

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Hadj Lakhdar - BATNA 1
Faculté des Sciences de la Matière
Département de chimie



THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCE

Spécialité : chimie organique

Présenté Par :

OUACHE Rachid

Thème :

Étude phytochimique de *Veronica rosea*

Soutenue le 04 /02 / 2019

Devant le jury :

BENKHALED Mohammed	Professeur Université Batna-1	Président
HARKAT Hassina	Professeur Université Batna-2	Rapporteur
CHAFAA Salah	Professeur Université Sétif-1	Examineur
DIBI Ammar	Professeur Université Batna-1	Examineur
BOUZAHER Yacine	Professeur Université Batna-1	Examineur
LEGSEIR Belgacem	Professeur Université Annaba	Examineur

Remerciements

*Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au sein de l'équipe de Phytochimie et Synthèse Organique du laboratoire de physio-toxicologie, pathologie cellulaires et moléculaires-biomolécules, Université Batna2, sous la direction du Docteur **Harkat Hassina**. Professeur au département de pharmacie-Université de batna 2.*

Je tiens à la remercier pour la confiance qu'elle m'a accordée. Je la remercie également pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses conseils judicieux, qui ont contribué à alimenter ma réflexion, et pour avoir bien voulu apporter des observations utiles et constructives lors de la rédaction de ce manuscrit.

*Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **Mohammed Benkhaled** Professeur à l'Université de Batna1 pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ma thèse de Doctorat.*

*Je tiens également à remercier les membres du jury, les professeurs **Dibi Ammar** et **Bouzaher yacine** de l'université de batna 1, le professeur **Chafaa Salah** de l'université de Sétif, le professeur **Legseir Belgacem** de l'université de Annaba, qui m'ont honoré en acceptant de juger ce travail de thèse de doctorat en sciences et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Je remercie vivement le Professeur **Patrick Pale** -institut de chimie de l'université de Strasbourg, pour la réalisation des spectres de RMN et masse.*

*Un grand merci à M^{elle} **Oulmi Kafia** maitre de conférences au département de chimie université batna1, à Monsieur **Naoun Mahieddine** et à Monsieur **Benmoussa Mohammed Tahar** Maitres de conférences à l'université Batna 2 pour leur aide précieuse.*

*J'exprime mes remerciements à Monsieur le professeur **Bachir Oudjehih** du département d'agronomie de l'institut des sciences vétérinaires et agronomiques pour l'identification botanique de l'espèce étudiée dans cette thèse.*

Enfin, à mes collègues de laboratoire,

Liste des abréviations

<i>AcOEt</i>	<i>Acétate d'éthyle</i>
<i>CD₃OD</i>	<i>Méthanol deutéré</i>
<i>CDCl₃</i>	<i>Chloroforme deutéré</i>
<i>DMSO-d₆</i>	<i>Diméthylsulfoxyde deutéré</i>
<i>DPPH</i>	<i>1,1-DiPhényl-2-Picryl-Hydrazyl</i>
<i>CCM</i>	<i>Chromatographie sur Couche Mince</i>
<i>CC</i>	<i>Chromatographie sur Colonne ouverte de silice</i>
<i>CPP</i>	<i>Chromatographie sur Plaque Préparative</i>
<i>Glu</i>	<i>Glucose</i>
<i>Gal</i>	<i>Galactose</i>
<i>COSY</i>	<i>Correlated Spectroscopy</i>
<i>SiO₂</i>	<i>Silice normale</i>
<i>HMBC</i>	<i>Heteronuclear Multiple Bonding Connectivity</i>
<i>HSQC</i>	<i>Heteronuclear Single Quantum Connectivity</i>
<i>J (Hz)</i>	<i>Constante de couplage exprimée en Hertz</i>
<i>m</i>	<i>Multiplet</i>
<i>d</i>	<i>Doublet</i>
<i>ppm</i>	<i>Parties par million</i>
<i>RMN</i>	<i>Résonance Magnétique Nucléaire</i>
<i>RMN¹³C</i>	<i>Résonance Magnétique Nucléaire du carbone</i>
<i>RMN¹H</i>	<i>Résonance Magnétique Nucléaire du proton</i>
<i>s</i>	<i>Singulet</i>
<i>sl</i>	<i>Singulet large</i>
<i>t</i>	<i>Triplet</i>
<i>td</i>	<i>Triplet de doublet</i>
<i>tt</i>	<i>Triplet de triplet</i>
<i>tq</i>	<i>Triplet de quadruplet</i>
<i>δ_c</i>	<i>Déplacement chimique du carbone en ppm</i>
<i>δ_H</i>	<i>Déplacement chimique du carbone en ppm</i>
<i>ESI</i>	<i>Electrospray Ionisation (ionisation par électrospray)</i>
<i>m/z</i>	<i>Masse/charge d'un ion</i>

SM

Spectrométrie de Masse

UV

Ultra-Violet

λ max

Longueur d'onde maximale

IC50

Concentration Inhibitrice à 50%

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I : rappels bibliographiques

I: Description de la famille Plantaginaceae.....	4
I-2 : Position systématique de la Famille Plantaginaceae	4
I-3:Présentation du Genre <i>Veronica</i>	5
I-4 : Description botanique.....	6
I-5 : Etudes phytochimiques antérieures sur le genre <i>Veronica</i>	6
I-5-1 : Iridoïdes du genre <i>Veronica</i>	6
I-5-2 : Flavonoïdes du genre <i>Veronica</i>	9
I-6 : Usage traditionnel des plantes du genre <i>Veronica</i>	13
I-6-1 : Activité anti-inflammatoire	13
I-6-2 : Activités anticancéreuses.....	14
I-6-3 : Activités antioxydantes:.....	14
I-6-4: Activité antibactérienne.....	15
Référence	17

Chapitre II : Etude des flavonoïdes et des iridoïdes

II-1 : Introduction.....	21
II-2 : les flavonoïdes.....	21
II-2-1 : Biosynthèse des flavonoïdes.....	23
II-2-2 : Activités biologiques des flavonoïdes.....	26
II-2-2-a : activités antioxydantes.....	26
II-2-2-b : activités anti-inflammatoire	27
II-2-2-c : activités anti-bactérienne.....	28
II-2-2-d : activités anti-fongique.....	28
II-2-2-e : activités antivirale.....	29
II-2-2-f : activité cardiovasculaire.....	30
II-3: les iridoïdes	31
II-3-1 : Définition	31
II-3-2 : Classification des iridoïdes.....	32
II-3-2-a: Iridoïdes simples.....	32
II-2-2-b : les hétérosides d'iridoïdes	34

II-2-2-1-c : Iridoïdes carbocycliques	34
II-2-2-1-d : seco-iridoïdes.....	35
II-3-2-e: Bis-iridoïdes.....	36
II-2-2-f : Alcaloïdes monoterpéniques.....	37
II-2-3: Biosynthèses.....	39
II-2-4: Activités pharmacologique.....	39
Référence	42

Chapitre III : Etude phytochimique de l'espèce Veronica rosea

III-1 : Etude phytochimique de l'espèce Veronica rosea.....	50
III-2 : Rappel botanique.....	50
III-3 : préparation de la matière.....	50
III-4 : Chimie extractive.....	51
III-4-1 : Extraction.....	51
III-4-2 : Fractionnement de l'extrait butanolique.....	52
III-5 : caractérisations des produits obtenus	56
III-5-1 : Elucidation de la structure du composé VR1.....	56
III-5-2 : Elucidation de la structure du composé VR2.....	65
III-5-3 : Elucidation de la structure du composé VR3.....	71
III-5-4 : Elucidation de la structure du composé VR4.....	76
III-5-5 : Elucidation de la structure du composé VR5.....	80
III-5-6 : Elucidation de la structure du composé VR6.....	85
III-5-7 : Elucidation de la structure du composé VR7.....	93
III-5-8 : Elucidation de la structure du composé VR8.....	96
III-5-9 : Elucidation de la structure du composé VR9.....	103
III-5-10 : Elucidation de la structure du composé VR10.....	111
III-6 : Conclusion.....	115
Référence.....	117

Chapitre IV : Etude des activités anti corrosion et anti oxydante

IV: Propriétés inhibitrices de corrosion.....	121
IV-1: Introduction	121
IV-2 : Analyse gravimétrique.....	122
IV-2-1: La gravimétrie.....	122

IV-2-2 : La méthode de la perte de masse.....	122
IV-2-3 : Matériels et méthode.....	122
IV-2-4 : Mesure de la perte de masse.....	122
IV-2-5 : Mesures électrochimiques.....	123
IV-3 : Effet de la concentration sur la perte de masse la vitesse de corrosion et l'efficacité inhibitrice	124
IV-4 : Courbe de polarisation	125
IV-5 : Isothermes d'absorption et détermination des paramètres thermodynamiques.....	127
IV-6 : Activité antioxydante.....	131
IV-6-1 : Introduction.....	131
IV-6-2 : Teste DPPH	132
IV-6-2-a : Mode opératoire.....	133
IV-6-2-b : Résultats et discussion	133
Référence.....	136
conclusion générale.....	139

Chapitre V : partie expérimentale

V-1 : Matériels et appareillages.....	142
V-1-1 : Matériel végétal.....	142
V-1-2 : Récolte de la plante <i>Veronica Rosea</i>	142
V-1-3 : Méthodes chromatographique de séparation.....	142
V-1-3-a : Chromatographie sur Couche Mince et Epaisse (CCM et CCE).....	142
V-1-3-b : Chromatographie sur colonne (CC).....	142
V-1-4 : Méthodes d'identification structurale.....	143
V-1-4-1: Spectrométrie Ultraviolet-Visible (UV-VIS).....	143
V-1-4-2 : Spectrométrie de masse(ESI-MS) et (EI).....	143
V-1-4-3 : Spectre de résonances magnétique nucléaire (RMN).....	143
V-1-4-4 : Pouvoir rotatoire	143
V-2 : Etude phytochimique de l'espèce <i>Veronica rosea</i>	143
V-2-1 : Extraction	143
V-2-2 : Séparation et purification	144
V-2-3 : Fractionnement et purification de l'extrait butanolique.....	144
V-3 : Constantes physiques et données spectrales des composés isolés.....	146

Introduction

Introduction

Pendant longtemps, la phytothérapie a prouvé son efficacité et ses bienfaits incontestables pour notre santé. Les plantes médicinales ont été utilisées dans toutes les civilisations du monde comme source de médicaments. La connaissance de leurs propriétés curatives a été transmise au cours des siècles au sein et entre les communautés humaines [1].

Un recours croissant à l'utilisation de plantes médicinales a été attribué en partie à l'effet thérapeutique des métabolites secondaires extraits de ces plantes ainsi que le développement de plusieurs médicaments dont leurs principes actifs étaient à base de plantes. Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres [2].

La recherche de nouvelles biomolécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale, on se servant des données pharmacologiques et chimiotaxonomiques des plantes. Cette approche permet de sélectionner les espèces potentiellement actives et d'augmenter le nombre de découvertes de nouvelles substances actives [3].

La position biogéographique de l'Algérie, étendue entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne, lui confère une flore très riche et diversifiée. On compte plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ce potentiel de plantes est peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique. Ce domaine constitue, un axe non négligeable de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles bioactives [4].

