolia</i>	(Ahmad et al., 2008)

114	santolin A	<i>S. santolinifolia</i>	(Ahmad et al., 2008)
115	santolin C	<i>S. santolinifolia</i>	(Ahmad et al., 2008)
116	20S,24R-epoxydammar-12 β ,25-diol-3-one	<i>S. bicolor</i>	(Valverde et al., 1985)
117	7 β ,25-dihydroxy-(20S,24R)-epoxydammaran-3-one (= salvilymitone)	<i>S.hierosolymitana</i>	(Pedreros et al., 1990)
118	(20S,24R)-epoxydammarane-3 β ,7 α ,25-triol (= salvilymitol)	<i>S.hierosolymitana</i>	(Pedreros et al., 1990)
Autres terpenoïdes			
119	Salvadiol	<i>S. bucharica</i>	(Ahmad et al., 1999a)
120	salvadione A	<i>S. bucharica</i>	(Ahmad et al., 1999b)
121	salvadione B	<i>S. bucharica</i>	(Ahmad et al., 1999b)

Les polyphénols :

✚ Acides Phénoliques :

Depuis les années 1980, des scientifiques chinois et japonais ont étudié les constituants hydrosolubles de Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) et ont isolé plus de 20 acides phénoliques de cette plante. Ces acides phénoliques comprennent des monomères et des oligomères d'acide caféique, et ces derniers sont également appelés dépsides ou acides salvianoliques. La Przewalskinone B (122) était une nouvelle anthraquinone isolée de *S. przewalskii* (Lu et al., 1992). Les acides phénoliques polaires constituent la majeure partie des composants hydrosolubles des espèces *Salvia*. Les composés (124) et (129) sont des dérivés phénoliques qui ont été isolés de *S. moorcroftiana* (Zahid et al., 2003 ; Ishurd et al., 2001 ; Zahid et al., 2002). Les composés (125) et (126) sont deux esters phénoliques de l'extrait acétone de *S. microphylla* (Aydoğmuş et al., 2006). Un nouveau phényllactamide cyclique (123) a été isolé du rhizome de *S. miltiorrhiza*, (Amaro-Luis et al., 1998). Un autre composé (127) a été isolé de la même plante (Don et al., 2006). Trois nouveaux dérivés phénoliques glycosides (130, 131 et 136) ont été isolés de *S. officinalis* (Lu et al., 2000; Wang et al., 2000). L'eugényl glucoside (128) a été isolé de la même plante (Wang et al., 1998). Une étude plus approfondie de la même plante a donné six

autres composés : (132-135) (Lu et al., 2000 ; Wang et al., 1999), (141 et 142) (Lu et al., 1999). En 2009, des recherches phytochimiques sur la plante entière de *S. plebeia* ont permis d'isoler un nouveau phénylbutanone glucoside, le salviaplebeiaside (148) (Jin et al., 2009). Des recherches supplémentaires sur cette plante ont permis d'isoler, l'acide salvianolique L (149), qui a une activité antioxydante significativement meilleure que le trolox, l'acide caféique et l'acide rosmarinique, ce dernier étant le principal antioxydant phénolique de cette plante (Lu et al., 2001).

✚ Flavonoïdes :

Une nouvelle lavanone, nubatin (157), a été isolée de *S. nubicola* cueillies à Quetta, Pakistan (Ali et al., 2005). Les composés (159-166) sont six flavonoïdes isolés et identifiés à partir de *S. officinalis* (Husseïn et al., 1997 ; Lu et al., 2000 ; Lu et al., 2001). Les composés (746 et 747) sont deux nouveaux glycosides de flavone avec une liaison interglycosidique inhabituelle, isolés des pétales de *S. uliginosa* (Veitch et al., 1998). Le composé (169) est un nouvel anthocyane isolé de la même plante qui est le pigment responsable de la couleur des fleurs bleues chez la même plante (Ishikawa et al., 1999). Zahid et ses collaborateurs ont publié trois articles sur *S. moorcroftiana* entre 2001 et 2003, faisant état de l'isolement et de l'identification de quatre nouveaux flavonoïdes glycosides (170-173) (Zahid et al., 2003 ; Ishurd et al., 2001 ; Zahid et al., 2002). 174 isolés de *S. triloba* (El-Sayed et al., 2001).

✚ Autres :

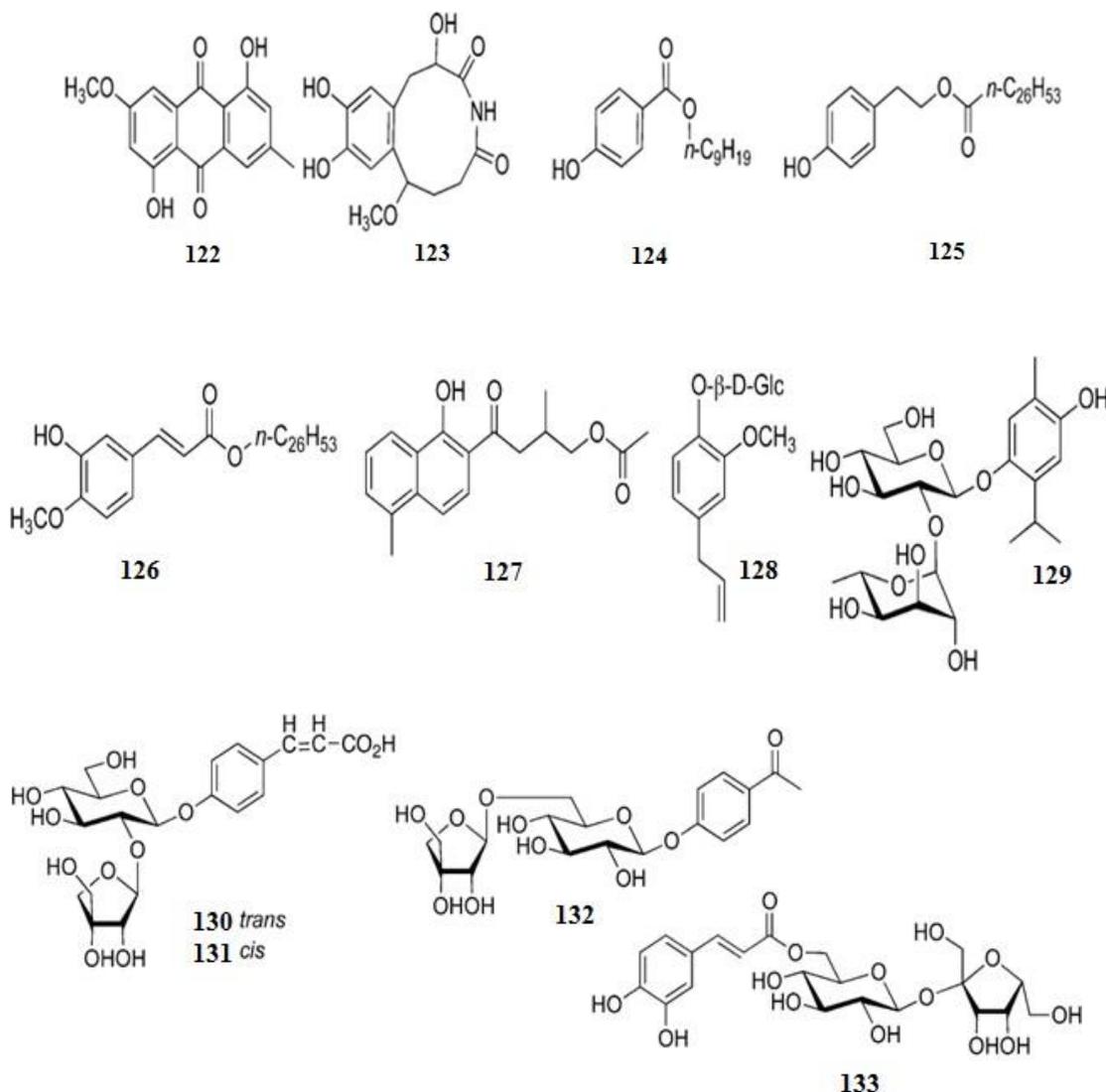
Trois nouveaux mégastigmane glycosides ont été isolés dans les parties aériennes de *S. nemorosa*, les salvionosides A – C (175-177), (Takeda et al., 1997). L'étude de *S. miltiorrhiza* a donné deux composés : un furane 2,5-disubstitué (180) et un composé contenant azoté (181) (Don et al., 2006 ; Don et al., 2005).

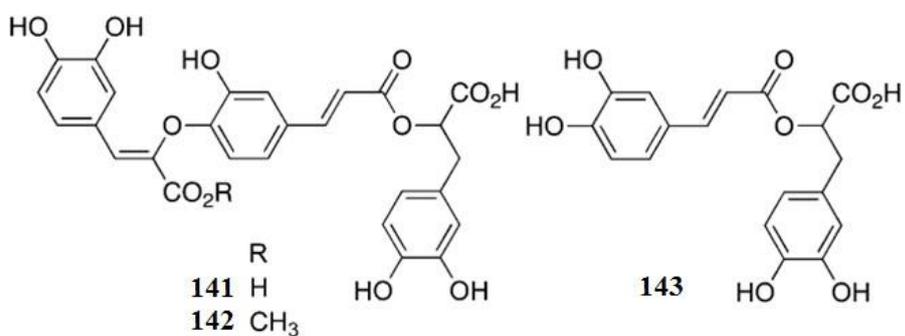
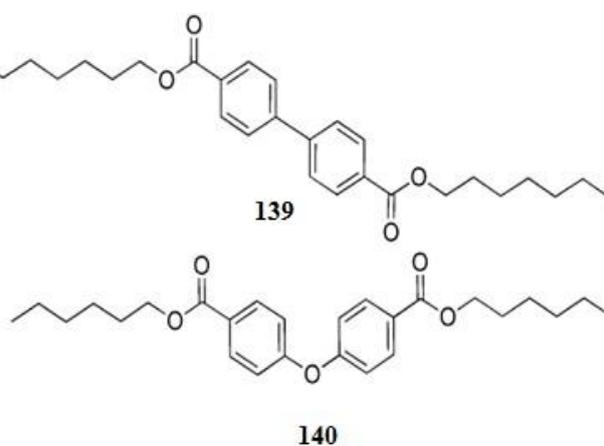
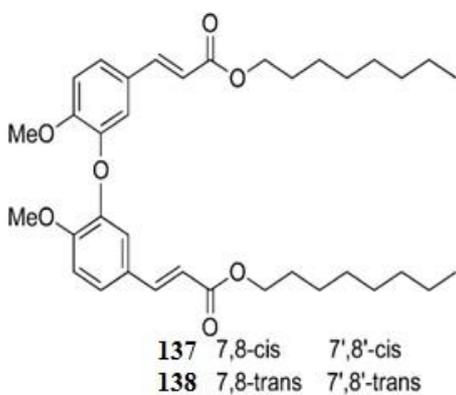
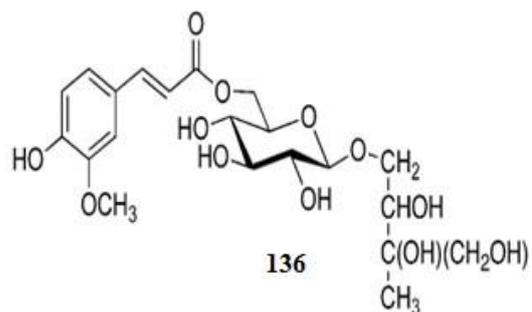
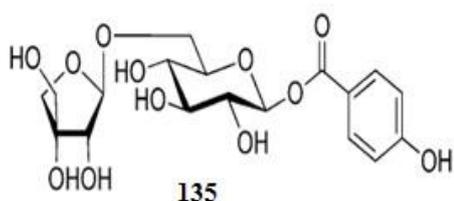
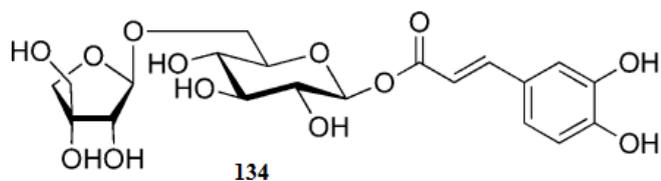
À partir de l'extrait EtOH de sauge de Dalmatie (*S. officinalis*), trois composés glycosidiques (192, 178 et 179) ont été isolés, parmi lesquels le composé (192) a un cycle époxy entre C-1 et C-8, et les composés (178 et 179) sont des norisoprénoïdes (Wang et al., 1998). Une autre étude approfondie de la même plante a donné trois autres composés : sagécoumarine (191) (Ishikawa et al., 1999), (193) (Wang et al., 2000) et (194) (Lu et al., 2001). Parmi lesquels le composé (191) a également été isolé de *S. miltiorrhiza* (Huang et al., 2001). Le composé (183) a été isolé de la même espèce (Yang et al., 1991). Zhang et ses collègues ont publié deux articles sur *S. yunnanensis* en 2008

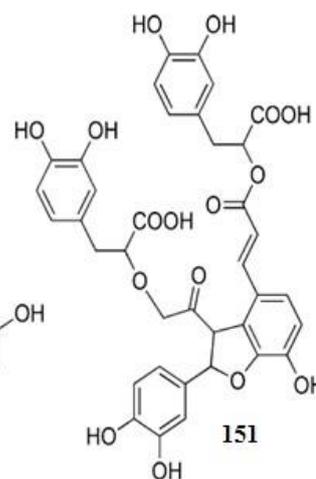
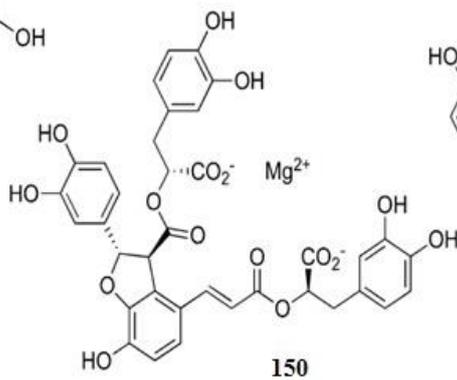
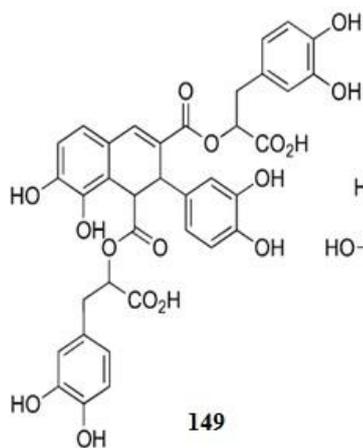
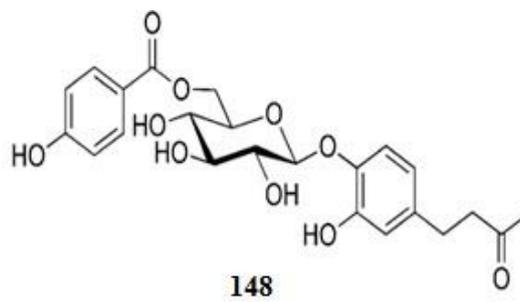
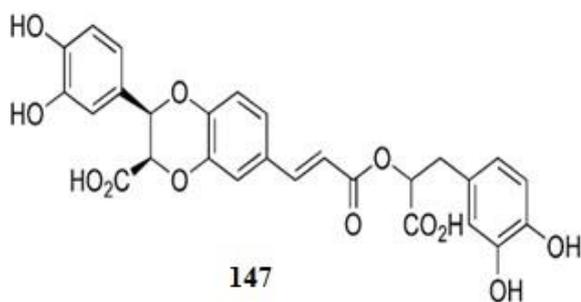
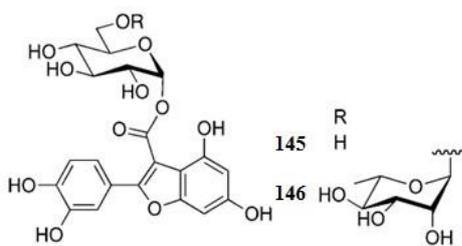
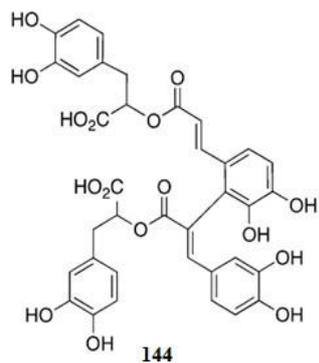
rapportant l'isolement et l'identification de l'acide salvianolique N (181), de l'acide salvianolique A (184), du méthyl salvianolate A (185), de l'éthylsalvianolate A (186), de l'acide lithospermique (187), et de l'acide cis-lithospermique (188). Parmi ceux-ci, le composé (182) a inhibé le VIH-1 IN *in vitro* et a également réduit l'antigène du VIH-1 7 dans les lignées cellulaires du MT-4.16 (Zhang et al., 2008). Les composés (189) et (190) sont deux diesterslignane issus des graines de *S. plebeia* (Powell et al., 1976 ; Plattner et al., 1978).

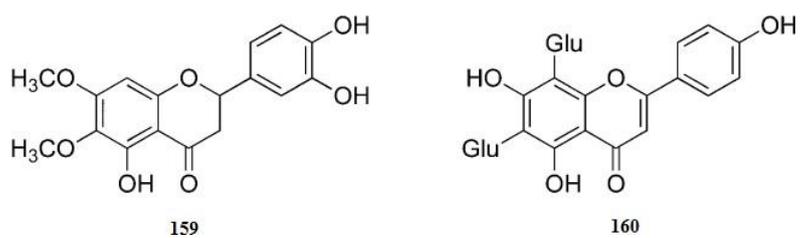
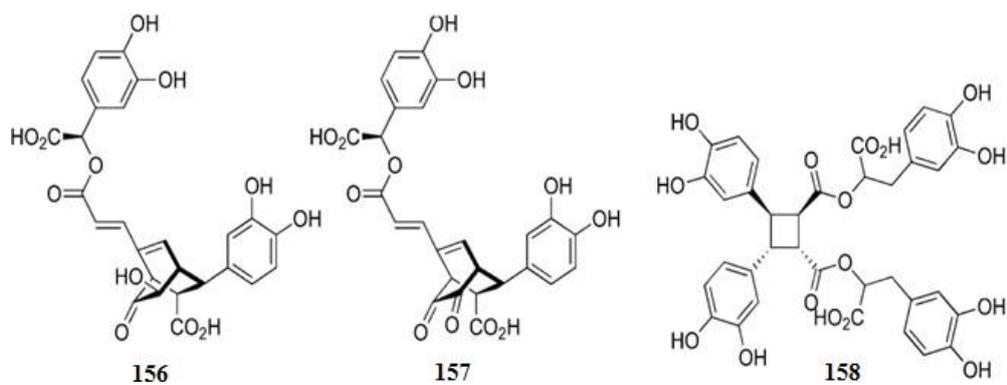
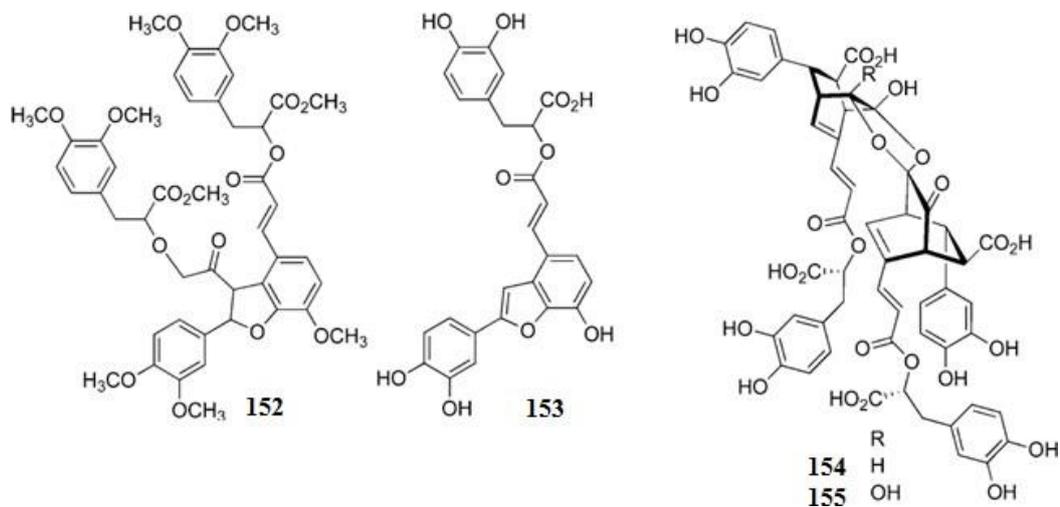
Autres composés :

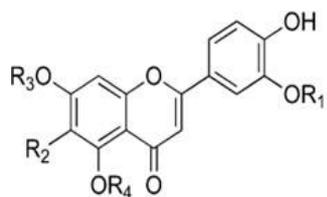
Quatre nouveaux composés aromatiques de type norditérpenoïdes, multicauline (196), 12-déméthylmulticauline (197), multiorthoquinone (198) et 12-déméthylmultiorthoquinone (199), deux nouveaux abietanéditerpénoïdes, 12-méthyl-5-déhydrohorminone (200) et 12-méthyl-5-déhydroacéthylhorminone (201), ainsi qu'un nouveau pimaranéditerpénoïde, salvipimarone (202), ont été isolées de *S. multicaulis* (Ulubelen et al., 1997).



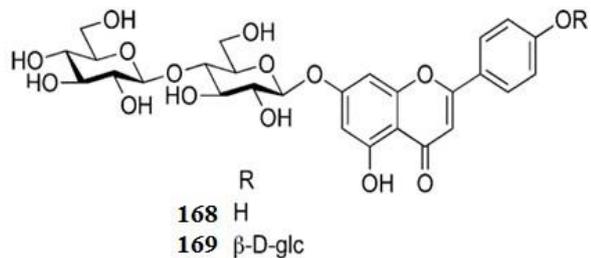




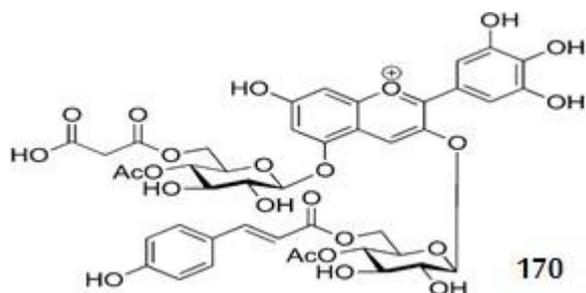




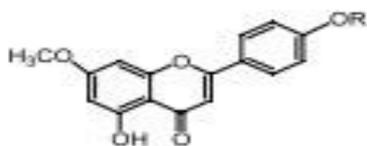
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
161	H	H	Glc	H
162	H	H	Glucu	H
163	Glucu	H	H	H
164	H	OH	Glc	H
165	H	OCH ₃	Glc	H
166	H	OH	H	Glc
167	H	OH	Glucu	H



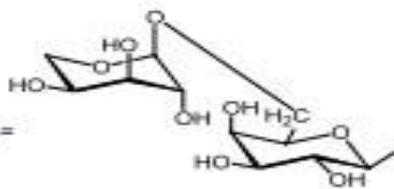
168 H
169 β-D-glc



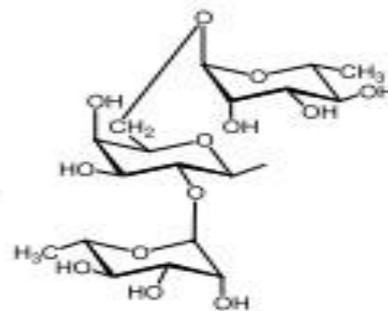
170

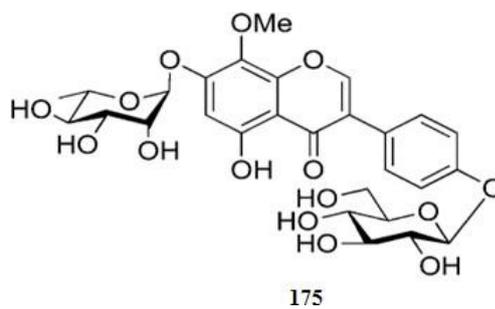
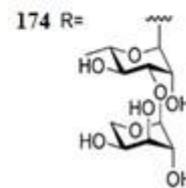
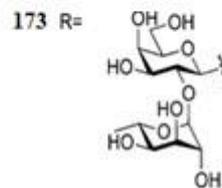
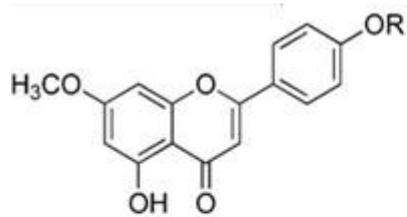


171 R =

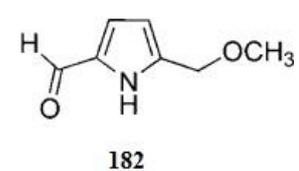
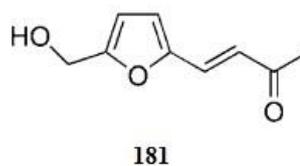
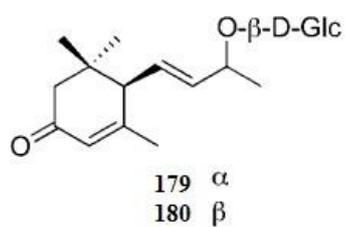
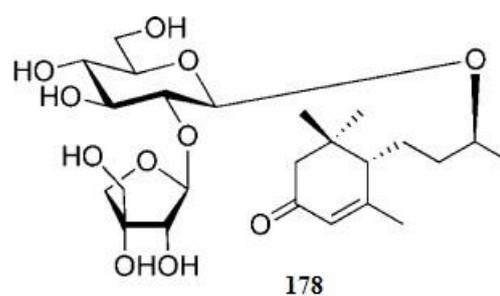
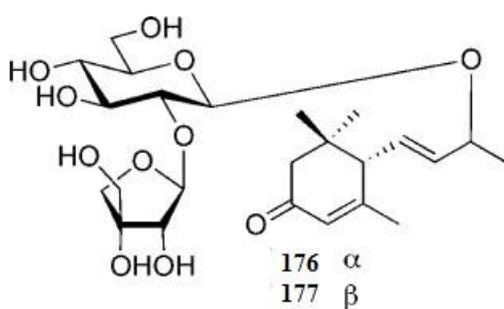


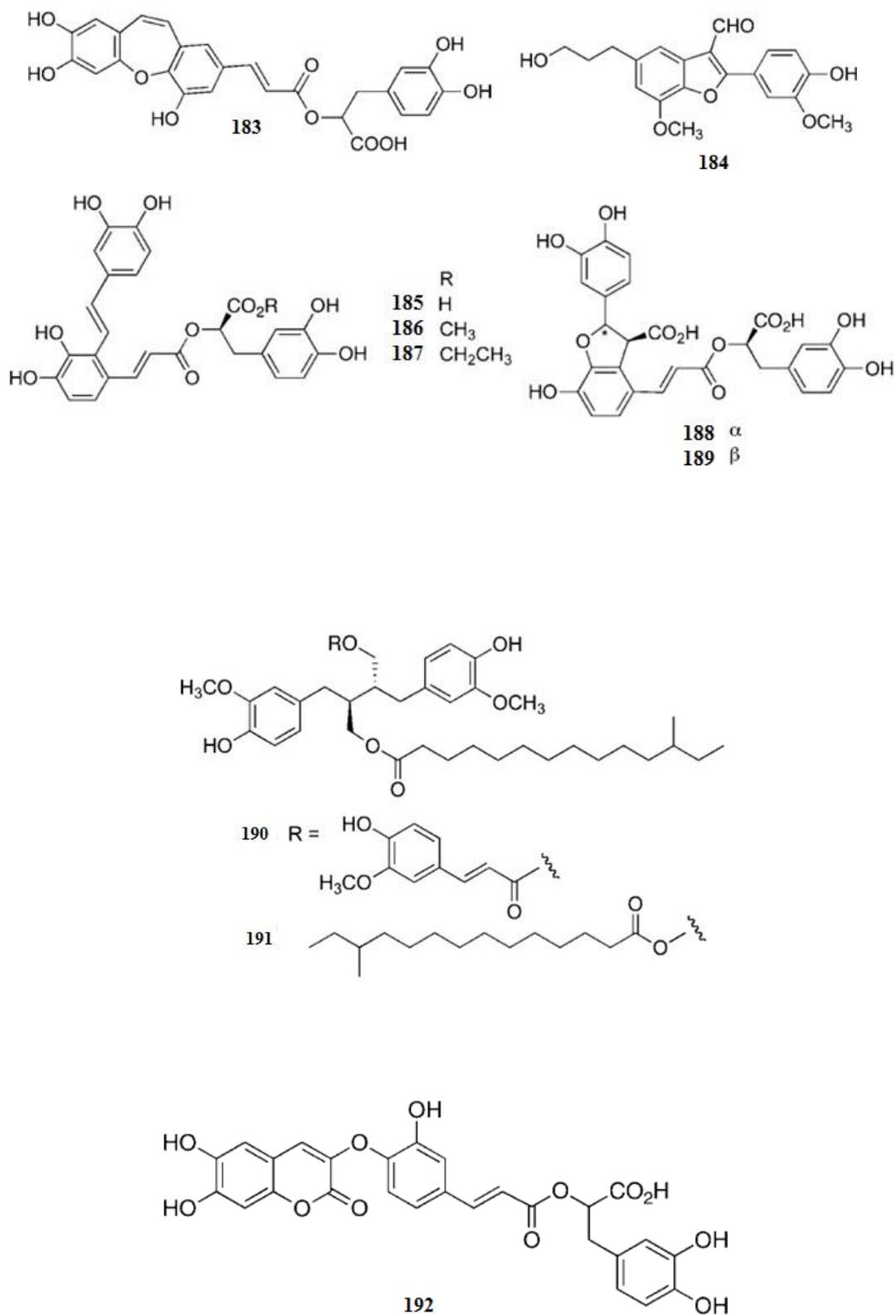
172 R =



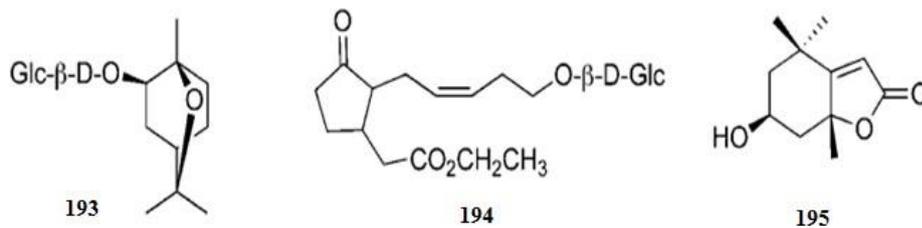


Flavonoïdes

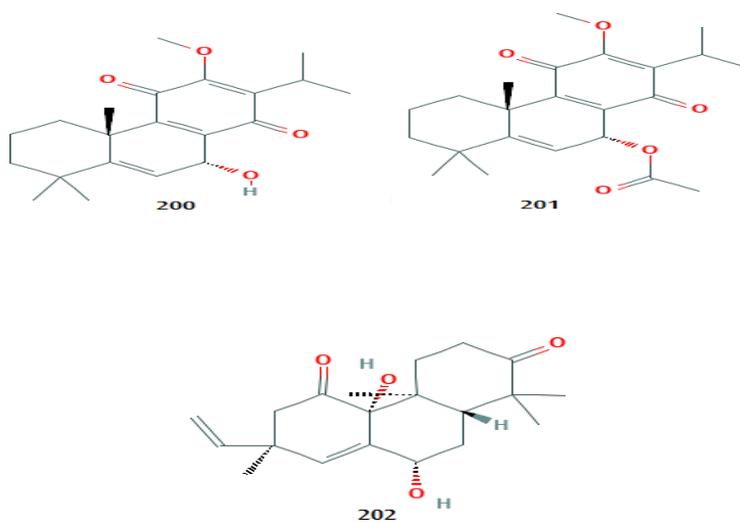
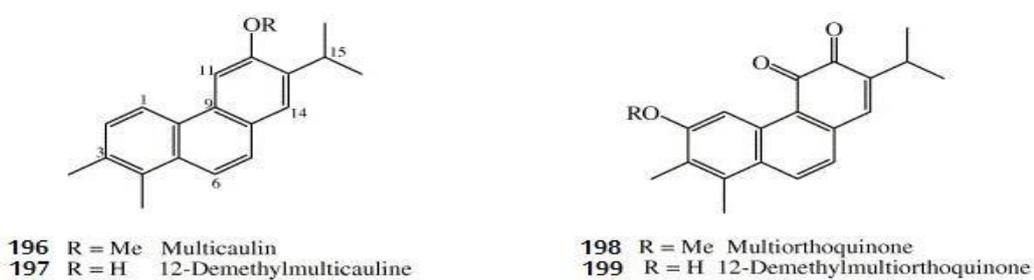




Acides phénoliques et lignanes



Autres



Autres composés

Figure 11 : Principaux polyphénols et autres composés isolés du genre *Salvia*.

Tableau 10 : Les polyphénols et les autres composés isolés du genre *Salvia*

N ^o	Composé	Espèce	Référence
Acides phénoliques			
122	przewalskinone B	<i>S. przewalskii</i>	(Lu et al., 1992)

123	2,10,11-trihydroxy-8-méthoxy-1,6,7,8-tétrahydro-2H-benzo [e] azécine-3,5-dione	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Choi et al., 2001)
124	nonyl 4-hydroxybenzoate	<i>S. moorcroftian</i>	(Zahid et al., 2003)
125	Acide eicosaheptanoïque 2-(p-hydroxyphényle) ester éthylique	<i>S. microphylla</i>	(Aydoğ mus et al., 2006)
126	Hexacosylferulate	<i>S. microphylla</i>	(Aydoğ mus et al., 2006)
127	4-(1-hydroxy-5-methylnaphthalen-2-yl)-2-méthyl-4-oxobutyl acetate (= salvianonol)	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Don et al., 2006)
128	Eugenylglucoside	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 1998)
129	4-hydroxy-2-isopropyl-5-méthylphényl-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside S.	<i>moorcroftiana</i>	(Zahid et al., 2003)
130	Acide trans-p-coumarique 4-O-(2'-O- β -D-apiofuranosyl)- β -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000)
131	Acide cis-p-coumarique 4-O-(2'-O- β -D-apiofuranosyl)- β -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000)
132	4-hydroxyacetophenone 4-O-(6'-O- β -D-apiofuranosyl)- β -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000)
133	6-O-caffeoyl- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 1999)
134	1-O-caffeoyl- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 1999)
135	1-O-p-hydroxybenzoyl- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 1999)
136	1-O-(2,3,4-trihydroxy-3-méthyl)butyl-6-O-feruloyl- β -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 2000)
137	Ester octanol de dimère de l'acide cis-O-méthyl caféique	<i>S. forskahlei</i>	(Ulubelen et al., 1996)
138	Ester octanol de dimère de l'acide trans-O-méthyl caféique	<i>S. forskahlei</i>	(Ulubelen et al., 1996)
139	Ester heptyle de l'acide 4,4'-bis-benzoïque	<i>S. multicaulis</i>	(Ulubelen et al., 1998)
140	(4,4'-hexyloxy-carbonylphényl) éther	<i>S. heldrichiana</i>	(Ulubelen et al.,

			1995)
141	Acide melitrique A	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 1999)
	Acide salvianolique I	<i>S. cavaleriei</i>	(Zhang et al., 1994)
142	Méthyl melitrate A	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 1999)
143	Acide salvianolique D	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Ai et al., 1992)
144	Acide salvianolique E	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Ai et al., 1992)
145	prionitiside A	<i>S. prionitis</i>	(Zhao et al., 1996)
146	prionitiside B	<i>S. prionitis</i>	(Zhao et al., 1996)
147	Acide salvianolique J	<i>S. flava</i>	(Ai et al., 1994)
148	4-{4-O-[6-(4-hydroxybenzoyl)-O-β-D-glucopyranosyl]-3-hydroxyphenyl}butan-2-one (= salviaplebeiaside)	<i>S. plebeia</i>	(Jin et al., 2009)
149	7,8-dihydroxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-1,2-dihydronaphthalene-1,3-dicarboxylic acid di(1-carboxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl))ethyl ester (= salvianolic acid L)	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2001)
150	lithospermate B	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Zhang et al., 2004)
151	Acide salvianolique B	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Ai et al., 1988)
152	diméthylheptaméthylsalvianolate B	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Ai et al., 1988)
153	Acide salvianolique C	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Ai et al., 1988)
154	Acide yunnanique A	<i>S. yunnanensis</i>	(Tanaka et al., 1996)
155	Acide yunnanique B	<i>S. yunnanensis</i>	(Tanaka et al., 1996)
156	Acide yunnanique D	<i>S. yunnanensis</i>	(Tanaka et al., 1996)
157	Acide yunnanique C	<i>S. yunnanensis</i>	(Tanaka et al., 1996)
158	Acide sagerinique	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 1999b)
Flavonoïdes			
159	Nubatin	<i>S. nubicola</i>	(Ali et al., 2005)
160	6,8-di-C-glucosylapigenin (= vicenin-2)	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000; Lu

			et al., 2001)
161	luteolin 7-O-β-D-glucoside	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000; Lu et al., 2001)
		<i>S. triloba</i>	(Abdalla et al., 1983)
162	luteolin 7-O-glucuronide	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000; Lu et al., 2001)
163	luteolin 3'-O-glucuronide	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000; Lu et al., 2001)
164	6-hydroxyluteolin 7-O-glucoside	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000; Lu et al., 2001)
165	6-methoxyluteolin 7-O-glucoside	<i>S. tomentosa</i>	(Ulubelen et al., 1979)
166	6-hydroxyluteolin 5-O-glucoside	<i>S. verticillata</i> <i>S. tomentosa</i>	(Ulubelen et al., 1984) (Ulubelen et al., 1981)
167	6-hydroxyluteolin 7-O-glucuronide	<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 2000)
168	Apigenin 7-O-β-D-glucopyranosyl-(1"→4")-β-D-glucopyranoside (apigenin 7-O-cellobioside)	<i>S. uliginosa</i>	(Veitch et al., 1998)
169	apigenin 7,4'-O,O-di-β-D-glucopyranoside (apigenin 7,4'-O,O-diglucoside)	<i>S. uliginosa</i>	(Veitch et al., 1998)
170	delphinidin 3-O-[6-O-(p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside]-5-O-[4-O-acetyl-6-O-malonyl-β-D-glucopyranoside]	<i>S. uliginosa</i>	(Ishikawa et al., 1999)
171	genkwanin 4'-O-α-L-arabinopyranosyl-(1→6)-β-D-galactopyranoside	<i>S. moorcroftiana</i>	(Zahid et al., 2002)
172	genkwanin 4'-O-{α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-D-galactopyranoside}	<i>S. moorcroftiana</i>	(Zahid et al., 2002)

173	genkwanin 4'-[O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside]	<i>S. moorcroftiana</i>	(Zahid et al., 2003)
174	genkwanin 4'-[O- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rham n pyranoside]	<i>S. moorcroftiana</i>	(Zahid et al., 2003)
175	8-methoxygenistein 7-O- α -L-rhamnoside 4'-O- β -D-glucoside	<i>S. triloba</i>	(El-Sayed et al., 2001)
Autres			
176	salvionoside A	<i>S. nemorosa</i>	(Takeda et al., 1997)
177	salvionoside B	<i>S. nemorosa</i>	(Takeda et al., 1997)
178	salvionoside C	<i>S. nemorosa</i>	(Takeda et al., 1997)
179	(6R,9R)-3-oxo- α -ionol β -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 1998)
180	(6R,9S)-3-oxo- α -ionol β -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 1998)
181	(E)-4-[5-(hydroxymethyl)furan-2-yl]but-3-en-2-one	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Don et al., 2006)
182	5-(methoxymethyl)-1H-pyrrole-2-carbaldehyde	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Don et al., 2005)
183	acide salvianolique N	<i>S. yunnanensis</i> <i>S. chinensis</i> <i>S. prionitis</i>	(Zhang et al., 2008) (Qian et al., 1992) (Zhao et al., 1996)
184	5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-2-(3'-methoxy-4'-hydroxyphenyl)-3-benzo[b]furancarbaldehyde	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Yang et al., 1991)
185	Acide salvianolique A	<i>S. yunnanensis</i> <i>S. flava</i> <i>S. prionitis</i> <i>S. miltiorrhiza</i>	(Zhang et al., 2008) (Ai et al., 1994) (Zhao et al., 1996) (Li et al., 1984)
186	methyalsalvianolate A	<i>S. yunnanensis</i>	(Zhang et al., 2008)
187	ethylsalvianolate A	<i>S. yunnanensis</i>	(Zhang et al., 2008)
188	Acide lithospermique	<i>S.</i>	(Zhang et al., 2008)

		<i>yunnanensis</i>	
189	Acide cis-lithospermique	<i>S.</i>	(Zhang et al., 2008)
		<i>yunnanensis</i>	
190	Lignansecoisolariciresinol diester	<i>S. plebeia</i>	(Powell et al., 1976; Imanshahidi et al., 2006)
191	Secoisolariciresinol diester	<i>S. plebeia</i>	(Plattner et al., 1978)
192	Sagecoumarine	<i>S. miltiorrhiza</i>	(Huang et al., 2001)
		<i>S. officinalis</i>	(Lu et al., 1999)
193	(1S,2R,4R)-1,8-epoxy-p-menthan-2-yl-O-β-D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 1998)
194	ethyl O-β-D-glucopyranosyltuberonate	<i>S. officinalis</i>	(Wang et al., 2000)
195	Loliolide	<i>S. divinorum</i>	(Valdes et al., 1986)
	Autres composés		
196	Multicauline	<i>S. multicaulis</i>	Ulubelen et al., 1997
197	12- Demethylmulticauline	<i>S. multicaulis</i>	Ulubelen et al., 1997
198	Multiorthoquinone	<i>S. multicaulis</i>	Ulubelen et al., 1997
199	12-Demethylmultiorthoquinone	<i>S. multicaulis</i>	Ulubelen et al., 1997
200	12-methyl-5-dehydrohorminone	<i>S. multicaulis</i>	Ulubelen et al., 1997
201	12-methyl-5-dehydroacetylhorminone	<i>S. multicaulis</i>	Ulubelen et al., 1997

202	Salvipimarone	<i>S. multicaulis</i>	Ulubelen et al., 1997
-----	---------------	-----------------------	--------------------------

Quelques activités biologiques reconnues du genre *Salvia*

Les espèces du genre *Salvia* ont été sujettes à plusieurs études scientifiques mettant en avant leurs propriétés et leur intérêt biologique. Nous rapportons dans notre étude bibliographique certaines activités du genre *Salvia* :

• Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits, d'éthanol, eau et huiles essentielles de *Salvia ringens* a été évaluée sur six bactéries Gram négatif : *Esherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas tolaasii*, *Pseudomonasa d'influenza*, *Proteus mirabilis* et cinq bactéries Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus flavus*, *Sarcinalutea* et *Listeria monocytogenes*. Les résultats de cette étude ont montré que l'huile essentielle possède l'activité antibactérienne la plus forte avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) (CMI 9,50–17,10 mg / ml), suivie de l'extrait éthanol (CMI 5–20 mg /ml) et de l'extrait aqueux (CMI de 15 à 30 mg /ml). (Alimpic et al., 2015).

• Activité cytotoxique

Les extraits éthanol et aqueux de *S. amplexicaulis* présentaient des effets cytotoxiques très différents sur la lignée cellulaire HCT-116 du carcinome humain ($p < 0,05$), l'activité de l'extrait aqueux étant supérieure à celle de l'éthanol et les deux extraits ont été plus efficaces après 24 h qu'après 72 h de traitement. (Alimpic et al., 2017).

• Activité antituberculeuse

Une étude menée par (Ulubelen et al., 1997) a montré que L'activité antituberculeuse des composés isolés des racines de *Salviamulticaulis* (multicaulin (196), 12- demethylmulticauline (197), multiorthoquinone (198), 12-demethylmultiorthoquinone (199), 12-methyl-5-dehydrohorminone (200) 12-methyl-5-dehydroacetylhorminone (201), salvipimarone (202)), a été testée contre la souche H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*, et tous les composés ont été significativement actifs, les molécules 197 et 199-201 étant les substances les plus actives.

• Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de parties aériennes de *Salvia lanigera* Poir. a été évaluée à l'aide des méthodes DPPH et FRAP, avec trois standards antioxydants l'acide L-ascorbique, tert-butyl-4-hydroxy toluène (BHT) et acide gallique. L'activité de l'échantillon dans les deux méthodes était supérieure à celle de tous les standards utilisés à la même dose (Tenore et al., 2011).

Une étude menée par (Alimpić et al., 2015) présente l'activité antioxydante de quelques espèces sélectionnées du genre *Salvia* poussant à l'état sauvage en Macédoine (*S. jurisicii* Košanin, *S. amplexicaulis* Lam., *S. ringens* Sibth. & Sm.) et en Libye (*S. fruticosa* Mill. et *S. lanigera* Poir.). Les activités antioxydantes des extraits hydroalcooliques ont été évalués à l'aide des tests DPPH, ABTS et FRAP. Les extraits de *S. amplexicaulis* et de *S. ringens* ont montré l'activité antioxydante la plus forte, mesurée à l'aide des tests DPPH ($14,21 \pm 0,00$ et $23,44 \pm 0,00$ $\mu\text{g} / \text{mL}$, respectivement) et ABTS ($2,91 \pm 0,019$ et $2,42 \pm 0,019$ mg AAE / g, respectivement). Dans les analyses FRAP, les extraits de *Salvia amplexicaulis* et *Salvia fruticosa* a présentaient la plus forte activité ($1406,73 \pm 8,055$ et $1191,51 \pm 8,109$ $\mu\text{mol de Fe (II)/g}$).

• Activité anticorrosion

Une étude de *Salvia officinalis* en tant qu'inhibiteur de corrosion de l'acier au carbone 1018 dans 0,5 M H_2SO_4 a été réalisée à l'aide de tests gravimétriques. Les techniques électrochimiques comprenaient les courbes de polarisation potentiodynamique et les mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS). Les températures d'essai incluaient 25, 40 et 600 ° C. Il a été constaté que *Salvia officinalis* agit comme un bon inhibiteur de corrosion pour l'acier au carbone, son efficacité augmentant avec la concentration et diminuant avec la température d'essai (Rodríguez-Torres et al., 2015).

III.3. Présentation de l'espèce *Salvia microphylla***Description botanique**

La sauge à petites feuilles est un arbrisseau de 1 m à 1,30 m de haut et de large, de port dressé. Toutes les parties sont fortement aromatiques. Les rameaux sont tétragones (à 4 angles) et pubescents. Les feuilles opposées, de forme elliptique à ovale, sont portées par un pétiole de 1 à 1,5 cm de long. Le limbe de taille variable (en gén. de longueur double du pétiole), aux marges crénelées, est vert foncé. À la moindre manipulation, les feuilles dégagent une forte odeur

semblable à celle de la menthe et du cassis. Les fleurs croissent en épis terminal, constitué d'une série de verticilles de fleurs, à l'extrémité des rameaux. Le calice est tubuleux, strié, hirsute, bilabié, la lèvre inférieure est bifide. La corolle est rouge pourpre à rose foncé (à l'état sauvage³) de longueur triple du calice, le tube est renflé. La lèvre inférieure, bilobée, s'étale largement ; la lèvre supérieure est petite, en forme de casque. La floraison s'étale de mai aux gelées.

Distribution

Salvia microphylla est originaire du sud des États-Unis et du Mexique. La plante est cultivée dans de nombreuses régions du monde. Elle est subspontanée en région méditerranéenne.

Usages

- Horticole

Salvia microphylla est un arbuste en touffe, au feuillage caduc, demandant une exposition ensoleillée. De culture facile dans les régions tempérées chaudes, cette sauge croît rapidement.

Très florifère, elle reste fleurie de mai aux gelées. Elle résiste jusqu'à -12 °C. Pour garder sa vigueur, on la rabat sévèrement avant l'hiver. Plus la taille sera drastique, plus abondante sera la floraison.

La couleur des fleurs de certains cultivars peut changer au cours des saisons : rouge au printemps et à l'automne, bicolore (rouge et blanc) durant les mois les plus chauds.

- Médicinal

Salvia microphylla est communément utilisée en médecine populaire, dans les rituels de guérison au Mexique et en Amérique centrale (Jenks A. A., 2009) d'un grand nombre de maux nommés *susto*, *espanto*, *mal de aire*, *nervios*, *mal de ojo*, *aigre de viento*. Une infusion de la plante en fleur est consommée durant toute la journée que dure le rituel.

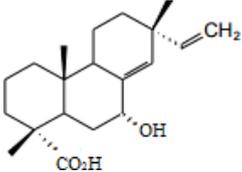
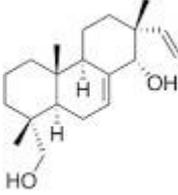
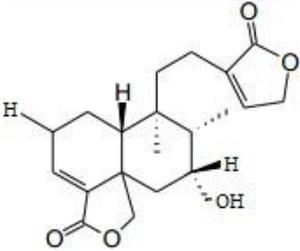
En dehors de cette médecine populaire, l'usage le plus fréquent de *Salvia microphylla* est pour les maux d'estomac et les troubles gastro-intestinaux. L'infusion de la plante est prise pour arrêter la diarrhée parfois en association avec la grande camomille (*Tanacetum parthenium*).

Principaux métabolites secondaires de l'espèce *Salvia microphylla*

Précédemment, cinq investigations ont été menées sur l'espèce *Salvia microphylla*. Une investigation phytochimique sur l'extrait acétone des feuilles et des tiges de cette plante qui a été étudiée au Mexique, a permis l'isolement de l'acide 7 α -hydroxysandaracopimarique (203), du

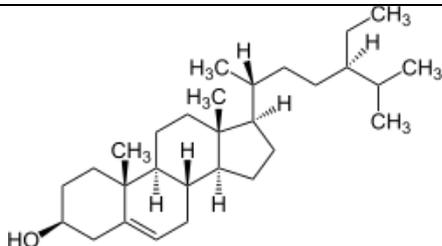
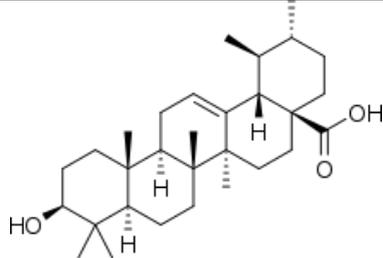
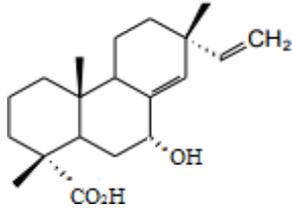
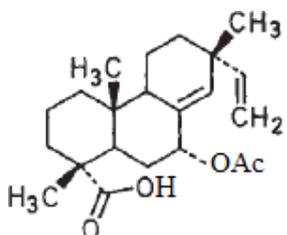
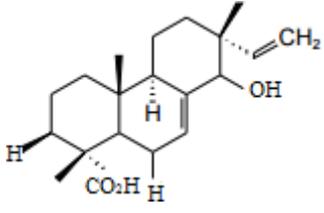
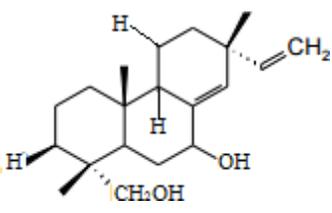
7,15-isopimaradien- 14 α , 18-diol (204) et du 7 α -hydroxy-neoclerodane- 3,13-diene-18, 19 : 15,16-diolide (205) (Esquivel et al., 1987).

Tableau 11 : Produits isolés du *Salvia microphylla*

N°	Molécules	Structures chimiques	Réf
203	Acide 7 α -hydroxysandaracopimarique		Esquivel et al., 1987
204	7,15-isopimaradien- 14 α , 18-diol		Esquivel et al., 1987
205	7 α -hydroxy-neoclerodane-3,13-diene-18, 19 : 15,16-diolide		Esquivel et al., 1987

Une nouvelle étude des parties aériennes de *Salvia microphylla* a permis l'isolement du β -sitostérol (206), de l'acide ursolique (207), en plus des quatre diterpénoïdes de type pimarane. Leurs structures ont été identifiées comme étant l'acide 7 α -hydroxysandaracopimarique (203), l'acide 7 α acetoxysandaracopimarique (208), l'acide 14 α -hydroxyisopimarique (209) et l'acide 8(14), 15-sandaracopimaradien-7 α , 18-diol (210) (Esquivel et al., 1987).

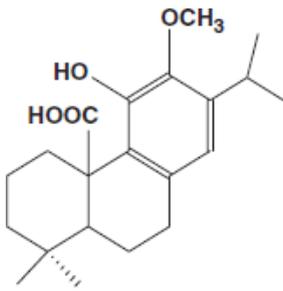
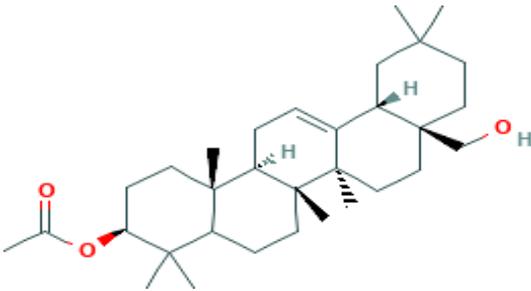
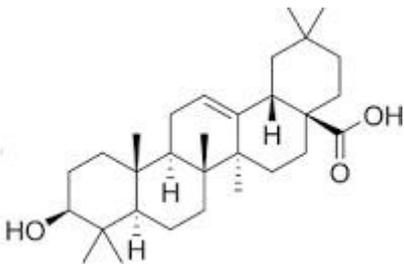
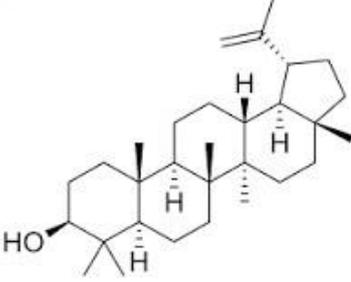
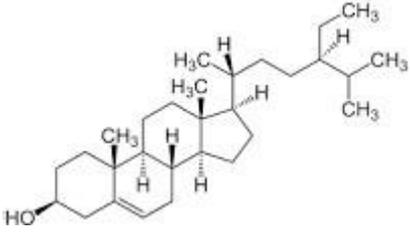
Tableau 12 : Produits isolés du *Salvia microphylla* (suite).

N°	Molécules	Structures chimiques	Réf
206	β -sitostérol		Esquivel et al., 1987
207	acide ursolique		Esquivel et al., 1987
203	acide hydroxysandaracopimarique 7α -		Esquivel et al., 1987
208	acide acetoxysandaracopimarique 7α		Esquivel et al., 1987
209	acide 14α -hydroxyisopimarique		Esquivel et al., 1987
210	acide 8(14), 15-sandaracopimaradien- 7α , 18-diol		Esquivel et al., 1987

Une nouvelle étude de l'extrait acétone de *Salvia microphylla* de Turquie a permis l'isolement d'un nouvel ester phénolique 2-(*p*-hydroxyphényle) ester d'acide éicosaheptanoïque (211) et un hexacosylferulate connu (212) ont été isolés de l'extrait acétone de *Salvia microphylla*. En outre, deux sesquiterpenes : le β -eudesmol (213) et le 8-hydroxy- β -eudesmol (214), un diterpene acide carnosique 12-méthylether (acide 12-méthoxycarnosique) (215), trois triterpenes : l'erithrodiol 3-acétate (16), l'acide oléanolique (217), le lupéol (218) et le β -sitostérol (219) ont été obtenus comme composés connus à partir de cet extrait de plante.

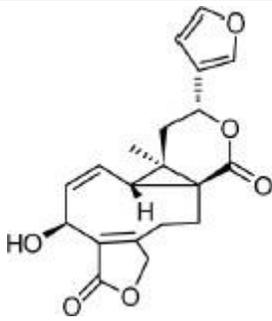
Tableau 13 : Produits isolés du *Salvia microphylla* (suite).

N	Molécules	Structures chimiques	Réf
211	2-(<i>p</i> -hydroxyphényle) ester d'acide éicosaheptanoïque		Aydoğmuş et al., 2006
212	hexacosylferulate		Aydoğmuş et al., 2006
213	β -eudesmol		Aydoğmuş et al., 2006
214	8-hydroxy- β -eudesmol		Aydoğmuş et al., 2006

215	Acide methoxycarnosique 12-		Aydoğmuş et al., 2006
216	3-O-Acetylerthrodiol		Aydoğmuş et al., 2006
217	Acide oléanolique		Aydoğmuş et al., 2006
218	Lupéol		Aydoğmuş et al., 2006
219	β-sitostérol		Aydoğmuş et al., 2006

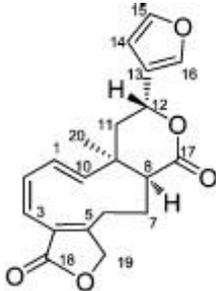
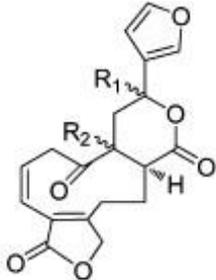
Une autre étude a mené à l'isolement du microphyllandiolide (220) (Bautista et al., 2013). (Tableau 14).

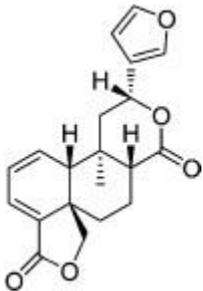
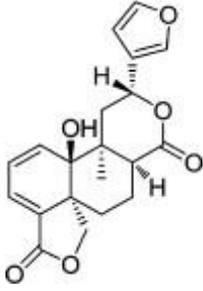
Tableau 14 : Produits isolés du *Salvia microphylla* (suite).

N°	Molécules	Structures chimiques	Réf
220	Microphyllandiolide,		Bautista et al., 2013

L'étude de Bautista et al., (2014) a mené à l'isolement de deux nouveaux 5,10-seco-neo-clérodanes, salvimicrophyllines A et B (221 et 222), et deux nouveaux néo-clérodanes, salvimicrophyllines C et D (223 et 224) qui ont été isolés des feuilles et des fleurs de *Salvia microphylla*.

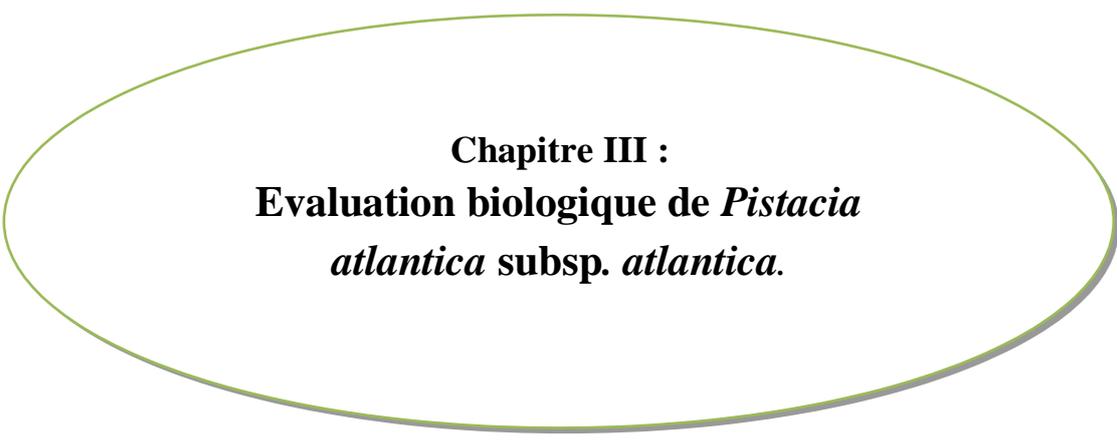
Tableau 15 : Produits isolés du *Salvia microphylla* (suite).

N°	Molécules	Structures chimiques	Réf
221	Salvimicrophylline A		Bautista et al., 2014
222	Salvimicrophylline B	 <p>2 R₁ = β-H, R₂ = α-CH₃</p>	Bautista et al., 2014

223	Salvimicrophylline C	 <p>The chemical structure of Salvimicrophylline C is a complex polycyclic molecule. It features a central six-membered ring fused to a five-membered ring, which is further fused to a six-membered ring. A benzene ring is fused to the five-membered ring. A five-membered furan ring is attached to the six-membered ring via an oxygen atom. A carboxylic acid group is attached to the six-membered ring. Stereochemistry is indicated with wedged and dashed bonds.</p>	Bautista et al., 2014
224	Salvimicrophylline D	 <p>The chemical structure of Salvimicrophylline D is similar to Salvimicrophylline C but includes a hydroxyl group (-OH) on the five-membered ring. The stereochemistry of the hydroxyl group is indicated with a wedged bond.</p>	Bautista et al., 2014

Conclusion

A la lumière de ces données, on peut confirmer le profil chimique du genre *Salvia*, on trouve couramment des flavonoïdes, des diterpénoïdes et des sesquiterpénoïdes. Cette étude s'est concentrée sur l'investigation phytochimique de l'espèce *Salvia microphylla*, qui a été très peu étudiée du point de vue phytochimique en Algérie.



Chapitre III :
Evaluation biologique de *Pistacia*
***atlantica* subsp. *atlantica*.**

I. Introduction

L'utilisation des plantes comme source de remèdes pour le traitement de nombreuses maladies remonte à la préhistoire, et de nombreuses populations ont cette vieille tradition, car elle représente une source importante de molécules actives. Ces dernières années, des efforts importants ont été consacrés aux plantes médicinales afin d'extraire des antioxydants naturels non toxiques et peu coûteux (Khan et al., 2010) et qui constituent une excellente source de composés naturels exerçant une grande variété d'activités biologiques (Cragg et al., 2000). Ce chapitre comporte deux parties, une première renferme un criblage chimique afin d'identifier et de quantifier les acides phénoliques présents dans les extraits AcOEt et *n*-BuOH des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* par la technique HPLC-TOF/MS, suivi de l'évaluation des activités antioxydante, anticholinestérase, alpha-glucosidase et antiproliférative de ces extraits.

II. Activité antioxydante

Le stress oxydant, les radicaux libres et les antioxydants sont des termes de plus en plus utilisés dans le domaine de la recherche scientifique ou dans le domaine de la santé. Généralement les réactions d'oxydoréduction font intervenir des intermédiaires radicalaires. Ces réactions sont omniprésentes dans le milieu vivant et gouvernent des processus aussi importants que la reproduction des espèces, la mutagenèse, la défense contre les maladies. Ces réactions interviennent dans le vieillissement et dans certaines pathologies.

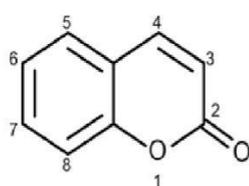
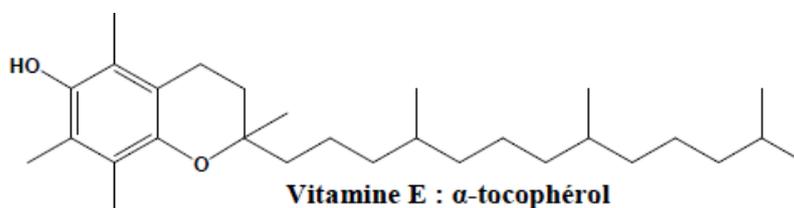
Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié (Halliwell et Gutteridge., 1995). La principale voie de production des radicaux libres est la rupture homolytique d'une liaison covalente en deux entités possédant chacune un électron, les autres étant l'élimination ou l'addition d'un électron. Ces réactions sont endergoniques. Une fois produits, les radicaux sont souvent instables, donc réactifs et leur durée de vie est très courte (de l'ordre d'une micro à une nano-seconde). De par sa structure particulière, le radical libre a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité ce qui entraîne la création d'un nouveau radical libre et donc l'extension et la prolifération du phénomène, ce qui va engendrer des réactions en chaînes entraînant la destruction ou la mutation cellulaire (Gardès-Albert, 2003).

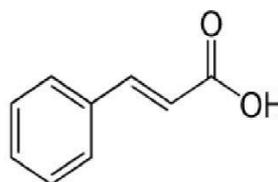
Les antioxydants

Les antioxydants sont définis par Halliwell (1999) comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine. On divise les antioxydants en deux grandes classes : les antioxydants endogènes (enzymatiques) et les antioxydants exogènes (non enzymatiques), selon qu'ils sont produits ou non par l'organisme. Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme telle que le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, toutes trois présentes dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie (Baba et McGrath, 2008). Les antioxydants exogènes sont fournis par l'alimentation. On retrouve le bêta-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), le lycopène et les composés phénoliques représentés par les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines et les lignanes. Il y a aussi divers minéraux tels que le zinc, le sélénium, le cuivre, le manganèse et le fer.

On peut trouver également des antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) ou encore la tétrabutylhydroquinone (TBHQ) qui sont largement utilisés (Figure 12).



Coumarine



Acide cinnamique

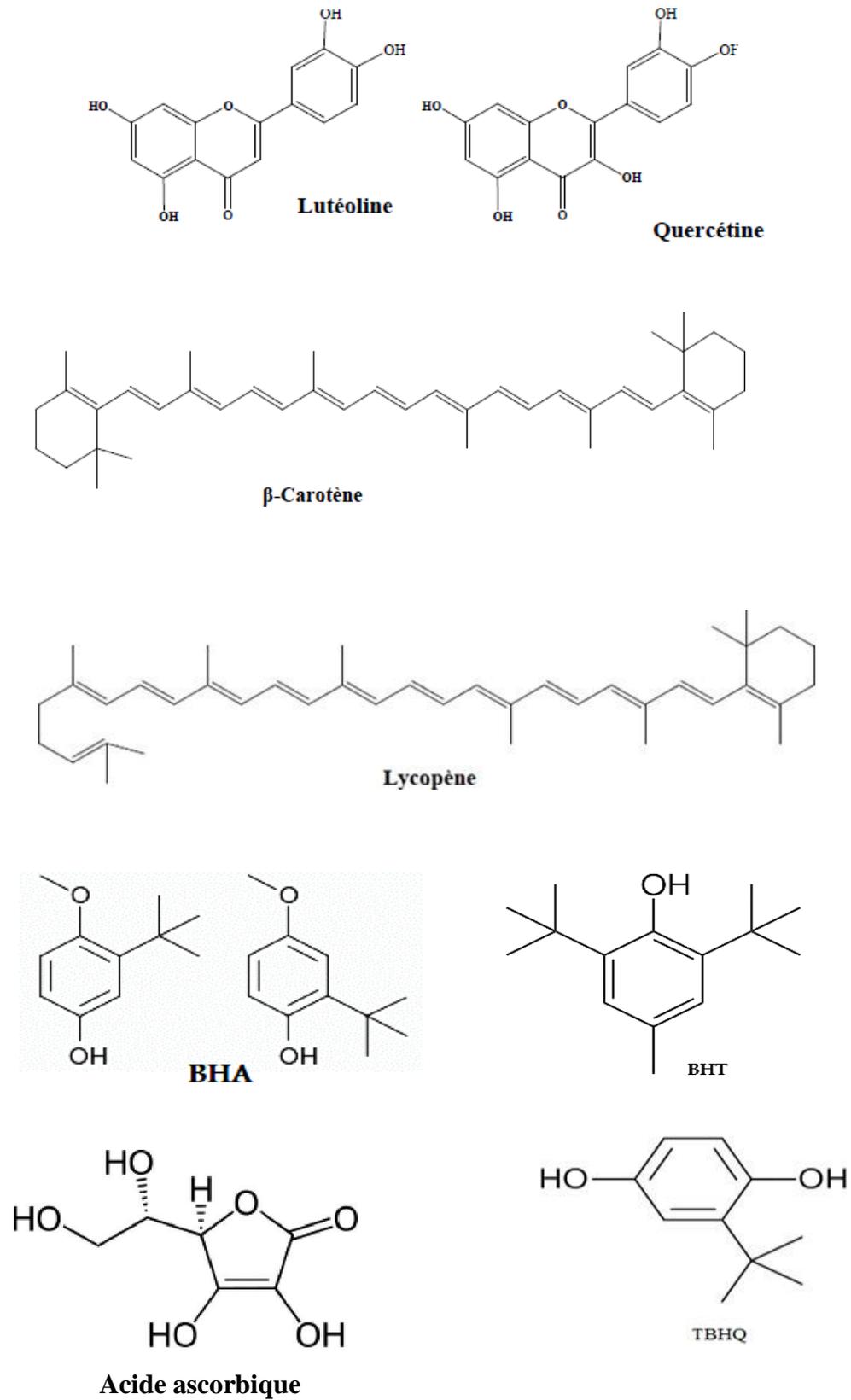


Figure 12: Principaux composés naturels (ou synthétisés) possédant des propriétés antioxydantes

Le stress oxydant

Les radicaux libres sont des molécules instables et fortement réactives (Suresh et al., 2008), entraînant le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (Ratnam et al., 2006). Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece et al., 2007). Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs prooxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Magder et al., 2006).

Les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes qui ont été mises au point pour l'estimation *in vitro* du pouvoir antioxydant d'un échantillon. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante : *Pistacia atlantica* a été déterminée selon quatre méthodes différentes : DPPH, ABTS, CUPRAC et le pouvoir réducteur.

Méthode DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) (Figure 13) est un radical libre stable, possédant une coloration violette foncée, il est réduit en présence des antioxydants pour donner la couleur jaune du diphénylpicrylhydrazine (Blois., 1958). Plus la substance est antioxydante et plus la coloration violette initiale va disparaître. L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie à 517nm (Blois1958).

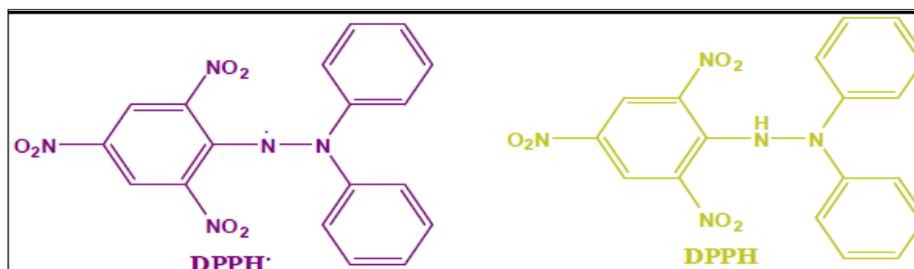


Figure 13: Structure 2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazyl et 2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazine

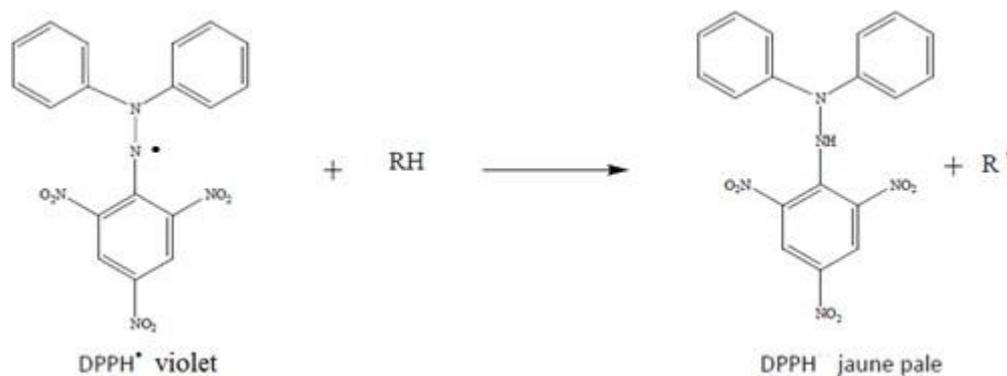


Figure 14 : Transformation du radical DPPH en DPPH.

Le BHA (ButylHydroxy Anisole) ainsi que le BHT (ButylHydroxy Toluene) sont utilisés comme témoins positifs. Une masse de 6 mg de DPPH est dissoute dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH dissous dans le méthanol est gardé à -20°C à l'abri de la lumière afin de préparer une solution de 0,4mM de DPPH. Un volume de 160 µl de cette solution est déposé sur une microplaque à 96 puits, puis on ajoute 40 µl d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol à des concentrations différentes. Après on incube 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'activité anti radicalaire est exprimée en pourcentage de DPPH réduit selon la formule :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

Ablanc : Absorbance en absence de l'extrait (contrôle négatif).

Aextrait : Absorbance en présence de l'extrait.

Piégeage de l' ABTS^{•+}

En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique) forme le radical cation ABTS^{•+}, de couleur bleue à verte. L'ajout d'antioxydants va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange et retrouve son état neutre, incolore. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants. (Re et al., 1999).

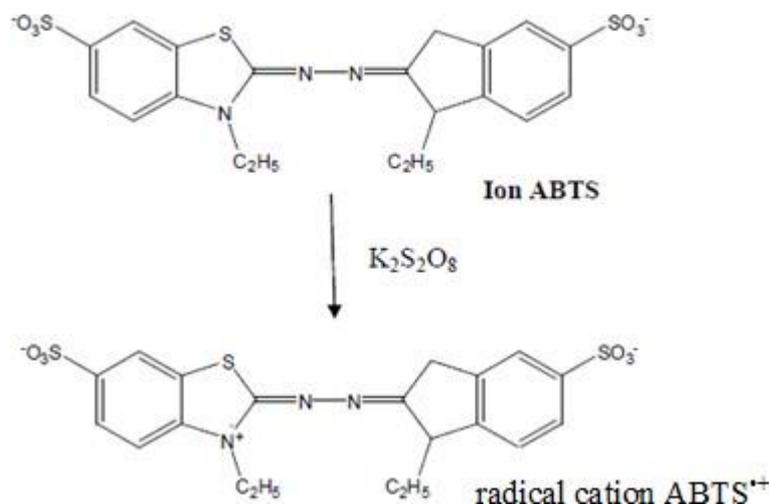


Figure 15 : Oxydation de l'ABTS avec K₂S₂O₈ et génération du radical ABTS^{•+}.

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de (Re et al., 1999), à partir de l'ABTS (7 mM) et du persulfate de potassium K₂S₂O₈ (2.45 mM) : les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par l'Ethanol à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage. Ensuite, un volume de 160 μl de la solution de L'ABTS^{•+} précédemment préparé a été ajouté à 40 μl de la solution d'extrait dissout à différentes concentrations. 10 min après, en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits, l'absorbance a été mesurée à 734 nm.

Les pourcentages d'inhibition ont été calculés pour chaque concentration par rapport à une absorbance à blanc de méthanol. La capacité de piégeage des ABTS^{•+} a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \% \text{ d'Inhibition} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

A contrôle : est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A échantillon : est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

Méthode du CUPRAC

La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproéne (NC), cuivre (Cu²⁺) $\text{Nc}^{2-}\text{Cu}^{+2}$. En

effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproïne est réduit et cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450 nm (Apak et al., 2004). Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu^{+2} -Nc, produisant ainsi un complexe chromogène de Cu^{+} -Nc qui absorbe à 450 nm (Figure 3.5) La méthode du CUPRAC mesure le pouvoir antioxydant à un pH à peu près physiologique (environ $\text{pH}=7$), et à 450 nm de sorte qu'il simule mieux l'action physiologique de ces antioxydants. Le CUPRAC chromophore monovalent chargé $[\text{Cu}(\text{Nc})^{2+}]$ est soluble dans les deux solvants aqueux et organiques, ce qui permet la détermination simultanée des antioxydants hydrophiles et lipophiles (Apak et al., 2004).

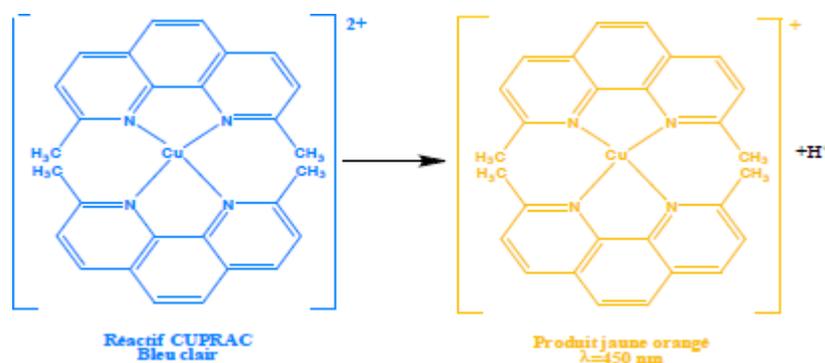


Figure 16 : Réduction du complexe chromogène de Cu^{+2} -Nc.

La réduction du cuivre a été déterminée par la méthode CUPRAC décrite par Apak (Apak et al., 2004). Dans une microplaque de 96 puits, on ajoute un mélange de : 50 μl Cu (II) (10 mM), 50 μl neocuprine (7,5 mM), et 60 μl de solution tampon NH_4OAc (1 M, $\text{pH} = 7,0$). Ensuite 40 μl d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol à des concentrations différentes ont été ajoutées au mélange initial afin de rendre le volume final de 200 μl . Les microplaques ont été mises à l'obscurité pendant 1 heure, l'absorbance est mesurée à 450 nm. La capacité de réduction des extraits a été comparée à celles de le BHA et du BHT. Les résultats ont été calculés à titre de A0.5 ($\mu\text{g} / \text{ml}$) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

II.4.4 Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur de l'extrait acétate d'éthyle et de l'extrait méthanolique a été mesuré selon la méthode d'Oyaizu (1986). Diverses concentrations d'extraits (20 à 100 mg) dans 1 ml d'eau

distillée ont été mélangées avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanide de potassium

III. Activité anticholinestérase

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative incurable du tissu cérébral (perte progressive de neurones) qui entraîne la perte progressive et irréversible des fonctions mentales et notamment de la mémoire. Cette maladie est associée à un déficit d'acétylcholine dans le cerveau. L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme catalysant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine en choline et acide acétique, entraînant ainsi son inactivation. L'inhibition de cette enzyme va provoquer une diminution du turnover de l'acétylcholine et donc la diminution des symptômes de la maladie d'Alzheimer. Les substances anticholinestérasiques sont des inhibiteurs de l'enzyme cholinestérase responsable de la dégradation de l'acétylcholine (neurotransmetteur du système para-sympathique qui est libéré aux jonctions neuromusculaires). Leur action favorise donc l'élévation de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau. L'activité Acétylcholinestérase et Butyrylcholinestérase est déterminée par la méthode d'Ellman et al., 1961.

