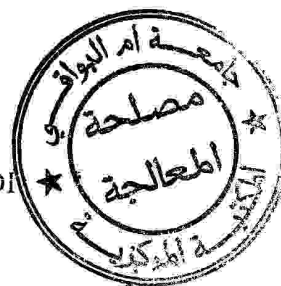


MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

CENTRE UNIVERSITAIRE LARBI BEN M'HIDI  
OUM EL BOUAGHI



INSTITUT DES SCIENCES EXACTES

N° DE SERIE :

---

# ISOLATION ET IDENTIFICATION DES GLUCOSIDES DE LA PLANTE TEUCRIUM POLIUM SSP CYLINDRACEUM

---

Mémoire présentée pour l'obtention du diplôme de magister  
Spécialité : Chimie  
Option : Chimie Organique Industrielle  
Présentée par : **FATIMA ADJEL**

Soutenue le /10 / 2002 devant la commission d'Examen:

**M. K. LAMARA**  
**M. M. R. Y. EL HILLO**  
**M. A. BOUTARFAIA**  
**M. A. BOUCHEMMA**  
**M. A. MEGHEZZI**

Maître de Conférence, C. U d'Oum EL Bouaghi,  
Professeur, C. U d'Oum EL Bouaghi,  
Maître de Conférence, Université de Biskra,  
Maître de Conférence, C. U d'Oum EL Bouaghi,  
Maître de Conférence, Université de Biskra,

Président  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Examineur

## Remerciement

*Cette mémoire à été menée au sein du laboratoire de chimie organique de centre universitaire d'O. E. B, dirigé par Monsieur le Professeur MALEK RASSOUL YACINE EL HILLO, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour la confiance dont il a toujours fait preuve à mon égard.*

*Je suis très honorée que le maître de conférence lamara kaddour, au centre universitaire d'O. E. B ait accepté la présidence de ce jury et l'en remercie vivement.*

*J'adresse de sincère remerciements à monsieur A. Boutarfaia, maître de conférence à l'université de Biskra, M<sup>r</sup> A. Meghezzi, maître de conférence a l'université de Biskra et M<sup>r</sup> A. Bouchemma, maître de conférence au centre universitaire d'O. E. B pour leurs participation à ce jury.*

*Les tests microbiologiques ont été effectués au laboratoire de bactériologie du S.S. Bachir Ben Nacer- Biskra- à l'aide de M<sup>ELLE</sup> Naima Benchikha . je lui adresse mes plus vifs remerciements.*

*Je remercie vivement Assia Sid ,Asma Fettah, Saliha Bala et Nora Abdessallem pour leurs aide précieuse.*

*Mes remerciements s'adressent également à tout le personnel des différents services de laboratoire pour le matériels et les moyens qu'il ont mis à ma disposition, pour mener à bien ce travail de recherche, surtout M<sup>r</sup> Messabhia, Lahcen, Moussira, Soraya et Maamri.*

*Et à ceux qui m'ont aidé de prés et de loin.*

# Sommaire

<b>Introduction Générale</b>	01
------------------------------	----

<b>Chapitre I : Rappel Botanique et Généralité sur les Glucosides</b>
---

<b>I. Rappel Botanique</b>	02
I- 1- Caractères généraux des labiées	02
I- 2- Teucrium	02
I- 3- Teucrium polium	02
I- 4- T. polium ssp cylindraceum	03
I- 5- Systématique de la plante	03
<b>II- Généralités sur les Glucosides</b>	04
II- 1- Introduction	04
II- 2- définition des glucosides	05
II- 3- Les glucosides naturels	05
II- 4- Propriétés générales des glucosides	06
II- 5- Classification des glucosides	07
II- 5 -1- Glucoside d'alcool de l'aliphatic et d'alditols	07
II- 5- 2- Les glucosides phénoliques	08
II- 5- 3- Les glucosides cyanogénétique	08
II- 5- 4- Les glucosides de anthocyanidines	09
II- 5- 5- Les glucosides de l'hydroxyflavone	11
II- 5- 6- Les glucosides de saponines	13
II- 5- 7- Glucosides cardiaques	14
II- 5- 8- glucosides steroïdique	15
II- 5- 9- Thioglucosides	15
II- 5- 10- Glucoside du coumarine	16
II- 5- 11- Composés C- glucosyl	17
<b>III- Propriétés Physico- Chimique, Extraction</b>	20
III-1- Solubilité et extraction	20

## Chapitre II :

### Méthode de Séparation, Purification et d'Identification

<b>I- Généralités</b>	22
I-1- Produits utilisée	22
I-1-1- Solvants	22
I-2- Méthodes d'analyses	22
I-2-1- Spectroscopie infrarouge	22
I-2-2- Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire	22
I-2-3- Spectrométrie de masse	23
I-2-4- Spectroscopie UV- Visible	23
I-3- Méthodes générales	23
I-3-1- Extraction	23
I-3-2- La chromatographie sur couche mince( CCM)	23
I-3-3- La chromatographie sur colonne	23
I-3-4- La recristallisation	24
I-3-5- Point de fusion	24
<b>II- Les Testes Chimiques</b>	24
<b>III - Récolte de la Plante et Extraction</b>	26
III-1- 1 <sup>ère</sup> Méthode d'extraction (macération)	26
III-2- 2 <sup>ème</sup> Méthode d'extraction	26
<b>IV- Purification du Composé 1</b>	27
<b>V- Identification du Produit 1</b>	28
V- 1- Test de sucre	28
V-2- Test de fonction carbonyle	28
<b>VI- Réaction d'Acétylation</b>	29
<b>VII- Recristallisation de Composés 3</b>	29
<b>VIII- Résultats et discussions</b>	29
<b>IX- Conclusion</b>	38

## **Chapitre III :**

### **Activité Biologique des Glucosides**

<b>I- Introduction</b>	39
<b>II- Propriétés Biologiques des Flavonoïdes</b>	39
<b>III- Utilisation en Thérapeutique</b>	40
<b>IV- Partie Expérimentale</b>	41
IV-1- Les Souches	41
IV-2- détermination de l'activité inhibitrice des glucosides flavonoïdes	41
IV- 3- détermination de la concentration minimale inhibitrice	43
<b>V- Résultats et Discussions</b>	43
<b>VI- Conclusion</b>	44
<b>Conclusion général</b>	46

### **Références Bibliographiques**

# **Introduction Générale**

## **Introduction Générale**

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques remonte aux temps le plus reculés, mais ce n'est qu'à partir de 19<sup>ème</sup> siècle, que la médecine scientifique a s'intéresser aux effets thérapeutique, mais aussi à la toxicité. Aujourd'hui, plus de la moitié des molécules d'intérêt pharmacologique sont plus au moins directement issues de substances naturelles.

Le *Teucrium polium* ssp *cylindraceum* est une plante des labiées, elle présente des propriétés pharmacologiques et une activité biologique très intéressante, la poudre est cicatrisante, antiseptique et anti- inflammatoire tandis que l'extrait aqueux est hypoglycémiant, elle est très utilisée en médecine populaire sous formes diverses grâce à ses propriétés thérapeutiques. D'ailleurs, c'est ce qui a conduit les chimistes à rechercher ses principes actifs dans le but de confirmer cette activité.

Notre collaboration à l'étude de cette plante et spécialement cette sous espèce a donc consisté à isoler les glucosides et l'étude de l'activité biologique du produit isolés, surtout d'effet anti- microbienne.

Dans ce travail nous nous intéressons à l'extraction, purification et l'identification des glucosides de la plante *teucrium polium* ssp *cylindraceum* de la famille des labiées.

Notre travail englobe 3 chapitre

- ❖ Le premier chapitre est consacré à l'étude botanique et généralité sur les glucosides.
- ❖ Le deuxième chapitre est inclut le protocole expérimentale et discussion des résultats.
- ❖ L'étude de l'activité biologique de glucoside flavonoïde isolés sera décrit dans le dernier chapitre.

Et enfin on terminera par conclusion générale.

## **Chapitre I :**

# **Rappel Botanique et Généralités sur les Glucosides**

## **I- Rappel Botanique**

Le botaniste joue un grand rôle dans le domaine de la chimie des substances naturelles, car aucun travail ne peut se faire sans identification botanique de la plante. Pour cette raison, on a abordé cette partie avec un peu de détail.

### **I- 1- Caractères généraux des labiées**

La famille des labiées comprend 4000 espèces et 200 genres [1]. Les plantes de cette famille sont herbacées annuelles ou vivaces [2] rarement arbustes, exceptionnellement arbres [3]. La tige a une section plus ou moins carrée [4], portant des feuilles opposées au sommet des tiges, les fleurs sont groupées en verticilles, ont un calice légèrement irrégulier, mais la corolle possède une lèvre supérieure arquée en casque faite de deux pétales soudés [5], et une lèvre inférieure à 3 dents (formée par 3 pétales ) [3]. Les étamines, au nombre de 4 sont de deux tailles et logées sous le casque, l'ovaire a 4 loges et en réalité formée de 2 carpelles, chacune contenant 2 ovules, et forme à maturité tétrakène [6].

### **I- 2-Teucrium**

Le genre teucrium comporte 200 espèces réparties autour de la méditerranée, et qui ont figurés sur la pharmacopée française. Ce sont des remèdes populaires, toniques, amères et vulnéraires [7].

### **I- 3-Teucrium polium**

Plante à feuilles linéaires ou lancéolées à marge en général révolutes, denticulées, inflorescences en tête denses ou un peu allongées, à bractées florales réduites semblables aux feuilles [8].

#### I- 4- *T. polium* ssp *cylindraceum*

Plante de la famille des labiées, très utilisée en médecine populaire surtout pour ses activités anti-inflammatoires, cicatrisantes, sédatives des douleurs abdominales et hypoglycémiantes.

#### I- 5- Systématique de la plante

La systématique botanique représente la carte d'identité de la plante, pour les chercheurs dans le domaine des substances naturelles.

On peut résumer la systématique de la plante comme suit :

Embranchement	: Angiospermes
Classe	: Dicotylédone
Ordre	: Tubi florale
Famille	: labiatae
Genre	: <i>Teucrium</i>
Espèce	: <i>Polium</i>
SSP	: <i>Cylindraceum</i>



## II- Généralités sur les Glucosides

### II- 1- Introduction

Dans la nature, les glucosides qui se produisent sont ceux qui constituent un groupe le plus hétérogène de carbohydrates. Une grande variété de génine a été identifiée, d'où la partie de carbohydrates de ces glucosides est un mono- ou disaccharide, ou moins fréquemment macro-oligosaccharide. Le génine peut contenir divers groupes fonctionnels qui influencent sur les propriétés chimiques, physiques, et pharmacologiques du glucoside correspondant. Les glucosides utilisés comme drogues sont nombreux, et seulement quelques composés synthétisés sont capables de remplacer un glucoside naturel employé comme agent thérapeutique.

La plupart des glucosides complexes sont isolés à partir des plantes et ont souvent des noms insignifiants qui désignent leurs origines. Quelques uns, tels que les dérivés des flavons, sont distribués largement dans plusieurs plantes, les autres sont localisés dans un petit nombre des espèces botaniques; des exemples, tels que les glucosides de type anthraquinone ou stéroïde, et les 1-thioglycosides des curcifereas et les familles qui leurs sont apparentées. La distribution des glucosides dans la nature a été esquissée dans de nombreux travaux de taxonomie.

Dans les tissus de la plante, les glucosides sont localisés principalement dans l'épiderme, endoderme et dans la moelle. Les méthodes utilisées pour leur extraction et leur purification varient d'après la structure du genin. Les glucosides sont caractérisés par les méthodes physiques tels que Ultra violet, Infrarouge, et la spectroscopie RMN.

La majorité des glucosides complexes sont des O-glucosides. Ils sont issus de la condensation du groupe hydroxyle de l'hémi acétal du carbohydrate et celui de l'alcool ou du phénol. Les thioglycosides sont produits à partir d'une condensation d'un thiol avec un sucre. Quelques glucosides naturels sont C- glucosides dont le C-1 d'hydrate de carbone est attaché directement à un atome du carbone de l'aglycone [9].

## II- 2- Définition des glucosides

Les glucosides, composés de la famille des glucides dont l'hydrolyse avec un acide inorganique [10] libèrent des oses (ou des dérivés d'oses) et une fraction non glucidique appelée aglycone [11, 12].

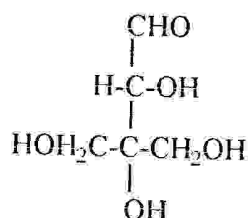
Selon que l'aglycone est liée à l'ose par un atome d'oxygène ou un atome d'azote, on distingue le O- hétéroside et le N- hétéroside [13, 14].

Les aglycones sont de nature très diverses. Ils peuvent être aldéhydes, cétones, alcools, esters ..... etc. [15].

## II- 3- les glucosides naturels

Parmi les sucres obtenus par hydrolyse complète des glucosides sont les monosaccharides. Le D-fructose a été décrit seulement dans le pajaneeline comme glucoside de l'écorce de *rheedii pajanelia*, et dans quelques saponines. D-galactose et D- mannose sont aussi rencontrés rarement dans les glucosides naturels dont le D-glucose est trouvé dans quelques saponines et les glucosides qui contiennent le D-mannose existe dans les algues seulement.

Cependant, le 6- désoxy- L- mannosides (L- rhamnosides) et le 6- désoxy- D- (ou L-) galactosides (fucosides) sont les plus fréquemment synthétisés. Parmi les pentoses, le L- arabinose est plus commun que le D-xylose. La mention qui devrait être faite est que les groupements de la structure des sucres du désoxy, qui constituent les glucosides cardiaque. Il sont tous des dérivés de 6- désoxy- hexoses ; le groupe hydroxyle en C-2 peut être remplacé par un atome d'hydrogène (2,6- didésoxyhexoses), et le groupement hydroxyle en C-3, peut être méthyler. Le D-apiose (1), trouvé dans les glucosides de l'apiin des feuilles de persil, est un sucre rencontré dans les antibiotique.