Le genre *Veronica* a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques et pharmacologiques [5, 6]. Ces travaux ont permis l'isolement de plusieurs types de produits dont les plus majoritaires sont les flavonoïdes et les iridoïdes [7, 8, 9].

L'objectif principal de ce projet est consacré à l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation des activités antioxydante et inhibitrice de corrosion de l'espèce *Veronica rosea* appartenant à la famille des Plantaginacées.

Le présent manuscrit est réparti en cinq chapitres :

Le premier chapitre, est consacré à une recherche bibliographique, comportant une présentation botanique de la famille Plantaginacées, les études chimiques antérieures réalisées

sur le genre *Veronica* ainsi que les utilisations thérapeutiques de ce genre en médecine traditionnelle.

Dans le deuxième chapitre, nous étalons un aperçu bibliographique sur les métabolites secondaires de type flavonoïde et iridoïde très présents dans le genre *Veronica* en exposant leurs diverses structures, leurs voie de biosynthèse et leurs activités biologiques.

Le troisième chapitre, comporte les travaux personnels. Les résultats obtenus lors de l'étude chimique des parties aériennes de la plante *Veronica rosea* (Plantaginacées), les différentes étapes d'extraction, de purification et identification structurale seront présentés d'une manière détaillée.

Le quatrième chapitre, rapporte les résultats obtenus au cours de l'évaluation de l'activité anti-oxydante ainsi que l'étude de l'activité anticorrosion du cuivre dans une solution de HNO₃ de l'extrait *n*-butanolique

Le dernier chapitre sera consacré à la présentation des protocoles expérimentaux, en traitant les différentes techniques chromatographiques et spectroscopiques utilisées pour la réalisation de ce travail.

Références

- [1] Haidan Y., Qianqian M., Li Y., Guangchun P., (2016). The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products, *Molecules*, 21, 559.
- [2] Michael W., (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites, *Medicines*, 2, 251-286.
- [3] James D. M.C., Sylesh K. V., John T. H., (2007). Plant natural products: Back to the future or into extinction, *Phytochemistry*, 68, 2015–2022.
- [4] Quézel P., (1978). Analysis of Flore Mediterranean and Saharan Africa, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 65, 2, 479-534,.
- [5] Haibing X., Kai-Xian C., Liu-Qiang Z., Yi-Ming L., (2019). Review of the Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Pharmacology of the Genus *Veronica*, *The American Journal of Chinese Medicine*, 47, 6, 1–29,.
- [6] Andrei M., Dan C. V., Laurian V., Ovidiu C., Ana-Maria G., Gianina C., (2015). Phytochemical Characterization of *Veronica officinalis* L., *V. teucrium* L. and *V. orchidea* Crantz from Romania and Their Antioxidant and Antimicrobial Properties, *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 21109-21127.
- [7] Grayer-Barkmeijer R.J., (1978). Flavonoids in *Parahebe* and *Veronica*: a chemotaxonomic study. *Biochem. Syst. Ecol.* 6, 131–137.
- [8] Grayer-Barkmeijer, R.J., (1979). Chemosystematic Investigations in *Veronica* L. (*Scrophulariaceae*) and Related Genera. PhD Thesis, University of Leiden.
- [9] Albach, D.C., Grayer, R.J., Jensen, S.R., O' zgo' kce, F., Veitch, N.C., (2003). Acylated flavone glycosides from *Veronica*, *Phytochemistry* 64, 1295-1301.

Chapitre I
Rappels bibliographiques

I-1 Description de la famille Plantaginaceae

Plantaginaceae est une famille diversifiée et cosmopolite. Elle comprend 3 genres en classification classique, 94 en classification phylogénique et environ 1900 espèces. Le genre le plus important est *Veronica* avec environ 450 espèces [1]. Étant si diverse, la circonscription de cette famille est laborieuse à établir [2].

Les Plantaginaceae sont des herbacées annuelles ou pérennes, rarement ligneuses à la base, portant des feuilles en rosette basale opposées ou alternes avec une inflorescence en épis denses plus ou moins allongés. Les fleurs sont hermaphrodites, unisexuées, formant des épis simples, cylindriques, allongés ou globuleux. Le calice à quatre divisions profondes et persistantes, ou quatre sépales inégaux en forme d'écailles. La corolle est gamopétale, tubuleuse, à quatre divisions régulières, rarement entière à son sommet. L'ovaire est libre, à une, deux, ou même à quatre loges, contenant un ou plusieurs ovules pseudo-campulitropes. Le style est capillaire, terminé par un stigmate simple, subulé, rarement bifide à son sommet. Le fruit est une petite pyxide recouverte par la corolle qui persiste. Les graines se composent d'un tégument propre qui recouvre un endosperme charnu, au centre duquel est un embryon cylindrique, axile et homotrope [3,4].

La plupart des espèces Plantaginaceae se trouvent principalement dans les zones tempérées et humides. Elles peuvent également être trouvées dans les prairies dégradées, les caniveaux et les champs abandonnés [3].

I-2 Position systématique de la Famille Plantaginaceae.

Engler & Prantl (1941) ont placé les Plantaginacées dans l'ordre des Plantaginales, classe des dicotylédones, sous-division Angiospermae et division Spermatophyta [4]. Selon la classification APG III, cette famille est rattachée maintenant à l'ordre des Lamiales. Ce regroupement a été induit suite à des analyses de séquences d'ADN. La composition de cette famille a été fortement modifiée ces dernières années (2009) et comprend désormais plusieurs genres (*Antirrhinum*, *Cymbalaria*, *Digitalis*, *Linaria*, *Penstemon*, *Veronica*...), qui se trouvaient auparavant au sein des Scrophulariaceae.

La famille Plantaginaceae est classée comme suite :

Super- embranchement	SPERMATOPHYTA
Embranchement	ANGIOSPERMAE
Classe	EUDICOTYLEDONAE
Sous-classe	ASTERIDAE
Ordre	LAMIALES
Famille	PLANTAGINACEAE

I-3 Présentation du Genre *Veronica*

Dans sa plus récente circonscription, le genre *Veronica*, avec environ 450 espèces est le plus grand genre de Plantaginaceae. Il est distribué dans le monde entier avec des centres de diversité en Asie occidentale et en Nouvelle-Zélande, la majeure partie de l'hémisphère nord et dans de nombreuses parties de l'hémisphère sud; il présente une grande diversité écologique, avec des espèces poussant dans des habitats aquatiques à des steppes sèches allant du niveau de la mer aux hautes régions alpines [5].

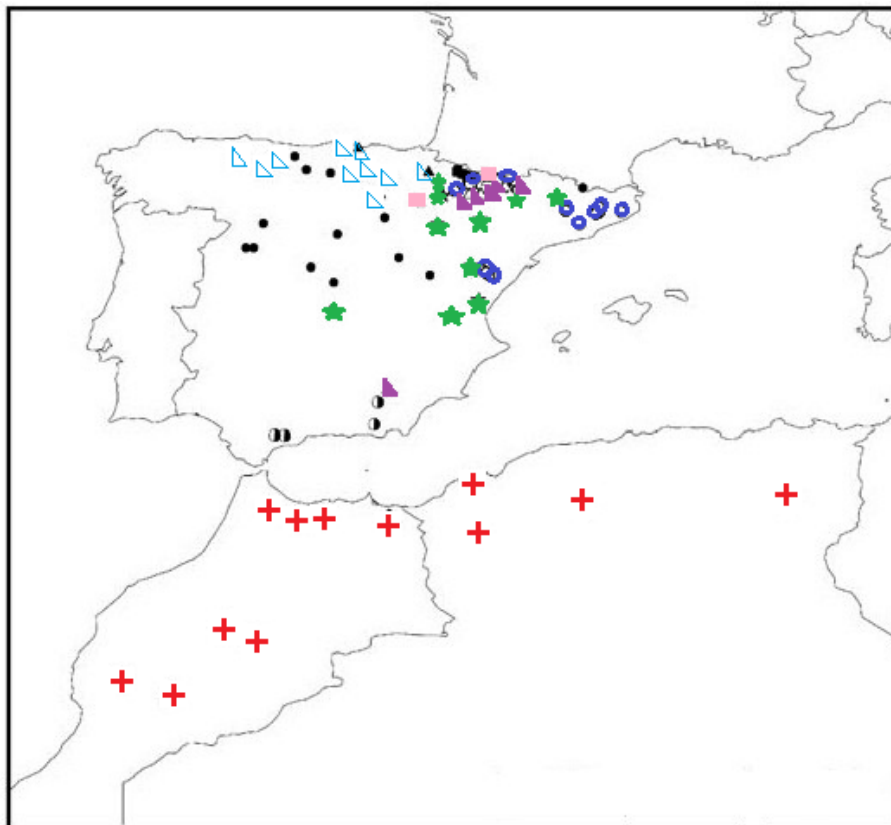


figure I-01 Origine géographique des espèces de genre *Veronica* : ○, *Veronica orsiniana*; ■, *V. scheereri*; △, *V. sennenii*; +, *V. rosea*; ●, *V. fontqueri*; ★, *V. tenuifolia*; ●, *V. javalambrensis*; ▲, *V. aragonensis*.

L'analyse des séquences d'ADN a montré que la circonscription et la classification du genre *Veronica* devraient être complètement révisées [6,7] et qu'une nouvelle classification a été proposée dans laquelle *Veronica* est divisé en 13 sous-genres [8]. Cette classification diffère considérablement des classifications précédentes, qui étaient principalement basées sur la morphologie.

I-4 Description botanique

Le genre *Veronica* comprend généralement des plantes annuelles de petite taille, souvent rampantes, à feuilles opposées. Les fleurs peuvent former des racèmes, plus rarement des épis, ou être solitaires à l'aisselle des feuilles. Le calice hétérosépale a quatre sépales et parfois cinq. La couleur dominante étant le bleu, dans certaines espèces, l'un des pétales est plus petit et plus clair que les trois autres. Le fruit est une capsule aplatie ou globuleuse, souvent en forme de cœur.



Veronica chamaedrys



Veronica persica



Veronica longifolia

Figure I-2 Image de quelques espèces du genre *Veronica*

I-5 Etudes phytochimiques antérieures sur le genre *Veronica*

Le genre *Veronica* a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Ces travaux ont conduit à l'isolement et l'identification de divers types de métabolites secondaires, constitués majoritairement d'iridoïdes et de flavonoïdes [8].