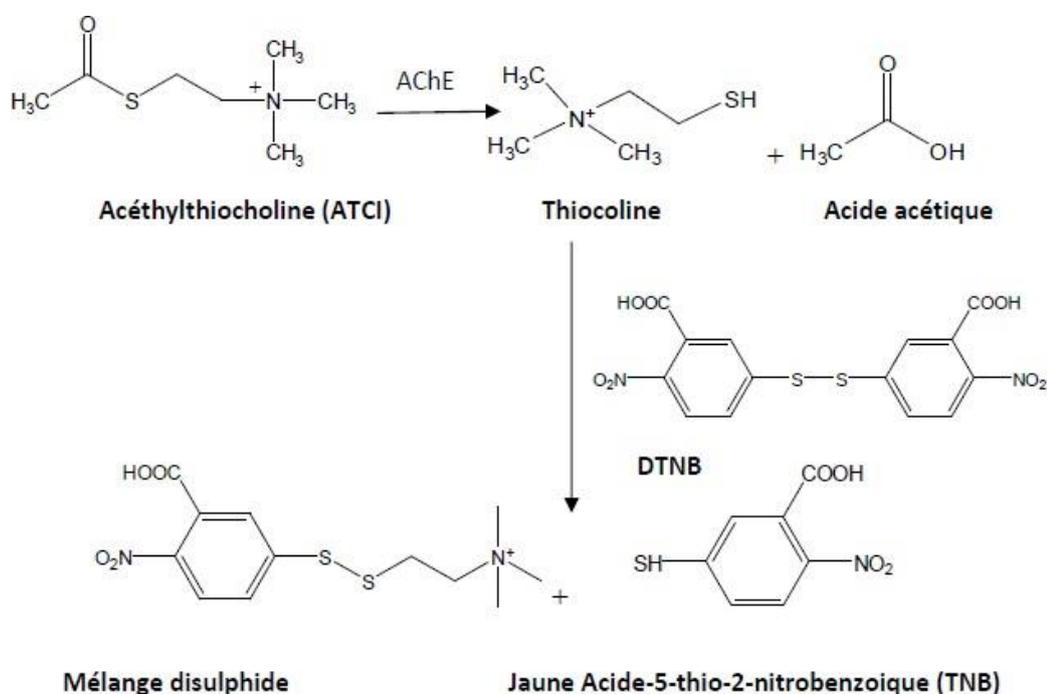


Figure 17 : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman.

150 µl de tampon phosphate de sodium (100Mm, pH 8,0), 10 µl d'une solution d'échantillon dissoute dans du méthanol à différentes concentrations et un volume de 20 µl d'AChE ($5,32 \times 10^{-3}$ U) ou BChE ($6,85 \times 10^{-3}$ U) ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 25⁰ C puis 10 µl de DTNB (0,5 mM) ont été ajoutés. Ensuite, la réaction a été initiée par l'addition de 20 µl l'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM) ou le chlorure de butyrylthiocholine (0,2 mM). Les hydrolyses de ces substrats ont été suivies par spectrophotométrie par la formation d'une couleur jaune d'anion 5-thio-2-nitrobenzoate de méthyle, selon le résultat de la réaction de DTNB avec la thiocholine, libérée par l'hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine ou le chlorure de butyrylthiocholine, respectivement, à une longueur d'onde de 412 nm, en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits (SpectraMax PC340, MolecularDevices, États-Unis). Le pourcentage d'inhibition de l'AChE ou BChE a été déterminé par comparaison des vitesses de réaction d'échantillons par rapport à l'échantillon témoin (méthanol dans du tampon phosphate, pH 8) en utilisant la formule $[(E - S) / E] \times 100$, où E est l'activité de l'enzyme sans échantillon d'essai, et S, est l'activité de l'enzyme avec l'échantillon de test. Les expériences ont été réalisées en triple. La galantamine a été utilisé comme composé de référence.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{controle}}} \times 100$$

IV. Activité antiproliférative utilisant le système xCELLigence

Définition du système

Le système de® xCELLigence fournit un moyen unique et puissant pour surveiller les cellules en temps réel sans les artefacts potentiels générés par l'utilisation d'étiquettes. Cette mesure non invasive permet de détecter les changements d'adhérence, de morphologie et de viabilité sans avoir besoin d'une surexpression des protéines de reporter et de cible. Ceci fournit des données hautement physiologiques pertinentes pendant toute la durée de l'expérience.

La plaque E-plate xCELLigence® dispose d'une configuration de micro-électrode innovante qui couvre 80% de la surface de chaque fond de puits. La mesure en temps réel de l'impédance à travers les électrodes fournit une détection immédiate sensible de l'État cellulaire et de la réponse des faibles nombres de cellules à la confluence. Cela permet un large éventail d'applications potentielles, y compris (mais sans s'y limiter) :

- Prolifération cellulaire
- Qualité des cellules

- Cytotoxicité par médiation composée
- Cytotoxicité à médiation cellulaire
- Adhérence et propagation des cellules
- Surveillance fonctionnelle de la tyrosine kinase des récepteurs et signalisation GPCR
- Cytolyse à médiation cellulaire
- Fonction barrière
- Quantification virale

Conditions de la culture cellulaire

Les cellules HeLa (carcinome du col de l'utérus humain) ont été cultivées régulièrement dans une atmosphère saturée en humidité contenant 5 % de CO₂ à 37°C et dans un milieu de culture eagle modifié par Dulbecco (DMEM, Sigma). Ce milieu de culture doit contenir 10 % (v/v) du sérum de veau foetal (SVF, Sigma, Allemagne) et 2% de pénicilline-streptomycine (Sigma, Allemagne).

Dans le flacon de culture, des cellules HeLa ont été détachées du fond du flacon de 10 ml de solution de trypsine-EDTA. Après le détachement, 10 ml de milieu ont été ajoutés dans le ballon et homogénéisés délicatement. Cette suspension a été transférée dans des tubes Falcon. Après la centrifugation (600 rpm, 5 minutes) 5 ml de milieu ont été ajoutés au surnageant. La concentration des cellules du surnageant a été évaluée par le compteur de cellules CEDEX HiRes en utilisant le bleu de Trypan.

Préparation de la solution d'extrait

Les extraits CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH des parties feuilles ainsi que Les extraits CHCl₃, AcOEt, *n*-BuOH et méthanol (EXM) des parties tiges et fruits de *P. atlantica* ont été dissous dans du DMSO pour obtenir une concentration de 20 mg/ml. 25µl de ces solutions ont été mélangées avec 475 µl de milieu (Kolda et al., 2014).

Préparation de la plaque à 96-puits

50 µl de milieu ont été ajoutés dans chaque puits d'une plaque de 96 qui a été laissée dans une chambre stérile pendant 15 min, puis dans un incubateur pour 15 minutes. Après cette période, une mesure de fond a été effectuée. 100 µl de la suspension des cellules (2,5 x 10⁴ cellules /100 µl) ont été ajoutés dans les puits et en laissant les trois derniers comme témoins, puis déposés sous la hotte durant 30 min. La mesure a été effectuée pendant 80 min dans le système

xCELLigence. Les concentrations 50, 100, 250 µg/ml d'échantillons ont été ajoutés et la dernière mesure a duré 70 heures (Kolda et al., 2014).

V. Analyse qualitative et quantitative des extraits par HPLC-TOF/MS

Les extraits CHCl₃, ACOEt, *n*-BuOH des feuilles, CHCl₃, ACOEt, *n*-BuOH et EXM des tiges et des fruits ont été analysés par chromatographie liquide à haute performance couplé à la spectrométrie de masse munie d'un analyseur à temps de vol (HPLC-TOF/MS) qui a été réalisé au sein du laboratoire de recherche, du département de chimie de l'université de Çankiri Karatekin, Turquie, afin d'identifier et de quantifier la teneur en flavonoïdes et en acides phénoliques présents dans nos extraits pour avoir une idée sur la nature chimique de ces derniers.

Préparation des échantillons

Une quantité de 200 µg de chaque extrait a été dissoute dans le méthanol à la température ambiante, puis filtrés à travers un filtre à membrane en polytétrafluoroéthylène (0,45 µm) (Kolda et al., 2014).

Conditions opératoires

Les conditions opératoires de la HPLC sont les suivantes :

- ✓ Agilent Technologie 1260 Infinity LC, 6210 TOF-MS
- ✓ Volume d'injection : 10 µl
- ✓ Température de la colonne : 35 °C.
- ✓ Modèle de la colonne : ZORBAX SB-C18 4,6x100mm, 3,5 µm
- ✓ Débit : 0,6 ml /min
- ✓ Ionisation : Dual-ESI
- ✓ La température de l'azote : 325°C
- ✓ Débit de gaz : 10 ml / min
- ✓ Tension de Fragmenteur : 175 V
- ✓ Phase mobile : Cette phase est constituée de deux solvants :
 - ❖ **Solvant A** : Eau ultra-pure acidifiée avec de l'acide formique à 0,1%
 - ❖ **Solvant B** : Acétonitrile.

Le tableau 16 résume le programme d'élution de la colonne.

Tableau 16 : Programme de la phase mobile A et B.

	temps (min)	H2O avec %0,1 d'acide formique	Acétonitrile
1	0-1	90 %	10 %
2	1-20	90 %	10 %
3	20-23	50 %	50 %
4	23-25	20 %	80 %
5	25-30	10 %	90 %

Conclusion

- La quantification des acides phénoliques et des flavonoïdes des extraits de l'espèce *Pistacia atlantica* a été réalisé par HPLC-TOF- MS.
- 4 méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.
- L'activité anticholinestérase des phases de *P. atlantica* subsp. *atlantica* a été réalisée contre deux enzymes, l'acétyl- et la butyrylcholinestérase.
- Concernant l'activité antiproliférative des extraits des feuilles de *P. atlantica* subsp. *atlantica* ainsi que des tiges et fruits a été réalisée par les cellules HeLa (carcinome du col de l'utérus humain).



Chapitre IV :
Partie Expérimentale

I. Matériel utilisé

Matériel végétal

Pistacia atlantica subsp. *atlantica*

Les parties aériennes de la plante ont été récoltées de la région du Zouzfana wilaya de Bechar dans le sud-ouest de l'Algérie. Elle a été authentifiée par le professeur Mohamed Kaabeche, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. Un spécimen de référence a été déposé à l'herbier de l'unité de recherche VARENBIOMOL de l'Université de Constantine 1. Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été pesées (1700 g).



Figure 18: *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*. (www.innspubnet.wordpress.com)

Salvia microphylla

La plante a été récoltée en Mars 2014 dans la ville de Constantine (Est Algérien). Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été coupées en petits morceaux et pesées (1250 g).



Figure 19: *Salvia microphylla*. (www.fineartamerica.com)

I. 2. Matériel chromatographique

Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode physique de séparation des mélanges en leurs constituants; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile: la phase mobile nommée éluant est un solvant ou un mélange de solvants qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium de dimensions variables (généralement 20 x 20 cm, 10 x 10cm ou 5 x 10cm) avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm.

Les plaques sont visualisées après élution sous UV (longueur d'ondes $\lambda = 254$ nm et 365 nm) puis révélées par pulvérisation de réactifs appropriés (Ribereau-Gayou.,1968).

Chromatographie sur couche mince préparative

La chromatographie préparative est une technique de chromatographie utilisée pour purifier et récupérer des échantillons, que ce soit après une synthèse organique ou une étape d'extraction. Elle a le même principe que la chromatographie sur couche mince (CCM) sauf que dans ce cas on peut récupérer les zones de silice correspondante aux taches de la plaque contrairement à la CCM analytique. En utilisant diverses phases stationnaires et les systèmes de solvants appropriés, on examine les bandes des constituants sous lumière UV ou on révèle une frange de la plaque par pulvérisation avec le réactif adéquat (Markham., 1982).

Chromatographie d'adsorption sur colonne

La chromatographie d'adsorption est une technique de séparation de composés basée sur la différence d'affinité existant entre ces composés, la phase mobile, qui entraîne les composés et la phase stationnaire. En effet, selon la plus ou moins grande affinité entre les solutés et la phase stationnaire ou mobile, les constituants du mélange migrent à des vitesses différentes et sont ainsi séparés.

La technique présentée ici est la chromatographie sur colonne, elle utilise une phase stationnaire " comme le gel de silice, la cellulose ou le polyamide" introduite dans une colonne de verre et une phase mobile comme éluant composée des mêmes solvants que ceux utilisés pour la CCM analytique. L'élution peut se faire sous forme isocratique ou sous forme d'un gradient.

Flash chromatographie

La « flash chromatographie » est une forme rapide de chromatographie sur colonne préparative, basée sur un hybride commandé par pression atmosphérique de chromatographie sur colonne moyenne et courte optimisée pour une séparation rapide. La flash chromatographie est généralement utilisée pour préparer 0,1 à 10,0 g d'extrait en moins de 15 minutes et est particulièrement utile lorsque les différences sur la CCM sont supérieures à 0,15 unités Rf. La flash chromatographie a été effectuée sur des colonnes C18 (phase inverse) (Reveleris C18 phase inverse 40 g; CV 45 ml/min; 45 mg-1,35g d'extrait) et sur gel de silice normal (Revelerissilica 40 µm, 12 g; CV 17-36 ml/min; 45 mg-2,4g d'extrait).



Figure 20 : Appareil Flash chromatographie. (Original).

Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

La CLHP préparative est une technique chromatographique qui va permettre une élution rapide et fine des composés, mais aussi de les récupérer. Elle est non destructive. La CLHP préparative peut être utilisée avec différentes phases, normale ou inverse. Le but de cette manipulation est de mettre en jeu une phase polaire avec les composés du mélange. La particularité de cette phase stationnaire est qu'elle est greffée biphényle. Les interactions sont donc particulières. Ici, la méthode est inspirée de la méthode mise au point sur la CLHP analytique et transposée à plus grande échelle.

L'objectif est d'obtenir une bonne séparation d'une des fractions les plus actives obtenues lors de la première séparation. Cette approche a pour but une meilleure séparation et un meilleur rendement voire l'obtention de molécules pures pour pouvoir les identifier par RMN.

Méthodes physico-chimiques

Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse physico-chimique permettant de détecter, d'identifier et de quantifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse d'entités ioniques obtenus dans la source par fragmentation de la molécule mère, en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). De plus, la spectrométrie de masse permet de caractériser la structure chimique des molécules à partir de leurs fragments.

Spectroscopie de RMN

La spectroscopie par RMN constitue l'une des plus puissantes techniques de détermination de la structure des espèces organiques aussi bien qu'inorganiques. Les principaux noyaux étudiés dans les composés organiques sont le proton ^1H et le carbone ^{13}C .

Cette méthode renferme plusieurs techniques telles que :

a) RMN monodimensionnelle

- **RMN du proton (^1H)** : Le spectre RMN du proton informe sur les différents types d'hydrogène présents dans la molécule analysée, selon leur environnement électronique et le nombre d'hydrogènes "voisins". Ces déterminations se font à l'aide de la mesure du déplacement chimique et du couplage de chaque proton.
- **RMN ^{13}C , DEPT 135 et J mod** : Ces techniques permettent de mettre en évidence tous les carbones de la molécule. Ces expériences permettent la mise en évidence des carbones primaires (CH_3), secondaires (CH_2), tertiaire (CH) et dans une moindre mesure les carbones quaternaires. La différence majeure entre le DEPT 135 et le J mod, réside dans le fait que les carbones quaternaires sont détectés avec le J mod alors qu'ils ne le sont avec le DEPT.

•

b) RMN bidimensionnelle

Les expériences de RMN bidimensionnelles reposent sur une succession de trois intervalles de temps, le temps de préparation, le temps d'évolution et le temps de détection. Dans certaines

autres expériences, il peut s'ajouter une autre période avant la détection, c'est le temps de mixage (Günther., 1994).

Corrélations homonucléaires

- **COSY** (^1H - ^1H) : cette expérience fournit des informations sur les couplages homonucléaires 2J et 3J (protons séparés par deux ou trois liaisons) entre les protons voisins.

Corrélations hétéronucléaires

- **HSQC** ($^1\text{J}_{\text{H-C}}$) : cette technique permet d'observer les couplages chimiques entre les carbones et les protons directement liés. Toutefois, elle ne permet pas de détecter les corrélations des atomes de carbone quaternaires.
- **HMBC** ($^2\text{J}_{\text{H-C}}$, $^3\text{J}_{\text{H-C}}$) : cette technique permet de répondre aux problèmes précédemment posés, puisqu'elle permet la détection des couplages longue distance $^2\text{J}_{\text{H-C}}$, $^3\text{J}_{\text{H-C}}$ et permet de déduire les carbones quaternaires couplés aux protons.

II. Extraction et séparation des métabolites secondaires de la plante *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

Macération et extraction

Après le séchage de la plante qui a été fait à l'ombre loin des rayons solaires et de l'humidité, on a séparé les parties aériennes de la plante (feuilles, tiges et fruits), ensuite ces dernières ont été coupées en petits morceaux et pesées. Nous avons obtenu 1000g de feuilles et 700g d'un mélange de tiges et fruits.

La partie des feuilles, de masse 1 kg, subit une macération dans un mélange hydro-alcoolique (MeOH/Eau : 80/20) quatre fois avec renouvellement du solvant. Après concentration à une température n'excédant pas 35 °C, l'extrait méthanolique est solubilisé dans de l'eau distillée (400 ml pour 1kg de matière sèche). Après filtration, on obtient une solution aqueuse qui subit des extractions liquide-liquide par des solvants de polarité croissante : l'éther de pétrole, le

chloroforme, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol successivement. Les quatre phases organiques ainsi obtenues (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et *n*-butanol) sont filtrées, concentrées à sec sous pression réduite, puis pesées pour donner les extraits correspondants (Figure 21) :

- ✓ Ether de pétrole.
- ✓ Chloroforme (0.9g).
- ✓ Acétate d'éthyle (86g).
- ✓ *n*-butanol (281.32g)

L'autre partie des tiges et fruits d'une masse de 700 g a subi les mêmes étapes que la partie précédente, dans un milieu hydro-alcoolique 80/20 (v/v) (MeOH/H₂O), suivi d'une extraction liquide-liquide à l'éther de pétrole, CHCl₃, AcOEt et *n*-BuOH respectivement pour obtenir les extraits correspondants (figure 22) :

- ✓ Ether de pétrole (0,9g).
- ✓ Chloroforme (1g).
- ✓ Acétate d'éthyle (20,45g).
- ✓ *n*-butanol (45g).

La partie non soluble dans l'eau a été solubilisée dans le méthanol formant ainsi l'extrait méthanolique avec une masse de 11g.

Les étapes extraction de *P. atlantica* subsp. *atlantica* sont résumées ci-dessous :

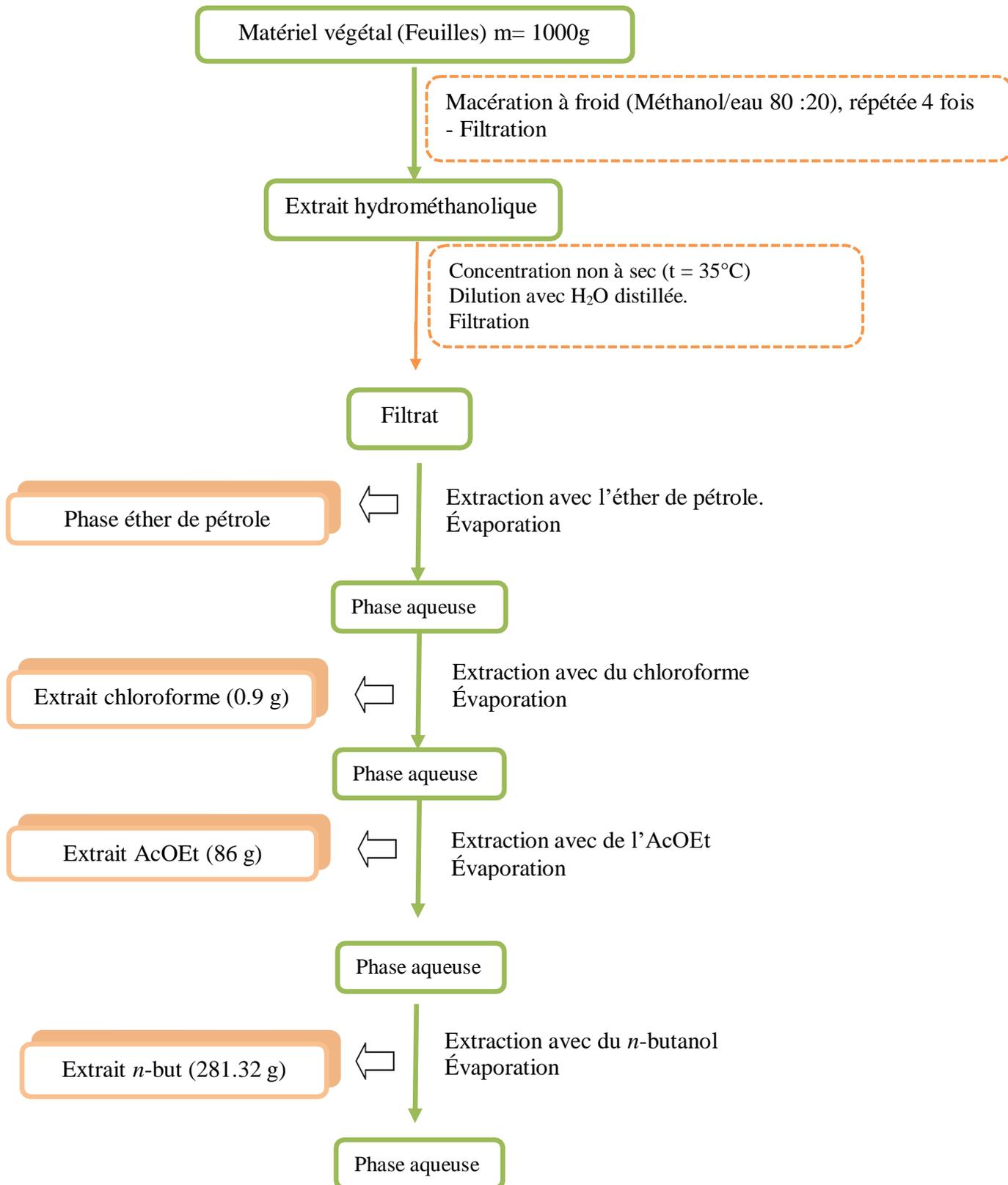


Figure21 : Protocole d'extraction des feuilles de l'espèce *P. atlantica* subsp. *atlantica*.

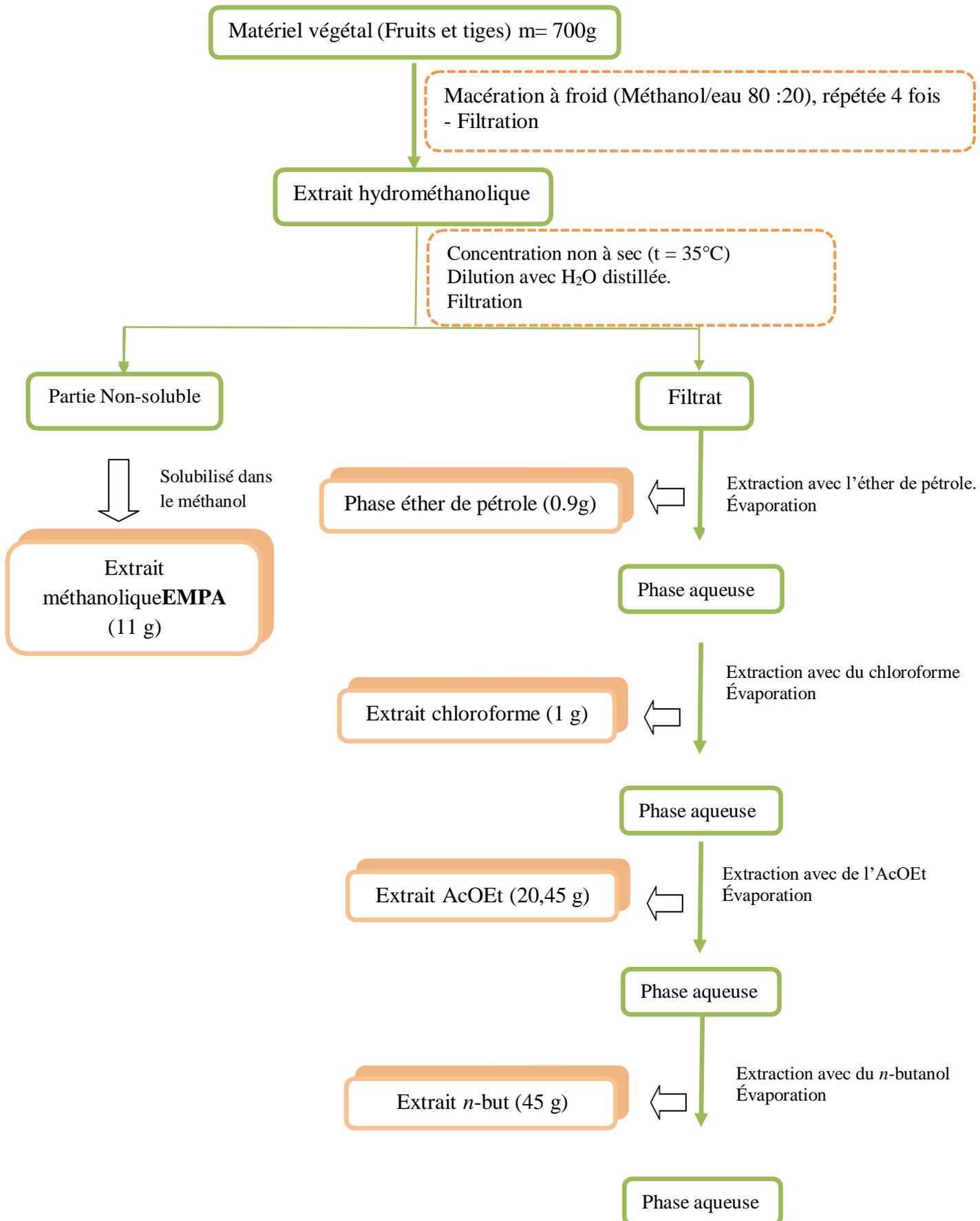


Figure 22 : Extraction des fruits et tiges de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*..

Tableau 17 : Masses et rendements des extraits de *P. atlantica* subsp. *atlantica*.

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
Feuilles 1000g	Chloroforme	0,9	0,02
	Acétate d'éthyle	86	8,6
	<i>n</i> -butanol	281,32	28,13
Tiges et fruits 700g	Extrait méthanolique (EXM)	11	1,57
	Chloroforme	1	0,14
	Acétate d'éthyle	20,45	2,92
	<i>n</i> -butanol	45	6,42

Séparation chromatographique des extraits de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

Pour l'ensemble des extraits, nous avons débuté par des tests préliminaires sur plaque CCM pour choisir le bon système d'élution qui donne une meilleure séparation sur colonne.

Les résultats de nos travaux analytiques nous ont poussés à sélectionner pour cette plante l'extrait acétate d'éthyle pour la partie feuilles ainsi que l'extrait méthanolique pour la partie tiges et fruits.

Traitement de l'extrait acétate d'éthyle

Séparation chromatographique

Avant d'entamer la séparation par chromatographie sur colonne de cet extrait, nous avons procédé à des tests sur plaque CCM qui ont mené au système de séparation Hexane/ Acétate d'éthyle (7 : 3).

Une masse de 5 g de l'extrait Acétate d'éthyle est déposée sur une colonne de 160g de gel de silice préparé dans l'hexane. L'élution a été effectuée par le *n*-hexane enrichi progressivement avec de l'acétate d'éthyle puis par un mélange acétate d'éthyle /méthanol, l'élution finale de la colonne a été réalisée avec du méthanol.

Les fractions obtenues sont testées sur plaque CCM, visualisées sous des lampes UV (254 et 365 nm) puis révélées avec de l'anisaldéhyde suivie par un chauffage à 100⁰ C, cela a permis de réunir 25 fractions. Les conditions opératoires sont présentées dans le tableau 18.

Tableau 18 : Résultats de la séparation par chromatographie sur colonne de l'extrait acétate d'éthyle feuilles de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.

Lot de fraction	N° de la fraction	Système d'élution			Poids des fractions(mg)	Observation
		% n-Hex	%ACOEt	%MeOH		
1-13	F1	100	0	0	25.9	Mélange en faible quantité
14-16	F2	98	2	0	313.1	Mélange séparable
17-26	F3	98	2	0	251.5	Mélange de produits
27-30	F4	96	4	0	137.2	Mélange de produits
31-34	F5	94	6	0	100.8	Mélange de produits
35-40	F6	92	8	0	125.3	Mélange de produits
41-52	F7	88	12	0	195.0	Mélange séparable
53-56	F8	86	14	0	176.2	Mélange de produits
57-64	F9	84	16	0	247.0	Mélange séparable
65-72	F10	80	20	0	202.7	Mélange séparable
73-78	F11	78	22	0	133.1	Mélange de produits
79-86	F12	76	24	0	142.9	Mélange de produits
87-94	F13	74	26	0	293.0	Mélange de produits
95-108	F14	70	30	0	479.6	Mélange séparable
109-118	F15	66	34	0	146.4	Mélange complexe
119-130	F16	62	38	0	121.8	Mélange complexe
131-144	F17	60	40	0	170.8	Mélange complexe
145-152	F18	50	50	0	134.7	Mélange complexe
153-176	F19	30	70	0	235.1	Mélange complexe
177-190	F20	20	80	0	205.8	Mélange complexe
191-215	F21	0	100	0	123.0	Mélange complexe
216-232	F22	0	80	20	169.9	Mélange complexe
233-236	F23	0	60	40	178.2	Mélange complexe
237-239	F24	0	20	80	125.1	Mélange complexe
240-246	F25	0	0	100	230.0	Mélange complexe

Purification des fractions de l'extrait acétate d'éthyle

On a choisi la séparation des fractions (F2, F9, F10, F14). Ce choix est établi par rapport à leurs poids et richesse en métabolites secondaires, la séparation a été faite sur des petites colonnes et plaques CCM.

- **Etude de la fraction F2 :**

La fraction a subi une séparation sur plaque de gel de silice, en utilisant comme système d'élution : CHCl_3 / *n*-hexane (8 :2) pour donner le produit IA-2 (m=2,6 mg) de couleur violette claire après révélation avec de l'anisaldéhyde.

- **Etude de la fraction F3 :**

Cette fraction renferme un précipité blanc. Ce dernier a été filtré puis a subi plusieurs lavages avec les solvants MeOH, pour donner le produit IA-34.

- **Etude de la fraction F9 :**

La fraction F9 (247 mg) a été soumise à une purification par CCM sur gel de silice normale avec le système d'élution *n*-hexane/AcOEt (8 :2), menant à l'obtention du produit IA-10 (m=4 mg) qui apparaît après révélation d'une couleur rose foncé.

- **Etude de la fraction F10 :**

La fraction F10 a été traitée sur des plaques préparatives de gel de silice éluee avec le système CHCl_3 /Acétone (8,5 : 0,5) conduisant au

- Produit IA-1 (m= 2 mg) d'une fluorescence noire violette sous 365 nm et marron après révélation avec de l'anisaldéhyde.
- Produit IA-7 (m= 2 mg) d'une fluorescence noire violette sous 365 nm et violet après révélation avec de l'anisaldéhyde.

- **Etude de la fraction F14 :**

La fraction F14 (479.6 mg) est déposée sur une colonne de Sephadex (LH-20), éluee par le système CHCl_3 /MeOH (65/35). Les résultats de cette colonne sont regroupés dans le tableau 19.

Tableau 19 : Résultats de la séparation de la fraction F14 sur colonne de Sephadex.

Lot de fractions	N° de la sous fraction	Poids des fractions	Observations
1-9	Sf1	9.9	Mélange de produits
10-15	Sf 2	35.3	Mélange de produits
16-22	Sf 3	52.1	Mélange de produits
23-28	Sf 4	77.4	Mélange de produits
29-30	Sf 5	21.9	Mélange de produits
31	Sf 6	17.1	Mélange de produits
32-34	Sf 7	55.7	Mélange de produits
35-46	Sf 8	50.2	Mélange de produits
47-53	Sf 9	60.5	Mono-tache
54-55	Sf 10	72.8	Mélange de produits

La sous fraction Sf 9 a été purifiée sur des plaques CCM analytiques éluées par le système CHCl₃/ Acétone (3/0,25) pour donner le produit **IA-14** (3,5 mg).

En résumé l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de *P. atlantica* subsp. *atlantica* a permis de séparer 06 produits Purs.

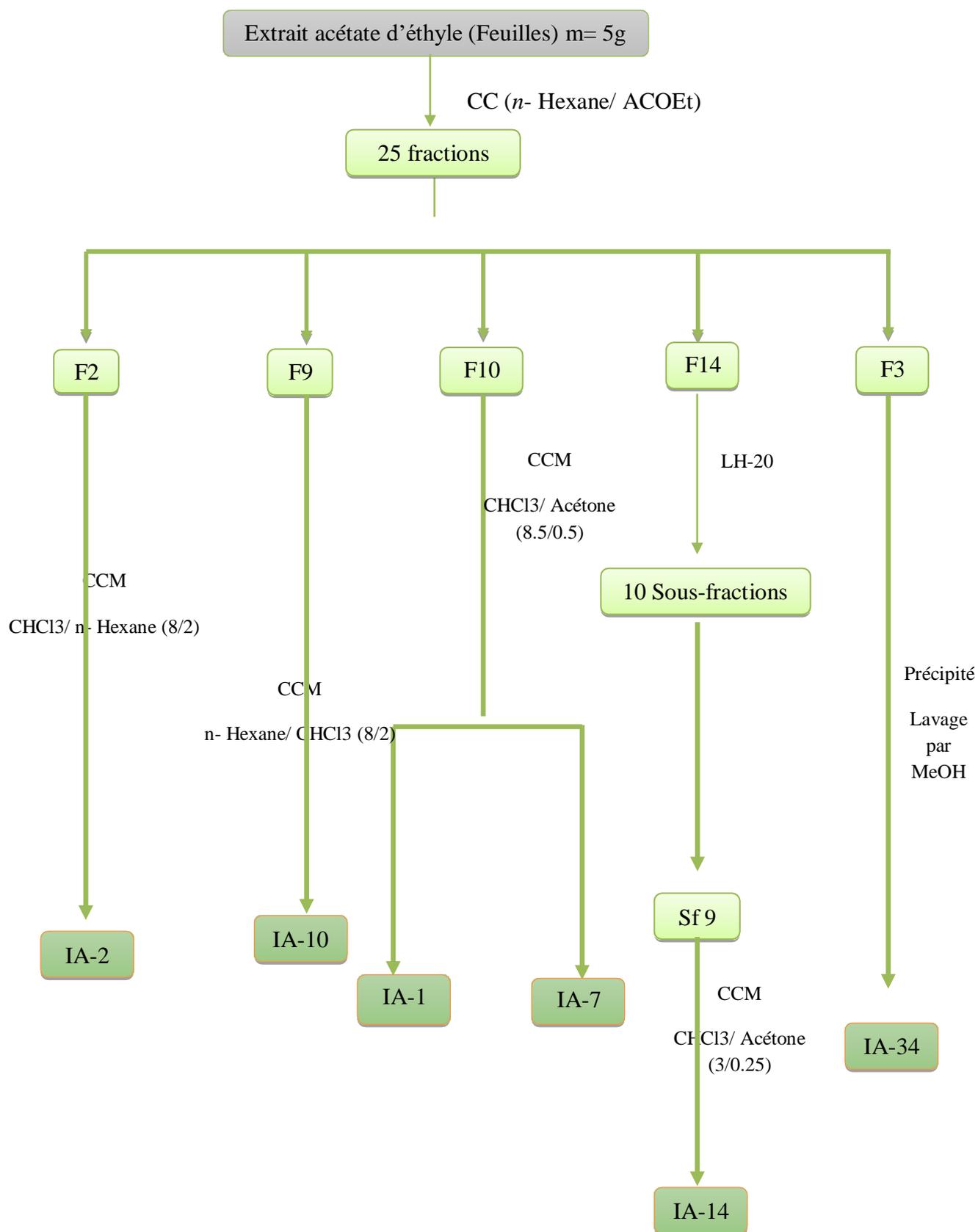


Figure 23 : Schéma de séparation de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de *P. atlantica* subsp. *atlantica*.

Traitement de l'extrait méthanolique

Séparation chromatographique

10 g de cet extrait ont été soumis à la chromatographie sur colonne Flash (modèle : COMBIFLASH RF200 UV/VIS, Serial : 210M20115) éluée avec l'hexane, suivie d'un gradient hexane-CH₂Cl₂ jusqu'à 100% de CH₂Cl₂ suivi de AcOEt 100% puis suivi d'un gradient de 0-100% de CHCl₃ / MeOH, Le suivi a été effectué par CCM sur gel de silice et les plaques CCM ont été visualisées sous lumière UV (254-365 nm) pour donner 22 fractions.

Tableau 20 : Résultats de séparation par Flash chromatographie de l'extrait méthanolique.

Système d'éluion	Lot de fraction	N ^o des fractions	Poids des fractions (mg)	Observation
n-Hexane 100%	F1	1	25.1	Mélange à Faible quantité
	F2	2-3	123.1	Mélange complexe
	F3	4-9	235.2	Mélange complexe
n-Hexane/ CH ₂ Cl ₂ 0-100%	F4	10-12	420.0	Mélange séparable
	F5	13-20	581.4	Mélange séparable
	F6	21-26	656.0	Mélange + précipité
	F7	27-30	498.7	Mélange complexe
	F8	31-34	529.6	Mélange complexe
	F9	35-39	796.3	Mélange complexe
	F10	40-44	656.2	Mélange complexe
	F11	45	101.1	Mélange complexe
AcOEt 100%	F12	46	135.6	Mélange + précipité
	F13	47-48	647.1	Mélange complexe
	F14	49-51	568.4	Mélange complexe
	F15	52-55	542.0	Mélange + cristaux
	F16	56-64	710.5	Mélange complexe
	F17	65	125.9	Mélange complexe
	F18	66	121.7	Mélange complexe
CHCl ₃ / MeOH	F19	67-68	632.8	Mélange complexe

0-100%	F20	69-72	776.6	Mélange complexe
	F21	73	101.0	Mélange complexe
	F22	74	222.6	Mélange complexe

Purification des fractions de l'extrait méthanolique

Parmi les 22 fractions obtenues, on a traité 5 fractions : F4, F5, F6 et F12.

- **Etude de la fraction F4 :**

La fraction F4 (420 mg) a été séparée sur une colonne de Sephadex LH-20 et éluée par le MeOH distillé. Le résultat de cette séparation est reporté dans le tableau 21.

Tableau 21 : Résultat de séparation de la fraction F4 sur colonne de Sephadex LH-20.

Lot de fractions	N° de la sous fraction	Poids des fractions (mg)	Observations
1-13	Sf 1	49.8	Mélange de produits
14-16	Sf 2	36.1	Mélange de produits
17-29	Sf 3	59.9	Mélange de produits
20-24	Sf 4	37.5	Mélange de produits
25-32	Sf 5	55.1	Mélange Séparable
33-39	Sf 6	47.7	Mélange de produits
40-45	Sf 7	52.3	Mélange de produits
46-50	Sf 8	50.6	Mélange de produits

La sous fraction Sf 5 a été traitée sur des plaques préparatives de gel de silice éluée avec le système *n*-Hexane/CH₂Cl₂ (5,5 : 4,5) pour donner le produit **IA-22** (1,5 mg) et le produit **IA-23** (1 mg).

- **Etude de la fraction F5 :**

La séparation de cette fraction sur plaques préparatives par le système *n*-Hexane/ AcOEt (9/1) nous a permis d'isoler :

-Le produit **IA-25** d'une fluorescence noire violette sous la lumière de Wood à 365nm et une coloration rose après révélation par l'acide sulfurique dilué.

- Le produit **IA-26** d'une fluorescence noire violette sous la lumière de Wood à 365 nm et une coloration orangée après révélation par l'acide sulfurique dilué.
- Le produit **IA-27** d'une fluorescence noire violette sous la lumière de Wood à 365nm et une coloration violette après révélation par l'acide sulfurique dilué.

- **Etude de la fraction F6 :**

Cette fraction renferme un précipité blanc. Ce dernier a été filtré puis a subi plusieurs lavages avec les solvants MeOH, pour donner le produit **IA-28** (50 mg).

- **Etude de la fraction F12 :**

Cette fraction contient un précipité d'une couleur blanche, que nous avons récupéré après des lavages successifs avec le méthanol pour obtenir le produit **IA-29** (10 mg), à l'état pur.

En résumé l'étude phytochimique de l'extrait méthanolique nous a permis d'isoler 7 produits purs, ce nombre a été réduit à cinq vu que les produits IA-22, IA-23 et IA-26 étaient identiques. On note aussi que le produit IA-34 isolé de l'extrait acétate d'éthyle est identique au produit IA-28 isolé de l'extrait méthanolique.

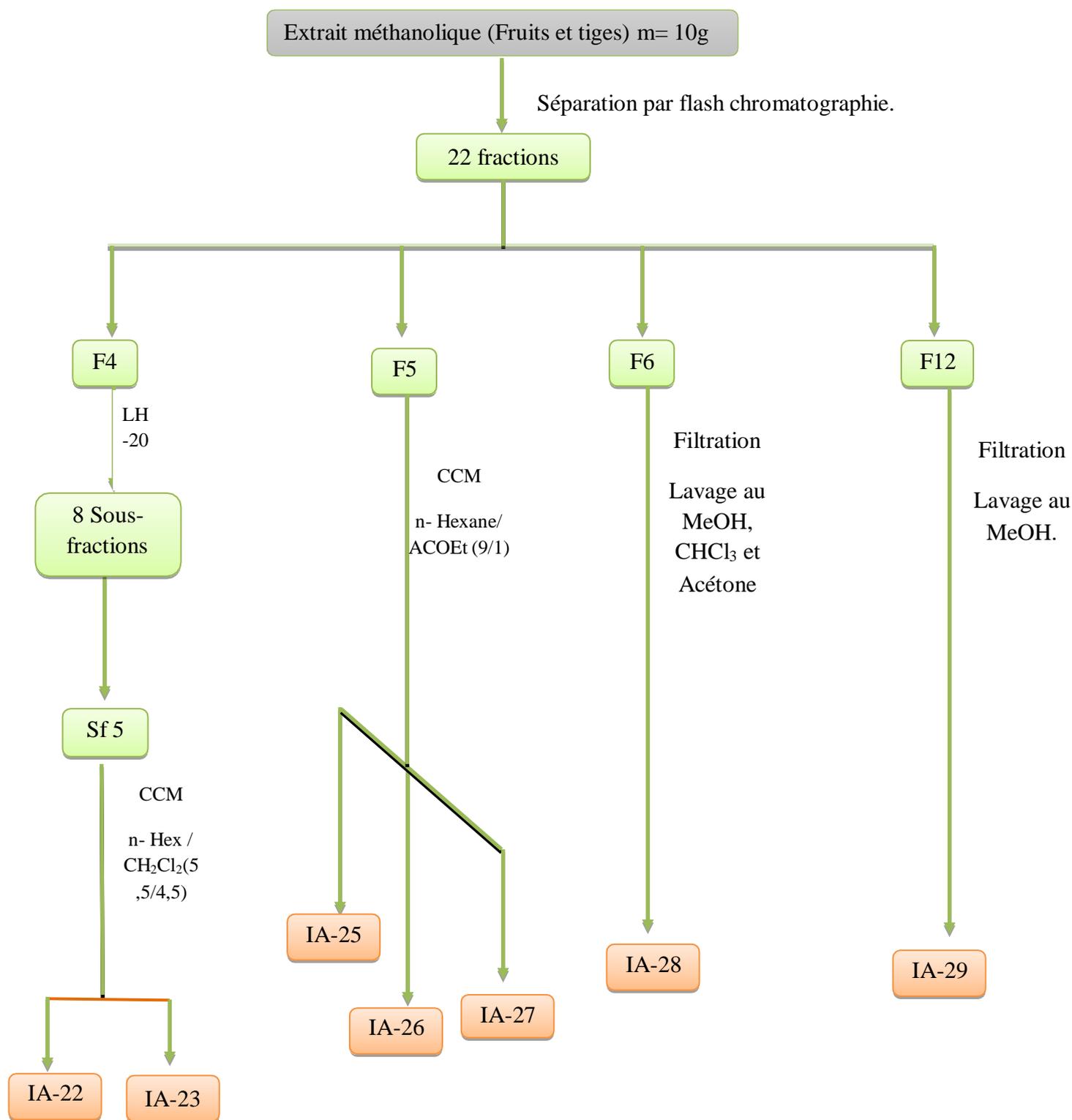


Figure 24: Schéma de séparation et purification des produits issus de l'extrait méthanolique de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.

III. Extraction et séparations des métabolites secondaires de la plante *Salvia microphylla*

Macération et extraction

1,25 kg des parties aériennes de la plante ont subi une macération dans un mélange hydro-alcoolique (MeOH/H₂O, 8 :2, v/v), pendant 3 x 48 h. Les extraits obtenus ont été évaporés à sec, puis dilué avec de l'eau distillée. Après une nuit de repos, la solution a été filtrée. Ensuite on a procédé à des extractions successives de type liquide-liquide, en utilisant différents solvants de polarité croissante, en commençant par l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et on termine par le *n*-butanol.

Les phases organiques récupérées sont concentrées sous pression réduite à sec et pesées donnant les extraits (figure 25) :

- Ether de pétrole (0,5g).
- Chloroforme (3g).
- Acétate d'éthyle (6g).
- *n*-butanol (45g).

Les rendements d'extraction sont donnés dans le tableau 22.

Tableau 22 : Masses et rendements des extraits de l'espèce *S. microphylla*.

Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
Éther de pétrole	0,5	0,04
Chloroforme	3	0,24
Acétate d'éthyle	6	0,48
<i>n</i> -butanol	25	2

La figure 25 montre les différentes étapes d'extraction de la plante *S. microphylla*.

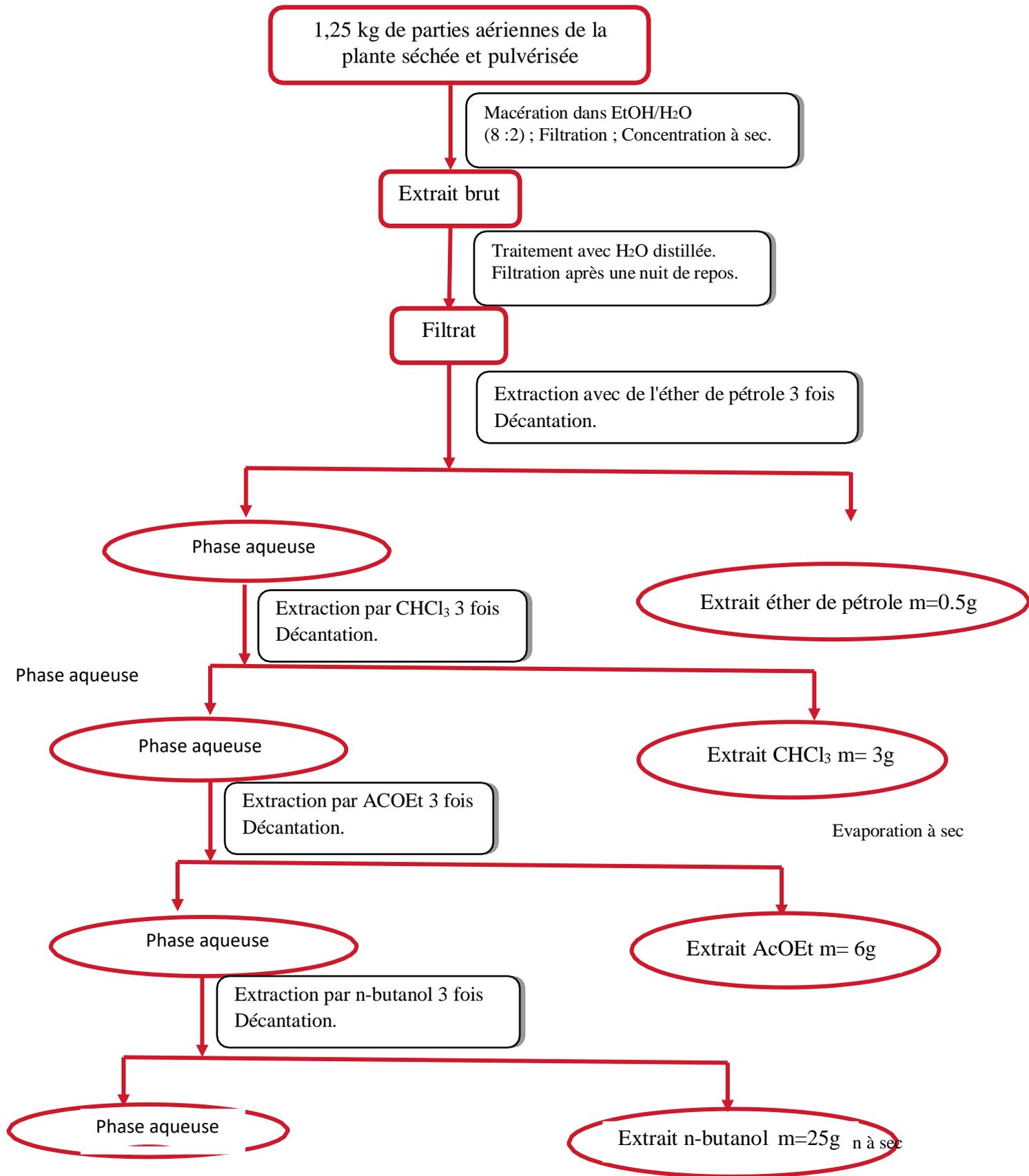


Figure 25 : Extraction des parties aériennes de la plante *Salvia microphylla*.

Etudes des extraits

Afin d'avoir une idée sur les produits à isoler ainsi que la composition de chaque extrait, nous avons procédé à des tests analytiques sur plaque CCM en utilisant plusieurs systèmes d'élutions. Notre choix s'est porté sur l'extrait chloroformique et acétate d'éthyle.

Traitement de l'extrait chloroformique

Séparation chromatographique

L'extrait chloroformique (3 g) a subi un premier fractionnement par flash chromatographie, éluee avec l'hexane, suivie d'un gradient d'hexane-CH₂Cl₂ jusqu'à 100% de CH₂Cl₂, suivie d'un gradient CHCl₃- AcOEt jusqu'à 100% d'AcOEt puis un gradient de CHCl₃/ MeOH jusqu'à 100% de MeOH. L'examen de plaques CCM est réalisé sous lumière UV à 254 nm et à 365 nm avec des différents systèmes. Les fractions de compositions similaires sont rassemblées et évaporées pour donner 17 fractions (tableau 23).

Tableau 23 : Résultats de séparation par Flash chromatographie de l'extrait chloroformique.

Système d'élution	Lot de fraction	N ^o des fractions	Poids des fractions (mg)	Observations
<i>n</i> -Hexane 100%	1-2	F1	12.3	Traces
	3-8	F2	68.7	Mélange complexe
	9-11	F3	132.2	Mélange complexe
<i>n</i> -Hexane/ CH ₂ Cl ₂ 0-100%	12-21	F4	125.7	Mélange complexe
	22-37	F5	259.8	Mélange séparable
	38-40	F6	185.6	Mélange complexe
	41-44	F7	191.3	Mélange + précipité
	45	F8	98.6	Mélange complexe
	46-54	F9	293.9	Mélange complexe
CHCl ₃ / ACOEt	55-58	F10	276.5	Mélange séparable
	59-63	F11	275.7	Mélange complexe
	64-67	F12	111.2	Mélange complexe
	68-75	F13	288.1	Mélange + précipité
ACOEt 100%	76-82	F14	119.3	Mélange complexe
	83-95	F15	115.3	Mélange + précipité

CHCl₃/ MeOH	96-113	F16	123.5	Mélange + précipité
0-100%	114-125	F17	119.7	Mélange complexe

Purification des fractions de l'extrait chloroformique

✚ Profils chromatographiques de l'extrait chloroformique

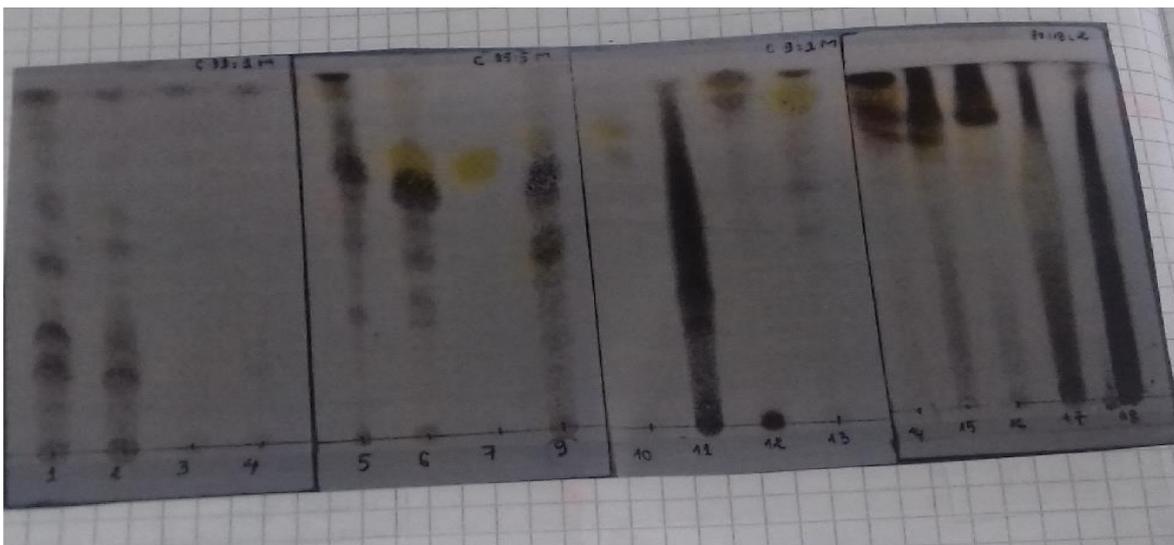


Figure 26 : Profils chromatographique de fractions issues de l'extrait chloroformique.

- **Etude de la fraction F5 :**

La fraction F₅ est soumise par la suite à l'opération de purification en utilisant CLHP semi préparative avec les conditions suivantes :

- Colonne semi-préparative C8.
- Système d'élution isocratique : 55% H₂O/45% MeOH.
- La concentration de la fraction : 100 mg/ml (dans le MeOH).
- Le volume injecté : 100 µl.
- Débit : 2 ml/min.

Cette séparation nous a permis d'obtenir deux produits purs **SML/5/4** (0,8 mg) et **SML/5/10** (0,5 mg).

- **Etude de la fraction F7 :**

Un précipité jaune sous forme d'aiguilles a été formé dans cette fraction, que nous avons récupéré et lavé pour obtenir le produit **IA-37** (2 mg), à l'état pur.

- **Etude de la fraction F10 :**

Cette fraction est chromatographiée par CLHP avec les conditions suivantes :

- Colonne semi-préparative C8.
- Système d'élution isocratique : 40% H₂O/60% MeOH.
- La concentration de la fraction : 100 mg/ml (dans le MeOH).
- Le volume injecté : 100µl.
- Débit : 2 ml/min.
- ✓ 2 composés ont été isolés **SML/4/4** (1,7 mg) et **SML/4/7** (1,1 mg).

- **Etude de la fraction F13 :**

Cette fraction contient le composé **IA-38** (4 mg) sous forme de précipité jaune aspect sable qui a été lavé plusieurs fois avec le MeOH.

- **Etude de la fraction F15 :**

Cette fraction renferme un précipité blanc, c'est le composé **IA-39** (5 mg), à l'état pur.

En conclusion, l'étude phytochimique de l'extrait chloroformique de *S. microphylla* a permis d'isoler au total sept produits purs.

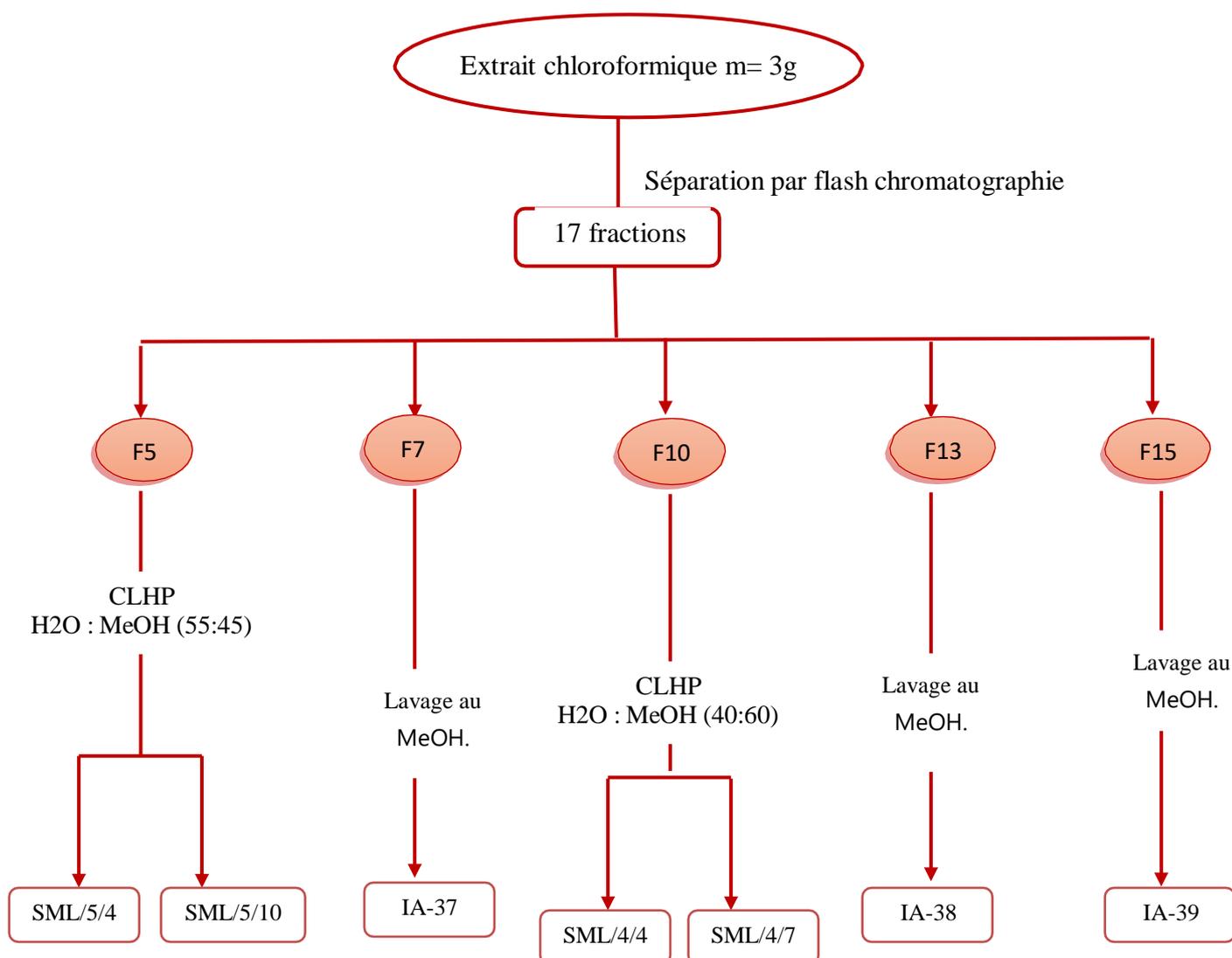


Figure 27: Schéma de séparation de l'extrait chloroformique de *Salvia microphylla*.

Traitement de l'extrait acétate d'éthyle

Séparation chromatographique

De la même manière que l'extrait chloroformique, cet extrait a été fractionné par flash chromatographie. La phase stationnaire utilisée est le gel de silice normal.

Une masse de 6g a été pulvérisée en poudre fine puis placée dans une petite colonne positionnée en haut d'une autre colonne de la phase stationnaire. L'éluion est réalisée avec un gradient de polarité commençant par l'hexane, suivie d'hexane-CHCl₃ jusqu'à 100% de CHCl₃, AcOEt terminant par un gradient de CHCl₃- MeOH jusqu'à 100% de MeOH. Les plaques ont été visualisées à la lumière du jour et sous lampe UV à 254 et 365 nm, puis révélées avec l'acide sulfurique et chauffées pendant 3 mn à 100 °C. 9 fractions ont été ainsi obtenues (tableau 24).

Tableau 24 : Résultats de séparation par Flash chromatographie de l'extrait acétate d'éthyle.

Système d'élution	Lot de fractions	N° de la fraction	Poids des fractions (mg)	Observations
<i>n</i>-Hexane 100%	1-19	F1	76.4	Mélange complexe
<i>n</i>-Hexane/ CHCl₃ 0-100%	20-33	F2	135.1	Mélange complexe
	34-36	F3	229.7	Mélange complexe
	35-41	F4	473.8	Mélange complexe
	42-55	F5	2842	Mélange séparable + précipité
	56-81	F6	541.6	Mélange complexe
AcOEt 100%	82-104	F7	419.3	Mélange complexe
	105-109	F8	489.7	Mélange + précipité
CHCl₃/ MeOH 0-100%	110-115	F9	535.4	Mélange complexe

Purification des fractions de l'extrait acétate d'éthyle

✚ Profils chromatographiques de l'extrait acétate d'éthyle

La plaque a été éluée dans le système CHCl₃/MeOH/ eau (80/18/2) et révélée avec le Ce(SO₄)₂/H₂SO₄ et chauffée pendant 3mn à 100°C.

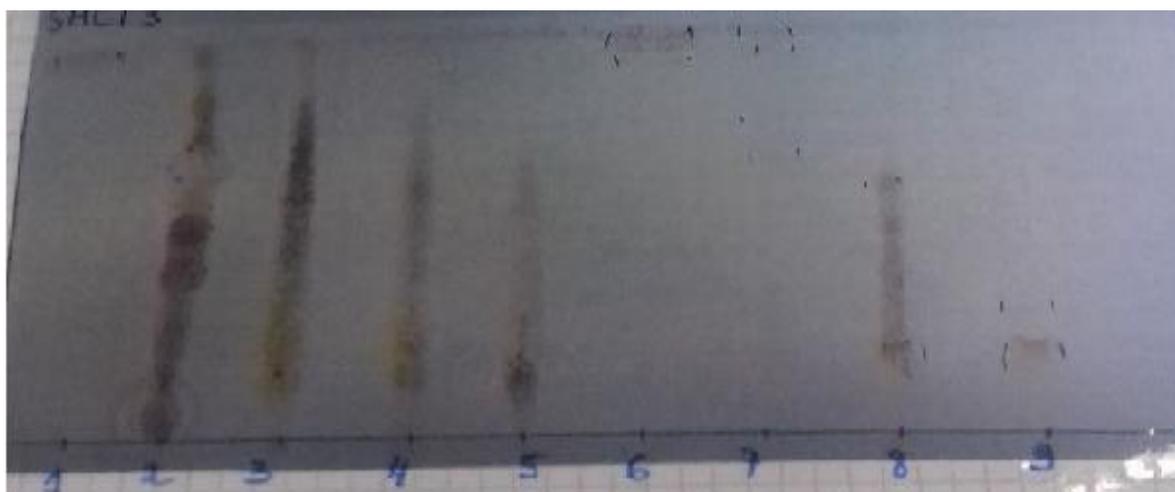


Figure 28: Profil chromatographique de fractions issues de l'extrait acétate d'éthyle

Deux fractions ont été étudiées F5, F8, cela est basé sur leur richesse en produits ainsi que sur leurs poids relativement importants.

- **Etude de la fraction F8 :**

La fraction F8 contenant un précipité beige clair a été purifiée par plusieurs lavages successifs avec du MeOH pour obtenir le produit pur **IA-30** de masse 3mg.

- **Etude de la fraction F5 :**

- ❖ Cette fraction contient un précipité d'une couleur blanche, que nous avons récupéré après un lavage successif avec le méthanol pour obtenir le produit **IA-35** (4 mg), à l'état pur.

- ❖ Cette fraction a subi un affrontement par un système de n-butanol et eau pour obtenir deux phases, ces derniers ont été évaporés à sec pour obtenir un extrait butanolique (m= 2,59g) et un extrait eau (m= 188mg) (Figure 29)

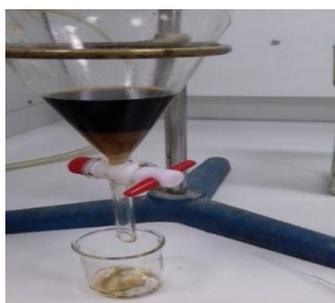


Figure 29 : affrontement par un système de n-butanol et eau de la fraction F5.

- **Etude de l'extrait aqueux :**

L'extrait aqueux chromatographié par CLHP avec les conditions suivantes :

- Colonne semi-préparative C8.
- Système d'élution isocratique : 20% H₂O/80% MeOH.
- La concentration de la fraction : 100 mg/ml (dans le MeOH).
- Le volume injecté : 100µl.
- Débit : 2 ml/min.
- ✓ 2 composés ont été isolés **SML/6/8** (0,7 mg) et **SML/6/20** (1,8 mg).

- Etude de l'extrait *n*-BuOH :

2.59 g de l'extrait *n*-BuOH ont été fractionnés par chromatographie sur colonne de Sephadex LH20. L'élution a été réalisée avec le méthanol. Des fractions de 10 ml / 10min sont recueillies, leur suivi est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice.

L'examen de plaques CCM est réalisé sous lampe UV à 254 et 365 nm avec élution dans les systèmes CH₃Cl / MeOH / H₂O (80 :18 :2, v/v/v) et BAW (60 :15 :25, v/v/v) puis révélation avec le mélange Ce(SO₄)₂ / H₂SO₄ et chauffage pendant 3 min à 100°C. Les fractions de compositions similaires sont rassemblées et évaporées. 15 fractions ont été ainsi obtenues. Les résultats de cette colonne sont rassemblés dans le tableau [25].

Tableau 25 : Résultats de séparation par chromatographie sur colonne de Sephadex® LH20 de l'extrait butanolique.

Lot de fractions	N° de la sous fraction	Masse (mg)	Observations
1-10	Sf 1	12,5	Mélange de faible quantité
11	Sf 2	8,5	Mélange de faible quantité
12-17	Sf 3	87	Mélange de produits
18-22	Sf 4	104,5	Mélange de produits
23-24	Sf 5	105,5	Mélange de produits
25	Sf 6	63	Mélange de produits
26-29	Sf 7	55,4	Mélange séparable
30-34	Sf 8	950,3	Produit pur
35-42	Sf 9	630	Mélange séparable
43-47	Sf 10	75	Mélange de produits
48-53	Sf 11	40,5	Mélange de produits
54-70	Sf 12	48	Produit pur
71-74	Sf 13	40	Mélange de produits
75-76	Sf 14	7,9	Mélange de produits
77-78	Sf 15	7,1	Mélange de produits

- **Etude de la sous-fraction Sf 7 :**

La sous fraction Sf 7 été soumise à une chromatographie par CLHP en utilisant les conditions suivantes :

Colonne semi-préparative C8.

Système d'élution isocratique : 45% H₂O/55% MeOH.

La concentration de la fraction : 100 mg/ml (dans le MeOH).

Le volume injecté : 100µl.

Débit : 2 ml/min

Cette séparation nous a permis d'obtenir trois produits (**SML/9/5**, **SML/9/13** et **SML/9/5**) qui sont des mono-taches sous lampe UV, ces derniers sont en cours d'analyse.

- **Etude de la sous-fraction Sf 8 :**

L'analyse de la sous-fraction Sf 8 sur une plaque CCM a montré la présence d'une seule tache sous UV (254 et 365 nm), le solvant a été évaporé à sec pour donner le produit **SML/7/8**

- **Etude de la sous-fraction Sf 9 :**

La sous-fraction Sf 8 est soumise par la suite à l'opération de purification en utilisant une CLHP semi préparative avec les conditions suivantes :

Colonne semi-préparative C8.

Système d'élution isocratique : 40% H₂O/60% MeOH.

La concentration de la fraction : 100 mg/ml (dans le MeOH).

Le volume injecté : 100µl.

Débit : 2 ml/min

Cette séparation nous a permis d'obtenir cinq produits purs : **SML/8/4**, **SML/8/5**, **SML/8/6**, **SML/8/7** et **SML/8/12**.

- **Etude de la sous-fraction Sf 12 :**

L'analyse de la sous-fraction Sf 8 sur une plaque CCM a montré la présence d'une seule tache sous UV (254 et 365 nm), le solvant a été évaporé à sec pour donner le produit **SML/7/12**.

- ❖ La chromatographie d'une aliquote de cette fraction (60mg) sur plaques préparatives avec comme éluant AcOEt/ MeOH/ Eau (8/1/1), nous a permis d'isoler un produit pur, **IA-53**.

Conclusion

En conclusion, l'étude phytochimique de l'extrait acétate d'éthyle de *S. microphylla* a permis d'isoler au total quinze produits purs, ce nombre a été réduit à dix vu que les produits SML/6/20, SML/7/12 et SML/8/12 étaient identiques ainsi que les produits SML/8/4, SML/8/5, SML/8/6 et SML/8/7 (Figure 29).

On note aussi que le produit IA-53 isolé de l'extrait acétate d'éthyle est identique au produit IA-39 isolé de l'extrait chloroformique.

L'organigramme suivant rassemble les étapes de séparation et de purification

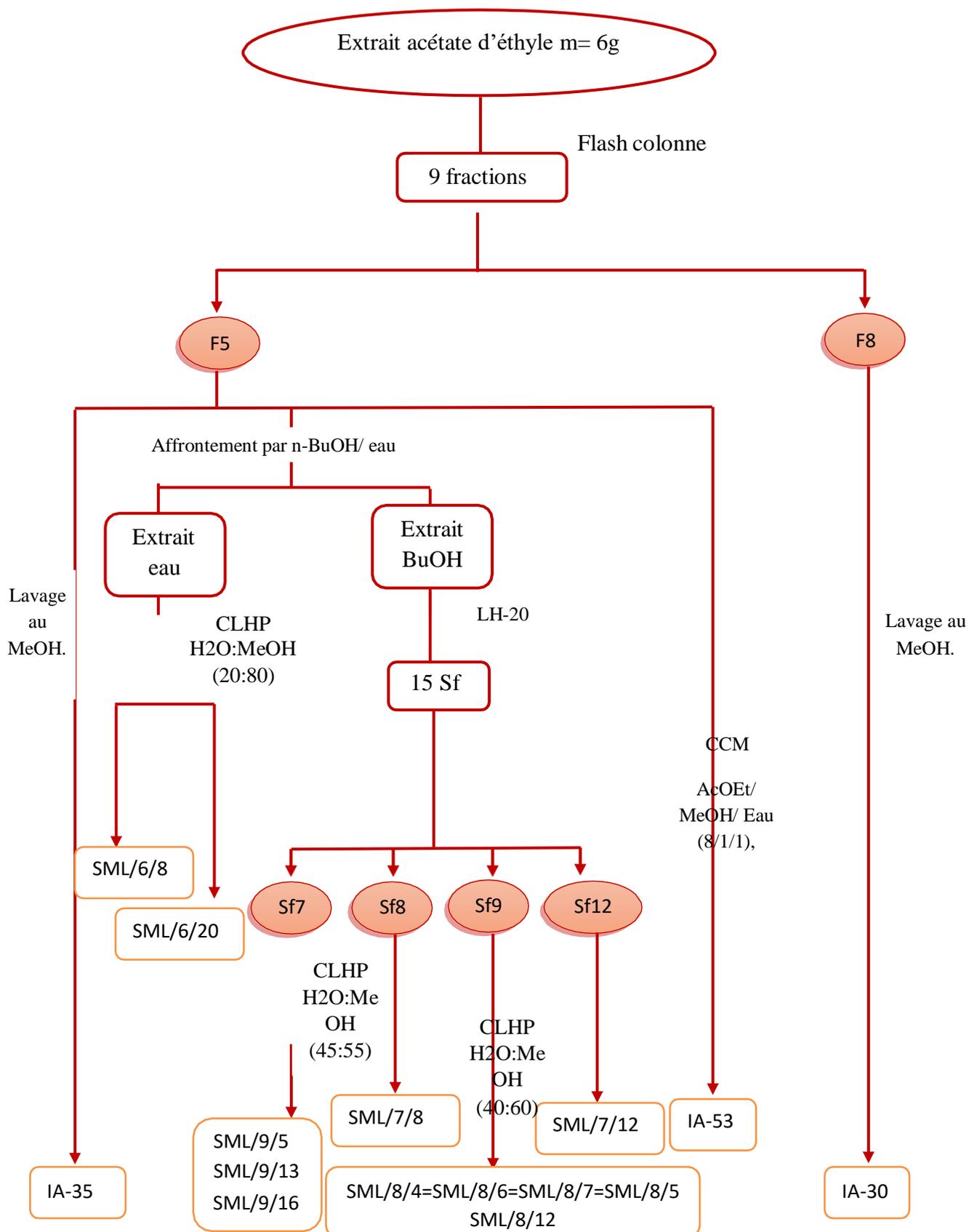


Figure 30: Schéma de séparation et purification des produits issus de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *Salvia microphylla*.



Chapitre V :
Résultats et discussions

I. Identification des produits isolés de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

Elucidation structurale du composé IA-28

Ce produit a été isolé sous-forme d'un précipité blanc de la fraction F-6 de l'extrait méthanolique. Une observation des signaux des spectres RMN ^1H et ^{13}C orientent vers une structure de type triterpénique.

L'examen du spectre RMN ^1H (figure 31) et son étalement (figure 32) enregistrés dans CDCl_3 montre des signaux qu'on peut identifier par :

- ✓ Cinq méthyles tertiaires résonant à δ_{H} (0,76 ; 0,96 ; 0,97 ; 1,00 ; 1,06) ppm, un méthyle vinylique à $\delta_{\text{H}}=1,87$ ppm et un méthyle secondaire à $\delta_{\text{H}}= 0.85$ ppm.
- ✓ Un signal déblindé d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 5,25$ ppm attribuable à un proton éthylénique corrélant dans le spectre HSQC avec le carbone à 117,7 ppm
- ✓ Un autre signal éthylénique déblindé d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6,04$ ppm corrélant avec le carbone à 147, 2 ppm.

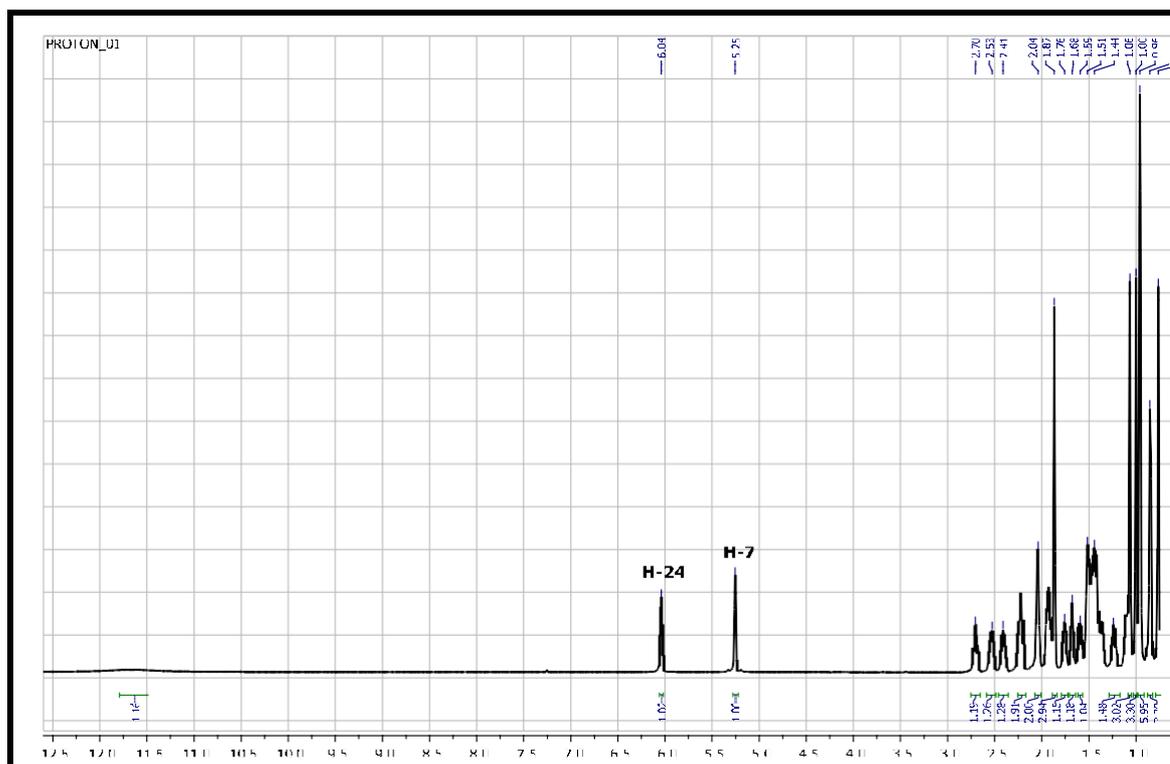
Le spectre RMN ^{13}C montre la présence d'un carbone à δ_{C} 173,2 ppm et un carbone à 211 ppm.