Apiose (1)

Dans quelques glucosides, la partie du carbohydrate est un sucre unique, habituellement le D-glucose; dans les autres exemples, deux molécules de sucre sont attachées aux groupes différents de l'hydroxyle de l'aglycone, comme dans les glucosides du flavone.

Plus souvent les composés glucosidiques sont des oligosaccharides, quelquefois le reste de l'hydrate de carbone est un disaccharide; un glucosylglucose (par exemple: gentiobiose d'amygdaline, sophorose de sophoraflavonoside), un arabinosyle glucose(vicianose dans vicinine), un rhamnosylglucose (rutinose dans rutine) ou xylosylglucose (primeverose dans primeveroside). Parmi l'oligosaccharides les plus complexes sont les lycotetranoses (dans tomatine) et les hétérosides cardiaque. Ces oligosaccharides ont été examinés par Stanek.

Dans les plantes, les glucosides sont souvent accompagnés par des enzymes capables d'hydrolyse. Avant l'extraction, il est, par conséquent, nécessaire de stabiliser la matière mouillée, comme le chauffage rapide en utilisant l'éthanol en présence de carbonate du calcium comme un agent neutralisant. Ce traitement désactive les enzymes. Les oligosaccharides libres peuvent être isolés par hydrolyse douce (avec l'anhydride acétique - chlorure de zinc ) et on peut utiliser les dérivés O- acétyle pour les céder.

Dans la nature se produise les glucosides  $\beta$ - D- enchainés, qui sont généralement levorotatory, et aussi les  $\beta$ - D- glucosides hydrolysables par la préparation enzymatique d'emulsin de l'amande. Cependant, quelques hétérosides possèdent la configuration  $\alpha$ - D[9].

#### II-4- Propriétés générales des glucosides

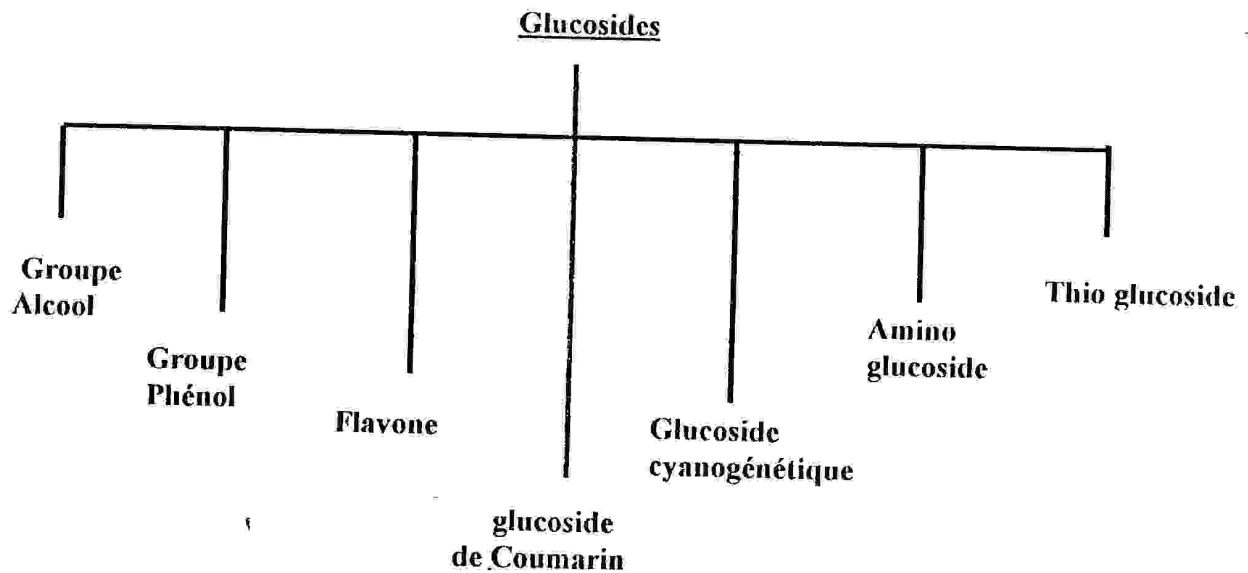
Les glucosides peuvent être cristallins ou non cristallins, ils sont hydrosolubles et solubles dans les alcools dilués [16], sauf quand la portion hydrocarbonée de l'aglycone devient suffisamment large pour dominer le comportement physique des composés. Dans la série de N-alkyle  $\beta$ - D glucoside, le D- glucoside devient plutôt difficilement soluble dans l'eau quand l'aglycone prend plus de neuf atomes de carbone [9].

Plusieurs produits pharmaceutiques que comprennent des glucosides, existent sous forme d'extraits liquides ou d'oxires. Les solutions aqueuses des glucosides ont souvent un goût amer, et aussi ils sont levorotatory [16].

L'hydrolyse enzymatique, s'opère généralement en présence des enzymes spécifiques de l'hydrolyse des holosides, ce qui veut dire qu'elle est généralement indépendante de la nature de l'aglycone. les  $\alpha$ - glucosidases hydrolysent les  $\alpha$ - hétérosides. Il en résulte qu'un hétéroside dérivant d'un diholoside peut être transformé par un enzyme spécifique en un hétéroside plus simple, avec élimination d'un ose[14].

## II- 5- Classification des glucosides

Les glucosides sont classés selon la nature de sucre dans le glucoside, ou selon la structure chimique de la partie aglyconique, qui a un intérêt médical [17]et ce dernier est le plus utilisé dans la classification des glucosides [14]. selon cette classification on peut systématiser les glucosides comme suit:



### II- 5 -1- Glucoside d'alcool aliphatique et d'alditols

Le plus simple de ces glucosides est le méthyl  $\beta$ - D- glucopyranoside, isolé à partir des feuilles de *succisa scabiosa*. Il peut exister seulement dans *dipsacaseae* et *rhamnaceae*. L'éthyl  $\alpha$ - D-glucopyranoside a été obtenu du *phosphatide de lupin*.

Plusieurs glucosides d'alditols se produisent aussi dans la nature: le floridoside (2- O-  $\alpha$ - D-galactopyranosylglycérol) dans les algues rouges, O-  $\alpha$ - D-mannopyranosyl- (1 $\rightarrow$ 3)- O- $\alpha$ - D-galactopyranosyl- (1 $\rightarrow$ 2)- glycérol de *furcellaria*, O-  $\alpha$ - D-galactopyranosyl- (1 $\rightarrow$ 6)- O-  $\beta$ - D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 1)-glycérol de *polysiphoniae*, et les glycolipides de la farine du blé. L'umbilicin, de *umbilicaria*, est O-  $\beta$ - D-galactofuranosyl- (1 $\rightarrow$ 3)- D- arabinitol, le *lichen peltigera* contient un galactoside de D- mannitol.

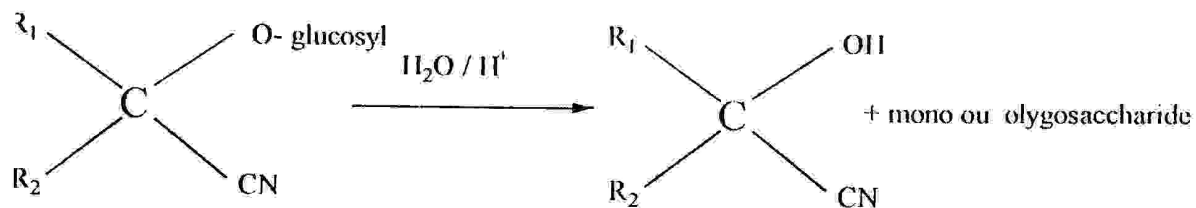
Un  $\alpha$ - D- mannoside d'un acide glycérique a été extrait à partir de l'algue du genre *polysiphonia*. Plusieurs glucosides de myo- inositol sont connus: le galactinol (O-  $\alpha$ - D-galactopyranosyl (1 $\rightarrow$ 1)- myo- inositol) de la betterave à sucre, et di-, tri- et penta-mannosides de myo- inositol du phosphatides de *mycobacterium tuberculosis* [9].

## II- 5- 2- Les glucosides phénoliques

De nombreux produits naturels renferment des monosaccharides liés à d'autres types de composés, ainsi l'arbutine ( l'hydroquinone B- O- glucoside ) [18] qui existe dans de nombreuses plantes ( *rosaceae*, *uva*, *ursi* ). Le salicine (2-hydroxy méthyle)-phényle  $\beta$ -D- glucopyranoside) existe dans les feuilles de la plante *salix*, dont l'hydrolyse donne un dérivé phénolique (2-hydroxy méthyl phénol)[19].

## II- 5- 3- Les glucosides cyanogénétique

Plusieurs plantes contiennent des glucosides dont l'hydrolyse donne hydrocyanide ou leur dérivé, où le groupement nitrile est lié à l'aglycone [20]. Son hydrolyse peut être schématisée comme suit:



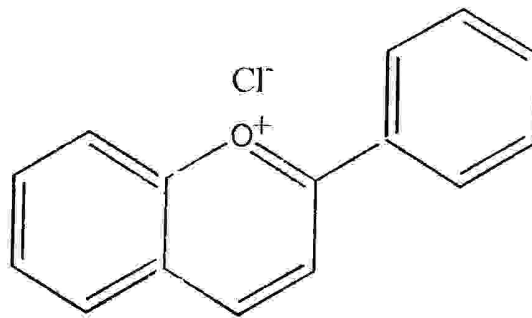
On peut distinguer les hétérosides dont l'hydrolyse donne les aldéhydes aromatiques, comme l'amygdaline, et les hétérosides qui donnent par hydrolyse les cétones aliphatiques tels que linamarine, lotaustraline, acaciptaline[9] .

#### II- 5- 4-Les glucosides d' anthocyanidines

Ces pigments localisés dans la sève des cellules, sont responsables des couleurs rouge, violet, et bleu de beaucoup de fleurs, fruits, et feuilles. Ils changent leur couleur d'après le pH de la solution.

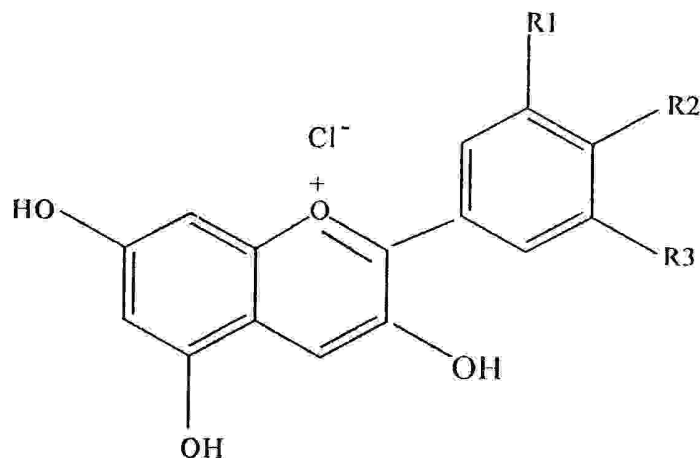
WILLSTATTER qui a isolé le cyanine du *bluet* en 1913, a introduit le terme de l'anthocyanine pour désigner le glucoside, et le terme l'anthocyanidine pour l'aglycone correspondant.

Les anthocyanidines sont des dérivés de l'hydroxy des sels du flavylum (2- phénylbenzopyrylium) (2). Soumis à une fusion alcaline, ils cèdent le phloroglucinol et les dérivés hydroxy de l'acide benzoïque ou chlorures du delphénidine.



• Flavylium chloride (2)

Ces trois types possèdent les systèmes 3, 5, 7- trihydroxyflavylium (3) et ils sont différent par le nombre des groupes hydroxy et méthoxy présents. Ces structures peuvent être résumées comme suit :



### 3, 5, 7- trihydroxyflavylium (3)

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Pelargonidin chloride	H	OH	H
Cyanidin chloride	OH	OH	H
Delphenidin chloride	OH	OH	OH
Peonidin chloride	OMe	OH	H
Malvidin chloride	OMe	OH	OMe

Dans chaque groupe, les anthocyanidines se diffèrent aussi par le nombre et par l'emplacement de l'hydrate de carbone et les groupes méthoxy. Les glucosides les plus importants et les plus connus sont les dérivés du 3,5- di- D- glucosyl ( pelargonine, cyanine, delphenine, peonine, malvine ). La procédure classique de la synthèse d'anthocyanines est celle esquissée par ROBINSON pour peonine, partant de phloroglycinaldéhyde et 3- méthoxy- 4- acétoxyacétophénone. Avant la présentation des teintures synthétiques, quelques-uns de ces glucosides ont été largement utilisés comme colorants.

Beaucoup de tissus de la plante contiennent des matières incolores, par traitement avec des acides minéraux, ils sont convertis en composés rouge qui ont un rapport avec l'anthocyanines. Bien qu'ils sont peu comparables aux dérivés du leuco des teintures. les noms

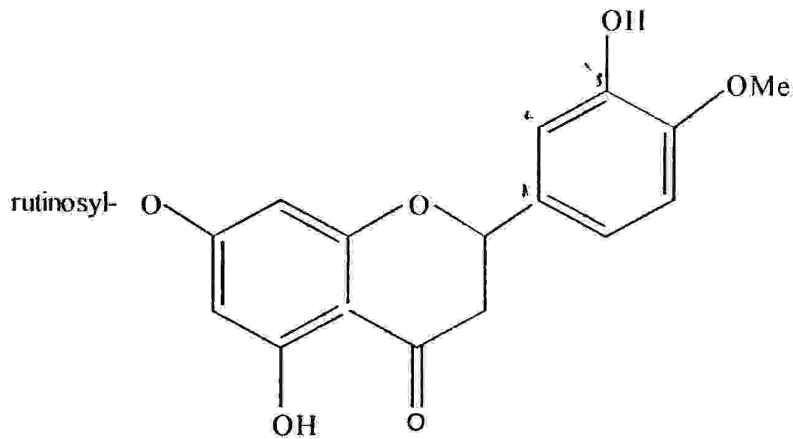
de ces substances incolores ont été donnés par ROSENHEIM. Quelques- un paraissent être 3,4-dihydroxyflavans que la relation confirme le rassemblement de l'anthocyanines au glucosides du flavone [21,22].