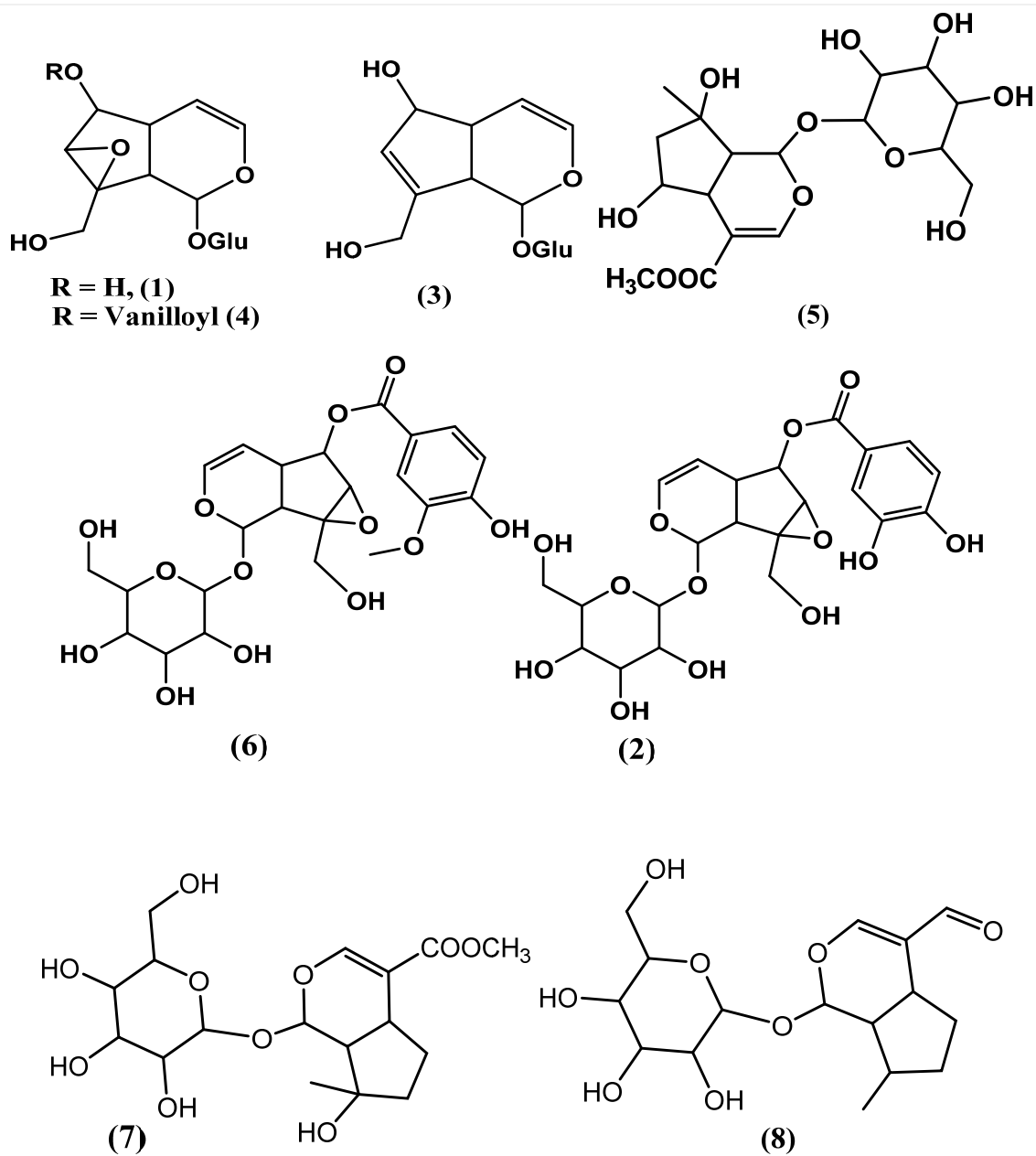
I-5-1 Iridoïdes du genre *Veronica*

Ces composés sont largement répandus dans de nombreuses plantes appartenant au genre *Veronica*. Les recherches bibliographiques suggèrent une prédominance de l'ajugol, le catapol et l'aucubine. Le **tableau I-1** reporte quelques exemples d'iridoïdes isolés de plusieurs espèces du genre *Veronica*.

Tableau I-1 Les iridoïdes isolés du genre *Veronica*

Nom de l'espèce	Parties étudiées	Composés identifiés	Réf
<i>V. cymbalaria</i> <i>Bodard</i>	plante entière	-Catalpol (1), verproside (2), aucubine (3), 6-O-isovanilloylcatalpol(4) amphicoside (6), alpinoside, 6-O-veratroylcatalpol (13), verminoside (14) Veronicoside (16), catalposide (17),	[9,10]
<i>V. anagallis-aquatica</i>		-Aucubine (3), mussaenoside (7), catalposide (17), verproside (2), amphicoside (6), catalpol (1), boschnaloside (8), shanzhiside methyl ester (5).	[11]
<i>V. arvensis</i>	Parties aériennes	-ajugol (10)	[12]
<i>V. turrilliana</i>		-catalpol (1), catalposide (17), verproside (2), amphicoside (6), isovanilloylcatalpol (4), aucubine (3)	[13]
<i>V. cuneifolia</i>		-verproside (2), verminoside (14), amphicoside (6), veronicoside (9), catalposide (17), catalpol (1), veratroylcatalpol (18), isovanilloylcatalpol, aucubine (3),	[10,14]
<i>V. peregrina L</i>		-veronicoside (9), minecoside (19), specioside (20), amphicoside(6), catalposide (17), 6-O-cis-p-coumaroyl catalpol (21), p-hydroxybenzoic acid methyl ester (22), verproside (2), verminoside (14)	[15]
<i>V. argute-serrata</i>		-catalpol(1), aucubine(3), ajugol(10)	[16]
<i>V. biloba schreb</i>		catalpol(1), aucubine(3), ajugol(10),	[16]
<i>V. campylopoda</i> <i>Boiss</i>		-catalpol(1), aucubine(3), ajugol(10), verminoside (14)	[16]

<i>V. longifolia</i>	plante entière	-catalpol (1), aucubin (3), verposide (2), catalposide (17), verminoside (14), catalpol ester (23).	[16]
<i>V. persica</i>	plante entière	-aucubine (3), vernicoside (9), amphicoside (6), 6-O-veratroyl-catalpol, catalposide (17), verprosde (2), verminoside (14).	[17]
<i>V. intercedens</i>		-Melittoside (12), globularifoline (11)	[12]



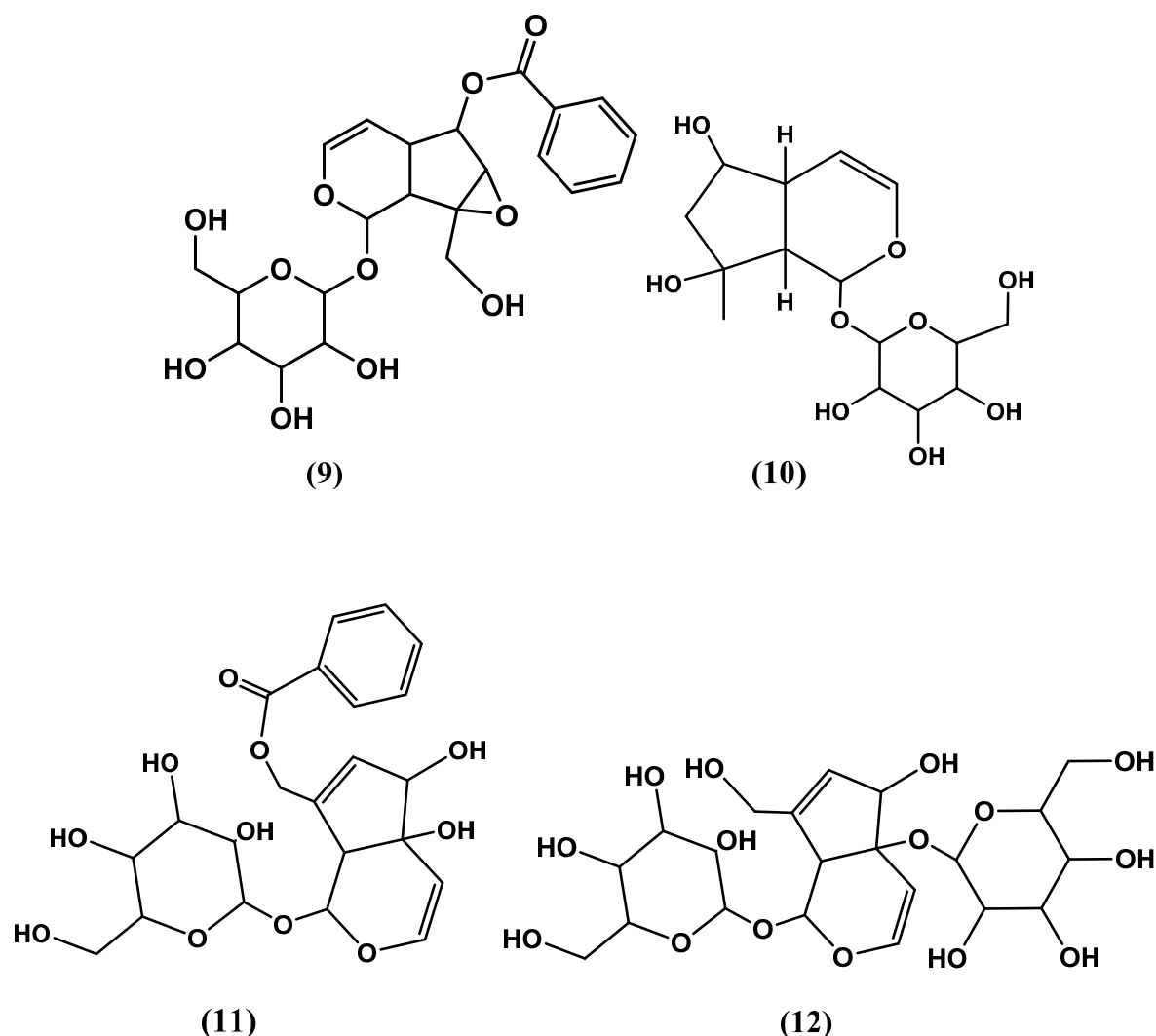


Figure I-3 Structures chimiques de quelques iridoïdes isolés de différentes espèces du genre *Veronica*.

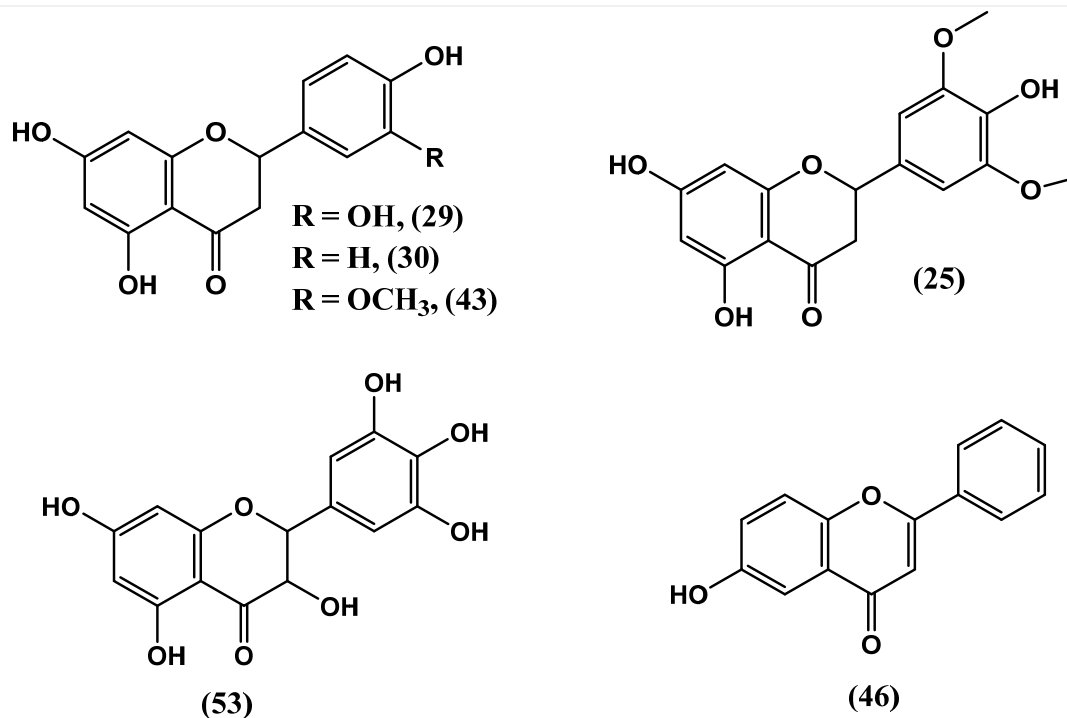
I-5-2 Flavonoïdes du genre *Veronica*

Les études chimiques des espèces du genre *Veronica* ont montré leur richesse en flavonoïdes, dont la majorité est de type flavone. Les recherches bibliographiques sont en faveur d'une prédominance remarquable de l'isocutellareine, luteoline, apigénine. Certaines flavones glucosylées identifiées dans ce genre ont une acétylation au niveau du carbone C-6'' du glucose. Le **tableau I-2** résume quelques exemples de flavonoïdes isolés de diverses espèces du genre *Veronica*.