Les spectres ^{13}C et DEPT montrent la présence de 30 atomes de carbones se décomposant comme suit :

Sept groupements méthyles, 8 groupements méthylènes, cinq méthines quatre carbones quaternaires en plus d'un groupement carboxyle et d'un groupement carbonyle. La comparaison de ces données spectrales avec celles de l'acide masticadiénoïque montre qu'elles sont en tous points similaires.

Tableau 26 : Données du spectre RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3 , δ ppm) du composé IA-28.

Déplacement chimique δ (ppm)	Intégration	Attribution
6,04	1H	H-24
5,25	1H	H-7
1,87	3H(s)	CH_3 -26
1,06	3H(s)	CH_3 -29
1,00	3H(s)	CH_3 -28
0,97	3H(s)	CH_3 -30
0,96	3H(s)	CH_3 -19
0,85	3H(d)	CH_3 -21
0,76	3H(s)	CH_3 -18

Figure 31 : Spectre de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-28.

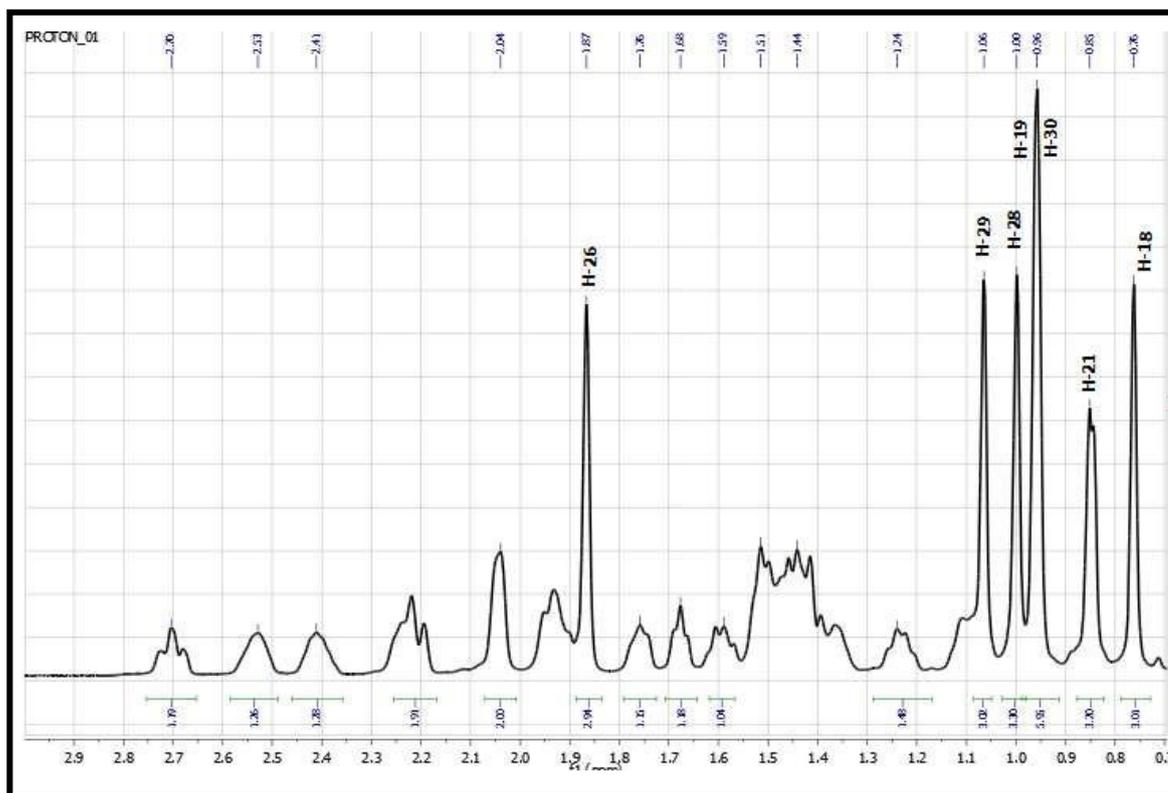
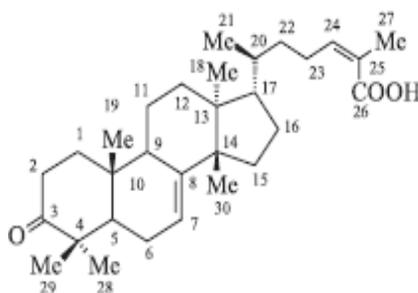


Figure 32 : Spectre de RMN ^1H étalé (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-28.

L'ensemble des données RMN proton et ^{13}C correspondent en tout point à celles de l'acide masticadienonique.



Le spectre RMN ^{13}C (Figure 33) confirme, la présence de deux doubles liaisons à $\delta_{\text{C}} = 147,08$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 125,92$ ppm relatives au C-24 et C-25 et à $\delta_{\text{C}} = 145,87$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 117,73$ ppm relatif au C-8 et C-7.

Le spectre RMN ^{13}C (Figure 33) montre la présence de 30 atomes de carbone dans cette molécule et le spectre DEPT (Figure 33) permet de les répartir comme suit :

- 7 groupements méthyles CH₃
 - 9 groupements CH₂
 - 6 groupements CH
 - Ainsi que 8 carbones quaternaires.
- Quatre signaux à $\delta_C = 36,01 ; 48,42 ; 52,25$ et $52,81$ ppm dans le DEPT attribuables aux carbones CH-20, CH-9, CH-5 et CH-17 respectivement.
 - Neuf signaux dans le DEPT à $\delta_C = 18,26 ; 24,33 ; 26,79 ; 28,15 ; 33,61 ; 34,01 ; 34,83 ; 35,6$ et $38,47$ ppm correspond aux groupements CH₂ en positions 11, 6, 23, 16, 15, 12, 2, 22 et 1.
 - Sept signaux à $\delta_C = 12,75 ; 18,21 ; 20,49 ; 21,54 ; 21,92 ; 24,52$ et $27,38$ ppm attribuables aux groupements méthyles : CH₃-19, CH₃-21, CH₃-26, CH₃-28, CH₃-18, CH₃-29 et CH₃-30.
 - Huit signaux des carbones quaternaires à $\delta_C = 216,84 ; 173,26 ; 147,08 ; 125,92 ; 51,12 ; 47,71 ; 43,47$ et $34,96$ ppm attribuables aux carbones C-3, C-27, C-24, C-25, C-14, C-4 C-13 et

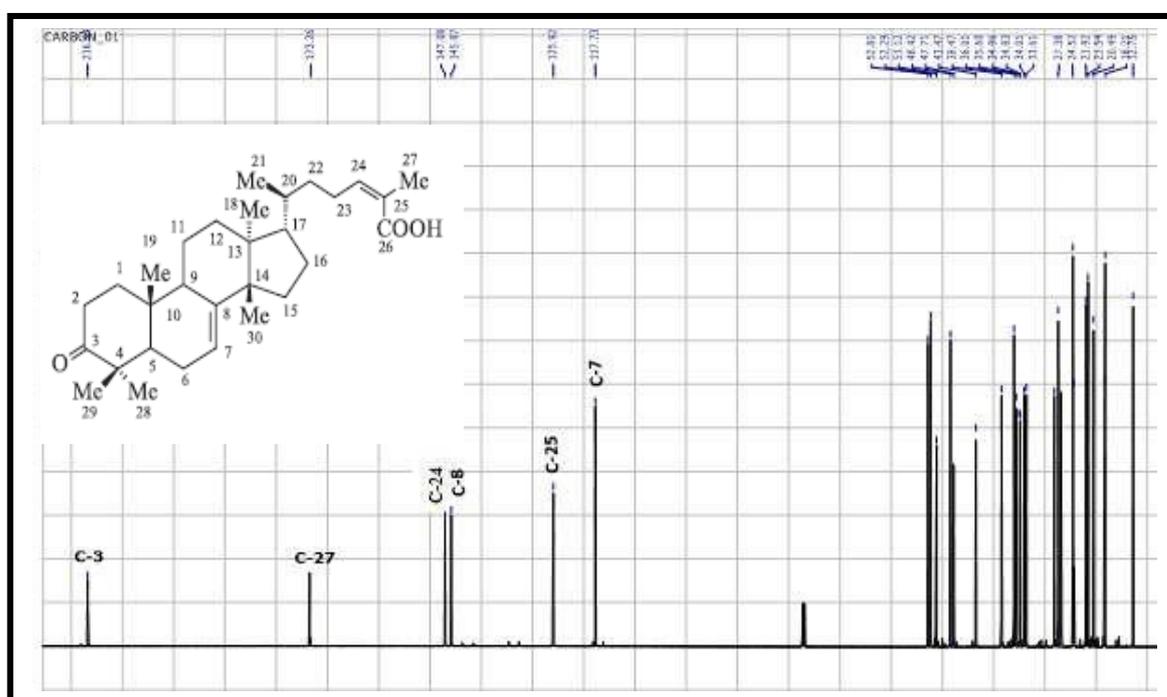


Figure 33 : Spectre RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz) du composé IA-28.

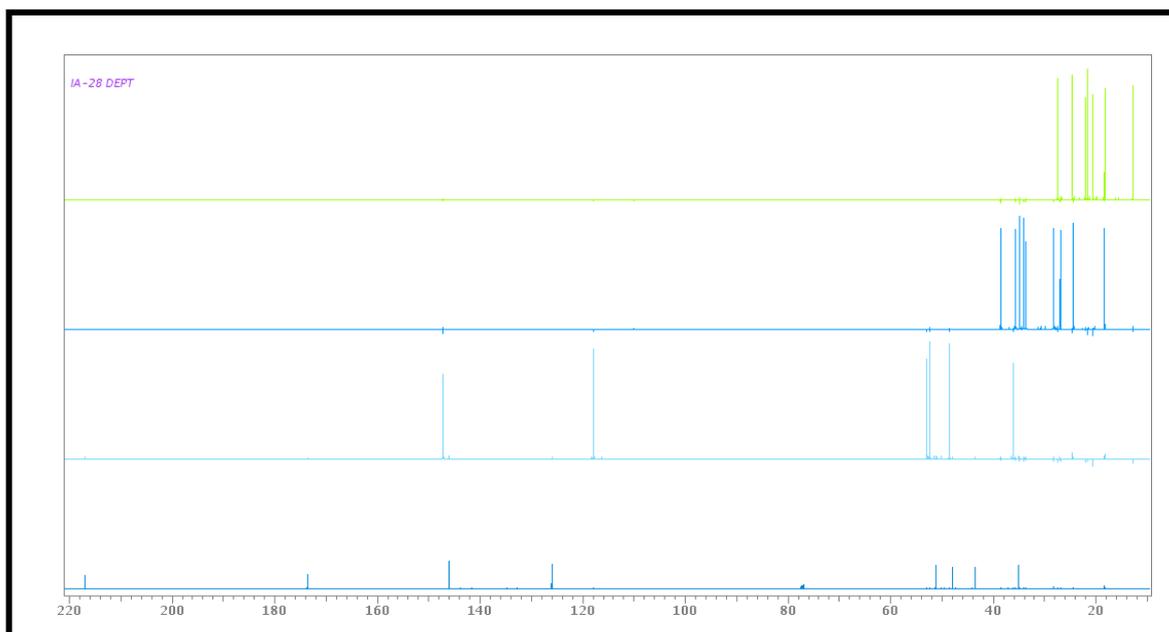


Figure 34 : Spectre DEPT (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-28.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (figure 35) confirme l'attribution des signaux du RMN ¹³C.

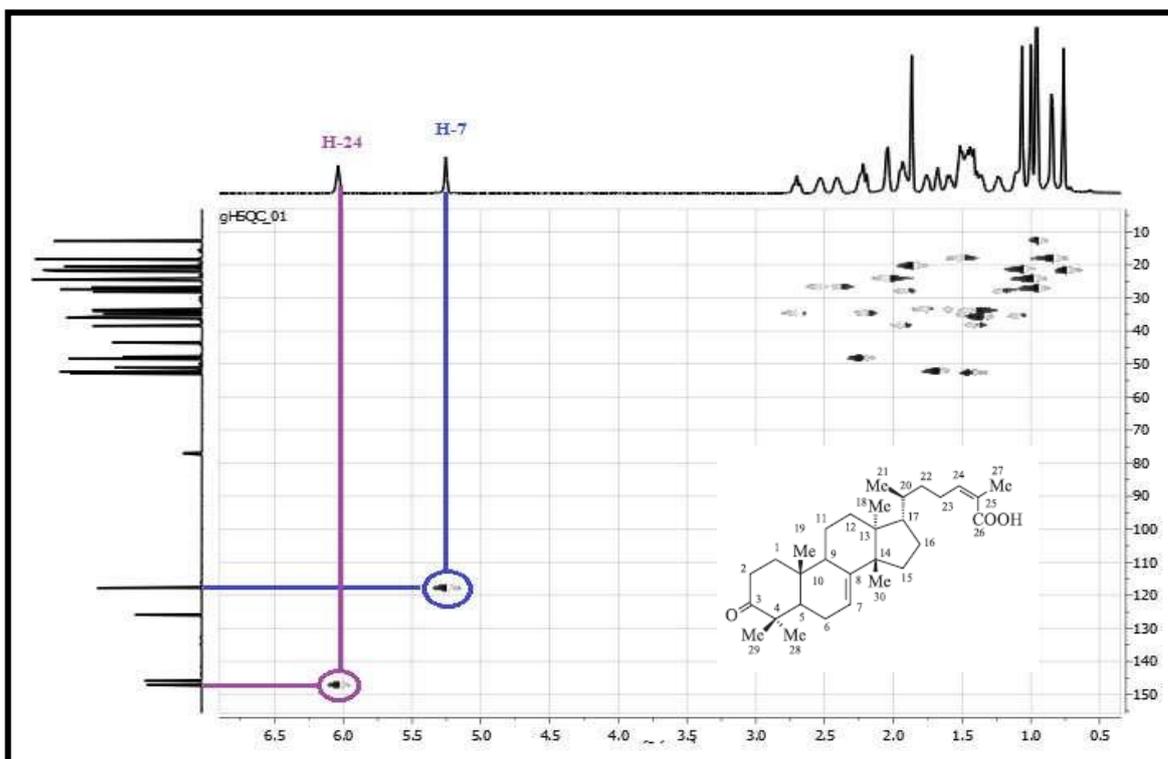


Figure 35 : Spectre RMN HSQC (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-28.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HMBC (figure 36) permet de tirer les indications suivantes :

- Les protons de méthyle CH₃-18 montre quatre tâches de corrélation :
 - La première avec le carbone à $\delta_C=34,01$ ppm d'un CH₂ (spectre DEPT) attribuable au C-12.
 - La seconde avec le carbone à $\delta_C=43,47$ ppm d'un carbone quaternaire dans le DEPT et qui ne peut être que le C-13.
 - La troisième avec le carbone à $\delta_C = 51,12$ ppm, ce dernier corrèle avec le proton H-15, donc ce carbone ne peut être que le C-14.
 - La dernière avec le carbone à $\delta_C=52,81$ ppm d'un CH attribuable à C-17.

- Les protons de méthyle CH₃-19 montre quatre tâches de corrélation :
 - La première avec le carbone à $\delta_C=34,96$ ppm d'un carbone quaternaire dans le DEPT et qui ne peut être que le C-10.
 - La seconde avec le carbone à $\delta_C=38,47$ ppm d'un CH₂ (spectre DEPT) attribuable au C-1.
 - La Troisième avec le carbone à $\delta_C= 52,25$ ppm d'un CH, ce dernier corrèle avec les protons de méthyle CH₃-28 et CH₃-29, donc ce carbone ne peut être que le C-5.
 - La quatrième avec le carbone à $\delta_C = 48,42$ ppm d'un CH attribuable à C-9.

- Les protons de méthyle CH₃-29 et le CH₃-28 montre trois tâches de corrélation :
 - La première avec le carbone à $\delta_C=47,71$ ppm d'un carbone quaternaire dans le DEPT et qui ne peut être que le C-4.
 - La seconde avec le carbone à $\delta_C=52,25$ ppm d'un CH (spectre DEPT) attribuable au C-5.
 - La dernière avec le carbone à $\delta_C=216,84$ ppm d'un C-quaternaire attribuable à C-3.

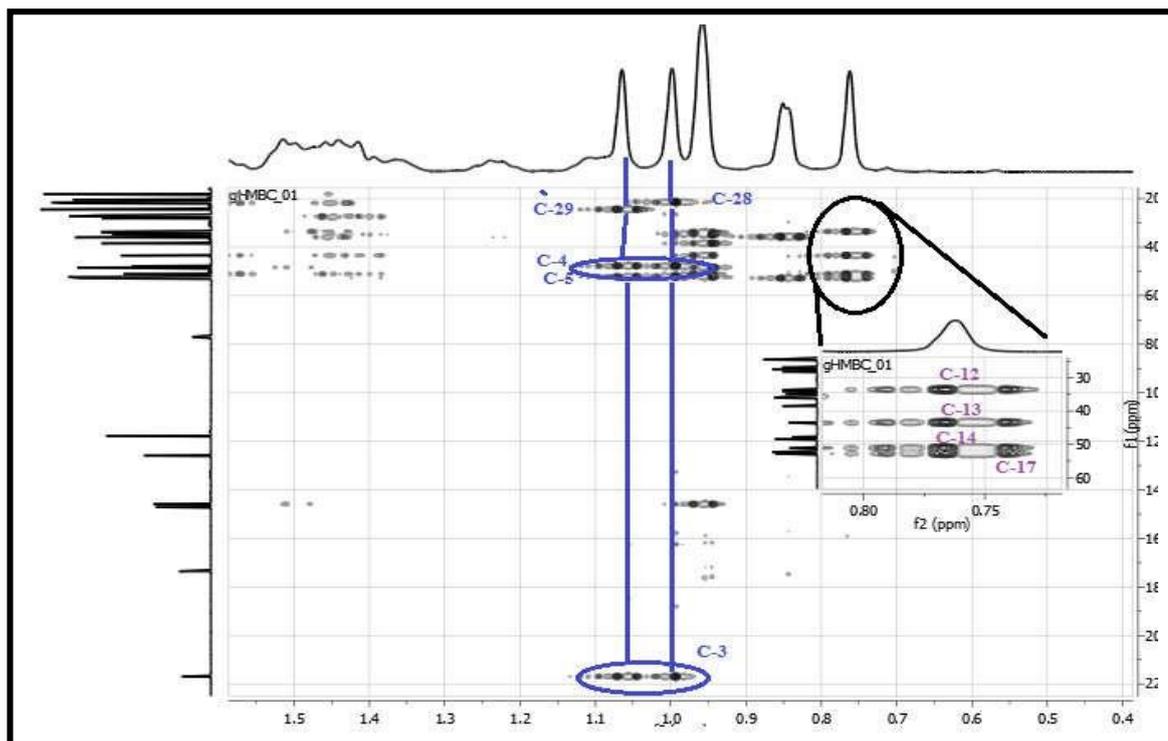


Figure 36 : Spectre de HMBC étalé (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-28.

L'analyse des spectres RMN ^1H , ^{13}C , HSQC et HMBC nous a permis d'identifier le produit **IA-28** comme étant une molécule de type triterpénique, décrite sous le nom de **l'acide masticadienonique**.

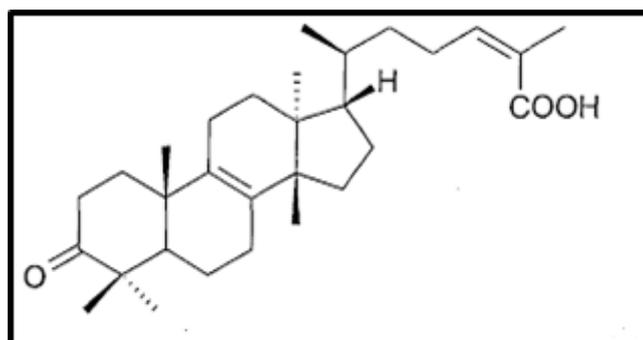


Figure 37 : Structure finale du composé **IA-28**, l'acide masticadienonique.

L'ensemble des données spectroscopiques sont regroupées dans le tableau 27.

Tableau 27 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du produit IA-28 dans le CDCl_3 .

Position	$\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{H}}(\text{ppm})$
1	38,47	1,92 ; 1,40
2	35,6	2,69 ; 2,19
3	216,84	-
4	47,71	-
5	52,25	1,41
6	24,33	2,05
7	117,73	5,25
8	145,87	-
9	48,42	2,22
10	34,96	-
11	18,26	1,50
12	34,01	1,41
13	43,47	-
14	51,12	-
15	33,61	1,61 ; 1,74
16	28,15	1,23 ; 1,91
17	52,01	1,68
18	21,92	0,76
19	12,75	0,95
20	36,01	1,35

21	18,21	0,85
22	35,6	1,12
23	26,79	0,96
24	147,08	6,04
25	125,92	-
26	20,49	1,87
27	173,26	-
28	21,54	-
29	24,52	1,06
30	27,38	0,97

Elucidation structurale du composé IA-27

D'une fluorescence noir violette sous lumière de Wood 365nm, le produit **IA-27** se dissout dans l'acétone et donne une coloration violette après révélation par l'acide sulfurique dilué.

L'examen du spectre RMN ^1H enregistré dans l'acétone à 600 MHz (Figure 39 ; Figure 40) nous permet de distinguer :

- ✓ Sept signaux singulets dans la région blindée entre 0,83 et 1,22 ppm, intégrant pour trois protons chacun, correspondant à des groupements méthyles d'un squelette tri terpénique pentacyclique et résonant à δ_{H} 0,83 (H-26), 0,96 (H-29), 0,97 (H-30), 1,04 (H-24), 1,08 (H-23), 1,10 (H-25), 1,22 (H-27).
- ✓ Un signal déblindé sous forme d'un triplet à δ_{H} 5,40 (t , $J= 7,1$ Hz, H-12) attribuable à un proton éthylénique, signe d'une insaturation dans la molécule.

La présence de sept méthyles sous-forme de singulets et du proton H-12 oriente vers la structure d'un *acide oléanonique*. Cette proposition sera confirmée par les expériences RMN ^{13}C et RMN 2D (HSQC, HMBC). La présence d'une fonction carbonyle à $\delta\text{c}= 214,9$ ppm oriente vers la β -amyrenone ou oléan-12-ène-3-one

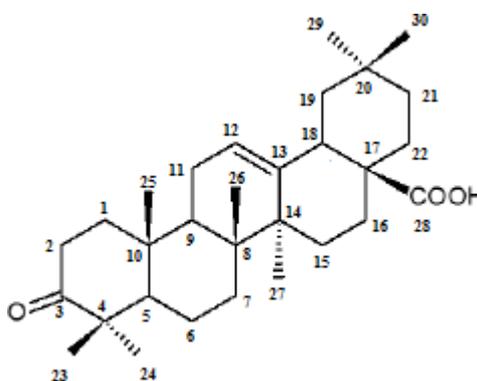


Figure 38 : la structure de la β -amyrenone.

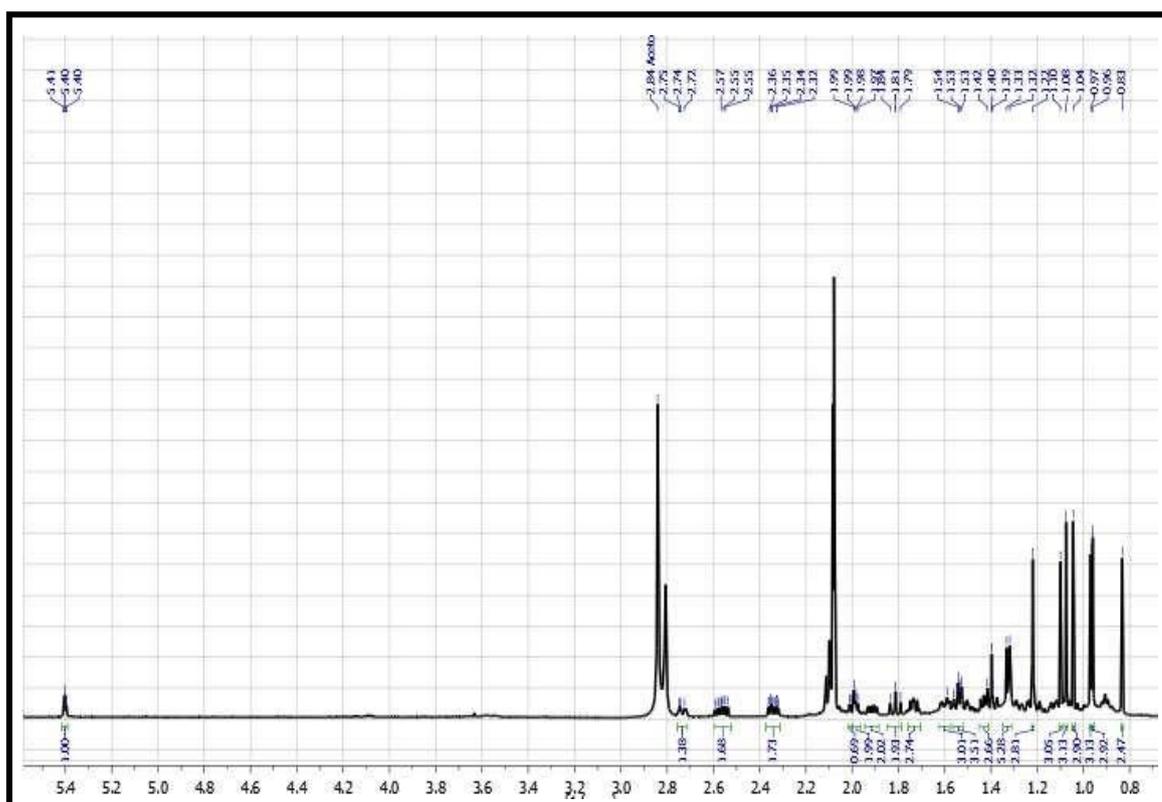


Figure 39 : Spectre de RMN ^1H (Acétone- d_6 , 600 MHz) du composé IA-27

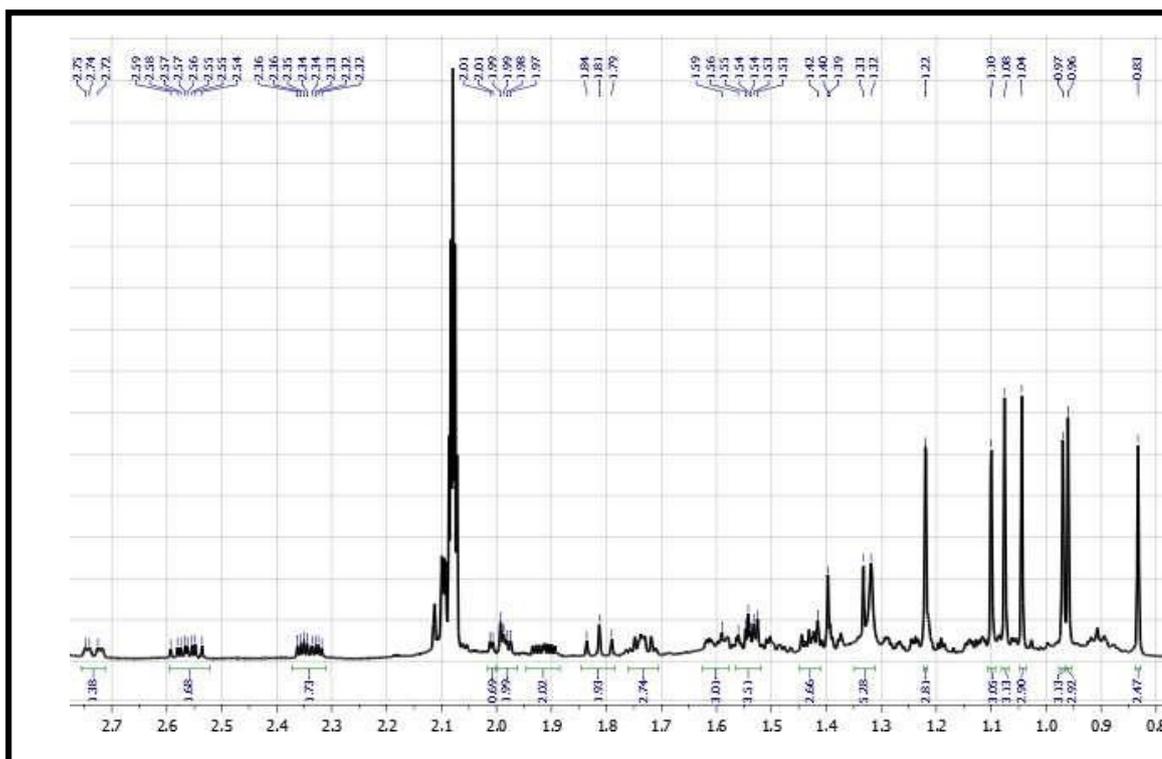


Figure 40 : Spectre de RMN ^1H étalé (Acétone- d_6 , 600 MHz) du composé IA-27

L'étude du spectre relatif à l'expérience HSQC (figure 41) permet l'attribution des carbones suivants :

- Le proton H-12 permet l'attribution du carbone C-12 à $\delta_{\text{C}} = 123,02$ ppm.
- Le proton H-18 permet l'attribution du carbone C-18 à $\delta_{\text{C}} = 40,59$ ppm.

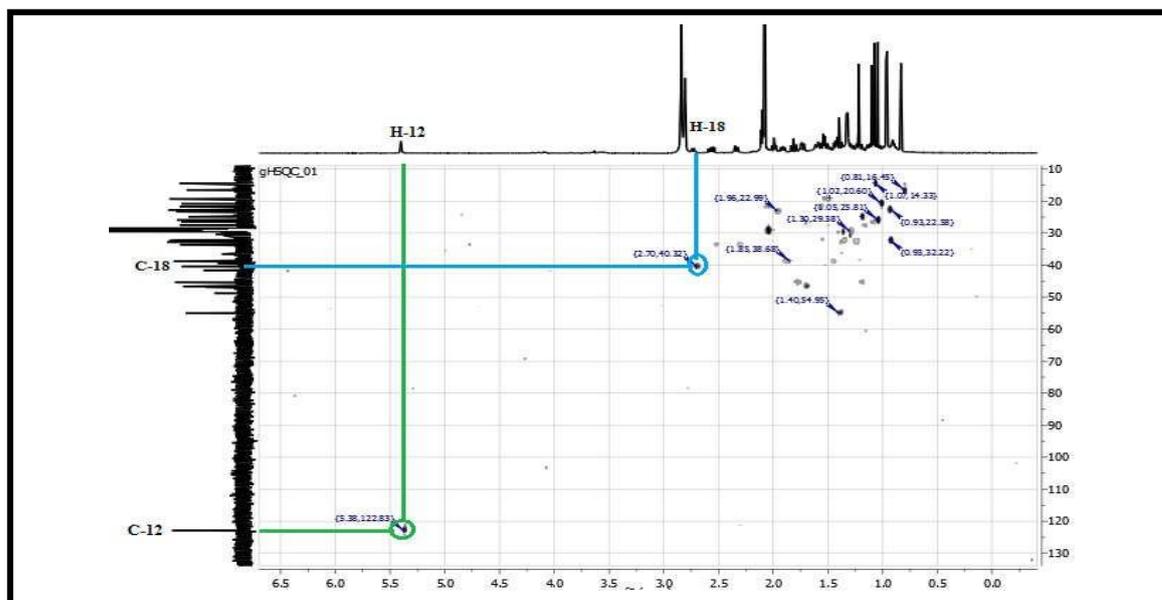


Figure 41 : Spectre RMN HSQC (Acétone- d_6 , 600 MHz) du composé IA-27.

L'analyse des spectres RMN ^{13}C et ses séquences DEPT (figure 42, 43) et par comparaison avec les résultats de la bibliographie (Majekodunmi et al., 2002) permettent l'attribution des signaux des atomes de carbones :

- Le spectre RMN ^{13}C compte 30 signaux d'atomes de carbones, dont 4 CH et 7 signaux de types CH_3 et 10 autres signaux de type CH_2 et 9 carbones quaternaires.
- Le signal à $\delta_{\text{C}} = 143,30$ ppm attribuable à un carbone éthylénique qui ne peut être que le C-13.
- Trois signaux à $\delta_{\text{C}} = 54,71$; $46,83$ et $40,59$ ppm dans le DEPT attribuables aux carbones CH_5 , CH_9 et CH_{18} respectivement.
- Dix signaux dans le DEPT à $\delta_{\text{C}} = 38,88$; $33,64$; $19,40$; $30,38$; $22,74$; $26,49$; $21,66$; $46,61$; $32,79$ et $32,39$ ppm correspond aux groupements CH_2 en positions 1, 2, 6, 7, 11, 15, 16, 19, 21 et 22 respectivement.
- Sept signaux à $\delta_{\text{C}} = 25,90$; $20,78$; $14,45$; $16,53$; $24,89$; $32,13$ et $23,27$ ppm attribuables aux groupements méthyles : CH_3 -23, CH_3 -24, CH_3 -25, CH_3 -26, CH_3 -27, CH_3 -29 et CH_3 -30 respectivement.
- Huit signaux des carbones quaternaires à $\delta_{\text{C}} = 48,76$; $39,46$; $36,52$; $143,30$; $41,61$; $45,40$; $27,56$ et $206,35$ ppm attribuables aux carbones C-4, C-8, C-10, C-13, C-14, C-17 C-20 et C-28.

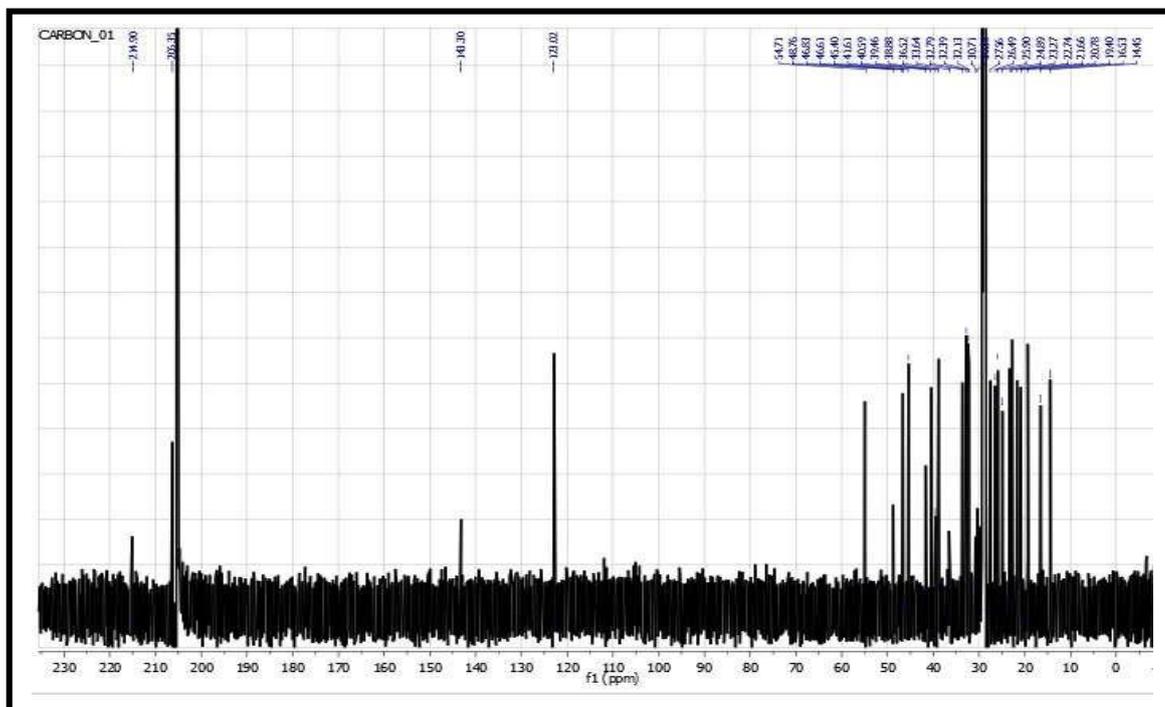


Figure 42 : Spectre RMN ^{13}C (Acétone- d_6 , 150 MHz) du composé IA-27.

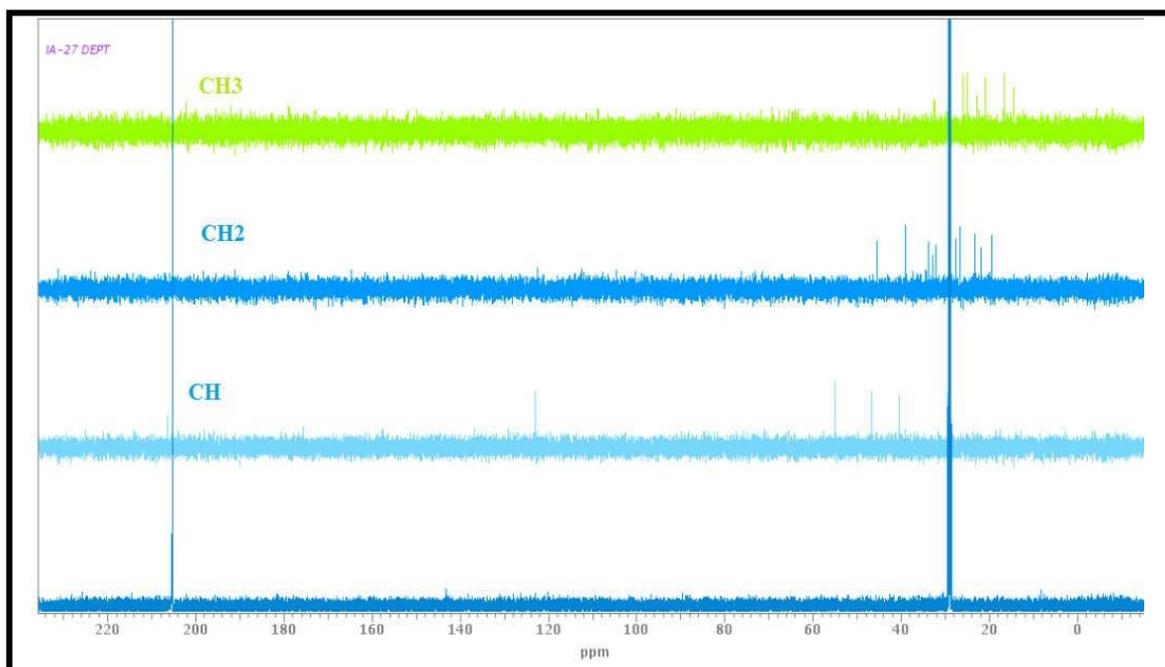


Figure 43 : Spectre Dept (Acétone-d₆, 600 MHz) du composé IA-27.

Le spectre HMBC (Figure 44 ; 45 ; 46) permet l'attribution des méthyles et autres carbones grâce à des corrélations longues distances entre protons et carbones.

- Le proton H-26 montre trois tâches de corrélation :
 - La première avec le carbone C-8 à $\delta_C = 39,46$ ppm.
 - La deuxième et la troisième avec les C quaternaires à $\delta_C = 41,61$ et $46,83$ ppm attribuables aux carbones C-14 et C-9, respectivement.

- Le proton H-30 montre trois tâches de corrélation :
 - La première avec le carbone C-7 à $\delta_C = 30,38$ ppm.
 - La deuxième avec le groupement CH₂ à $\delta_C = 32,39$ ppm qui ne peut être que le C-22.
 - La troisième avec un carbone quaternaire à $\delta_C = 45,40$ ppm qui ne peut être que le C-17.

- Le proton H-24 montre trois tâches de corrélation :
 - La première avec le groupement CH₃ à $\delta_C = 25,90$ ppm qui ne peut être que le C-23.
 - La deuxième avec le carbone C-9 à $\delta_C = 46,83$ ppm.
 - La troisième avec le groupement CH à $\delta_C = 54,71$ ppm qui ne peut être que le C-5.

- Le proton H-25 montre quatre tâches de corrélation :

- La première avec le C quaternaire à $\delta_C = 36,52$ ppm qui ne peut être que le C-10.
- La deuxième avec le carbone C-9 à $\delta_C = 46,83$ ppm.
- La troisième et la quatrième sont avec deux carbones à $\delta_C = 54,71$ et $38,88$ ppm le premier est le C-5, le second est un CH_2 qui ne peut être que le C-1.

- Le proton H-27 montre trois tâches de corrélation :
 - La première et la deuxième sont avec deux C quaternaires à $\delta_C = 39,46$ et $41,61$ ppm attribuables aux carbones C-8 et C-14, respectivement.
 - La troisième avec le groupement CH_2 à $\delta_C = 26,49$ ppm qui ne peut être que le C-15.
- Le proton H-29 montre une tâche de corrélation avec le CH_3 à $\delta_C = 23,27$ ppm qui ne peut être que le C-30.
- Le proton H-23 montre une tâche de corrélation avec le groupement CH_3 à $\delta_C = 20,78$ ppm qui ne peut être que le carbone C-24.

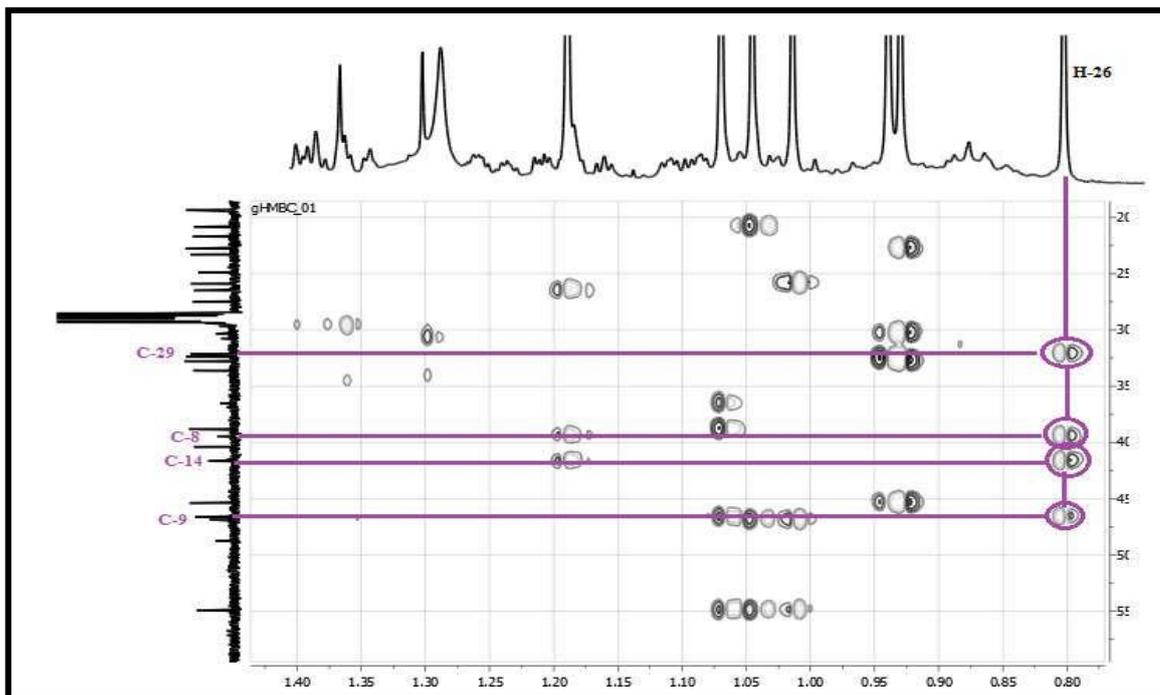


Figure 44 : Spectre de HMBC étalé- a-(Acétone- d_6 , 600 MHz) du composé IA-27

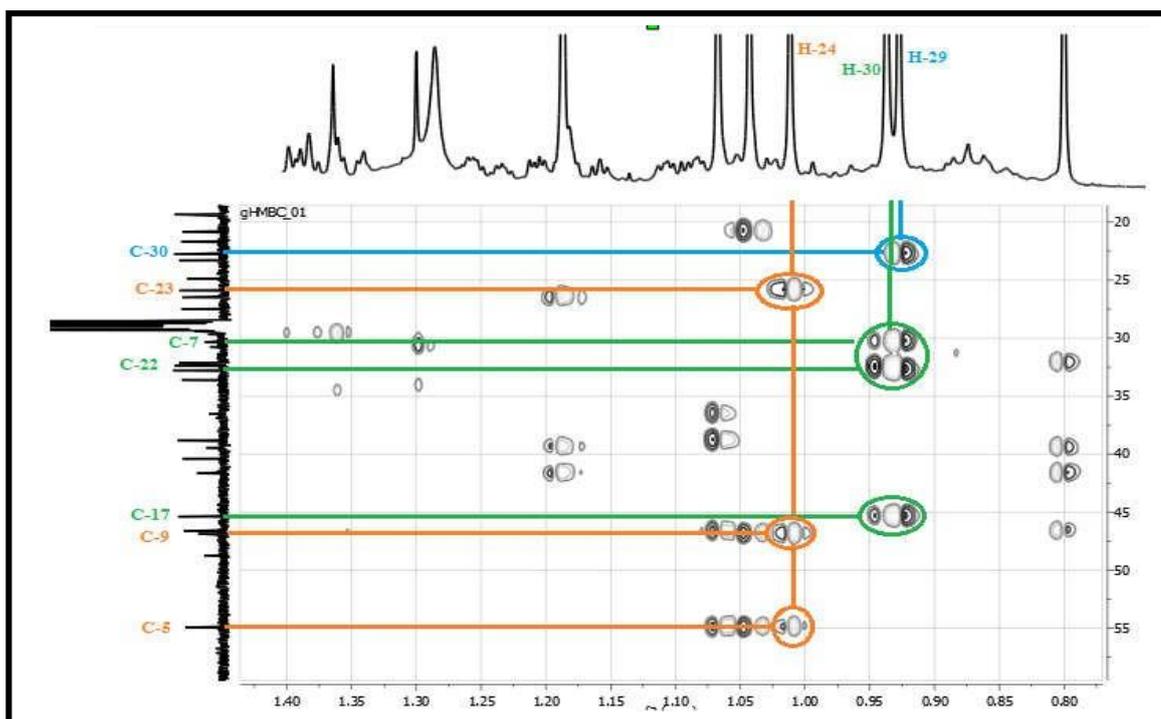


Figure 45 : Spectre de HMBC étalé- b- (Acétone- d_6 , 600 MHz) du composé IA-27.

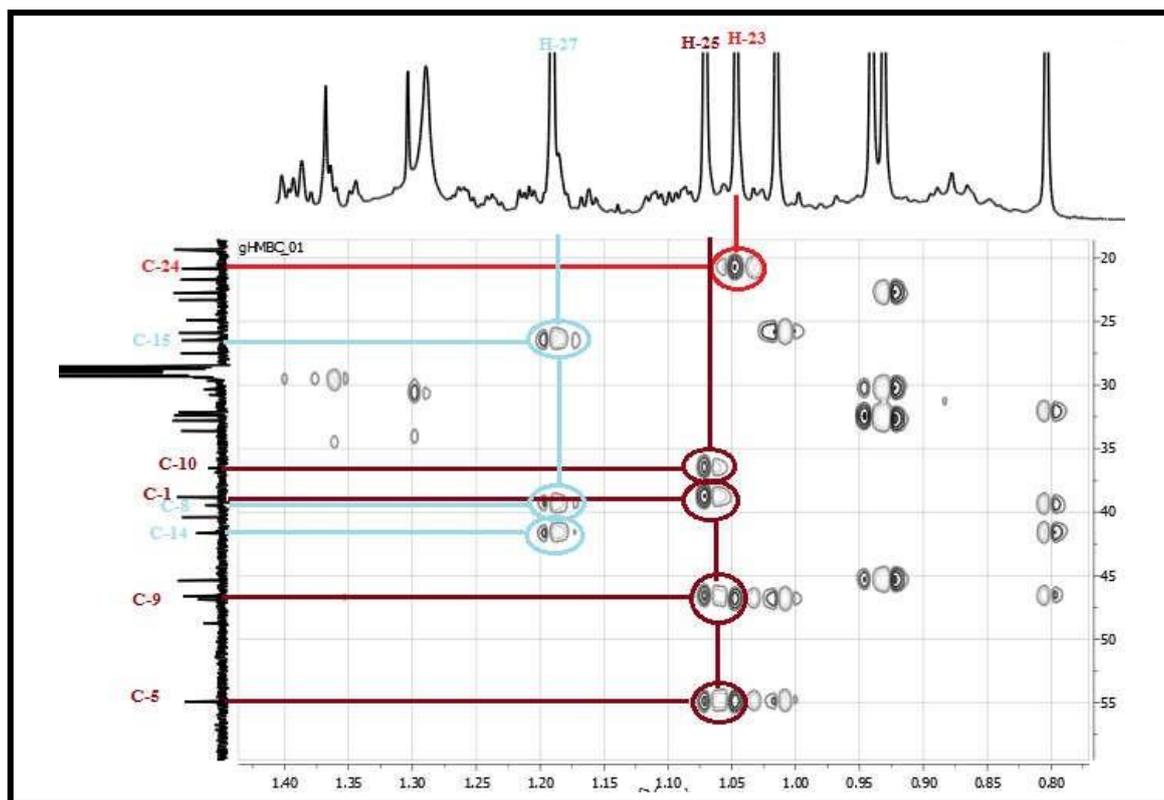


Figure 46 : Spectre de HMBC étalé -c- (Acétone-d₆, 600 MHz) du composé IA-27.

L'analyse des spectres RMN ¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'identifier le produit IA-27 comme étant la β-amyrénone.

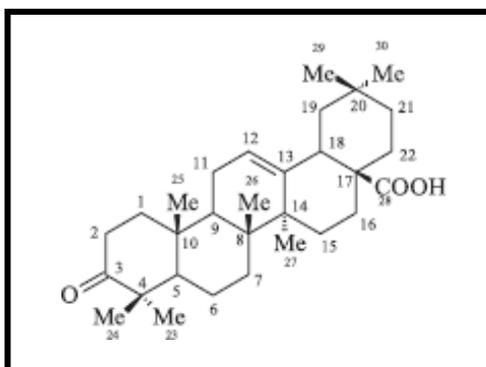


Figure 47 : structure finale du composé IA-27, β-amyrénone (3-ceto-oléan-12-ène ou oléan-12-ène-3-one).

L'ensemble des données spectroscopiques sont regroupées dans le tableau 28.

Tableau 28 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du produit IA-27 dans l'acétone- d_6 .

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	38,88	1,91 ; 1,48
2	33,64	2,56 ; 2,33
3	214,90	-
4	48,76	-
5	54,71	1,41
6	19,40	1,53
7	30,38	1,32 ; 1,39
8	39,46	-
9	46,81	1,73
10	36,52	-
11	22,74	1,99
12	123,02	5,40
13	143,30	-
14	41,61	-
15	26,49	1,74 ; 1,09
16	21,66	1,03
17	45,40	1,22 ; 1,81
18	40,59	2,73
19	46,61	1,73
20	27,56	-
21	32,79	1,39
22	32,39	1,28
23	25,90	1,06
24	20,78	1,04
25	14,45	1,10
26	16,53	0,83
27	24,89	1,22
28	206,35	-

29	32,13	0,96
30	23,27	0,97

Elucidation structurale du composé IA-29

Ce produit a été isolé sous-forme d'un précipité blanc de la fraction F-12 de l'extrait méthanolique.

Par comparaison des données des spectres RMN avec ceux de la bibliographie, les signaux des protons d'intégration 1H chacun à $\delta_H = 3,44$ et $5,30$ ppm sont caractéristiques de H-3 et H-6 d'un β -sitostérol, on remarque également que ce stérol est glycosylé par la présence d'un signal d'intégration 1H à $\delta_H = 4,20$ ppm correspondant à un proton anomérique.

L'examen du spectre RMN ^1H (figure 48) et son étalement (figure 49) enregistré dans le DMSO montre des signaux qu'on peut identifier par :

- ✓ Des signaux entre $\delta_H = 0,63$ - $0,93$ ppm, confirmant la présence des groupements méthyles.
- ✓ Des signaux entre $0,95$ et $2,33$ ppm, indiquant la présence de protons de groupements méthylènes et méthynes saturés.
- ✓ Des signaux des protons d'intégration 1H chacun à $\delta_H = 3,44$ et $5,30$ ppm sont caractéristiques de H-3 et H-6 d'un β -sitostérol.
- ✓ L'observation d'un ensemble de signaux entre $\delta_H 2,86$ et $3,63$ ppm ainsi que la présence d'un signal d'intégration 1H à $\delta_H = 4,20$ ppm correspondant à un proton anomérique, ce qui confirme que ce stérol est glycosylé. La valeur du déplacement du proton anomérique H -1' ($\delta_H = 4,20$ ppm) et la constante de couplage ($J_{1'-2'} = 7,6$ Hz) indique qu'il s'agit d'un glucose de configuration β .

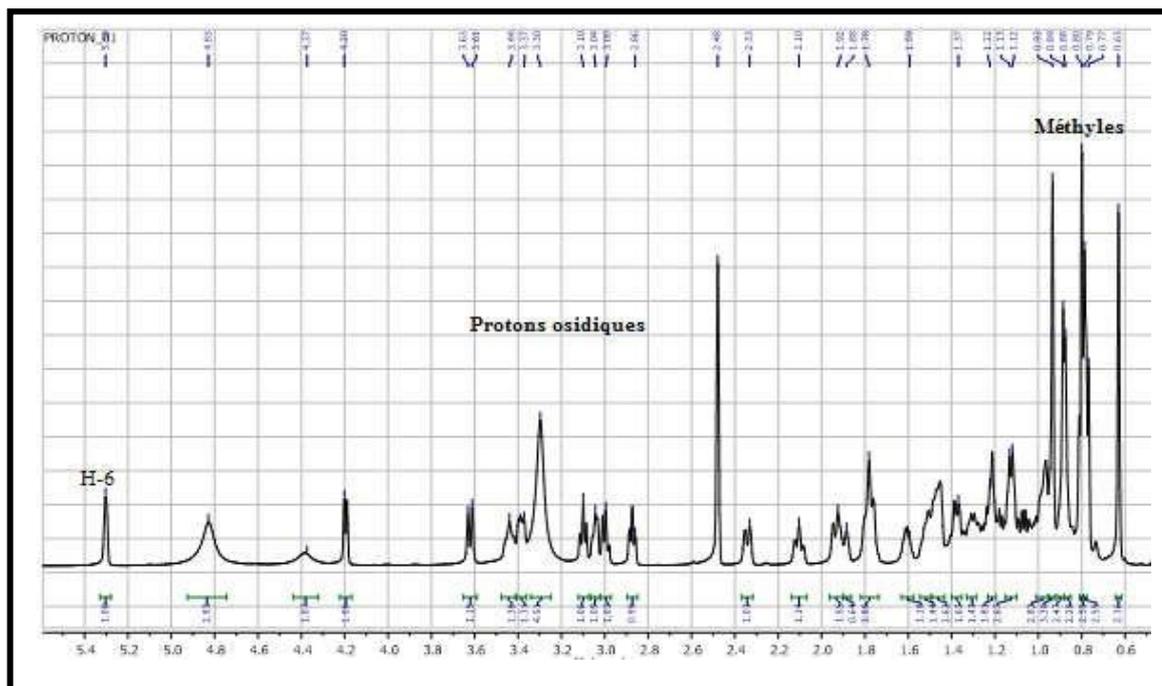


Figure 48 : Spectre de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-29.

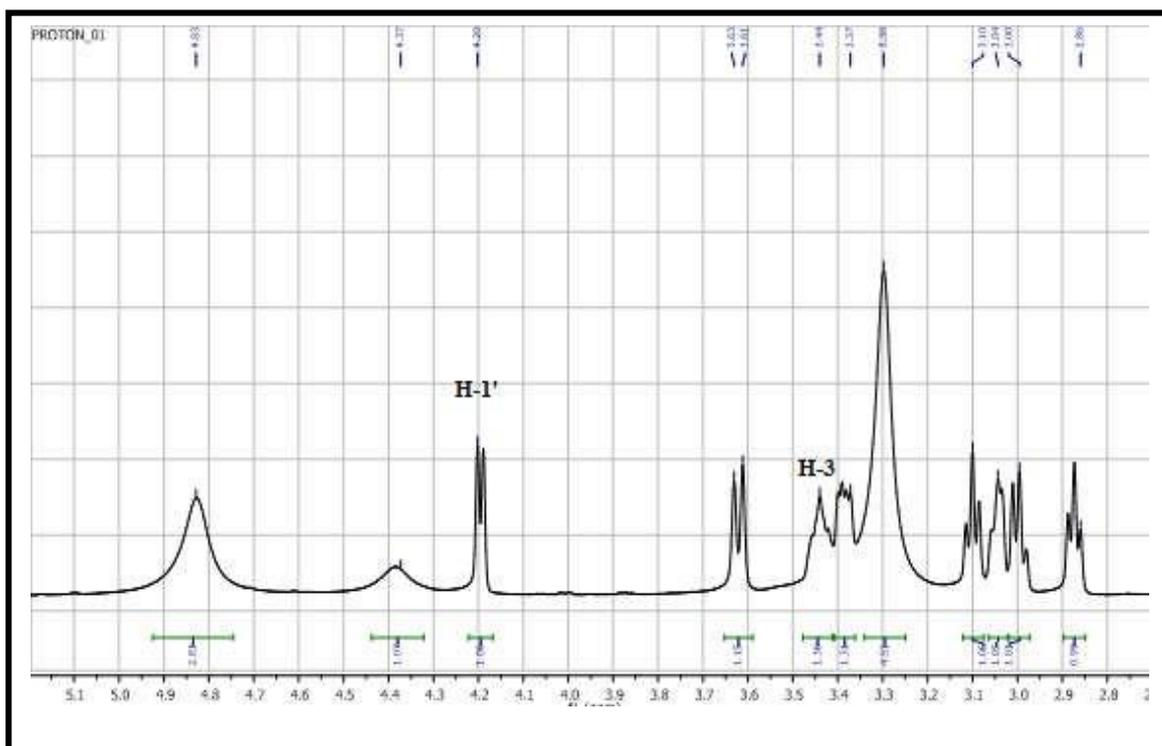


Figure 49 : Spectre de RMN ^1H étalé (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-29.

Le spectre RMN ^{13}C (Figure 50) montre la présence de 35 atomes de carbone dans cette molécule et le spectre DEPT (Figure 51) permet de les répartir comme suit :

- 14 groupements CH, 12 CH₂, 6 CH₃ ainsi que 3 carbones quaternaires.
- Un carbone quaternaire vinylique à $\delta_C = 140,89$ ppm attribuable à C-5
- Un CH vinylique à $\delta_C = 121,58$ ppm attribuable à C-6.
- Un CH oxygéné à $\delta_C = 77,33$ ppm correspond à C-3.
- Un CH oxygéné à $\delta_C = 101,46$ ppm correspond au carbone anomérique C-1'.
- Un CH₂ à $\delta_C = 61,54$ ppm attribuable à C-6' du groupement glycosyle.
- Les signaux apparaissant à $\delta_C = 70,54$; 73,91 ; 77,19 ; 77,22 ppm correspondent aux CH osidiques.
- Un carbone quaternaire à $\delta_C = 42,30$ ppm attribuable à C-13.
- Un autre signal d'un carbone quaternaire à $\delta_C = 36,66$ ppm qui ne peut être que le C-10.

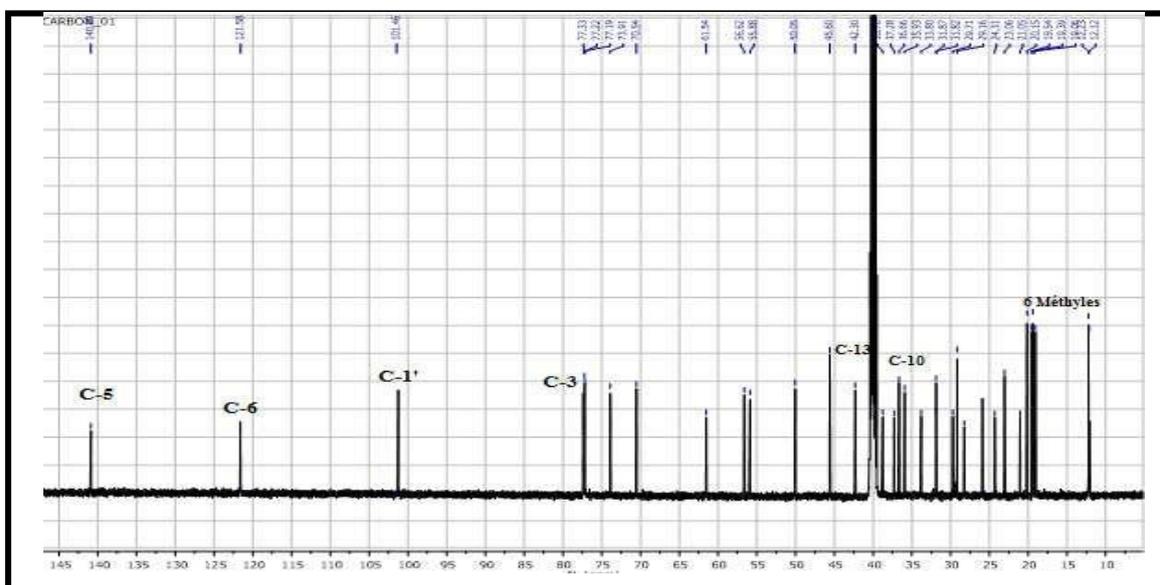


Figure 50: Spectre RMN ¹³C (DMSO-d₆, 150 MHz) du composé IA-29.

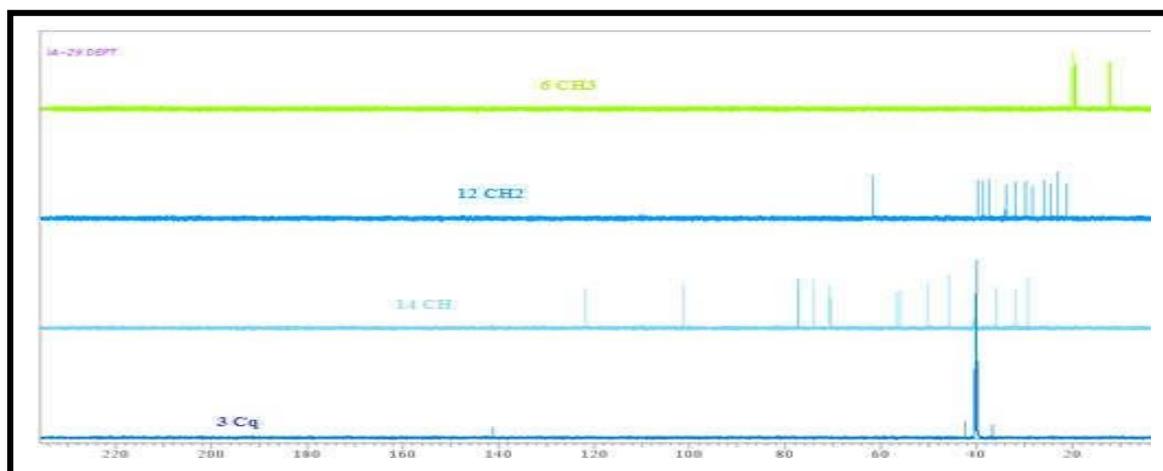


Figure 51 : Spectre DEPT (DMSO-d₆, 600 MHz) du composé IA-29.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (figure 52 et 53) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants ainsi :

Les protons obtenus du groupement glycosyle permettent l'attribution des signaux à $\delta_C=101,46$ (C-1'), 73,91(C-2'), 77,22 (C-3'), 70,54 (C-4'), 77,19 (C-5'), 61,54 (C-6').

D'après les valeurs des déplacements chimiques des carbones et du C-3' (δ_C 77,22 ppm) (Agrawal et al., 1992) l'entité osidique est définie comme étant le β -D-glucose

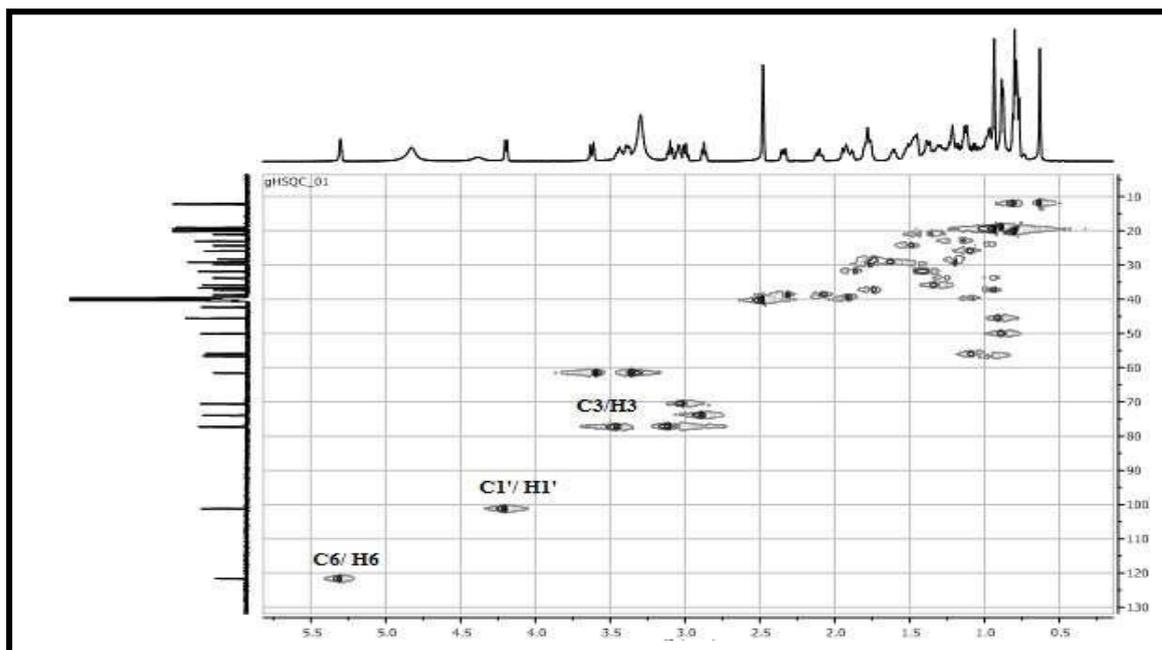


Figure 52 : Spectre HSQC (DMSO-d₆, 600 MHz) du composé IA-29.

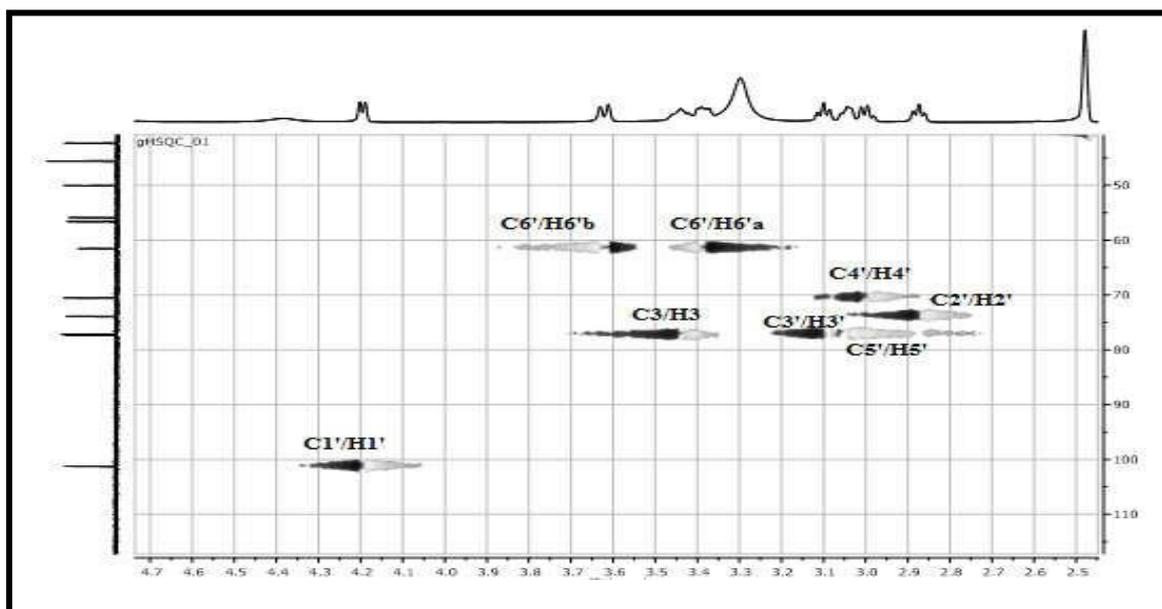


Figure 53: Spectre HSQC étalé (DMSO-d₆, 600 MHz) du composé IA-29.

La corrélation $3J_{H-C}$ observée sur le spectre HMBC (Figure 54) entre le proton anomérique H-1' du glucose résonant à 4,20 ppm et le carbone C-3 de la génine, indique le point de jonction du glucose au stérol.

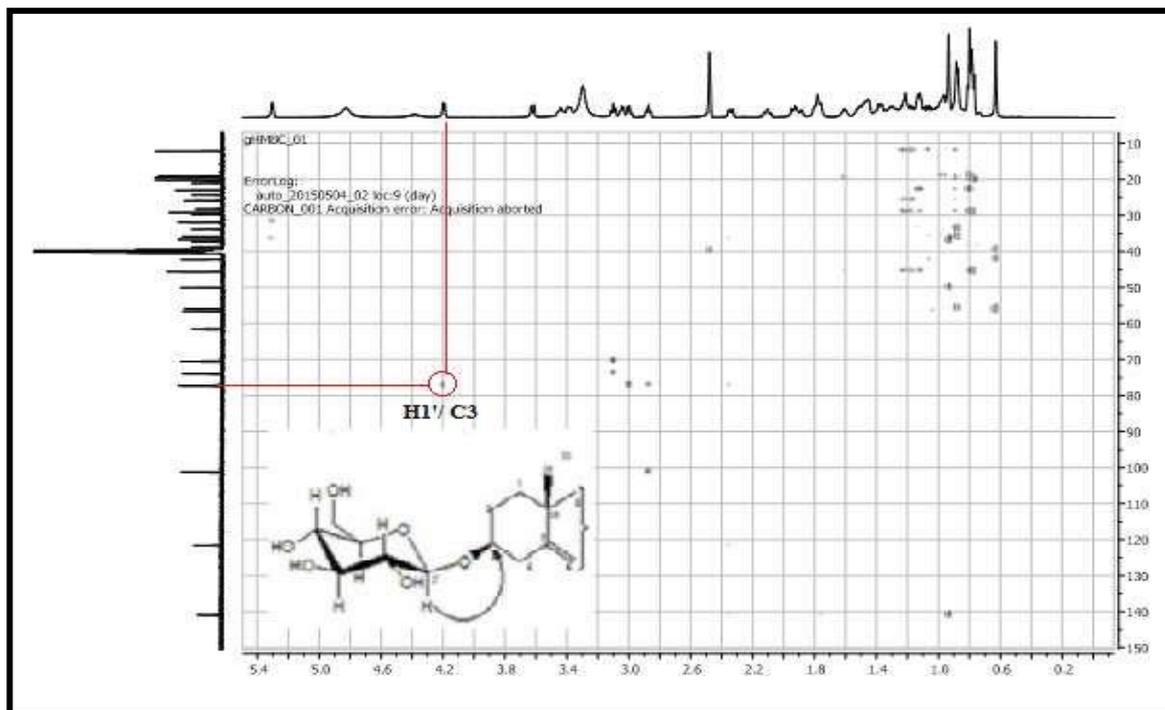


Figure 54: Spectre HMBC (DMSO-d₆, 600 MHz) du composé IA-29.

Tous les déplacements chimiques des protons et des carbones (Tableau 25) déterminés conjointement par les expériences HSQC (Figure 50 et 51), HMBC (figure 55) et par comparaison avec les données de la littérature (Khatun et al., 2012), ont permis d'identifier le composé IA-29 comme étant le **3-O-β-glucopyranosyl β-Sitostérol**, connu sous le nom **Daucostérol** représenté ci-dessous, Ce composé est décrit pour la première fois dans le genre *Pistacia*.

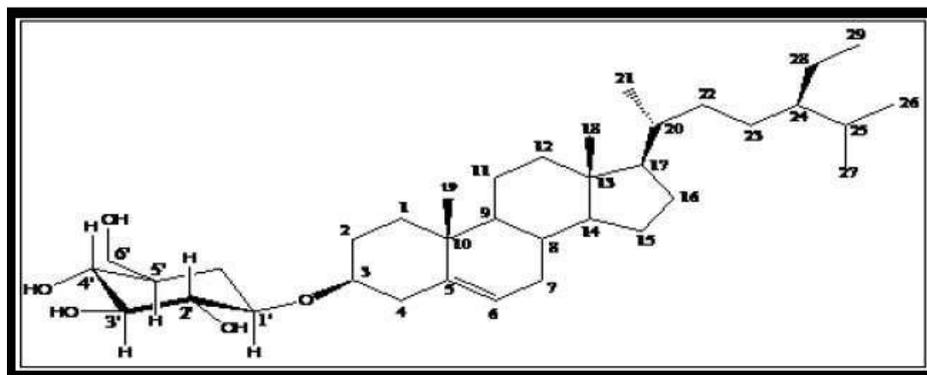


Figure 55 : Structure finale du composé IA-29, le Daucostérol.

Les valeurs des déplacements chimiques des protons et des carbones du composé IA-29 sont représentées dans le tableau 29.

Tableau 29 : Données du spectre RMN ^{13}C et RMN ^1H du produit IA-29.

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	37,28	1,76
2	31,82	1,88
3	7,33	3,44
4	38,76	2,38
5	140,89	-
6	121,58	5,30
7	28,24	1,19
8	31,82	1,38
9	50,05	0,87
10	36,66	-
11	21,05	1,48
12	39,64	1,92
13	42,30	-
14	56,62	0,96
15	24,31	1,49
16	29,71	1,46
17	55,88	1,07
18	12,23	0,80
19	19,54	0,93
20	35,93	1,31
21	19,39	0,88
22	33,80	1,24
23	25,84	1,11
24	45,60	0,80
25	29,16	1,59
26	20,15	0,79
27	19,06	0,89

28	23,06	1,13
29	12,12	0,63
Glucose		
1'	101,46	4,20
2'	73,91	2,86
3'	77,22	3,10
4'	70,54	3,05
5'	77,19	3,00
6'	61,54	3,62- 3,39
OH-2'	-	4,32
OH-3'	-	Entre 4,82- 4,85
OH-4'	-	
OH-6'	-	

Elucidation structurale du composé IA-25

Les données de RMN ^1H et ^{13}C sont compatibles avec celle du β -sitostérol en effet le spectre RMN ^1H dans CDCl_3 de ce composé (figure 56) et son étalement (figure 57) indique :

- Un proton oléfinique à $\delta_{\text{H}} = 5,35$ (d, J-5,2 Hz, 1H), correspondant au proton éthylénique connu avec la numérotation H-6.
- Un autre signal sous forme d'un multiplet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 3,52$ ppm correspondant à un proton connecté à un carbone oxygéné notamment le H-3 d'un stérol.

Le spectre RMN ^1H de IA-25 a également montré la présence de six signaux méthyliques qui sont apparus sous forme de deux singlets méthyliques à 0,68 et 1,00 à H ; trois doublets de méthyle qui sont apparus à 0,80, 0,83 et 0,92 ppm ; et un triplet méthyle à 0,84 ppm.

Le reste des protons est apparu dans la région des champs élevés entre 0,68 et 2,5 ppm

Tableau 30 : Données du spectre RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) du composé IA-25.

<i>Déplacement chimique</i> δ (ppm)	<i>Intégration</i>	<i>Attribution</i>
5,35	1H(dl)	H-6
3,52	1H(m)	H-3
0,68	3H(s)	CH_3 -18

0,80	3H(dl)	CH ₃ -27
0,83	3H(dl)	CH ₃ -26
0,84	3H(m)	CH ₃ -29
0,92	3H(dl)	CH ₃ -21
1,00	3H(s)	CH ₃ -19

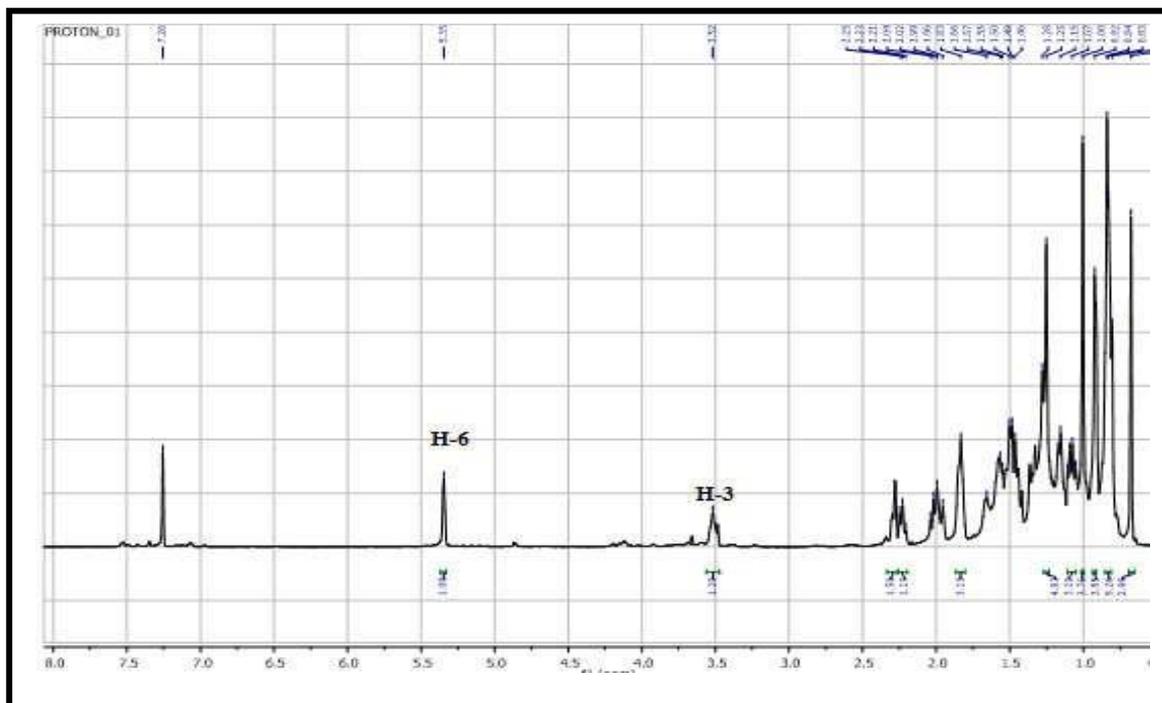


Figure 56 : Spectre de RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-25.