## II- 5- 5- Les glucosides de l'hydroxyflavone

Ces glucosides largement distribués, sont responsables de la couleur jaune ou brune de beaucoup des fleurs et fruits. Leurs aglycones sont dérivés de l'hydroxy de 2-phénylbenzopyrone (flavone) ou, plus rarement, de 3- phénylbenzopyrone (isoflavone). Ils peuvent être classés selon la position du groupe hydroxyle et l'état de saturation de l'hétérocycle oxygéné. les aglycones du glucoside flavone vrais ont le groupe hydroxyl à C-5, C-7, C-3' ou C-4', mais pas à C-3, par exemple, apiïne et glucoluteolin.

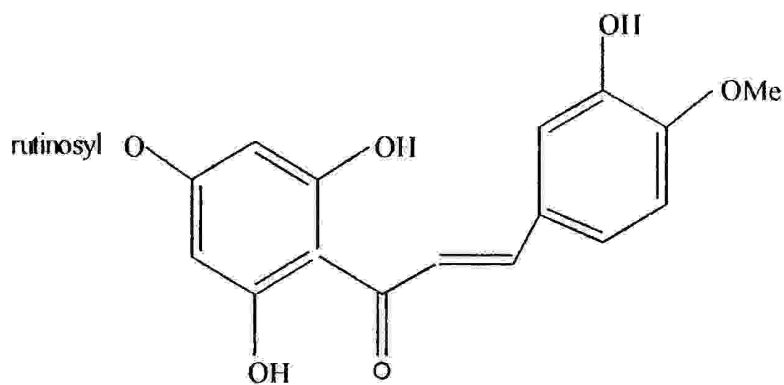
Les glucosides du flavonol ont un aglycone qui possède un groupe d'hydroxyl à C-3, et un ou plusieurs hydroxyls à C-5, C-7, C-3' ou C-4'. Les aglycones les plus importants de ce groupe sont les kaempferole (3,5,7,4'- tétrahydroxyflavone) qui se produisent dans *tinctoria quercus*. Quelques glucosides de quercetines ayant un composant l'hydrate de carbone représenté par un reste du monosaccharide : 3-O-β-L- rhamnopyranosyl (quercetrine), 3-O-D- galactosyl (hypénine) ou par un reste du disaccharide : 3-O-rutinosyl (rutine) de *ruta graveolens*, et 3-O-sophorosyl d'*almus pollen*. De plus, des dérivés O- méthyles de quercetine et leur glucosides sont aussi trouvés la nature, par exemple, la xanthorhamnine qui, par hydrolyse, cède deux molécules de L-rhamnose, une molécule de D-galactose, et de rhamnetine (le 7-méthyl éther de quercetine). Dans quelques exemples les restes du glucosyl sont estérifiés par les acides organiques. Le tiliroside est le 3-O-D-glucosylkaempferol estérifiés dans la partie de D- glucose par l'acide du p- coumarique.

L'aglycone (hydroxyflavone) du glucosides de type flavanone saturé en positions 2 et 3, et un centre asymétrique (C-2) introduit dans la molécule de cette façon. L'hesperidine (4) est un glucoside de 5,7,3'- trihydroxyflavanone. Il est trouvé dans les pelures des agrumes dans la forme de 7- rutinoside. L'eriodictyol L- rhamnoside a le groupe méthoxy remplacé par le groupe de hydroxy. Quand elles sont traité avec un acide concentré ou alcalin, les flavanones sont transformée en chalcones (5).



**Hesperidine (4)**

Les chalcones sont localisés dans un nombre limité des familles botaniques, y compris les *guminales* et *compositae*.



**Chalcone (5)**

Plusieurs glucosides du flavone ont été décrits comme des facteurs de la vitamine p. Cette activité est représentée par le rutine, et à un moindre degré par l'eriodytyolglucoside et hesperidine. Ces glucosides, et quelques-uns de leurs dérivés hydrosolubles, sont utilisés comme agents thérapeutiques, habituellement en combinaison avec l'acide ascorbique [23,24].

## II- 5- 6- Les glucosides de saponines

Les glucosides de saponines sont divisés en deux types, en se basant sur la structure chimique de l'aglycone (sapogénine). Les saponines neutres sont des dérivés des stéroïdes avec un « spiroketal » à côté de la chaîne. Les acides saponines possèdent les triterpénoïdes.

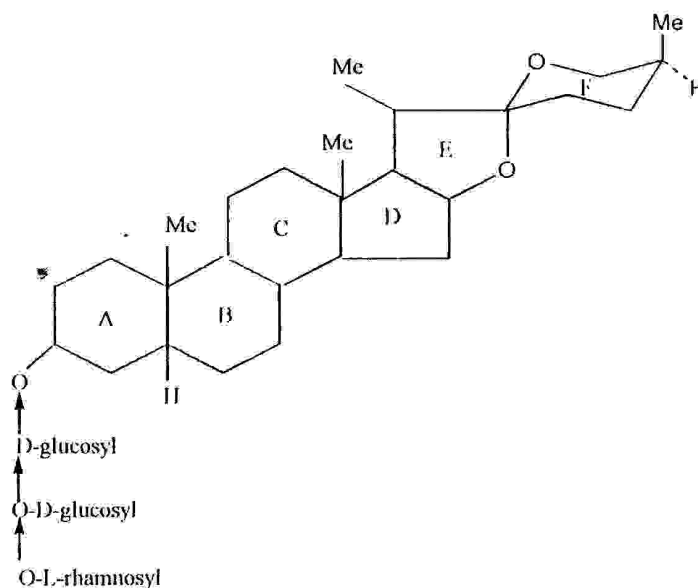
### A- Stéroïdes saponines

Les glucosides connus sont principalement distribués dans les familles, scrophulariaceae, liliacée, dioscoracée, et amaryllidacées. Ils possèdent quelques caractéristiques, tels que la forte mousse dans la solution. Ils sont toxiques pour les animaux à sang froid, surtout les poissons. La majorité de ces glucosides saponines forment des complexes insolubles avec 3- $\beta$  hydroxystéroïde.

Le premier de ces glucosides a été découvert dans la dégitonine isolée par SCHMIEDEBERG en 1875 à partir de *degetalis purpureae*, gitonine et tigonine.

L'hydrolyse acídique ou enzymatique donne un sucre consommé avec un aglycone ( $C_{27}$ ) nommé sapogénine, d'une structure « spirostanes ». Il possède un groupe hydroxyle de configuration  $\beta$  en C-3, et deux hétérocycles oxygénés E et F.

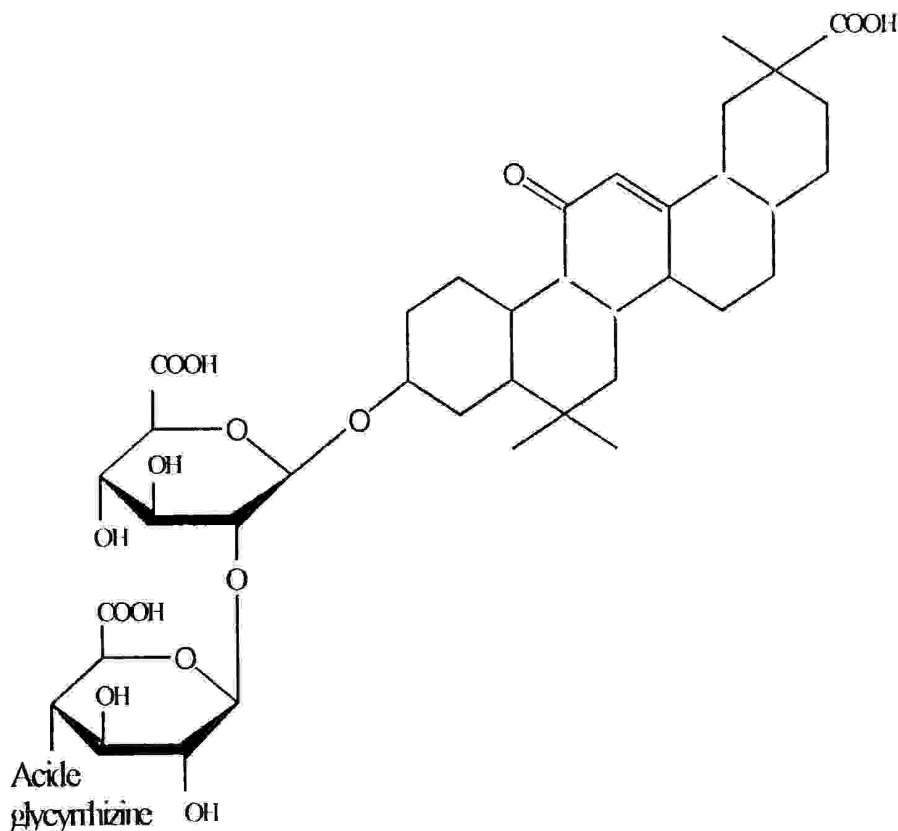
Dans le sarsasaponine(6) le groupe OH en C-3 de l'aglycone, combiné à la chaîne glucosydique contient deux molécules de D- glucose et une molécule de L- rhamnose [25,26].



**Sarsasaponine (6)**

## B- Triterpenoides glucosides

Les glucosides de triterpène appartiennent principalement aux triterpènes penta cycliques. La majorité de ces glucosides contient une partie aglyconique possédant un acide sucre comme l'acide glycyrrhétinique(7) [27]. Le glucoside glycyrrhizia est le sel de  $K^+$ ,  $Cu^{+2}$  de l'acide glycyrrhizinique [28].



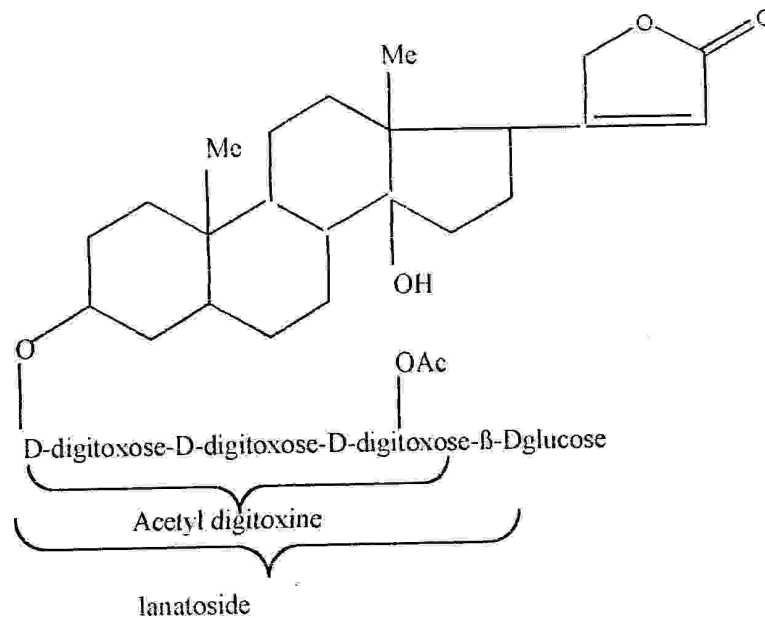
L'acide glycyrrhétinique (7)

L'acide glycyrrhétinique est un triterpène penta cyclique dérivé de  $\beta$ - amgrin, d'une propriété antitussif [29].

### II- 5- 7- Glucosides cardiaques

Elles provoquent chez l'être humain soit par une accélération soit par un ralentissement des battements du cœur [30]. Ils se trouvent dans les feuilles de scrophulariaceae, apocynacée et liliacée, parmi ces glucosides, on trouve le digitoxine qui existe dans la plante *digitalis*

*purpureae* comme purpureae glucoside A, et dans *digitalis lanatas*, comme acétyle purpureae glucoside A ou lanatoside A (8) [17,31]. Digitoxine contient 3 chaînes de molécules de digitoxose.



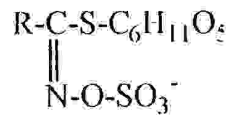
### II- 5- 8- glucosides steroïdique

Le phytostérol est un dérivé de dérgostrane ( $C_{26}$ ) et de stigmastane ( $C_{29}$ ), ils possèdent un groupe  $\beta$ - hydroxyl en  $C_3$  et une double liaison dans une ou toutes les positions  $C_5$ ,  $C_7$  et  $C_{22}$ .

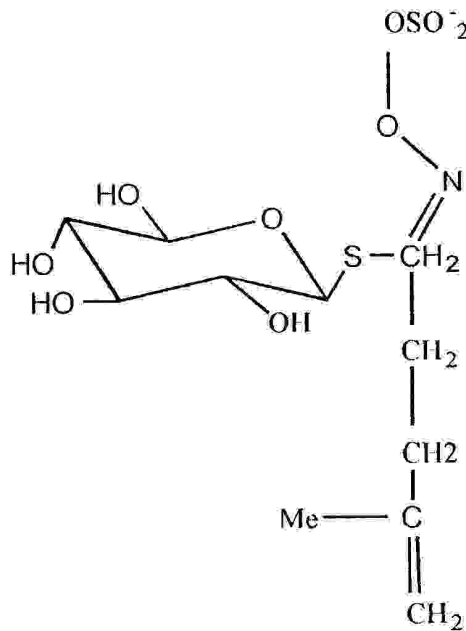
Ce groupe inclut le daucosterine, glucoside de  $\beta$ - sitostérol, qui peut être identique à l'ipuranol et le glucoside Spīnasteral qui isolés de la *spinacia oleracea*.

### II- 5- 9- Thioglucosides

Plusieurs plantes de cruciféracée contiennent les thioglucosides, ils sont facilement hydrolysés par un mélange d'enzymes appelé myrosinase présent dans les tissus de ces plantes, les thioglucosides généralement possèdent la structure suivante [28] :



Le glucoside de cresson (nasturtium) donne le 2- phényl isothiocyanate (R= ph CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-). Les feuilles de la plante *capparis linaris jacq* comprennent un glucoside dont la structure est : 3- méthyl, 3- butenylglucosinolate(9).