Tableau I-2 Les flavonoïdes isolés des espèces du genre *Veronica*

Nom de l'espèce	Parties étudiées	Composés identifiés	Réf
<i>V. filiformis</i>	plante entière	Isoscutellareine 4' -methyl ether 7-O-β-(6''' -O-acetyl-2'' -O-alloxy)glucoside) (24), tricine (25)	[18]
<i>V. linariifolia</i> <i>Pall.</i>		Linariifolioside (26), luteolin-7-O-β-D-glucosyl-(1-2)-β-D-glucoside (27), apigenin-7-O-α-L-rhamnoside (28), luteolin (29), apigenin(30), 3',4',5,6,7-pentahydroxyflavone-7-O--D-glucosyl-(1'' → 2'')-β-D-glucoside (31), apigenin-7-O-β-D-glucuronide methyl ester (32), apigenin-7-O-β-d-glucuronide ethyl ester (33),	[19,20]
<i>V. fushii</i>	aériennes	luteolin 7-O-glucoside (34),	[21]
<i>V. persica</i>		Persicoside (35)	[17]
<i>V. longifolia</i> L et <i>V. liwanensis</i>	Plante entière	6-hydroxyluteolin 4' –methyl ether-7-O-α-rhamnopyranosyl (1'''→2'') [6''-O-acetyl glucopyranoside] (36) 6-hydroxyluteolin 7-O-(6''-O-(E)-caffeoyle)-β-glucopyranoside (37),	[22]
<i>V. orientalis</i> Mill	Plante entière	Isoscutellarein 7-O-(6''' -O-acetyl)-β-allopyranosyl(1''' →2'')-β-glucopyranoside (38),	[22]
<i>V. thymoides</i>	Plante entière	-3'-hydroxyscutellarein-7-O- (6''-O-protocatechuoyl)-β-glucopyranoside (39), 3'-hydroxyscutellarein -7-O-(6'' -O-trans-feruloyl)-β-glucopyranoside (40), 3'-hydroxy, 6-O-methylscutellareine 7-O-β-glucopyranoside (41), luteoline 7-O-β-glucopyranoside (34), Isoscutellareine 7-O-(6'''-O-acetyl)-β-	[23]

		allopyranosyl (1''''→2'')-β-glucopyranoside (38), luteolin 7-O-β-glucopyranoside (34)	
<i>V. peregrina L</i>		luteoline (29), apigenine (30), chrysoeriol 7-glucuronide (42), chrysoeriol (43), diosmetine (44),	[24,25]
<i>V. spicata</i>		spicoside (45), chrysine (46), rutine (47), quercitrine (48),	[12]
<i>V. Officinalis</i>	Plante entière	lutéoline (29), apigenine (30), quercitrine (48), hispiduline (49), quercetine (50), eupatorine (51) eupatiline (52)	[26]
<i>V. teucrium L.</i>	Plante entière	-lutéoline (29), apigenine (30), eupatorine (51), Eupatiline (52),	[26]
<i>V. ciliata Fisch</i>	Plante entière	lutéoline (29), delphinidine (53)	[27]
<i>V. intercedens et V. orientalis</i>	Plante entière	-Isoscutellareine 7-O-(6'''-O-acetyl) -β-allopyranosyl (1''''→2'') -β-glucopyranoside (38)	[22]



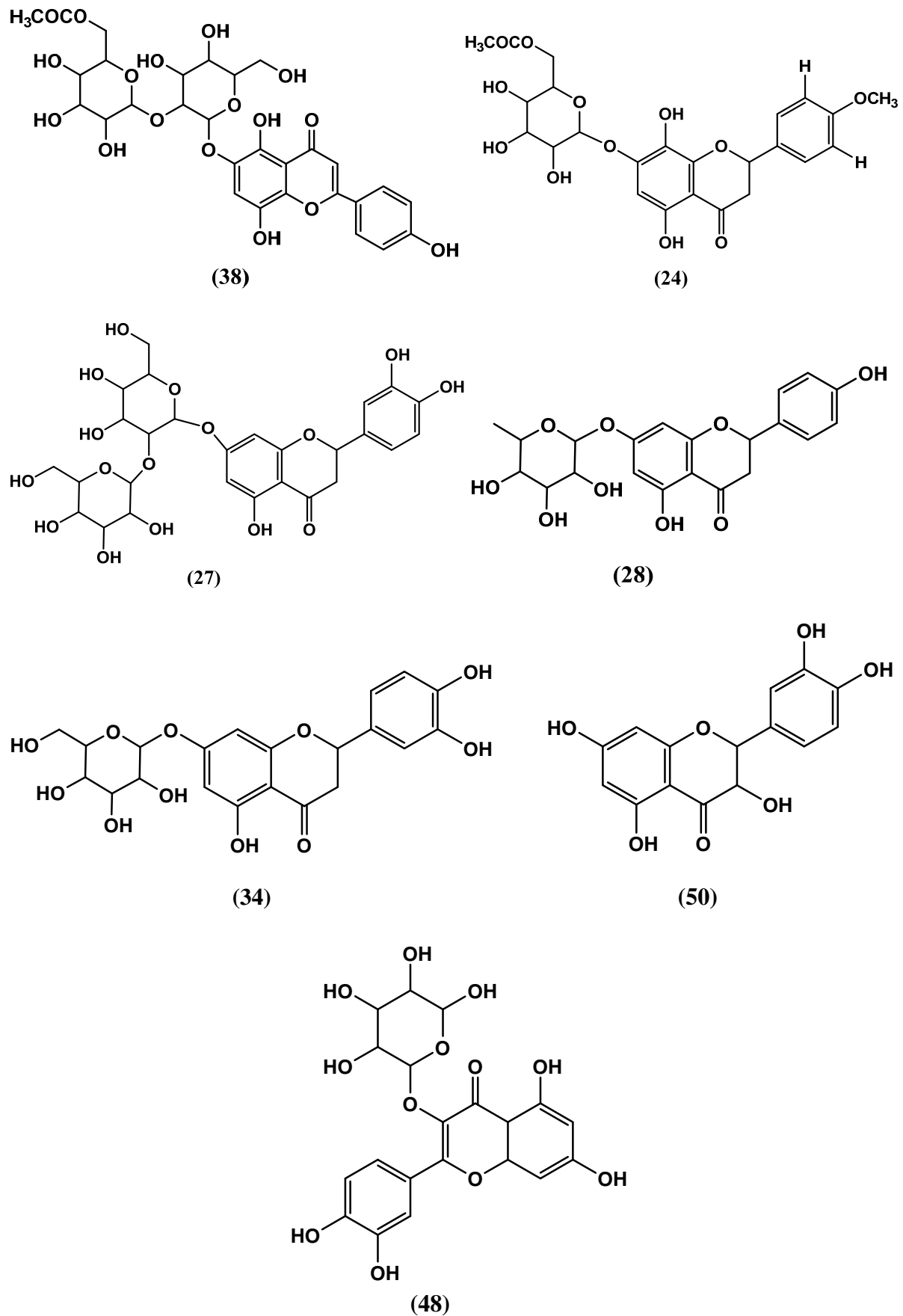


Figure I-4 Structures chimiques de quelques flavonoïdes isolés de différentes espèces du genre *Veronica*.

I-6 Usage traditionnel des plantes du genre *Veronica*

La médecine traditionnelle conserve une place très importante, dans le système de santé mondial. En 2019, l'Organisation mondiale de la santé a déclaré que 88% de ses États membres, ont indiqué que leur population utilise des médicaments traditionnels pour traiter les maladies [28]. Selon la littérature, plusieurs espèces du genre *Veronica* sont référencées pour leur large utilisation thérapeutique. En voici quelques exemples :

-*Veronica peregrina* L. est utilisée dans la médecine traditionnelle coréenne pour traiter l'hémorragie, l'ulcère gastrique, les infections et les maladies liées aux troubles inflammatoires induits par les macrophages [25].

En médecine traditionnelle balkanique [15] *Veronica officinalis* L est utilisée pour traiter le foie, l'eczéma, l'ulcération, les morsures de serpents, la cicatrisation des plaies et les lésions cutanées

Les parties aériennes de *Veronica hederifolia* sont connues en médecine populaire turque pour soulager les douleurs abdominales et rhumatismales [29]

En médecine traditionnelle chinoise, *Veronica anagallis-aquatica* L. est utilisée pour le traitement de la grippe, de l'hémoptysie, de la laryngopharyngite et de l'hernie [30].

Sur la base de ces connaissances, les plantes du genre *Veronica* constituent une excellente source de métabolites secondaires avec un large spectre de bioactivités [20]. L'investigation biologique des extraits et des constituants chimiques des espèces du genre *Veronica*, a montré que ces derniers possèdent diverses activités biologiques, notamment l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne et antifongique. Globalement, ces espèces pourraient être considérées comme de bons candidats pour des applications industrielles ou pharmacologiques [30].

I-6-1 Activité Anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires de plusieurs espèces du genre *Veronica* ont été évaluées *in vitro* et *in vivo*. Une étude menée sur l'espèce *V. peregrina* [31] a révélé l'utilité de cette plante en thérapie naturelle synergique dans les maladies inflammatoires médiées par les mastocytes activés, comme l'arthrite, l'obésité et l'athérosclérose. Une étude similaire réalisée par Gründemann et al. a démontré que *V. officinalis* possède une faible influence sur la capacité de dégranulation des mastocytes mais qu'elle inhibait l'expression des gènes et des protéines de l'éotaxine de chimiokine dans les cellules épithéliales pulmonaires A549, cette expression étant essentielle aux cellules associées à l'inflammation dans les maladies pulmonaires. [32].