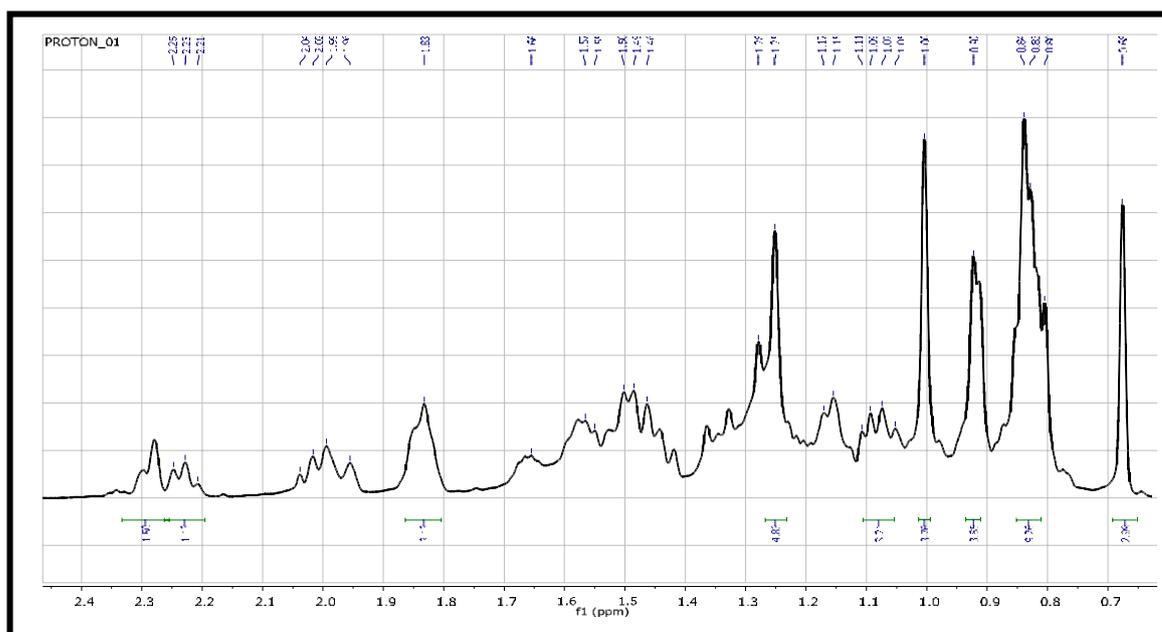


Figure 57 : Spectre RMN ¹H étalé (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-25.

Ainsi, la structure du IA-25 a été assignée comme étant le β - **sitostérol** comme le montre la figure 58 :

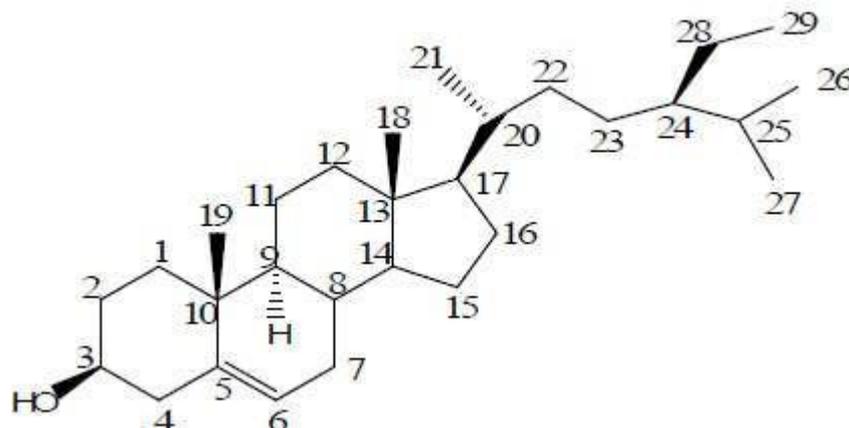


Figure 58: Structure finale du composé **IA-25**, β - *sitostérol*.

Les données RMN ^{13}C et DEPT confirment cette structure : En effet, le spectre RMN ^{13}C (figure 59) et son étalement (figure 60) et le spectre HSQC (figure 61) indiquent la présence de 29 atomes de carbones :

- ✓ Une double liaison tri-substituée par les signaux à $\delta_{\text{C}}=140,75$ ppm, relatif à un carbone éthylénique quaternaire (C-5) et à $\delta_{\text{C}}= 121,68$ ppm relatif à un CH éthylénique (C-6).
- ✓ CH oxygéné à $\delta_{\text{C}}=71,79$ ppm relatif au carbone portant la fonction alcool (C-3). Les valeurs des déplacements chimiques sont caractéristiques des positions attribuées.

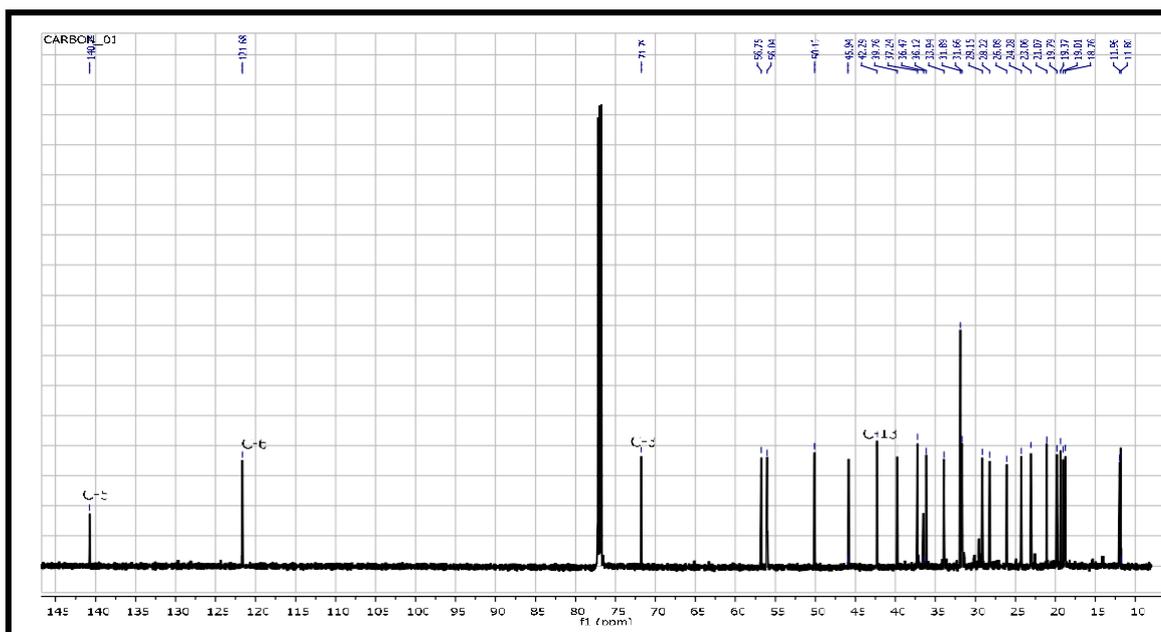


Figure 59 : Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150MHz) du composé IA-25.

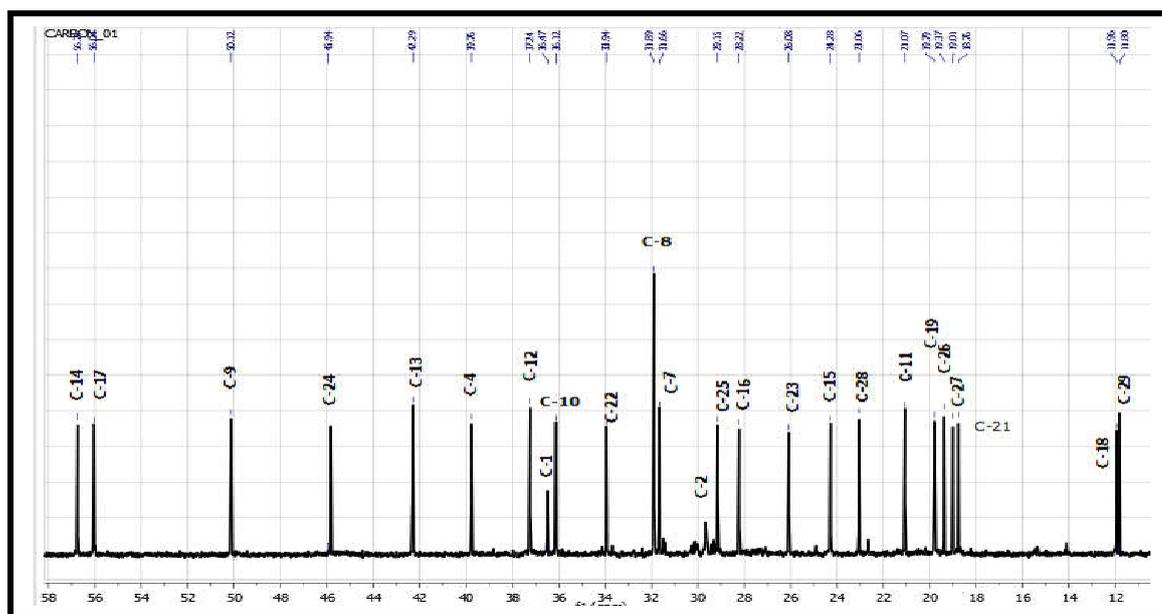


Figure 60 : Spectre RMN ^{13}C étalé (CDCl_3 , 150MHz) du composé IA-25.

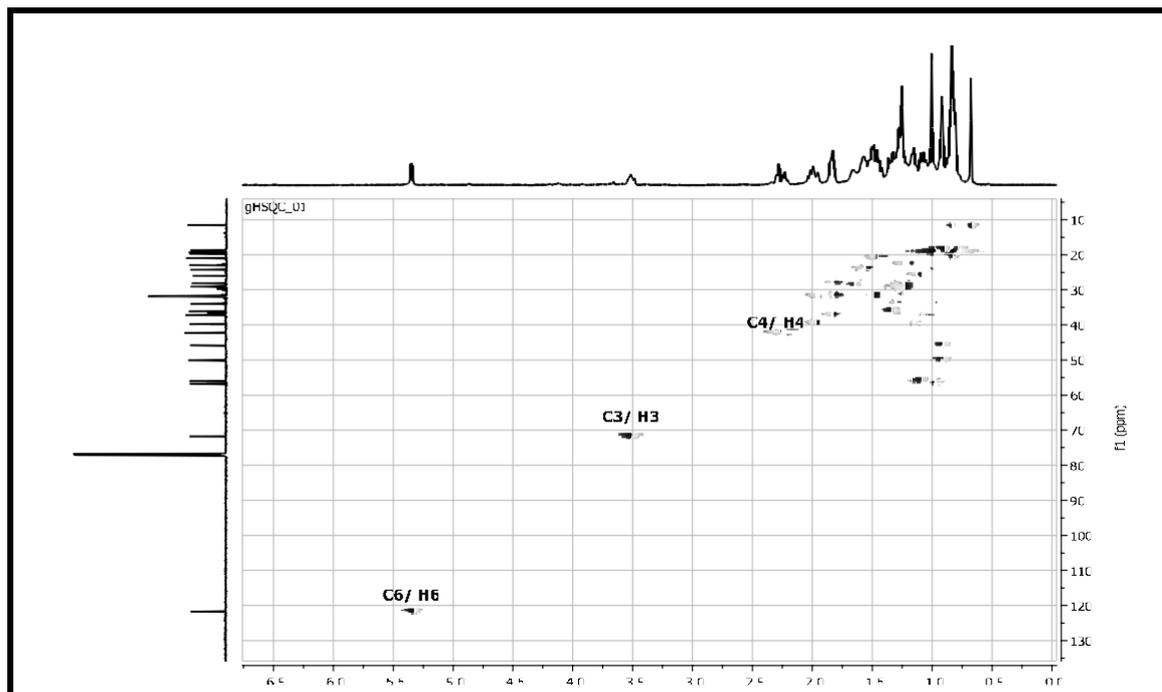


Figure 61 : Spectre RMN HSQC (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-25.

L'ensemble de nos analyses et la comparaison avec les données rapportées dans la littérature (González et al., 1997) mènent à la structure reportée dans la Figure 58, soit le β -sitostérol. Ce composé est décrit pour la première fois dans le genre *Pistacia*.

Elucidation structurale du composé IA-22

En se basant sur les spectres de masse, RMN ^1H , RMN ^{13}C on retrouve les signaux correspondants au composé IA-25 avec des signaux supplémentaires indiquant la présence de deux produits.

L'étude du spectre RMN ^1H dans le chloroforme montre (figure 62) :

- Un signal d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 5,25$ ppm attribuable à H-6.
- Un autre signal d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 5,10$ ppm attribuable à H-23.
- Un doublet de doublets d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 3,49$ ppm attribuable à H-22.

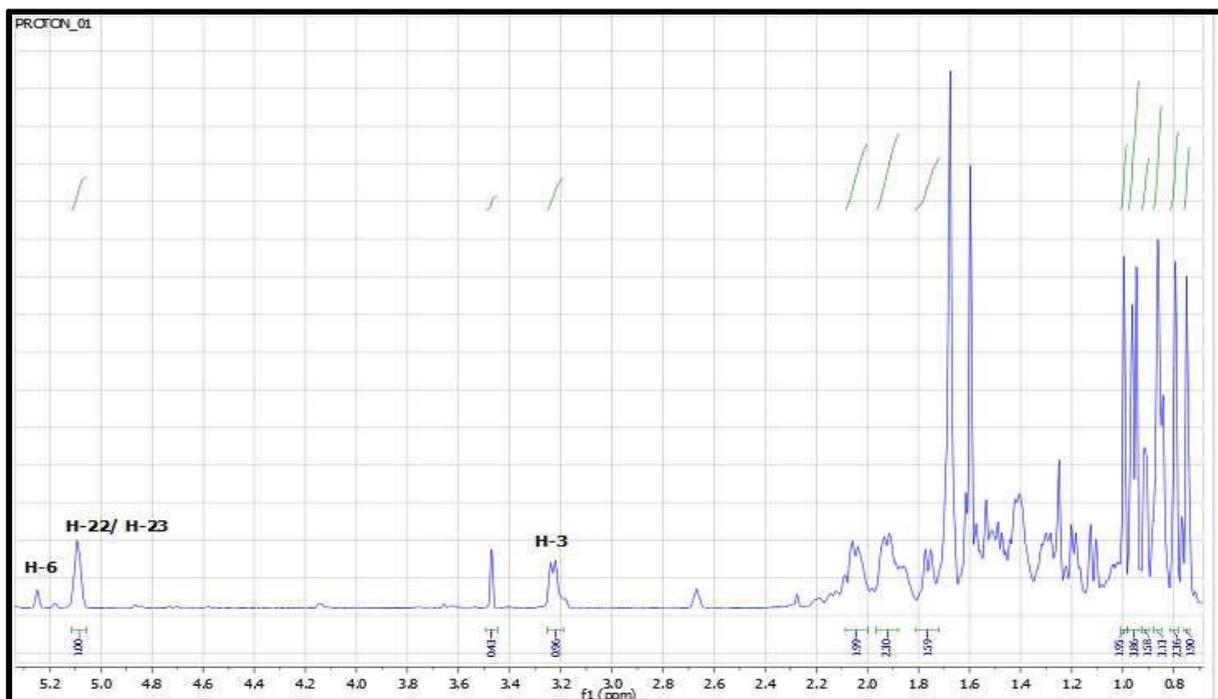


Figure 62 : Spectre de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-22.

Le spectre RMN ^{13}C (figure 63) confirme une fois de plus, la présence de deux doubles liaisons à $\delta_{\text{C}} = 134,18$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 117,81$ ppm relatives au C-5 et C-6 et à $\delta_{\text{C}} = 125,93$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 133,48$ ppm relatif au C-22 et C-23. Un autre déplacement chimique à $\delta_{\text{C}} = 78,54$ ppm dû à la présence d'un hydroxyle lié à C-3.

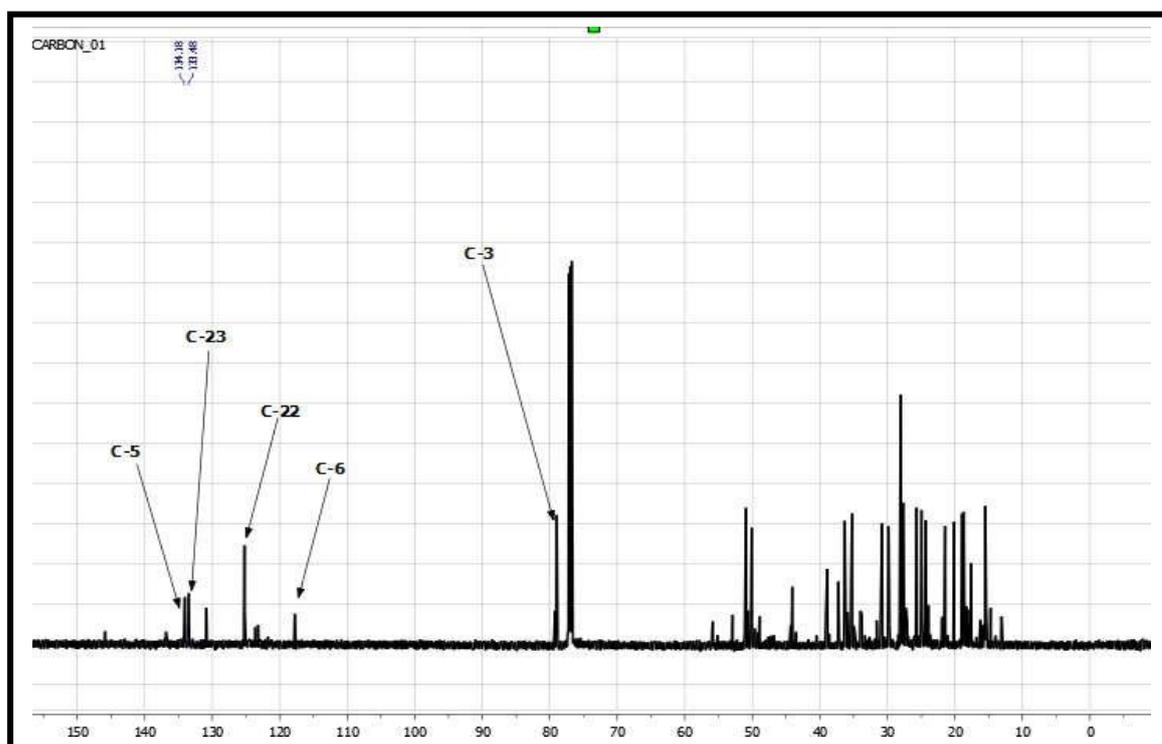


Figure 63 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz) du composé IA-22.

Une comparaison entre les intégrales permet de doser les deux composés dans le spectre proton (figure 64) nous permet de déduire la présence de deux types de stérols qui sont le stigmastérol et β -sitostérol ,78% et 22% respectivement.

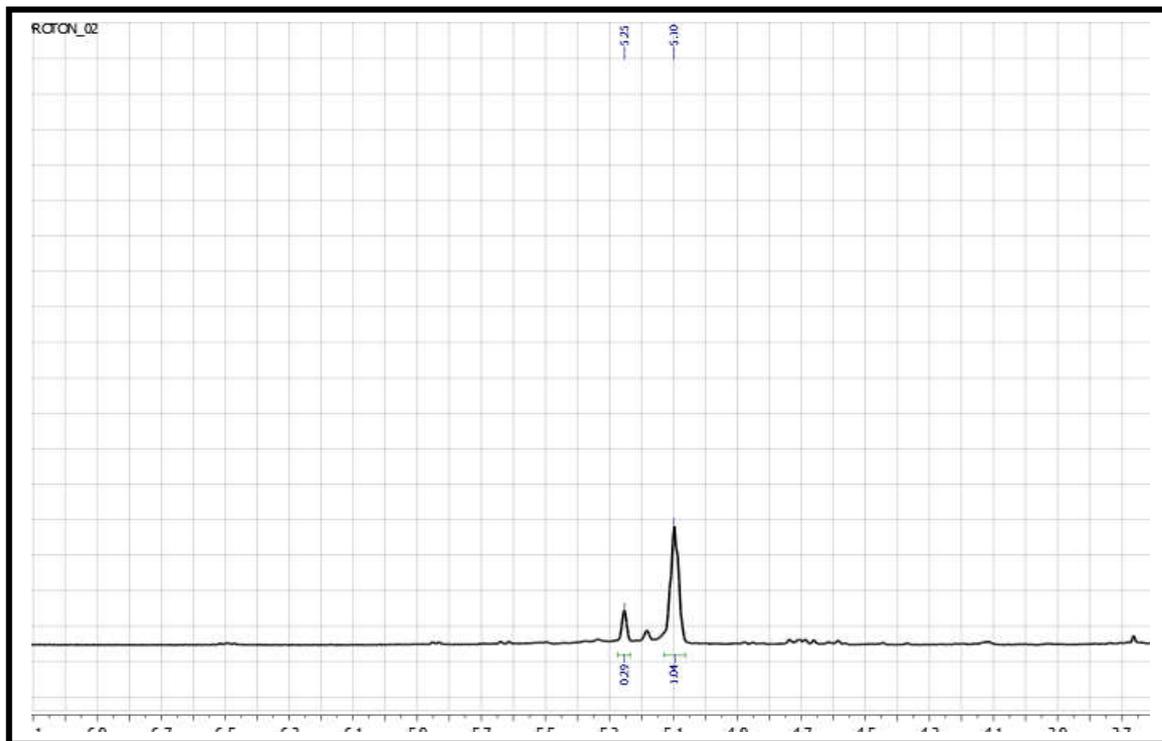


Figure 64 : Spectre de RMN ^1H étalément (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-22.

L'ensemble de ces données mènent aux structures reportées sur la figure 65. Il s'agit du Stigmastérol et du β -sitostérol (Chaturvedula et al.,2012).

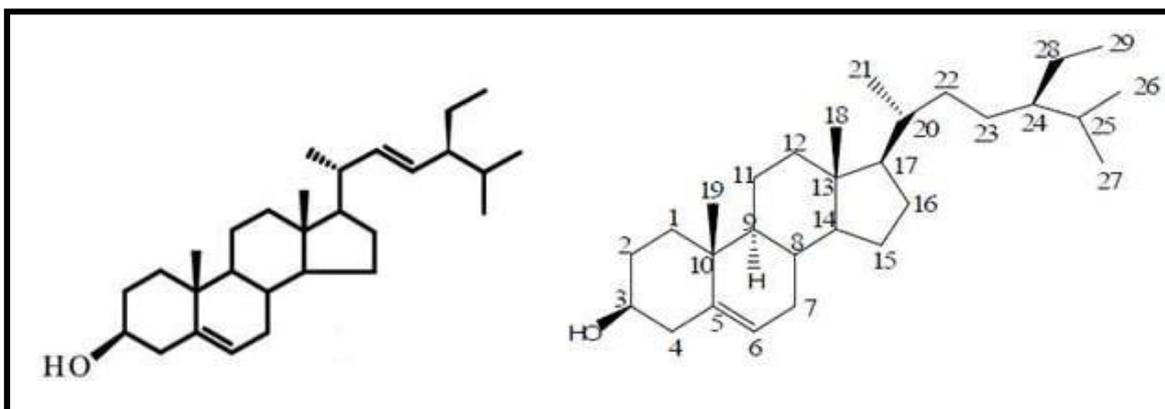


Figure 65 : Structure finale du composé IA-22, Stigmastérol et β -Sitostérol.

Elucidation structurale du composé IA-14

L'analyse du spectre RMN ^{13}C (150 MHz dans le CDCl_3), (figure 66) et ses séquences DEPT (figure 67) montrent la présence de 11 atomes de carbone, incluant :

- Quatre carbones quaternaires dont un est à δ_{C} 171,41 ppm est caractéristique d'une fonction γ lactone conjuguée et les autres à δ_{C} 181,64 ; 86,88 et 35,94 ppm.
- Trois signaux à δ_{C} = 26,46 ; 27,23 et 30,66 ppm indiquant la présence de trois groupements méthyle.
- Deux groupements CH, le premier est un CH éthylénique à δ_{C} 112,44 ppm et le second est à δ_{C} 65,23 ppm.
- Deux groupements CH_2 à δ_{C} = 45,72 et 47,32 ppm.

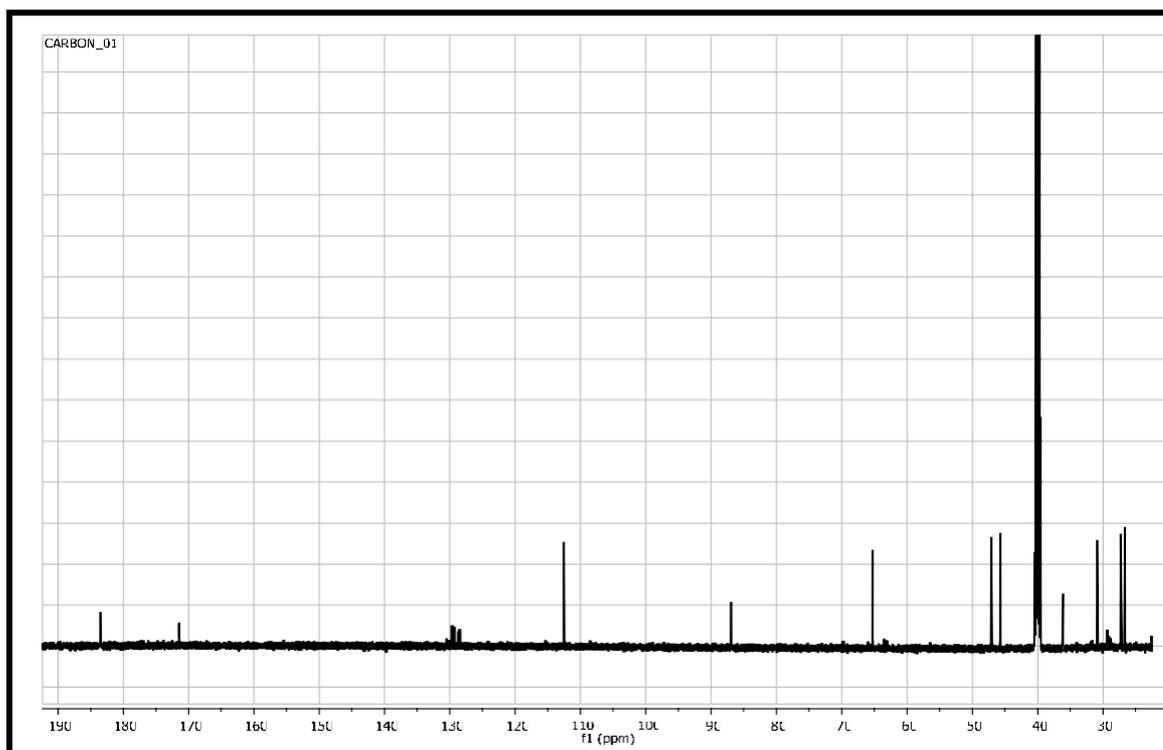


Figure 66 : Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz) du composé IA-14.

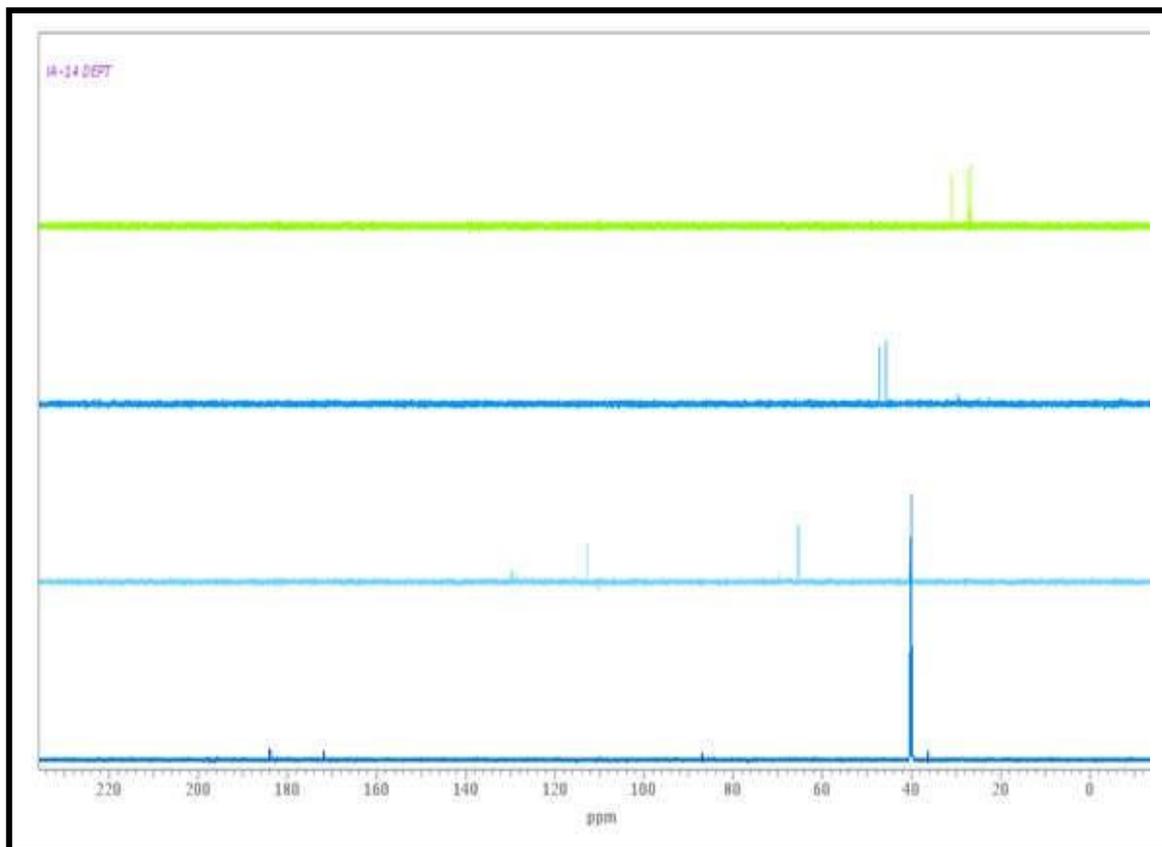


Figure 67 : Spectre DEPT (CDCl_3 , 150 MHz) du composé IA-14.

Les spectres RMN ^1H (figure 68) et HSQC montre la présence de :

- Trois singulets d'intégration 3H chacun à $\delta_{\text{H}} = 1,18$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 30,94$ ppm), $\delta_{\text{H}} = 1,66$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 27,23$ ppm) et $\delta_{\text{H}} = 1,36$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 26,46$ ppm), ce qui confirme la présence de trois groupements méthyles portés par des carbones quaternaires.
- Un singulet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 5,76$ ppm corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à $\delta_{\text{C}} = 112,44$ ppm, qui ne peut être qu'un CH éthylénique vu les valeurs de déplacements chimiques.
- Un multiplet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 4,07$ ppm corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à $\delta_{\text{C}} = 65,23$ ppm, ce qui indique que ce proton est oxygéné.
- Un groupement CH_2 dont les deux protons sont magnétiquement non équivalents et résonnent sous forme d'un doublet de doublets ($J = 14,4 ; 2,4$ Hz) à $\delta_{\text{H}} = 1,60$ ppm et

à $\delta_{\text{H}}=2,26$ ppm ($J= 4.4$ Hz) pour le second, montrant une tache de corrélation sur le spectre HSQC avec le même carbone à $\delta_{\text{C}}= 47,32$ ppm.

- Un autre groupement CH_2 sous forme de deux doublets de triplets à $\delta_{\text{H}}=1,40$ ppm ($J = 13,6 ; 2,2$ Hz) et à $\delta=1,85$ ppm ($J= 14,3 : 3,3$ Hz) corrélant sur le spectre HSQC avec le signal à $\delta_{\text{C}}= 45,72$ ppm permettant de déduire que ces 2H sont diastéréotopiques.

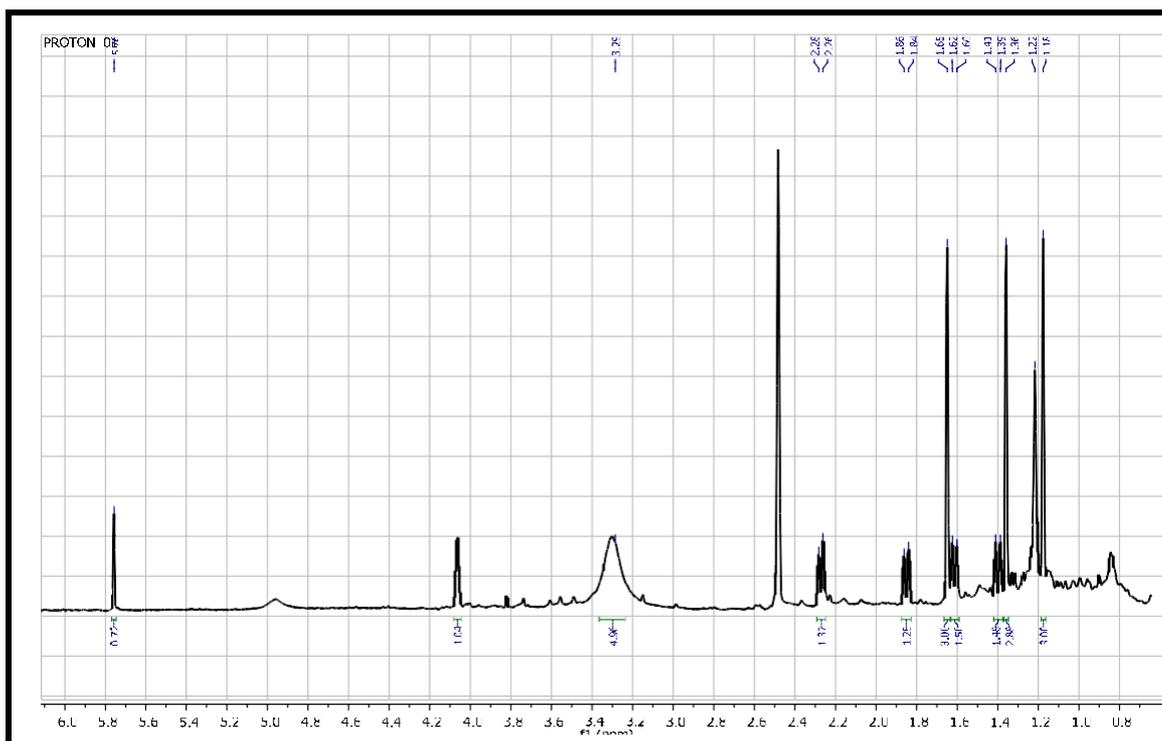


Figure 68 : Spectre de RMN ^1H (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-14.

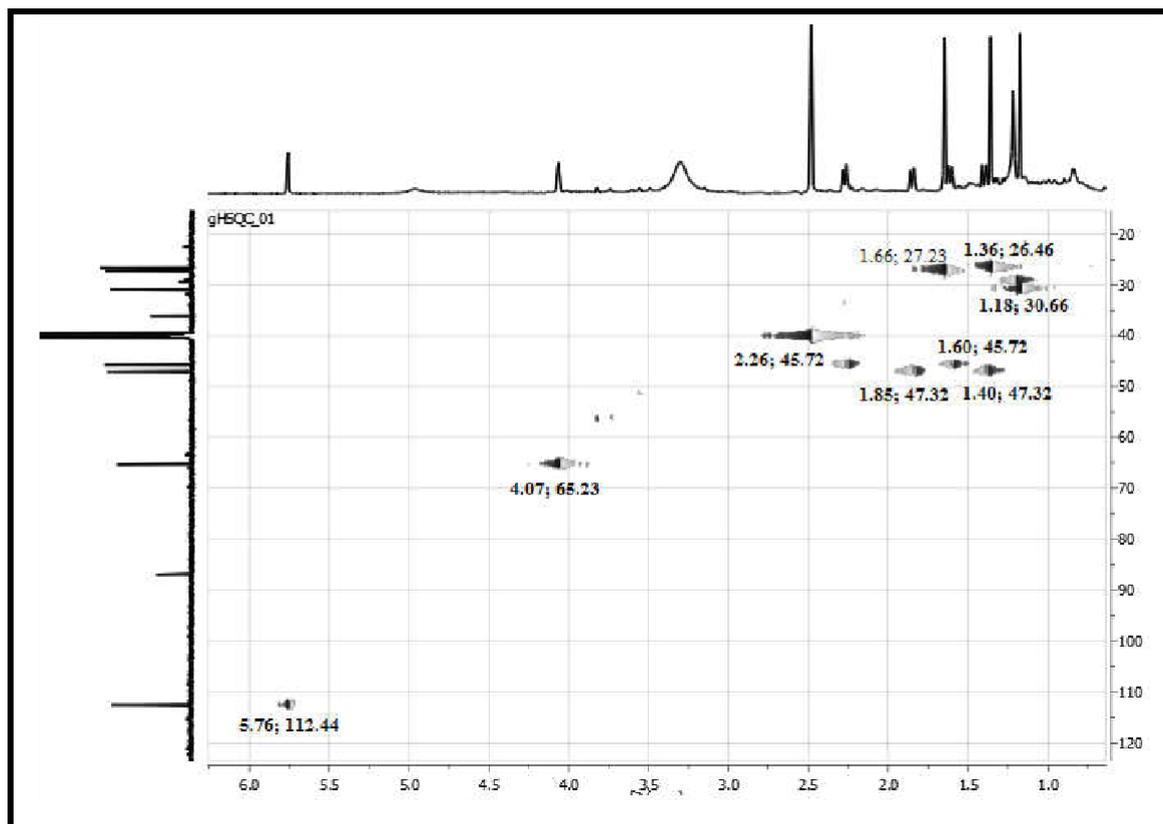


Figure 69: Spectre RMN HSQC (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-14.

La présence de la fonction γ lactone conjuguée est confirmée par le spectre HMBC qui montre une corrélation entre le proton éthylénique et le carbonyle lactonique ainsi que le carbone éthylénique. Il montre également une corrélation entre les trois groupements méthyles et le carbone quaternaire éthylénique.

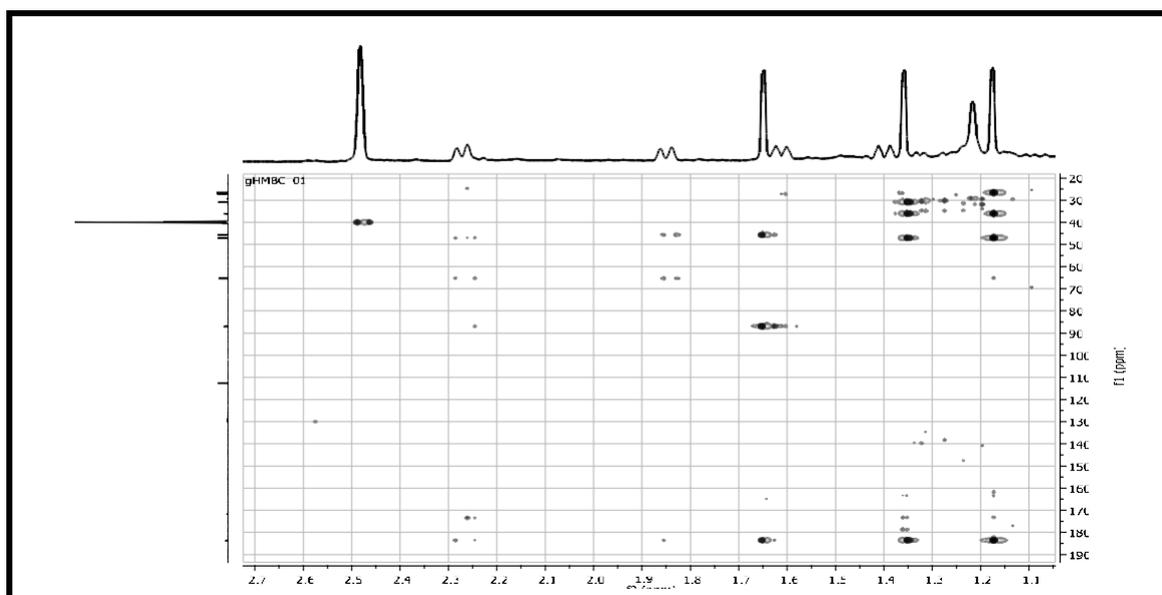


Figure 70: Spectre HMBC (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-14.

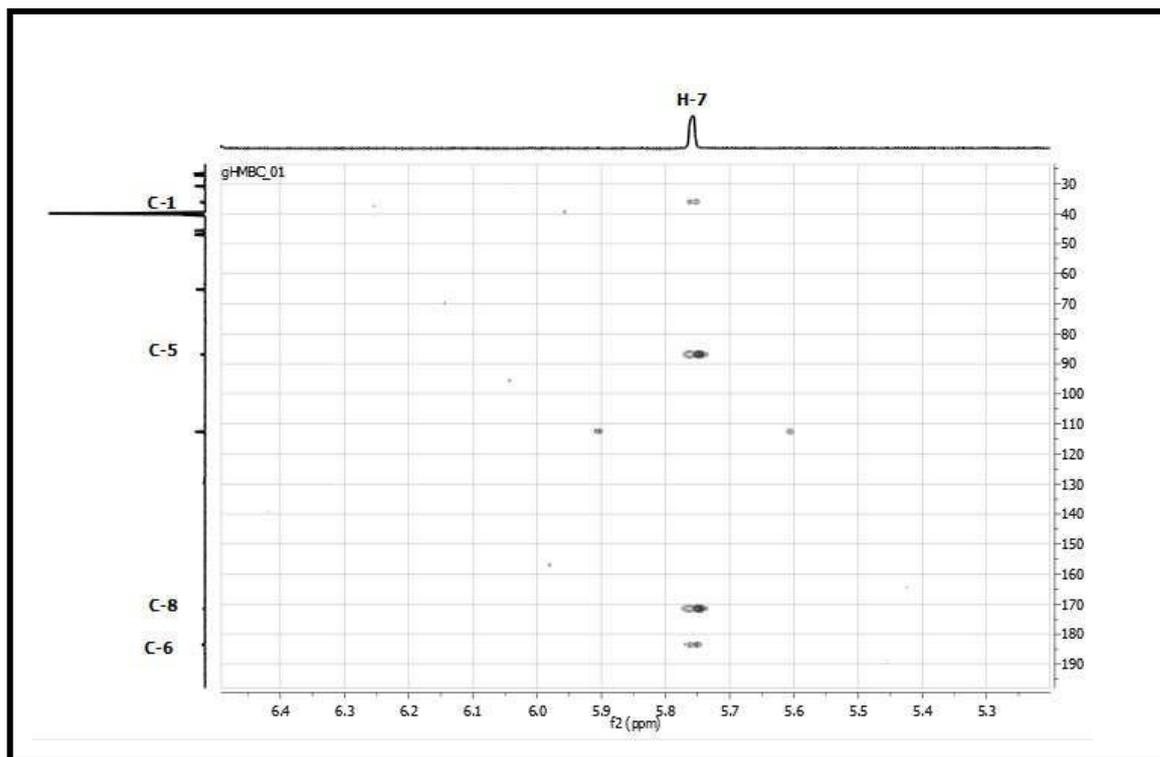
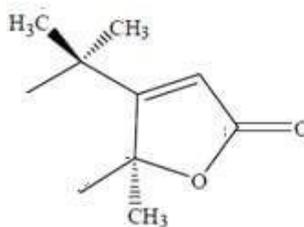


Figure 71: Spectre HMBC étalé (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-14.

Ce qui mène à l'enchaînement suivant :



Toutes ces données permettent de confirmer que le CH oxygéné porte une fonction hydroxyle et que la formule brute du composé IA-14 est $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$ impliquant la présence de quatre insaturations. Si l'on déduit la fonction lactonique et la double liaison, l'insaturation restante fait penser à la présence d'un autre cycle. La lactone d'une part et un cycle à six carbones d'autre part. Par ailleurs le spectre COSY montre que les deux groupements CH_2 corrélient avec un groupement CH. Les valeurs des déplacements chimiques de ce dernier ($\delta_{\text{C}} = 65.23$ ppm) et de son proton ($\delta_{\text{H}} = 4.07$ ppm) indiquent clairement l'oxygénation de cette position. Alors que la valeur de la constante de couplage ($J = 2.8$ Hz) indique une interaction axiale-équatoriale avec les protons des deux groupements CH_2 .

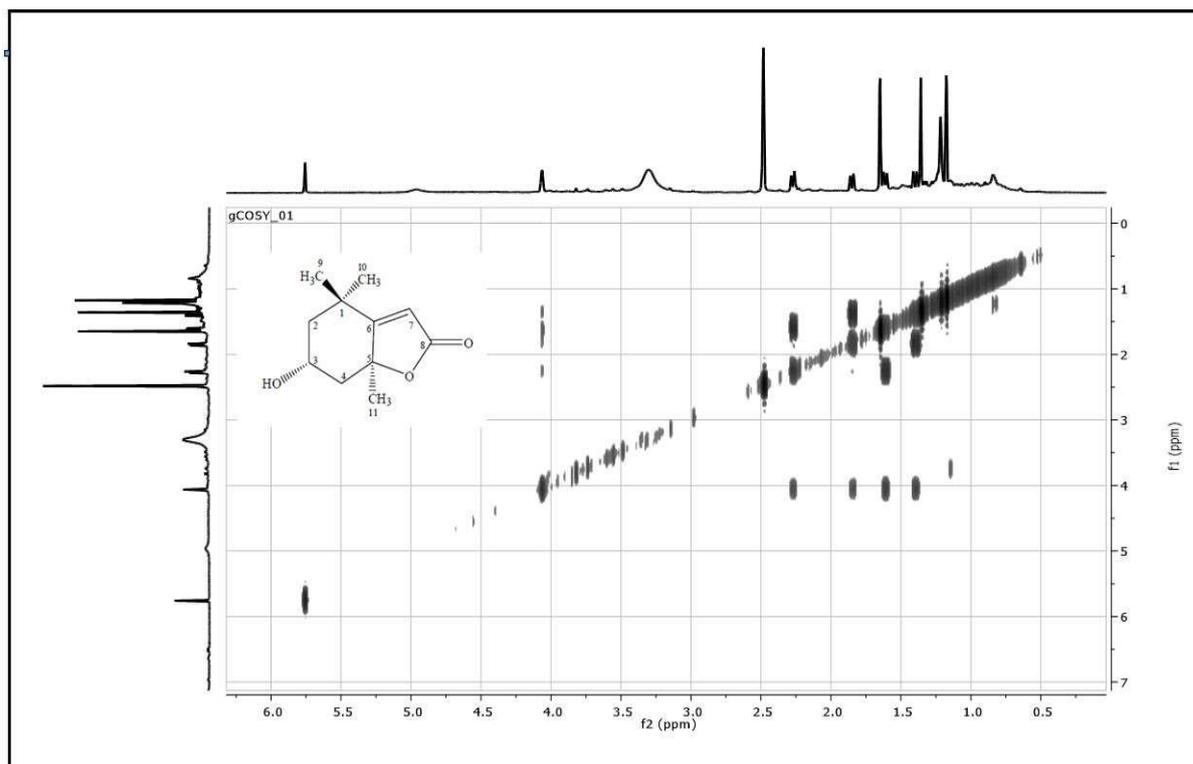
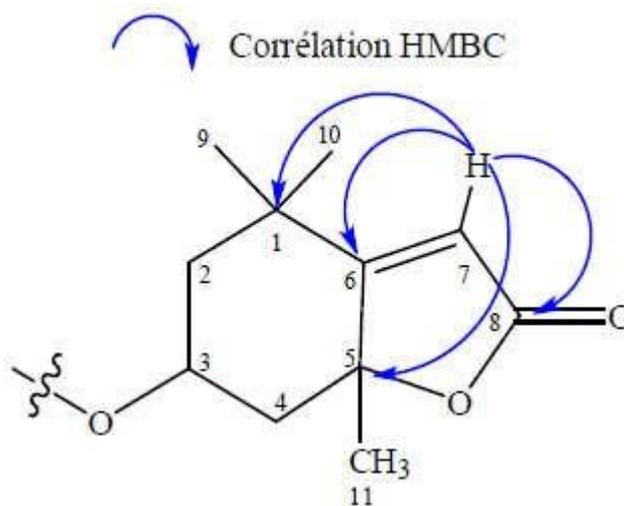


Figure 72: Spectre COSY (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-14.

En conséquence la structure du composé IA-14 ne peut être que celle du loliolide.



Toutes les attributions sont confirmées de manière non ambiguë dans les spectres ci-après :

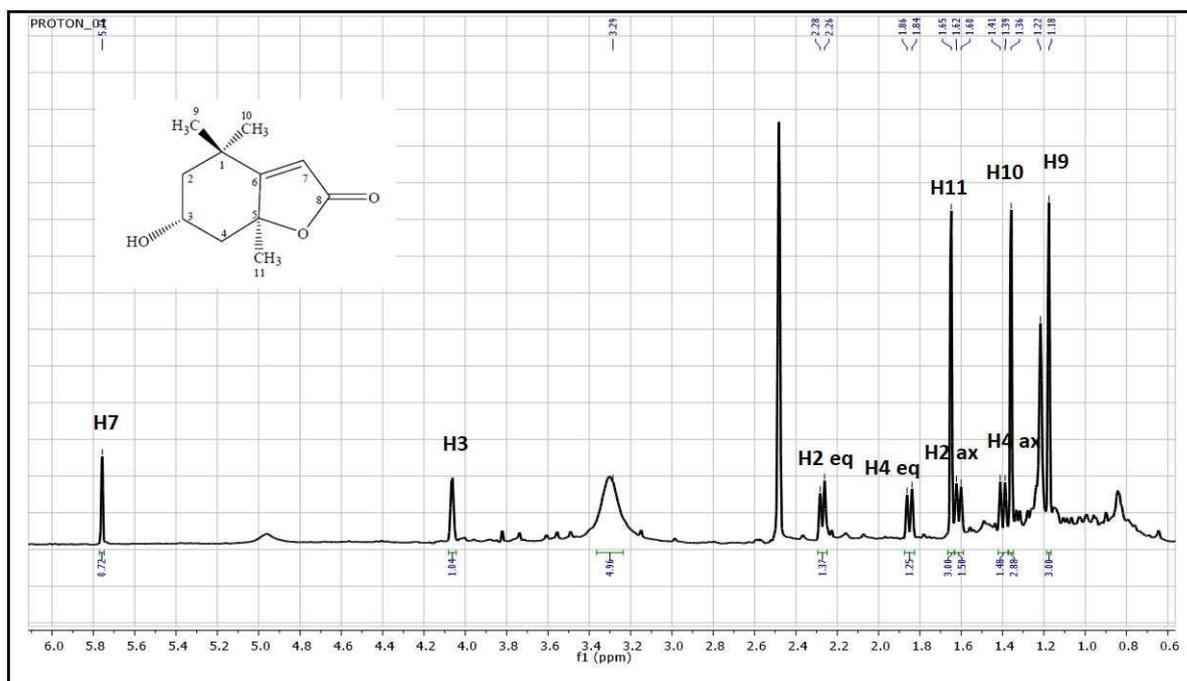


Figure 73 : Spectre RMN ^1H -b (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-14.

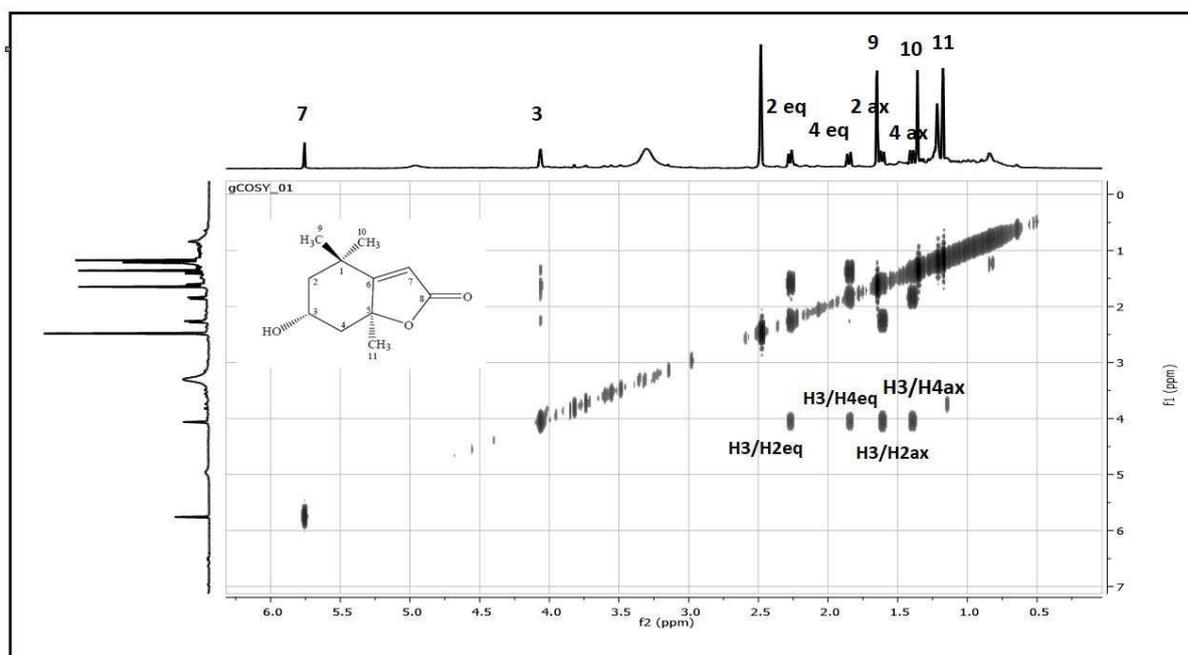


Figure 74: Spectre COSY-b (CDCl_3 , 600 MHz) du composé IA-14.

Sur le spectre HMBC :

Le carbone quaternaire à δ_C 86,88 ppm montre une tache de corrélation avec le proton à 5,76 ppm attribuable au H-7 et la deuxième tache les protons du méthyle résonant sous forme d'un singulet à δ_H 1,66 ppm ($\delta_C = 27,23$ ppm), ce dernier montre à son tour

- Une tache de corrélation avec le carbone quaternaire à $\delta_C = 181,64$
- Une deuxième tache de corrélation avec le CH_2 à $\delta_C = 45,72$ ppm

Ces données nous a permis de déduire que ce méthyle est porté par le carbone quaternaire à δ_C 86,88 ppm ainsi que ce dernier est relié au groupement CH_2 à $\delta_C = 45,72$ ppm.

Le carbone quaternaire à $\delta_C = 35,94$ ppm présente deux taches de corrélation avec les deux groupements méthyles à $\delta_C = 26,46$ et 30,66 ppm.

Les protons de ces derniers montrent des taches de corrélations avec le carbone quaternaire ($\delta_C = 181,64$ ppm) et le groupement CH_2 à $\delta_C = 47,32$ ppm

Ces observations permettent de déduire que ces deux méthyles sont portés par le carbone quaternaire à δ_C 35,94 ppm et que ce dernier est lié d'un côté par le groupement CH à $\delta_C = 65,23$ ppm et d'autre côté par le carbone quaternaire à $\delta_C = 181,64$ ppm qui ne peut être qu'éthylénique vu la valeur de son déplacement chimique.

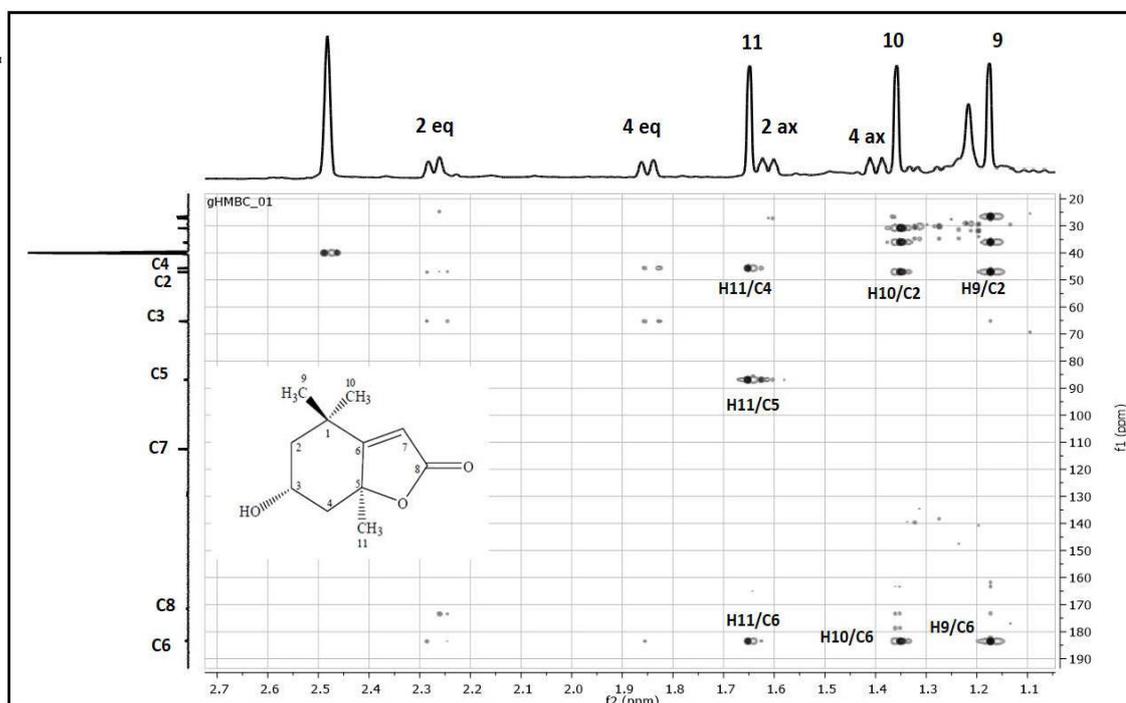


Figure 75 : Spectre HMBC-b (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-14.

Le proton **H7** du carbone à $\delta_c = 112,44$ ppm présentent des taches de corrélation avec :

- ✓ Le carbone quaternaire à $\delta_c = 171,41$ ppm de la fonction γ - lactone attribuable à C-8.
- ✓ Le carbone quaternaire à $\delta_c = 86,88$ ppm attribuable à C-5.
- ✓ Le carbone à $\delta_c = 35,94$ ppm et le carbone à $\delta_c = 181,64$ ppm attribuable l'un à C-1 et l'autre à C-6.

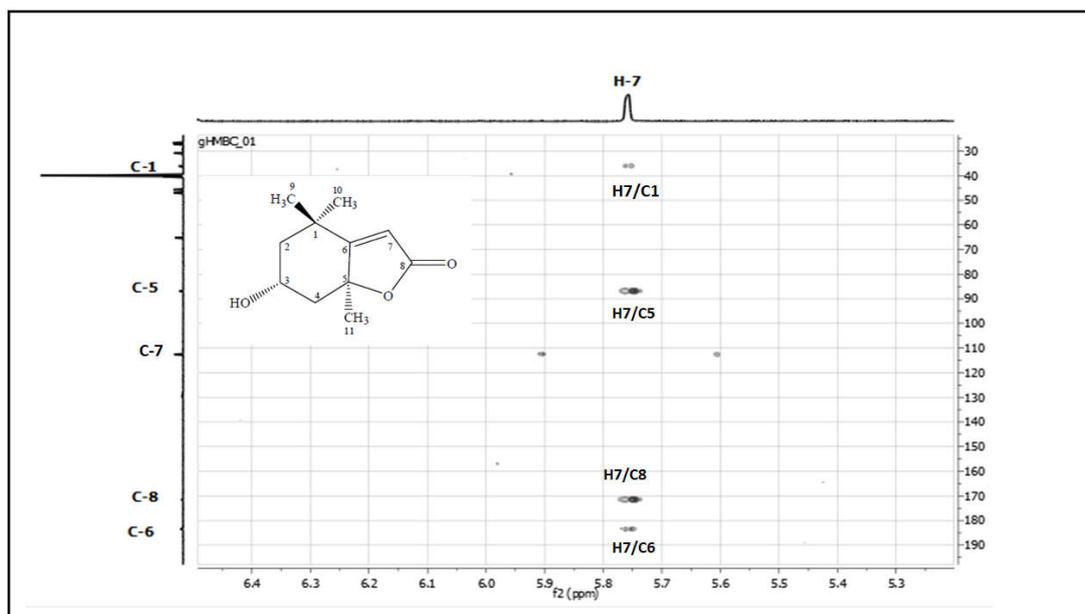


Figure 76: Spectre HMBC étalé (CDCl₃, 600 MHz) du composé IA-14.

L'analyse des spectres RMN ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC et COSY nous a permis d'identifier le produit **IA-14** comme étant une molécule de type C-11 terpène lactone, isolé pour la première fois dans le genre *Pistacia* et décrite sous le nom de **loliolide**. Les déplacements chimiques du composé **IA-14** sont répertoriés dans le tableau 31.

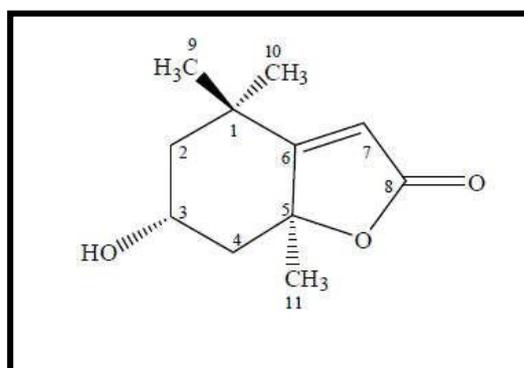


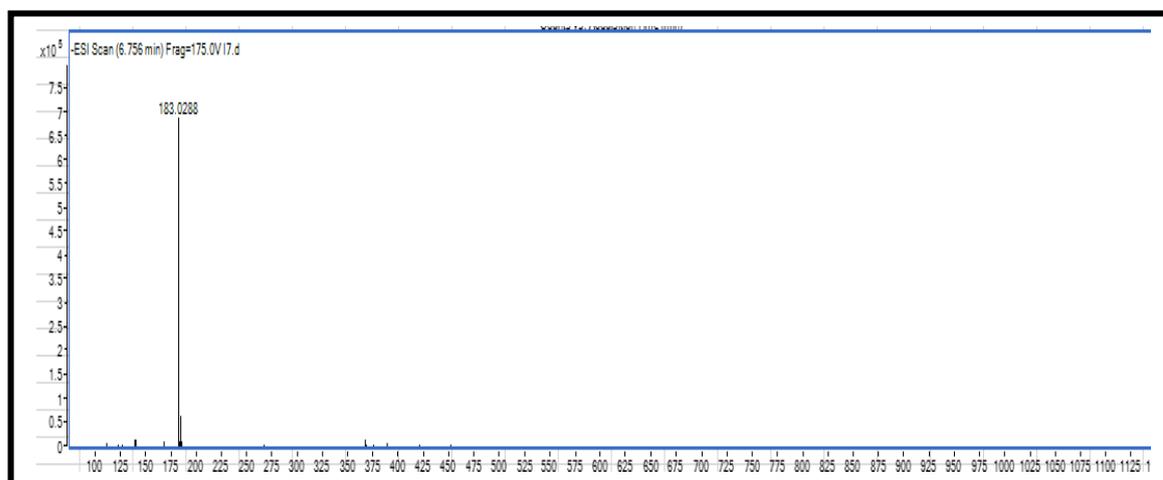
Figure 77 : Structure finale du composé IA-14, loliolide

Tableau 31 : Données des spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C du produit IA-14.

Positions	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm ; multiplicité ; J en Hz)
1	35,94	-
2 eq	47,32	1,85 (dd ; 14,3 ; 3,3)
2 ax		1,40 (dd ; 13,6; 2,2)
3	65,23	4,07 (quint ; 2,76 Hz)
4 eq	45,72	2.26 (d ;4.4)
4 ax		1.60 (dd ; 14,4; 2,4)
5	86,88	-
6	181,64	-
7	112,44	5,76 s
8	171,41	-
9	26,46	1,36 (3H ; s)
10	30,66	1,17 (3H ; s)
11	27,23	1,65 (3H ; s)

Elucidation structurale du composé IA-7

L'examen du spectre de masse à haute résolution (Figure 78) enregistré en mode électronebulisation négatif (TOF-HRESI-MS⁽⁻⁾), montre la présence d'un ion quasimoléculaire $[\text{M}-\text{H}]^-$ à $m/z=183,0288$, correspondant à la formule moléculaire $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$ indiquant la présence de 5 insaturations.

**Figure 78** : Spectre de masse TOF-MS en mode négatif du composé IA-7.

Le spectre RMN ^1H montre la présence de deux protons aromatiques équivalents et un groupement méthoxyle. Ceci oriente vers la structure du 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle.

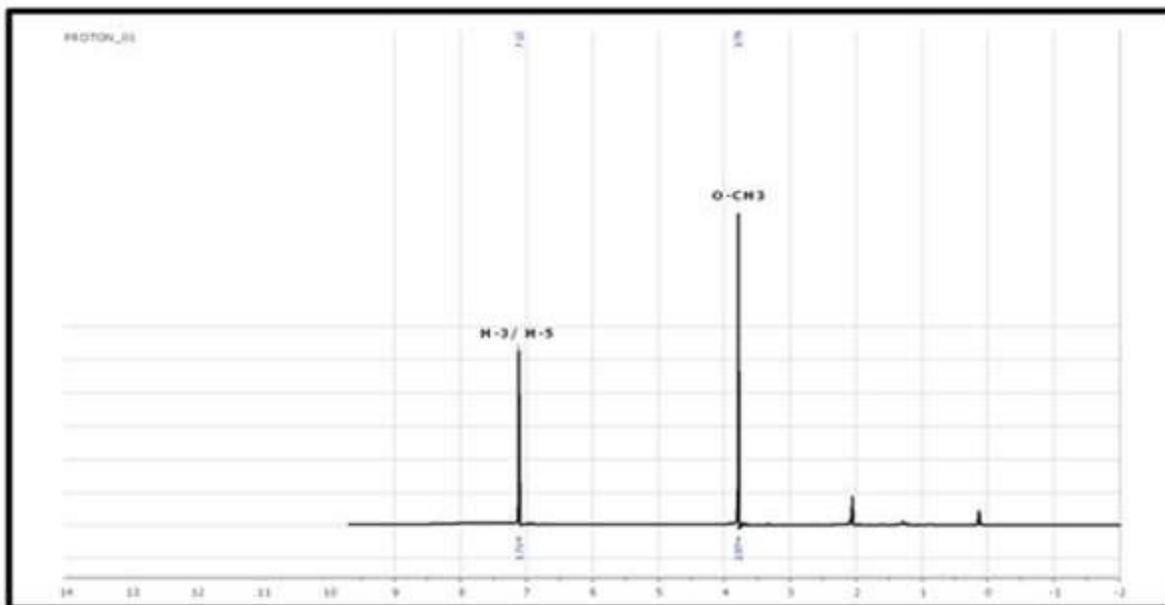


Figure 79 : Spectre RMN ^1H (Acétone- d_6 , 600 MHz) du composé IA-7.

Les spectres RMN ^{13}C et DEPT confirme la présence de 2 CH- éthyléniques équivalents à $\delta = 108,90$ ppm et 5 carbones quaternaires :

- Une fonction carboxylique conjuguée à $\delta_{\text{C}} = 166,31$ ppm attribuable à un ester.
- Quatre carbones quaternaires sp^2 dont trois oxygénés dont deux carbones équivalents à $\delta = 146,39$ ppm et l'autre à $\delta_{\text{C}} = 137,93$ ppm appartenant au noyau aromatique.
- Un groupement méthoxyle à $\delta_{\text{C}} = 51,26$ ppm

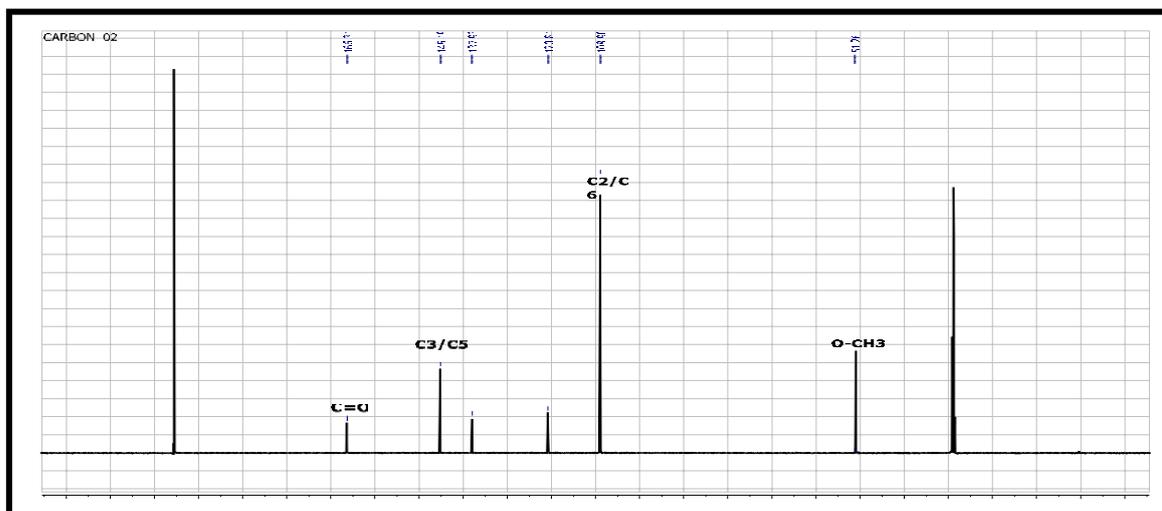


Figure 80 : Spectre RMN ^{13}C (Acétone- d_6 , 150 MHz) du composé IA-7.

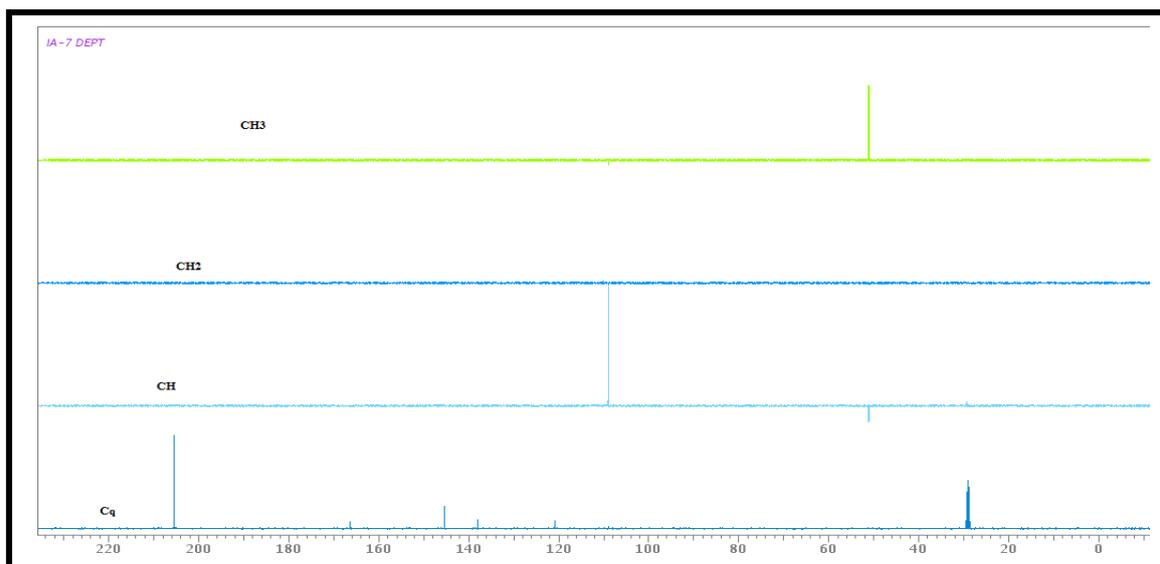


Figure 81 : Spectre DEPT (Acétone- d_6 , 600 MHz) du composé IA-7.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HSQC (figure 82) permet l'attribution des signaux des protons aux atomes de carbone correspondants.

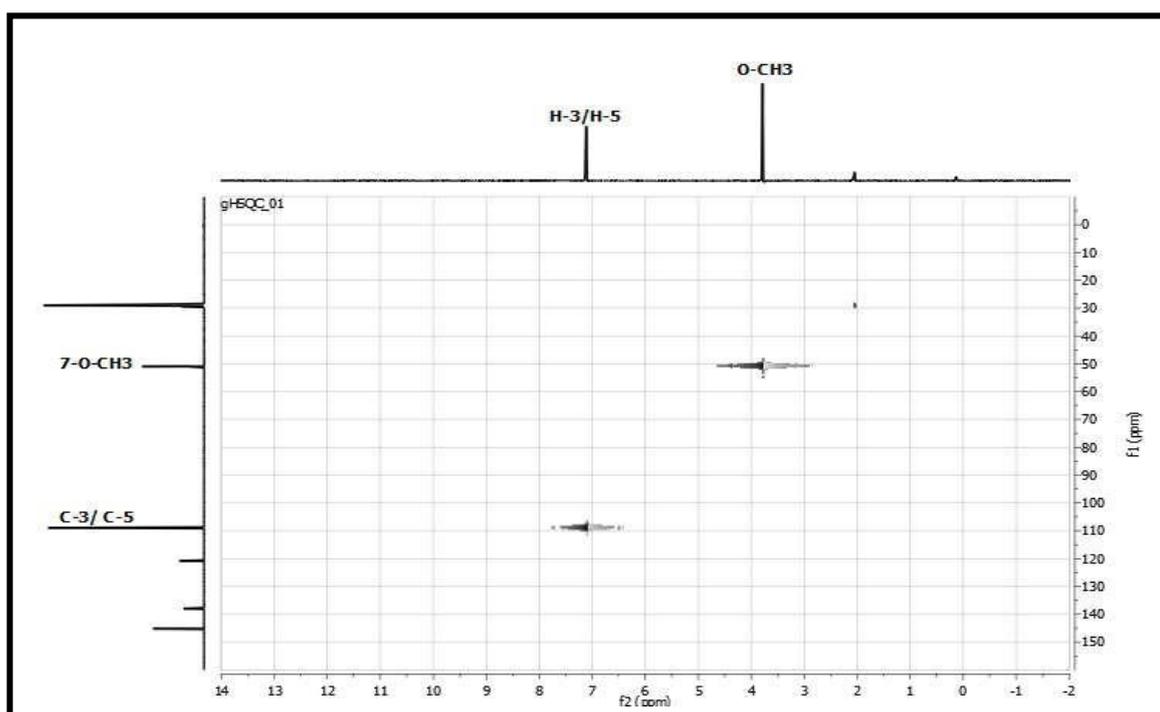


Figure 82 : Spectre RMN HSQC (Acétone- d_6 , 600 MHz) du composé IA-7.

Dans le spectre HMBC (Figure 83, 84) les protons du groupe méthoxyle à $\delta_H = 3,79$ ppm sont fortement corrélée avec les carbones à 165,93ppm (C-7), cette observation permet de placer le substituant méthoxyle en position 7.

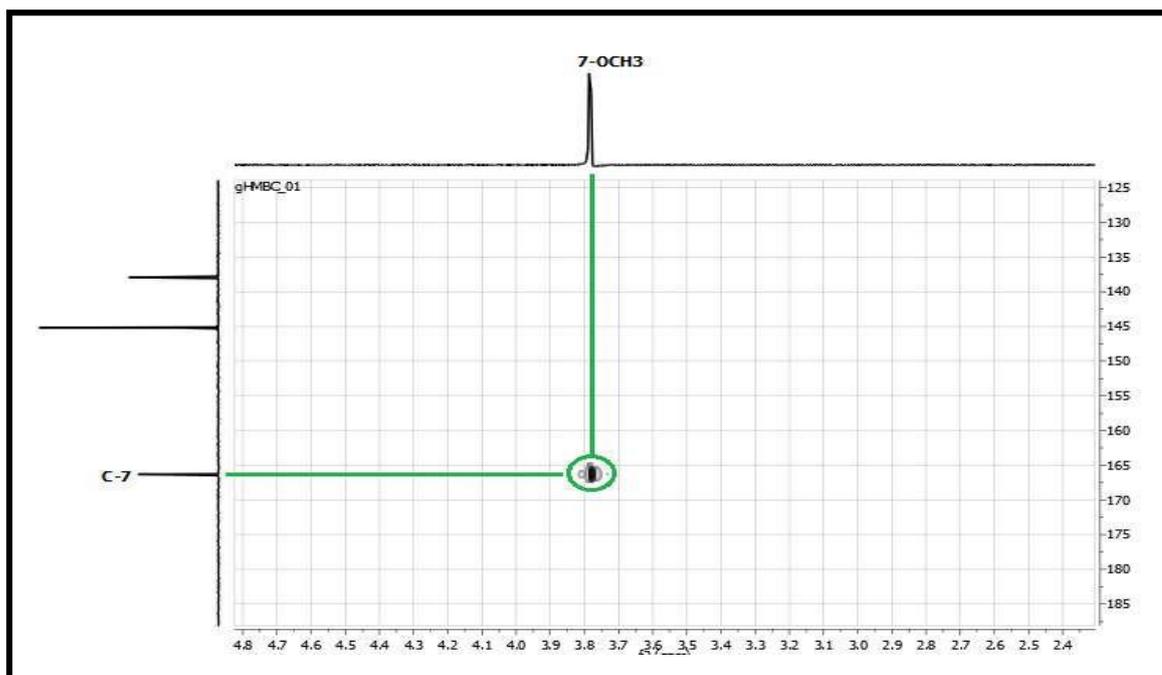


Figure 83 : Spectre RMN HMBC (Acétone- d₆, 600 MHz) du composé IA-7.