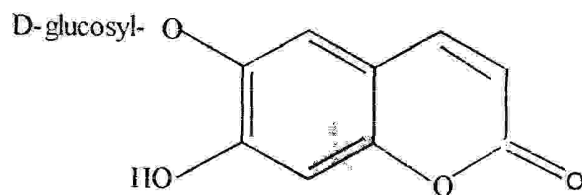


3 - méthyl, 3- butenylglucosinolate (9)

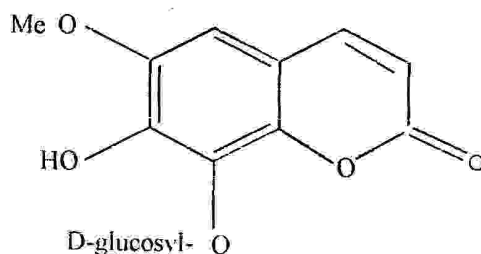
### II- 5- 10- Glucoside du coumarine

Aucuns glucosides de coumarine n'est connus, comme ce lactone n'a aucun groupe d'hydroxyl libre. Il est cru que le coumarine est présent dans les plantes comme le glucoside d'O-acide coumarique (trans) et O- acide coumarique (cis). Par traitement aux acides, les glucosides sont hydrolysés avec isomérisation de l'acide du trans au cis suivi par lactonisation, l'hydrolyse avec l'emulsion de l'amande maintient la forme initiale intacte. Ces réarrangements ont été

montrés spécialement pour les dérivés de furocoumarine (hydroxy et méthoxy). Ceux-ci incluent l'aesculine (10) de *daphné hippocostanum*, qui est le dérivé 6-  $\beta$ - D- glucosyl de 7,8- dihydroxy coumarine. Le fraxin (11), du cendre de l'écorce arbre (*fraxinus excelsior*), est le 8-  $\beta$ - D- glucosylfraxetin, un dérivé hydroxy et méthoxy de coumarine [32].



Aeculine (10)



Fraxin (11)

## II- 5- 11- Composés C- glucosyl

Le nombre de C- glucosides connus a augmenté pendant ces années récentes, parce qu'autrefois plusieurs composés ont inscrits comme O- glucosides alors dans la réalité sont C- glucosides. Dans quelques exemples, l'existence de la liaison C-C a été confirmée par synthèse des composés identiques aux produits naturels.

La liaison entre les genines et C-1 de l'hydrate de carbone est très résistante à l'attaque des acides dilués. Les acides concentrés peuvent, cependant, rompre la liaison entre C-1 et C-2 du sucre; le C- glucoside d'*aloe*, par exemple, cède l'arabinose. Pour un long temps, cette observation a mené à la croyance que ces glucosides sont parmi le peu des substances naturelles

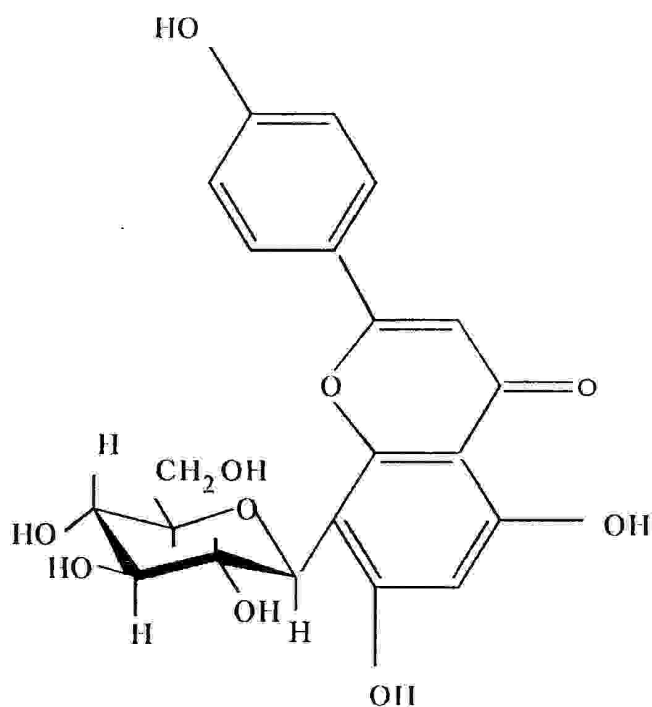
qui contiennent un reste du arabinosyl. L'isolement des composés du C- glucosyl est simplifié par leur résistance aux acides dilués et à la majorité de glucosidases. Ils restent intacts dans l'extrait de l'hydrolyse dont les liaisons glucosidiques normales ont été fondues. Cependant, les oxydants doux tel que l'ozone et le chlorure ferrique interrompent facilement la liaison C-C et dissocient l'aglycon des sucres. L'oxydation des carbohydrates par l'acide périodique est une méthode utile pour les études structurelles quand le genine est inactif ou peut être protégé par méthylation douce.

La spectroscopie infrarouge, ultraviolet, et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN), sont des méthodes pour identification des structures de ces glucosides. Dans tous les composés connus, le D-glucose est un carbohydrate enchaîné au genin. Quelquefois, la partie du sucre est un disaccharide, un O-L-rhamnosyl- ou groupe O-L-rhamnosyl-D-glucosyl. La seule exception connue est la pseudouridine (5- $\beta$ -D-ribofuranosyluracil), décrit par W. E. COHN. Il se produit dans quelques acides ribonucléiques et existe dans la forme libre dans l'urine des mammifères.

Les génines des composés C- glucosyl sont en rapport avec ceux de l'O- glucosides et pour un long temps ont été classés ensemble. Paradoxalement, ces genins sont des dérivés du polyhydroxy, et la formation de la liaison carbone- carbone n'est pas dû à l'absence des groupements capables de réagir avec le groupe hydroxyle de l'hémiacétal de carbohydrate. Les classes principales des composés C- glucosyl sont les dérivés de l'anthraquinone et le C-glucosylflavones [9,33].

#### **A- Les dérivés C- glucosylflavones**

Ce groupe inclut un grand nombre de composés qui ont le même génines comme le glucoside du flavonol. Le vitexine(12) (8-C-D- glucopéranosyl apigennine ) est un dérivé de trihydroxyflavone.



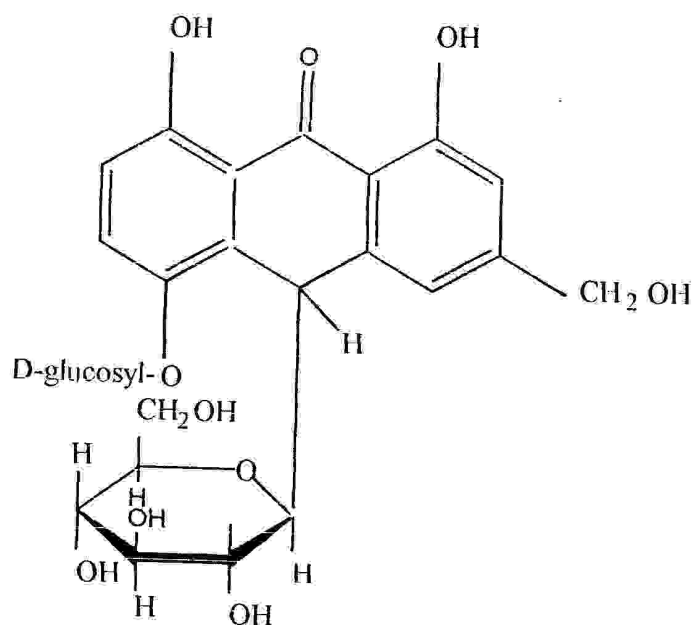
Vitexine (12)

L'orientin et l'isoorientin, isolés de plusieurs feuilles, sont les dérivés 8- et 6- C-  $\beta$ - D- glucopéranosyl, respectivement, de luteoline. Le scoparin, de *sarothamnus scoparia* est le 3- méthyl- éther d'orientine.

Quelques composés ont été isolés dont deux molécules différentes de D-glucose est attachée au deux atomes de carbone du flavone, comme, le lucenine est le dérivé 6,8- di- C- glucosyl de luteoline, et violanthine (6,8- di- C- glucosylapigenine) [33].

### B- Les dérivés de l'antraquinone

Plusieurs composés de l'antraquinone ont été extraits des feuilles de différentes espèces d'*aloés*, par exemple, barbaloin(13) et homonotalon, l'aloinoside B sont des composés de C- glucosyl et un O- glucoside. Les cascariosides de *rhamnus purshiana* sont les composés O- glucosyl d'antraquinone.



**Barbaloin (13)**

Les composés C- glucosides d'*aloès* ont les même propriétés purgatives comme l'anthraquinone D- glucosides de *rheum* et *cassia*.

Le mangiferin de la substance buffle- coloré a rencontré dans l'arbre de mangue et dans les fleurs de *l'iris*, est un composé du c- glucosyl qui a le sucre enchaîné à C-2 d'un 1,3,6,7- tetrahydroxy anthraquinone [17,34].

### III- Propriétés Physico- Chimique, Extraction

#### III- 1- Solubilité et Extraction

Si, en règle générale, les hétérosides sont hydrosoluble et soluble dans les alcools, certain nombre d'entre eux ont une hydrosolubilité plutôt faible (rutoside, hesperidoside...). Les génines sont pour la plupart, soluble dans les solvants organique apolaires lorsqu'elles ont au moins un groupe phénolique libre, elles se dissolvent dans les solutions d'hydroxydes alcalins.

Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par l'acétone ou par des alcools (éthanol, méthanol) additionnés d'eau (20 à 50%). Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extraction liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau: par l'éther de pétrole qui élimine le chlorophylle et les lipides: par l'étherdiéthylique qui extrait les genines libres: par l'acétate d'éthyle qui entraîne la majorité des hétérosides les plus polaires.

La séparation et la purification des différents hétérosides sont fondées sur les techniques chromatographiques habituelles (sur polyamide, sur cellulose, sur gel de sephadex.....). Comme pour la plupart des autres métabolites secondaires des végétaux, la CLHP après, occupe ces dernières années, une place de choix dans l'arsenal des techniques d'isolement des hétérosides flavonoidiques (phase inverses  $C_8$  ou  $C_{18}$  avec des solvants du type eau (ou acétonitrile, ou THF) + méthanol + acide acétique)[9].

## **CHAPITRE II :**

# **Méthodes de Séparation, de Purification et D'identification**

## I- Généralités

### I-1- Produits utilisés

#### I-1-1- Solvants[35]

- **Acétone** : très inflammable, irritant.
- **Ether diéthylique** : extrêmement inflammable, facile à éliminer, explosif.
- **Ether de pétrole** : très inflammable, facile à éliminer.
- **Méthanol** : très inflammable, toxique par inhalation et ingestion.
- **Ethanol** : très inflammable.

## I-2- Méthodes d'analyses

### I-2-1- Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie I.R est utilisée en général pour identifier les groupements fonctionnels d'une molécule. cette méthode est très employée dans les laboratoires de chimie, de manière plus simple et routinière, sachant que le domaine de fréquence le plus couramment utilisé s'étend de  $4000 \text{ cm}^{-1}$  à  $600 \text{ cm}^{-1}$  [36].

Les spectres I.R ont été enregistrés sur un spectromètre SHIMADZ HYPER, FT-IR-8201 PG.

### I-2-2- Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire est contribué aux progressions rapides de la synthèse organique. C'est un moyen d'identification sûr et rapide de la structure d'une molécule, beaucoup moins fastidieux que les appareils d'analyses chimiques indispensables auparavant [37].

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton ont été enregistrés dans  $\text{CDCl}_3$  sur un appareil BRÜKER AM 200 (200 MHz). Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en ppm par rapport à un solvant de référence interne : le tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz.

Le spectromètre de masse est un appareil qui sert à établir les masses moléculaires et la structure des substances. L'identification du composé se fait en analysant les conformation à partir de la substance [38,39].

#### **I-2-4- Spectroscopie UV- visible**

Les spectres en lumière ultra- violette (UV) ont été enregistrés sur un appareil GAMA-REPROSTAR.

### **I-3- Méthodes générales**

#### **I-3-1- Extraction**

L'opération d'extraction consiste à transférer de façon aussi sélective que possible, une espèce chimique d'une phase à une autre. La phase terminale est généralement un liquide, dans lequel le composé recherché est soluble.

La phase de départ peut être soit un mélange solide (on réalise alors une extraction solide – liquide) ou une solution (il s'agit alors d'une extraction liquide – liquide) [40].

#### **I-3-2- La chromatographie sur couche mince (CCM)**

C'est une méthode d'analyse extrêmement utilisée. On l'utilise en générale pour suivre l'avancement de réaction, connaître la composition des fractions séparées, sur colonne ou visualiser la pureté des produits [36,37].

#### **I-3-3- La chromatographie sur colonne**

Est une méthode de séparation des constituants d'un mélange par migration différentielle dans un dispositif séparateur [37,35].

### **I-2-3- Spectroscopie de masse**

Le spectromètre de masse est un appareil qui sert à établir les masses moléculaires et la structure des substances. L'identification du composé se fait en analysant les conformés à partir de la substance [38,39].

### **I-2-4- Spectrométrie UV- visible**

Les spectres en lumière ultra- violette (UV) ont été enregistrés sur un appareil GAMA-REPROSTAR.

## **I-3- Méthodes générales**

### **I-3-1- Extraction**

L'opération d'extraction consiste à transférer de façon aussi sélective que possible, une espèce chimique d'une phase à une autre. La phase terminale est généralement un liquide, dans lequel le composé recherché est soluble.

La phase de départ peut être soit un mélange solide (on réalise alors une extraction solide – liquide) ou une solution (il s'agit alors d'une extraction liquide – liquide) [40].

### **I-3-2- La chromatographie sur couche mince (CCM)**

C'est une méthode d'analyse extrêmement utilisée. On l'utilise en générale pour suivre l'avancement de réaction, connaître la composition des fractions séparées, sur colonne ou visualiser la pureté des produits [36,37].

### **I-3-3- La chromatographie sur colonne**

Est une méthode de séparation des constituants d'un mélange par migration différentielle dans un dispositif séparateur [37,35].