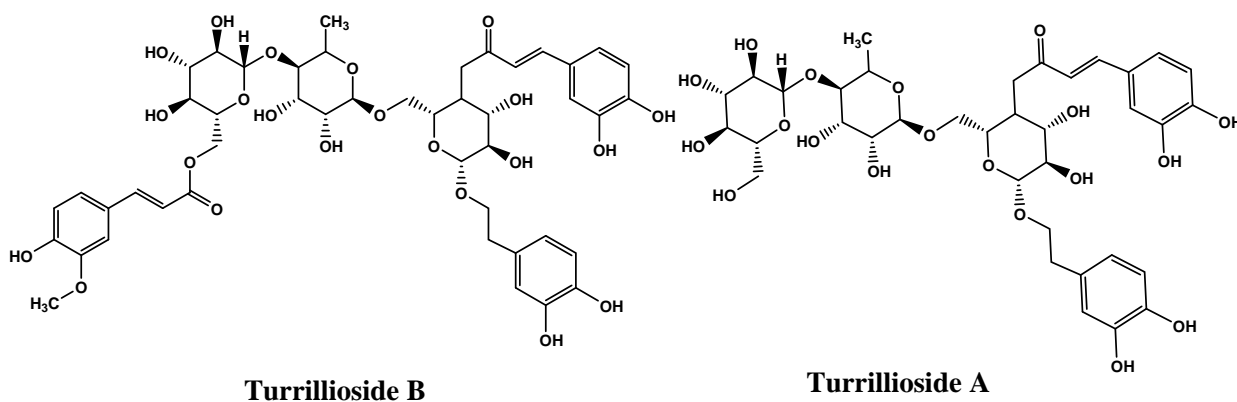
I-6-2 Activités anticancéreuses

Les plantes médicinales occupent une place importante dans la lutte contre le cancer. Plus de 60% des médicaments anticancéreux ayant été utilisés en thérapeutique sont d'origine naturelle [33]. De nombreuses investigations biologiques des plantes du genre *Veronica*, ont montré qu'elles possèdent une activité anticancéreuse importante [34]. Harput et ses collaborateurs ont étudié l'activité cytotoxique de cinq espèces *V. cymbalaria*, *V. hederifolia*, *V. pectinata* L, *V. persica* et *V. polita*. Les extraits méthanoliques de ces plantes, ont présenté une cytotoxicité à dose-dépendante contre les cellules KB (carcinome épidermoïde humain) et B16 (mélanome de souris) [74]. Un autre travail a été mené par Saracoglu et *al.* pour l'évaluation de la cytotoxicité des extraits aqueux de *V. cuneifolia* subsp et *V. cymbalaria* en utilisant le test du bromure de 3- (4,5-diméthylthiazol-2-yl) -2,5-diphényltétrazolium (MTT) et diverses lignées cellulaires : Hep-2 (carcinome épidermoïde humain), RD (rhabdomyosarcome humain), L-20B (cellules L murines transgéniques) et les cellules Vero non cancéreuses (cellules rénales de singe vert d'Afrique). Cette étude a révélé que ces deux plantes présentent une activité cytotoxique intéressante contre les lignées cellulaires testées avec des valeurs de IC50 allant de 250,4 (pour la lignée RD) à 410,9 g / ml (pour la lignée cellulaire Vero) [35].

I-6-3 Activité antioxydante

Les plantes du genre *Veronica*, riches en composés phénoliques, sont douées de propriétés antioxydantes facilement mises en évidence *in vitro*. L'activité anti-oxydante des extraits méthanoliques des espèces *V. teucrium* et *V. jacquinii* a été évaluée à l'aide de deux méthodes (DPPH et ABTS). Ces deux espèces ont montré un potentiel antioxydant intéressant (avec IC50 de 28:49 à 37:63 µg / ml µg dans le test DPPH, et 1,98 à 1,32 mg AAE / g pour le test ABTS, [26]. Dans une autre étude, les extraits de *V. spicata* ont réduit le taux de dégradation du β-carotène de manière significative et ils ont présenté un effet anti oxydant plus élevé que le BHA [26]. Les turrilliosides A et B, deux phényléthanoïdes glycosides isolés de *Veronica turrilliana* se sont révélés être de puissants piègeurs de radicaux DPPH, environ 1,6 fois mieux que la quercétine [13]. Dans une étude récente, Lee et ses collaborateurs [36] ont évalué l'activité antioxydante, la cytotoxicité et l'activité de synthèse du collagène d'une crème formulée (Scoti-SpeedwellTM) contenant de l'extrait de *V. officinalis*. L'extrait éthanolique de cette plante a montré une bonne inhibition des radicaux libres DPPH et un effet positivement significatif sur l'activité de synthèse du collagène sans cytotoxicité. Dans l'étude *in vivo*, le traitement avec la crème formulée (Scoti-Speedwell) pendant 56 jours a

réduit de manière significative le pourcentage de la surface et de la longueur des rides avec 18,0% et 16,05%, respectivement.



I-6-4 Activité antibactérienne

Les infections bactériennes sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. La thérapeutique anti-infection se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Toutefois, leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi-résistance bactérienne d'où l'utilisation des plantes, est une excellente alternative.

De nombreuses espèces du genre *Veronica* ont confirmé leur effet antibactérien [37,26,38]. Par exemple, les extraits acétate d'éthyle et méthanoïque des parties aériennes de l'espèce *V. spicata* ont montré une activité intéressante sur différentes souches bactériennes avec valeurs de concentration inhibitrice minimale (CMI) comprises entre 1,25 et 5 mg / ml [39,40]. Dans un autre travail, Zivkovic et al. [41] ont étudié l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de *V. urticifolia* contre les bactéries Gram-négatives *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa*, et les bactéries Gram-positives *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes* et *Bacillus cereus*. Après la mesure de la concentration bactéricide minimale (MBC), il a été constaté que le germe le plus sensible était *Staphylococcus aureus*. L'effet antistaphylococcique est dû à un composé phénolique l'actéoside, qui pourrait inhiber l'incorporation de la leucine et perturber la synthèse des protéines. Ce résultat est très important pour la santé humaine car *S. aureus* est un germe pathogène difficile à traiter avec le développement d'une résistance aux antibiotiques. D'autres investigations concernant l'effet antibactérien des espèces *Veronica* sont reportées dans le **Tableau I-3**.

Tableau I-3 Résumé de l'activité antibactérienne de différentes espèces de *Veronica*

L'espèce	Partie examinée	Effet antibactérien	Réfé
<i>V. lycica</i> E.Lehm	Aérienne	L'activité antibactérienne était déterminé contre <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Micrococcus luteus</i> ,	[42]
<i>V. anagallis-aquatica</i> L.	Aérienne	Les extraits ont été testés contre cinq souches bactériennes et deux souches de levure. Ils ont montré une inhibition significative par rapport au contrôle positif (gentamicine)	[43]
<i>V. teucrium</i> L., & <i>V. orchidea</i> Crantz		Deux souches bactériennes anaérobies ont été utilisées : <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> et <i>Fusobacterium nucleatum</i> . <i>V. teucrium</i> et <i>V. orchidea</i> ont présentées une meilleure activité avec (CMI = 31,25 mg / mL et MBC = 62,5 mg / mL) La souche la plus sensible étant <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	[44]
<i>V. officinalis</i> L., <i>Veronica teucrium</i> L., <i>Veronica orchidea</i> Crantz		Huit souches bactériennes ont été utilisées: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Listeria ivanovii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> et <i>Escherichia coli</i> . Les plus sensibles les souches étaient <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> et <i>Listeria ivanovii</i> avec des valeurs MIC comprises entre 3,9 et 15,62 mg / ml	[26]

References

- [1] Christenhusz M.J.M., Byng J.W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*. 261 ,3 ,201–217.
- [2] Albach D.C., Meudt H.M., (2005). Oxelman B. Piecing together the new Plantaginaceae. *American Journal of Botany*. 92, 2 ,297–315,
- [3] Quézel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Paris: Centre National de la Recherche Scientifique, vol 2, 1170.
- [4] Raquel M. (2012). Gonzáles T. Estudio taxonómico de las Plantagináceas en los Andes Centrales (Ancash, Lima, Huánuco, Pasco y Junín) del Perú Université nationale de San Marcos
- [5] Albach, D.C., Meudt, H.M., Oxelman, B., (2005). Piecing together the “new” Plantaginaceae. *Am. J. Bot.* 92, 297–315.
- [6] Albach, D.C., Chase, M.W., (2001). Paraphyly of *Veronica* (*Veroniceae*; *Scrophulariaceae*): evidence from the internal transcribed spacer (ITS) sequences of nuclear ribosomal DNA. *J. Plant Res.* 114, 9–18.
- [7] Albach, D.C., Martínez-Ortega, M.M., Fischer, M.A., Chase, M.W., (2004). Evolution of Veroniceae: a phylogenetic perspective. *Ann. MO Bot. Gard.* 91, 275–302.
- [8] Albach, D.C., Martínez-Ortega, M.M., Fischer, M.A., Chase, M.W. (2004). A new classification of the tribe Veroniceae problems and a possible solution. *Taxon* 53, 429–452.
- [9] Taskova,R., Handjieva N., Evstatieva L., Popov S., (1999). Iridoid glucosides from *Plantago cornuti*, *Plantago major* and *Veronica cymbalaria*, *Phytochemistry*, 52, 1443–1445.
- [10] Handan Öztunca F., Saracoglu I., Harput U., (2011). Comparative hplc determination of iridoid contents in *Veronica cuneifolia* subsp. *Cuneifolia* and *V. cymbalaria*. *Turk. J. Pharm. Sci.* 8, 63–70.
- [11] Su B.N., Yang L., Gao K., Jia Z.J., (2000). Aquaticol a bis-sesquiterpene and iridoid glucosides from *Veronica anagallis-aquatica*. *Planta Med.*, 66, 281–283.
- [12] Albach D.C., Grayer R.J., Kite G.C., Jensen S.R., (2005). *Veronica* Acylated flavone glycosides as chemosystematic markers. *Biochem. Syst. Ecol.*, 33, 1167–1177.
-