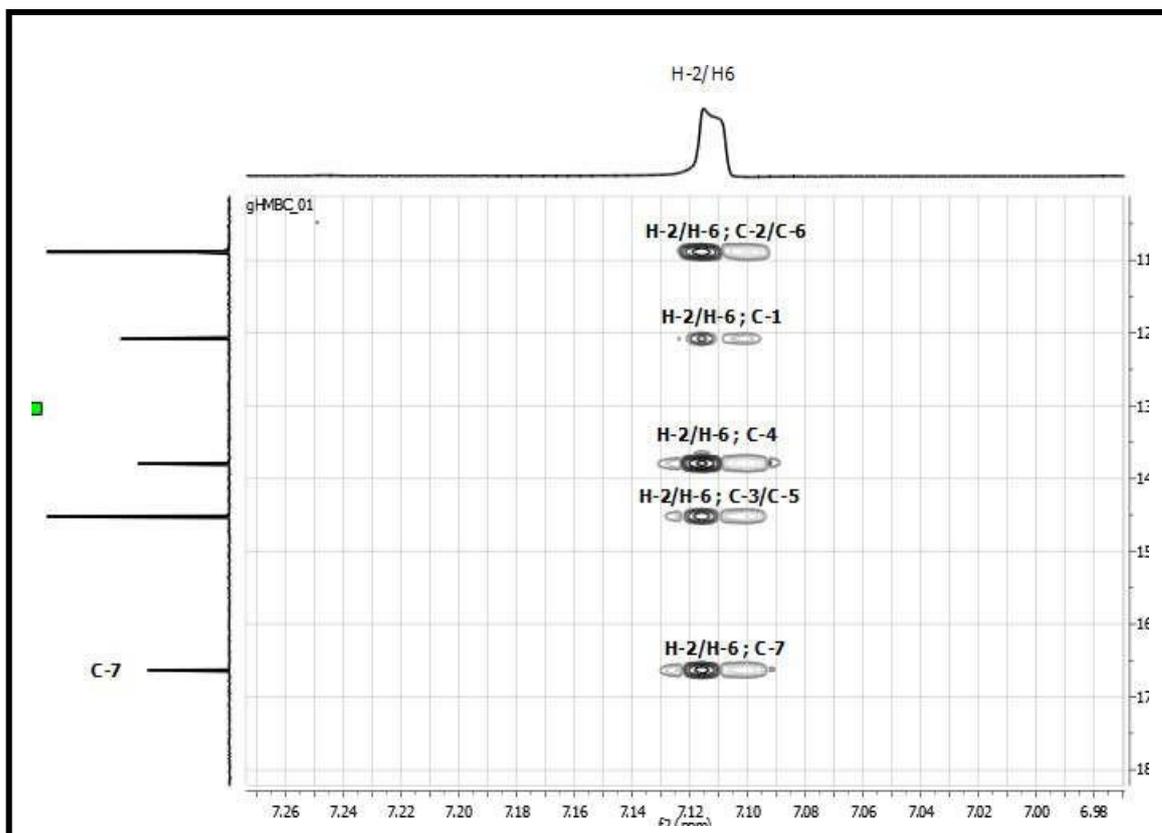


Figure 84 : Spectre RMN HMBC étalé (Acétone- d₆, 600 MHz) du composé IA-7.

L'ensemble de ces données est reporté dans le tableau suivant :

Tableau 32 : Données spectrales RMN ^1H , RMN ^{13}C du composé IA-7

Atomes	RMN $^{13}\text{C}\delta$ (ppm)	RMN $^1\text{H}\delta$ (ppm)
1	120,81	-
2/6	108,90	7,12 (2H, s)
3/5	146,39	-
4	137,93	-
7	166,31	-
O-CH3	51,29	3,79 (3H, s)

Toutes ces données rassemblées permettent d'écrire la structure finale de cette molécule :

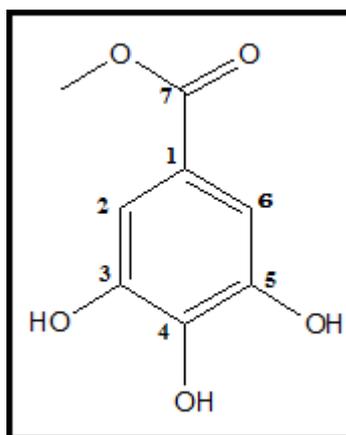


Figure 85 : La structure finale du composé IA-7,

3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle

II.1. Identification des produits isolés de *Salvia microphylla*

Elucidation structurale du composé IA-37

- **Analyse spectroscopique dans l'UV :**

L'étude de la série spectrale UV (figure 86), a permis de dégager les points suivants :

- Un maximum d'absorption de la bande I à 331 nm et de la bande II à 285 nm caractéristiques d'une flavone.

- L'addition du réactif NaOH conduit à un déplacement bathochrome ($\Delta\lambda_I = +29$ nm) de la bande I avec une diminution de l'intensité ce qui indique la présence d'un groupement OR en position 4'.
- Le faible déplacement bathochrome de la bande II du spectre enregistré dans le méthanol en présence de NaOAc par rapport au spectre enregistré dans le méthanol neutre indique la présence d'un groupement OR en position 7.
- Le déplacement bathochrome de la bande I du spectre enregistré dans le milieu ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le MeOH ($\Delta\lambda = +24$ nm) indique la présence du OH libre en position 5 avec une oxygénation en position 6 de cette flavone.
- Le faible déplacement de la bande I en comparant les spectres $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ et AlCl_3 , laisse prévoir l'absence de système ortho dihydroxylé sur le cycle B de cette flavone.

Tableau 33 : Données de la série spectrale UV du composé **IA-37**.

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres Bandes	Commentaires
MeOH	331	284	/	Flavone
+ NaOH	359	270	sh 296	4'-OR
+ AlCl_3	364	304	/	OH libre en 5 (avec 6-oxygénation) Absence du Ortho di-OH sur le cycle B
+ AlCl_3/HCl	355	303	/	
+ NaOAc	331	286	/	7-OR(OCH ₃)
+ NaOAc/ H_3BO_3	327	292	/	Absence du Ortho di-OH sur le cycle B
Spectre stable dans NaOH après 5 mn				

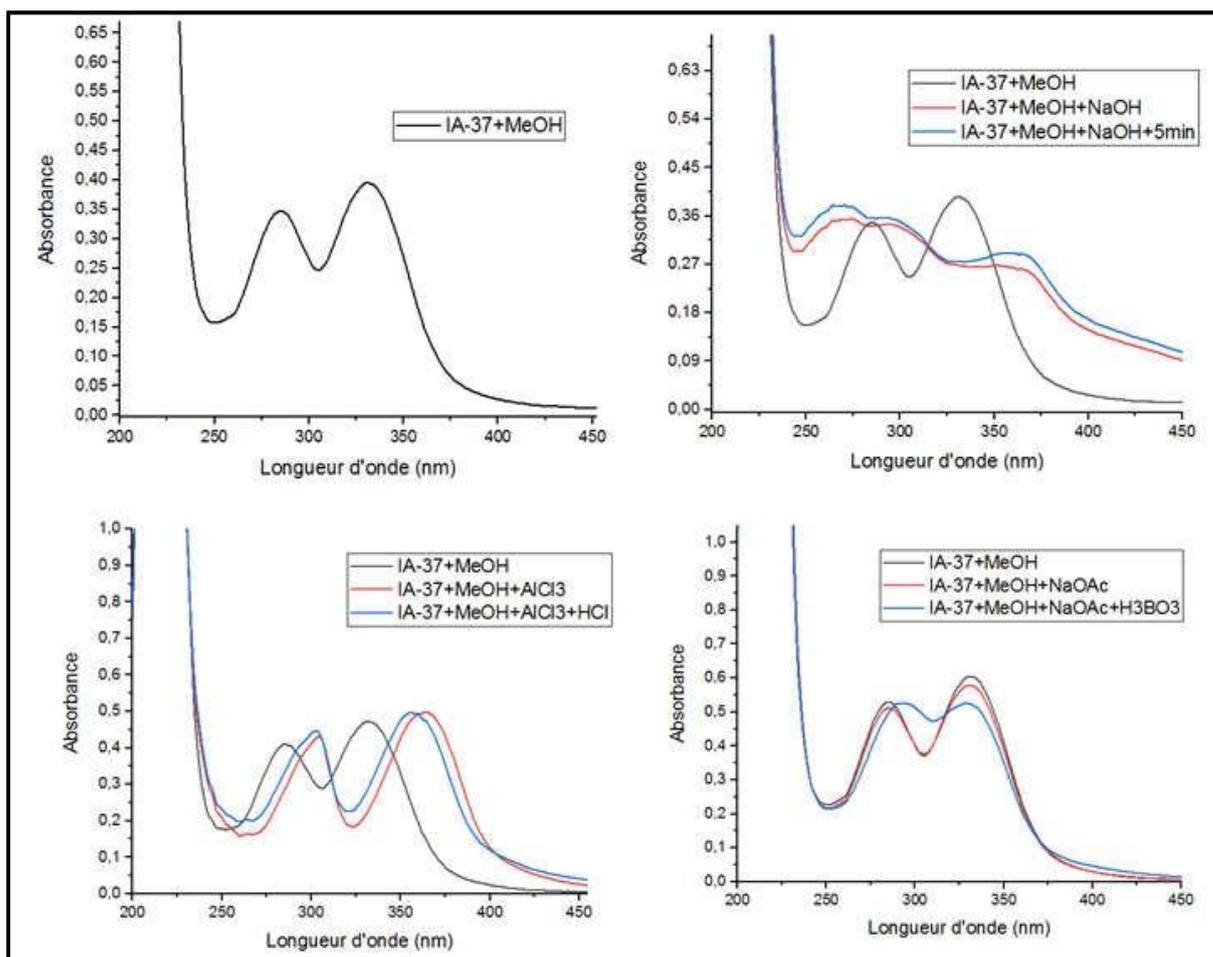


Figure 86 : Série spectrale UV-Vis du composé IA-37.

L'analyse du spectre RMN ^1H (figure 87) ainsi que le spectre HSQC (figure 88) enregistrés dans le DMSO confirme la structure de type flavone de ce composé en montrant les signaux caractéristiques d'un squelette de type flavone reconnaissable par :

- Un singlet d'intégration 1H à $\delta = 6,88$ ppm attribuable à H-3, car ce dernier corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à $\delta_{\text{C}} = 103,81$ ppm.
- Un singlet d'intégration 1H à $\delta = 6,92$ ppm attribuable à H-8, ce dernier corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à $\delta_{\text{C}} = 91,73$ ppm. Ces valeurs sont conformes aux données de la littérature pour les flavones.
- Un doublet d'intégration 2H à $\delta = 7,10$ ppm ($J = 8,9$ Hz) attribuable à H-3' et H-5', ces protons corrèlent sur le spectre HSQC avec les carbones à $\delta_{\text{C}} = 115,05$ ppm.
- Un doublet d'intégration 2H à $\delta = 8,05$ ppm ($J = 8,9$ Hz) attribuable à H-2' et H-6', ces protons corrèlent sur le spectre HSQC avec les carbones résonant à $\delta_{\text{C}} = 128,68$ ppm. Ces données indiquent que le cycle B est *para* substitué.

- Deux signaux apparaissant à $\delta=3,84$ ppm et $\delta=3,90$ ppm sous forme de singulets d'intégration 3H, les protons relatifs à signaux, corrélant sur le spectre HSQC avec les carbones résonant à $\delta_C= 56,05$ ppm et à $\delta_C =56,74$ ppm, respectivement indiquent la présence de deux groupements méthoxyles dans cette molécule.

Un singulet d'intégration 1H à $\delta_H =12,58$ ppm confirme la présence d'un OH libre en 5.

- Un singulet d'intégration 1H à $\delta_H = 8,5$ ppm montrant la présence d'un autre OH phénolique présent dans la molécule.

Tableau 34 : Données du spectre RMN ^1H du composé IA-37.

Déplacement chimique(ppm)	Intégration	Multiplicité J (Hz)	Attribution
8,05	2H	d 8,9	H2', H6'
7,10	2H	d 8,9	H3', H5'
6,92	1H	s	H-8
6,88	1H	s	H-3
12,58	1H	s	OH-5
8,70	1H	s	OH phénolique

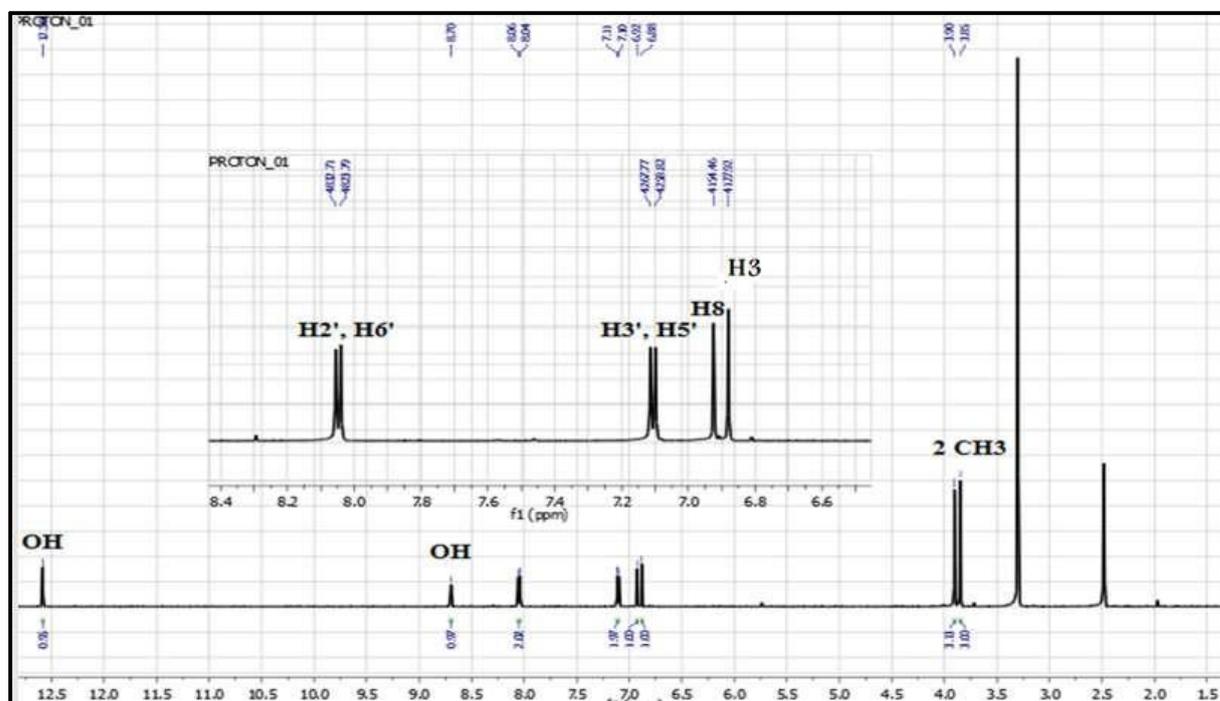


Figure 87 : Spectre de RMN ^1H et son étalement (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-37.

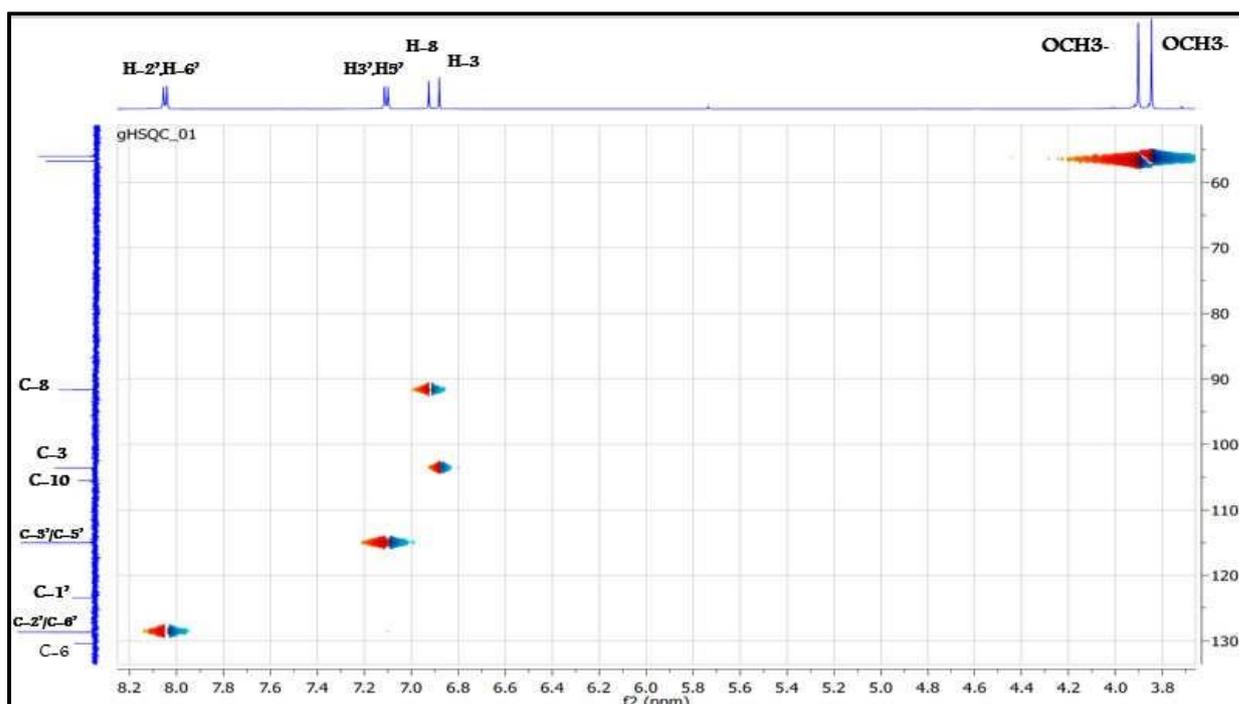


Figure 88 : Spectre de HSQC (DMSO-d₆, 600 MHz) du composé IA-37.

L'étude du spectre RMN ¹³C (figure 89) montre la présence de 17 atomes de carbone. Par abstraction des CH et des groupements OCH₃ indiqués précédemment, il reste 9 carbones quaternaires. Ces derniers sont déduits sur la base de l'étude du spectre de l'expérience bidimensionnelle HMBC.

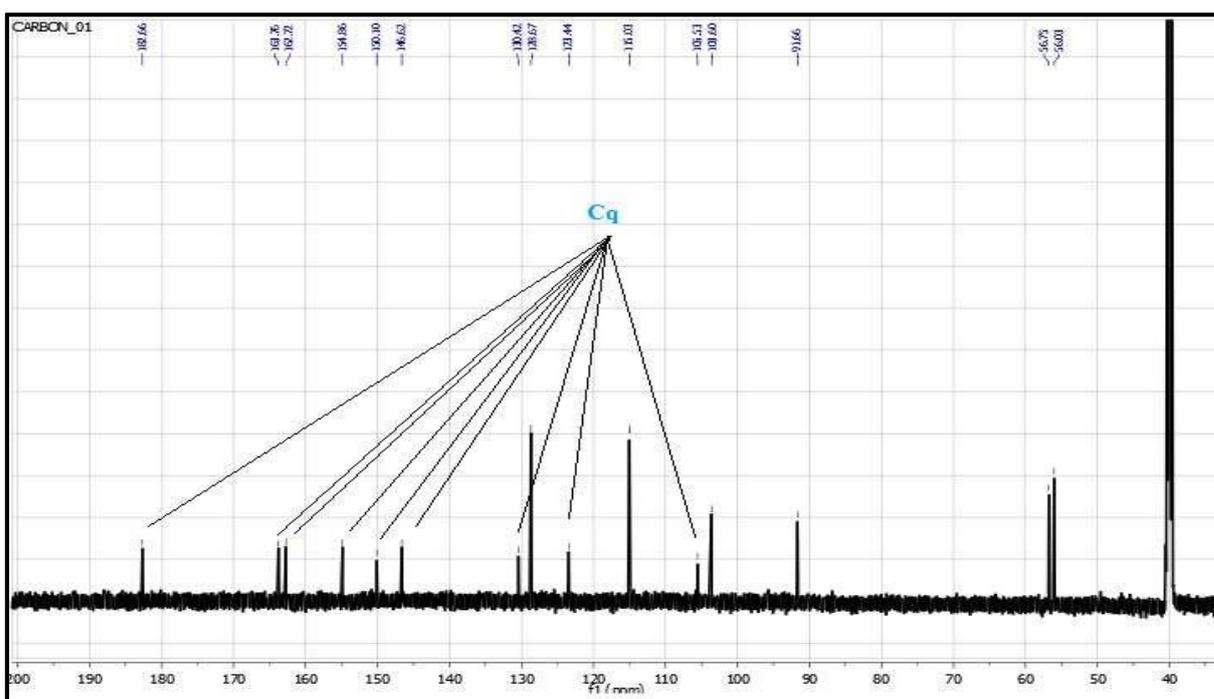


Figure 89 : Spectre de RMN ¹³C (DMSO-d₆, 150 MHz) du composé IA-37.

L'analyse du spectre relatif à l'expérience HMBC (figure 90) permet de tirer les indications suivantes :

- Le proton de l'hydroxyle en position 5 présente des taches de corrélation avec les carbones à $\delta_C = 105,51$; $130,34$ et $146,77$ ppm attribuables aux carbones C-10, C-6 et C-5 respectivement.

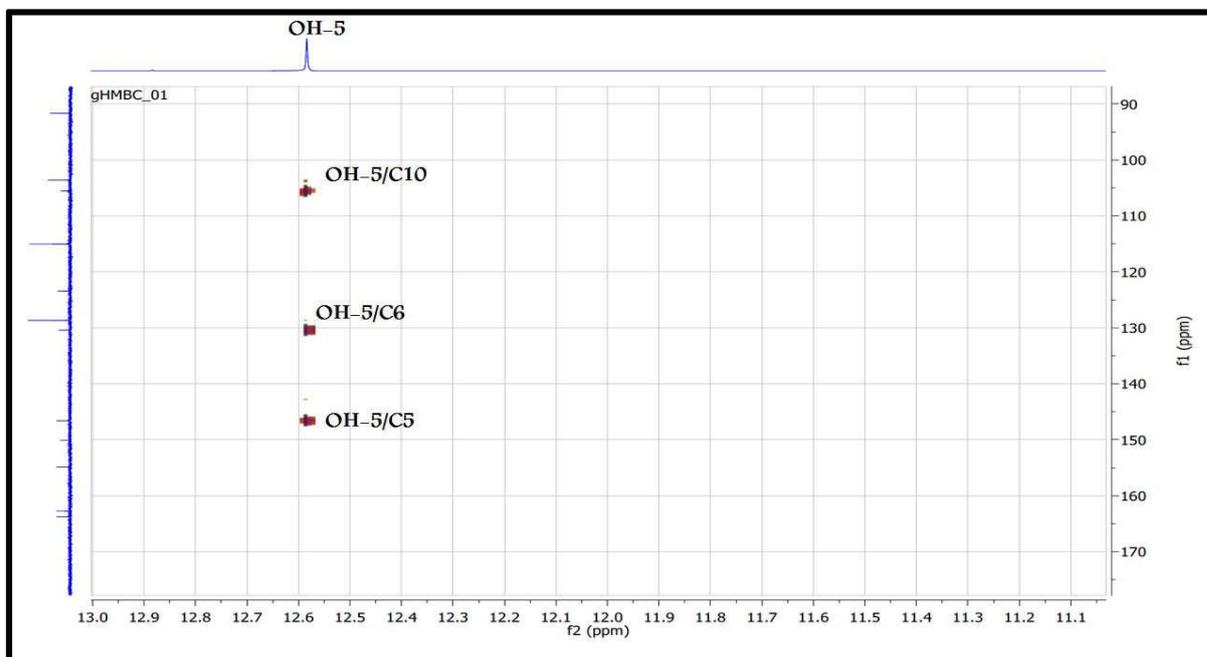


Figure 90 : Spectre de HMBC-a (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-37.

Ces attributions sont confirmées par les corrélations du proton H-8 avec les carbones C-10 à $\delta_C = 105.58$ ppm C-6 à $\delta_C = 130,42$ ppm et du proton H-3 avec le carbone C-10.

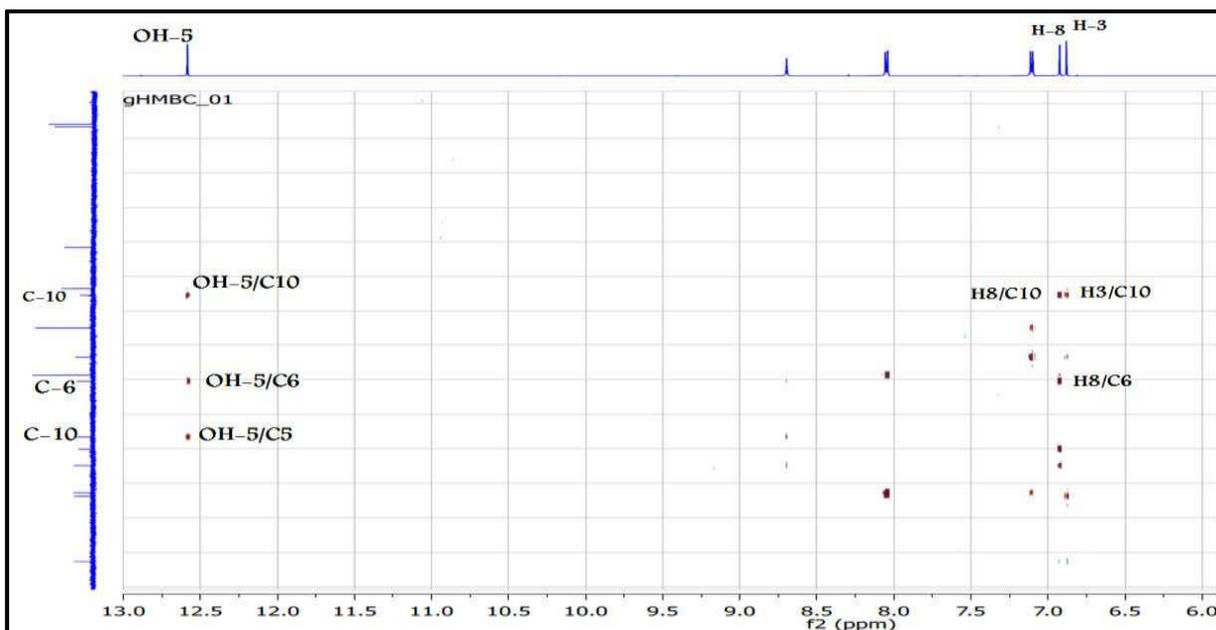


Figure 91 : Spectre HMBC-b (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-37.

Le proton du groupement hydroxyle OH à 8,7 ppm corrèle avec les carbones C-6, C-5 et C-7 à $\delta_C = 130,42$; $146,77$ et $154,98$ ppm respectivement indiquant que celui-ci est en position 6. L'attribution du carbone C-7 est confirmée par sa corrélation avec le proton H-8 dans le même spectre HMBC. Ce spectre permet également d'identifier sans ambiguïté les carbones C-2, C-4 et C-1' à $\delta_C = 164,01$; $182,66$ et $123,58$ ppm, respectivement grâce à leur corrélation avec le proton H-3.

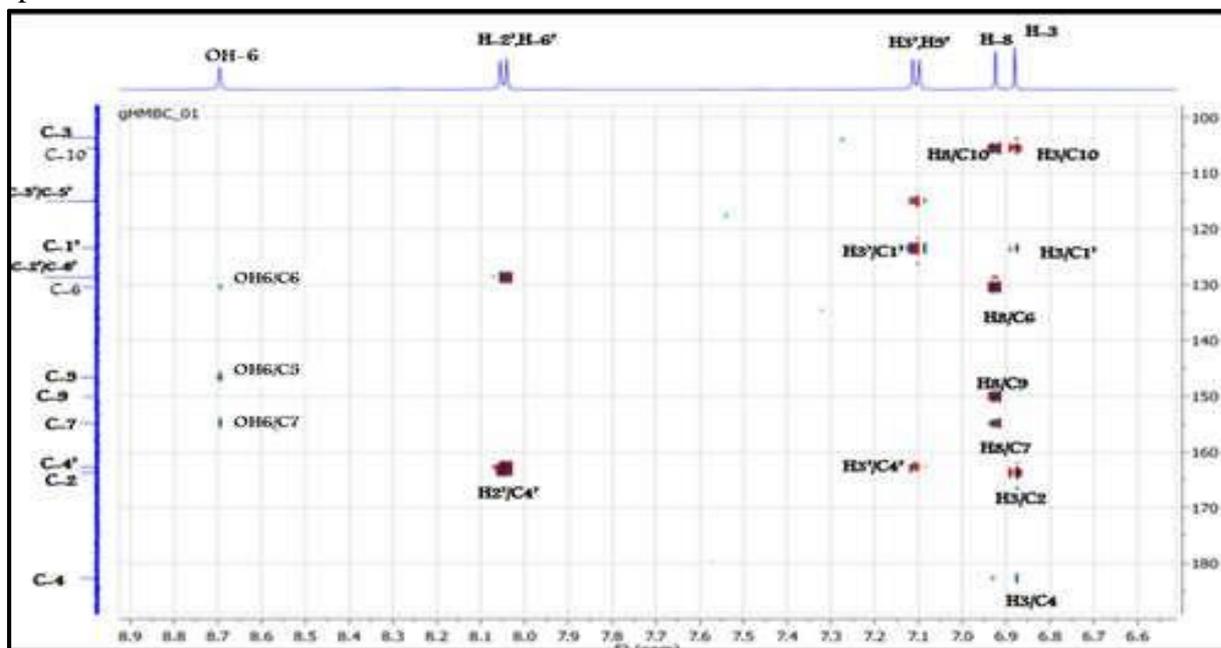


Figure 92 : Spectre de HMBC-c (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-37.

- Par ailleurs, les protons H-3' et H-5' corréleront avec le carbone à $\delta_C = 162,98$ ppm qui ne peut être que le carbone C-4'. Ce dernier montre à son tour une tâche de corrélation avec les protons du groupement méthoxyle à $\delta_H = 3,84$ ppm ($\delta_C = 56,04$ ppm), ceci mène à localiser ce groupement méthoxyle sur le carbone C-4'. Ce spectre montre également de façon claire que le deuxième méthoxyle est porté par le carbone C-7. Toutes ces observations confirment donc les données fournies par les spectres UV-Vis sur la substitution des carbones C-4' et C-7 et indiquent donc que cette flavone est diméthoxylée.

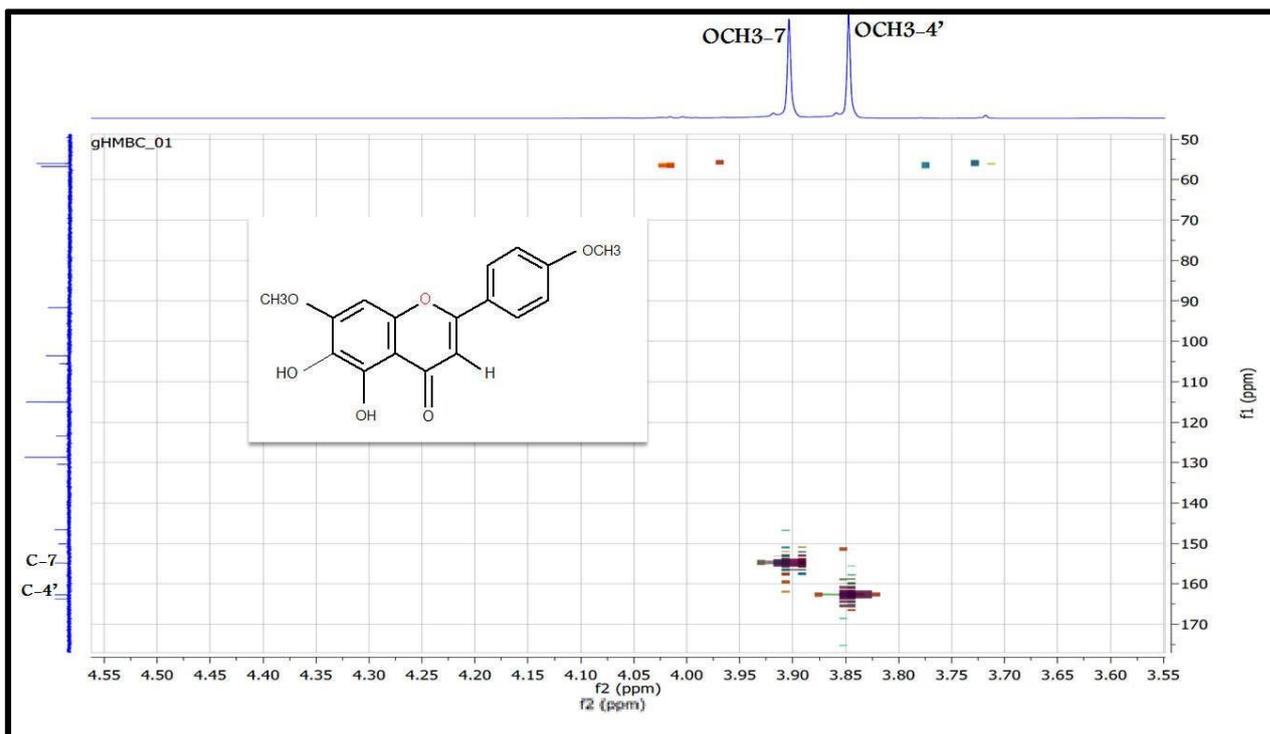


Figure 93 : Spectre de HMBC-d (DMSO-d₆, 600 MHz) du composé IA-37.

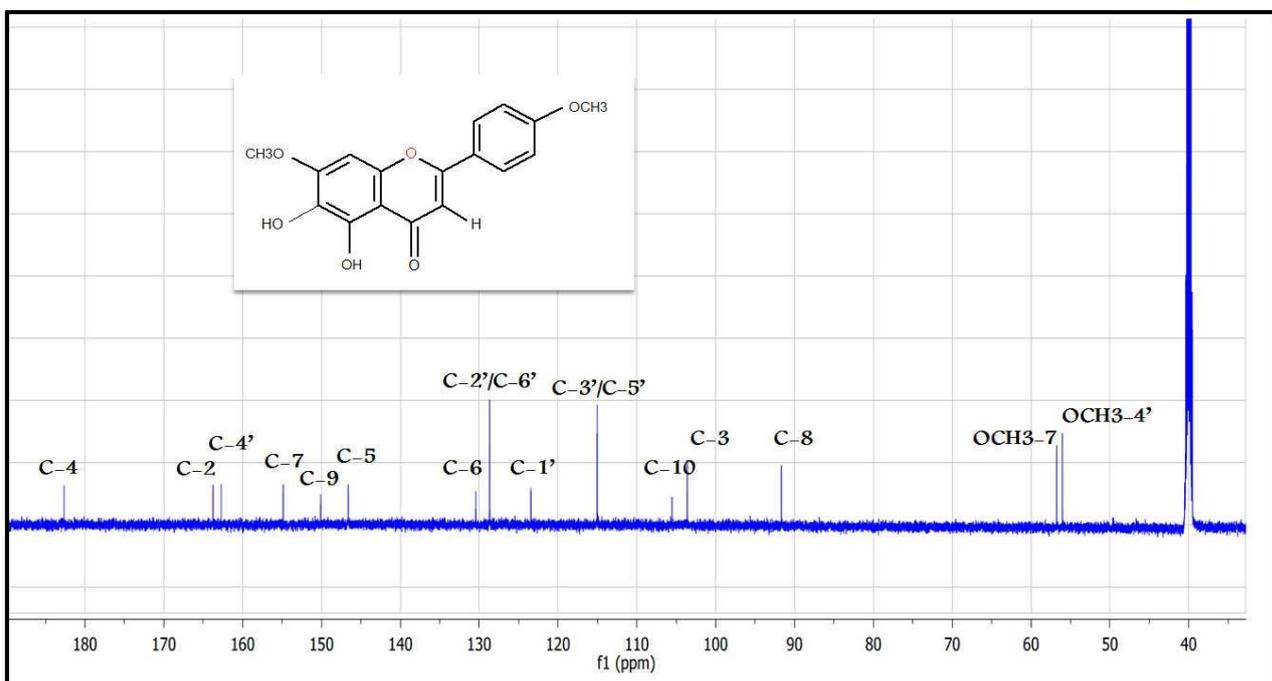


Figure 94 : Spectre RMN ¹³C-b (DMSO-d₆, 125 MHz) du composé IA-37.

La combinaison de l'ensemble des données spectroscopiques et la comparaison avec les données de la littérature mènent au composé **5, 6-dihydroxy-7,4'-diméthoxy flavone** connu sous le nom de **Scutelaréine 7,4'-dimethylether** représentée dans la figure 95.

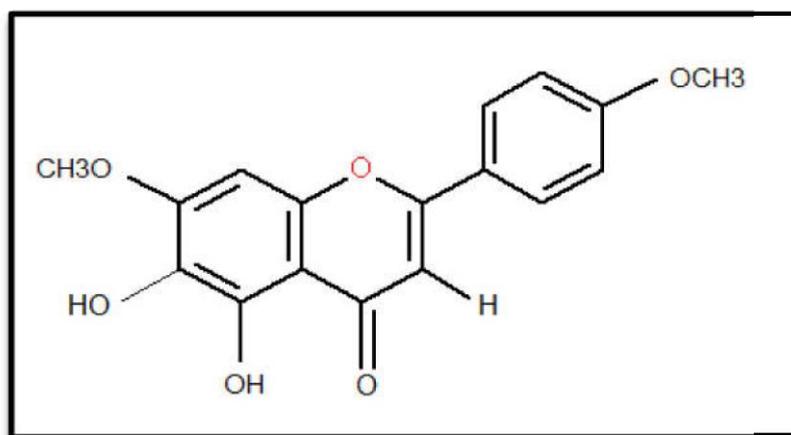


Figure 95 : Structure finale du composé IA-37 : **Scutelaréine 7,4'-dimethylether**

Elucidation structurale du composé IA-38 :

- **Analyse par spectrophotométrie UV-Vis**

L'étude de la série spectrale UV-Vis (figure 96), a permis de dégager les points suivants :

- Un maximum d'absorption de la bande I à 345 nm et de la bande II à 274 nm caractéristiques d'une flavone ou d'un flavonol 3-OR.
- Un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = + 54$ nm) et une augmentation de son intensité lumineuse après addition de NaOH, sont en faveur d'un groupement OH libre en position 4'. Par contre l'absence d'une nouvelle bande dans la zone 320 nm indique l'absence d'un groupement hydroxyle libre en position 7.
- Après addition de AlCl_3 , le spectre montre un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = 81$ nm), additionné de HCl et réenregistré, la bande I de ce spectre subit un déplacement hypsochrome de 57 nm, indiquant la présence d'un système ortho-di-OH sur le cycle B. La comparaison du spectre enregistré dans le méthanol à celui enregistré en présence de $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ montre un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +24$

nm), indiquant la présence d'un groupement OH libre en position 5 et une oxygénation en C-6.

- L'addition du réactif NaOAc provoquant un déplacement bathochrome faible de la bande II par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, confirme la présence d'un OR en position 7.
- L'addition de H₃BO₃ à la solution contenant NaOAc montre un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda I = +12$ nm) par rapport au spectre enregistré dans le MeOH, confirmant la présence du système ortho dihydroxyle sur les carbones C-3' et C-4'.

Tableau 35 : Données de la série spectrale UV du composé **IA-38**.

Réactifs	Bande I	Bande II	Autres Bandes	Commentaires
MeOH	345	273	/	Flavone ou flavonol 3-OR
+ NaOH	399	276	/	OH libre en 4'
+ AlCl ₃	426	281	300	OH libre en 5
+ AlCl ₃ / HCl	369	277	/	Ortho di-OH sur le cycle B
+ NaOAc	334	275	404	7-OR
+ NaOAc/H ₃ BO ₃	357	273	/	
Spectre stable dans NaOH après 5 mn				

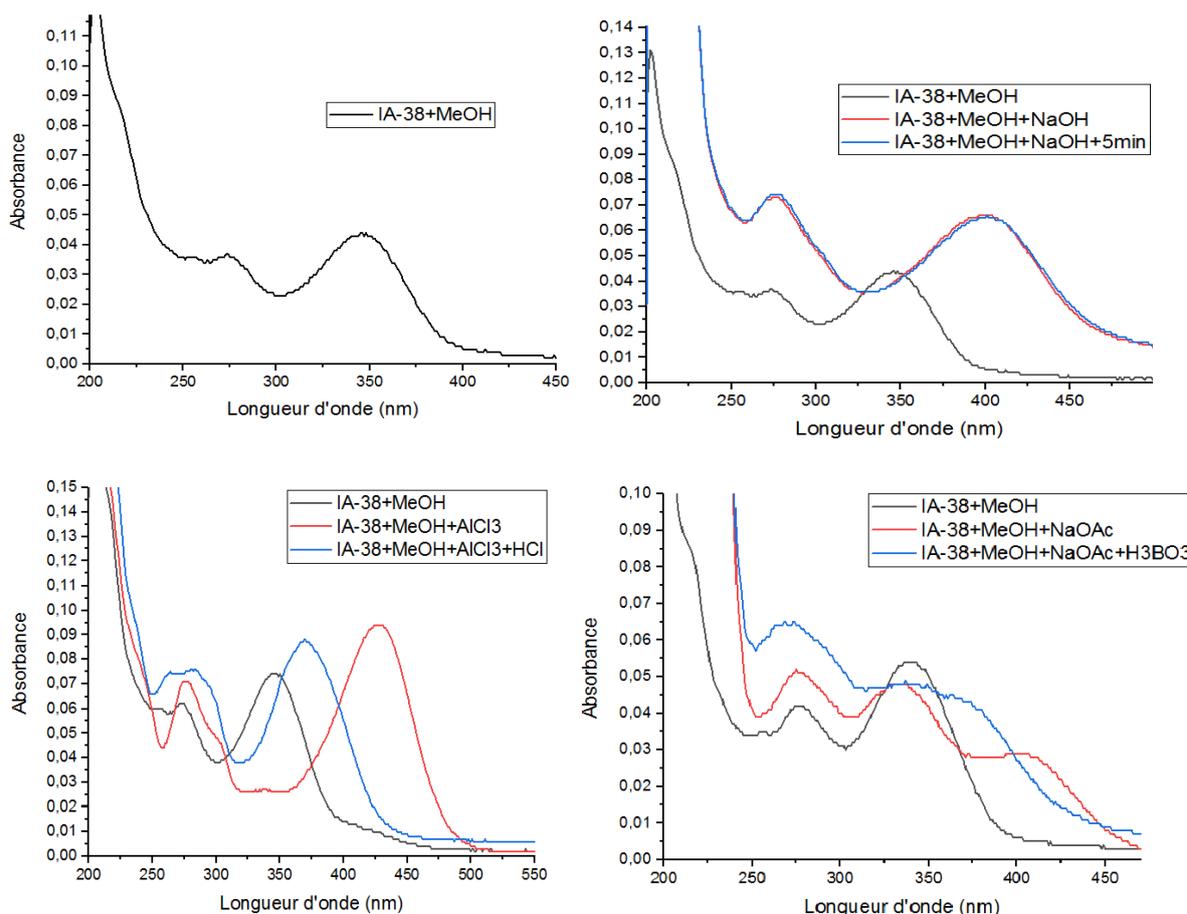


Figure 96 : Série spectrale UV du composé **IA-38**.

L'analyse du spectre RMN ^1H (figure 97) et du spectre HSQC (figure 100) du composé IA-38 indique la présence de :

- ✓ Un singlet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6,85$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 91,88$ ppm) attribuables au proton H-8.
- ✓ Un singlet à $\delta_{\text{H}} = 6,71$ ppm que nous pouvons attribuer au proton H-3 vu que la multiplicité du signal de H-8 et le fait que ce flavonoïde est oxygéné en C-6 d'après les données de la série spectrale UV-Vis. Ces informations orientent donc vers une structure de type flavone.
- ✓ Un singlet d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 12,92$ ppm que l'on ne peut attribuer qu'au proton d'un OH en position 5 (OH-5).
- ✓ Une tri-substitution du noyau B déduite de : l'existence d'un doublet dédoublé ($J = 8,2$; $2,2$ Hz) d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 7,43$ ppm (H-6') et deux doublets d'intégration 1H chacun à $\delta_{\text{H}} = 7,42$ ($J = 2,2$ Hz ; H-2') et $6,88$ ppm ($J = 8,2$ Hz ; H-5').

- ✓ Deux singulets d'intégration 3H à $\delta_H = 3,71$ ppm et à $\delta_H = 3,91$ ppm, attribuables aux protons de deux groupements méthoxyles, dont un est en position 7 d'après les données de la série spectrale UV-Vis.

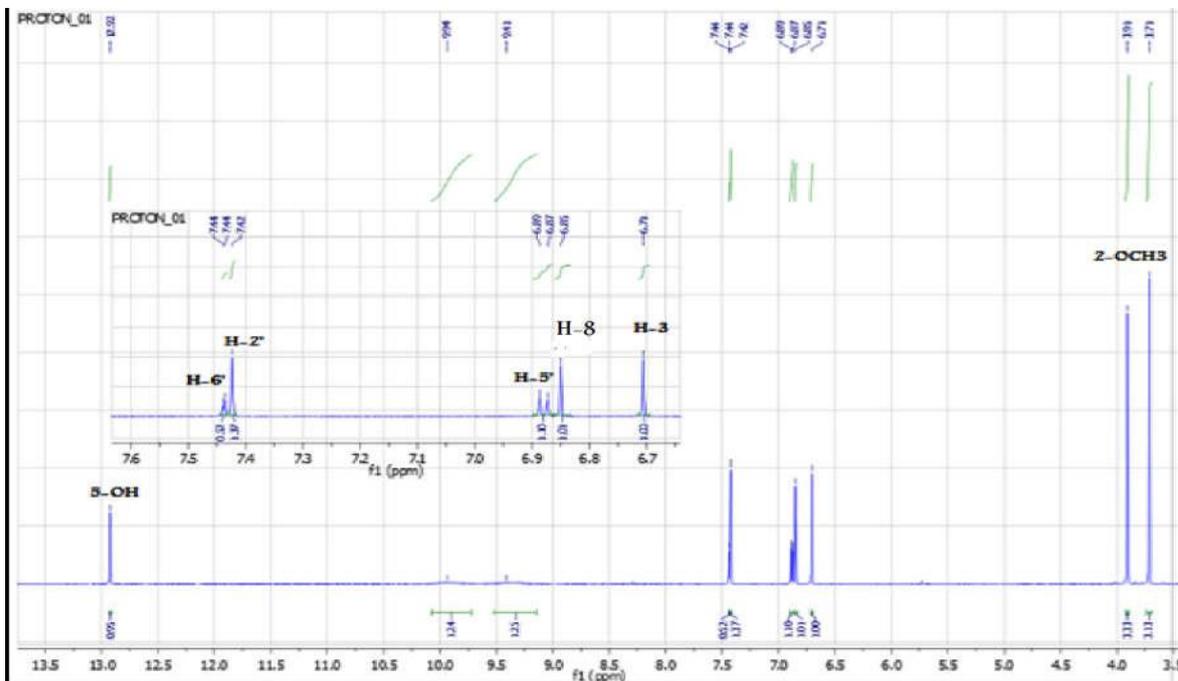


Figure 97 : Spectre de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-38.

Les spectres RMN ^{13}C (figure 98) et DEPT (figure 99) montrent la présence de 17 atomes de carbone :

- ✓ Deux groupements méthoxyles à 56,86 et 60,46 ppm.
- ✓ Cinq CH aromatiques à 91,88 ; 103,15 ; 116,39 ; 113,96 et 119,47 ppm.
- ✓ Dix carbones quaternaires dont sept oxygénés et un groupement carbonyle à $\delta = 182,53$ ppm.

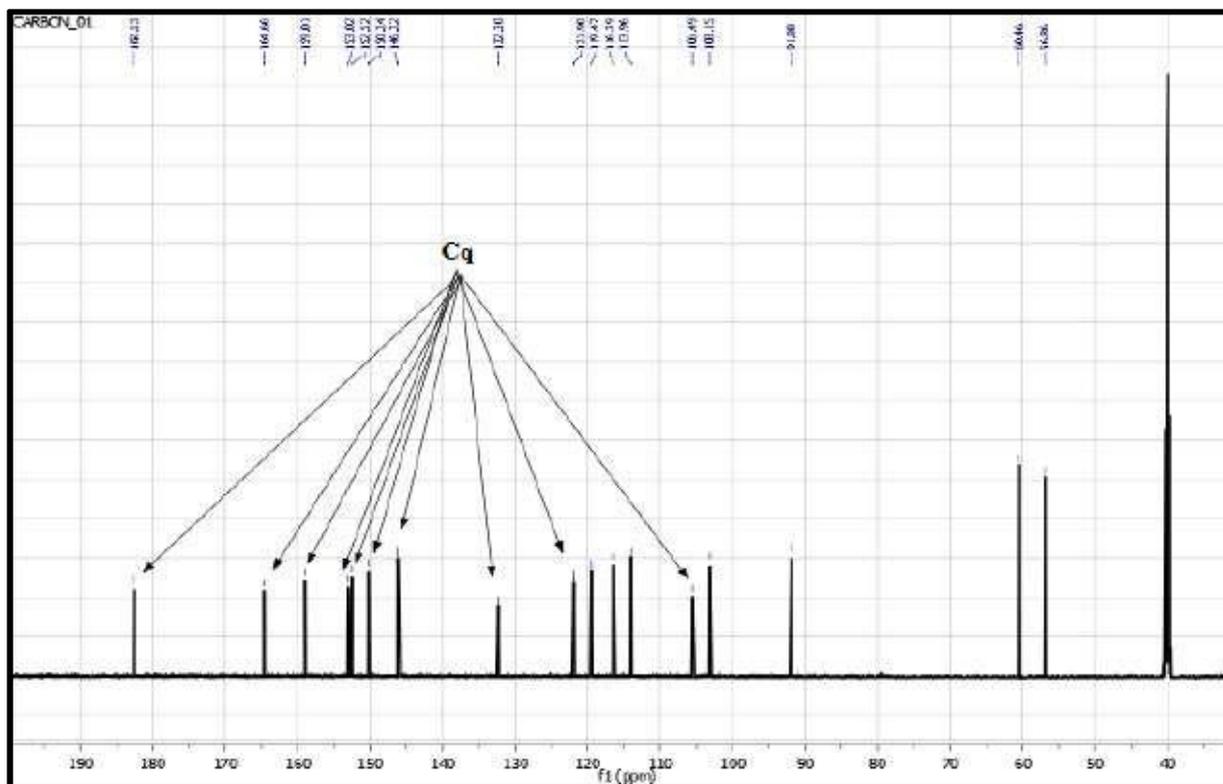


Figure 98 : Spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) du composé IA-38.

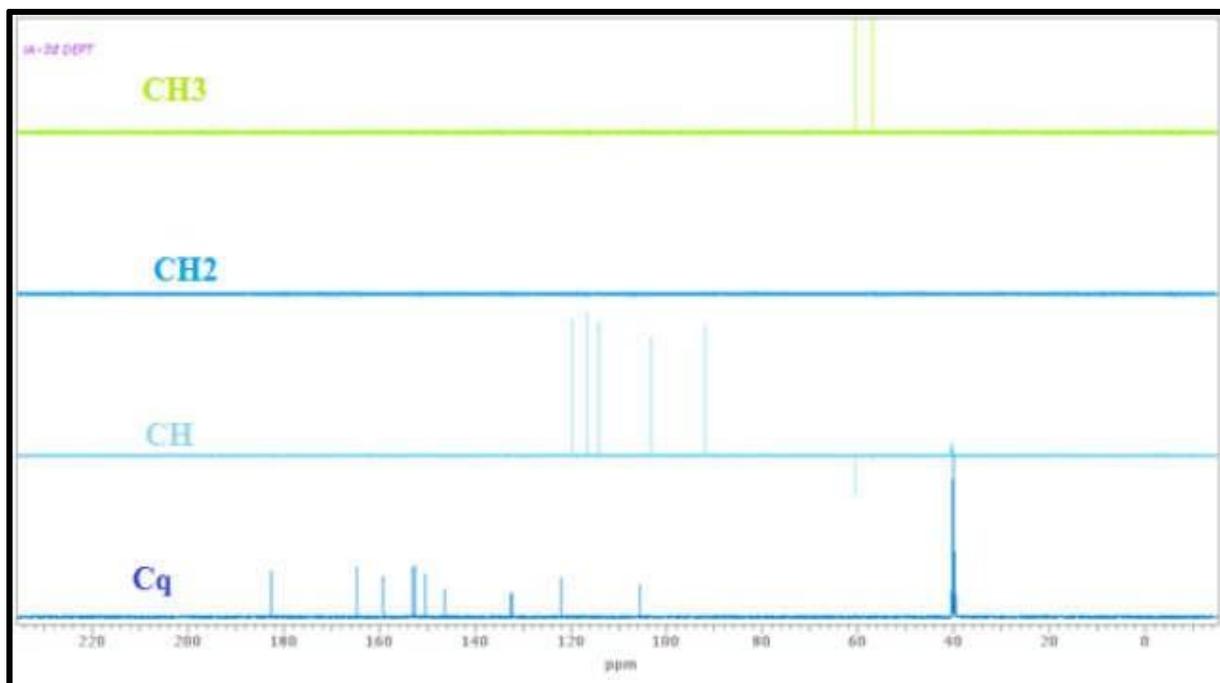


Figure 99 : Spectre DEPT (DMSO- d_6 , 150 MHz) du composé IA-38.

L'examen du spectre HSQC permet d'attribuer chaque proton à son carbone correspondant comme le montre la figure 100.

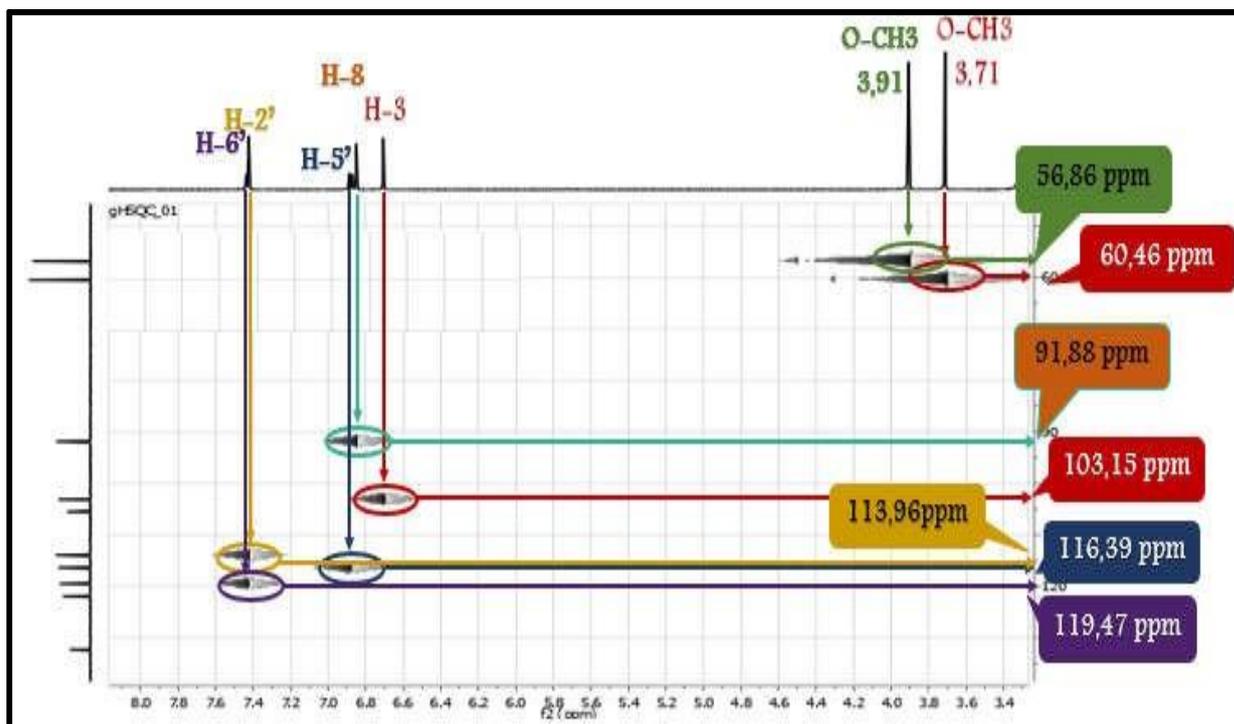


Figure 100 : Spectre de HSQC (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-38.

L'examen du spectre HMBC (figure 101) montre les observations suivantes :

Le proton de l'hydroxyle en position 5 présente des taches de corrélation avec :

- Le carbone quaternaire à $\delta_C = 105,57$ ppm attribuable au carbone C-10.
- Le carbone à $\delta_C = 152,54$ ppm attribuable à C-5.
- Le carbone à $\delta_C = 132,3$ ppm qui ne peut être que le carbone C-6. Ce dernier montre une tâche de corrélation avec les protons du groupement méthoxyle à $\delta_H = 3,71$ ppm ($\delta_C = 60,46$ ppm), ceci mène à localiser ce groupement méthoxyle sur le carbone C-6.

Le proton H-6' donne trois tâches de corrélation :

- ✓ La première avec le C-5'.
- ✓ La seconde avec un carbone quaternaire oxygéné à $\delta_C = 146,22$ ppm attribuable à C-3'.
- ✓ La troisième avec un carbone quaternaire à $\delta_C = 164,78$ ppm, ce dernier corrèle avec le proton H-3, donc ce carbone ne peut-être que le C-2.

Le proton H-2' donne deux tâches de corrélation :

- ✓ La première avec le C-6'.
- ✓ La seconde avec un carbone quaternaire à $\delta_C = 150,21$ ppm, ce dernier corrèle avec le proton H-5', donc ce carbone ne peut-être que le C-4'.

Le proton H-8 présente des taches de corrélation avec :

- Le carbone C-10 ($\delta_C = 105,57$ ppm).
- Le carbone C-6 ($\delta_C = 132,3$ ppm).
- Le carbone quaternaire à $\delta_C = 153,07$ ppm attribuable au carbone C-9.
- Le carbone quaternaire à $\delta_C = 182,53$ ppm attribuable au groupement carbonyle C-4.
- Le carbone quaternaire à $\delta_C = 159,01$ ppm, ce dernier montre une tâche de corrélation avec les protons du second groupement méthoxyle à $\delta_H = 3,91$ ppm ($\delta_C = 56,86$ ppm), donc ce carbone ne peut-être que le C-7, substitué par ce méthoxyle.

Le proton H-3 présente des taches de corrélation avec :

- Le carbone C-10 ($\delta_C = 105,57$ ppm).
- Le carbone quaternaire à $\delta_C = 164,78$ ppm attribuable au carbone C-2.
- Le carbone C-4 ($\delta_C = 182,53$ ppm).

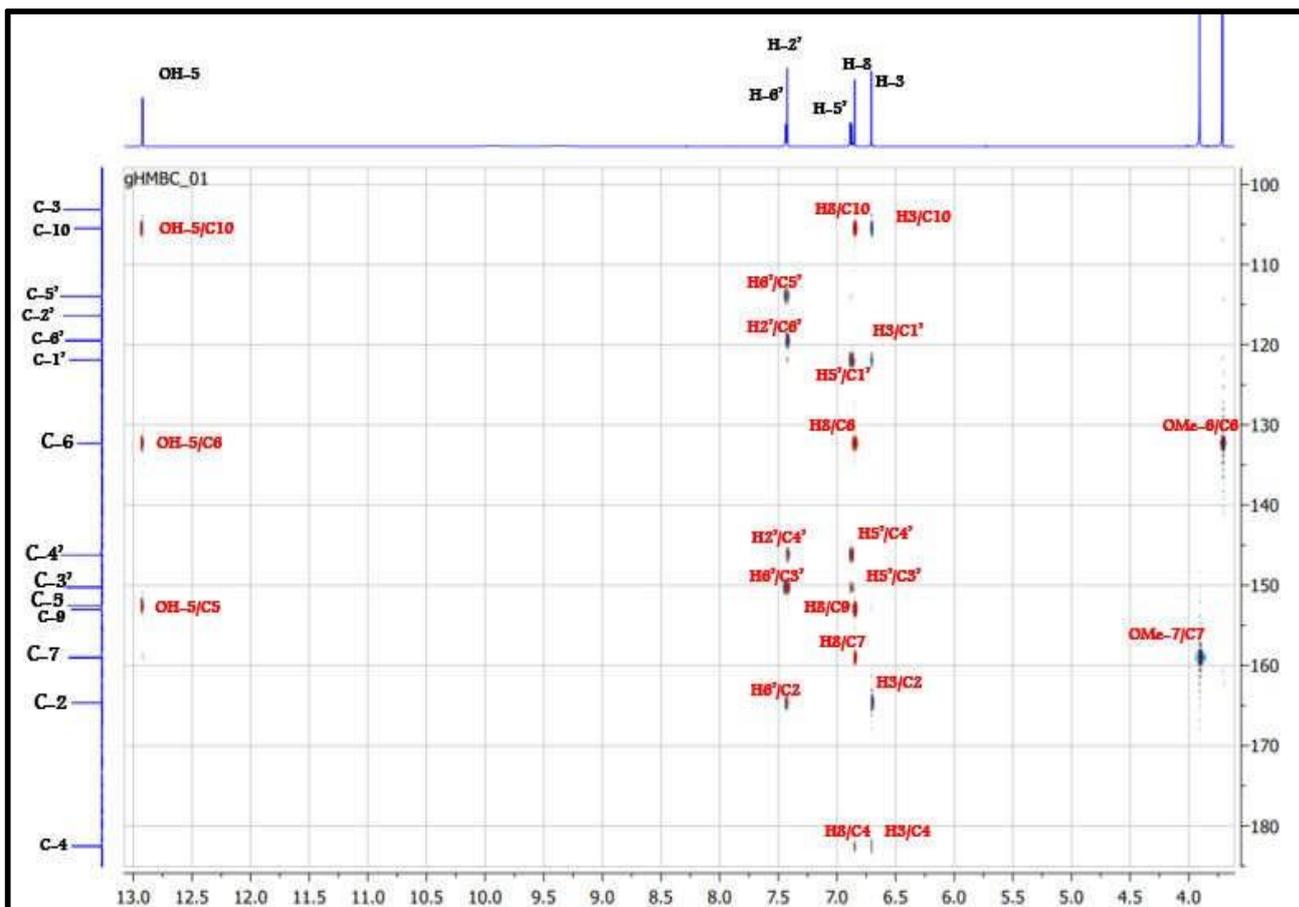


Figure 101 : Spectre de HMBC (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-38.

Toutes ces données mènent à la structure finale du composé **IA-38** qui est le : 3',4',5-trihydroxy-6,7-dimethoxy flavone ou Cirsiolol (figure 102). Cette molécule a été isolée pour la première fois de l'espèce *Salvia microphylla*.

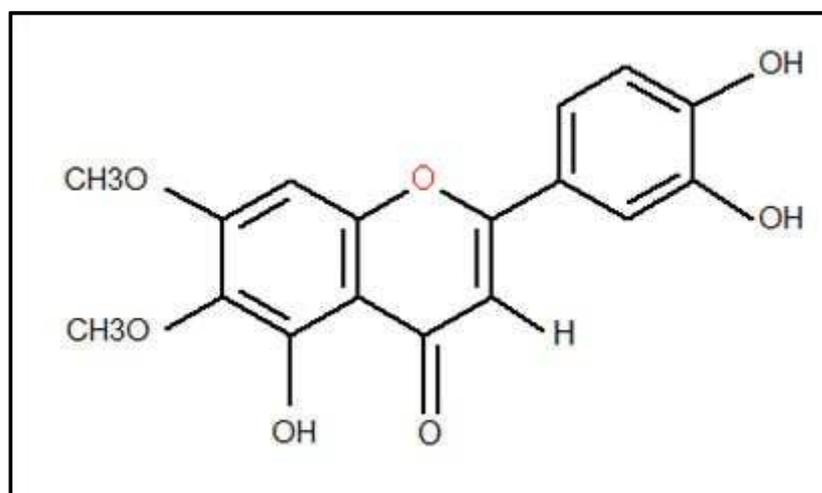


Figure 102 : Structure finale du composé IA-38, le Cirsiolol.

Tableau 36 : Données des spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C du produit IA-38.

Position	δ_{H} multiplé (J Hz)	Δ_{C}
2	-	164,78
3	6,71 s	103,81
4	-	182,53
5	-	152,54
6		132,3
7	-	159,01
8	6,85 s	91,88
9	-	153,07
10	-	105,57
1'	-	121,98
2'	7,42 (1H, d, $J = 2,2$ Hz)	114,02
3'		146,22
4'	-	150,21
5'	6,88 (1H, d, $J = 8,2$ Hz)	116,39
6'	7,43 (1H, dd, $J = 8,2 ; 2,2$ Hz)	119,49
4'-OCH ₃	3,71 (3H, s)	60,46
7-OCH ₃	3,91 (3H, s)	56,86
5-OH	12,92	-

Elucidation structurale du composé SML/6/8

L'examen simultané du spectre RMN ^1H (figure 103) et spectre HSQC (figure 104) indique la présence de protons d'un cycle aromatique trisubstitué apparaissant comme suit :

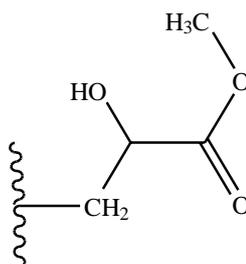
- Un singlet large d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6,74$ ppm corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à $\delta_{\text{C}} = 116,16$ ppm.
- Un doublet large ($J = 6,5$ Hz) d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6,57$ ppm corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à $\delta_{\text{C}} = 120,88$ ppm.
- Un doublet ($J = 7,1$ Hz) d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 6,68$ ppm corrélant sur le spectre HSQC avec le carbone à $\delta_{\text{C}} = 115,61$ ppm.

Les valeurs des déplacements chimiques de ces 3 protons ainsi que celles des constantes de couplage orientent vers la présence d'un cycle aromatique trisubstitué en méta et en para. En effet, le premier signal (*sl*) présente un couplage méta non observé, le deuxième signal (*dl*, $J=6,5$ Hz) montre un couplage ortho et un petit couplage méta et le troisième signal (*d*, $J=7.1$ Hz) montre un couplage ortho. Ces constatations permettent de confirmer la présence d'un cycle aromatique trisubstitué en positions 1', 3' et 4'.

D'autres signaux apparaissent dans la zone 2,7-4,5 ppm pouvant être répartis comme suit :

- Un premier signal sous forme de doublet large ($J = 6,8\text{Hz}$) d'intégration 1H à $\delta_{\text{H}} = 4,27$ ppm corrélant sur le spectre HSQC avec le signal à $\delta_{\text{C}} = 73,26$ ppm.
- Un deuxième signal sous forme de deux doublets de doublets à $\delta_{\text{H}} = 2,79$ ppm ($J = 13,7$ Hz ; 4,8 Hz) et à $\delta_{\text{H}} = 2,90$ ppm ($J = 13,7$; 7,3Hz) d'intégration 2H corrélant sur le spectre HSQC avec le signal à $\delta_{\text{C}} = 40,38$ ppm indiquant un groupement CH_2 .
- Un dernier signal sous forme d'un singulet d'intégration 3H à $\delta_{\text{H}} = 3.70$ ppm corrélant sur le spectre HSQC avec le signal à $\delta_{\text{C}} = 51,35$ ppm, ce qui confirme la présence du groupement méthoxyle dans la molécule. Ce dernier montre sur le spectre HMBC une tache de corrélation nette avec le carbone à $\delta_{\text{C}}=174,58$ ppm qui ne peut être qu'un groupement carbonyle.

Ce qui nous oriente vers l'entité suivante :



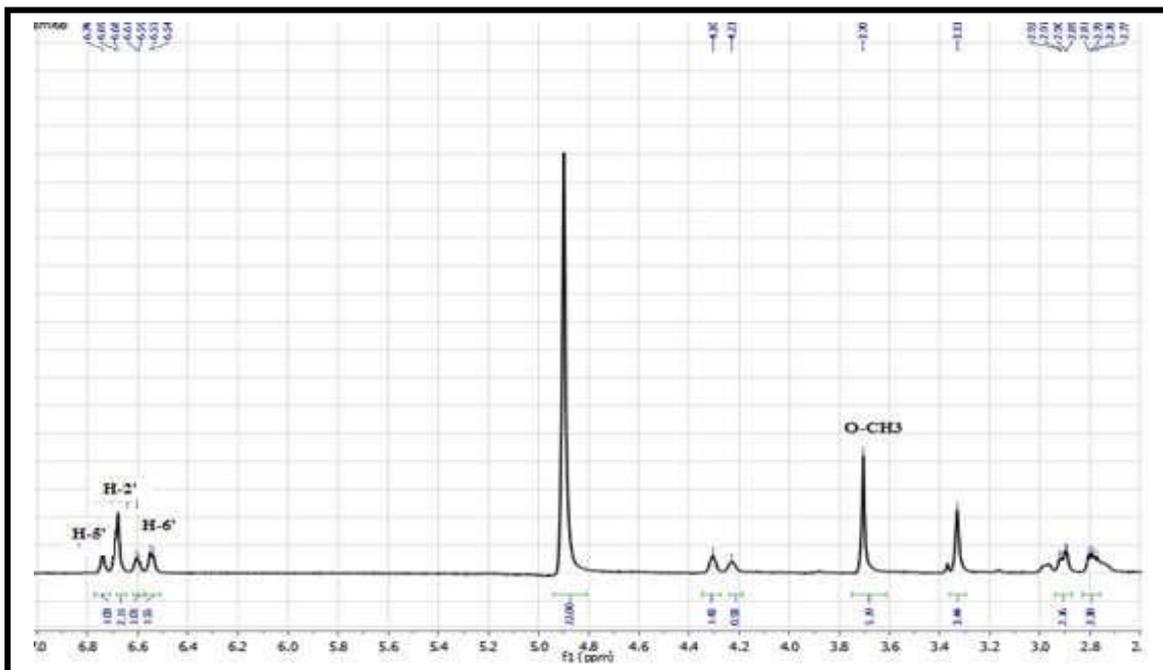


Figure 103 : Spectre RMN ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé SML/6/8.

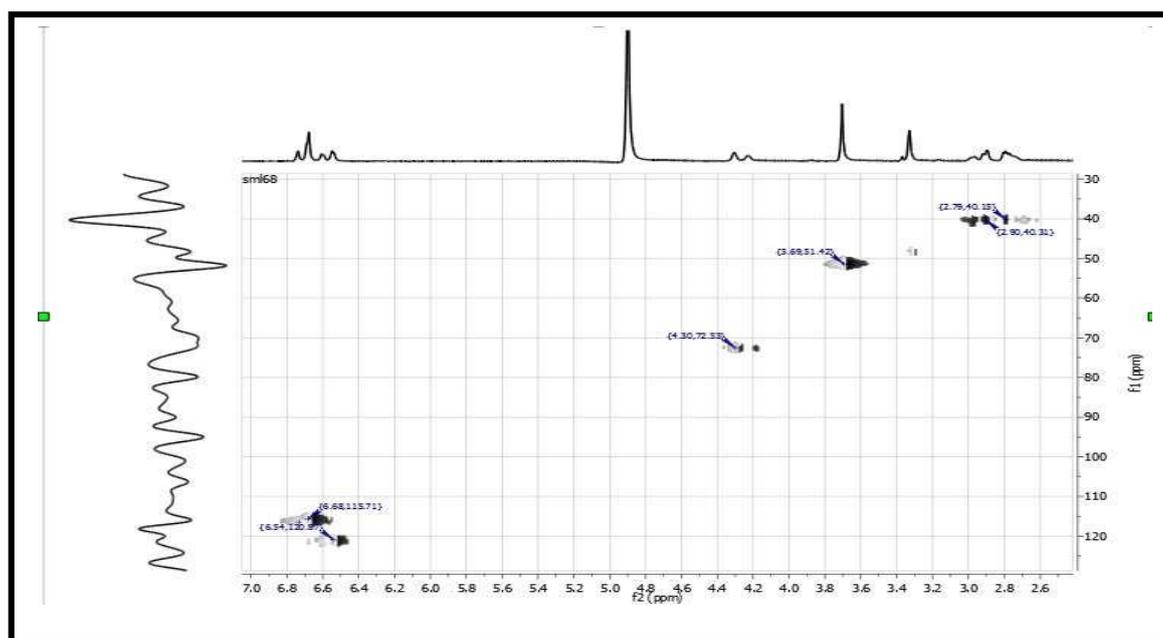


Figure 104 : Spectre HSQC (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé SML/6/8.

L'ensemble de cette première analyse permet de déduire la structure partielle représentée dans la figure 105.

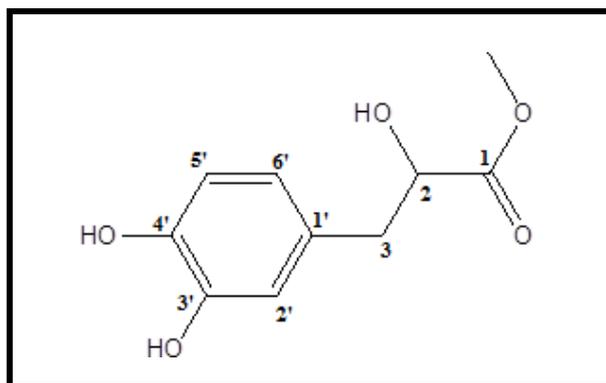


Figure 105 : la structure partielle du composé SML/6/8.

Toujours sur le spectre HMBC, on observe :

Les protons du carbone à $\delta_C = 40,38$ ppm présente des taches de corrélation avec :

- ✓ Le carbone à $\delta_C = 174,58$ ppm attribuable à C-1.
- ✓ Le carbone à $\delta_C = 73,26$ ppm attribuable à C-2.
- ✓ Le carbone à $\delta_C = 128,66$ ppm attribuable au carbone quaternaire du cycle aromatique numéroté C-1'.
- ✓ Le carbone à $\delta_C = 116,16$ ppm et le carbone à $\delta_C = 120,88$ ppm attribuable l'un à C-2' et l'autre à C-6'.

Le proton H-2 présente des taches de corrélation avec :

- ✓ Le carbone à $\delta_C = 174,58$ ppm attribuable à C-1.
- ✓ Le carbone à $\delta_C = 128,66$ ppm attribuable à C-1'.
- ✓ Le carbone à $\delta_C = 40,38$ ppm attribuable à C-3.

Le proton H-2' présente des taches de corrélation avec :

- ✓ Le carbone à $\delta_C = 120,88$ ppm attribuable à C-6'.
- ✓ Le carbone à $\delta_C = 143,50$ ppm qui ne peut être que le carbone C-4'.

Le proton H-6' présente des taches de corrélation avec :

- ✓ Le carbone à $\delta_C = 116,16$ ppm attribuable à C-2'.
- ✓ Le carbone à $\delta_C = 144,58$ ppm qui ne peut être que le carbone C-3'.

Le proton H-5' présente des taches de corrélation avec :

- ✓ Le carbone à $\delta_C = 120,88$ ppm attribuable à C-6'.
- ✓ Le carbone à $\delta_C = 144,58$ ppm qui ne peut être que le carbone C-3'.