### I-3-4- La recristallisation

Est une technique de purification des solides, qui se repose sur la différence de solubilité entre le composé à purifier et les impuretés présentes dans le solvant de recristallisation.

La solubilisation est réalisée à chaud dans le minimum de solvant nécessaire afin d'obtenir après refroidissement une solution saturée en composé à purifier. La recristallisation intervient donc pendant le refroidissement [40].

### I-3-5- Point de fusion

La mesure du point de fusion est effectuée à l'aide d'un appareil type Buchi 510, T (0-300°C).

## II- Les tests chimiques

Les tests chimiques sont effectués sur la poudre sèche de la plante (tiges, feuilles et fleurs). Ils sont fait de la manière suivante :

- ❖ **Huiles essentielles** : on met environ 10 g de poudre sèche dans un appareil d'entraînement à la vapeur, et on chauffe doucement pendant 4 à 5 heures, l'apparition d'une couche huileuse sur le distillat indique la présence des huiles essentielles [41].
- ❖ **Tanins** : on prend 10 g du produit sec, on fait l'extraction avec l'alcool éthylique, on filtre, puis on teste le filtrat avec quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$ . L'apparition d'une couleur verte indique la présence des tanins [42].
- ❖ **Cardénolides** : prendre 1 g du produit sec, macérer dans 20 ml d'eau distillée puis filtrer, prélever 10 ml du filtrat. Ce lui-ci est ensuite extraite avec un mélange de 10 ml  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (1 : 1), évaporer la phase organique, dissoudre le résidu dans 3ml d'acide acétique glacial, ajouter quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  suivi de 1 ml d' $\text{H}_2\text{SO}_4$ . La présence de la couleur verte bleue dans la phase acide indique la présence des cardénolides [43].

- ❖ **Saponosides** : prendre 2 g de produit sec, le chauffer dans 80 ml d'eau distillée, filtrer et refroidir la solution. Agiter le filtrat, l'apparition d'une mousse indique la présence des saponosides [44].
  
- ❖ **Stérols saturés et terpènes** : prendre environ 5 g de produit, le dissoudre dans 20 ml de  $\text{CHCl}_3$  et filtrer, ajouter au filtrat 1 ml du  $\text{H}_2\text{SO}_4$  avec précaution sur les parois du tube. Le point de rencontre entre les deux phases donne une couleur verte qui indique la présence de stérols insaturés et des triterpènes [45].
  
- ❖ **Flavonoïdes** : macérer 10 g du produit dans 150 ml d'HCl à 1% pendant une nuit, filtrer et procéder aux testes. Prendre 10 ml du filtrat, le rendre basique par  $\text{NH}_4\text{OH}$ . L'apparition de la couleur jaune claire indique la présence des flavonoïdes.
  - Ajouter 5 ml de filtrat, 2.5 ml d'alcool amylique, la phase alcoolique colorée en jaune indique la présence flavonoïdes libres.
  - Evaporer la phase aqueuse, dissoudre le précipité dans 3 ml d'HCl on chauffe légèrement, puis refroidir et ajouter 2.5 ml d'alcool amylique. L'apparition de la couleur jaune indique l'existence de glucosides de flavones [42].
  
- ❖ **Alcaloïdes** : prendre 10 g du produit sec, et l'extraire avec 50 ml d'HCl dilué, prendre l'extrait basique avec  $\text{NH}_3$  puis extraire le mélange trois fois avec  $\text{CHCl}_3$ , chaque fois 20 ml. Evaporer la phase organique, puis dissoudre le précipité dans 20 ml d'HCl dilué. Ajouter à la solution acide trois gouttes de réactif de Mayer l'apparition d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes [46].
  
- ❖ **Glucosides** : prendre 10 g du poudre, ajouter 5 ml d'acide tartrique 2% dans l'éthanol. Chauffer le mélange dans un bain-marie sous condenseur à reflux pendant 2 heures. Filtrer puis laver le précipité avec l'éthanol. Poser le précipité avec l'eau distillée chaude, dans un tube à essai.
  - Prendre 2 ml de la solution et ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution de Fehling. Le chauffer dans un bain-marie. La réduction de la solution de Fehling indique la présence des glucosides [46].

**Résultats des tests chimiques**

	<u>Feuilles</u>	<u>Tiges</u>
<b>Huiles essentielles</b>	+	+
<b>Sapponosides</b>	+	+
<b>Cardénolides</b>	+	+
<b>Tanins</b>	+	+
<b>Alcaloïdes</b>	-	-
<b>Stérol non saturés et triterpènes</b>	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	+	+
<b>Glucosides</b>	+	+

**III - Récolte de la Plante et Extraction**

La plante a été récoltée au mois de juin 2000 dans la wilaya de Biskra (Algérie). La partie récoltée de la plante est constituée uniquement de feuilles, tiges et fleurs, la plante est séchée à l'air et l'ombre pendant 3 mois puis réduite en poudre et conservée dans un flacon en verre bien fermé. Cette poudre a servi principalement pour l'extraction des principes actifs (glucosides). L'extraction des glucosides a été effectuée par deux méthodes.

**III-1- 1<sup>ère</sup> Méthode d'extraction (macération)**

100 g de poudre est macérés trois fois 24 heures sous agitation dans l'eau distillée (11). Le filtrat extrait trois fois avec 100 cm<sup>3</sup> de chloroforme. La phase aqueuse est extraite trois fois avec 150 cm<sup>3</sup> de n- butanol. La phase organique est lavée à l'eau puis par NaCl demi- saturée, séchée par Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> et évaporée à sec( schéma 1 ) [47]. Cette méthode d'extraction est utilisée pour l'étude de l'activité biologique de la plante.

**III-2- 2<sup>ème</sup> Méthode d'extraction**

On dépose 250 g de produit sec dans un réservoir à siphon d'un appareil de soxhlet et 1.5 litre de l'éthanol (98 %) dans le ballon, on chauffe le système pendant 20 heure. L'extrait est

concentré puis extrait au chloroforme et à l'acétone successivement et on le dilue avec le méthanol puis on ajoute l'éther diéthylique afin d'obtenir un précipité de couleur jaune pâle (composé 1)[48]. Après un mois on observe la formation d'un autre précipité cristallin blanc (pF=180°C) (composé 2), autre composé cristallin de couleur jaune pâle se précipite après 2 mois (pF=120°C) (composé 3).

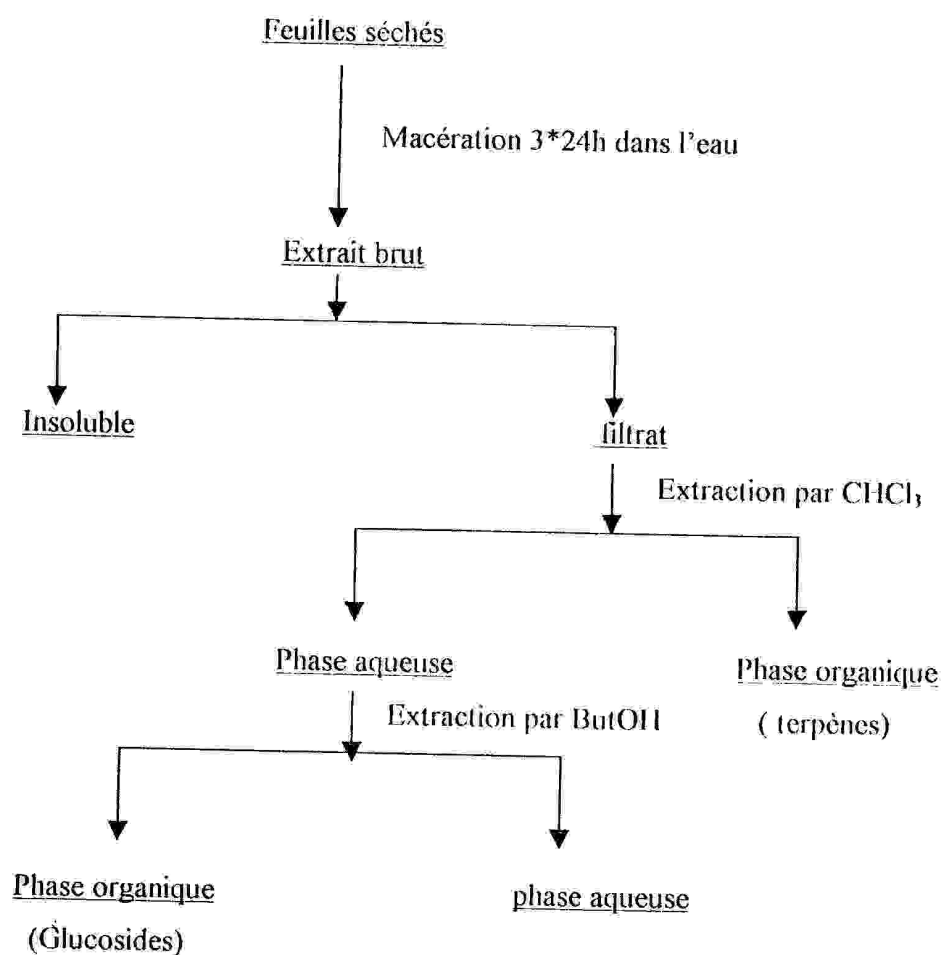


Schéma 1 : extraction des glucosides ( macération )

#### IV- Purification du composé 1

Dans un bêcher de 200 ml contenant 5g de cellulose, on ajoute un volume de l'éther de pétrole et méthanol(1:1) sous agitation jusqu'à l'obtention d'un bouillonnant. Ce dernier est versé dans la colonne de façon qu'on obtienne une phase homogène sans bulle d'air. Puis on ajoute une

couche de sable afin de niveler la surface. On introduit le produit à purifier dans la colonne à l'aide d'une pipette pasteur de façon à former une couche uniforme. On ouvre doucement le robinet de la colonne et on laisse le produit descendre jusqu'à la surface du sable. Puis on ajoute l'éluant (méthanol) et on recueille la phase dans un ballon de 250ml puis évaporer.

## V- Identification du composé

Il est sous forme d'une poudre de couleur beige, son point de décomposition égale à 165°C.

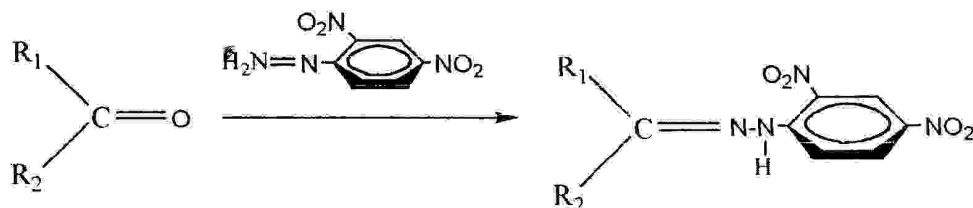
(IR)  $V_{max}$  ( $cm^{-1}$ ): 3413.8, 3236.3, 2931.6, 1743.5, 1616.2, 1049.2, 894.9, 825.5.

On effectue quelques tests pour identifier ce composé.

### V- 1- Test de sucre

On prend 1,25ml de Fehling(a) et 1,25ml de Fehling(b), puis on met le mélange dans un bassin en porcelaine, puis on le dilue avec le même volume d'eau distillée(2,5ml). En même temps on dissout 0,1g de sucre dans 25ml d'eau puis on le dépose dans une burette, puis on le passe dans la solution de Fehling qui est chauffée avec le bec benzène jusqu'à ce que la couleur disparaisse complètement, on laisse la solution refroidir pour permettre à l'oxyde de cuivre de se précipiter.

### V- 2- Test de fonction carbonyle



Dissoudre 0.1g de 2,4 - dinitrophénylhydrazine dans l'éthanol(2.5ml), puis ajouter 0.25ml d'acide sulfurique(98%) avec précaution lors de l'agitation.

Dissoudre 0.1g de sucre dans un petit volume d'éthanol, puis ajouter la solution de 2,4-dinitrophénylhydrazine avec le chauffage, laisser le refroidir pendant 10min, si le précipité n'apparaît pas ajouter l'eau jusqu'à l'apparition d'un précipité. Filtrer puis laver le solide avec un mélange méthanol: eau (1:1) recristalliser le solide avec l'éthanol.

## VI- Réaction d'acétylation

Dissoudre 0.1g de glucoside dans 5ml d'anhydride acétique et 5ml de pyridine pendant une nuit.

Le mélange réactionnel est dilue avec 40ml d'eau puis extraite avec l'acétate d'éthyle (EtOAc), on lave la phase organique avec une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$  et on sèche avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre, filtrer et évaporer.

Le résidu est purifier dans la colonne sur Si-Gel avec le méthanol et l'éther de pétrole(1:1). On obtient un composé cristallin dont son spectre I-R montre la disparition d'une bande à 3400(-OH) et l'augmentation de l'intensité de bande de la fonction carbonyle(C=O).

## VII- Recristallisation de composés 3

On met le composés 3 dans un erlenmayer de 25ml et on ajoute le méthanol, puis on chauffe le mélange près du point d'ébullition avec l'agitation, on filtre et le laisse refroidir. On observe l'apparition des traces des cristaux blanc dans le filtrat. Le résidu qui ne dissoudre pas (0.3g) en une pF=120°C.

## VIII- Résultats et discussion

### - Composé 1

Ce produit est une poudre hygroscopique dont le spectre IR montre une bande d'absorption vers 3413.8, 3236.5 $\text{cm}^{-1}$  correspondant au groupes hydroxyle et une bande à 1743.5 $\text{cm}^{-1}$  caractéristique de fonction carbonyle cyclique  $\alpha,\beta$  insaturé, une bande à 1616.6 $\text{cm}^{-1}$  du cycle aromatique et les deux bandes à 894.9, 825.5 d'une cycle aromatique tri- substituée.