-
- [13] Kostadinova E.P., Alipieva K.I., Kokubun T., Taskova R.M., Handjieva N.V., (2007). Phenylethanoids, iridoids and a spirostanol saponin from *Veronica turrilliana*., *Phytochemistry*, 68, 1321–1326.
- [14] Harput-Hudaverdi U.S., Oztunca F.H., Saracoglu I., (2008). Comparative phytochemical and biological studies on *Veronica cuneifolia* subsp. *Cuneifolia* and v. *Cymbalaria*. *Planta Med.*, 74, PC88.
- [15] Kwak J.H., Kim H.J., Lee K.H., Kang S.C., Zee O.P., (2009). Antioxidative iridoid glycosides and phenolic compounds from *Veronica peregrina*. *Arch. Pharm. Res.*, 32, 207–213.
- [16] Jensen S.R., Albach D.C., Ohno T., Grayer R.J., (2005). *Veronica*: Iridoids and cornoside as chemosystematic markers. *Biochem. Syst. Ecol.*, 33, 1031–1047.
- [17] Sarker S.D., Bright C., Bartholomew B., Watson A.A., Nash R.J., (2000). Calendin tyrosol and two benzoic acid derivatives from *Veronica persica* (scrophulariaceae). *Biochem. Syst. Ecol.*, 28, 799–801.
- [18] Chari V.M., Grayer-Barkmeijer R.J., Harborne J.B., Österdahl B.G., (1981). An acylated allose-containing 8-hydroxyflavone glycoside from *Veronica filiformis*. *Phytochemistry*, 20, 1977–1979.
- [19] Ma C.Y., Zhu K.X., Yang D.M., Yang J.S., Yu D.Q., (1991). Studies on chemical constituents of *Veronica linariifolia* pall. Ex link. Sub. *Dilatata* (nakai et kitagawa) hong. *Yao Xue Xue Bao = Acta Pharm. Sin.*, 26, 203–208.
- [20] Hong J.L., (2008). Phenolic Constituents of *Veronica linariifolia*. *Chin. J. Nat. Med.*, 6, 126–129.
- [21] Ozipek M., Saracoglu I., Kojima K., Ogihara Y., Calis I., (1999). Fuhsioside a new phenylethanoid glucoside from *Veronica fuhsii*. *Chem. Pharm. Bull.*, 47, 561–562.
- [22] Albach D.C., Grayer R.J., Jensen S.R., Ozgokce F., Veitch N.C., (2003). Acylated flavone glycosides from *Veronica*. *Phytochemistry*, 64, 1295–1301,
- [23] Saracoglu I., Varel M., Harput U.S., Nagatsu A., (2004). Acylated flavonoids and phenol glycosides from *Veronica thymoides* subsp. *Pseudocinerea*. *Phytochemistry*, 65, 2379–2385.
-

-
- [24] Ahn D., Lee S.I., Yang J.H., Cho C.H., Hwang Y.H., Park J.H. Kim D.K., (2011). Superoxide radical scavengers from the whole plant of *Veronica peregrina*. *Nat. Prod. Sci.*, 17, 142–146,
- [25] Jeon H., (2012). Anti-inflammatory activity of *Veronica peregrina*. *Nat. Prod. Sci.*, 18, 141–146,
- [26] Živković, J.Č., Barreira J.C.M., Šavikin K.P., Alimpić A.Z., Stojković D.S., Dias M.I., Santos-Buelga C., Duletić-Laušević S.N. and Ferreira I.C.F.R., (2017). Chemical profiling and assessment of antineurodegenerative and antioxidant properties of *Veronica teucrium* L. and *Veronica jacquinii* Baumg. *Chem. Biodivers.* 14: e1700167.
- [27] Lu Q., Sun Y., Shu Y., Tan S., Yin L., Guo Y., Tang L., (2016). Hsccc separation of the two iridoid glycosides and three phenolic compounds from *Veronica ciliata* and their in vitro antioxidant and anti-hepatocarcinoma activities. *Molecules*, 21, 1234,.
- [28] World Health Organization. WHO Global Report on Traditional and Complementary Medicine (2019), World Health Organization: Geneva, Switzerland, 10–80.
- [29] Harput U.S.,. Genc Y., Khan N. and Saracoglu İ., (2011). Radical scavenging effects of different *Veronica* species. *Rec. Nat. Prod.* 5: 100–107,
- [30] Su B., Zhu Q., Jia Z., (1999). Aquaticol a novel bis-sesquiterpene from *Veronica anagallis-aquatica*. *Tetrahedron Letters* 40, 357–358.
- [31] Rang N.Y., Sungmo J., Seung H.S., (2018). Metabolic features of macrophages innflammatory diseases and cancer. *Cancer Lett.*, 413, 46–58,.
- [32] Gründemann, C., Garcia-Käufer M., Sauer B., Stangenberg E., Könczöl M., Merfort I., Zehl M. and Huber R., (2013). Traditionally used *Veronica officinalis* inhibits proinflammatory mediators via the NF-κB signalling pathway in a human lung cell line. *J. Ethnopharmacol.* 145: 118–126.
- [33] Shin S.A., Moon S.Y., Kim W.Y., Paek S.M., Park H.H., Lee C.S., (2018). Structure-based classification and anti-cancer effects of plant metabolites. *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 2651.
- [34] Kupeli E., Harput U.S., Varel M., Yesilada E., Saracoglu I., (2005). Bioassay-guided isolation of iridoid glucosides with antinociceptive and anti-inflammatory activities from *Veronica anagallis-aquatica* L. *J. Ethnopharmacol.*, 102, 170–176,
-

-
- [35] Saracoglu I., Oztunca F.H., Nagatsu A. Harput U.S., (2011). Iridoid content and biological activities of *Veronica cuneifolia* subsp. *Cuneifolia* and v. *Cymbalaria*. *Pharm. Biol.*, 49, 1150–1157.
- [36] Lee H., Ghimeray A., Yim J., Chang M., (2015). Antioxidant, collagen synthesis activity in vitro and clinical test on anti-wrinkle activity of formulated cream containing *Veronica officinalis* extract. *J. Cosmet. Dermatol. Sci. Appl.*, 5, 45–51.
- [37] Sharifi-Rad J., Tayeboon G.S., Niknam F., Sharifi-Rad M., Mohajeri M. Salehi B., Iriti M., Sharifi-Rad M., (2018). *Veronica persica* Poir. Extract—antibacterial, antifungal and scolicidal activities, and inhibitory potential on acetylcholinesterase, tyrosinase, lipoxygenase and xanthine oxidase. *Cell. Mol. Biol.*, 64, 50–56.
- [38] Stojkovic D.S., Zivkovic J., Sokovic M., Glamoclija J., Ferreira I.C.F.R., Jankovic T., Maksimovic Z., (2013). Antibacterial activity of *Veronica montana* L. Extract and of protocatechuic acid incorporated in a food system. *Food Chem. Toxicol.*, 55, 209–213,
- [39] Dunkic V., Kosalec I., Kosir I.J., Potocnik T., Cerenak A., Koncic M.Z., Vitali D., Muller I.D., Kopricanec M., Bezic N., et al. (2015). Antioxidant and antimicrobial properties of *Veronica spicata* L. (plantaginaceae). *Curr. Drug Targets*, 16, 1660–1670.
- [40] Dunki V., Kosalec I., Kosir J.I., Potonik T., Gerenak A., Koncic M.Z., Vitali D., Müller I.D.; Kopricanec, M.; Bezi, N.; et al. (2014). Antioxidant and antimicrobial properties of *Veronica spicata* L. (plantaginaceae). *Curr. Drug Targets*, 15, 1–12.
- [41] Zivkovic J., Barreira J.C.M., Stojkovic D., Cebovic T., Santos-Buelga C., Maksimovic Z., Ferreira I.C.F.R., (2014). Phenolic profile, antibacterial, antimutagenic and antitumour evaluation of *Veronica urticifolia* Jacq. *J. Funct., Foods*, 9, 192–201.
- [42] Dulger B., Ugurlu E., (2005). Evaluation of antimicrobial activity of some endemic scrophulariaceae members from Turkey. *Pharm. Biol.*, 43, 275–279.
- [43] Ginovyan M.M., Trchounian A.H., (2017). Screening of some plant materials used in Armenian traditional medicine for their antimicrobial activity. *Chem. Biol.*, 51, 44–53.
- [44] Mocan A., Vlase L., Arsene A.L., Vodnar D., Bischin C., Silaghi-Dumitrescu R., Crișan G., (2015). HPLC/MS analysis of caffeoyl and chlorogenic acids from three Romanian *Veronica* species and their antioxidant and antimicrobial properties. *Farmacia*, 63, 890–896.
-

Chapitre II
Etude des flavonoïdes et
des iridoïdes

II-1 Introduction

Dans le domaine de la botanique, il y a peu de temps, on ne connaissait pas le rôle des composés produits par un grand nombre de plantes. Ces substances, ne sont pas produites directement lors de la photosynthèse mais résultent à partir des réactions chimiques ultérieures, se sont donc des métabolites secondaires. Ces derniers, participent de manière vitale à la survie et à la propagation de l'espèce. De plus, ils permettent à la plante de s'adapter à son environnement par le biais des phéromones ou des signaux chimiques. Ces biomolécules naturelles permettent de protéger la plante dans son environnement et constituent entre autres un moyen de défense contre les herbivores.

Les métabolites secondaires possèdent généralement des structures chimiques complexes variant selon les espèces. Ces composés sont largement utilisés à des fins thérapeutiques comme : vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antimicrobiens. Bien que, chez les végétaux, les métabolites secondaires sont nombreux, ils sont classifiés dans les quatre grandes catégories suivantes :

- Les composés phénoliques
- Les saponines
- Les alcaloïdes et composés azotés
- Les composés terpéniques

Dans ce chapitre on s'intéresse à l'étude des flavonoïdes et d'iridoïdes, composés souvent décrits au sein du genre *Veronica* [1].

II-2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la plus vaste classe des composés phénoliques. Le nom flavonoïde provient du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange. Cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus qui veut dire jaune [2,3].

Ces composés sont contenus principalement dans les rutáceas, les polygonaceas, les asteráceas et les apiáceas. Selon Agrawal, 2 % du carbone organique photosynthétisé par les plantes, est converti en flavonoïdes [4]. Ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits.

Les flavonoïdes possèdent un squelette à 15 atomes de carbones. Ils sont caractérisés par un élément structurel de type C6-C3-C6. Les deux cycles benzéniques (A et B) reliés

entre eux par une chaîne de 3 atomes de carbone. Ces derniers peuvent former un hétérocycle oxygéné (cycle C) [5]

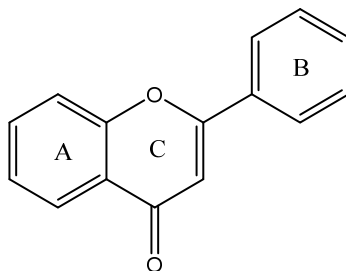
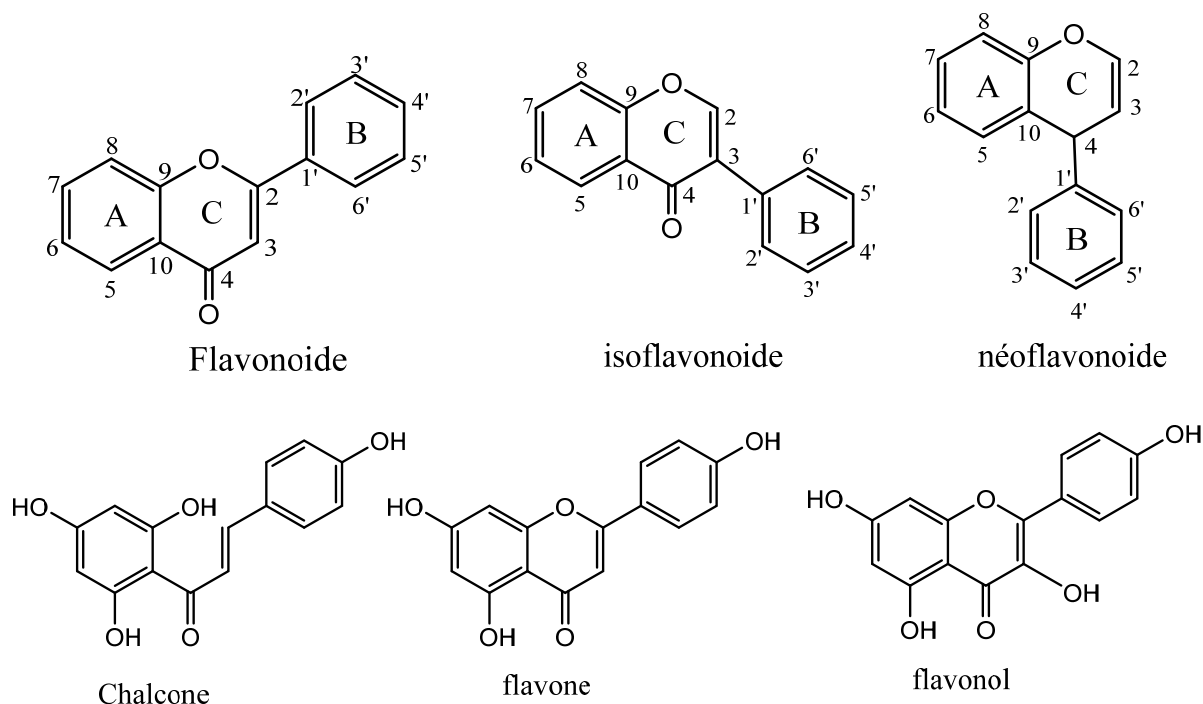