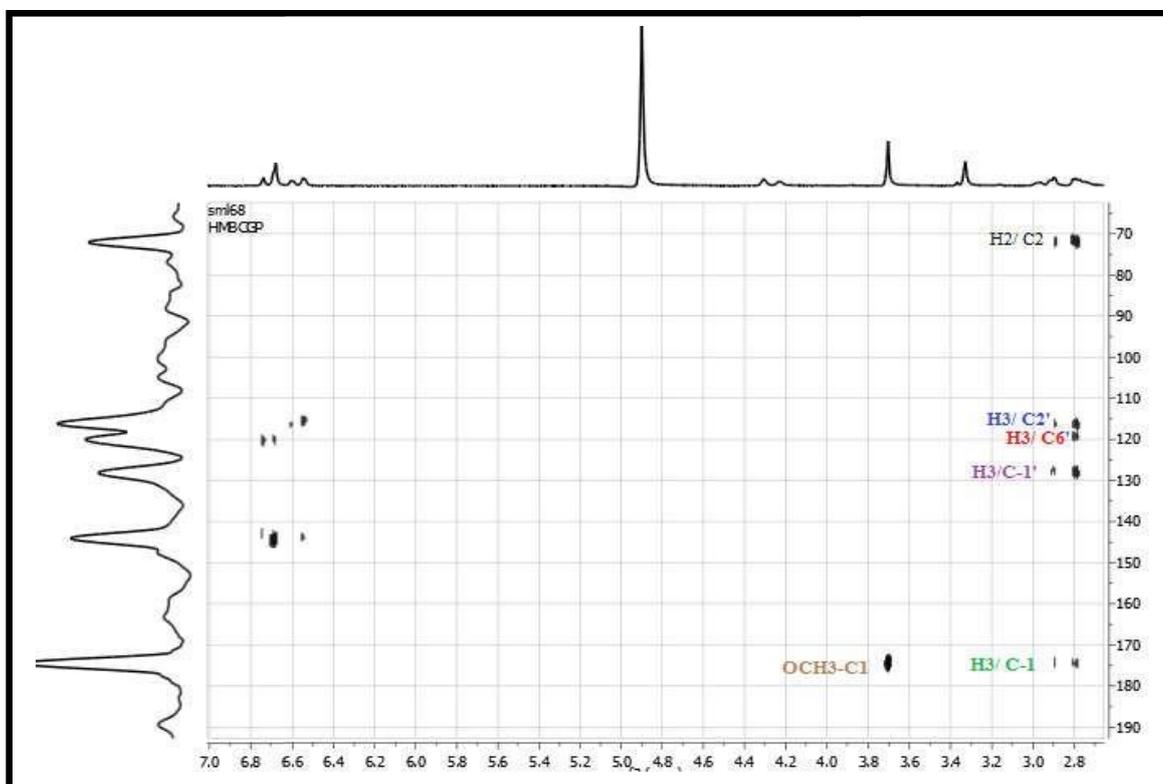


Figure 106 : Spectre de HMBC (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé SML/6/8.

Par ailleurs, ces données complétées par celles de la littérature permettent de confirmer la structure de l'oresbuchin A (Zou et al., 2010). Cette molécule a déjà été identifiée dans le genre *Salvia*, *Salvia yunnanensis* (Yu et al., 2017) mais pas dans *Salvia microphylla*.

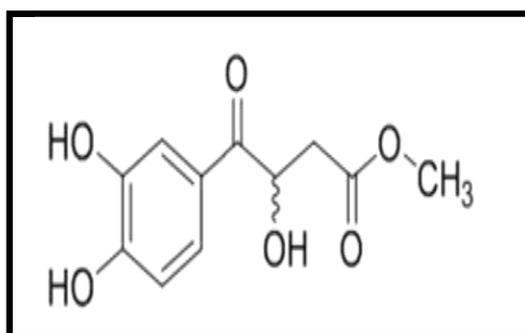


Figure 107 : Structure finale du composé SML/6/8, L'oresbuchin A.

Les données spectrales du composé SML/6/8 comparées avec celles de la littérature sont rassemblées dans le tableau 37.

Tableau 37 : Données des spectres RMN ¹H et RMN ¹³C du produit SML/6/8.

Position	δ_C ppm	δ_H ppm (int., m., J Hz)	δ_C ppm Ref (Zou et al., 2010)	δ_H ppm (int., m., J Hz) Ref (Zou et al., 2010)
1	174,58	-	-	176,4
2	73,26	4,27(dl, $J = 6.8$ Hz)	4,29 (dd, $J = 7,4 ; 5,2$)	73,8
3	40,38	2,79 ($J = 13,7 ; 4,6$ Hz) 2,90 ($J = 13,7 ; 7,3$ Hz)	2,91 (dd, $J = 14,0 ; 5,2$) 2,79 (dd, $J = 14,0 ; 7,6$)	41,6
1'	128,66	-		130,3
2'	116,16	6,74 (sl)	6,65 (d, $J = 2,4$)	118,1
3'	144,58	-		146,6
4'	143,50	-		145,6
5'	115,61	6,68 (d, $J = 7.1$ Hz)	6,67 (d, $J = 8,0$)	116,6
6'	120,8	6,57 (dl, $J = 6,5$ Hz)	6,53 (dd, $J = 8,0 ; 2,0$)	122,3
OCH₃	51,35	3,70 (s)	3,68 (s)	52,7

Elucidation structurale du composé SML/8/5

L'analyse du spectre RMN ¹H (figure 108) de ce composé suggère la présence d'un acide rosmarinique reconnaissable par :

- Doublet d'intégration 1H à 6,63 ppm ($J = 6,9$ Hz) caractéristique d'un couplage *ortho* attribuable à H-6', ce signal est un doublet large (*dl*).
- Doublet d'intégration 1H à 6,70 ppm ($J = 7,9$ Hz) caractéristique d'un couplage *ortho* attribuable à H-5'.
- Singulet large d'intégration 1H à 6,77 ppm attribuable à H-2', ce signal (*sl*) présente un couplage méta non observé.
- Doublet d'intégration 1H à 6,80 ppm ($J = 8,1$ Hz) caractéristique d'un couplage *ortho* attribuable à H-5.
- Doublet d'intégration 1H à 6,96 ppm ($J = 6,9$ Hz) caractéristique d'un couplage *ortho* attribuable à H-6, ce signal est un doublet large (*dl*).
- Singulet large d'intégration 1H à 7,1 ppm attribuable à H-2.

- Deux signaux sous forme d'un doublet d'intégration 1H chacun à 6,28 ppm et 7,56 ppm avec une constante de couplage ($J = 15,9$ Hz) caractéristique d'un couplage *trans* attribuables aux protons H-8et H-7respectivement.
- Un signal d'intégration 1H à 5,19 ppm sous forme d'un singulet large attribuable à H-8', ce signal est singulet large (*sl*).
- Deux Doublets dédoublés d'intégration 1H chacun entre $\delta_H = 3,02$ ppm ($J= 11,2 ; 5,2$ Hz) et $\delta_H = 3,12$ ppm ($J= 12,6 ; 2,5$ Hz) attribuables aux protons H-7'ax, H-7'eq.

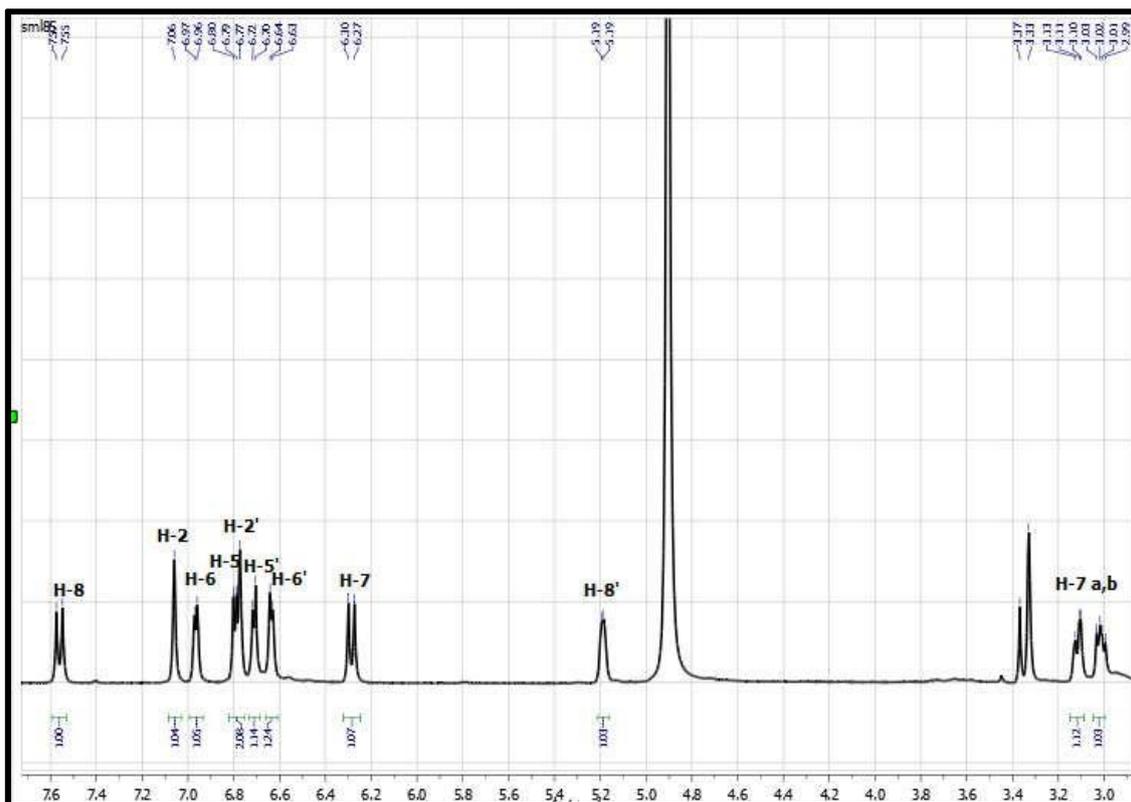


Figure 108 : Spectre de RMN ^1H (MeOD, 600 MHz) du composé SML/8/5.

Le spectre de l'expérience HSQC (figure 109) permet de relier tous les protons du squelette à leurs carbones grâce aux taches de corrélation comme suit :

- H-8' à $\delta_H = 5,19$ ppm avec son carbone C-8' à $\delta_C = 74,92$ ppm
- H-7 à $\delta_H = 6,28$ ppm avec son carbone C-7 à $\delta_C = 114,66$ ppm.
- H-8 à $\delta_H = 7,56$ ppm avec son carbone C-8 à $\delta_C = 146,48$ ppm.
- H-6' à $\delta_H = 6,63$ ppm avec son carbone C-6' à $\delta_C = 121,85$ ppm
- H-5' à $\delta_H = 6,70$ ppm avec son carbone C-5' à $\delta_C = 116,53$ ppm.
- H-2' à $\delta_H = 6,77$ ppm avec son carbone C-2' à $\delta_C = 116,65$ ppm

- H-5 à $\delta_H = 6,80$ ppm avec son carbone C-5 à $\delta_C = 116,94$ ppm.
- H-2 à $\delta_H = 7,06$ ppm avec son carbone C-2 à $\delta_C = 115,47$ ppm
- H-6 à $\delta_H = 6,96$ ppm avec son carbone C-5 à $\delta_C = 122,60$ ppm.

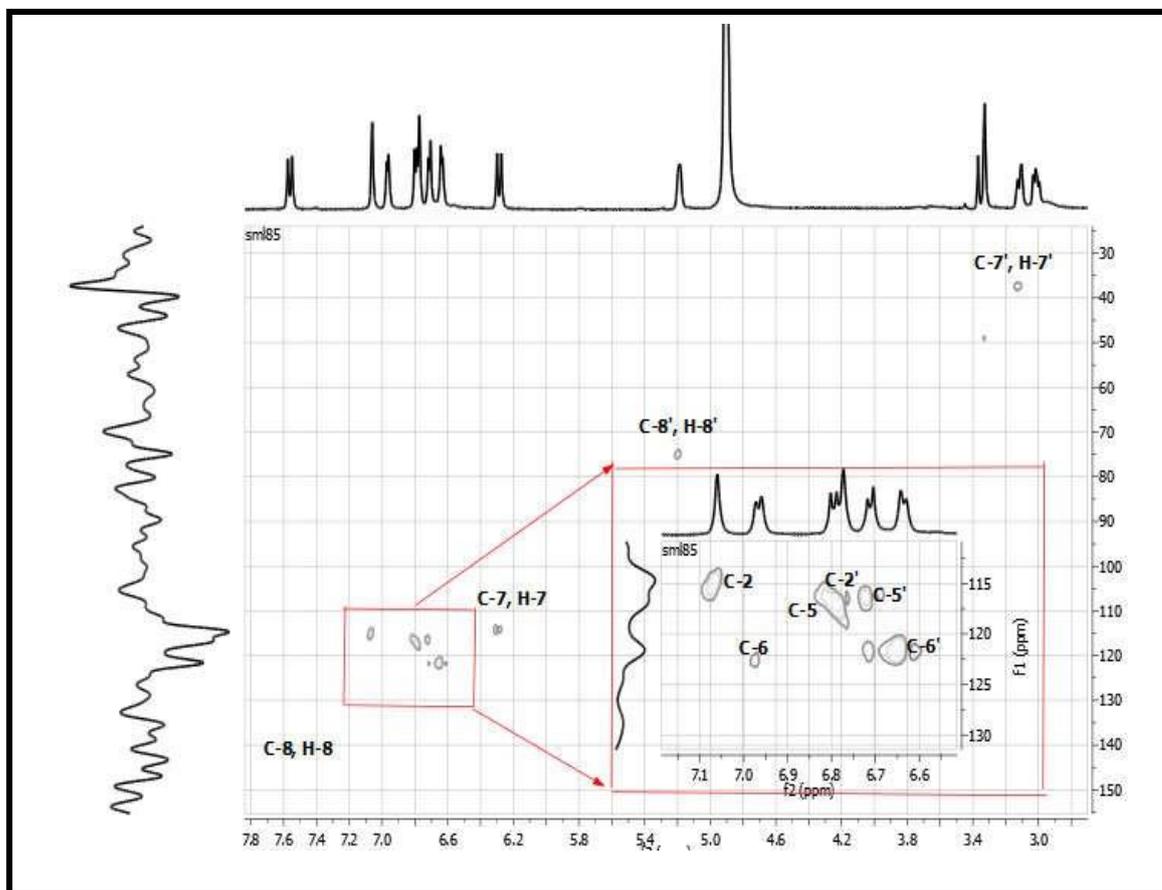


Figure 109 : Spectre HSQC (MeOD, 600 MHz) du composé SML/8/5.

En effet, le spectre HMBC (figure 110) montre des taches de corrélations qui nous permettent de déduire les déplacements des carbones quaternaires comme suit :

- 1- Les protons du carbone C-7' corrèlent avec le carbone C-8' à δ_C 74,92 ppm, le carbone C-2' à δ_C 116,65 ppm et le carbone à δ_C 128,73 ppm qui ne peut être que le carbone C-1'.
- 2- Le proton H-7 présente des taches de corrélation avec :
 - ✓ Le carbone à δ_C 126,66 ppm attribuable à C-1.
 - ✓ Le carbone à δ_C 167,43 ppm attribuable à C-9.
- 3- Le proton H-8 présente des taches de corrélation avec :
 - ✓ Le carbone à $\delta_C = 122,60$ ppm attribuable à C-6.
 - ✓ Le carbone à $\delta_C = 114,14$ ppm qui ne peut être que le carbone C-7.

Le carbone à $\delta_C = 167,43$ ppm attribuable à C-9.

- 4- Le proton H-6' corrèle avec le carbone à $\delta_C = 143,91$ ppm qui ne peut être que le carbone C-3'.
- 5- Du même, le proton H-5' présente une tache de corrélation avec le carbone à $\delta_C = 145$ ppm qui ne peut être que le carbone C-4'.
- 6- Le proton H-5 présente des taches de corrélation avec :
 - ✓ Le carbone à $\delta_C = 126,66$ ppm attribuable à C-1.
 - ✓ Le carbone à $\delta_C = 146,12$ ppm qui ne peut être que le carbone C-4.
- 7- Le proton H-2 présente des taches de corrélation avec :
 - ✓ Le carbone à $\delta_C = 122,60$ ppm attribuable à C-6.
 - ✓ Le carbone à $\delta_C = 148,84$ ppm qui ne peut être que le carbone C-8.
- 8- Le proton H-6 corrèle avec le carbone à $\delta_C = 145,68$ ppm qui ne peut être que le carbone C-3.

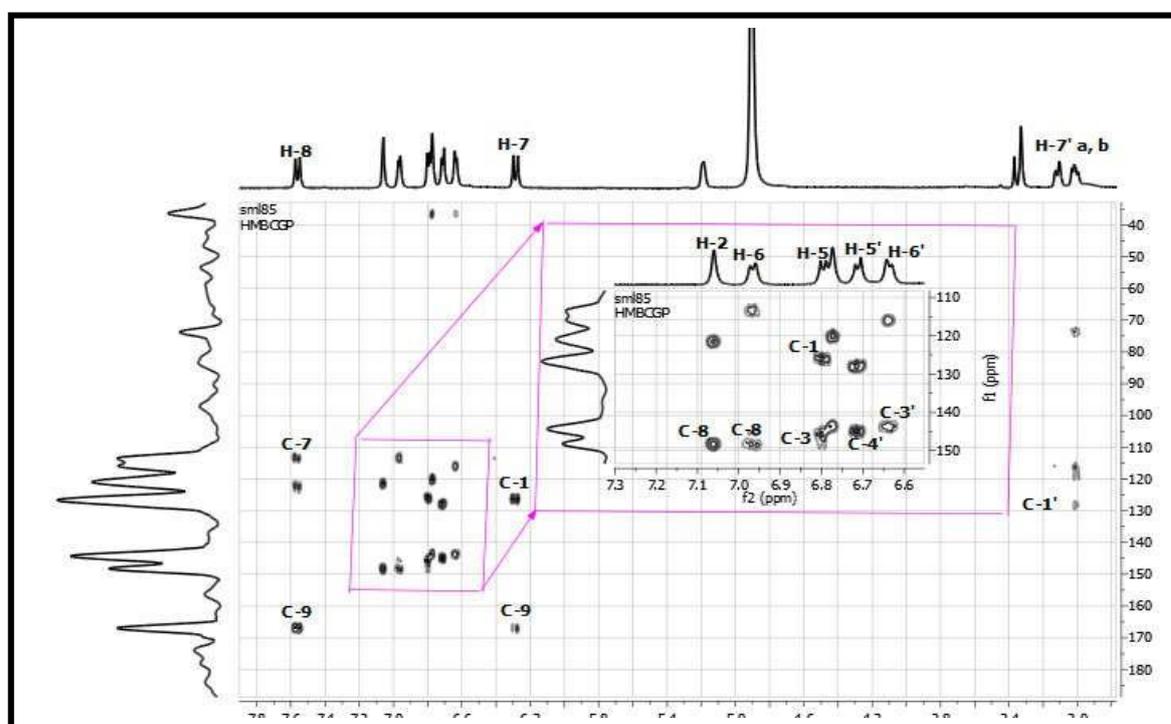


Figure 110 : Spectre HMBC (MeOD, 600 MHz) du composé SML/8/5.

Le spectre RMN ^{13}C (figure 111) nous montre un signal à $\delta_{\text{C}} = 173,60$ ppm caractéristique d'un groupement acide attribuable à C-9'.

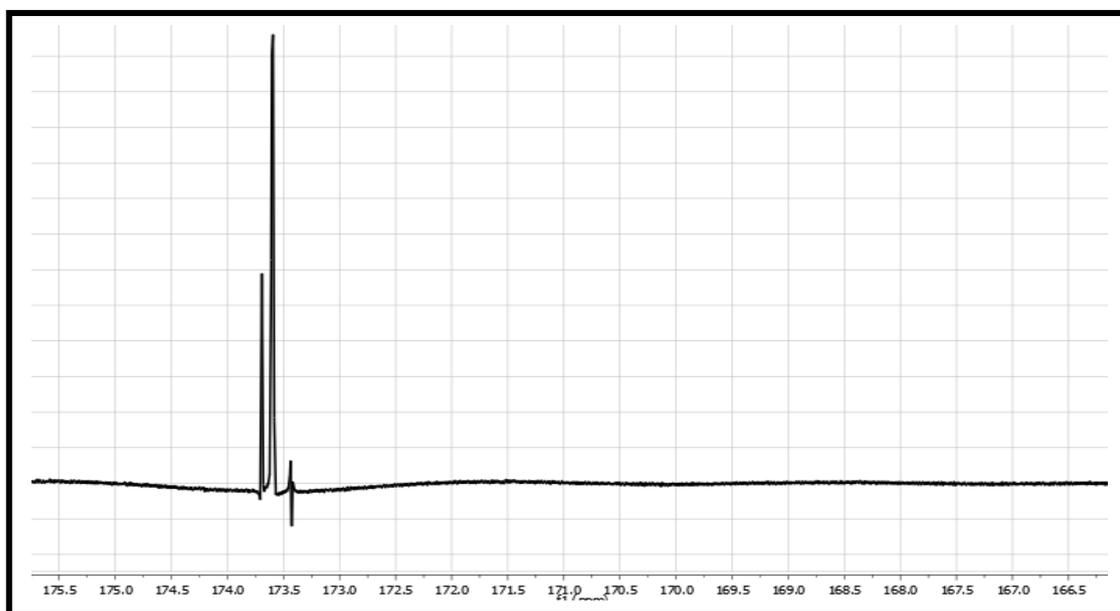


Figure 111 : Spectre RMN ^{13}C (MeOD, 150 MHz) du composé SML/8/5.

Tableau 38 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C du composé SML/8/5 dans CD_3OD .

Position	δ_{H} (ppm) <i>m</i> (<i>J</i> Hz)	δ_{C} (ppm)
1	-	126,66
2	7,06 (sl)	115,47
3	-	146,12
4	-	145,68
5	6,80 (d, <i>J</i> = 8,1 Hz)	116,94
6	6,96 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz)	122,60
7	6,29 (d, <i>J</i> = 15,9 Hz)	114,66
8	7,56 (d, <i>J</i> = 15,9 Hz)	146,48
9	-	167,43
1'	-	128,73
2'	6,77 (sl)	116,65
3'	-	143,91
4'	-	145
5'	6,70 (d, <i>J</i> = 7,9 Hz)	116,53

6'	6,63 (d, $J= 6,9$ Hz)	121,85
7'	3,02 (dd, $J= 11,2 ; 5,2$ Hz) 3,12 (dd, $J= 12,6 ; 2,5$ Hz)	37,67
8'	5,19 (sl)	74,92
9'	-	173,60

L'analyse des spectres de RMN ^1H , HSQC et HMBC permet d'identifier le composé SML/8/5 comme étant l'acide rosmarinique (Sevindik et al., 2015) déjà isolé à partir du genre *Salvia*, *Salvia officinalis* L (Dent et al., 2017 ; Gericke et al., 2018), *Salvia syriaca* (Bahadori et al., 2017) mais jamais dans *Salvia microphylla*.

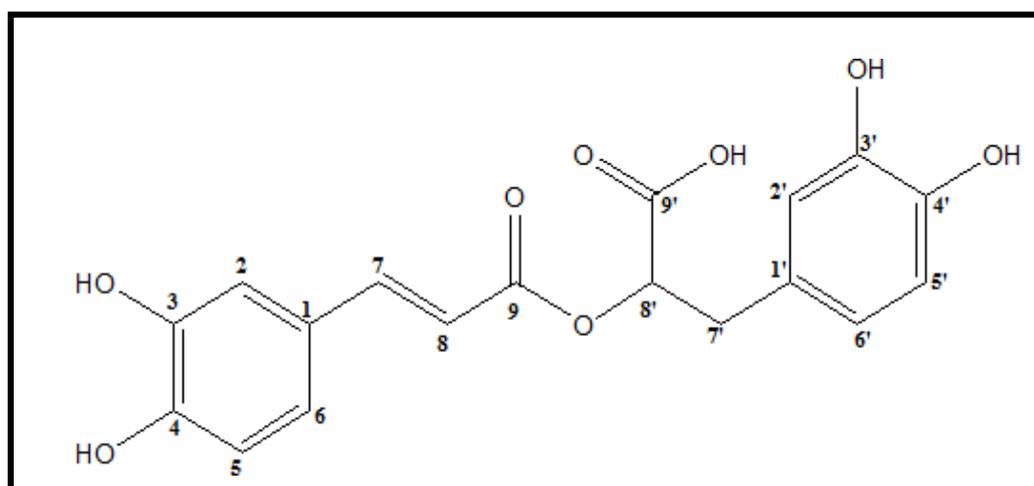


Figure 112 : Structure finale du composé SML/8/5 : acide rosmarinique.

Elucidation structurale du composé SML/8/12

Le spectre de RMN ^1H (figure 113) du composé SML/8/12 montre de grandes ressemblances avec le composé SML/8/5 décrit précédemment, la seule différence notable réside dans l'apparition d'un groupement méthoxyle sur le spectre du composé SML/8/12 à 3,72 ppm, ce dernier est porté par le carbone C-9'.

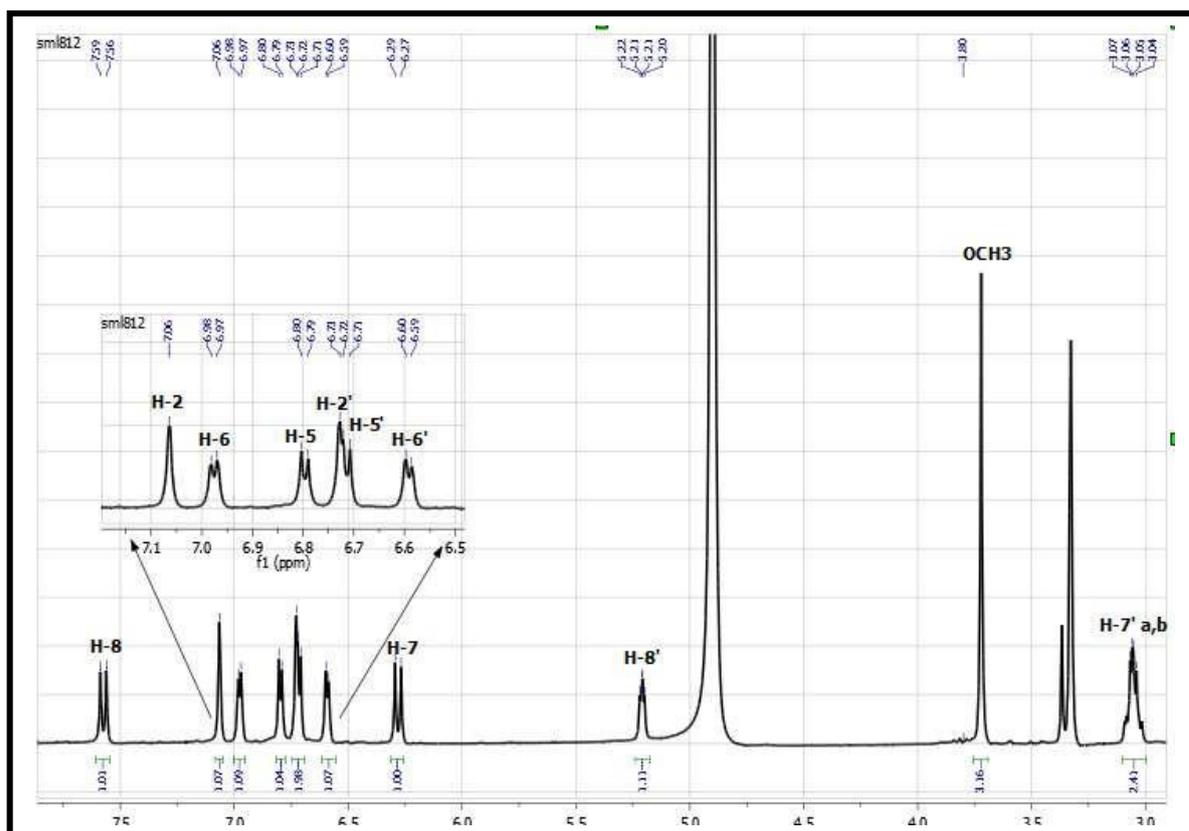


Figure 113 : Spectre RMN ^1H (MeOD, 600MHz) du composé SML/8/12.

Tableau 39 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du Composé SML/8/12 dans MeOD.

Position	$\delta\text{H m (J Hz)}$	Δc
1	-	126,58
2	7,06 sl	114,34
3	-	145,66
4	-	148
5	6,80 (d, J=8,1 Hz)	115,22
6	6,98 (d, J=6,9 Hz)	121,97
7	6,27(d, J= 15,9 Hz)	113,30
8	7,58 (d, J= 15,9 Hz)	147,61
9	-	167,45
1'	-	127,67
2'	6,73 (d, J=3,7 Hz)	116,45
3'	-	146,95
4'	-	148,31

5'	6,71 sl	116,63
6'	6,60 (d, J= 6,7 Hz)	120,95
7'	3,06 m	37,06
8'	5,21 sl	74,02
9'	-	168,79
OCH ₃	3,72 s	52,47

Ces données permettent d'attribuer sans ambiguïté au composé SML/8/12 la structure connue de : Rosmarinate de méthyle précédemment isolé de *Salvia miltiorrhiza* (Kohda et al., 1989 ; Ma et al., 2011 ; Choi et al., 2018), *Salvia nipponica* (Chan et al., 2011), *Salvia trijuga* (Yang et al, 2008) mais c'est la première fois qu'il est isolé de *Salvia microphylla*.

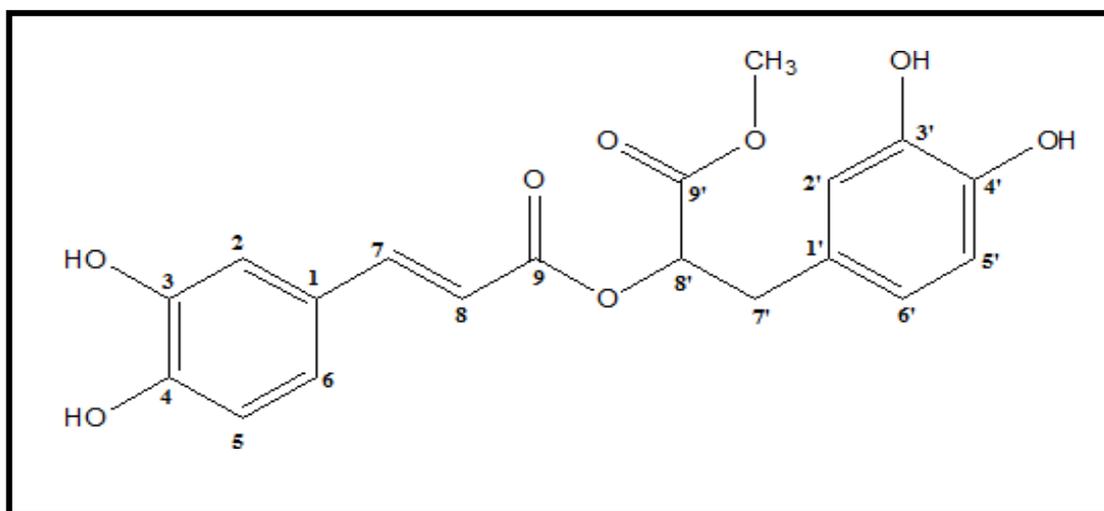


Figure 114 : Structure finale du composé SML/8/12, Rosmarinate de méthyle.

Elucidation structurale du composé IA-30

L'examen de son spectre de masse à haute résolution (Figure 115) enregistré en mode électronébulisation négatif (TOF-HRESI-MS⁽⁻⁾), montre la présence d'un ion quasimoléculaire [M-H]⁻ à $m/z=609,2058$, correspondant à la formule moléculaire C₂₈H₃₄O₁₅ présentant 12 insaturations et un autre ion à $m/z=645.1824$ correspondant à [M+Cl].

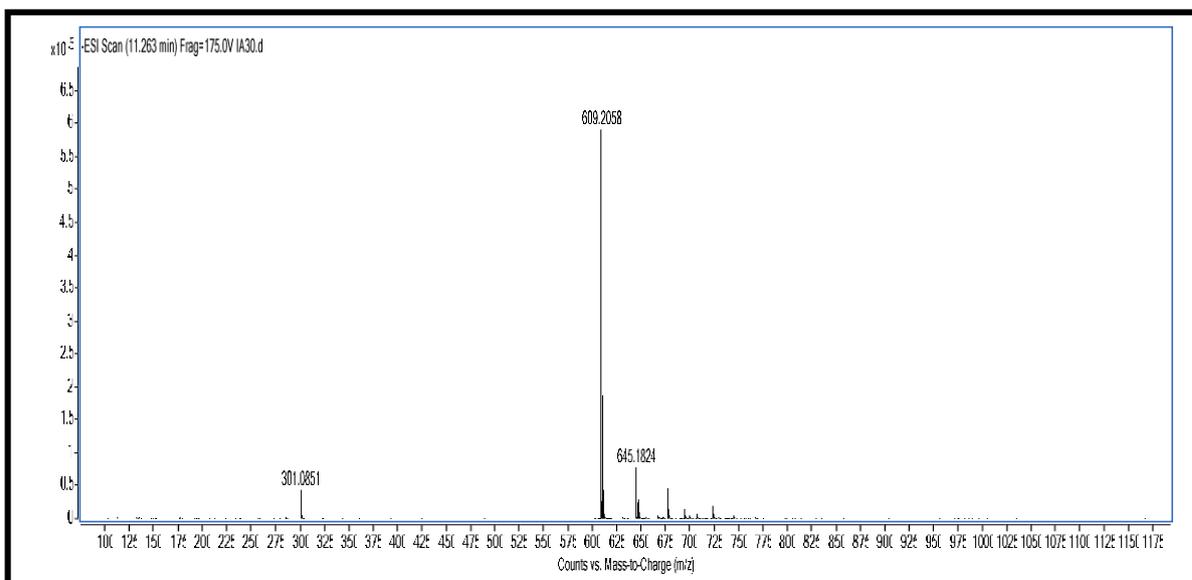


Figure 115 : Spectre de masse TOF-MS en mode négatif du composé IA-30.

L'examen du spectre RMN ^{13}C (Figure 116) et les spectres DEPT (Figure 117) nous permettent de distinguer :

- ✓ Deux groupements méthyles dont un est oxygéné, le premier à $\delta_{\text{C}} = 18,27$ ppm et le second à $\delta_{\text{C}} = 56,12$ ppm.
- ✓ Deux CH_2 dont un oxygéné à $\delta_{\text{C}} = 42,49$ et $66,47$ ppm respectivement.
- ✓ Huit carbones quaternaires.
- ✓ Seize CH dont onze sont oxygénés, parmi ces derniers on distingue deux carbones anomériques à $\delta_{\text{C}} = 99,88$ (C-1''- glucose) et à $\delta_{\text{C}} = 101,04$ (C-1'''- rhamnose).
- ✓ Trois signaux à $\delta_{\text{C}} = 78,80$ à $\delta_{\text{C}} = 42,49$ et à $\delta_{\text{C}} = 197,43$ qui sont propres aux carbones C-2, C-3 et C-4 du cycle C d'une flavanone.

Le déblindage du signal du carbone C-6'' centré à $\delta_{\text{C}} = 66,47$ suggère que le composé IA-30 est une flavanone diglycosidé avec le rhamnose en position terminale.

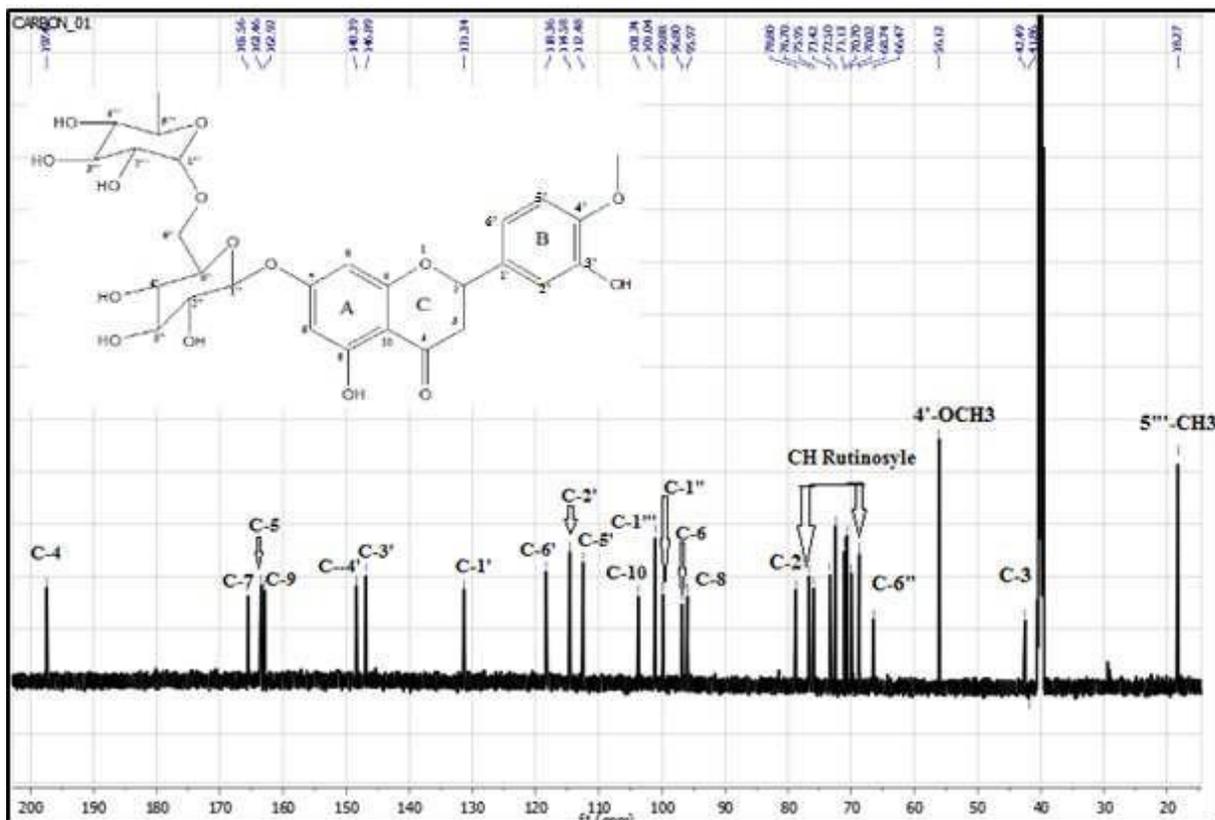


Figure 116 : Spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) du composé IA-30.

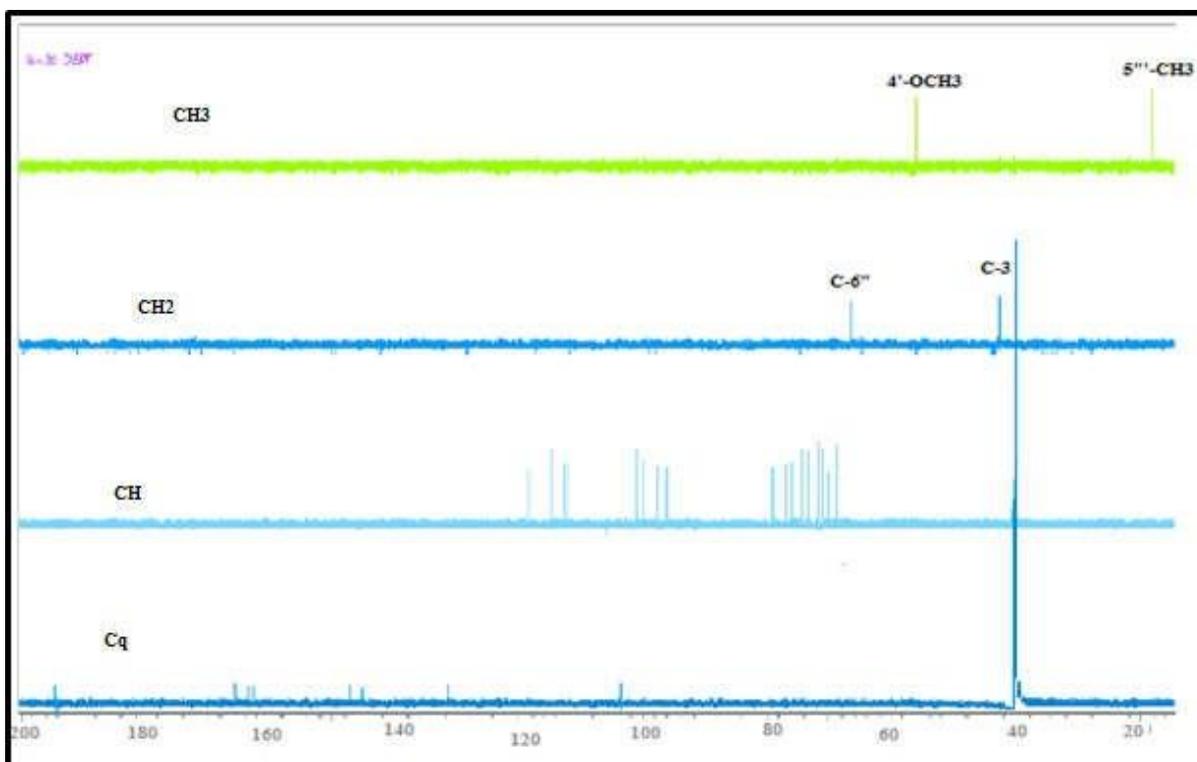


Figure 117 : Spectre DEPT (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-30.

Le spectre RMN ^1H (figure 118) enregistré dans le DMSO- d_6 montre :

- ✓ Les signaux caractéristiques d'un squelette de type flavanone avec des résonances à $\delta_{\text{H}}= 5,48$ (1H, dd, $J = 3,2, 12,1$ Hz, H-2), à $\delta_{\text{H}}= 3,25$ (1H, m, H-3ax) et à $\delta_{\text{H}}= 2,76$ (1H, dd, $J = 3,2 ; 17,1$ Hz, H-3 eq).
- ✓ La présence de trois protons aromatiques à $\delta_{\text{H}}= 6,92$ attribuables à H-2', H-6' et H-5' suggérant ainsi que le cycle B est disubstitué.
- ✓ Deux doublets (d, $J=2,2$ Hz), intégrant chacun pour un proton à $\delta_{\text{H}}= 6,10$ (H-8) et à $\delta_{\text{H}}= 6,12$ (H-6), dont les constantes de couplage indiquent qu'ils ont une position relative *mé*ta sur le cycle A, ce qui laisse penser que C-5 et C-7 sont des carbones quaternaires oxygénés.
- ✓ Deux signaux (voir les spectres HSQC (figure 119) et HMBC (Figure 120) l'un à $\delta_{\text{H}}= 12,0$ (1H, s) assignable au groupement hydroxyle porté par le carbone C-5 et l'autre à $\delta_{\text{H}}= 9,05$ (1H, s) qui peut être attribué à 4'-OH ou à 3'-OH.
- ✓ Deux doublets à $\delta_{\text{H}} 4,95$ ($J = 7,5$ Hz) et à $\delta_{\text{H}} 4,50$ ($J = 1,3$ Hz) correspondent aux protons anomériques du β -glucose et du α -rhamnose respectivement.

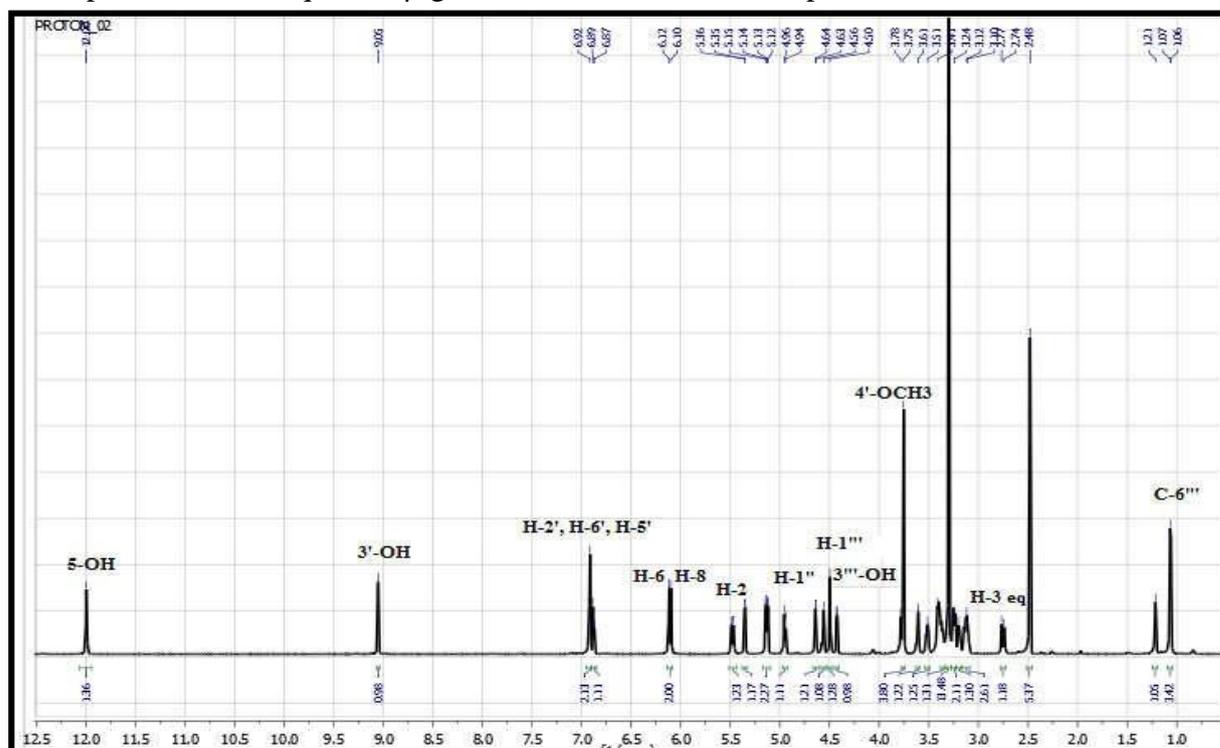


Figure 118 : Spectre RMN ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-30.

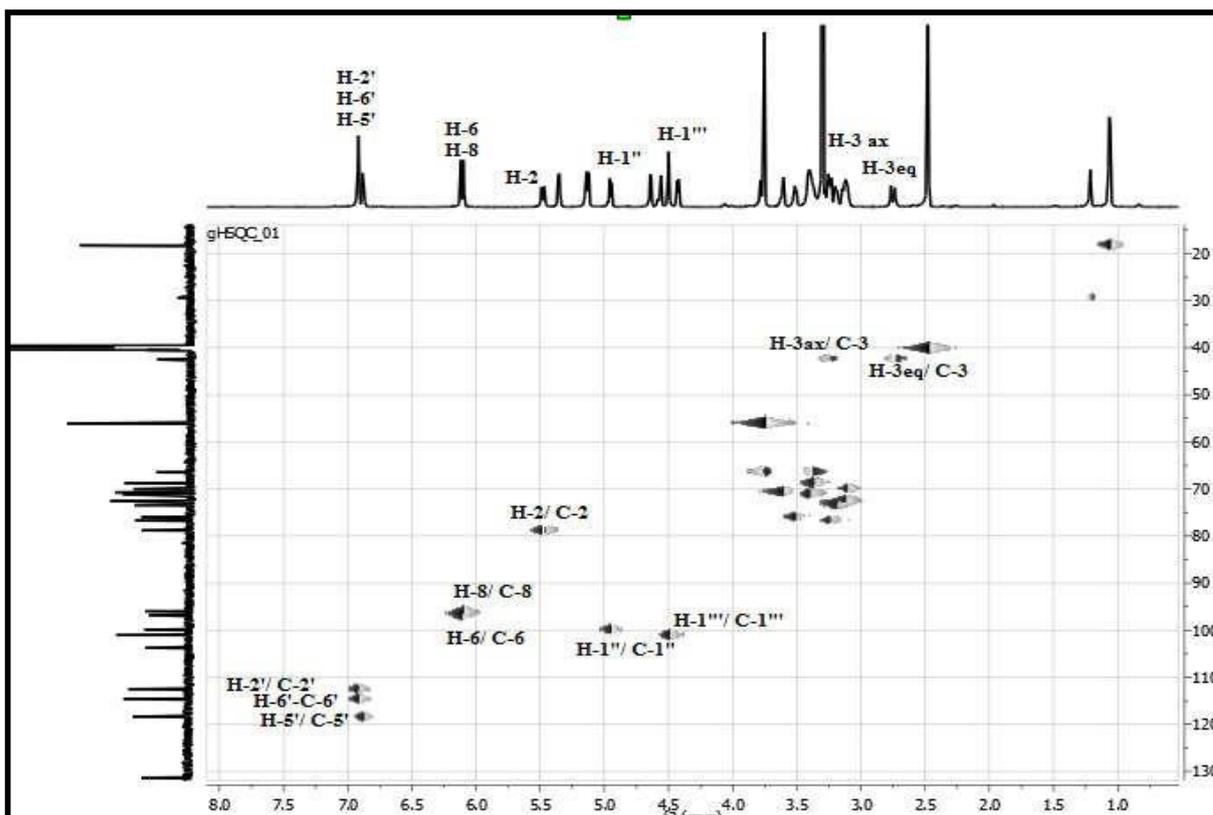


Figure-119 : Spectre HSQC (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-30.

L'analyse du spectre HMBC (figure 120) a permis la confirmation de la liaison du sucre à l'aglycone en montrant clairement le couplage du proton anomérique du glucose H-1'' avec le carbone C-7 de l'aglycone. Par ailleurs, la corrélation observée entre le proton à δ_H 4,50 ppm relatif à H-1''' et le carbone situé à $\delta_C = 66,47$ relatif à C-6'' consolide la jonction 1-6 de l'enchaînement glucose-rhamnose. La localisation du méthoxyle en C-4' a aussi pu être possible par les corrélations détectées entre 4'-OCH₃/C-4', 3'-OH/C-3' et 3'-OH/C-2'.

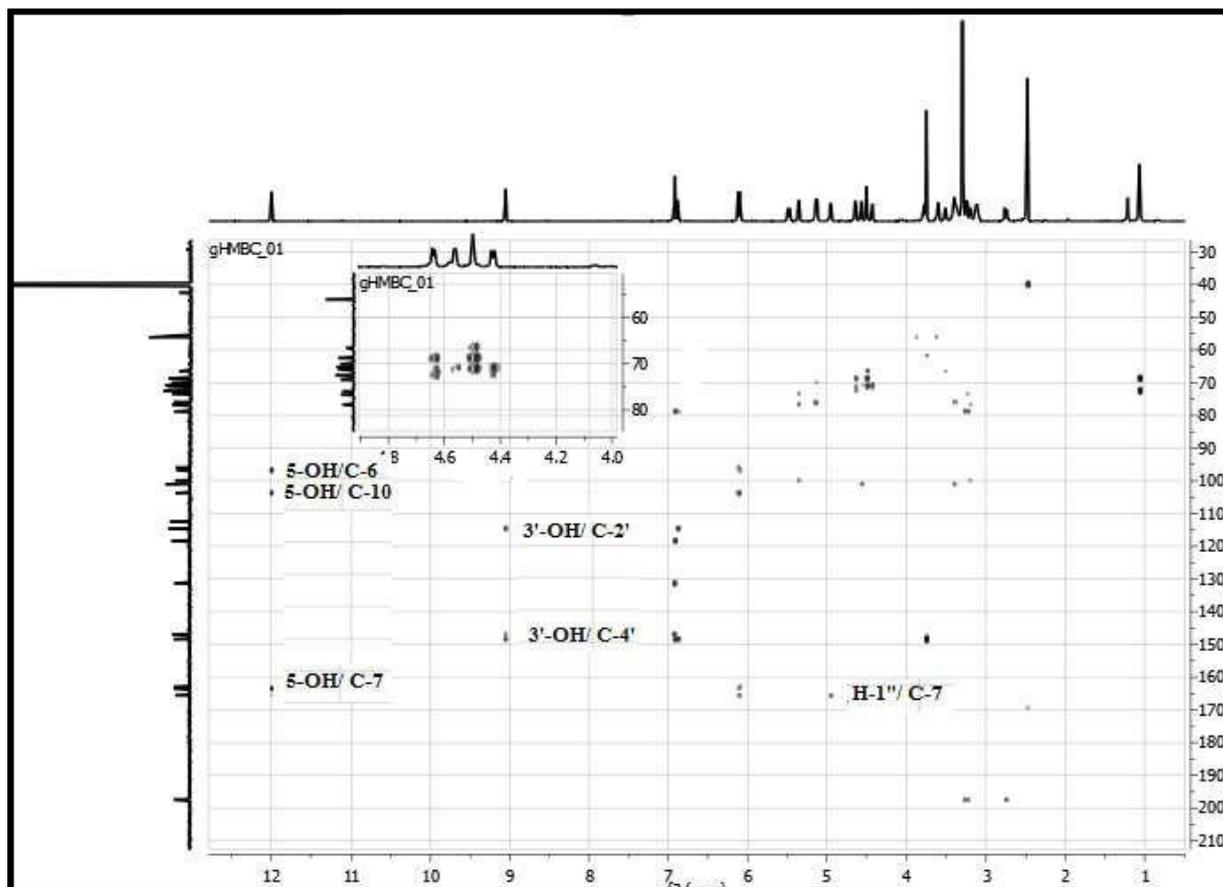


Figure 120 : Spectre HMBC (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-30.

L'ensemble des données précédentes regroupées dans le tableau 40 nous permet d'identifier le composé IA-30 comme étant la 7-O-[α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6) - β -glucopyranosyl]-3', 5, 7-trihydroxy- 4'-méthoxyflavanone) ou hespéridine (figure 121). Cette molécule est décrite pour la première fois dans le genre *Salvia*.

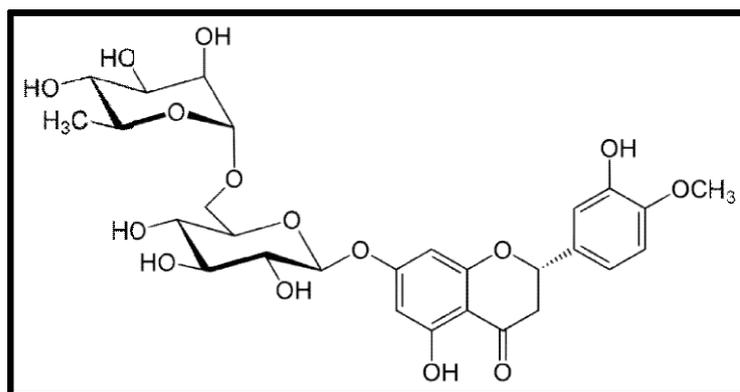


Figure 121 : Structure finale du composé IA-30, Hespéridine.

Tableau 40 : Déplacements chimiques en RMN ^1H (600 MHz) et RMN ^{13}C (150 MHz) du Composé IA-30 dans DMSO- d_6 .

Position	δ_{H} (ppm) m (J Hz)	δ_{C} (ppm)
2	5,48 (1H, dd, $J = 3,2 ; 12,1$ Hz)	78,80
3ax	3,25 (1H, m)	42,49
3eq	2,76 (1H, dd, $J = 3,2 ; 17,1$ Hz)	
4	-	197,43
5	-	165,46
6	6,12 (1H, d, $J=2,2$ Hz)	96,80
7	-	165,56
8	6,10 (1H, d, $J=2,2$ Hz)	95,97
9	-	162,92
10	-	103,74
1'	-	131,34
2'	6,92 (1H, m)	114,58
3'	-	146,89
4'	-	148,39
5'	6,92 (1H, m)	112,48
6'	6,92 (1H, m)	118,36
4'-OCH3	3,75 (3H, s)	56,12
1''	4,95 (1H, d, $J = 7,5$ Hz)	99,88
2''	3,19 (1H, m)	73,42
3''	3,24 (1H, m)	76,70
4''	3,10 (1H, m)	70,02
5''	3,51 (1H, m)	75,95
6''a	3,78 (1H, d, $J=11,6$ Hz)	66,47
6''b	3,38 (1H, m)	
1'''	4,50 (1H, d, $J= 1,3\text{Hz}$)	101,04
2'''	3,62 (1H, m)	70,70
3'''	3,40 (1H, m)	71,13
4'''	3,12 (1H, m)	72,50
5'''	3,36 (1H, m)	68,74

6'''	1,06 (3H, s)	18,27
5-OH	12 (1H, s)	-
3'-OH	9,05 (1H, s)	-
2''-OH	5,35 (1H, d, J= 4,7 Hz)	-
3''-OH	5,14 (1H, d, J= 5 Hz)	-
4''-OH	5,12 (1H, d, J= 4,7 Hz)	-
2'''-OH	4,56 (1H, d, J= 3,8 Hz)	-
3'''-OH	4,42 (1H, d, J= 5,9 Hz)	-
4'''-OH	4,63 (1H, d, J= 5,3 Hz)	-

Elucidation structurale du composé IA-39

L'examen du spectre RMN ^1H enregistré dans le DMSO- d_6 (figure 122) ainsi que le spectre RMN ^{13}C (Figure 123) et DEPT (Figure 124) permettent d'identifier le composé IA-39 comme étant : **3-O- β -glucopyranosyl β -Sitostérol**, qui est le même composé IA-29 isolé de *Pistacia atlantica* et a été déjà bien détaillé dans la première partie.

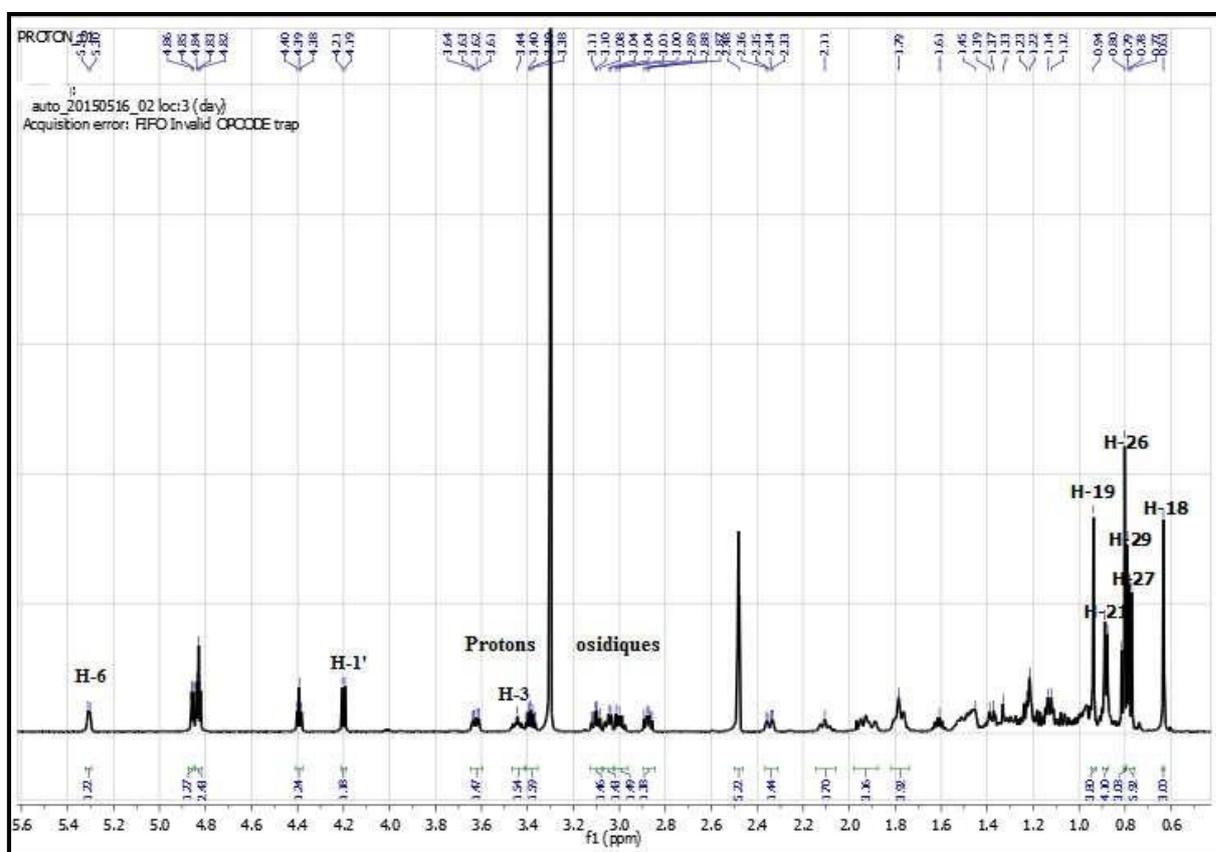


Figure 122 : Spectre de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-39.

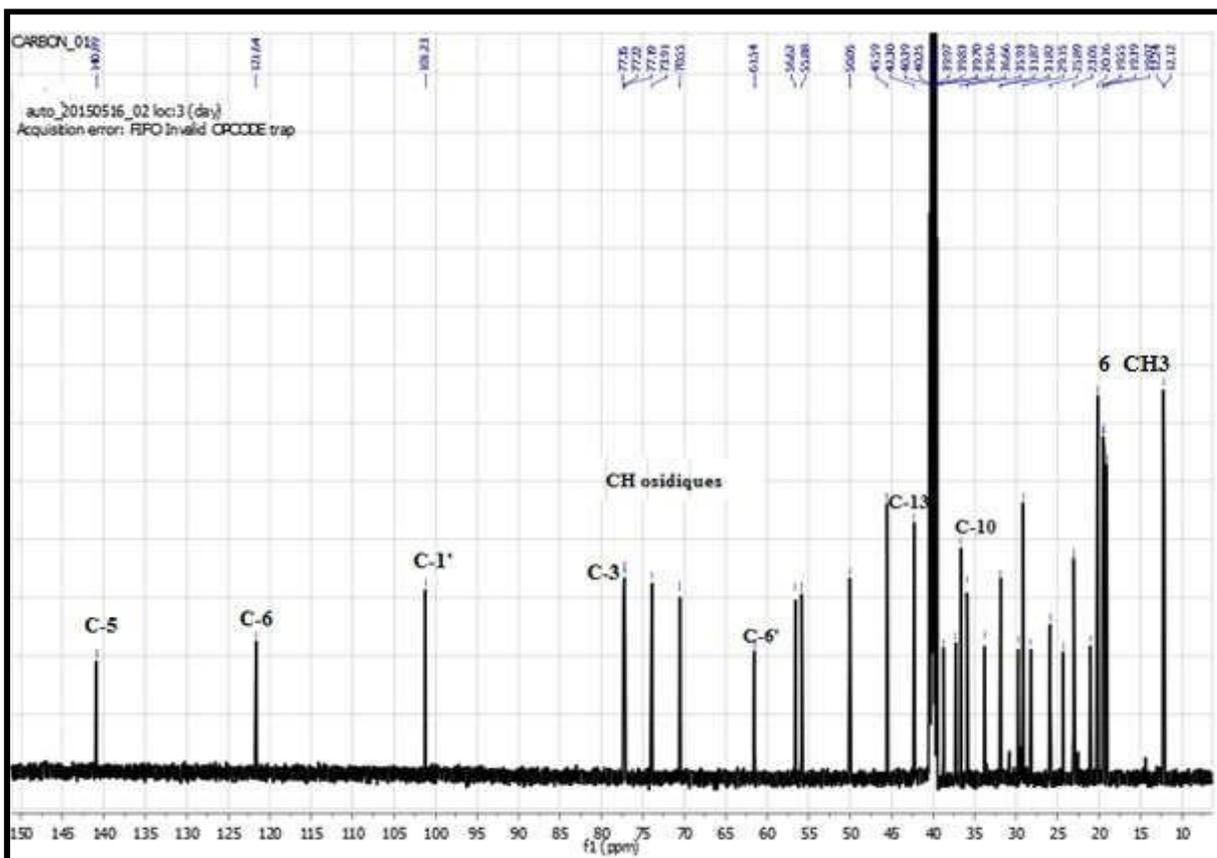


Figure 123 : Spectre RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) du composé IA-39.

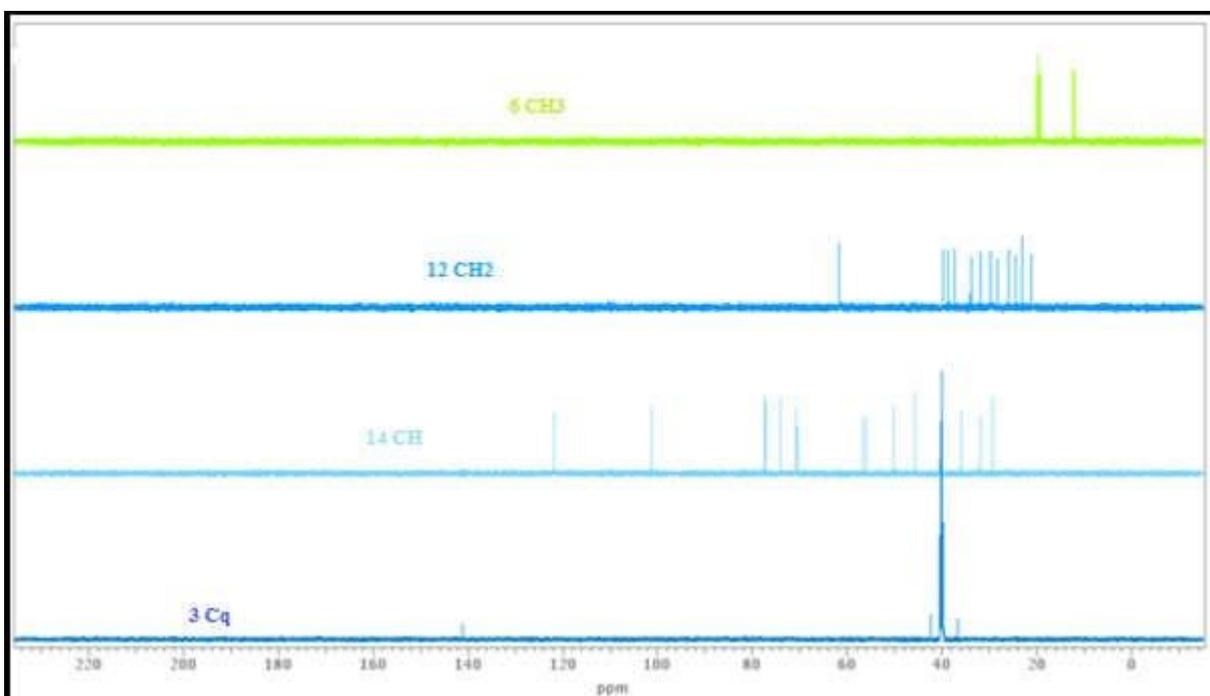


Figure 124 : Spectre DEPT (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-39.

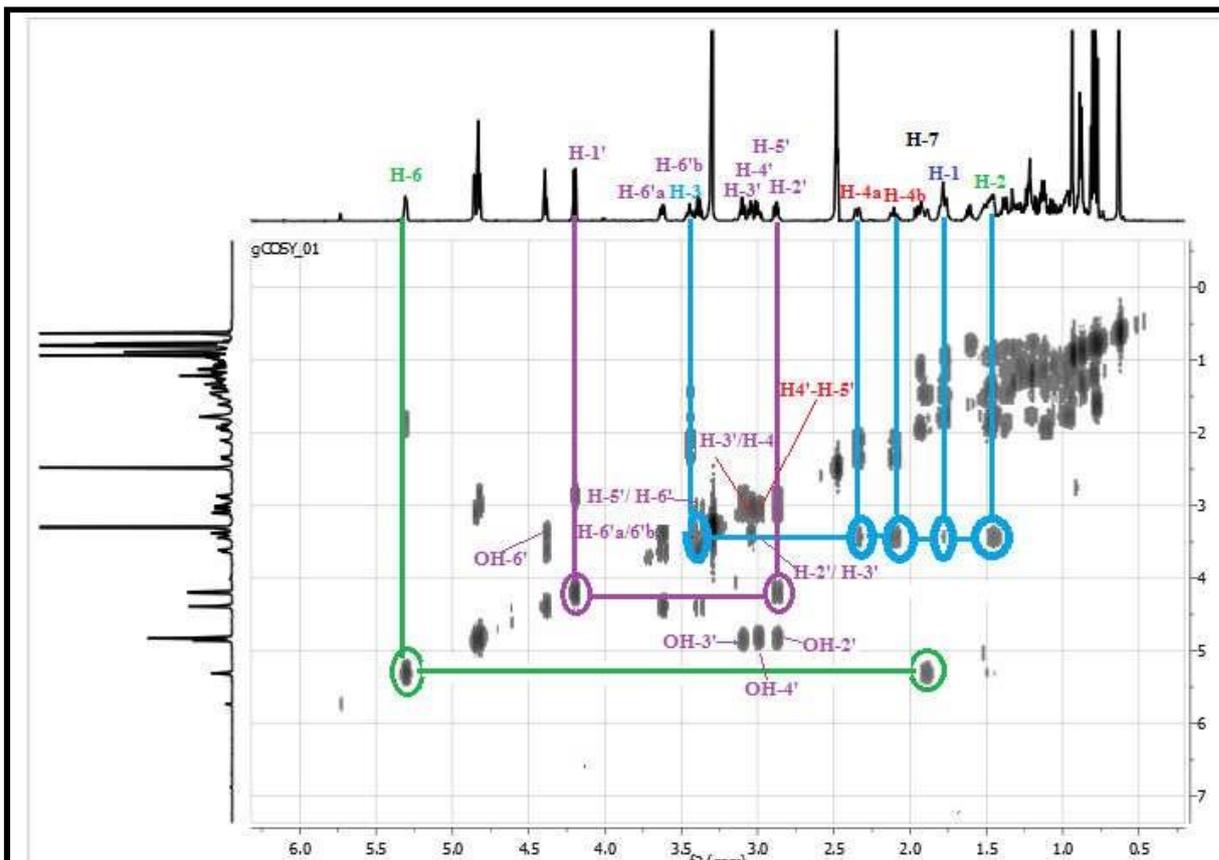


Figure 125 : Spectre COSY (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-39.

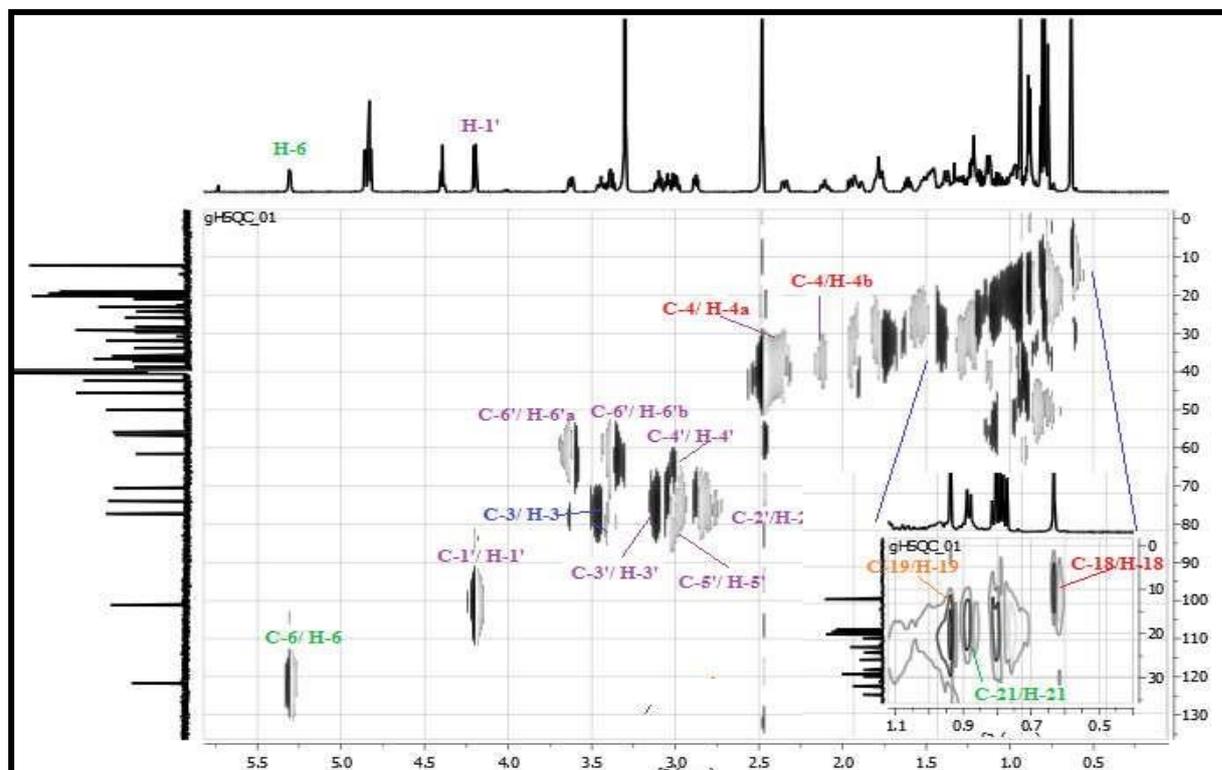


Figure 126 : Spectre HSQC (DMSO- d_6 , 600 MHz) du composé IA-39.

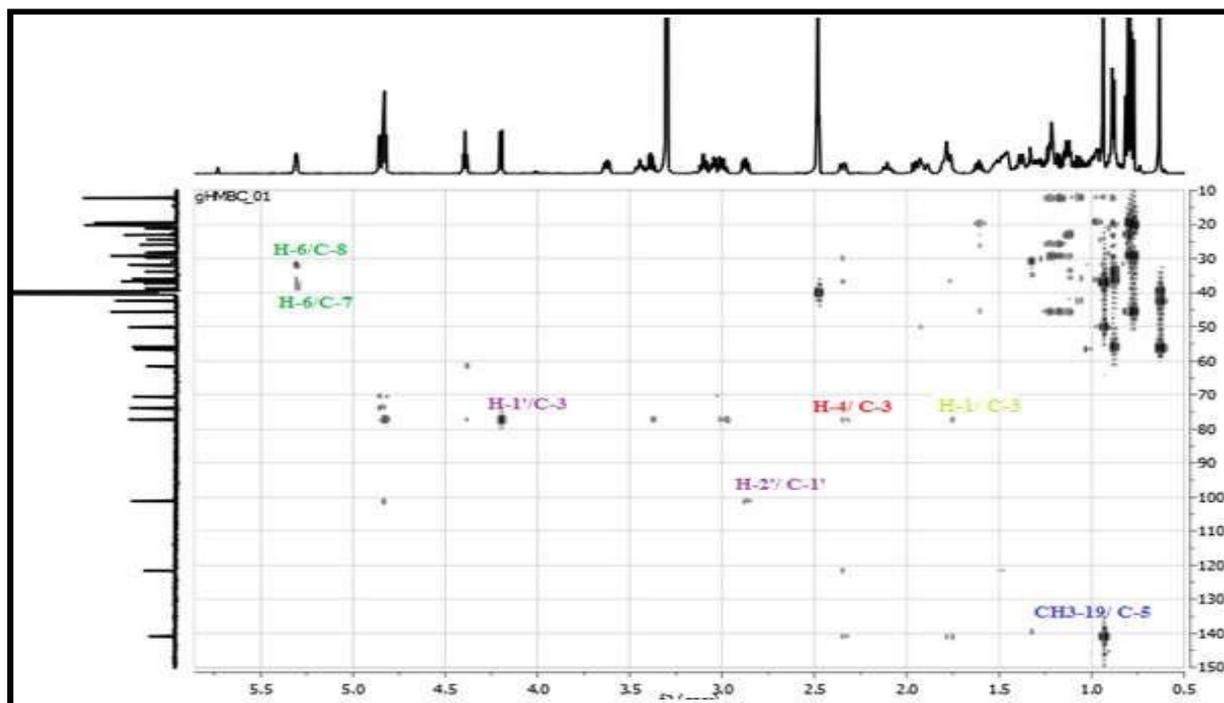


Figure 127 : Spectre de HMBC (DMSO- d₆, 600 MHz) du composé IA-39.

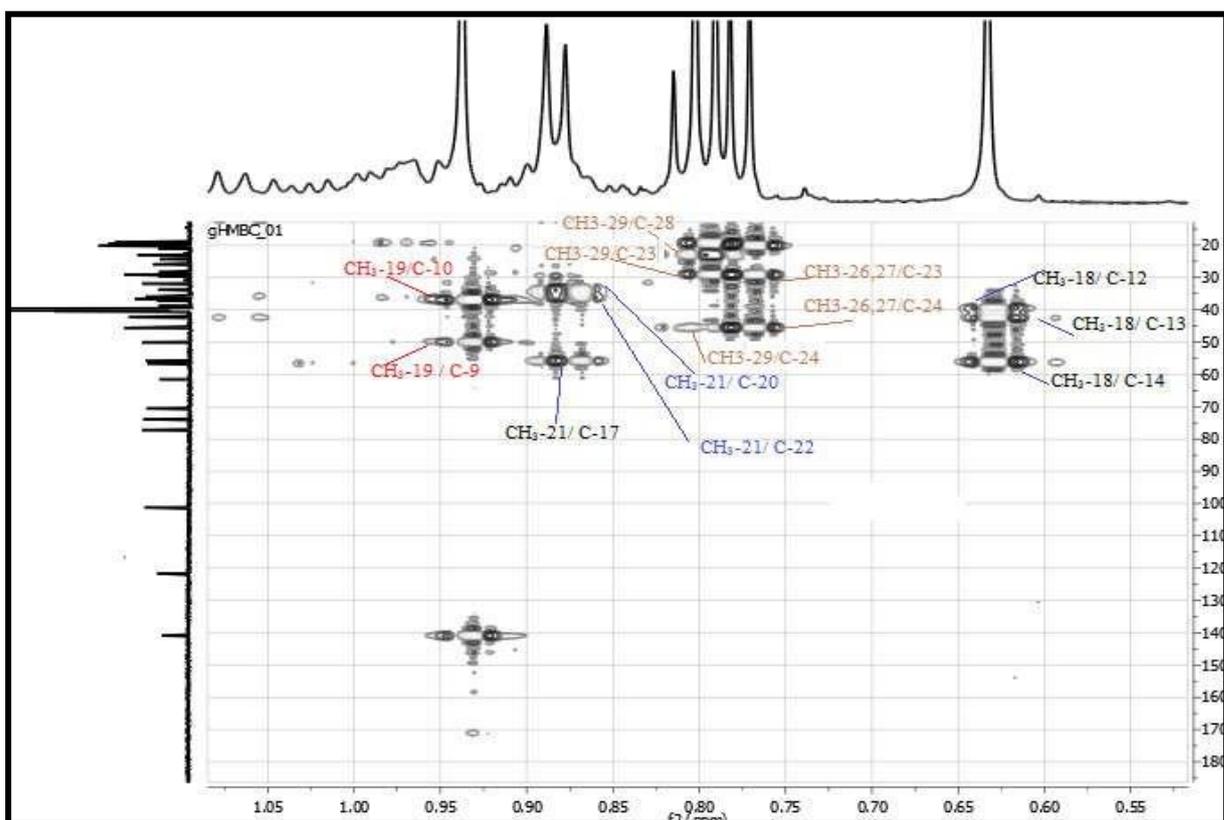


Figure 128 : Spectre de HMBC-b (DMSO- d₆, 600 MHz) du composé IA-39.