Le spectre ultraviolet (UV) présente des maximums à 285, 330nm attribuable aux système flavonoïque et on peut résumer la série spectrale UV- VISIBLE (Fig 4) dans le tableau suivant :

Réactif	Bande II	Bande I	Remarque	Interprétation
MeOH	285	330		Flavone
NaOH NaOH + 5min	-	380	Un effet bathochrome de 50nm sur la bande I avec diminution d'intensité	La présence de deux groupe hydroxyle en 3, 4' ( 3, 4'- OH )
AlCl <sub>3</sub>	-	345.8	Un effet bathochrome de 15.8nm	5- OH
AlCl <sub>3</sub> + HCl / AlCl <sub>3</sub>	-	329.1	Un effet bathochrome de -16,7nm	3', 4'- di- OH
AlCl <sub>3</sub> + HCl / MeOH	-	329.1	-	-
NaOAc	-	330	Déplacement très faible	7- OR
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> / MeOH	-	355	Un effet bathochrome de 25nm	3', 4'- di- OH



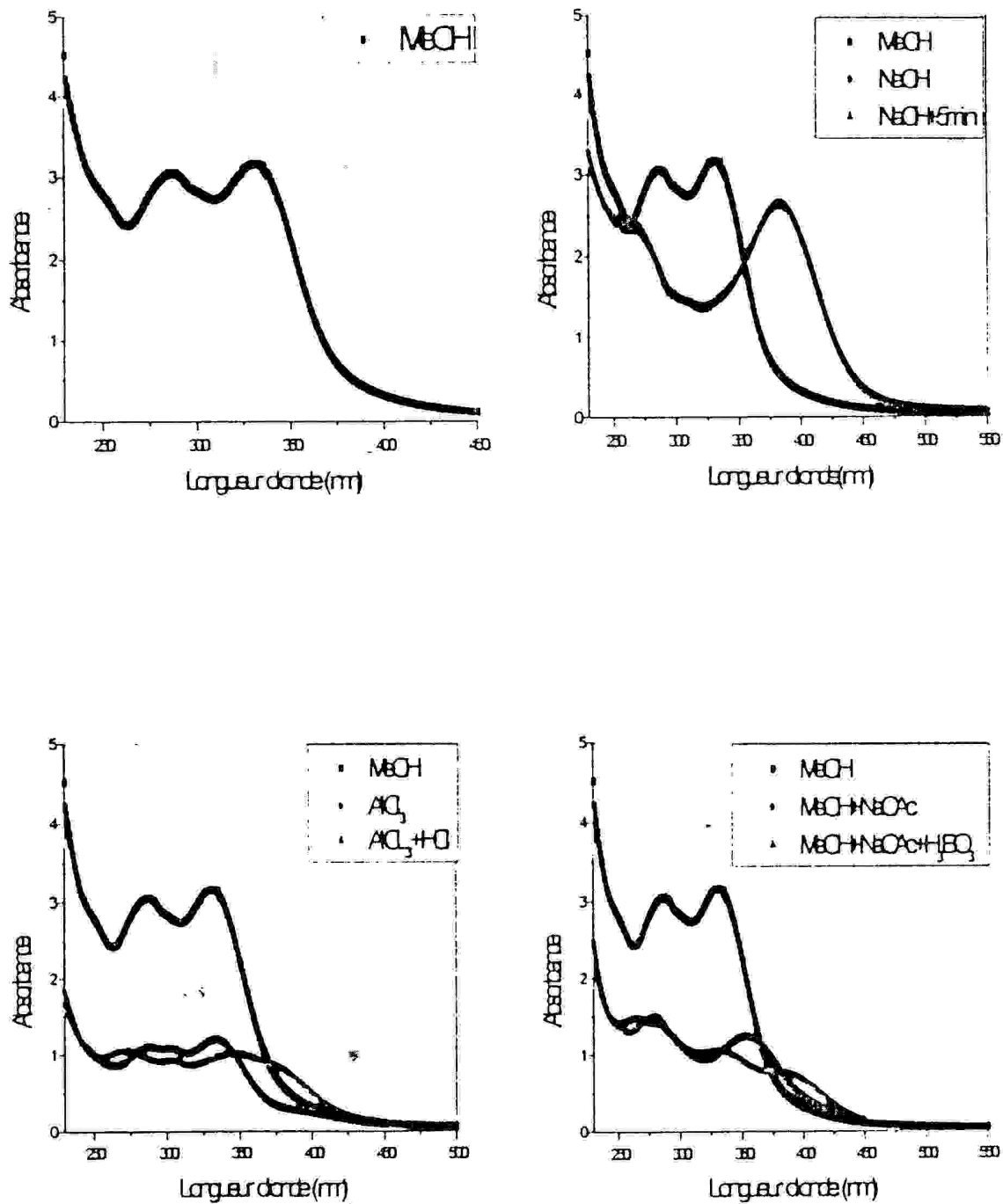
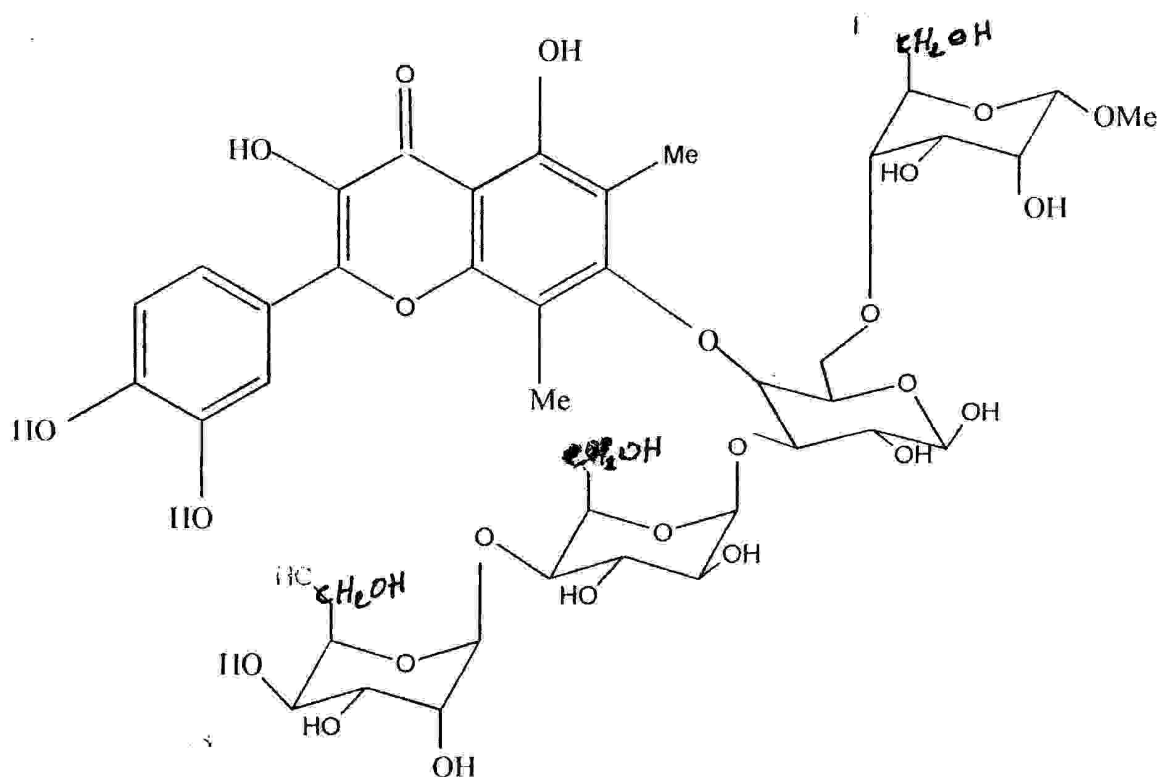


Fig 2 : Serie spectrale UV- visible de composé 1

Le spectre RMN  $^1\text{H}$ (fig. 3) montre les signaux correspondant au flavone à 6.8 ppm, de trois protons (d,  $J=2.1$ ), une signe à 2.2ppm de 6 proton du groupe  $\text{CH}_3$  en position 6 et 8 du flavone (singlet). En ce qui concerne les sucres, on observe clairement les signaux de quatre protons attribuables à des H anomérique, ceux de deux  $\beta$ - glucose à 5.2 et 5.4ppm (2 d,  $J=7.4$ ,  $J'=9.7$ ) et ceux de  $\alpha$ - glucose à 5.3 et 4.6ppm (singlet), une signe à 3.2ppm de 3 proton correspondant au groupe  $\text{CH}_3\text{-OR}$ , les autre protons de sucre se trouvant dans la zone 3.5- 4ppm. les groupes hydroxyles sont paraît à 4.9ppm.

D'après ces résultats on peut proposé que la structure la plus probable est la suivante:



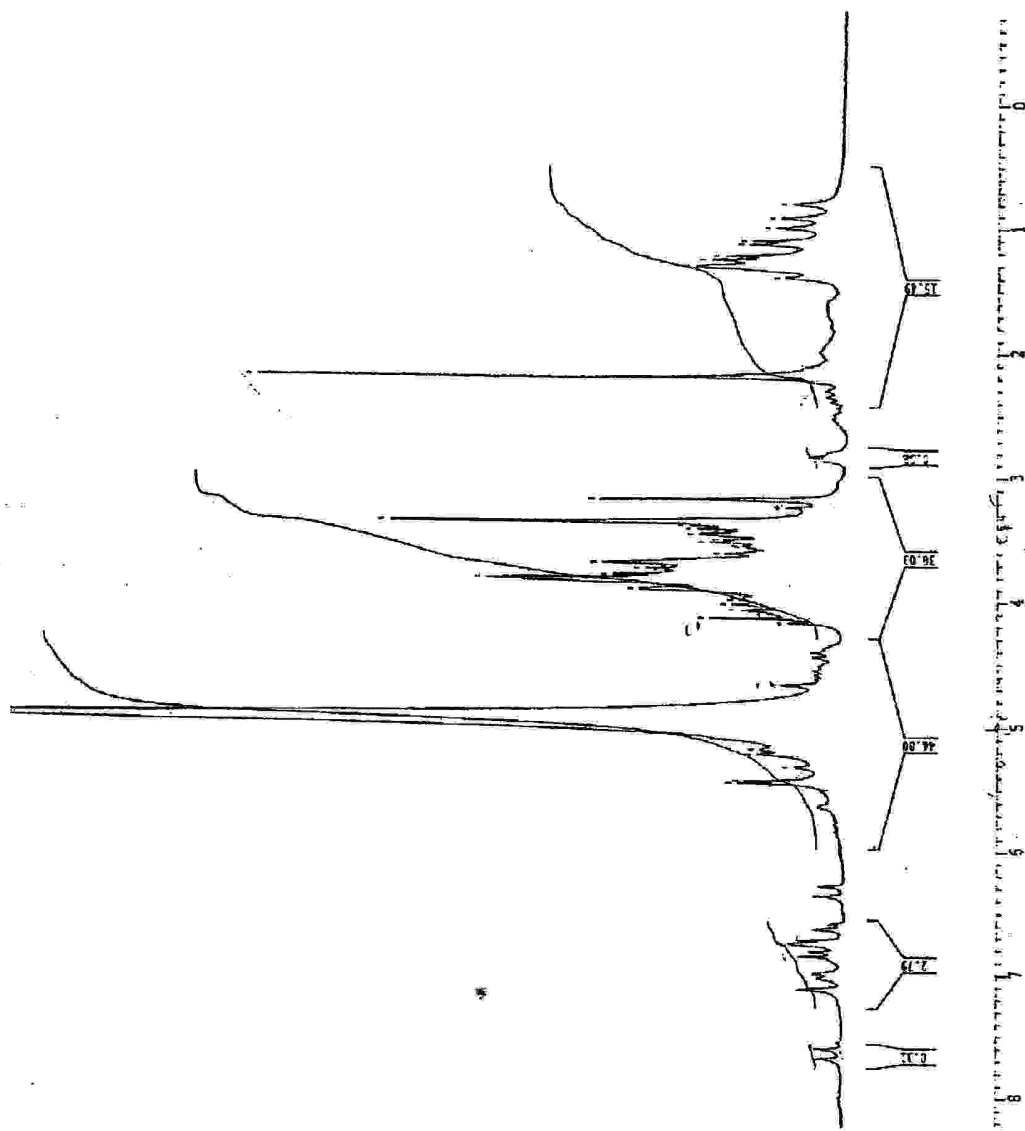


Fig.3. Spectre RMN  $^1\text{H}$  composé 1

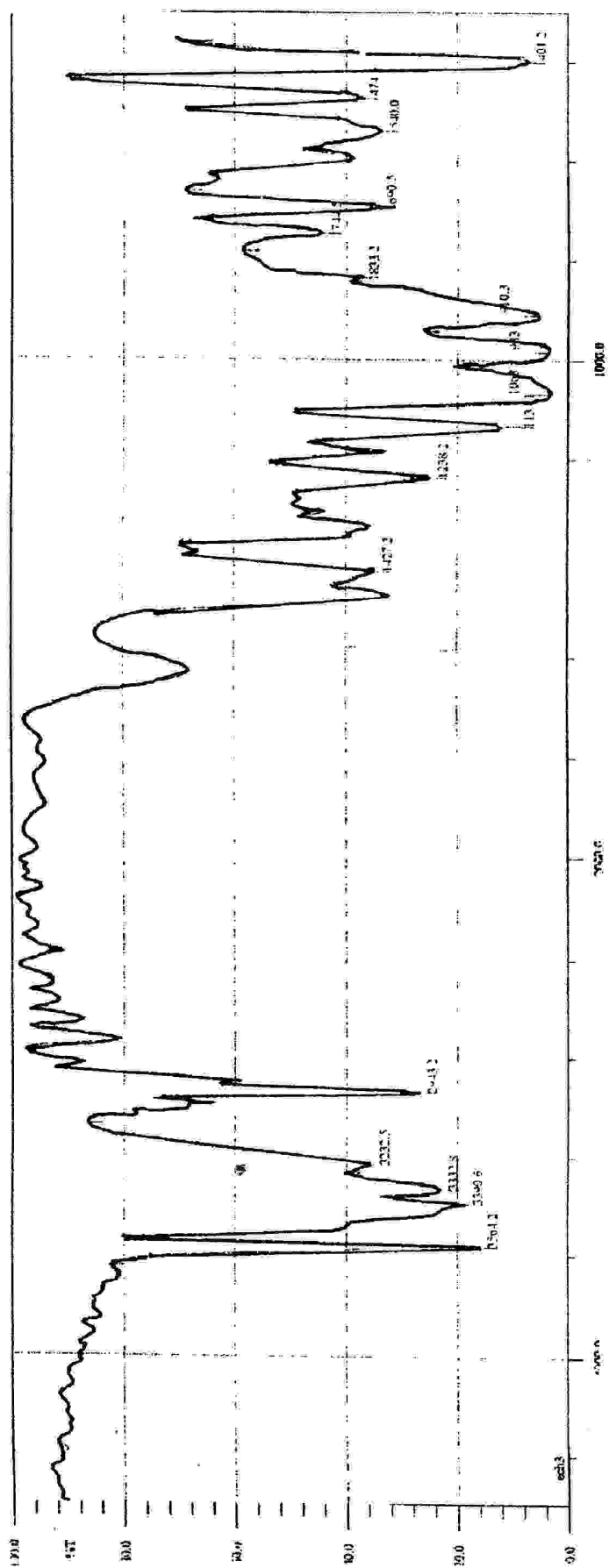


Fig.4. Spectre IR du composé 3

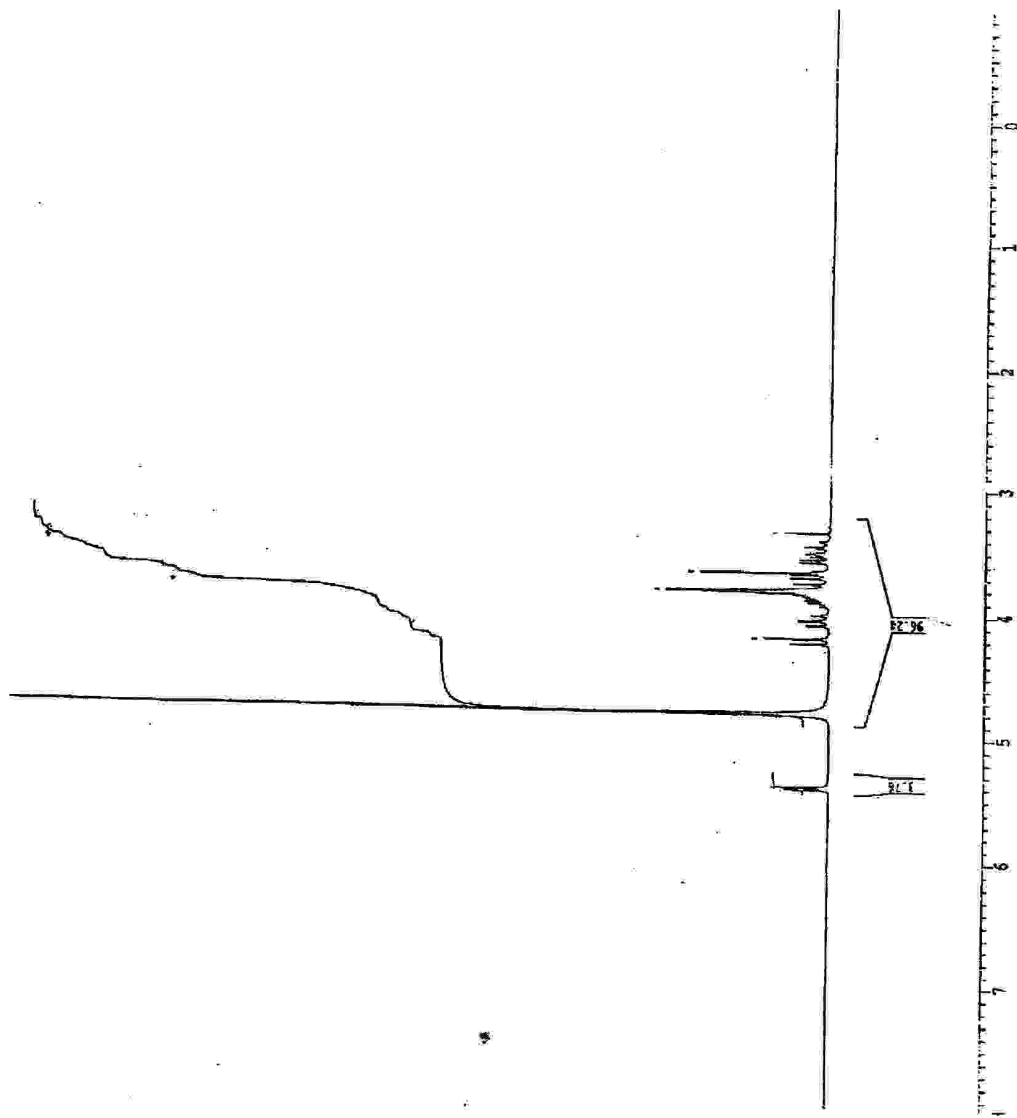


Fig.5. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé 3

## IX- Conclusion

L'étude chimique de l'extrait éthanolique de la plante *T. polium ssp cylindraceum* (labitae), a conduit à l'isolement et l'identification de trois produits l'un de ces produits est un glucoside flavonoïde et l'autre est un oligosaccharide. Les produits obtenue sont caractérisés par les méthodes spectrales IR, UV et RMN.

Ces analyses spectrales permettent de proposer <sup>des</sup> une structure <sup>de</sup> composé 1 et 2 mais ces dernières nécessitent plusieurs analyse spectrales comme RMN  $^{13}\text{C}$ , COSY RMN ( $^1\text{H}$ -  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ -  $^1\text{H}$ ) et le spectre de masse pour les confirmer.

# **Chapitre III :**

## **Activité Biologique des Glucosides**

## I- Introduction

Les rôles des glucosides sont nombreux et sont liés à la nature et à la fonction des aglycones qu'ils libèrent.

En effet, certains aglycones deviennent actifs après hydrolyse de leur glucosides conjugués jouent un rôle très important. C'est pour cette raison nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antimicrobienne.

Notre objectif est

- d'évaluer le pouvoir ou le potentiel inhibiteur des glucosides vis-à-vis de deux bactéries une à un gram positif et une autre à un gram négatif et une levure *Candida albicans*.

## II- Propriétés Biologiques des Flavonoïdes

La principale activité attribuée aux flavonoïdes est une propriété « vitaminique P »: potentiellement veino-actifs, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Outre le fait que l'on peut s'interroger sur la nature vitaminique de ces composés qu'il est, en tout état de cause, préférable de désigner par le qualificatif de « facteurs P » ou de « facteurs vitaminiques P », il faut noter que leur intérêt est contesté par certains: ainsi, l'administration de drogue, ne leur reconnaît aucune activité: qui plus est, la lecture des traités classiques de pharmacologie ne laisse guère de doutes sur le peu d'importance qui est, en règle générale, accordée à leur valeur thérapeutique. Il n'en reste pas moins que flavonoïdes et préparations à base de flavonoïdes font l'objet d'une prescription, d'un fréquent conseil pharmaceutique et d'une importante automédication dans le domaine des pathologies circulatoires mineures. De plus, quelques molécules de ces séries ont pu, au moins pour des posologies élevées, faire la preuve de leur efficacité clinique.

Autres propriétés: Souvent anti-inflammatoires- ce qui est compatible avec ce qui est connu de leurs interactions (in vitro) dans le métabolisme de l'acide arachidonique- (apigénol, chrysin, taxifoline, 8- glucosyl- hypolactine, gossypine...), les flavonoïdes peuvent être anti-allergiques, hépatoprotecteurs (isobutrine, hispiduline, flavanolignanes...), antispasmodiques (flavonoïdes du thym et autres lamiales...),

hypocholestérolémiants, diurétiques, antibactériens, antiviraux et pour un petit nombre d'entre eux, cytostatiques in vitro[9].

### III- Utilisation en Thérapeutique

Par delà les résultats partiels fournis par des tests biochimiques ou des études de pharmacologie animale, la réalité de l'efficacité clinique de la plupart des flavonoïdes- et, a fortiori, celle des drogues qui en contiennent- est rarement correctement établie. Les essais chez l'homme qui ne sont assez souvent que des « observations », ne sont pas toujours conduits en conformité avec les normes actuellement en vigueur pour ce type d'évaluation. Seul un petit nombre de molécules ou d'extraits standardisés a pu faire la preuve d'une supériorité par rapport à un placebo, malgré la subjectivité des symptômes et l'importance de l'effet placebo dans le type de pathologie concernée : l'insuffisance veineuse. La majorité des médicaments à base de flavonoïdes naturellement disponibles restent donc « proposés dans.. », ces remarques, comme d'ailleurs les emplois énumérés ci- dessous, sont valables pour les anthocyanosides et les anthocyanidols.

C'est essentiellement dans le domaine capillaro- veineux que l'on utilise les flavonoïdes seuls ou associés, ce sont les constituants habituels des vasculo- protecteurs et veinotoniques, des toniques utilisés en phlébologie. D'une façon générale les spécialités actuellement disponibles sur le marché ont les indications ou propositions d'emploi suivantes :

- Traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veino-lymphatique :  
jambes lourdes, paresthésies, crampes, douleurs et autres signes fonctionnels, œdèmes
- Traitement des troubles de la fragilité capillaire au niveau de la peau ( ecchymoses, pétéchies ) et des muqueuses ( gingivorragies, épistaxis ).
- Métrorragies liées à la contraception par dispositif intra- utérin.
- Traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.
- Troubles liés à la circulation rétinienne et / ou choroïdienne en association éventuelle avec d'autres traitements[48].

## IV- Partie Expérimentale

### IV-1- Les Souches

Les souches testées proviennent du Laboratoire de Bactériologie du secteur sanitaire de Biskra, elles sont toutes d'origines humaines- dans le tableau 1- nous donnons un aperçu sur la classification et les caractérisation des souches testées.

### IV-2- Détermination de l'activité inhibitrice des glucosides flavonoïdes

L'activité inhibitrice du glucosides flavonoïdes envers les bactéries est déterminée par la méthode des disques [49,52], de 1cm de diamètre, elle consiste à mesurer la zone d'inhibition, cette dernière est matérialisée par une auréole claire autour du disque à papier.

Habituellement préconisée pour les antibiotiques seuls les bactéries ont été testées par cette méthode, le milieu de culture utilisé pour toutes les expériences est la gélose nutritive

( commercialisée par l'institut pasteur Alger ).

Ce milieu est fondu à chaud, coulé dans des boites de Pétri stérile( 85mm ) puis solidifié après refroidissement.

**Tableau-1-** Aperçus sur la classification et caractéristiques des souches testées

Famille	Gram	Genres & espèces testées	Ecologie & pouvoir pathogène [53-55]
Enterobacteriaceae	-	<i>Esherichia coli</i>	Pouvoir pathogène occasionnel (diarrhée a <i>E-coli</i> ...)
Micrococaceae	+	<i>Staphylococcus aureus</i>	Intoxication alimentaire infection staphylocociques (infection cutanée, furoncle)
Levure		<i>Candida albicans</i>	Responsable des muguets, septicémie, intertrigo.

L'ensemencement des germes sur le milieu se fait de la manière suivante:

- Les cellules bactériennes sont mises en suspension dans un tube contenant un bouillon nutritif (BN) utilisé pour *E. c* et un bouillon BHIB ( bouillon enrichit en *staphs*) pour *S. a*, et un BGT (bouillon glucosé tamponné) pour la levure *candida albicans* (*l.c.a*).

Une goutte de suspension est déposée puis étalée c'est à dire ensemencée avec une pipette pasteur stérile sur toute la surface du milieu gélose.

Une fois cette étape est réalisée un volume connu est déposé sur des disques en papier stériles à la surface du milieu gélosé précédemment inoculé avec la bactérie à tester les boîtes de Pétri sont mises à incubé.

Les lectures se font après 24h et 48h elle consiste à mesurer la zone d'inhibition les valeurs données des zones d'inhibitions représentent la moyenne de trois mesures selon trois axes (en tenant compte du diamètre du disque qui est de 10mm).

#### IV- 3- Déterminatin de la concentration minimale inhibitrice

Pour cette détermination on utilise la gélose nutritive (liquide) et on lui ajoute différentes concentrations de glucoside flavonoïde le mélange est bien agité à l'aide d'un vortex, puis coulé dans les boites de Pétri de 45mm. Après solidification le milieu est ensemencé avec les suspensions bactériennes préparées auparavant puis incubé à 37°C dans l'étuve. une culture témoin est réalisée en parallèle, les lectures se font après 24h et 48h, elles consistent à déterminer la C.M.I c'est à dire la plus faible concentration qui inhibe complètement la croissance des bactéries.

#### V- Résultats et discussions

- Les différents résultats antimicrobienne par la méthode des disques et de la CMI sont rassemblés dans les tableaux 2 et 3 respectivement.

- Nous pouvons noter globalement la présence d'une activité antimicrobienne.

- la zone d'inhibition augmente avec la quantité du glucoside flavonoïde, par exemple le *Sa* donne une zone de 14mm à 40µl/disque et une zone plus large a 55µl/disque qui est de 20mm.

- Ainsi que la bactérie à gram positif *Sa* est plus sensible suivie par la levure et enfin celle à gram négatif *Ec*.

Sensibilité: gram positif >levure>gram négatif

\* Ces résultats sont confortés par ceux de la CMI c'est à dire que la bactérie à gram négatif est plus résistante que celle à gram positif.

- *Sa* donne une CMI de 120µl/ml alors que est supérieure de 240µl/ml pour *Ec*.

\* l'activité antimicrobienne a été déterminée par deux méthodes celle des disques et celle de la détermination de la CMI.

- La méthode des disques s'est révélée moins adéquate dans le cas présent en raison.

\*des résultats parfois non reproductible.

\*de la diffusion du glucoside flavonoïde qui peut être parfois non homogène.

- La détermination de la CMI donne des résultats plus faible mais nécessite cependant une grande quantité du glucoside flavonoïde a tester.