Figure II- 1 Structure de base des flavonoïdes

On définit dans la littérature trois familles d'isomères naturels de flavonoïdes : les flavonoïdes, les isoflavonoïdes et les néoflavonoïdes. Différentes sous-classes de flavonoïdes sont aussi citées selon le degré, le nombre, la position et la nature de substitutions sur le noyau flavonoïde. Parmi ceux qui présentent le plus d'intérêt, sont les flavonols, les flavones, les flavanones, les isoflavones, les dihydroflavonols, les chalcones et les anthocyanidines [6]. La position de l'anneau phénolique B permet de les subdiviser en deux composés le 2-phénylchromone (flavonoïdes) et le 3-phénylchromone. Ces derniers, donnent lieu à des flavanones et des isoflavanones par hydrogénation du cycle C. De même, l'hydroxylation du carbone C3 dans la série 2-phénylchromone donne lieu à des flavanols et des flavanonols (2,3-dihydroflavonols) (**figure II-2**).



Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes, en présence de flavone synthase (FS) afin de former les flavones ou en présence de flavanone réductase (FNR) pour former des flavanols. L'oxydation des flavanones par la flavanone-3-hydroxylase (F3H) donne des dihydroflavonols qui peuvent s'oxyder en flavonols par la flavonol synthase (FLS).

Dans toutes les classes de flavonoïdes mentionnés ci-dessus, la biosynthèse justifie la présence fréquente d'au moins trois hydroxyles phénoliques en C-5, C-7 et C-4' de la genine. Cependant, certains d'entre eux peuvent être manquants [9]. (**figure II-3**)

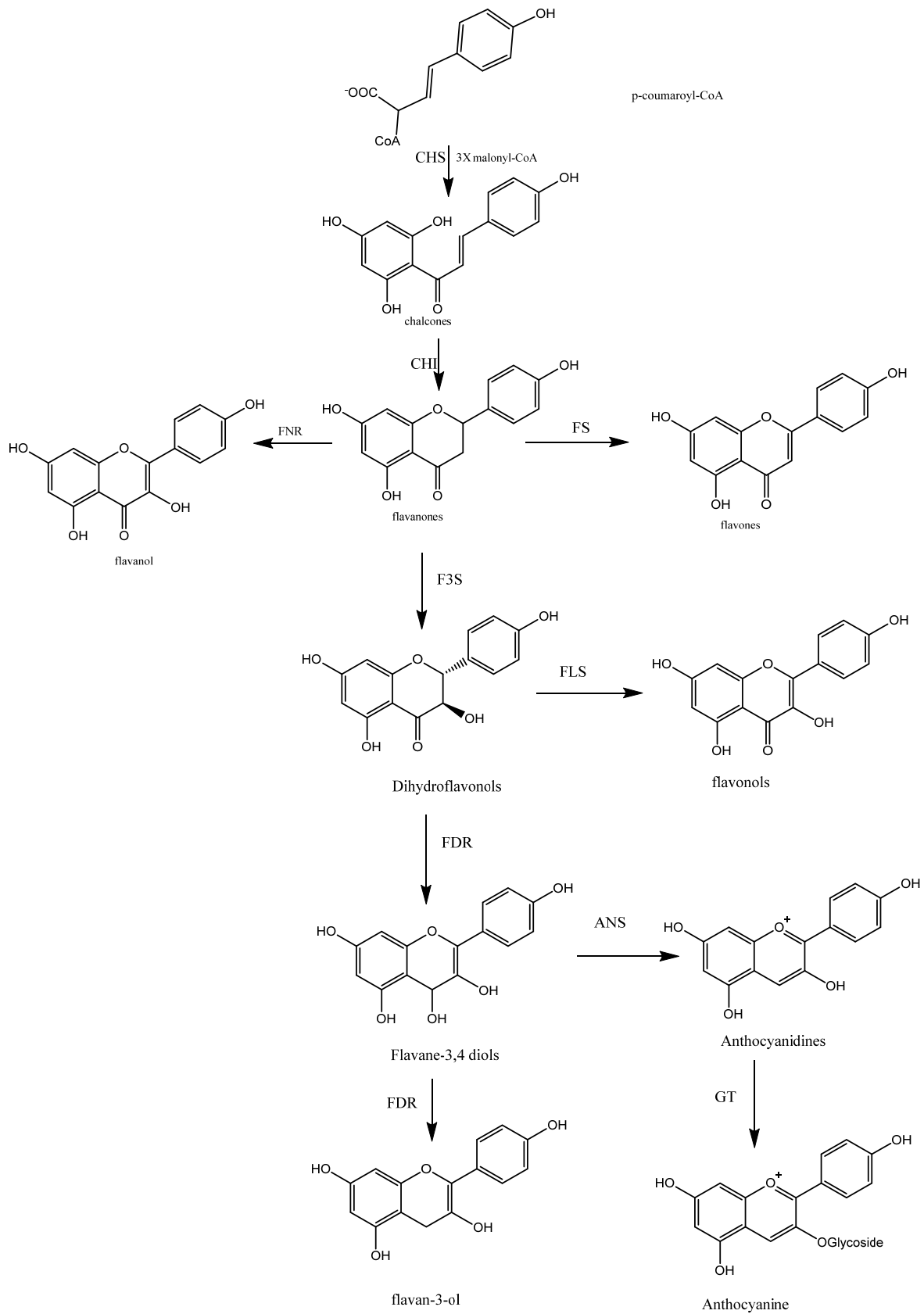


Figure II-3 Biosynthèse des flavonoïdes

CHS: chalcone synthase; **CHI**: chalcone isomérase; **FS**: flavone synthase; **IFS**: isoflavone synthase; **FNR**: flavanone réductase; **F3H**: flavanone-3-hydroxylase; **FLS**: flavonol synthase; **DFR**: dihydroflavonol réductase; **ANS**: anthocyanidine synthase; **GT**: glucosyl transférase.

II-2-2 Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes forment le groupe le plus répandu de métabolites secondaires, ils suscitent un intérêt thérapeutique croissant. Le potentiel pharmacologique de ces composés est très diversifié, suggérant qu'ils sont capables d'exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculo protectrices, antiallergiques, anti-inflammatoires, antibacteriennes et même anticancéreuses. Cependant certaines considérations sont à prendre en compte concernant la biodisponibilité de ces biomolécules [13].

II-2-2-a Activité antioxydante

Les flavonoïdes sont connus pour leur pouvoir anti-radicalaire très puissant. Ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Cette activité dépend de plusieurs caractéristiques structurales [14, 15]:

- Une double liaison en C2-C3 avec un groupement oxo en C-4, et une hydroxylation en C-3 sur le cycle C
- Une dihydroxylation en C-5 et C-7 du cycle A
- Une ortho-dihydroxylation du cycle B

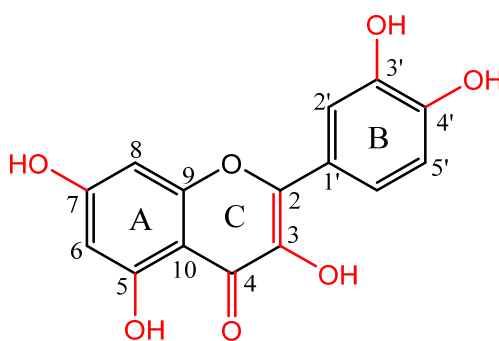


Figure II-4 Sites caractéristiques structuraux des flavonoïdes

Le potentiel antioxydant des flavonoïdes peut s'expliquer par leur capacité à chélater les ions métalliques grâce à leur structure chimique spécifique [16]. Il apparaît que les principaux sites de chélation se localisent entre [17] :

- L'hydroxyle en C-5 et le carbonyle en C-4
- L'hydroxyle en position 3 et le carbonyle en C-4
- Les deux hydroxyles en position 3' et 4' sur le cycle B

Les flavonoïdes peuvent également inhiber certains enzymes de type oxydases et enzymes pro-oxydantes notamment la NADPH oxydase enzyme clé du stress oxydatif [17].

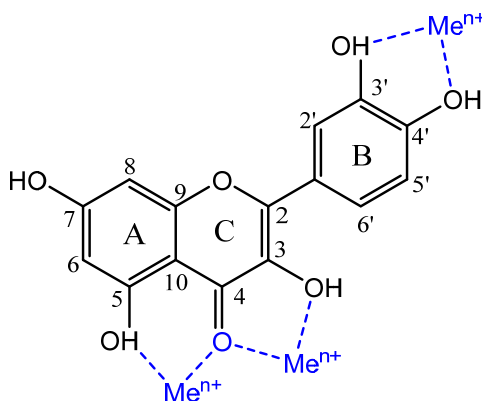
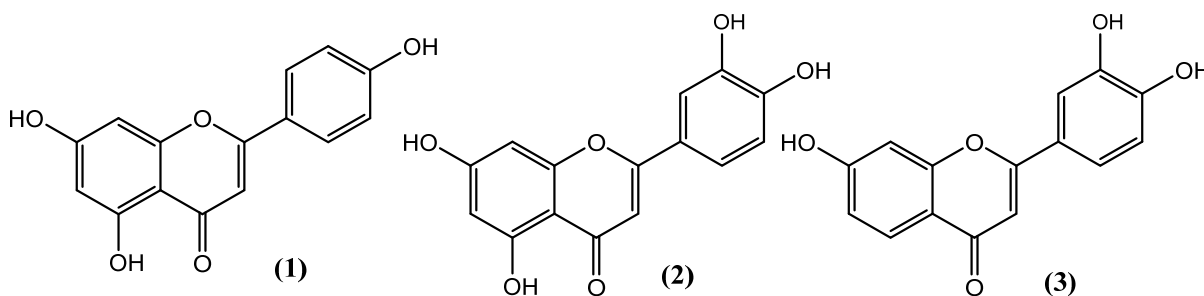