Les données des expériences RMN 1D (^1H et ^{13}C), RMN 2D (COSY, HSQC et HMBC) et la spectrométrie de masse ainsi que la comparaison avec les données de la littérature (Pistelli et al., 1998) ont permis d'identifier le composé **IA-39** comme étant le **3-O- β -glucopyranosyl β -Sitostérol**, connu sous le nom de **Daucostérol** représenté ci-dessous (figure 129). Cette molécule est isolée pour la première fois chez le genre *Salvia*.

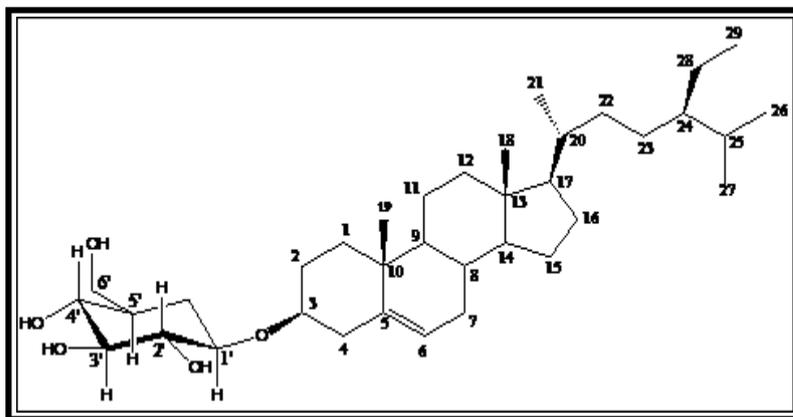


Figure 129 : Structure finale du composé **IA-39**, **Daucostérol**.

Les valeurs des déplacements chimiques des protons et des carbones du composé IA-39 sont représentées dans le tableau 41.

Tableau 41 : Données du spectre RMN ^{13}C et RMN ^1H du produit IA-39.

Position	DEPT	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	CH ₂	37,28	1,76
2	CH ₂	31,82	1,41
3	CH	77,35	-
4	CH ₂	37,28	2,35 ; 2,10
5	C	140,89	-
6	CH	121,64	5,30
7	CH ₂	28,24	1,19
8	CH	31,82	1,41
9	CH	50,05	0,87
10	C	36,66	-
11	CH ₂	21,05	1,48
12	CH ₂	38,75	1,92
13	C	42,30	-

14	CH	56,62	0,96
15	CH ₂	24,31	1,49
16	CH ₂	29,71	1,46
17	CH	55,88	1,07
18	CH ₃	12,12	0,63
19	CH ₃	20,22	0,94
20	CH	33,80	1,24
21	CH ₃	19	0,88
22	CH ₂	35,93	1,31
23	CH ₂	29,30	1,14
24	CH	45,59	0,81
25	CH	29,16	1,59
26	CH ₃	19,39	0,80
27	CH ₃	19,07	0,77
28	CH ₂	23,06	1,13
29	CH ₃	12,24	0,79
Glucose			
1'	CH	101,23	4,20
2'	CH	73,91	2,87
3'	CH	77,19	3,11
4'	CH	70,55	3,04
5'	CH	77,22	3,00
6'	CH ₂	61,54	3,63 ; 3,39
OH-2'	-	-	4,83
OH-3'	-	-	4,85
OH-4'	-	-	4,82
OH-6'	-	-	4,39

III. Identification des acides phénoliques et des flavonoïdes par HPLC-TOF/MS

Les extraits des parties des feuilles (Chloroforme, acétate d'éthyle, butanol) ainsi que les extraits des tiges (Chloroforme, acétate d'éthyle, butanol et extrait méthanolique (EXM)) de la plante *Pistacia atlantica* ont été analysés par la méthode HPLC-TOF/MS.

Selon le temps de rétention des standards d'étalonnage et de la spectrométrie de masse par rapport à ceux de différents standards, les extraits de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* présentaient un profil chimique (figure 130) composé de plusieurs composés phénoliques. Vingt-deux composés ont été identifiés, Ces composés appartiennent à deux classes chimiques importantes, les acides phénoliques et les flavonoïdes, 14 acides phénoliques et 8 flavonoïdes ont été mis en évidence (tableau 42).

Tableau 42 : Résultats Quantitative des acides phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits de la plante *P. atlantica* subsp. *atlantica* exprimés en (mg phénolique/ kg plante).

	RT (min)	Feuilles			Tiges			
		Butanol	AcOEt	CHCl ₃	Butanol	AcOEt	CHCl ₃	Methanol
Acide Gallique	2,7	3990,42	3869,07	0,58	1517,7 7	2804,8 4	21,75	51,54
Acide Gentisique	4,3	24,40	120,92	0	21,84	341,55	1,32	3,33
Catéchine	6,1	18,36	27,59	0,019	53,22	283,14	0	0
Acide Chlorogénique	6,2	0	0	0,41	15,84	Tra	0,59	2,288
Acide 4-Hydroxybenzoïque	6,5	0	0	0	0	1,390	0	7,48
Acide Caféique	7,5	0	0	0	0,648	1,437	0	0
Acide Vanillique	8,4	27,01	5,76	0	41,403	23,999	1,855	0

4-Hydroxy benzaldehyde	9,08	0	0	0	0	0	0,021	0
Rutine	9,5	1632,27	22,75	0,003	337,858	10,649	0,874	0,784
Acide <i>p</i> -Coumarique	9,9	0	8,009	0	0	1,514	0	0
Acide Cichorique	9,2	381,88	1598,92	0,062	22,720	315,325	0,268	0
Hespéridine	11,3	0	0	0	1,578	0	0	0
Apigénin-7-glucoside	11,9	0	0	0,135	0	0	0,194	0,748
Acide Rosmarinique	12,03	0	1,35	18,51	53,826	0,501	0	0
Protocatechuica cidethyl ester	13,1		0	0	0	0	0,695	0
Acide Protocatechuique	6,9	29,49	42,58	0,194	7,292	44,117	0,419	1,187
Acide Salicylique	13,3	0	0,48	2,151	0	11,884	4,40	0,175
Acide Cinnamique	16,4			1,431	24,458		3,084	4,171
Quercétine	14,8	0	66,72	0	0	36,098	0	0
Naringénine	16,7	0	0	0	0	0,290	0	0
Kaempferol	17,1	0	2,94	0	0	0,336	0	0
Acide Férulique	10,7	0,70		0,0485	0	3,134	0,687	0,035

Total	6104,56	5767,15	23,551	2098,48	3880,23	36,193	71,757
				0	7		

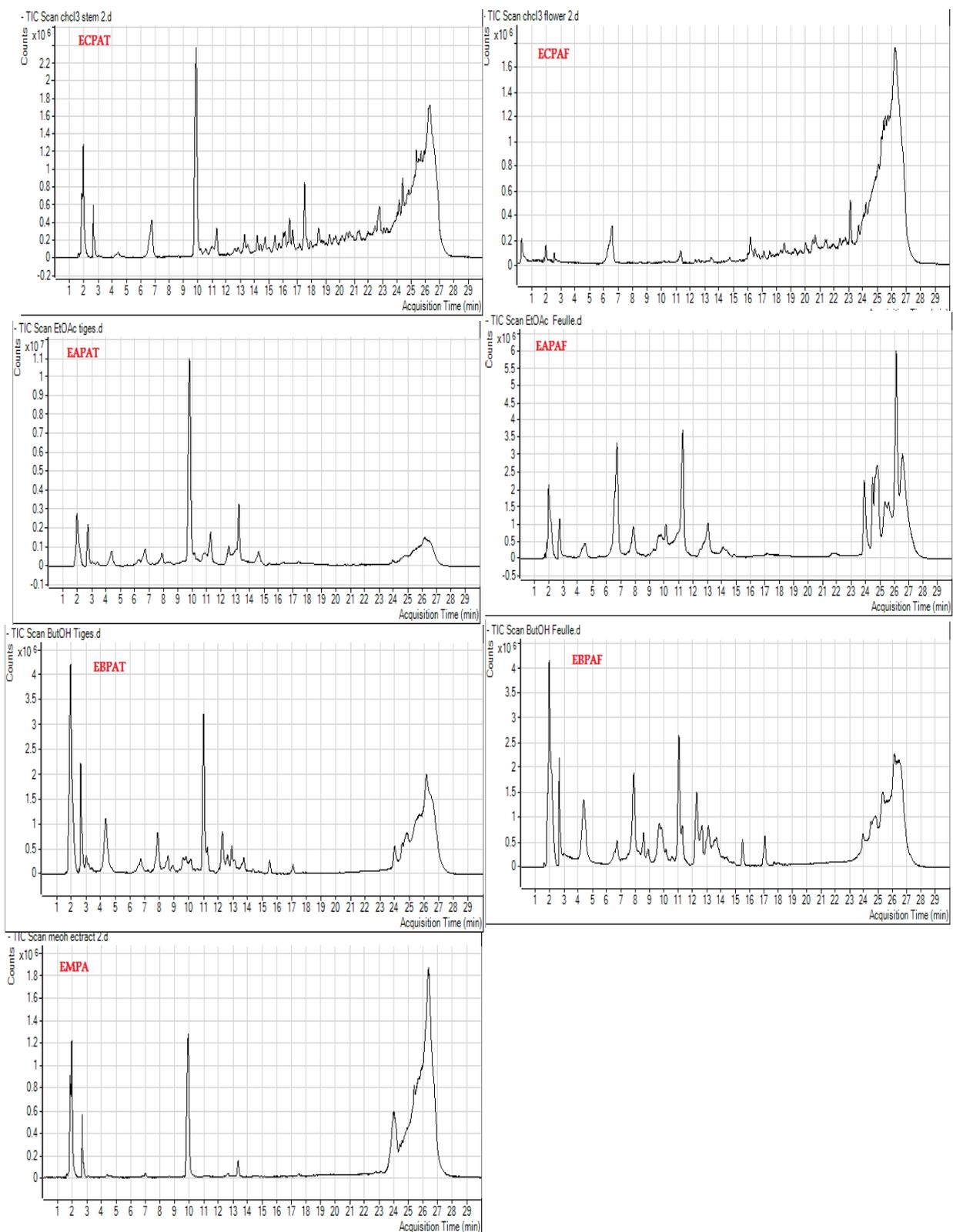


Figure 130: Profil HPLC des différents extraits de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.

Comme le montre les histogrammes suivants (Figure 131),

- Les constituants dominants dans *P. atlantica* sont l'acide gallique, la rutine, l'acide cichorique, la catéchine, la quercétine, l'acide gentisique, l'acide vanillique, l'acide protocatechuique et l'acide rosmarinique.
- Les principaux constituants des extraits n-butanol ont été obtenus comme acide cichorique, acide protocatéhuique, acide vanillique, acide gentisique et catéchine, l'acide gallique ayant la plus forte concentration (3990,42 et 1517,77 mg/kg) suivi de la rutine (1632,27 et 337,85 mg/kg). Tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle a contenu la plus forte concentration de quercétine et de catéchine.

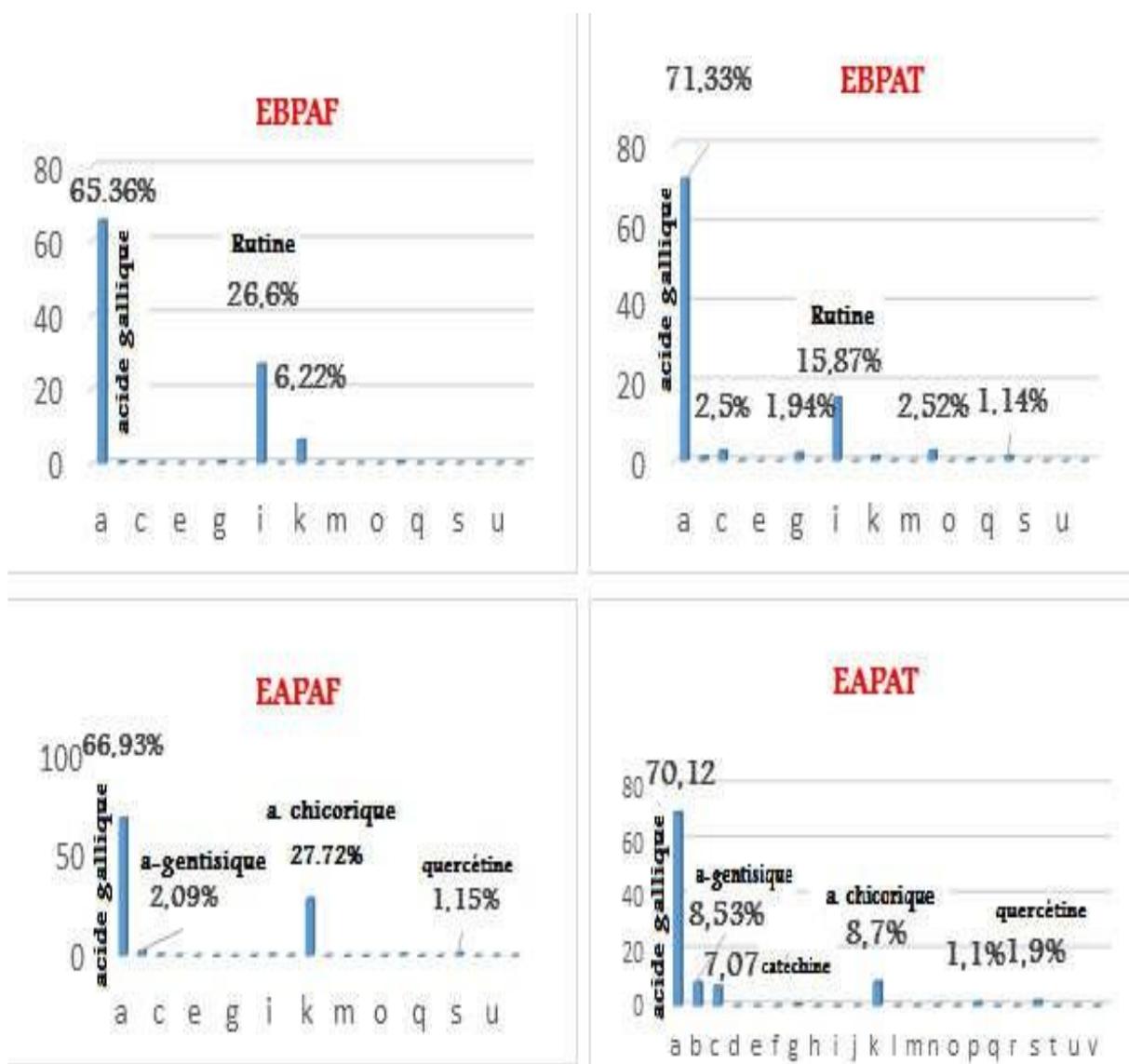


Figure 131 : Histogrammes du Profil HPLC des différents extraits de *Pistacia atlantica*

IV. Evaluation des activités biologiques de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

Le but de cette étude consiste à renforcer la connaissance biologique de cette espèce tel que : l'activité antioxydante (Hatamnia et al., 2014; Rezaie et al., 2015), antidiabétique (Kasabri et al., 2011), anti-inflammatoire et cytotoxique (Sifi et al., 2015, Minaiyan et al., 2015). Pour cela notre étude englobe une évaluation de l'activité antioxydante par suivi de l'activité anticholinésterase et enfin l'activité antiproliférative.

IV.1 Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'extraits de *P. atlantica* subsp. *atlantica* a été déterminée à l'aide de quatre tests complémentaires : piégeage des radicaux libres de DPPH, ABTS⁺, CUPRAC et pouvoir réducteur.

Activité anti-radicalaire DPPH

Les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50%.

Les pourcentages d'inhibition révèlent que tous les extraits étudiés des feuilles et des tiges de la plantes ont des propriétés antioxydantes intéressantes (Tableau 43).

Tableau 43 : Inhibition du radical DPPH par les extraits de *P. atlantica* subsp. *atlantica*.

Extrait	Inhibition (%)							
	0.195 µg	0.39 µg	0.781 µg	1.562 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5µg	IC ₅₀ µg/ml
EAPA	11,83±1,	22,23±2,	46,91±9,	71,22±5,5	84,40±0,	85,65±0,	84,99±0,	0.99±0.
F	34	10	12	1	76	55	25	12
EBPA	1,35±1,1	6,85±7,0	12,19±2,	37,82±0,3	58,48±5,	84,47±1,	86,01±0,	2.59±0.
F	6	4	62	8	53	40	55	21
EAPA	5,24±3,1	10,73±3,	40,46±25	30,36±24,	78,98±5,	85,28±0,	85,57±0,	1,81±1.
T	7	63	,8	04	24	44	91	39

EBPA	2,45±0,9	5,60±2,9	16,29±3,	23,03±0,7	47,56±2,	82,57±2,	85,21±1,	3,56±0.
T	6	8	54	7	08	09	21	04
EMP	26,23±0.	32,62±0.	34,33±0.	37,57±2.0	52,78±1.	66,79±0.	88,18±2.	2,87±0.
A	51	08	65	4	17	31	04	16
BHA	31.01±1.	36,77±0.	45,32±0.	17,20±0.5	58,12±0.	70,77±0.	79,99±1.	2,98±0.
	73	71	53	6	17	26	14	04
BHT	27,98±0.	26,53±0,	29,44±1,	30,78±1.1	35,67±0,	39,71±0.	58,86±0.	9,41±0.
	13	00	40	9	81	96	86	08

D'après le tableau 43,

- En règle générale, tous les extraits présentaient une activité antioxydante supérieure à celle des deux standards BHT, BHA ($IC_{50} = 9,41 \pm 0,089 \mu\text{g/ml}$; $IC_{50} = 2,98 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$).
- Tous les extraits ont augmenté leurs activités antioxydantes lorsque leur concentration a augmenté.
- La meilleure activité s'est avérée être dans l'extrait EAPAF indiquant $0,99 \pm 0,12 \mu\text{g / ml}$, valeur de la IC_{50} , suivi de l'extrait EAPAT ($IC_{50} = 1,81 \pm 1,39 \mu\text{g / ml}$). Cette bonne activité antioxydante des extraits AcOEt peut être expliquée par la nature des composés phénoliques qui sont des acides phénoliques tel que l'acide gallique et ses dérivés ; les flavonoïdes comme la rutine et la quercétine.

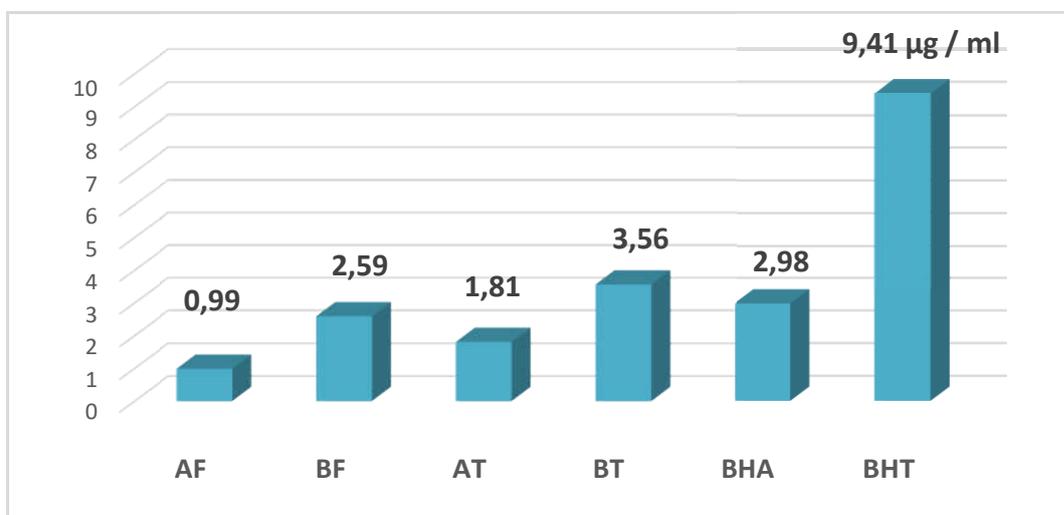


Figure 132 : Piégeage du radical DPPH

Essai de décoloration du radical cation ABTS^{•+}

Tous les extraits ont montré une activité d'inhibition du radical ABTS^{•+} presque égale aux deux normes BHT, BHA ($IC_{50} = 2,35 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$; $IC_{50} = 1,52 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$). La meilleure activité d'inhibition du radical ABTS^{•+} a été trouvée dans l'extrait EAPAF avec un $IC_{50} = 1,54 \pm 0,15 \mu\text{g/ml}$, suivi de l'extrait EAPAT ($IC_{50} = 1,91 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$), tandis que l'activité la plus faible a été enregistrée dans l'extrait EBPAT ($IC_{50} = 4,70 \pm 0,47 \mu\text{g/ml}$).

Tableau 44 : Pouvoir d'inhibition de l'ABTS^{•+} par les extraits étudiés.

Extrait	Inhibition (%)							IC_{50} $\mu\text{g/ml}$
	0.195 μg	0.39 μg	0.781 μg	1.562 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	
EAPAF	10,5±2,0 2	19,7±3,5 8	29,49±6, 53	53,54±1, 9	86,25±1, 81	94,87±0, 18	94,71±0, 2	1,54±0, 15
EBPAF	13,55±3, 82	12,38±4, 31	16,96±7, 81	36,74±1, 3	58,75±0, 82	90,40±1, 41	95,03±0, 18	2,54±0, 05
EAPAT	11,99±4, 33	18,10±4, 23	28,20±1, 42	43,52±4, 34	73,48±1, 90	94,95±0, 12	94,99±0, 07	1,91±0, 11
EBPAT	8,15±4,4 3	13,59±2, 32	17,31±1, 79	26,32±1, 29	36±6,27 27	65,77±1, 46	94,44±0, 78	4,7±0,4 7
EMPA	8,01±1,0 9	12,86±1, 21	21,18±0, 67	32,67±1, 88	55,47±1, 05	80,12±0, 28	87,52±1, 53	2,76±0, 17
BHT	7,87±2,0 7	11,78±1, 27	22,21±1, 11	37,22±1, 56	63,15±0, 9	87,00±1, 5	85,48±1, 18	2,35±0, 03
BHA	9,46±1,6 8	14,95±1, 79	34,47±1, 46	50,21±0, 18	85,72±1, 81	88,47±0, 32	86,31±0, 48	1,52±0, 02

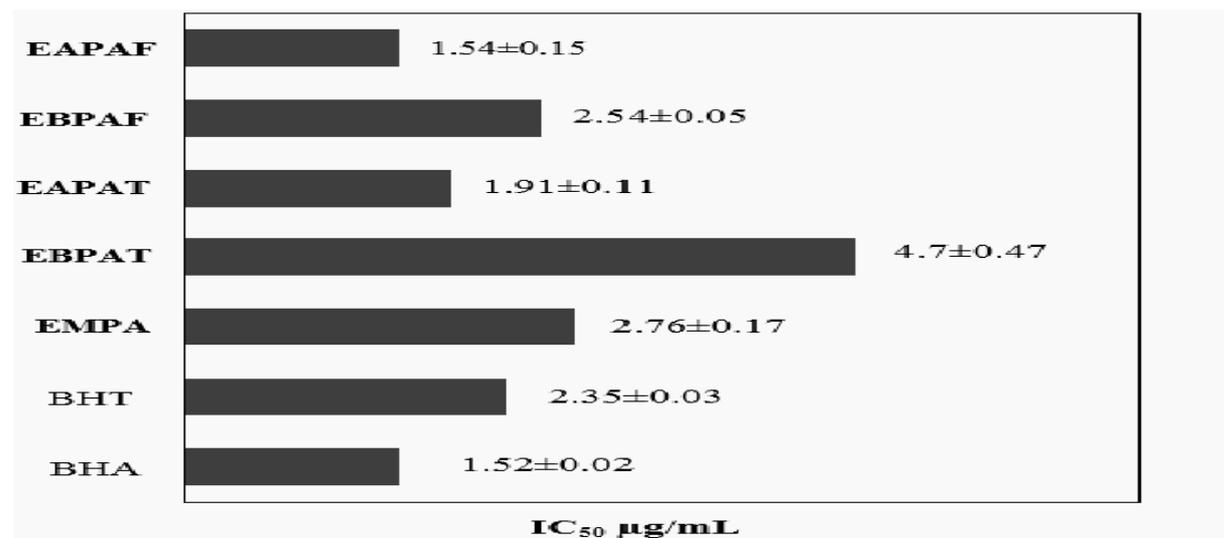


Figure 133 : Pouvoir d'inhibition du radical ABTS

La réduction cuprique (CUPRAC)

En comparant les résultats de la réduction cuprique de nos extraits avec celle des standards, on constate que les extraits de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* ont montré une activité modérée par rapport aux normes utilisées BHT, BHA ($A_{0.50}=0,82 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$, $A_{0.50}= 0,93 \pm '0,02 \mu\text{g/ml}$).

L'extrait EAPAT a montré l'activité la plus élevée ($A_{0.50}= 3,49 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$) parmi les extraits, suivi de l'extrait EAPAF ($A_{0.50}= 4,98 \pm 0,34 \mu\text{g/ml}$), EBPAF ($A_{0.50}= 5,08 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$) et EBPAT ($A_{0.50}= 6,91 \pm 0,27 \mu\text{g/ml}$).

Tableau 45 : Réduction du CUPRAC par les extraits étudiés.

Extrait	Absorbance							
	0.195 µg	0.39 µg	0.781 µg	1.562 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	A _{0.50} µg/ml
EAPAF	0,11±0,01	0,12±0	0,16±0,01	0,23±0,03	0,35±0	0,61±0,05	1,11±0,05	4,98±0,34
EBPAF	0,10±0,01	0,10±0	0,14±0,01	0,21±0	0,35±0,02	0,60±0,02	1,02±0,08	5,08±0,14
EAPAT	0,11±0	0,13±0	0,18±0,	0,28±0,	0,46±0,	0,82±0,	1,45±0,	3,49±0,11

T			01	01	01	02	02	1
EBPA	0,11±0,	0,11±0,	0,14±0,	0,17±0,	0,28±0	0,47±0,	0,86±0,	6,91±0,2
T	02	01	01	01		01	03	7
BHT	0,20±0,	0,29±0,	0,49±0,	0,86±0,	1,35±0,	2,31±0,	3,61±0,	0,82±0,1
	00	03	02	02	05	08	08	03
BHA	0,19±0,	0,29±0,	0,44±0,	0,76±0,	1,29±0,	2,26±0,	3,41±0,	0,93±0,0
	00	02	01	03	1	05	23	2

Le pouvoir réducteur

Les résultats des IC₅₀ (tableau 46) de *P. atlantica* subsp. *atlantica* montrent que tous les extraits étudiés ont présenté une forte activité inhibitrice qui est meilleure que des trois standards utilisées.

Les extraits EAPAF et EAPAT ont montré une meilleure activité ($A_{0,50}=0,85 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$), ($A_{0,50}= 1,12 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$), respectivement, suivi de l'extrait EBPAF ($A_{0,50}=1,68 \pm 0,85 \mu\text{g/ml}$), EMPA ($A_{0,50}= 1,90 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$), EBPAT ($A_{0,50}=2,14 \pm 0,64 \mu\text{g/ml}$). Ces résultats sont très significatifs en comparant avec IC₅₀ des standards utilisés BHA, acide ascorbique ($8,41 \pm 0,67 \mu\text{g/ml}$; $9,01 \pm 1,46 \mu\text{g/ml}$) respectivement.

Tableau 46 : Pouvoir réducteur des extraits étudiés.

Extraits	Inhibition (%)							
	0,78125 µg	1,5625 µg	3,125 µg	6,25 µg	12,5 µg	25 µg	50 µg	A _{0,50} µg/ml
EAPAF	0,08±0,01	0,14±0	0,56±0,11	0,94±0,1	0,76±0,5	2,25±0,3	1,95±0,2	0,85±0,1
				4	6	4	5	2
EBPAF	0,06±0	0,07±0,01	0,33±0,1	0,68±0,0	1,14±0,2	1,82±0,4	2,14±1,3	1,68±0,8
				6	8	3	4	5
EAPAT	0,06±0,01	0,08±0,01	0,28±0,11	0,76±0,0	1,44±0,3	0,81±0,1	1,39±0,3	1,12±0,1
				3	4	5	1	3

EBPA	0,06±0	0,06±0	0,1±0,01	0,41±0,2	0,87±0,3	1,12±0,4	1,49±0,4	2,14±0,6
T				1	9	6	9	4
EMPA	0,14±0,0	0,18±0,0	0,26±0,0	0,44±0,0	0,76±0,0	1,30±0,0	1,93±0,1	1,90±0,0
	2	3	3	1	3	2	5	3
BHT	0,07±0,0	0,08±0,0	0,10±0,0	0,13±0,0	0,22±0,0	0,28±0,0	0,43±0,0	>50
	0	0	1	2	4	5	2	
BHA	0,09±0,0	0,11±0,0	0,18±0,0	0,36±0,0	0,78±0,0	1,74±0,0	3,53±0,1	8,41±0,6
	0	1	2	4	7	7	9	7
Asc	0,09±0,0	0,11±0,0	0,16±0,0	0,33±0,0	0,76±0,1	2,02±0,2	3,87±0,2	9,01±1,4
Acid	0	0	1	4	6	3	7	6

Les résultats obtenus à partir des 4 techniques précédentes ont montré le potentiel antioxydant élevé de notre espèce, et cela est dû aux contributeurs majeurs présents dans notre espèce qui sont: l'acide gallique, l'acide gentsique, la rutine et en particulier la catéchine et la quercétine. Les composés que nous avons identifiés dans nos extraits et en particuliers ces produits majoritaires sont bien connus pour leurs activités antioxydante et antidiabétique (Badhani et al., 2015 ; Ashidate et al., 2005 ; Yang et al., 2008 ; Iacopini et al., 2008).

Ces résultats constituent une validation scientifique de l'utilisation ethnopharmacologique antidiabétique observée pour cette espèce.

Du fait que le stress oxydant est étroitement lié au diabète, aux maladies cardiovasculaires et neurodégénératives et étant donné le potentiel antioxydant remarquable observé pour notre espèce, nous avons étendu les tests biologiques sur cette espèce à l'activité anticholinestérase contre la maladie d'Alzheimer.

Activité anticholinestérase**Acétylcholinestérase**

Contre l'AChE, l'extrait EAPAT ($IC_{50} = 15,14 \pm 0,74 \mu\text{g/ml}$) s'est avéré être le plus puissant, tandis que l'extrait EAPAF ($IC_{50} = 61,91 \pm 1,61 \mu\text{g/ml}$) et l'extrait EBPAT ($IC_{50} = 88,96 \pm 0,15 \mu\text{g/ml}$) présentaient une activité inhibitrice modérée.

L'EMPA ($IC_{50} = 186,75 \pm 5,92 \mu\text{g/ml}$) et l'EBPAF ($IC_{50} > 200 \mu\text{g/ml}$) ont montré une faible activité contre l'AChE par rapport au standard galantamine ($IC_{50} = 6,27 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$).

Tableau 47 : Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.

Extra its	Inhibition (%)							
	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	IC_{50} $\mu\text{g/ml}$
EAP AF	0,43 \pm 1,6 2	6,10 \pm 5,3	34,68 \pm 1, 55	38,68 \pm 0, 13	46,57 \pm 0, 85	61,51 \pm 0, 46	86,53 \pm 1, 29	61,91\pm1, 61
EBPA F	NA	NA	NA	NA	NA	12,37 \pm 1, 61	38,71 \pm 2, 38	>200
EAP AT	13,96 \pm 0, 52	37,28 \pm 0, 91	46,17 \pm 0, 45	63,55 \pm 0, 45	77,23 \pm 0, 52	87,05 \pm 0, 45	SAT	15,14\pm0, 74
EBPA T	NA	NA	3,68 \pm 1,8 7	2,17 \pm 0,4 1	23,70 \pm 0, 41	57,40 \pm 0, 18	82,40 \pm 0, 90	88,96 \pm 0, 15
EMP A	NA	NA	6,66 \pm 0,8 9	7,55 \pm 1,4 6	10,64 \pm 0, 31	25,47 \pm 1, 08	53,87 \pm 1, 52	186,75 \pm 5 ,92

Butyrylcholinestérase

Par rapport à la BChE, cependant, l'extrait EAPAT ($IC_{50} = 24,01 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$) et l'extrait EAPAF ($IC_{50} = 33,52 \pm 0,94 \mu\text{g/ml}$) présentaient la plus forte activité inhibitrice contre la BChE, encore plus élevé que la galantamine (valeur $IC_{50} = 34,75 \pm 1,99 \mu\text{g/ml}$). L'extrait EBPAT ($IC_{50} = 178,84 \pm 0,25 \mu\text{g/ml}$) et l'extrait EBPAF ($IC_{50} = 181,15 \pm 3,04 \mu\text{g/ml}$) ont montré l'activité inhibitrice faible.

Tableau 48 : Inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.

Extraits	Inhibition (%)							
	3,125 µg	6,25 µg	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/ml
EAPAF	10,31±0,52	17,83±3,71	7,43±0,56	36,80±2,23	71,42±0,79	74,96±1,18	77,19±0,52	33,52±0,94
EBPAF	NA	NA	4,94±0,13	12,38±2,20	33,23±0,76	27,10±1,31	56,43±1,22	181,15±3,04
EAPAT	NA	9,32±1,85	23,57±8,04	52,18±1,29	44,99±1,2	88,42±1,29	85,40±1,85	24,01±0,21
EBPAT	NA	NA	NA	NA	NA	NA	66,83±0,13	178,84±0,25
EMPA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	27,50±9,43	200
Galantamine^b	3,26±0,62	6,93±0,62	24,03±2,94	45,13±2,60	63,87±2,85	73,57±0,77	78,95±0,58	34,75±1,99

Au vu des résultats obtenus, les extraits des feuilles et des tiges de *P. atlantica* pourrait inhiber les enzymes clés impliquées dans les maladies neurodégénératives. Les extraits EtOAc des feuilles et des tiges et l'extrait des tiges n-BuOH pourraient être des candidats prometteurs en tant qu'agents médicinaux naturels contre la maladie d'Alzheimer.

Nos résultats sont en accord avec celle d'autres chercheurs (Peksel et al., 2010; Mukherjee et al., 2007) qui ont indiqué que l'acide gallique et la quercétine qui sont les composés majoritaires dans les extraits de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* sont responsables de l'activité anticholinestérase, ce qui explique le fort effet inhibiteur qui a été obtenu dans le cas des extraits ACOEt (tiges et fruits).

Donc nos résultats ont confirmé et validé l'utilisation de notre plante en médecine traditionnelle par les résultats obtenus précédemment qui ont validé l'utilisation de notre espèce contre la maladie d'Alzheimer.

Ces résultats permettent à l'espèce *P. atlantica* subsp. *atlantica* d'être également considérée comme une source potentielle d'antioxydants naturels.

Comme nous l'avons déjà dit, le stress oxydatif est relié non seulement aux maladies neurodegeneratives et cardiovasculaires mais aussi au Cancer, C'est pour cette raison que nous avons également voulu valider cela en effectuant le test de l'activité antiproliférative.

L'évaluation de l'activité antiproliférative

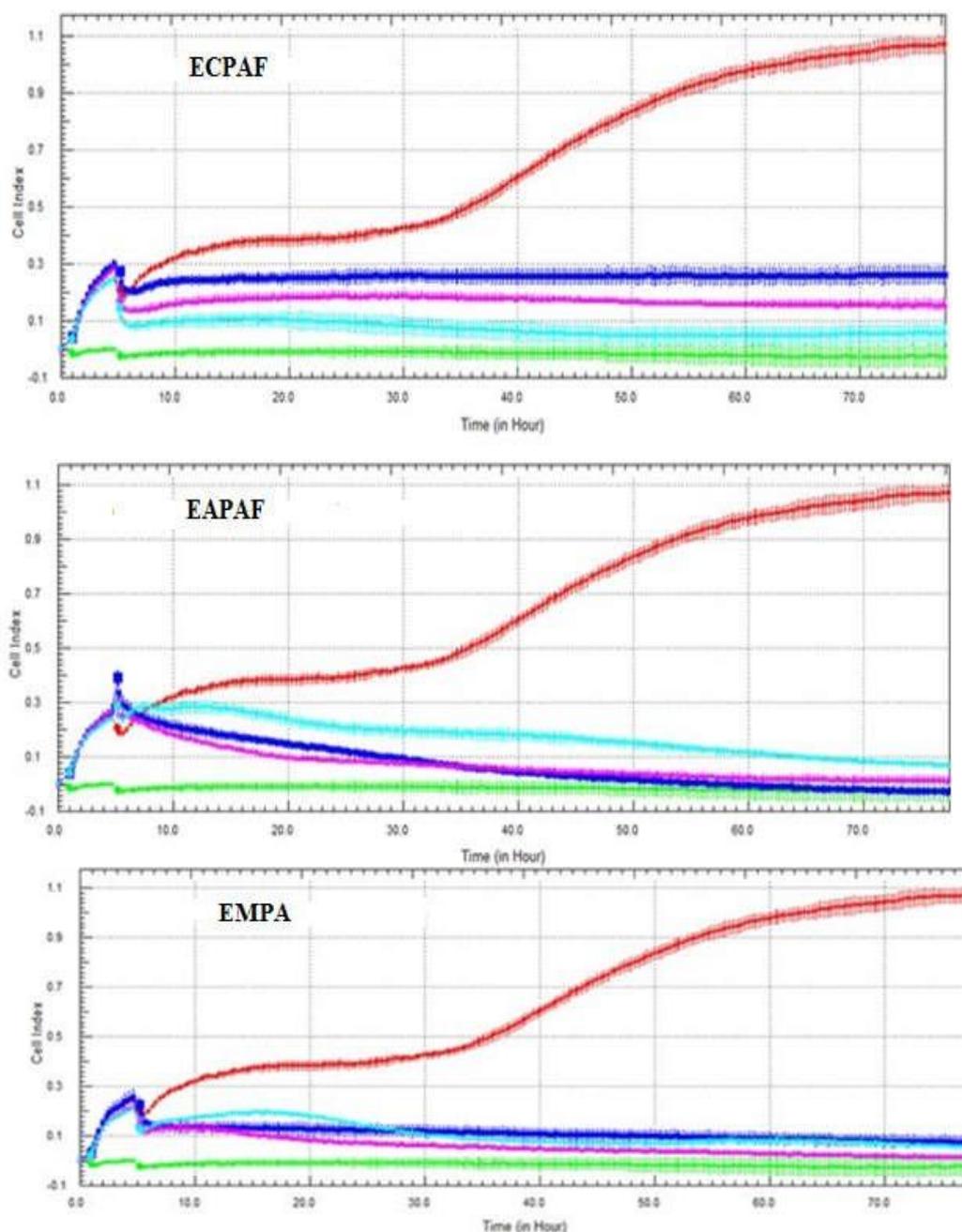
L'activité antiproliférative de différents extraits de *P. atlantica* subsp. *atlantica* sur la croissance des cellules HeLa in vitro est résumée dans la figure 134. Nous notons de ces graphiques que pendant les cinq premières heures, les cellules non traitées par les extraits ont montré une croissance normale. Tous les extraits de *P. atlantica* subsp. *atlantica* testés ont montré des activités antiprolifératives élevées à modérées pour les trois concentrations testées (50, 100, 250 µg/ml) contre les cellules de Hela.

- L'extrait EMPA semble avoir la meilleure réponse aux cellules de Hela pour les trois concentrations testées ; cet effet est presque identique pour les trois concentrations.
- L'extrait ECPAF a montré des effets inhibiteurs pour les trois concentrations et l'activité antiproliférative la plus élevée a été obtenue à la concentration de 50 µg/ml.
- Dans les extraits EAPAF et EAPAT les concentrations plus élevées (100 et 250 µg/ml) ont montré une activité antiproliférative élevée contre les cellules HeLa.
- Les extraits EBPAF et EBPAT ont présenté une bonne activité inhibitrice sur la croissance des cellules Hela d'une manière dépendante de la dose et du temps. Ces extraits ont montré une inhibition totale des cellules Hela après les 20 premières heures de traitement à 250 µg/ml, mais des concentrations plus basses (50 et 100 µg/ml) ont montré des effets inhibiteurs modérés. La concentration de 200 µg/ml a été trouvée optimale (inhibition la plus élevée) pour tous les extraits excepté l'extrait ECPAF.

Ces différences entre les extraits dépendent de leur composition phytochimique. Les travaux phytochimiques menés sur ces extraits ont permis l'isolement et l'identification structurale de plusieurs types de métabolites secondaires. L'analyse par HPLC a mis en évidence la présence d'acides phénoliques et de flavonoïdes dans les extraits de notre espèce. Les composés phénoliques tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes donnent des effets sur les lignées de cellules cancéreuses humaines et ont également été étudiés de manière approfondie. . Dans notre cas, les acides phenoliques majoritaires mis en evidence : gallique, chicorique, gentisique ,

vanillique, protocatechuique, rosmarinique ainsi que les flavonoïdes : rutine, catéchine et quercétine sont responsables des effets inhibiteurs sur la croissance des cellules HeLa.

Appuyant ainsi le nombre important d'études sur les cultures cellulaires, les modèles animaux et les essais cliniques qui ont montré les effets protecteurs des composés phénoliques et des flavonoïdes contre différents types de cancers. Le mécanisme d'action variant selon la nature de ces composés impliqués (Yağlıoğlu et al., 2017 ; Demirtas et al., 2013 ; Greenwell et coll., 2015, Cao et al., 2013).



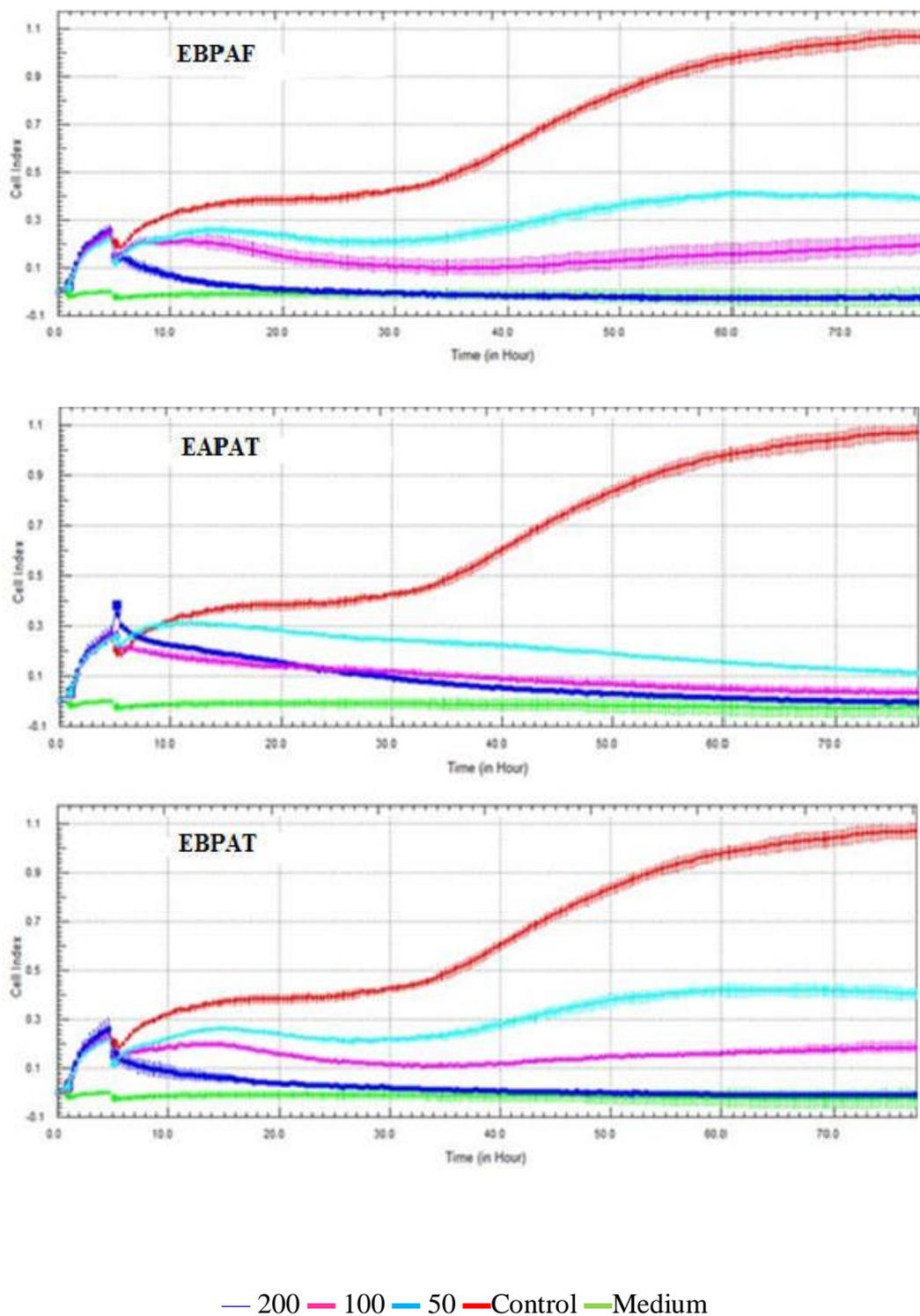


Figure 134 : l'activité antiproliférative des extraits EAPAF, EBPAF, EAPAT, EBPAT et EMPA contre les cellules HeLa (carcinome du col de l'utérus humain) à différentes concentrations (50, 100, 200 µg/mL).

Donc le fort effet antiprolifératif de nos extraits confirme et valide une fois de plus l'utilisation de notre espèce en médecine traditionnelle.

Conclusion

Les résultats de cette étude indiquent que les extraits l'espèce *P. atlantica* subsp. *atlantica* possède des propriétés antioxydantes puissantes *in vitro*. L'activité antioxydante enregistrée dans notre étude résulte de la synergie des divers composés phénoliques et flavonoïdes tels que l'acide gallique, l'acide cichorique, l'acide gentisique, l'acide vanillique, l'acide protocatechique et l'aciderosmarinique, la rutine, la catéchine, la quercétine, présents dans les extraits déterminés par l'analyse par HPLC-TOF/MS.

Les extraits de notre espèce (EAPAF, EAPAT, EBPAF, EBPAT, EMPA) ont inhibé l'activité de l'AChE et du BChE en fonction de la concentration. L'extrait EAPAT présentait une capacité inhibitrice plus élevée que l'extrait EAPAF, comme le révèlent les valeurs de la IC₅₀ (tableaux 47 ; 48).

Tous les extraits de *P. atlantica* subsp. *atlantica* ont été testés *vis à vis* des cellules HeLa pour évaluer leur activité antiproliférative, La plus forte inhibition a été observée dans l'extrait EMPA, EAPAT et EAPAF à toutes les concentrations.

Références bibliographiques

Introduction générale

Asadi S., Ahmadiani A., Esmaeili M. A., Sonboli A., Ansari N., Khodaghali F., (2010). *In vitro* antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran : a comparative study. *Food and chemical toxicology*, 48(5): 1341-1349.

Balan K.V., Prince J., Han Z., Dimas K., Cladaras M., Wyche J.H., SitarasIN.M., Pantazis P., (2007). Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. chia. *Phytomedicine*, 14: 263–272.

Ben Farhat, M., Jordán, M. J., Chaouech-Hamada, R., Landoulsi, A., & Sotomayor, J. A., (2009). Variations in essential oil, phenolic compounds, and antioxidant activity of Tunisian cultivated *Salvia officinalis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21): 10349-10356.

Benamar H., Marouf A., Bennaceur M., (2018). Phytochemical composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of aqueous extract and fractions of *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* from Algeria. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 24(3): 229-244.

Botineau M., (2011). Guide des plantes médicinales, p. 7.

Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., Salehi MH., Surmaghi M.R., Shams-Ardekani R., (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*, 2013: 1–33.

Braithwaite M.C., Tyagi C., Tomar L.K., Kumar P., Choonara Y.E., Pillay V., (2014). Nutraceutical-based therapeutics and formulation strategies augmenting their efficiency to complement modern medicine: An overview. *Journal of Functional Foods*, 6: 82-99.

- Dedoussis G.V.Z., Kaliora A.C., Psarras S., Chiou A., Mylona A., Papadopoulos N.G., Andrikopoulos N.K., (2004). Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and down regulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 174: 293–303.
- Dobignard A., Chatelain C., Fischer M., Orso J., Jeanmonod D., (2010). Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord. Ed. Conservatoire et Jardin Botaniques, Genève.
- Hou A.J., Peng L.Y., Liu Y.Z., Lin Z.W., Sun H.D., (2000). Gallotannins and related Polyphenols from *Pistacia weinmannifolia*. *Planta Medica*, 66: 624-626.
- Kamatou G. P., Viljoen A. M., Steenkamp P., (2010). Antioxidant, anti inflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. *Food Chemistry*, 119(2): 684-688.
- Kawashty S., Mosharrafa A. S. A. M., El-Gibali M., Saleh N. A. M., (2000). The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(9): 915–917.
- Kumar S., Saini M., Kumar V., Prakash O., Arya R., Rana M., Kumar D., (2012). Traditional medicinal plants curing diabetes: A promise for today and tomorrow. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 7: 178-88.
- Materska M., (2014). Bioactive phenolics of fresh and freeze-dried sweet and semi-spicy pepper fruits (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Functional Foods*, 7: 269-277.
- Nouara B., Mourad B., Lakhdar K., Madjda K.S., (2016). Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale *Peganum harmala* L. dans la région de M'sila. *Revue Agriculture.*, 38 – 42.
- Orhan I., Aslan S., Kartal M., Sener B., BASER K.H.C., (2008). Inhibitory effect of Turkish *Rosmarinus officinalis* L. on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. *Food Chemistry*, 108: 663–668.
- Orhan I. E., Senol F. S., Ozturk N., Akaydin G., Sener B., (2012). Profiling of in vitro neurobiological effects and phenolic acids of selected endemic *Salvia* species. *Food chemistry*, 132(3): 1360-1367.

Peksel A., Arisan-Atac I., Yanardag R., (2010). Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of *Pistacia atlantica* Desf leaves. *Journal of Food Biochemistry*, 34: 451–476.

Pell S. K., (2004). Molecular systematics of the cashew family (Anacardiaceae), p. 1-193

Pourahmad J., Eskandari M., Kamalinejad M., (2009). A search for hepato protective activity of aqueous extract of *Rhus coriaria*. *Journal of Food and chemical toxicology*, 48: 854-858.

Piozzi F., Bruno M., (2011). Diterpenoids from Roots and Aerial Parts of the Genus *Stachys*. *Records of Natural Products*, 5(1): 1-11.

Roitman J. N., Merrill G. B., Beck J. J., (2011). Survey of ex situ fruit and leaf volatiles from several *Pistacia cultivars* grown in California. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5): 934–942.

Saitta M., Giuffrida D., La Torre G. L., Potort`i A. G., Dugo G., (2009). Characterisation of alkylphenols in pistachio (*Pistacia vera*L.) kernels. *Food Chemistry*, 117(3): 451–455.

Schnitzler P., Nolkemper S., Stintzing F. C., Reichling, J., (2008). Comparative *in vitro* study on the anti-herpetic effect of phytochemically characterized aqueous and ethanolic extracts of *Salvia officinalis* grown at two different locations. *Phytomedicine*, 15(1-2): 62-70.

Tianlu M., Barfod A., (2008). Anacardiaceae. *Flora of China*, 11: 335-357.

Triantafyllou A., Chavlaras N., Sergeantants T.N., Protopapa E., Tsaknis J., (2007). Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 43–49.

Veličković D. T., Randelović N. V., Ristić M. S., Šmelcerović A. A., Veličković A. S., (2002). Chemical composition and antimicrobial action of the ethanol extracts of *Salvia pratensis* L. *Salvia glutinosa* L. and *Salvia aethiopsis* L. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 67(10): 639-646.

Wu Y. B., Ni Z. Y., Shi Q. W., Dong M., Kiyota H., Gu Y. C., Cong B., (2012). Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chemical reviews*, 112(11): 5967-6026.

Yousfi M., Nadjemi B., Bellal R., Ben Bertal D., Palla G., (2002). Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79 (10): 1049-1050.

Zohary M., (1952). A monographical study of the genus *Pistacia*. Palest. *Palestine Journal of Botany (Jerusalem Series)*, 5 (4): 187–228.

Chapitre I : Aperçu bibliographique sur le genre *Pistacia*

Abdelwahed A., Bouhlel I., Skandrani I et al., (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6- pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*, 165(1): 1–13.

Abdenbi A., Touati B., Bouazza M., Tail N., Boutercha M., (2016). Antibacterial activity and physicochemical characteristics of *Pistacia atlantica* extracts. *Der Pharma Chemica*, 8(12): 162-168.

Adams I., Plitzko M., Kaiser R., Brun., Hamburger M., (2009). HPLC-profiling for antiplasmodial compounds-3-Methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*. *Phytochemistry Letters*, 2(4): 159–162.

Aghili M.H., (2009). Makhzan-al-Advie.Tehran: Tehran University of Medical Sciences.

Ahmad N.S., Farman M., Najmi M.H., Mian K.B., Hasan A., (2008). Pharmacological basis for use of *Pistacia integerrima* leaves in hyperuricemia and gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 117: 478–482.

Ahmad N.S., Waheed A., Farman M., Qayyum A., (2010). Analgesic and anti-inflammatory effects of *Pistacia integerrima* extracts in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 129: 250–253.

Ahmad S., Ali M., Ansari S H., Ahmed F., (2010). Phytoconstituents from the galls of *Pistacia integerrima* Stewart. *Journal of Saudi Chemical Society*, 14: 409–412.

Ahmad S., Ali M., Ansari S.H., (2011). Phenolic constituents from the galls of *Pistacia integerrima* Stewart. *Indian Journal of Chemistry*, 50: 115–118.

Aissi O., Boussaid M., Messaoud C., (2016). Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and products*, 91: 56–65.

Ait Said S., Fernandez C., Greff S., Derridj A., Gauquelin T., Mevy J.P., (2011). Inter-population variability of leaf morphoanatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria. *Flora*, 206(4): 397–405.

Ait youssef M., (2006). *Plantes médicinales de cabylie*. Paris, p. 260-262.

Alma M.H., Nitz S., Kollmannsberger H., Digrak M., Efe F. T., Yilmaz N., (2004). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish Pistachio (*Pistacia vera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (12): 3911–3914.

Almehdar H., Abdallah H.M., Osman A-M.M., Abdel-Sattar E. A., (2012). *In vitro* cytotoxic screening of selected Saudi medicinal plants. *Journal of Natural Medicines*, 66(2): 406–412.

Al-Saghir M., Porter D. M., (2012). Taxonomic revision of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *American Journal of Plant Sciences*, 3: 12–32.

Al-Said M.S., Aggel A.M., Parmar N., Tariq M., (1986). Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 15: 271–278.

Andrikopoulos N.K., Kaliora A.C., Assimopoulou A.N., Papageorgiou V.P., (2003). Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. *Phytotherapy Research*, 17 (5): 501–507.

Anonymous., (1998). In the Wealth of India. A Dictionary of Indian Raw Materials and Industrial Products, Publication and Information Directorate, CSIR, New Delhi, 8:120.

Ansari S.H., Ali M., Qadry J.S., (1993). Essential oils of *Pistacia integerrima* galls and their effects on the central nervous system. *International Journal of Pharmacognosy*, 31: 89–95.

Ansari S.H., Ali- Sanjrani M., Qadry J.S., (1994b). New tetracyclic triterpenoids from *Pistacia integerrima* galls. *Pharmazie*, 49: 356–357.

Ansari S.H., Ali- Sanjrani M., (1996). Analgesic activity of tetracyclic triterpenoids isolated from *Pistacia integerrima* galls. *Fitoterapia*, 67(2): 103-105.

Arbonnier M., (2002). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d’Afrique de l’Ouest. Pont-sur-Yonne (France): CIRAD/MNHN, p. 574.

Assimopoulou A. N., Papageorgiou V. P., (2005). GC-MS analysis of penta- and tetra-cyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. Chia. *Biomedical Chromatography*, 19(4): 285–311.

Atmani D., Chafer N., Berboucha M et al., (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2): 303–309.

Atzei AD., (2003). Le piante nella tradizione popolare della Sardegna. Sassari: Carlo Delfino Ed.

Bailey L.H., (1949). Manual of cultivated plants most commonly grown in the continental United States and Canada. New York, NY (EUA). MacMillan. Rev. ed. completely restudied, 1116.

- Ballero M., Poli F., Sacchetti G., Loi M.C., (2001). Ethnobotanical research in the territory of Fluminimaggiore (south-western Sardinia). *Fitoterapia*, 72: 788–801.
- Ballistreri G., Arena E., Fallico B., (2009). Influence of ripeness and drying process on the polyphenols and tocopherols of *Pistacia vera* L. *Molecules*, 14(11): 4358–4369.
- Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P., Angioni A., (2007). Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(17): 7093–7098.
- Barrero A. F., Herrador M. M., Arteaga J. F., Akssira M., Mellouki F., Belgarrabe A., Blzquez M. A., (2005). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research*, 17(1): 52–54.
- Baytop T., (1984). *Turkiye de Bitkilerile Tedavi*. Istanbul: Publications of the Istanbul University.
- Baytop T., (1999). *Therapy with medicinal plants in turkey- Past and Present*, Second ed. Nobel Publishers, Istanbul.
- Behmanesh M.A., Poormoosavi S.M., Pareidar Y., Ghorbanzadeh B., MahmoodiKouhi A., Najafzadehvarzi H., (2020). *Pistacia atlantica*'s effect on ovary damage and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *JBRA Assisted Reproduction*, 25(1).
- Belhadj S., Derridj A., Auda Y., Gers C., Gauquelin T., (2008) Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany*, 86 :520-532.
- Bellomo M. G., Fallico B., (2007). Anthocyanins, chlorophylls and xanthophylls in pistachio nuts (*Pistacia vera*) of different geographic origin. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20 (3): 352–359.
- Ben Ahmed Z., Yousfi M., Viaene J., Dejaegher B., Demeyer K., Mangelings D., Vander Heyden Y., (2016). Antioxidant activities of *Pistacia atlantica* extracts modeled

as a function of chromatographic fingerprints in order to identify antioxidant markers. *Microchemical Journal*, 128: 208–217.

Ben Ahmed Z., Yousfi M., Viaene J., Dejaegher B., Demeyer K., Mangelings D., Vander Heyden Y., (2018). Potentially antidiabetic and antihypertensive compounds identified from *Pistacia atlantica* leaf extracts by LC fingerprinting. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 149: 547–556.

Benabdallah F.Z., Kouamé R.O., El Bentchikou M., Zellagui A., Gherraf N., (2017). Etudes ethnobotanique, phytochimique et valorisation de l'activité antimicrobienne des feuilles et de l'oléorésine du Pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). *Phytothérapie*, 15 (4): 222–229.

Benabderrahmane M., Benali M., Aouissa, H., Bueso M.J.J., (2009). Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica*. Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*, 7 (6): 304–308.

Benamar H., Rached W., Derdour A., Marouf A., (2010). Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Biological Sciences*, 10(1): 1–9.

Benamar H., Marouf A., Bennaceur M., (2018). Phytochemical composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of aqueous extract and fractions of *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* from Algeria. *Journal Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 24 (3): 229–244.

Benhammou N., AtikBekkara F., Panovska T. K., (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2 (2): 22–28.

Benhammou N., AtikBekkara F., PanovskaT. K., (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences*, 29 (3): 155-161.

- Benhssaini H., Belkhodja M., (2004). Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. *La feuille et l'aiguille*, 54: 1-2.
- Bentley R. Y., Trimen H., (1980). Medicinal plants. London: J. and AChurchill, p. 68.
- Benyoussef E.H., Charchari S., Nacer-Bey N., Yahiaoui N., Chakou A., Bellatreche M., (2005). The essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 17(6): 642–644.
- Bhourri W., Derbel S., Skandrani I et al., (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 24 (2): 509–515.
- Boulebda N., Belkhiri A., Belfadel F.Z., Bensegueni A., Bahri L., (2009). Dermal wound healing effect of *Pistacia Lentiscus* fruits's fatty oil. *Pharmacognosy Research*, 1(2): 66-71.
- Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., Salehi Surmaghi M.H., Shams-Ardekani M.R., Rahimi R., (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*, 33.
- Caputo R., Mangoni L., (1970). Triterpenic acids of *Pistacia terebinthus* galls. *Gazzetta Chimica Italica*, 100: 317–325.
- Caputo R., Mangoni L., Monaco P., Palumbo G., (1979). Triterpenes from the galls of *Pistacia palestina*. *Phytochemistry*, 18: 896-898.
- Caputo R., Mangoni L., Monaco P., Palumbo G., Aynehchi Y., Bagheri M., (1977). Triterpens from resin of *Pistacia vera*. *Phytochemistry*, 17: 815-817.
- Castola V., Bighelli A., Casanova J., (2000). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(1): 79–88.

- Choaki S., (2006). Deuxième Rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques. Institut national de la recherche agronomique d'Algérie, p. 67.
- Chopra R.N., Chopra I.C., Handa K.L., Kapoor L.D., (1982). In *Indigenous Drugs of India*; 2 ed. Academic Publishers, Delhi, p.377.
- Congiu R., Falconieri D., Marongiu B., Piras A., Porcedda S., (2002). Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(4): 239–244.
- Coombes A. J., (2011). Arbres. Edition Bordas, p.320.
- Couladis M., Ozcan M., Tzakou O., Akgul A., (2003). Comparative essential oil composition of various parts of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L) growing wild in Turkey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(2): 136–138, 2003.
- Daoudi A., Boutou H., Ibjibijen J., Zair T., Nassiri L. (2013). Ethnobotanical study of *Pistacia atlantica* in Meknes morocco. *La science en liberté*, 5(131113).
- Delazar A., Reid R.G., Sarker S.D., (2004). GC–MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *Mutica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 40: 24–27.
- Der Marderosian A., Beutler J. A., (2010). *The Review of Natural Products*, Wolters Kluwer Health, Missouri, Mo, USA, 6th edition.
- Dob T., Dahmane D., Chelghoum C., (2006). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 18(3): 335–338.
- Doi K., Wei M., Kitano M., Uematsu N., Inoue M., Wanibuchi H., (2009). Enhancement of preneoplastic lesion yield by Chios Mastic Gum in a rat liver medium-term carcinogenesis bioassay. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 234(1): 135–142.
- Dominguez X., Soriano M., Loza C.V., Butruille D., (1974). L'acide masticadienonique de *Pistacia mexicana*. *Phytochemistry Reports*, 13: 656.

Douissa F. B., Hayder N., Chekir-Ghedira L et al., (2005). New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia. *Flavour and Fragrance Journal*, 20 (4): 410–414.

Duke J., (1983). *Medicinal Plants of the Bible* (Trado-Medic Books., New York).

Durmaz G., Gökhan V., (2011). Changes in oxidative stability, antioxidant capacity and phytochemical composition of *Pistacia terebinthus* oil with roasting. *Food Chemistry*, 128(2): 410–414.

Duru M.E., Cakir A., Kordali S., Zengin H., Harmandar M., Izumi S., Hirata T., (2003). Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia*, 74: 170-176.

Farhoosh R., Khodaparast M.H.H., Sharif A., (2009). Bene hull oil as a highly stable and antioxidative vegetable oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111(12): 1259–1265.

Farhoosh R., Tavassoli-Kafrani M.H., Sharif A., (2011). Antioxidant activity of the fractions separated from the unsaponifiable matter of bene hull oil. *Food Chemistry*, 126(2): 583– 589.

Farzaei M.H., Rahimi R., Abbasabadi Z., Abdollahi M., (2013). An evidence-based review on medicinal plants used for the treatment of peptic ulcer in traditional Iranian medicine. *International Journal of Pharmacology*, 9(2): 108–124.

Fernandez A., Camacho A., Fernandez C., Altarejos J., (2000). Composition of the essential oils from galls and aerial parts of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Essential Oil Research*, 12(1): 19–23.

Flamini G., Bader A., Cioni P. L., Katbeh-Bader A., Morelli I., (2004). Composition of the essential oil of leaves, galls, and ripe and unripe fruits of Jordanian *Pistacia palaestina* Boiss. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (3): 572–576.

- Gerchman Y., Inbar M., (2011). Distinct antimicrobial activities in aphid galls on *Pistacia atlantica*. *Plant Signaling and Behavior*, 6(12): 2008–2012.
- Gardeli C., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T., Komaitis M., (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107 (3): 1120– 1130.
- Gausсен H., Leroy J.F., Ozenda P., (1982). Précis de Botanique. 2- Les végétaux supérieurs, Ed. Masson, 2ème édition, p.579.
- Giaginis C., Theocharis S., (2011). Current evidence on the anticancer potential of chiosmastic gum. *Nutrition and Cancer*, 63(8): 1174–1184.
- Giner-Larza E. M., Manez S., Recio M. C., et al., (2001). Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from *Pistacia*, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. *European Journal of Pharmacology*, 428 (1): 137–143.
- Giner-Larza E. M., Manez S., Giner-Pons R. M., Carmen Recio M., Rios J. L., (2000). On the anti-inflammatory and anti-phospholipase A2 activity of extracts from lanostane-rich species. *Journal of Ethnopharmacology*, 73 (1-2): 61– 69.
- Giner-Larza E. M., Manez S., Giner R.M., et al., (2002). Anti inflammatory triterpenes from *Pistacia terebinthus* galls. *Planta Medica*, 68(4): 311–315.
- Gogus F., Ozel M. Z., Kocak D., Hamilton J. F., Lewis A.C., (2011). Analysis of roasted and unroasted *Pistacia terebinthus* volatiles using direct thermal desorption-GCxGC-TOF/MS. *Food Chemistry*, 129 (3): 1258–1264.
- Goli A.H., Barzegar M., Sahari M.A., (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3): 521–525.

Gourine N., Yousfi M., Bombarda I., Nadjemi B., Stocker P., Gaydou E. M., (2010). Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products*, 31(2): 203–208.

Grippi F., Crosta L., Aiello G., et al., (2008). Determination of stilbenes in Sicilian pistachio by high-performance liquid chromatographic diode array (HPLC-DAD/FLD) and evaluation of eventually mycotoxin contamination. *Food Chemistry*, 107(1): 483–488.

Guignard J.L., Dupont F., (2004). Botanique: Systématique moléculaire, 13ème édition. Paris: Masson.

Guignard. J.l., (1974). Abrégé de biochimie végétale, à l'usage des étudiants en pharmacie, 2e édition revue et corrigée, p. 179-183.

Guyot M., (1992). Systématique des Angiospermes. Lomé (Togo): Presses Editogo.

Hamdan I. I., Afifi F.U., (2004). Studies on the *in vitro* and *in vivo* hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1): 117–121.

Hatamnia A.A., Abbaspour N., Darvishzadehh R., (2014). Antioxydant activity and phenoliques profile of different parts of bene (*Pistacia atlantica* subsp. *Kurdica* fruits. *Food chemistry*, 145: 306-311.

Hayder N., Ammar R. B., Abdelwahed A, et al., (2005). Antibacterial and antimutagenic activity of extracts and essential oil from (Tunisian) *Pistacia lentiscus*. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 87 (4): 567–573.

Hiroi T., Takahashi T., Imamura H., (1966). Wood extractives. XV. Constituents of *Pistacia chinensis* Wood. *Nippon Mokuzai Gakkaishi*, 12: 324-326.

Hosseinzadeh H., Behravan E., Soleimani M.M., (2011). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Pistacia vera* leaf extract in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10 (4): 821–828.

Hou A.J., Peng L.Y., Liu Y.Z., Lin Z.W., Sun H.D., (2000). Gallotannins and related Polyphenols from *Pistacia weinmannifolia*. *Planta Medica*, 66: 624-626.

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P., (2002). Botanique systématique. Editeur De Boeck., p.467.

Kalidhar S.H., Sharma P., (1985). Chemical components of *Pistacia integerrima*. *Journal of the Indian Chemical Society*, 62: 261.

Kaliora A. C., Stathopoulou M. G., Triantafillidis J. K., Dedoussis G. V. Z., Andrikopoulos N. K., (2007). Alterations in the function of circulating mononuclear cells derived from patients with Crohn's disease treated with mastic. *World Journal of Gastroenterology*, 13(45): 6031–6036.

Kaliora A. C., Stathopoulou M. G., Triantafillidis J. K., Dedoussis G. V. Z., Andrikopoulos N. K., (2007). Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology*, 13(5): 748–753.

Kasabri V., Afifi F.U., Hamdan I., (2011). *In vitro* and *in vivo* acute antihyperglycemic effects of five selected indigenous plants from Jordan used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2): 888–896.

Kaska N., Caglar S., Kafkas S., (1996). Genetic diversity and germplasm conservation of *Pistacia* species in Turkey. In : Workshop Taxonomy, Distribution, Conservation and Uses of *Pistacia* Genetic Resources, Palermo, Italy, Padulosi S., Caruso T., Barone E., (Eds). IPGRI, Roma, p. 46–50.

- Kavak D. D., Altiok E., Bayraktar O., Ulku S., (2010). *Pistacia terebinthus* extract: as a potential antioxidant, antimicrobial and possible β -glucuronidase inhibitor. *Journal of Molecular Catalysis B Enzymatic*, 64 (3-4): 167–171.
- Kawashty S., Mosharrafa A. S. A. M., El-Gibali M., Saleh N. A. M., (2000). The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(9): 915–917.
- Khallouki F., Breuer A., Merieme E., Ulrich C.M., Owen R.W., (2017). Characterization and quantitation of the polyphenolic compounds detected in methanol extracts of *Pistacia atlantica* Desf. Fruits from the Guelmim region of Morocco. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 134: 310–318.
- Khelil A., Kellal A., (1980). Possibilité de culture et délimitation des zones à vocation pistachier en Algérie. *Fruits*, 35: 177–85.
- Kim H.J., Neophytou C., (2009). Natural anti-inflammatory compounds for the management and adjuvant therapy of inflammatory bowel disease and its drug delivery system. *Archives of Pharmacal Research*, 32 (7): 997–1004.
- Kokwaro J. O., (1986). Anacardiaceae. In: Polhill, R. M. (Editor). *Flora of Tropical East Africa*. Rotterdam (Netherlands): A. A. Balkema, p. 59.
- Kole C., (2011). *Wild Crop Relative: Genomic and Breeding Resources Legume Crops and Forages*, Springer, Heidelberg., Germany.
- Koutsoudaki C., Krsek M., Rodger A., (2005). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. chia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (20): 7681–7685.
- Labeled-Zouad I., Ferhat M., Oztürk M., Abaza I., Nadeem S., Kabouche A., Kabouche Z., (2017). Essential oils composition, anticholinesterase and antioxidant activities of *Pistacia atlantica* desf. *Records of Natural Products*, 11 (4): 411–415.

Lancioni M.C., Ballero M., Mura L., Maxia A., (2007). Usi alimentari e terapeutici nella tradizione popolare del Goceano (Sardegna Centrale). *Atti della Societa Toscana Di Scienze Naturali A Residente In Pisa*, 114: 45–56.

Lieutaghi P., (2004). *Le livre des arbres, arbustes et arbrisseaux*. Edition Actes Sud, p.1305.

Liu J.J., Geng C.A., Liu X.K., Liu X. K., (2008). A new pyrrolidone derivative from *Pistacia chinensis*. *Chinese Chemical Letters*, 19: 65-67.

Ljubuncic P., Azaizeh H., Portnaya I., Cogan U., Said O., Abu Saleh K., Bomzon A., (2005). Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1): 43–47.

Ljubuncic P., Song H., Cogan U., Azaizeh H., Bomzon A., (2000). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 198–204.

Loi M.C., Poli F., Sacchetti G., Selenu M.B., Ballero M., (2004). Ethnopharmacology of oghiastra (Villagrande Strisaili, Sardinia, Italy). *Fitoterapia*, 75: 277–295.

Loizou S., Paraschos S., Mitakou S., Chrousos G. P., Lekakis I., Moutsatsou P., (2009). Chiosmastic gum extract and isolated phytosterol tirucallol exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Experimental Biology and Medicine*, 234 (5): 553–561.

Longo L., Scardino A., Vasapollo G., (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(3): 60– 364.

Loutrari S., Magkouta A., Pyriochou., et al., (2006). Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. *chiainhibits* growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutrition and Cancer*, 55(1): 86–93.

- Mabberley D.J., (1987). *The Plant Book (A portable dictionary of the higher plants)*. Cambridge: University Press.
- Magkouta S., Stathopoulos G. T., Psallidas., (2009). Protective effects of mastic oil from *Pistacia lentiscus* variation chia against experimental growth of lewis lung carcinoma. *Nutrition and Cancer*, 61(5): 640–648.
- Maxia A., Lancioni M.C., Balia A.N., Alborghetti R., Pieroni A., Loi M.C., (2008). Medical ethnobotany of the Tabarkins, a Northern Italian (Ligurian) minority in south-western Sardinia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55: 911–924.
- Mecherara-Idjeri S., Hassani A., Castola V., Casanova J., (2008). Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria part I: leaf oil. *Journal of Essential Oil Research*, 20 (2): 32–38.
- Mecherara-Idjeri S., Hassani A., Castola V., Casanova J., (2008). Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria: part II : fruit oil. *Journal of Essential Oil Research*, 20 (2): 104–107.
- Mecherara-Idjeri S., Hassani A., Castola V., Casanova J., (2008). Composition of leaf, fruit and gall essential oils of Algerian *Pistacia atlantica* desf. *Journal of Essential Oil Research*, 20(3): 215–219.
- Minami K., Nakasugi T., Sun H.D., Hou A.J., Ihara M., Morimoto M., Komai K., (2006). Isolation and identification of histamine-release inhibitors from *Pistacia weinmannifolia* J. Pison ex. Franch. *Journal of Natural Medicines*, 60: 138–140.
- Mitcheh, A., (1986). *Tous les arbres de nos forêts*, édition Bordas, 319.
- Moghtader M., (2010) Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and fruits of *Pistacia mutica* Fischer Kerman Province. *Meadle east journal of scientific research*, 5(4): 291-297

Monaco P., Caputo R., Palumbo G., Mangoni L., (1974). Triterpene components of galls on the leaves of *Pistacia terebinthus*, produced by *Pemphigus semilenarius*. *Phytochemistry*, 13(9): 1992-1993.

Monaco P., Previtera L., Mangoni L., (1982). Terpenes in *Pistacia* plants: a possible defence role for monoterpenes against gallforming aphids. *Phytochemistry*, 21(9): 2408-2410.

Monjause A., (1980). Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. *Biologie et forêt Revue forestière française*, 4: 357–63.

Mozaffarian V., (2005). Trees and Shrubs of Iran, Farhang Moaser, Tehran, Iran, 1st edition.

Orhan I., Aslan M., Sener B., Kaiser M., Tasdemir D., (2006). *In vitro* antiprotozoal activity of the lipophilic extracts of different parts of Turkish *Pistacia vera* L. *Phytomedicine*, 13 (9- 10): 735–739.

Özcan M., Tzakou O., Couladis M., (2009). Essential oil composition of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L.) fruits growing wild in Turkey. *Food Chemistry*, 114(1): 282– 285.

Ozcelik B., Aslan M., Orhan I., Karaoglu T., (2005). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiological Research*, 160 (2): 159–164.

Pant S., Samant S.S., (2010). Ethanobotanical observation in the Mornaula Reserve Forest of Kumoun, West Himalaya, *India Ethanobotanical Leaflets*, 14:193.

Paraschos S., Magiatis P., Gousia P., et al., (2011). Chemical investigation and antimicrobial properties of mastic water and its major constituents. *Food Chemistry*, 129 (3): 907–911.

Peksel A., (2008). Antioxidative properties of decoction of *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *Asian Journal of Chemistry*, 20(1): 681–693.

Peksel A., Arisan-Atac I., Yanardag R., (2010). Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of *Pistacia atlantica* Desf leaves. *Journal of Food Biochemistry*, 34: 451–476.

Peksel A., Arisan I., Yanardag R., (2013). Radical scavenging and antiacetylcholinesterase activities of aqueous extract of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) leaves. *Food Science and Biotechnology*, 22 (2): 515–522.

Pell S.K., (2004). Molecular systematics of the cashew family (Anacardiaceae). Thèse de Doctorat. St Andrews Pres by terian College, p. 207.

Quezel P., Santa S., (1962-1993). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Paris C.N.R.S., 2 volumes, p.1170.

Rahimi R., Baghaei A., Baeri M., et al., (2013). Promising effect of Magliasa, a traditional Iranian formula, on experimental colitis on the basis of biochemical and cellular findings. *World Journal of Gastroenterology*, 19 (12): 1901–1911.

Rahimi R., Mozaffari S., Abdollahi M., (2009). On the use of herbal medicines in management of inflammatory bowel diseases: a systematic review of animal and human studies. *Digestive Diseases and Sciences*, 54(3): 471–480.

Rahimi R., Shams-Ardekani M.R., Abdollahi M., (2010). A review of the efficacy of traditional Iranian medicine for inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 16 (36): 4504–4514.