- Nous remarquons également que la bactérie la plus sensible au glucoside flavonoïde (à gram positif) est aussi celle qui est la plus sensible aux antibiotiques.

- De même la bactérie à gram négatif (*E. coli*) qui est résistante à plusieurs antibiotique est elle aussi celle qui est le moins inhibées par le glucoside flavonoïde.

**Tableau-2-** mesure de l'activité inhibitrice du glucoside flavonoïdes par la méthode des disques

Bactéries µl/disque	Gram positif	Gram négatif	Levure
	<i>S.a</i>	<i>E.c</i>	<i>L.c.a</i>
40	14	R	12
45	15	12*	14
50	18	14	17
55	20	15	18

*S.a: Staphylococcus aureus*  
*E.c: Escheriacoli*  
*L.c.a: Levure candida albicans*  
 \* :Présence des colonies dans l'auréole

**Tableau-3-** Mesure de l'activité inhibitrice par la methode de C.M.I (µl/ ml)

Espèce ( mg/ ml )	Gram positif	Gram négatif	Levure
	<i>S.a</i>	<i>E.c</i>	<i>L.c.a</i>
C.M.I glucoside flavonoïde	120	150<CMI<190	>140

S.a: Staphylococcus aureus  
 E.c: Escherichiacoli  
 L.c.a: Levure candida albicans

- De même la bactérie à gram négatif (*E. coli*) qui est résistante à plusieurs antibiotique est elle aussi celle qui est le moins inhibées par le glucoside flavonoïde.

**Tableau-2-** mesure de l'activité inhibitrice du glucoside flavonoïdes par la méthode des disques

Bactéries µl/disque	Gram positif	Gram négatif	Levure
	<i>S.a</i>	<i>E.c</i>	<i>L.c.a</i>
40	14	R	12
45	15	12*	14
50	18	14	17
55	20	15	18

*S.a: Staphylococcus aureus*  
*E.c: Escheriacoli*  
*L.c.a: Levure candida albicans*  
 \* :Présence des colonies dans l'auréole

**Tableau-3-** Mesure de l'activité inhibitrice par la methode de C.M.I (µl/ ml)

Espèce ( mg/ ml )	Gram positif	Gram négatif	Levure
	<i>S.a</i>	<i>E.c</i>	<i>L.c.a</i>
C.M.I glucoside flavonoïde	120	150<CMI<190	>140

*S.a: Staphylococcus aureus*  
*E.c: Escherichiacoli*  
*L.c.a: Levure candida albicans*

**Tableau-4-** Mesure de l'activité de quelque antibiotiques antibactériens ( en mm)

antibiotiques	Famille	Bacteries	
		E.coli	S.aureus
Streptomycine (10 µg )	Aminosides	25.0	28.0
Pénicilline (6 µg )	B- lactamides	R	60.0
Sulfamides forts (200 µg )	Antimétabolite	23**	25**

R: Résistante à l'antibiotique  
 \*Mesure du diamètre, y compris celui du disque (6 mm )  
 \*\* Zone d'inhibition plus quelques colonies isolés résistantes

## VI- Conclusion

Le glucoside flavonoïde présente une activité antimicrobienne cette dernière est intéressante surtout vis-à-vis d'une bactérie pathogène comme *Sa* responsable des furoncles et intoxication alimentaire ou de candida responsable des muguets et intertrigo.

## **Conclusion générale**

## Conclusion générale

Dans ce travail nous nous sommes intéressés, à l'étude chimique des glucosides de la plante *teucrium polium ssp cylindraceum*. Ce dernier a conduit à l'isolement et l'identification de trois produits. Le premier composé isolé est un glucoside flavonoïde et le deuxième est un oligosaccharide.

- la séparation a eu lieu par rupture de phase
- la caractérisation se par R.M.N, U.V et I.R.

Dans un but d'une évaluation biologique nous avons soumis nos produit à des tests microbiologiques vis- à- vis de deux bactéries, un à gram positif et un à gram négatif, et un levure *candida albicans*.

Les résultats obtenus montrent que le glucoside flavonoïde présente une activité antibactérienne.

## **Références Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

- [1] - دمشكري إبراهيم سعدى ; النباتات الزهرية (1992) ; دار الفكر العربي 96,95 - [1]
- [2]- Rojer caratini (1985) ; bordas Encyclopédie (10), la vie des plantes, 6 EA- milan, etalie 562.
- [3]- د. أنور الخطيب , الفصائل النباتية (1999) ; ديوان المطبوعات الجامعية;113- [3]
- [4]- Françoise et jean, marie turmel (1983) ; Encyclopedie générale larouse T 2, libraire – paris, 215.
- [5]- Greuter, W.Burdet, H. M. long, G. (1986) Med- checklist, dicolyldones, tome 3. Botanischen Garden, Genève,165.
- [6]- النباتات الطبية و العطرية، المنظمة العربية للتربية و الثقافة و العلوم تونس، (1995). - [6]
- [7]- R,R ,paris; H. Moyse ; Matière médicale T.3 (1971) ; Masson et C<sup>ée</sup> edituers, libraires de l'Académie de médecine,213.
- [8]- N. Beniston ; Fleurs d'algerie; (1984) entreprise national du livre, Alger 198.
- [9]-J.Bruneton; phytochimie et pharmacognosie des plantes médicales, technique et documentations(1993), Lavoisier, 125,126.
- [10]- I. L. Finar, organic chemistry, (1994) longmau scientific and technical; 13,17.
- [11]- Jaque Angenault, la chimie dictionnaire encyclopédique 2<sup>ème</sup> édition ; (1995) dunod paris ; 133.
- [12]- الدكتور حسان قبيني ,معجم الأعشاب و النباتات الطبية , (1995) دار الكتب العلمية بيروت - [12]
- [13]- T. W. graham solonos, fundamentals of organic chemistry, 4<sup>th</sup> edition(1994 , copyright by :John Wileg and Sons INC 32,36.
- [14]- ch<sup>l</sup> Prévost; Traité de chimie organique T.2, ( 1970) Dunod Paris 378.
- [15]- J. S. Brimacombe; Carbohydrate chemistry V.7, (1974) ; longmau scientific and technical 13, 15,16.
- [16]- مهندس محمد الحسيني د حيدالية تهاني المهدي -النباتات الطبية، زراعتها، مكوناتها، استخداماتها العلاجية- [16]

- [17]- The carbohydrates chemistry and biochemistry, 2<sup>nd</sup> edition V I<sub>A</sub> (1972), word pigman, Dered Horton, Academic press New York and London,216.
- [18]- د-عبد الله عبد الرازق عمر، محمد السيد هيكل، النباتات الطبية و العطرية، كيمياءها، إنتاجها و فوائدها، (1993) منشأة المعارف بالإسكندرية.
- [19]- د.احمد مالو، د. مروان البحرة، د. هيفاء العظمة، الكيمياء الحيوية البنيوية (1991)، ديوان المطبوعات الجامعية، 108-110.
- [20]- Ward Pigman, Dered Horton, The carbohydrates chemistry and biochemistry, second édition, volume II<sub>A</sub> (1970); Academic press New York, sanfransisco, London ,15,16.
- [21]- T. Reichstein, carbohydrate chemistry of substances of biological Interest; M. L. Wolfram, Ed, Vol. I1969, pergamon, New York, , 124.
- [22]- Dangles.O, Dufour. C, and Bret. S, (1999), flavonol- serum albumin complexation. Oxidation of flavonols and their complexes with serum albimin, Journal of the chemical society, perkin trasactions 2, 1653-1663.
- [23]- Dangles. O, Fargeix. G, and Dufour. C, (2000), antioxidant properties of anthocyanins and tanins: a mechanistic investigation with catechin and the 3',4',7- trihydroxyflavylium ion, journal of the chemical society, perkin transactions 2, 1387-1395.
- [24]- Dangles. O, Dufour. C, and Fargeix. G, (2000), inhibition of lipid peroxidation by quercetin and quercetin derivatives: antioxidant and prooxidat effects, journal of the chemical society, perkin transactions 2, 1215-1222.
- [25]- Edwards, C. R. Benediktsson, R. Lindsay, R. S. And seckl, J. R. (1996) determing tissue, specific glucocorticoïd effects, steroids, Apr; 6, (4) : 263- 269.
- [26]- Chandler. rif, (1985) Canadian pharmaceutical journal 118: 420-424.
- [27]- Kato. H, Kanaoka. M, Yano. S, And Kobayashi. M, (1995) 3- Monoglacuronyl, glycyrrhetic acid is a magor metabolite that causes licorice- induced Pseudoaldosteronism, 8, clin, endocrinal, ore tab, Jun, 80 (7), 518-532.
- [28]- Bnediktsson. R, and Edwards. C. R.(1994) Apparent mineralocorticoid excess, J. Hum, Huperkens, Mag, 8 (5) : 371-375
- [29]- Pompei, R. etal (1980). Antiviral activity of glycyrrhizin acid. Experiential 36 : 304-305.
- [30]- Allinger, Cava, Johnson, Dejough, Lebel, Steven, chimie organique (V.3), Edition française dirigée par Eric Brown 1981 (P-728).
- [31]- P. Allain, glucosides cardiotoniques,(2000), Edition C. dor.

- [32]- J. S. Brima combe, the carbohydrate chemistry (V.6), (1973) longman scientific and technical 14-17.
- [33]- Bremness, Lesley (1996), les plantes Aromatiques et médicinales, Edition française, 86.
- [34]- J. F. Mous allier, A. Carli, J. F. Ohainant, précis d'office des publications universitaires.
- [35]- M. blanchard, B. fosset, f. guyot, L. julien, S. placien, chimie organique expérimentale, (1986), hermann paris, 15, 32, 56, 59.
- [36]- M. chavane, G. reaudren, A. julien et E. pallamand; chimie organique experimentale 2<sup>ème</sup> edition (1987), hermann paris, 15- 26.
- [37]- A. fuxa, Th. Pelletier, C. policar; synthèse organique une approche expérimentale,(1996); masson paris, 23.
- [38]- M. hamon, f. pallerin, M.guernet et G. mahuzier; chimie analytique T.3, methodes spectrale et analyse organique,(1994); masson paris 70.
- [39]- émilin constantin, pietro traldi, donata favrette, andré schnell, spectrométrie de masse; technique et documentation,(1996); paris new york, 1.
- [40]- A.dessart, J. paul, J. jodogne; editions A. de boeck, bruxelles, chimie organique, (1985); éditions A. de boek bruxelles, 22.
- [41]- J. L. Salle, J. Pelletie, les huilles essentielles; synthese d'aromathérapie et introduction à la sympathérapie,(1991); editions frison- roche, paris, 20, 51.
- [42]- A. Trease, w. l. evans; textbook of pharmacognosy; 3<sup>rd</sup> edition(1978), boillière tindall and cox, London, 25-26
- [43]- P. J. Hough and A. Raman; laboratory handbook for the fraction of naturel extracts; 1<sup>st</sup> edition; (1998); champman and hall, 75-76.
- [44]- R. stock, S. B. F. Rice; chromatographic méthodes; 2<sup>nd</sup> edition (1967), science paperback, 110-111.
- [45] I. Culei; méthodology for analysis of vegetalle drugs, (1983); faculty of pharmacy;bucharest, romain ,121.
- [46]- S. I. Balkan, S. H. hilal and A. Y. zaki; médicinal plant constituents, (1981), geniral organisation for university and schoolbark,63-64.
- [47]- S. Ladjel, these de magister, C. U, Guelma, 1994.
- [48]- M. N. Gharabeh, H. Elayan and A. S. Salhab,(1988), journal of Echnopharmacology., 24, 93- 99.
- [49]- J. C. Maruzella, M. B Lichtentein, 1956, J. Am. Pharm., 65 (6),378-381.
- [50]- M. Tiziana. Baratta, H. J. Damien dorman, Stanley G.Deans, A. Cristina Figueiredo, José G. Barroso and Giuseppe ruberto, Flavour Fragr. J., 1998, 13, 235- 244.

- [51]- S. Chand, I. Lusunzi, D. A. Veal, L. R. Williams and P. Karuso, 1994, *J. of Antibiotics*, Vol 47 (11), 1295-1303
- [52]- J. Kim, M. R. Marshall and food cheng-i Wie, , *J. of Agricultural and food chemistry*, 1995, 43.
- [53]- J. C. Robinson and D. J. Nel., *J. of horticultureal science*, 1989, 64 (2), 211- 222.
- [54]- D. A. V Berghe and A. J Vlietinck, *Methods in Plants. Biochemitry*, 1991, Vol6, 47-68.
- [55]- N. Benchikra, Thèse de magister, U. Mentourie, Constantine, 2000.

## Résumé

Le *teucrium polium* ssp *cylindraceum* est une plante de la famille des labiées très utilisé en médecine populaire surtout pour ces activité anti-inflammatoire, cicatrisante, sédatif des douleurs abdominale. Pour cette raison nous nous somme a intéressé de l'étude chimique et biologique de cette plante.

L'étude chimique est consacrée sur l'isolation et l'identification des produit isolée. Sachant que l'étude spectral (RMN  $H^1$ , IR, UV) montre que l'un des composés isolés est un glucoside flavonoïde et l'autre est un oligusaccharide.

L'étude de l'activité biologique de ce composé sur deux bactéries et une levure *condida albicans* montre que le composé isolée présente une activité anti-bactérienne.

## ملخص

التوكريوم بوليوم من اصل فصيلة السيلندراسوم، نبات من العائلة الشفوية يستعمل في الطب الشعبي لخواصه المطهرة و الملئمة للجروح، بالإضافة إلى انه مضاد للالتهابات. و لهذا اهتمنا بالدراسة الكيميائية و البيولوجية له.

تتركز الدراسة الكيميائية على عزل المركبات و تشخيصها حيث أثبتت الدراسات الطيفية ( RMN, IR, UV ) أن احد هذه المركبات المعزولة هي عبارة عن جليكوزيد فلافونوييد و الاخر اوليجوسكريد.

الدراسة البيولوجية للجليكوزيد الفلافونويدي المعزول على نوعين من البكتيريا أظهرت فاعليته المضادة للبكتيريا.