Ramezani M., Khaje-Karamoddin M., Karimi-Fard V., (2004). Chemical composition and anti-*Helicobacter pylori* activity of the essential oil of *Pistacia vera*. *Pharmaceutical Biology*, 42 (7): 488–490.

Rauf A., Uddin G., Latif A., Muhammad N., (2014). Pistagremic Acid, A Novel Antimicrobial and Antioxidant Isolated from *Pistacia integerrima*. *Chemistry of Natural Compounds.*, 50: 97-98.

Rezaei P.F., Fouladdel S., Hassani S., Yousefbeyk F., et al., (2012). Induction of apoptosis and cell cycle arrest by pericarp polyphenol-rich extract of Baneh in human colon carcinoma HT29 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3-4): 1054–1059.

Rezaie M., Farhoosh R., Sharif A., Asili J., Iranshahi M., (2015). Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (10): 6784–6790.

Riddle J.M., (2002). History as a tool in identifying « new » old drugs. In B. S. Buslig and J.A. Manthey (Eds.). *Flavonoids in Cell Function* (pp. 89-94). Series: *Advances in Experimental Medicine and Biology*, volume 505. Boston, MA: Springer US.

Roitman J. N., Merrill G. B., Beck J. J., (2011). Survey of ex situ fruit and leaf volatiles from several *Pistacia* cultivars grown in California. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5): 934–942.

Saadoun S.N., (2005). Types stomatiques du genre *Pistacia* : *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* et *Pistacia lentiscus* L. *Options méditerranéennes, série A*, 63: 369-71

Saitta M., Giuffrida D., La Torre G. L., Potort`i A. G., Dugo G., (2009). Characterisation of alkylphenols in pistachio (*Pistacia vera*L.) kernels. *Food Chemistry*., 117(3) : 451–455.

Sharifi M.S., Hazell S.L., (2009). Fractionation of mastic gum in relation to antimicrobial activity. *Pharmaceuticals*, 2(1): 2-10.

Sharifi M. S., Hazell S. L., (2012). Isolation, analysis and antimicrobial activity of the acidic fractions of mastic, *Kurdica*, *Mutica* and *Cabolicagums* from Genus *Pistacia*. *Global Journal of Health Science*, 4(1): 217–228.

Sheibani A., (1996). Distribution use and conservation of *Pistacia* in iran In Workshop, Taxonomy, Distribution, conservation and uses of *Pistacia* Genetic Resources, palermo, Italy, Padulosi, S Caruso, T and S Barone, Ed: IPGRI, ROMA, 51-56.

Sakagami H., Kishino K., Kobayashi M., et al., (2009). Selective antibacterial and apoptosis-modulating activities of mastic. *In Vivo*, 23 (2): 215–224.

Shrafkandi A., (2008). Avicenna. The Canon, Soroush Press, Tehran, Iran.

Sola-Campoy P.J., Robles F., Schwarzacher T., Ruiz Rejón C., de la Herrán R., Navajas-Pérez R., (2015). The molecular cytogenetic characterization of pistachio (*Pistacia vera* L.) suggests the arrest of recombination in the largest heteropycnotic pair HC1. *PLoS One*, 10(12).

Taran M., Sharifi M., Azizi E., Khanahmadi M., (2010). Antimicrobial activity of the leaves of *Pistacia khinjuk*. *Journal of Medicinal Plants*, 9 (6): 81–85.

Tomaino A., Martorana M., Arcoraci T., Monteleone D., Giovinazzo C., Saija A., (2010). Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, 92 (9): 1115–1122.

Tokusoglu M. K., Unal., Yemis F., (2005). Determination of the phytoalexin resveratrol (3,5,4 Trihydroxystilbene) in peanuts and pistachios by High-Performance Liquid Chromatographic Diode Array (HPLC-DAD) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12): 5003–5009.

Topçu G., Ay M., Bilici A., Sarıkurkcu C., Ozturk M., Ulubelen A., (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103: 816–822.

Triantafyllou A., Bikineyeva A., Dikalova A., Nazarewicz R., Lerakis S., Dikalov S., (2011). Anti-inflammatory activity of Chios mastic gum is associated with inhibition of TNF-alpha induced oxidative stress. *Nutrition Journal*, 10 (1): 64.

Tomaino A., Martorana M., Arcoraci T., Monteleone D., Giovinazzo C., Saija A., (2010). Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, 92(9): 1115–1122.

Tzakou O., Bazos I., Yannitsaros A., (2007). Volatile metabolites of *Pistacia atlantica* Desf. from Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(5): 358–362.

- Uddin G., Rauf A., Rehman T., Qaisar M., (2011). Phytochemical Screening of *Pistacia chinensis* var. *integerrima*. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 7(5): 707–711.
- Ullah Z., Mehmood R., Imran M., Malik A., Afzal R.A., (2013). New acylated oligosaccharides from *Pistacia integerrima*. *Natural Product Research*, 27(21): 2027–2032.
- Upadhye A.S., Rajopadly A.A., (2010). Pharmacogonostic and phytochemical evaluation of leaf galls of used in Indian system of medicine. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 69 (9): 700-704.
- Usai M., Pintore G., Chessa M., Tirillini B., (2006). Essential oil composition of different aerial parts of *Pistacia terebinthus* L. growing wild in Sardinia. *Journal of Essential Oil Research*, 18(4): 383–385.
- Vickery J.R., (1981). The occurrence of dihydromalavalic acid in some seed oils. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 58 (6): 731– 732.
- Walter S. J., Christopher S. C., Elizabeth A. K., Stevens P., (2002). Botanique systématique, une perspective phylogénétique. 1er édition Américaine, p.467.
- Wu X., Prior R. L., (2005). Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography electrospray ionization-tandem mass spectrometry in common foods in the United States : vegetables, nuts, and grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8): 3101–3113.
- Xie L., Yang Z., Wen J., Li D., Yi T., (2014). Biogeographic history of *Pistacia* (Anacardiaceae), emphasizing the evolution of the Madrean-Tethyan and the eastern Asian-Tethyan disjunctions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 77: 136–146.
- Yaaqobi A., El Hafid L., Haloui B., (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf de la région orientale du Maroc, *Biomatec Echo*, 3(6): 39–49.

- Yi T., Wen J., Golan-Goldhirsh A., Parfitt D.E., (2008). Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). *American Journal of Botany*, 95: 241–251.
- Yoram G., Inbar M., (2011). Distinct antimicrobial activities in aphid galls on *Pistacia atlantica*. *Plant Signaling & Behavior*, 6(12): 2008–2012.
- Yousfi A., Djeridane I., Bombarda C.H., Hamia C., Duhem B., Gaydou E.M., (2009). Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytotherapy Research*, 23(9): 1237–1242.
- Yousfi M., Nadjemi B., Bellal R., Ben Bertal D., Palla G., (2002). Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79 (10): 1049-1050.
- Zhao X., Sun H., Hou H., Zhao Q., Wei T., Xin W., (2005). Antioxidant properties of two gallotannins isolated from the leaves of *Pistacia weinmannifolia*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1725: 103-110.
- Zrira S., Elamrani A., Benjilali B., (2003). Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco—a seasonal variation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6): 475–480.

Chapitre II : Aperçu bibliographique sur le genre *Salvia*

- Abdalla M. F., Saleh N. A. M., Gabr S., Abu-Eyta A. M., El-Said H., (1983). Flavone glycosides of *Salvia triloba*. *Phytochemistry*, 22(9): 2057-2060.
- Ahmed B., Al-Howiriny T. A., Al-Rehaily A. J., Mossa J. S., (2004). Verbenacine and salvinine : two new diterpenes from *Salvia verbenaca*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59: 9.

- Ahmad Z., Fatima I., Mehmood S., Ifzal R., Malik A., Afza N., (2008). New Epoxydammarane Triterpenes from *Salvia santolinifolia*. *Helvetica Chimica Acta*, 91(1): 73-78.
- Ahmad Z., Mehmood S., Ifzal R., Malik A., Afza N., Ashraf, M., Jahan E., (2007). A new ursane-type triterpenoid from *Salvia santolinifolia*. *Turkish Journal of Chemistry*, 31(4): 495.
- Ahmad V. U., Zahid M., Ali M. S., Choudhary M. I., Akhtar F., Ali Z., Iqbal M. Z., (1999a). Salvadiol : A novel triterpenoid from *Salvia bucharica*. *Tetrahedron Letters*, 40(42): 7561- 7564.
- Ahmad V. U., Zahid M., Ali M. S., Jassbi A. R., Abbas M., Ali Z., Iqbal M. Z., (1999). Bucharioside and buchariol from *Salvia bucharica*. *Phytochemistry*, 52(7): 1319-1322.
- Ahmad V. U., Zahid M., Ali M. S., Ali Z., Jassbi A. R., Abbas M., Clardy J., Lobkovsky E., Tareen R. B., Iqbal M. Z. J., (1999b). Salvadiones-A and -B: Two Terpenoids Having Novel Carbon Skeleta from *Salvia bucharica*. *Journal of Organic Chemistry*, 64 (23): 8465-8467.
- Al-Hazimi H. M. G., Miana G. A., Deep M. S. H., (1987). Terpenoids from *Salvia lanigera*. *Phytochemistry*, 26(4): 1091-1093.
- Ai C., Li L., (1992). Salvianolic acids D and E : two new depsides from *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Medica*, 58(2): 197-199.
- Ai C. B., Deng Q. H., Song W. Z., Li L. N., (1994). Salvianolic acid J, a depside from *Salvia flava*. *Phytochemistry*, 37(3): 907-908.
- Ai C. B., Li L. N., (1988). Stereo structure of salvianolic acid B and isolation of salvianolic acid C from *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Natural Products*, 51(1): 145-149.
- Ali M. S., Ahmed W., Armstrong A. F., Ibrahim S. A., Ahmed S., Parvez M., (2006). Guaianolides from *Salvia nubicola* (Lamiaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54(9): 1235—1238.

- Ali M. S., Ahmed S., Ibrahim S. A., Tareen R. B., (2005). Characterization and Bioscreening of a New Triterpenoid and a Flavanone Isolated from *Salvia nubicola*. *Chemistry and Biodiversity*, 2: 910.
- Ali M. S., Ibrahim S. A., Ahmed S., Lobkovsky E., (2007). Guaiane Sesquiterpene Lactones from *Salvia nubicola* (Lamiaceae). *Chemistry and Biodiversity*, 4(1): 98-104.
- Alimpic A., Pljevljakusic D., Šavikin K., Knezevic A., Curcic M., Velickovic D., Stevic T., et al., (2015). Composition and biological effects of *Salvia ringens* (Lamiaceae) essential oil and extracts. *Industrial Crops and Products*, 76: 702–709.
- Alimpić A., Kotur N., Stanković B., Marin P.D., Matevski V., Beled N., Sheef A., Duletić-Laušević S., (2015). The *in vitro* antioxidative and cytotoxic effects of selected *Salvia* species water extracts. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 88: 115 – 119.
- Alimpić A., Knežević A., Milutinović M., Stević T., Šavikin K., Stajić M., Marković S., Marin P.D., Matevski V., Duletić-Laušević S., (2017). Biological activities and chemical composition of *Salvia amplexicaulis* Lam. Extracts. *Industrial Crops & Products*, 105: 1–9.
- Almanza G., Balderrama L., Labbé C., Lavaud C., Massiot G., Nuzillard J.M., et al., (1997). Clerodane diterpenoids and an ursane triterpenoid from *Salvia haenkei*. Computer-assisted structural elucidation. *Tetrahedron*, 53(43): 14719–14728.
- Amaro-Luis J. M., Herrera J. R., Luis J. G., (1998). Abietane Diterpenoids from *Salvia chinopeplica*. *Phytochemistry*, 47(5): 895-897.
- Anaya J., Caballero M. C., Grande M., Navarro J. J., Tapia I., Almeida J. F., (1989). A lupeol derivative from *Salvia pratensis*. *Phytochemistry*, 28(8): 2206-2208.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group), (2002). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of Linn Society*, 141: 399-436.

- Arslan I., Celik A., (2008). Chemical composition and antistaphylococcal activity of an endemic *Salvia chrysophylla* Stapf naturally distributed in Denizli province (Turkey) and its vicinity. *Pakistan Journal of Botany*, 40: 1799-1804.
- Aydoğmuş Z., Yeşilyurt V., Topcu G., (2006). Constituents of *Salvia microphylla*. *Natural Product Research*, 20 (8): 775–781.
- Bagci E., Kocak A., (2008). Essential Oil Composition of the aerial parts of two *Salvia* L. (*S. multicaulis* Vahl. Enum and *S. tricochlada* Benth) species from East Anatolian Region (Turkey). *International Journal of Science & Technology*, 3(1): 13-18.
- Ballesta-Acosta M. C., Pascual-Villalobos M. J., Rodríguez B., (2002). A New 24-nor-Oleanane Triterpenoid from *Salvia carduacea*. *Journal of Natural Products*, 65(10): 1513-1515.
- Bautista E., Toscano R.A., Ortega A., (2013). Microphyllandioliide, a New Diterpene with an Unprecedented Skeleton from *Salvia microphylla*. *Organic Letters*, 15 (13): 3210–3213.
- Bautista E., Toscano R.A., Ortega A., (2014). 5,10-seco-neo-Clerodanes and neo-Clerodanes from *Salvia Microphylla*. *Journal of Natural Products*, 77: 1088–1092.
- Bruno M., Savona G., Hueso-Rodríguez J. A., Pascual C., Rodríguez B., (1987). Ursane and oleanane triterpenoids from *Salvia argentea*. *Phytochemistry*, 26(2): 497-501.
- Çadirci E., Süleyman H., Gürbüz P., Kuruüzüm U.A., Güvenalp Z., Demirezer L.Ö., (2012). Anti-inflammatory effects of different extracts from three *Salvia* species. *Turkish Journal of Biology*, 36(1): 59-64.
- Cantino P. D., Harley R. M., Wagstaff S. J., (1992). Genera and Classification. In Harley R.M., Reynolds T., (eds) *Advances in Labiate Science*. Royal Botanic Gardens, Kew, 511-522.
- Cioffi G., Bader A., Malafronte A., Dal Piaz F., De Tommasi N., (2008). Secondary metabolites from the aerial parts of *Salvia palaestina* Benth. *Phytochemistry*, 69(4): 1005-1012.

- Choi J. S., Kang H. S., Jung H. A., Jung J. H., Kang S. S., (2001). A new cyclic phenyllactamide from *Salvia miltiorrhiza*. *Fitoterapia*, 72(1): 30-34.
- Couplan F., (2000). Dictionnaire étymologie de botanique. Nestlé (Ed). Luisane. Paris, p.283.
- De Felice A., Bader A., Leone A., Sosa S., Loggia R.D., Tubaro A., De Tommasi N., (2006). New polyhydroxylated triterpenes and anti-inflammatory activity of *Salvia hierosolymitana*. *Planta Medica*, 72: 643.
- De la Torre M. C., Bruno M., Piozzi F., Savona G., Rodriguez B., Arnold N. A., (1990). Terpenoids from *Salvia willeana* and *S. virgata*. *Phytochemistry*, 29(2): 668-670.
- Delgado G., Ríos M., (1990). Triterpenoids of *Salvia longystyla*. *Planta Med*, 56: 243.
- Domínguez X. A., Gonzalez H. F., (1972). Extractives from *Salvia bellotaeflora*. *Phytochemistry*, 11: 2641.
- Don M. J., Shen C. C., Lin Y. L., Syu W. J., Ding Y. H., Sun C. M., (2005). Nitrogen-Containing Compounds from *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Natural Products*, 68(7): 1066-1070.
- Don M., Shen C., Syu W., Ding Y., Sun C., (2006). Cytotoxic and aromatic constituents from *Salvia miltiorrhiza*. *Phytochemistry*, 67(5): 497-503.
- El-Sayed N. H., Khalifa T. I., Ibrahim M. T., Mabry T. J., (2001). Constituents from *Salvia triloba*. *Fitoterapia*, 72(7): 850-853.
- Esquivel B., Cardenas J., Rodriguez-Ha Y., (1987). The Diterpenoid Constituents Of *Salvia Fulgens* and *Salvia microphylla*. *Journal of Natural Products*, 50 (4): 738-740.
- Esquivel B., Martinez N.D.S., Cárdenas J., Rainainoorthy T. P., Rodriguez-Hahn L., (1989). The Pimarane-Type Diterpenoids of *Salvia microphylla* var. *neurepia*. *Planta Medica*, 55.
- Esquivel B., Sanchez A.A., Aranda E., (1996). Natural products of agrochemical interest from mexicanlabiatae. *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals*, Chapitre 34, p. 371.

Esquivel B., Sánchez A.A., Aranda E., (2000). Natural products of agrochemical interest from Mexican Labiatae. In *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals*. Shahidi F., Ho C.T., (Ed). AOCS Press, Champaign, Illinois, USA, 371-385.

Firdous S., Dardass A. K. Y., Khan K. M., Usmani S. B., Ahmad V. U., (1999). A new triterpenoid from the leaves of *Salvia triloba*. *Fitoterapia*, 70(3): 326-327.

Foster S., Tyler V.E., (2000). Tyler's honest herbal: A sensible guide to the use of herbs and related remedies (p. 327–329 and p. 414–415). Binghamton, NY: The Haworth Press.

García-Alvarez M. C., Savonat G., Rodríguez B., (1981). *Triterpenoids from Salvia phlomoides*, three new lupane derivatives. *Phytochemistry*., 20 (3) : 481-483.

Gonzalez A. G., Andres L. S., Ravelo A. G., Luis J. G., Bazzocchi I. L., West J., (1990). Terpenoids from *Salvia mellifera*. *Phytochemistry*, 29(5): 1691-1693.

González A. G., Barrera J. B., Díaz J. G., Pérez E. M. R., Yanes A. C., Rauter P., Pozo J., (1990b). Diterpenes and other constituents of *Eupatorium salvia*. *Phytochemistry*, 29(1): 321-323.

González A. G., Grillo T. A., Ravelo A. G., Luis J. G., Calle J., Rivera A., (1989). Study of *Salvia palaefolia*: Absolute Configuration of Glechomafuran. *Journal of Natural Products*, 52(6): 1307–1310.

González A. G., Grillo T. A., Aguiar Z. E., (1991b). Minor sesquiterpene lactones from *Salvia palaefolia*. *Phytochemistry*, 30 (10): 3462-3464.

González A. G., Luis J. G., Grillo T. A., Vázquez J. T., Calle J., Rivera A., (1991a). A new β -agarofuran sesquiterpene dibenzoate from *Salvia palaefolia*. *Journal of Natural Products*, 54(2): 579–581.

González A. G., Grillo T. A., Luis J. G., Vázquez J. T., Rodriguez M. L., Ravelo J. L., Calle J., Rivera A., (1990)., Sesquiterpene lactones from *Salvia palaefolia*. *Phytochemistry*, 29 (11): 3581-3585.

Grayer R. J., Eckert M. R., Veitch N. C., Kite G. C., Marin P.D., Kokubun T., Simmonds M.S.J., Paton A.J., (2003). The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, Nepetoidins A and B, in the *Lamiaceae*. *Phytochemistry*, 64: 519-528.

Guignard J.L., (2001) Botanique systématique moléculaire. Masson, Paris.

Harley R. M., Atkins S., Budantsev A., Cantino P. D., Conn B., Grayer R. J., Harley M. M., deKok R. P. J., Krestovskaja T., Morales A., Paton A. J., Ryding O., Upson T., (2004). *Labiatae*. In Kadereit J. W. (ed). *The Families and Genera of Vascular Plants*, 7: 167-275.

Heywood V. H., Brumitt R. k., Culham A., Seberg O., (2007). Flowering plant families of the world. Royal botanic Gardens, p. 424.

Horiuchi K., Shiota S., Hatano T., Yoshida T., Kuroda T., Tsuchiya T., (2007). Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(6): 1147-1149.

Huang Y. T., Lee T. Y., Lin H. C., Chou T. Y., Yang Y. Y., Hong C. Y., Hemodynamic effects of *Salvia miltiorrhiza* on cirrhotic rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 79: 566.

Hussein A. A., de la Torre M. C., Rodríguez B., Hammouda F. M., Hussiney H. A., (1997). Modified abietane diterpenoids and a methoxylupane derivative from *Salvia palaestina*. *Phytochemistry*, 45(8): 1663-1668.

Imanshahidi M., Hosseinzadeh H., (2006). The pharmacological effects of *Salvia* species on the central nervous system. *Phytotherapy Research*, 20(6): 427-437.

Iserin P., (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2ème Ed.14, Paris,p. 335.

Ishikawa T., Kondo T., Kinoshita T., Haruyama H., Inaba S., Takeda K., Grayer R. J., Veitch N. C., (1999). An acetylated anthocyanin from the blue petals of *Salvia uliginosa*. *Phytochemistry*, 52(3): 517-521.

- Ishurd O., Zahid M., Khan T., Pan Y., (2001). Constituents of *Salvia moorcroftiana*. *Fitoterapia*, 72(6): 720-721.
- Jenks A.A., (2009). Systematics and Ethnobotany of *Salvia Subgenus Calosphace* and Origins of the Hallucinogenic Sage, *Salvia divinorum*, Dissertation, University of California.
- Jiménez C., Riguera R., (1994). Phenylpropanoid glycosides in Plants: Structure and biological activity. *Natural Product Reports*, 11(6): 591-606.
- Jin Q.H., Han X.H., Hwang J.H., Hong S.S., Park M.O., Lee C., Lee C.H., Lee D.H., Lee M.K., Hwang B.Y., (2009). A new phenylbutanone glucoside from *Salvia plebeian*. *Natural Product Sciences*, 15: 106-109.
- Kamatou G. P.P., Viljoen A. M., Steenkamp P., (2010). Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. *Food Chemistry*, 119(2): 684-688.
- Kan Y., Gökbulut A., Kartal M., Konuklugil B., Yılmaz G., (2007). Development and validation of a LC method for the analysis of phenolic acids in Turkish *Salvia* species. *Chromatographia*, 69(7-8): 803.
- Karaman S., Ilcim A., Comlekcioglu N., (2007). Composition of the essential oils of *Salvia aramiensis* RECH. FIL. and *Salvia cyanescens* Boiss. & Bal. *Pakistan Journal of Botany*, 39(1): 169-172.
- Kolak U., Ari S., Birman H., Hasancebi S., Ulubelen A., (2001). Cardioactive Diterpenoids from the Roots of *Salvia amplexicaulis*. *Planta Medica*, 67: 761.
- Kotan A.C.R., Kordali S., Cakir A., Kesdek M., Kaya Y., Kilic H., (2008). Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC, ex Benth. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 360-368.
- Li Y.G., Song L., Liu M., Hu Z.B., Wang Z.T., (2009). Advancement in analysis of *Salvia miltiorrhizae* Radix et Rhizoma (Danshen). *Journal of Chromatography*, 1216: 1941-1953.

- Li L. N., Tan R., Chen W. M., (1984). Salvianolic acid A, a new depside from roots of *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Medica*, 50: 227.
- Li Y., Wu Y.Q., Du X., Shi Y.P., (2003). Germacrane sesquiterpene esters from *Salvia roborowskii*. *Planta Medica*, 69(8): 782–784.
- Lu X. Z., Xu W. H., Naoki H., (1992). Anthraquinones from *Salvia przewalskii*. *Phytochemistry*, 31(2): 708-709.
- Lu Y., Yeap Foo L., (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75(2): 197-202.
- Lu Y., Yeap Foo L., (2000). Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 55(3): 263-267.
- Lu Y., Foo L. Y., (1999b). Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 51(1): 91-94.
- Lu Y., Foo L. Y., (2001). Salvianolic acid L, a potent phenolic antioxidant from *Salvia officinalis*. *Tetrahedron Letters*, 42(46): 8223-8225.
- Lu Y., Foo L.Y., (2002). Polyphenolics of *Salvia* – a review. *Phytochemistry*, 59 (2): 114–140.
- Lu Y., Foo L. Y., Wong H., (1999). Sagecoumarin, a novel caffeic acid trimer from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 52(6): 1149-1152.
- Maurer B., Hauser A., (1983). New Sesquiterpenoids from Clary Sage Oil (*Salvia sclarea* L.) *Helvetica Chimica Acta*, 66(7): 2223 – 2235.
- Mehmood S., Riaz N., Nawaz S. A., Afza N., Malik A., Choudhary M. I., (2006). New butyrylcholinesterase inhibitory triterpenes from *Salvia santolinifolia*. *Archives of Pharmacal Research*, 29: 195–198.
- Menezes F. S., Kaplan M. A. C., (1993). Ocorrências de diterpenoides na família *Lamiaceae*. *Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas*, 74 (2): 45-46.

- Messaili B., (1995). Botanique, systématique des spermaphytes. OPU (Ed). Alger, p.91.
- Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R., (2004). Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris.
- Miller., 1785. Dictionnaire des jardiniers : contenant les méthodes les plus sûres. 8ème Ed. Paris. p. 647.
- Mirjalili M.H., Salehi P., Sonboli A., Vala M.M., (2006). Essential oil of variation *Salvia officinalis* Aerial parts during its phenological cycle. *Chemistry of Natural Compounds*, 42(1).
- Mukherjee K. S., Bhattacharya M. K., Ghosh P. K., (1982). A triterpene acid constituent of *Salvia lanata*. *Phytochemistry*, 21(9): 2416-2417.
- Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed M.S., Ghorbani A., (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 2: 63-79.
- Ortega A., Cárdenas J., Gage D. A., Maldonado E., (1995). Abietane and clerodane diterpenes from *Salvia regla*. *Phytochemistry*, 39(4): 931-933.
- Ozenda P., (1977). Flore du Sahara. 2. édit. CNRS, Paris, p. 622.
- Ozenda P., (1991). Flore et végétation du Sahara (2e ed). Paris, France, CNRS, 662.
- Pan Z. H., Wang Y. Y., Li M. M., Xu G., Peng L. Y., He J., Zhao Y., Li Y., Zhao Q. S., (2010). Terpenoids from *Salvia trijuga*. *Journal of Natural Products*, 73(6): 1146–1150.
- Pedreros S., Rodríguez B., De La Torre M. C., Bruno M., Savona G., Perales A., Torres M. R., (1990). Dammarane triterpenes of *Salvia hierosolymitana*. *Phytochemistry*, 29(3): 919-922.
- Pereda-Miranda R., Delgado G., de Vivar A. R., (1986). New triterpenoids from *Salvia nicolsoniana*. *Journal of Natural Products*, 49(2): 225-230.

- Perry N.S.L, Bollen C., Perry E. K., Ballard C., (2003). *Salvia* for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 75: 651-659.
- Piozzi F., Bruno M., (2011). Diterpenoids from Roots and Aerial Parts of the Genus *Stachys*. *Records of Natural Products*, 5(1): 1-11.
- Plattner R. D., Powell R. G., (1978). A secoisolariciresinol branched fatty diester from *Salvia plebeia* seed. *Phytochemistry*, 17: 149.
- Powell R. G., Platiner R. D., (1976). Structure of a secoisolariciresinol diester from *Salvia plebeia* seed. *Phytochemistry*, 15: 1963-1965.
- Qian T.X., Li L.N., (1992). Isosalvianolic acid C, a depside possessing a dibenzooxepin skeleton. *Phytochemistry*, 31(2): 1068–1070.
- Quezel F., Santana S., (1963). Nouvelle flore d'Algerie, C.N.R.S., Paris.
- Quezel P. S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
- Quezel P., Santa S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome II). Editions du Centre National de la Recherche Scientifique Paris 7e : 781,804,819.
- Rodríguez-Torres A., Valladares-Cisneros M.G., Gonzalez-Rodríguez J.G., (2015). Use of *Salvia Officinalis* as Green Corrosion Inhibitor for Carbon Steel in Acidic Media. *International journal of electrochemical science*, 10(5): 4053 - 4067.
- Salhi S., Fadli M., Zidane L., Douira A., (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 3: 133-146.
- Savona G., Bruno M., Rodríguez B., (1987). Triterpenoids from *Salvia deserta*. *Phytochemistry*, 26(12): 3305-3308.
- Siebert D.J., (1994). *Salvia divinorum* and *Salvinorin A*: new pharmacologic Findings. *Journal of Ethnopharmacology*, 43: 53-56.

- Tabti M.E., tahdjerit O., (2017). Étude taxonomique de quelques populations de *Salvia Verbenaca* ssp. *Euverbenaca* et ssp. *clandestina* (Lamiaceae) du golfe de Bejaia et de la vallée de la soummam. mémoire de l'obtention du diplôme master en taxo-génétique végétale et évolution.univ. Bejaia.
- Takeda Y., Zhang H., Matsumoto T., Otsuka H., Oosio Y., Honda G., Tabata M., Fujita T., Sun H., Sezik E., (1997). Megastigmane glycosides from *Salvia nemorosa*. *Phytochemistry*, 44(1): 117-120.
- Tanaka T., Nishimura A., Kouno I., Nonaka G., Young T. J., (1996). Isolation and Characterization of Yunnaneic Acids A–D, Four Novel Caffeic Acid Metabolites from *Salvia yunnanensis*. *Journal of Natural Products*, 59(9): 843-849.
- Tenore G.C., Ciampaglia R., Arnold N.A., Piozzi F., Napolitano F., Rigano D., Senatore F., (2011). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 238–243.
- Tomas-Barberan F.A., Wollenweber E., (1990). Flavonoid aglycones from the leaf surfaces of some Labiatae species. *Plant Systematics and Evolution*, 173: 109–118.
- Topçu G., Altiner E. N., Gozcu S., Halfon B., Aydogmus Z., Pezzuto J. M., Zhou B. N., Kingston D. G. I., (2003). Studies on di-and triterpenoids from *Salvia staminea* with cytotoxic activity. *Planta Medica*, 69(5): 464-467.
- Topçu G., Ertas A., Kolak U., Ozturk M., Ulubelen A., (2007). Antioxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*. *Arkivoc*, 7: 195-208.
- Topcu G., Goren A.C., (2007). Biological activity of diterpenoids isolated from Anatolian Lamiaceae plants. *Records of Natural Products*, 1(1): 1–16.
- Topçu G., Tan N., Kökdil G., Ulubelen A., (1997). Terpenoids from *Salvia glutinosa*. *Phytochemistry*, 45(6): 1293-1294.

- Topçu G., Tü rkmen Z., Ulubelen A., Schilling J. K., Kingston D. G. I., (2004). Highly Hydroxylated Triterpenes from *Salvia kronenburgii*. *Journal of Natural Products*, 67(1): 118-121.
- Topçu G., Ulubelen A., (1999). Terpenoids from *Salvia kronenburgii*. *Journal of Natural Products*, 62(12): 1605-1608.
- Topçu G., Ulubelen A., Eris C., (1994). Di-and triterpenoids of *Salvia pomifera*. *Phytochemistry*, 36(3): 743-745.
- Ulubelen A., Ayanolu E., (1976). Vergatic acid, a new pentacyclic triterpene from *Salvia virgata*. *Phytochemistry*, 15(2): 309-311.
- Ulubelen A., Brieskorn C. H., Zdemir N., (1977). Triterpenoids of *Salvia horminum*, constitution of a new diol. *Phytochemistry*, 16(6): 790-791.
- Ulubelen A., Miski M., Mabry T. J., (1981). A new diterpene acid from *Salvia tomentosa*. *Journal of Natural Products*, 44(1): 119-124.
- Ulubelen A., Miski M., Neuman P., Mabry T. J., (1979). Flavonoids of *Salvia tomentosa* (Labiatae). *Journal of Natural Products*, 42(3): 261-263.
- Ulubelen A., Oksuz S., Kolak U., Birman H., Voelter W., (2000a). Cardioactive terpenoids and a new rearranged diterpene from *Salvia syriaca*. *Planta Medica*, 66: 627–629.
- Ulubelen A., Sonmez U., Topcu G., (1997). Diterpenoids from the roots of *Salvia sclarea*. *Phytochemistry*, 44(7): 1297–1299.
- Ulubelen A., Sö nmez U., Topçu G., Johansson C. B., (1996). An abietane diterpene and two phenolics from *Salvia forskahlei*. *Phytochemistry*, 42(1): 145-147.
- Ulubelen A., Tan N., Sö nmez U., Topçu G., (1998). Diterpenoids and triterpenoids from *Salvia multicaulis*. *Phytochemistry*, 47(5): 899-901.

- Ulubelen A., Topçu G., (1984). Flavonoids and terpenoids from *Salvia verticillata* and *Salvia pinnata*. *Journal of Natural Products*, 47(6): 1068.
- Ulubelen A., Topçu G., (1984). Triterpenoids from *Salvia pinnata*. *Phytochemistry*, 23(1): 133-134.
- Ulubelen A., Topçu G., (1994). Terpenoids from *Salvia sclarea*. *Phytochemistry*, 36(4): 971-974.
- Ulubelen A., Topçu G., (1995). Diterpenoids from *Salvia heldrichiana*. *Phytochemistry*, 40(5): 1473-1475.
- Ulubelen A., Topcu G., Johansson C.B., (1997). Norditerpenoids and Diterpenoids from *Salvia multicaulis* with Antituberculous Activity. *Journal of Natural Products*, 60(12): 1275-1280.
- Ulubelen A., Topçu G., Lotter H., Wagner H., Eri C., (1994). Triterpenoids from the aerial parts of *Salvia montbretii*. *Phytochemistry*, 36(2): 413-415.
- Ulubelen A., Topcu G, Tuzlaci E., (1992). New Diterpenoids from *Salvia divaricate*. *Journal of Natural Products*, 55(10): 1518–1521.
- Ulubelen A., Topçu G., Sö nmez U., Eris C., (1994b). Terpenoids from *Salvia nemorosa*. *Phytochemistry*, 35: 1065.
- Valdes III L. J., (1986). Loliolide from *Salvia divinorum*. *Journal of Natural Products*, 49(1): 171.
- Valverde S., Escudero J., CristóbalLópez J., Ma Rabanal R., (1985). Two terpenoids from *Salvia bicolor*. *Phytochemistry*, 24(1): 111-113.
- Veitch N. C., Grayer R. J., Irwin J. L., Takeda K., (1998). Flavonoid cellobiosides from *Salvia uliginosa*. *Phytochemistry*, 48(2): 389-393.
- Walker J. B., Sytsma K. J., Treutlein J., Wink M., (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91(7): 1115-1125.

- Wang M., Kikuzaki H., Zhu N., Sang S., Nakatani N., Ho C. T., (2000). Isolation and Structural Elucidation of Two New Glycosides from Sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2): 235-238.
- Wang M., Shao Y., Huang T. C., Wei G. J., Ho C. T., (1998). Isolation and Structural Elucidation of Aroma Constituents Bound as Glycosides from Sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7): 2509-2511.
- Wang M., Shao Y., Li J., Zhu N., Rangarajan M., LaVoie E. J., Ho C. T., (1999). Antioxidative Phenolic Glycosides from Sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Natural Products*, 62: 454.
- Wang Y., Li Z., Zhang H., Sha Y., Pei Y., Hua H., (2008). New germacrane sesquiterpenes from *Salvia chinensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(6): 843-846.
- Wang N., Niwa M., Luo H.W., (1988). Triterpenoids from *Salvia przewalskii*. *Phytochemistry*, 27(1): 299-301.
- Wang Y. L., Song D. D., Li Z. L., Yuan T., Zhang H. L., Pei Y. H., Jing Y. K., Hua H. M., (2009). Triterpenoids isolated from the aerial parts of *Salvia chinensis*. *Phytochemistry Letters*, 2(2): 81-84.
- Xu G., Peng L. Y., Li X. L., Zhao Y., Tu L., Zhao Q. S., Sun H. D., Lu Y., Mao L., Zheng Q. T., (2005). New sesquiterpenoids from *Salvia castanea* DIELS f. *tomentosa*. *Helvetica Chimica Acta*, 88: 2370-2374.
- Xu G., Hou A.J., Zheng Y. T., Zhao Y., Li X.L., Peng L.Y., Zhao Q.S., (2007). Przewalskin B, a Novel Diterpenoid with an Unprecedented Skeleton from *Salvia przewalskii* Maxim. *Organic Letters*, 9: 291– 293.
- Xu G., Yang X.W., Wu C.Y., Li X.N., Su J., Deng X., Li Y., et al., (2012). Przewalskone: a cytotoxic adduct of a danshenol type terpenoid and an icetexane diterpenoid via hetero-Diels–Alder reaction from *Salvia przewalskii*. *Chemical Communications*, 48: 4438–4440.

- Xu G., Peng L. Y., Hou A. J., Yang J., Han Q. B., Xu H. X. Zhao Q. S., (2008). Isolation, structural elucidation, and chemical transformation of interconvertible 8, 12-hemiketal germacranolide sesquiterpenoids from *Salvia castanea* Diels f. *tomentosa* Stib. *Tetrahedron*, 64(40): 9490- 9494.
- Yang Z., Hon P. M., Chui K. Y., Xu Z. L., Chang Chi Ming H. M., (1991). Naturally occurring benzofuran: isolation, structure elucidation and total synthesis of 5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-2-(3'-methoxy-4'-hydroxyphenyl)-3-benzo[b]furancarbaldehyde, a novel adenosine A1 receptor ligand isolated from *salvia miltiorrhiza* bunge (danshen). *Tetrahedron Letters*, 32(18): 2061-2064.
- Zahid M., Ishrud O., Pan Y., Asim M., Riaz M., Uddin Ahmad V., (2002). Flavonoid glycosides from *Salvia moorcroftiana* wall. *Carbohydrate Research*, 337: 403–407.
- Zahid M., Saeed M., Asim M., Ishrud O., Wu S., Ahmad V.U., Pan Y., (2003). New Glycosides from *Salvia moorcroftiana* (Lamiaceae). *Helvetica Chimica Acta*, 86: 2021.
- Zhang H. J., Li L. N., (1994). Salvianolic acid I: a new depside from *Salvia cavaleriei*. *Planta Medica*, 60(1): 70-72.
- Zhao L. M., Liang X. T., Li L. N., (1996). Prionitisides A and B, two phenolic glycosides from *Salvia prionitis*. *Phytochemistry*, 42: 899.
- Zhang Y., Akao T., Nakamura N., Duan C. L., Hattori M., Yang X. W., Liu J. X., (2004). Extremely low bioavailability of magnesium lithospermate B, an active component from *Salvia miltiorrhiza*, in rat. *Planta Medica*, 70(2): 138-142.
- Zhang Z. F., Chen H. S., Peng Z. G., Li Z. R., Jiang J. D., (2008). A potent anti-HIV polyphenol from *Salvia yunnanensis*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 10(3): 252-255.
- Zhang Z. F., Peng Z. G., Gao L., Dong B., Li J. R., Li Z. Y., Chen H. S., (2008). Three new derivatives of anti-HIV-1 polyphenols isolated from *Salvia yunnanensis*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 10(5): 391–396.
- Zohary M., (1952). A monographical study of the genus *Pistacia*. *Palestine Journal of Botany*, 5(4): 187-228.

Chapitre III: Evaluation biologique de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*

Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E., (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7970–7981.

Baba L., McGrath J.M., (2008). Oxygen free radicals: effects in the newborn period. *Advances in Neonatal Care*, 8(5): 256-264.

Blois M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.

Cragg G.M., Newman D.J., (2000). Antineoplastic agents from natural sources: achievements and future directions. *Expert Opinion Investigational Drugs*, 9(12): 2783-2797.

Ece A., Gurkan F., Celik F., Boşnak M., Yel S., Balik H., Erel O., (2007). Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clinical Biochemistry*, 40(9-10): 634-639.

Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherston R.M., (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7: 88–95.

Gardès-Albert M., Bonne font-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D., (2003). Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité Chimique*, 91-95.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C., (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology & Medicin*, 18: 125–126.

Halliwell B., (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications*, 9: 1-32.

Khan M.K., Abert-Vian M., Fabiano-Tixier A.-S., Dangles O., Chemat F., (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119(2): 851–858.

Kolda S., Demirtas I., Ozen T., Demirci M.A., Behçet L., (2014). Phytochemical screening, anticancer and antioxidant activities of *Origanum vulgare* L. ssp. *Viride* (Boiss.) Hayek, a plant of traditional Usage. *Journal of the science of food and agriculture*, 95(4): 786–798.

Magder S., (2006). Reactive oxygen species: Toxic molecules or spark of life?. *Critical Care Medicine*, 10: 208-216.

Oyaizu M., (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307–315.

Ratnam V.D., Ankola D.D., Baradwaj V., Sahana D.K., Ravi Kumar M.N.V., (2006). Role of antioxidants in Sciences, 81: 895-905.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231–1237.

Suresh Kumar K., Ganesan K., Subba Rao P.V., (2008). Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty–Ane-dible seaweed. *Food Chemistry*, 107(1): 289-295.

Chapitre IV : Partie Expérimentale

Günther H., (1994). La spectroscopie de RMN, Masson, Paris.

Markham K.R., (1982). Technique of flavonoids identification, Academic press, London.

Ribereau-Gayou J.B., (1968). The phenolic compounds of vegetals, Edition Dunod, Paris.

Chapitre V : Résultats et discussion

Ashidate K., Kawamura M., Mimura D., Tohda H., Miyazaki S., Teramoto T., Hirata Y., (2005). Gentisic acid, an aspirin metabolite, inhibits oxidation of low-density lipoprotein and the formation of cholesterol ester hydroperoxides in human plasma. *European Journal of Pharmacology*, 513(3): 173–179.

Agrawal K.P., (1992). Nmr-Spectroscopy in the Structural Elucidation of Oligosaccharides and Glycosides. *Phytochemistry*, 31(10): 3307-3330.

Amaro-Luis J. M., Herrera J. R., Luis J. G., (1998). Abietane diterpenoids from *Salvia chinopeplica*. *Phytochemistry*, 47(5): 895–897.

Badhani B., Sharma N., Kakkar R., (2015). Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *Royal Society of Chemistry Advances*, 5(35): 27540–27557.

Bahadori M.B., Dinparast L., Zengin G., Sarikurkcu C, Bahadori S., Asghari B., Movahhedini N., (2016). Functional components, antidiabetic, anti-Alzheimer's disease, and antioxidant activities of *Salvia syriaca* L. *International Journal of Food Properties*, 20(8): 1761–1772.

Cao J., Xia X., Chen X., Xiao J., Wang, Q., (2013). Characterization of flavonoids from *Dryopteris erythrosora* and evaluation of their antioxidant, anticancer and acetylcholinesterase inhibition activities. *Food and Chemical Toxicology*, 51: 242–250.

Chan H.H., Hwang T.L., Su C.R., Reddy M.V.B., T.S., (2011). Anti-inflammatory, anticholinesterase and antioxidative constituents from the roots and the leaves of *Salvia nipponica* Miq. var. *formosana*. *Phytomedicine*, 18: 148–150.

Chaturvedula V.S.P., Prakash I., (2012). Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(9): 239-242.

- Choi H.G., Tran P.T., Lee J.H., Min B.S., (2018). Anti-inflammatory activity of caffeic acid derivatives isolated from the roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Archives of Pharmacal Research*, 41: 64–70.
- Demirtas I., Sahin A., (2013). Bioactive Volatile Content of the Stem and Root of *Centaurea carduiformis* DC. subsp. *carduiformis* var. *carduiformis*. *Journal of Chemistry*, 1-6.
- Dent M., Kovačević D.B., Bosiljkov T., Dragović-Uzelac V., (2017). Polyphenolic Composition and Antioxidant Capacity of Indigenous Wild Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.). *Croatica Chemica Acta*, 90(3): 451–459.
- Fatope M. O., Salihu L., Asante S. K., Takeda Y., (2002). Larvicidal Activity of Extracts and Triterpenoids from *Lantana camara*. *Pharmaceutical Biology*, 40 (8): 564–567.
- Gericke S., Lubken T., Wolf D., Kaiser M., Hannig C., Speer K., (2018). Identification of New Compounds from Sage Flowers (*Salvia officinalis* L.) as Markers for Quality Control and the Influence of the Manufacturing Technology on the Chemical Composition and Antibacterial Activity of Sage Flower Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 : 1843–1853
- González A.G., Rodriguez Pérez E. M., Padrôn C. H. and Bermejo J., (1997). Phytochemical Investigation of Canary Island lichens. *Virtual avtivity, and Pharmacology*, 49: 60.
- Greenwell M., Rahman P.K.S.M., (2015). Medicinal Plants: Their use in anti-cancer treatment. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6: 4103-12.
- Hatamnia A. A., Abbaspour N., Darvishzadeh R., (2014). Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chemistry*, 145: 306–311.
- Iacopini P., Baldi M., Storch P., Sebastiani L., (2008). Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8): 589–598.

- Kasabri V., Afifi F.U., Hamdan I., (2011). *In vitro* and *in vivo* acute antihyperglycemic effects of five selected indigenous plants from Jordan used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2): 888–896.
- Khatun M., Billah M., Quader M.A., (2012). Sterols and Sterol Glucoside from *Phyllanthus* Species. *Dhaka University Journal of Science*, 60(1): 5-10.
- Kohda H., Takeda O., Tanaka S., Yamasaki K., Kurokawa T., Ishibashi S., (1989). Isolation of Inhibitors of Adenylate Cyclase from Dan-shen, the Root of *Salvia miltiorrhiza*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(5): 1287-1290.
- Ma H.Y., Gao H.Y., Sun L., Huang J., Xu X.M., Wu L.J., (2011). Constituents with α -glucosidase and advanced glycation end-product formation inhibitory activities from *Salvia miltiorrhiza* Bge. *Journal of Natural Medicines*, 65: 37–42.
- Minaiyan M., Karimi F., Ghannadi A., (2015). Anti-inflammatory effect of *Pistacia atlantica* subsp. *kurdica* volatile oil and gum on acetic acid-induced acute colitis in rat. *Research Journal of Pharmacognosy*, 2(2): 1-12.
- Mukherjee P., Kumar V., Mal M., Houghto P., (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14(4): 289-300.
- Peksel A., Arisan-Atac I., Yanardag R., (2010). Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *Journal of Food Biochemistry*, 34(3): 451-76.
- Pistelli L., Bertoli A., Giach I., Manumata A., (1998). Flavonoids from *Genista ephedroides*. *Journal of Natural Products*, 61: 1404-1406.
- Rezaie M., Farhoosh R., Iranshahi M., Sharif A., Golmohamadzadeh S., (2015). Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull using various solvents of different physicochemical properties. *Food Chemistry*, 173: 577–583.
- Sevindik H. G., Ozgen U., Atila A., Ozturk Er H., Kazaz C., Duman H., (2015). Phytochemical Studies and Quantitative HPLC Analysis of Rosmarinic Acid and Luteolin 5-O- β -D-

Glucopyranoside on *Thymus praecox* subsp. *Grossheimii* var. *grossheimii*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 63(9): 720–725.

Sifi I., Dzoyem J.P., Ouinten M., Yousfi M., McGaw L.J., Eloff J.N., (2015). Antimycobacterial, antioxidant and cytotoxic activities of essential oil of gall of *Pistacia atlantica* Desf. From Algeria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(3):150-155.

Yağlıoğlu M.Ş., Gökhan.A., DemirtaşI., Yağlıoğlu A.Ş., (2017). Phytochemical screening, antiproliferative and cytotoxic activities of the mosses *Rhytidiadelphus triquetrus* (Hedw.) Warnst. And *Tortella tortuosa* (Hedw.) Limpr. *Anatolian Bryology*, 3: 31-42.

Yang J., Guo J., Yuan J., (2008). *In vitro* antioxidant properties of rutin. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6): 1060–1066.

Yang H., Ip S.P., Sun H.D., Che C.T., (2008). Constituents of *Salvia trijuga*. *Pharmaceutical Biology*, 41(5): 375–378.

Yu Y., Wang Y., Dong Z., Li W., Li S.M., Huang X., (2017). New phenolic acids from *Salvia yunnanensis* C.H. Wright. *Natural Product Research*, 31(21): 2505–2512.

Zou Y., Tan C., Wang B., Jiang S., Zhu D., (2010). Phenolic Compounds from *Ranunculus chinensis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46 (1).

Conclusion générale

Ce sujet de recherche à caractère phytochimique et pharmacologique, est axé sur l'étude de la phytochimie de deux espèces, *Salvia microphylla* de la famille des Lamiaceae, et *Pistacia atlantica subsp. atlantica* de la famille des Anacardiaceae.

Notre choix pour ces deux espèces est justifié par le fait que :

- L'espèce *Salvia microphylla* appartenant au genre *Salvia* est bien connue pour sa richesse en métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique. Cette espèce a été très peu étudiée du point de vue phytochimique.
- L'espèce *Pistacia atlantica* est connue par sa bonne réputation en médecine traditionnelle et pour l'endémisme de la sous espèce *Pistacia atlantica subsp. atlantica* en Afrique du Nord.

Après extraction hydro-alcoolique des parties aériennes, concentration et affrontement par des solvants de polarité croissante, des deux espèces *P. atlantica subsp. atlantica* et *S. microphylla*, les extraits organiques ont été étudiés chimiquement en utilisant les méthodes de séparation chromatographiques (CC, CCM, CCP et CLHP). La détermination des structures isolées a été réalisée par des méthodes spectrales notamment RMN 1D et 2D (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC et HMBC) et la spectrométrie de masse ESI-MS). En ce qui concerne *Pistacia atlantica subsp. atlantica*, les travaux d'extraction, séparation et de purification des extraits acétate d'éthyle et méthanolique nous ont permis d'isoler treize composés dont 10 ont été identifiés, ce nombre a été réduit en 7 vu que plusieurs produits étaient identiques :

- Loliolide (Nouveau pour le genre *Pistacia*)
- Daucostérol (Nouveau pour le genre *Pistacia*)
- β -sitostérol
- β -amyronone (3-ceto-oléan-12-ène ou oléan-12-ène-3-one).
- Méthyl gallate
- Acide masticadienonique
- Stigmastérol en mélange avec le β -sitostérol

En comparant nos résultats avec ceux des travaux effectués dans la littérature sur les différentes sous espèces de *P. atlantica* Desf., on constate que deux de nos produits isolés ont été décrits pour la première fois pour cette espèce (β -sitostérol, Stigmastérol en mélange avec

le β -sitostérol) et deux pour la première fois dans le genre *Pistacia* (le loliolide et le daucostérol).

L'investigation phytochimique des parties aériennes de l'espèce *Salvia microphylla* a conduit à l'isolement de 22 composés dont 8 ont été identifiés, ce nombre a été réduit en 7 vu que deux produits étaient identiques.

- Daucostérol (Nouveau pour le genre *Salvia*)
- Scutelarein-7,4'-diméthylether (nouveau pour l'espèce)
- Cirsiliol (nouveau pour l'espèce)
- L'oresbuchin A (nouveau pour l'espèce)
- Acide rosmarinique (nouveau pour l'espèce)
- Rosmarinate de méthyl (nouveau pour l'espèce)
- Hespéridine (nouveau pour l'espèce)

La quantification des acides phénoliques et des flavonoïdes des extraits de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* qui a été réalisé par HPLC-TOF/ MS a révélé la présence de 14 acides phénoliques et de 8 flavonoïdes. Les constituants dominants dans *P. atlantica* subsp. *atlantica* sont l'acide gallique, la rutine, les acides chicoriques et gentisique et en particulier la catéchine, la quercétine, qui sont connus dans la littérature pour leurs effets antioxydant important,

Le potentiel antioxydant de *P. atlantica* subsp. *atlantica* a été déterminé par 4 méthodes différentes : DPPH, ABTS, CUPRAC et le pouvoir réducteur. Les résultats ont montré le potentiel antioxydant élevé de notre espèce, et cela est dû aux contributeurs majeurs présent dans notre espèce qui sont : l'acide gallique, l'acide gentisique, la rutine et en particulier la catéchine et la quercétine. Les composés que nous avons identifiés dans nos extraits et en particulier les produits majoritaires sont bien connus pour leur activité antioxydante. Les composés phénoliques majoritaires mis en évidence dans notre étude sont bien connus pour leurs propriétés antidiabétiques. Ces résultats constituent une validation scientifique de l'utilisation ethnopharmacologique antidiabétique observée pour cette espèce.

Par ailleurs, étant donné le potentiel antioxydant remarquable observé pour notre espèce, nous avons étendu les tests biologiques à l'activité anticholinestérase contre la maladie d'Alzheimer qui a été réalisée sur deux enzymes, l'acétyl- et la butyrylcholinestérase. Au vu des résultats obtenus, les extraits des feuilles et des tiges de *P. atlantica* ont une action inhibitrice sur ces enzymes clés impliquées dans les maladies neurodégénératives. Les extraits EtOAc des feuilles

et des tiges et l'extrait des tiges n-BuOH pourraient donc être des candidats prometteurs en tant qu'agents médicinaux naturels contre la maladie d'Alzheimer.

Nos résultats sont en accord avec ceux d'autres chercheurs (Peksel et al., 2010; Mukherjee et al., 2007) qui ont indiqué que l'acide gallique et la quercétine qui sont les composés majoritaires dans les extraits de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* sont responsables de l'activité anticholinestérase, ce qui explique le fort effet inhibiteur qui a été obtenu dans le cas des extraits ACOEt (tiges et fruits).

Donc nos résultats ont confirmé et validé l'utilisation de notre plante en médecine traditionnelle contre la maladie d'Alzheimer.

Nous avons signalé plus haut que nos résultats ont montré que l'espèce *P. atlantica* subsp. *atlantica* peut être considérée comme une source potentielle d'antioxydants naturels.

Comme le stress oxydatif est relié non seulement aux maladies neurodégénératives et cardiovasculaires mais aussi au cancer, nous avons étendu nos évaluations biologiques en effectuant le test de l'activité antiproliférative.

Tous les extraits de *P. atlantica* subsp. *atlantica* ont été testés *vis à vis* des cellules HeLa pour évaluer leur activité antiproliférative. La plus forte inhibition a été observée dans les extraits EtOAc et n-butanol des feuilles et des tiges à toutes les concentrations.

L'analyse par HPLC a mis en évidence la présence d'acides phénoliques et de flavonoïdes dans ces extraits. Les composés phénoliques tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes donnent des effets sur les lignées de cellules cancéreuses humaines et ont également été étudiés de manière approfondie. Dans notre cas, les acides phénoliques majoritaires mis en évidence : gallique, chicorique, gentisique, vanillique, protocatéchique, rosmarinique ainsi que les flavonoïdes : rutine, catéchine et quercétine sont responsables des effets inhibiteurs sur la croissance des cellules HeLa.

Appuyant ainsi le nombre important d'études sur les cultures cellulaires, les modèles animaux et les essais cliniques qui ont montré les effets protecteurs des composés phénoliques et des flavonoïdes contre différents types de cancers. Le mécanisme d'action variant selon la nature de des composés impliqués (Yağhoğlu et al., 2017 ; Demirtas et al., 2013 ; Greenwell et coll., 2015, Cao et al., 2013).

Tous ces résultats valident fortement l'utilisation de cette espèce en médecine traditionnelle.

Nos résultats constituent donc une validation scientifique des propriétés ethnopharmacologiques citées pour l'espèce *P. atlantica* subsp. *atlantica*.

En effet, les propriétés antioxydantes remarquables mises en évidence, la forte **activité anticholinestérase** ainsi que la forte **activité antiproliférative** de nos extraits, montrent que cette espèce peut être une source prometteuse de **substances bioactives naturelles à activité anticancer , antidiabétique et contre les maladies neurodégénératives.**

L'ensemble de ces résultats ne peut qu'encourager à continuer les investigations sur les deux espèces afin de rechercher de nouvelles molécules et l'évaluation d'autres activités biologiques. Enfin, nous espérons que ce travail apportera une modeste contribution au développement de la recherche sur les plantes algériennes qui sont encore à explorer

Résumé

Ce travail a été consacré à l'étude phytochimique et pharmacologique de deux espèces, l'une appartenant au genre *Pistacia* de la famille Anacardiaceae et l'autre au genre *Salvia* de la famille Lamiaceae. Les deux espèces étudiées *Salvia microphylla* et *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* ont été peu étudiées du point de vue phytochimique en Algérie.

L'objectif du présent travail est l'isolement et la détermination des structures des produits isolés à partir des différents extraits, ainsi que l'évaluation *in-vitro* de l'activité antioxydante, de l'activité anticholinestérase et de l'activité antiproliférative contre des cellules humaines du cancer du col de l'utérus (HeLa) des extraits de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.

Différentes méthodes chromatographiques de séparation ont permis l'isolement de :

- Treize composés des extraits acétate d'éthyle et méthanolique de *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*, dont 10 ont été identifiés, ce nombre a été réduit en 7 vu que plusieurs produits étaient identiques, deux de ces derniers ont été décrits pour la première fois pour cette espèce et deux pour la première fois dans le genre *Pistacia* :
 - ✓ Loliolide (Nouveau pour le genre *Pistacia*)
 - ✓ Daucostérol (Nouveau pour le genre *Pistacia*)
 - ✓ β -sitostérol (Nouveau pour l'espèce)
 - ✓ β -amyrénone (3-ceto-oléan-12-ène ou oléan-12-ène-3-one).
 - ✓ Méthyl gallate
 - ✓ Acide masticadienonique
 - ✓ Stigmastérol en mélange avec le β -sitostérol (Nouveau pour l'espèce)
- Vingt-deux composés de *Salvia microphylla* dont 8 ont été identifiés, ce nombre a été réduit en 7 vu que deux produits étaient identiques, un de ces derniers a été décrit pour la première fois dans le genre *Salvia* et les six autres produits ont été décrits pour la première fois pour cette espèce.
 - ✓ Daucostérol (Nouveau pour le genre *Salvia*)
 - ✓ Scutelarein-7,4'-diméthylether (nouveau pour l'espèce)
 - ✓ Cirsiliol (nouveau pour l'espèce)
 - ✓ L'oresbuchin A (nouveau pour l'espèce)

- ✓ Acide rosmarinique (nouveau pour l'espèce)
- ✓ Rosmarinate de méthyl (nouveau pour l'espèce)
- ✓ Hespéridine (nouveau pour l'espèce)

La détermination structurale a été réalisée par les différentes méthodes d'analyses spectroscopiques : résonance magnétique nucléaire et ses différentes expériences (RMN ¹H, et ¹³C, COSY, HSQC et HMBC), HPLC-TOF/MS, la spectrométrie de masse, la spectroscopie ultra-violette ainsi que par la comparaison des résultats avec les données de la littérature.

La quantification des acides phénoliques et des flavonoïdes des extraits de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* a été réalisé par HPLC-TOF/ MS. Le résultat a révélé la présence de 14 acides phénoliques et 8 flavonoïdes : acide gallique, kaempferol, acide gentisique, acide chlorogénique, acide 4-hydroxybenzoïque, acide caféique, acide vanillique, hespéridine, 4-hydroxy benzaldehyde, acide *p*-coumarique, acide cichorique, acide rosmarinique, catéchine, ester éthylique de l'acide protocatéchique, acide protocatechique, acide salicylique, naringénine, acide cinnamique, acide férulique, quercétine, rutine, apigenin-7- glucoside dont les principaux constituants sont l'acide gallique, la rutine, les acides chicoriques et gentisique et en particulier la catéchine, la quercétine, connus dans la littérature pour leurs potentiels antioxydants important.

L'activité antioxydante de l'espèce *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* a été réalisée par 4 méthodes différentes. Les résultats montrent une très forte activité, ceci est expliqué par la richesse de nos extraits en polyphénols et en flavonoïdes notamment la catéchine, quercétine et la rutine qui ont été démontrés comme étant de puissants agents antioxydants selon Yang et al.,2008 et Iacopini et al., 2008. Ces résultats constituent une validation scientifique de l'utilisation ethnopharmacologique antidiabétique observée pour cette espèce.

Etant donné le potentiel antioxydant remarquable observé pour notre espèce, nous avons étendu les tests biologiques à l'activité anticholinestérase contre la maladie d'Alzheimer des phases de *P. atlantica* subsp. *atlantica* qui a été réalisée contre deux enzymes, l'acétyl- et la butyrylcholinestérase. Les résultats obtenus contre l'acétylcholinestérase montrent que les extraits acétate d'éthyle ont eu l'activité la plus élevée. Cette forte activité peut être due à la présence des flavonoïdes et des acides phénoliques qui ont été mis en évidence dans les extraits de ces espèces. Notamment la quercétine et l'acide gallique qui ont été actifs contre

l'acétylcholinésterase selon Peksel et al., 2010, ce qui explique le fort effet inhibiteur qui a été obtenu dans le cas des extraits ACOEt (tiges et fruits).

Donc nos résultats ont confirmé et validé l'utilisation de notre plante en médecine traditionnelle contre la maladie d'Alzheimer et comme le stress oxydatif est relié non seulement aux maladies neurodegeneratives et cardiovasculaires mais aussi au Cancer, nous avons également voulu validé cela en effectuant le test de l'activité antiproliférative des extraits de *P. atlantica* subsp.*atlantica* qui ont été testée sur la croissance des cellules HeLa *in vitro*. Les résultats obtenus montrent que pendant les cinq premières heures, les cellules non traitées par les extraits ont montré la croissance normale. Tous les extraits de *P. atlantica* testés ont montré des activités antiprolifératives élevées à modérées pour les trois concentrations testées (50, 100, 250 µg/ml) contre les cellules de Hela.

- Concernant l'activité antiproliférative l'extrait EMPA (extrait soluble dans le methanol) semble avoir la meilleure réponse aux cellules de Hela pour les trois concentrations testées ; toutefois, cet effet est presque identique pour les trois concentrations.
- L'extrait ECPAF (Extrait acétate d'éthyle des feuilles) a montré des effets inhibiteurs pour les trois concentrations et l'activité antiproliférative la plus élevée a été obtenue à la concentration de 50 µg/ml.
- Dans les extraits EAPAF et EAPAT (extraits acétate d'éthyle des feuilles et des tiges) les concentrations plus élevées (100 et 250 µg/ml) ont montré une activité antiproliférative élevée contre les cellules HeLa.
- Les extraits EBPAF et EBPAT (Extraits butanoliques des feuilles et des tiges) ont présenté une bonne activité inhibitrice sur la croissance des cellules Hela d'une manière dépendante de la dose et du temps. Ces extraits ont montré une inhibition totale des cellules Hela après les 20 premières heures de traitement à 200 µg/ml, mais des concentrations plus basses (50 et 100 µg/ml) ont montré des effets inhibiteurs modérés. La concentration de 200 µg/ml a été trouvée optimale (inhibition la plus élevée) pour tous les extraits excepté l'extrait ECPAF. Ces différences entre les extraits dépendent de leur composition phytochimique. Cette forte activité est peut être due à la présence des flavonoides notamment la rutine et la quercétine qui ont montré un effet protecteur contre différents types de cancers (Cao et al., 2013 ; Greenwell et al., 2015).

Tous ces résultats valident fortement l'utilisation de cette espèce en médecine traditionnelle.

En effet, grâce à la forte activité anticholinestérase ainsi que la forte activité antiproliférative de nos extraits, ils peuvent être une source prometteuse de substances bioactives naturelles à activité anticancer, antidiabétique et contre les maladies neurodégénératives.

Abstract

This work is devoted to the phytochemical and pharmacological study of two species, one belonging to the genus *Pistacia* of the family Anacardiaceae and the other to the genus *Salvia* of the family Lamiaceae. The two studied species *Salvia microphylla* and *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* have been little studied from the phytochemical point of view in Algeria.

The objective of this work is the isolation and determination of the structures of the isolated compounds from the various extracts, as well as the in vitro evaluation of the antioxidant activity, the anticholinesterase properties and the antiproliferative activity against human cancer cells HeLa of the extracts from the species *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*.

Various chromatographic separation methods allowed for the isolation of:

- Thirteen compounds of ethyl acetate and methanol extracts of *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica*, of which 10 were identified, this number was reduced to 7 since several products were identical, two of these were described for the first time for this species and two for the first time in the genus *Pistacia*:
 - ✓ Loliolide (New for the genus *Pistacia*)
 - ✓ Daucostérol (New for the genus *Pistacia*)
 - ✓ β -sitosterol (New for the species)
 - ✓ β -amyrenone (3-ceto-olean-12-ene or olean-12-ene-3-one).
 - ✓ Methyl gallate
 - ✓ Masticienonic acid
 - ✓ Stigmasterol mixed with β -sitosterol (New for the species).
- Twenty-two compounds of *Salvia microphylla* of which 8 were identified, this number was reduced to 7 since two products were identical, one of these was described for the first time in the genus *Salvia* and the other six products were described for the first time for this species:
 - ✓ Daucostérol (New for the genus *Salvia*)
 - ✓ Scutelarein-7,4'-dimethylether (new to the species)
 - ✓ Cirsiliol (new to the species)
 - ✓ Oresbuchin A (new for the species)
 - ✓ Rosmarinic acid (new for the species)
 - ✓ Methyl rosmarinate (new for the species)
 - ✓ Hesperidin (new for the species)

The structural determination was carried out by the different spectroscopic analysis methods: nuclear magnetic resonance and its different experiments (RMN-¹H, RMN-¹³C, COSY, HSQC and HMBC), HPLC-TOF/MS, mass spectrometry, ultraviolet as well as comparison of results with literature data.

The quantification of phenolic acids and flavonoids of extracts of the species *Pistacia atlantica* was carried out by HPLC-TOF / MS. The result revealed the presence of 14 phenolic acids and 8 flavonoids: gallic acid, kaempferol, gentisic acid, chlorogenic acid, 4-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, vanillic acid, hesperidin, 4-hydroxy benzaldehyde, p-coumaric acid, chicoric acid, rosmarinic acid, catechin, ethyl ester of protocatechic acid, protocatechic acid, salicylic acid, naringenin, cinnamic acid, ferulic acid, quercetin, rutin, apigenin-7- glucoside whose main constituents are gallic acid, rutin, chicoric and gentisic acids and in particular catechin, quercetin, known in the literature for their important antioxidant potentials

The antioxidant activity of the species *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* was carried out by 4 different methods. The results show a very high activity, this is explained by the richness of our extracts in polyphenols and flavonoids including catechin, quercetin and rutin which have been demonstrated to be powerful antioxidant agents according to Yang et al., 2008 and Iacopini et al., 2008. These results constitute a scientific validation of the antidiabetic ethnopharmacological use observed for this species.

Given the remarkable antioxidant potential observed for our species, we have extended the biological tests to the anticholinesterase activity against Alzheimer's disease of the phases of *P. atlantica* subsp. *atlantica* which was performed against two enzymes, acetyl- and butyrylcholinesterase. The results obtained against acetylcholinesterase show that ethyl acetate extracts had the highest activity. This high activity may be due to the presence of flavonoids and phenolic acids that have been demonstrated in the extracts of these species. In particular quercetin and gallic acid which have been active against acetylcholinesterase according to Peksel et al., 2010, which explains the strong inhibitory effect that has been obtained in the case of ACOEt extracts (stems and fruits).

So our results confirmed and validated the use of our plant in traditional medicine against Alzheimer's disease and as oxidative stress is related not only to neurodegenerative and

cardiovascular diseases but also to Cancer, it is for this reason that we also wanted to validate this by performing the test of the antiproliferative activity of extracts of *P. atlantica* subsp. *atlantica* that have been tested on the growth of HeLa cells in vitro. The results obtained show that during the first five hours, the cells not treated by the extracts showed normal growth. All *P. atlantica* extracts tested showed high to moderate antiproliferation activities for the three concentrations tested (50, 100, 250 µg/ml) against HeLa cells.

- Regarding antiproliferative activity the EMPA extract (Extract soluble in methanol) seems to have the best response to HeLa cells for the three concentrations tested; however, this effect is almost identical for all three concentrations.
- The ECPAF (Ethyl acetate extract from the leaves) extract showed inhibitory effects for all three concentrations and the highest antiproliferative activity was obtained at the concentration of 50 µg/ml.
- In EAPAF and EAPAT extracts (Ethyl acetate extracts from leaves and stems) higher concentrations (100 and 250 µg/ml) showed high antiproliferative activity against HeLa cells.

The EBPAF and EBPAT extracts (butanolic extracts of leaves and stems) showed good inhibitory activity on the growth of HeLa cells in a dose and time dependent manner. These extracts showed total inhibition of HeLa cells after the first 20 hours of treatment at 250 µg/ml, but lower concentrations (50 and 100 µg/ml) showed moderate inhibitory effects. The 200 µg/ml concentration was found to be optimal (highest inhibition) for all extracts except the ECPAF extract. These differences between the extracts depend on their phytochemical composition. This strong activity may be due to the presence of flavonoids, in particular rutin and quercetin, which have suggested a protective effect against different types of cancer (Cao et al., 2013; Greenwell et al., 2015).

All these results strongly validate the use of this species in traditional medicine.

Indeed, thanks to the high anticholinesterase activity as well as the high antiproliferative activity of our extracts, they can be a promising source of natural bioactive substances with anticancer, antidiabetic and antidegenerative activity.

ملخص

انصب اهتمامنا في هذا العمل على الدراسة الفيتو كيميائية والفارماكولوجية لنببتين، إحداهما تنتمي إلى عائلة Anacardiaceae من الصنف *Pistacia* والأخرى من عائلة Lamiaceae من صنف *Salvia*. النبتتان المدروستان *Salvia microphylla* و *Pistacia atlantica subsp. atlantica* خضعتا لدراسات فيتو كيميائية قليلة في الجزائر. الهدف من هذا العمل هو عزل وتحديد بنيات لمواد معزولة من مستخلصات مختلفة، بالإضافة إلى التقييم المخبري للنشاط الضد تأكسدي ، النشاط المضاد للكولينيستراز والنشاط الضد تكاثري في الخلايا البشرية لسرطان عنق الرحم (Hela) للنبتة *Pistacia atlantica subsp. atlantica*

وأسفرت طرق الفصل الكروماتوغرافي المختلفة عن عزل :

- ثلاثة عشر مركبا من مستخلص أسيتات الإيثيل ومستخلص الميثانوليك من النباتة *Pistacia atlantica subsp. atlantica*، التي تم تحديد 10 منها، تم تخفيض هذا العدد إلى 7 نظرا لتطابق عدة مركبات، وصفت اثنين من هذه المركبات للمرة الأولى لهذه النباتة واثنين للمرة الأولى في جنس *Pistacia*..

- ✓ Loliolide (*Pistacia* جديد بالنسبة للجنس)
- ✓ Daucostérol (*Pistacia* جديد بالنسبة للجنس)
- ✓ β -sitostérol (جديد بالنسبة للنبتة)
- ✓ β -amyronone (3-ceto-oléan-12-ène ou oléan-12-ène-3-one).
- ✓ Méthyl gallate
- ✓ Acide masticadienonique
- ✓ Stigmastérol en mélange avec le β -sitostérol (جديد بالنسبة للنبتة).

- تم تحديد 22 مركبا من النباتة *Salvia microphylla* تم تحديد 8 منها ، تم تخفيض هذا العدد إلى 7 نظرا لأن منتجين متطابقين ، وقد تم وصف واحد من هذه المركبات لأول مرة في جنس *Salvia* وتم وصف المنتجات الستة الأخرى لأول مرة لهذه النباتة.

- ✓ Daucostérol (*Salvia* جديد بالنسبة للجنس)
- ✓ Scutelarein-7,4'-dimethylether (جديد بالنسبة للنبتة)
- ✓ Cirsiliol (جديد بالنسبة للنبتة)
- ✓ L'oresbuchin A (جديد بالنسبة للنبتة)
- ✓ Acide rosmarinique (جديد بالنسبة للنبتة)
- ✓ Rosmarinate de méthyl (جديد بالنسبة للنبتة)
- ✓ Hespéridine (جديد بالنسبة للنبتة)

تم التعرف البنوي على المركبات المعزولة من النبتتين باستعمال مختلف الطرق الطيفية كمطيافية الرنين النووي المغناطيسي بمختلف تقنياتها أحادية وثنائية البعد ($RMN-^1H$, $RMN-^{13}C$, COSY, HSQC, HMBC) ومطيافية الكتلة ومطيافية الأشعة فوق البنفسجية كما استعملنا الطرق الكيميائية المتمثلة في الإماهة الحمضية إلى جانب مقارنة النتائج مع معطيات المراجع.

تم إجراء القياس الكمي للأحماض الفينولية والفلافونويدات من مستخلصات النبتة *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* بواسطة HPLC-TOF/ MS. وكشفت النتيجة عن وجود 14 حمض فينولي و 8 فلافونويدات : acide gallique, kaempferol, acide gentisique, acide chlorogénique, acide 4-hydroxybenzoïque, acide caféique, acide vanillique, hespéridine, 4-hydroxy benzaldehyde, acide *p*-coumarique, acide cichorique, acide rosmarinique, catéchine, ester éthylique de l'acide protocatéchine, acide protocatechique, acide salicylique, naringénine, acide cinnamique, acide férulique, quercétine, rutine, apigenin-7-glucoside، حيث مكوناتها الرئيسية هي acide gallique, la rutine, les acides chicoriques et gentisique وعلى وجه الخصوص catéchine, quercétine المعروفتان بإمكاناتهما المضادة للأكسدة.

واستُخدمت 4 أساليب لتقييم النشاط المضاد للأكسدة للنبتة *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* .. تظهر النتائج نشاطا مرتفعا جدا ، وهذا يفسره ثراء مقتطفاتنا في البوليفينول والفلافونويدات بما في ذلك quercetin و catechin و rutin التي ثبت أنها عوامل مضادة للأكسدة قوية وفعال Yang et al.,2008، Iacopini et al.,2008. وتشكل هذه النتائج التحقق العلمي من استخدام مضادات السكريات العرقية التي لوحظت لهذا النوع.

وبالنظر إلى إمكانات مضادات الأكسدة الملحوظة التي لوحظت لنبتتنا، قمنا بتوسيع نطاق الاختبارات البيولوجية لتشمل نشاط مضادات الكولينستراز ضد مرض الزهايمر للنبتة *P. atlantica* subsp. *atlantica* الذي تم تنفيذه ضد اثنين من الانزيمات، أستيل- و butyrylcholinesterase. النتائج التي تم الحصول عليها ضد acétylcholinestérase تبين أن مقتطفات استات الإيثيل كانت أعلى نشاطا. قد يكون هذا النشاط العالي بسبب وجود الفلافونويدات والأحماض الفينولية التي تم إثباتها في مقتطفات من هذه الأنواع. على وجه الخصوص كيرسيتين وحمض الغاليك التي كانت نشطة ضد أستيل وفقا Peksel et al., 2010.

لذلك أكدت نتائجنا صحة استخدام نبتتنا في الطب التقليدي ضد مرض الزهايمر وكما يرتبط الإجهاد التأكسدي ليس فقط لأمراض الأعصاب والقلب والأوعية الدموية ولكن أيضا للسرطان، وهذا هو السبب في أننا أردنا أيضا للتحقق من صحة هذا من خلال إجراء اختبار النشاط المضاد للتكاثر لمستخلصات مختلفة من *P. atlantica* subsp. *atlantica* على نمو خلايا HeLa في المختبر. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أنه خلال الساعات الخمس الأولى ، الخلايا التي لم تعالج من قبل المستخلصات نموا طبيعيا. وأظهرت جميع مستخلصات *P. atlantica* subsp. *atlantica* التي تم اختبارها أنشطة عالية إلى معتدلة لمكافحة الانتشار التكاثري للتركيزات الثلاثة التي تم اختبارها (50، 100، 250 ميكروغرام/مل) ضد خلايا HeLa.

- فيما يتعلق بالنشاط المضاد للتكاثر ، يبدو أن مستخلص EMPA (مستخلص قابل للذوبان في الميثانول) لديه أفضل استجابة لخلايا HeLa للتركيزات الثلاثة التي تم اختبارها ؛ ومع ذلك ، فإن هذا التأثير مطابق تقريبا لجميع التركيزات الثلاثة.
 - وأظهر مستخلص ECPAF (مستخلص أسيتات الإيثيل من الأوراق) تأثيرات مثبطة لجميع التركيزات الثلاثة وتم الحصول على أعلى نشاط بتركيز 50 µغرام/مل.
 - في مستخلصات EAPAF و EAPAT (مستخلصات أسيتات الإيثيل من الأوراق والسيقان) التركيزات الأعلى (100 و 250 µغرام / مل) أظهرت نشاطا عالي ضد خلايا HeLa.
 - أظهرت مستخلصات EBPAF و EBPAT (مستخلصات البوتانوليك من الأوراق والسيقان) نشاطا مثبطا جيدا على نمو خلايا HeLa بطريقة تعتمد على الجرعة. وأظهرت هذه المستخلصات تثبيط كلي للخلايا HeLa بعد أول 20 ساعة من العلاج في 200 µغرام / مل، ولكن التركيزات الأقل (50 و 100 µغرام / مل) أظهرت آثار مثبطة معتدلة.
- تم العثور على تركيز 200 µغرام / مل الأمثل (أعلى تثبيط) لجميع مستخلصات باستثناء المستخلص ECPAF.

تعتمد هذه الاختلافات بين المستخلصات على تركيبها الكيميائية النباتية. قد يكون هذا النشاط القوي بسبب وجود مركبات الفلافونويد ، ولا سيما rutin و quercétine، والتي اقترحت تأثيرًا وقائيًا ضد أنواع مختلفة من السرطان (Cao et al. ، 2013 ؛ Greenwell et al., 2015).

كل هذه النتائج تثبت بقوة استخدام هذا النوع في الطب التقليدي. في الواقع، وذلك بفضل نشاط مضادات الكولينستراز العالي فضلًا عن النشاط القوي المضاد للتكاثر لمستخلصاتنا، فإن نبتتنا يمكن أن تكون مصدرًا واعدًا للمواد الطبيعية النشطة بيولوجيًا مع نشاط مضاد للسرطان ومضاد لمرض السكر وضد الأمراض العصبية.