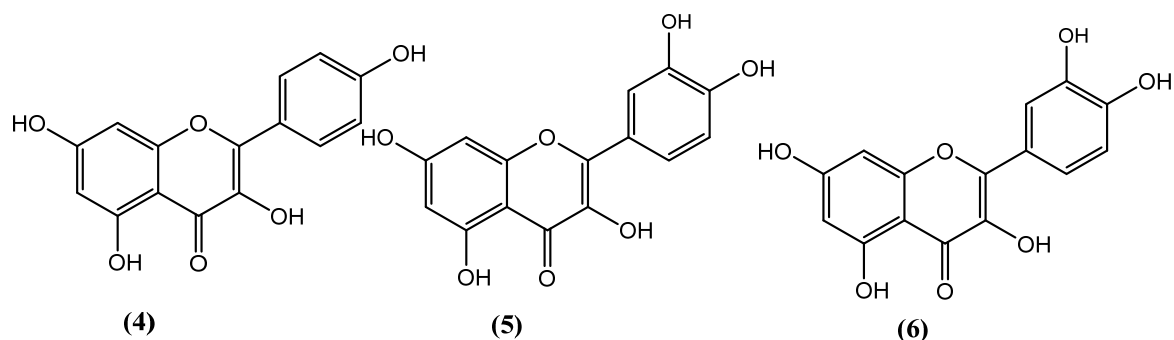
Figure II-5 principaux sites de chélation des ions métalliques des flavonoïdes

II-3-2-b Activité anti-inflammatoire

Plusieurs études ont révélé des activités des flavonoïdes contre les processus inflammatoires en inhibant les enzymes de synthèse : la cyclo-oxygénase et la li-oxygénase médiateurs de l'inflammation [18]. De plus ces biomolécules peuvent provoquer l'inhibition de la peroxydation non enzymatique des acides gras poly insaturés nécessaires pour l'activation de ces oxygénases en induisant un effet anti-inflammatoire [19]

Les flavonoïdes peuvent être de bons inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T. Une étude réalisée par Namoon et all. [20] a montré que l'apigénine (1), la lutéoline (2), la 7,3',4' hydroxy flavone (3), le kaempférol (4), la quercétine (5) et la myricétine (6) sont susceptibles d'inhiber la prolifération des lymphocytes T. De plus la myricétine est active sur les lymphocytes B. Ceci peut être expliqué par le pouvoir de ces flavonoïdes à inhiber l'activité de la protéine Kinase C et ou la protéine tyrosine kinase.

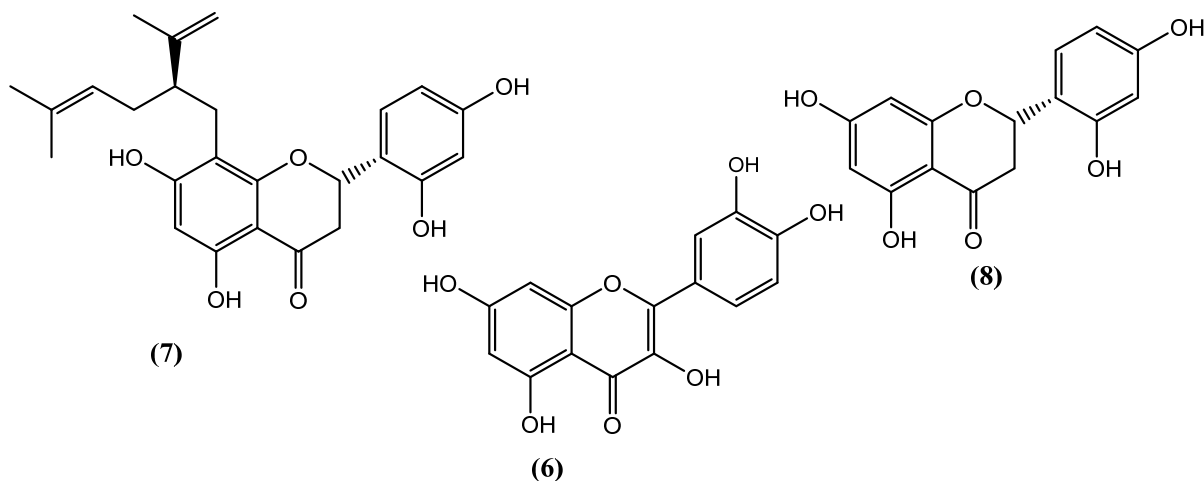




II-2-2-c Activité anti-bactérienne

Les composés flavoniques ont montré des propriétés antibactériennes significatives. Ces composés sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries [21, 22]. Des études ont démontré que les 5-hydroxyflavanones et les 5-hydroxyisoflavanones avec des groupements hydroxyles en positions 7, 2' et 4' inhibaient la croissance de *Streptococcus sp.*

En effet le cycle B joue un rôle très important dans l'intercalation avec les acides nucléiques et permet l'inhibition de la synthèse d'ADN et d'ARN. Certains composés flavoniques : la sophoroflavanone G (7), la naringénine (8) et la quercétine (6), ont prouvé un effet antibactérien important en provoquant un changement de perméabilité membranaire sur différentes souches.

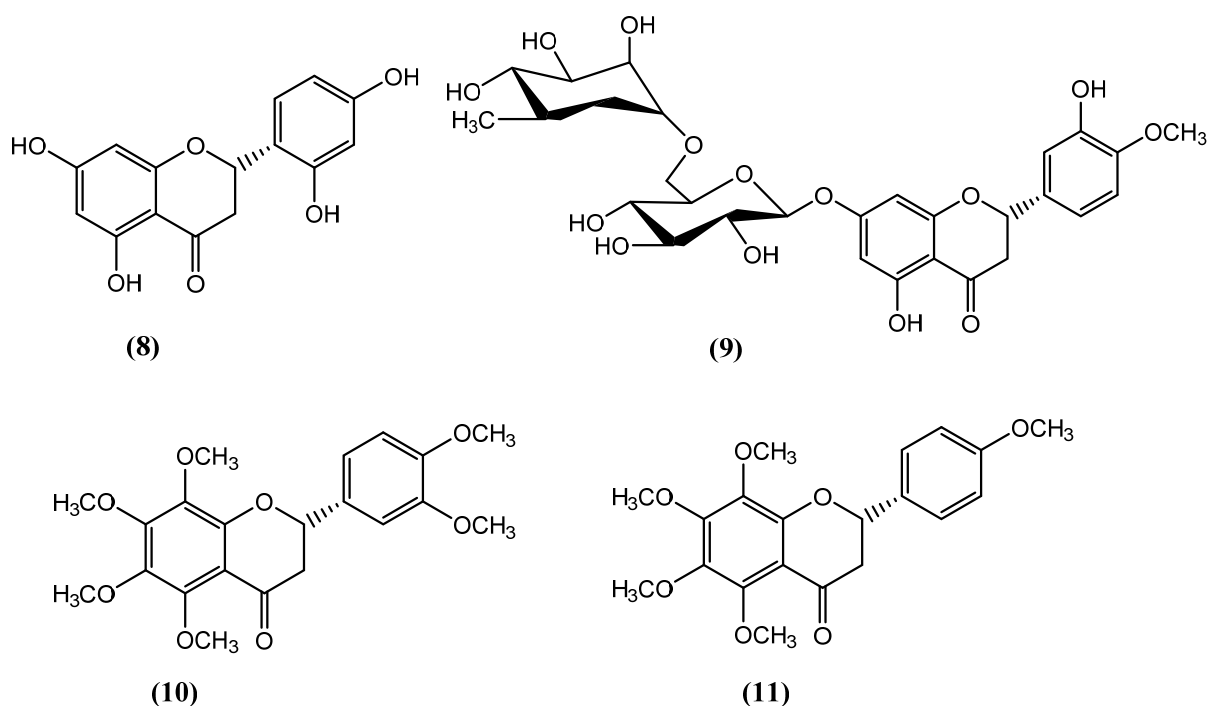


II-2-2-d Activité anti-fongique

De nombreuses études ont mis en évidence les propriétés antifongiques des flavonoïdes. Ortuno et ses collaborateurs, ont évalué l'activité des flavanones glycosylés et de polyméthoxyflavones extraits de *Citrus paradisi* et de *Citrus sinensis* sur *Penicillium digitatum*. Ils ont remarqué que la naringénine (8), l'hespéridine (9), la nobilétine (10), et la tangerétine (11) protègent ces espèces contre les attaques de *Penicillium digitatum* [23].

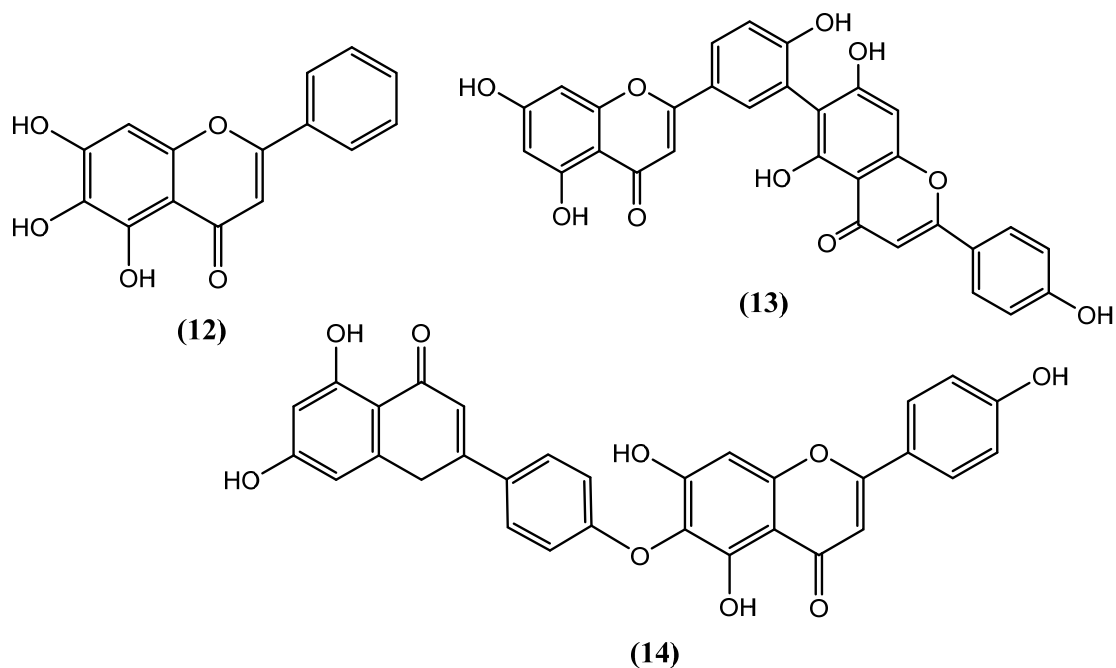
Batawita et ses collaborateurs, ont montré que les flavonoïdes de *Conyza aegyptica* L., possèdent une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses: *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Candida zeylanoïdes* [24]. Le caractère lipophile des composés flavoniques augmente l'activité en permettant aux molécules de pénétrer plus facilement à travers la membrane fongique [25].

Les flavonoïdes exercent un effet important dans la résistance fongique après la récolte des fruits et des légumes. De faible incidence de pathogènes a été remarqués en présence de fortes concentrations en flavonoïdes dans les fruits.



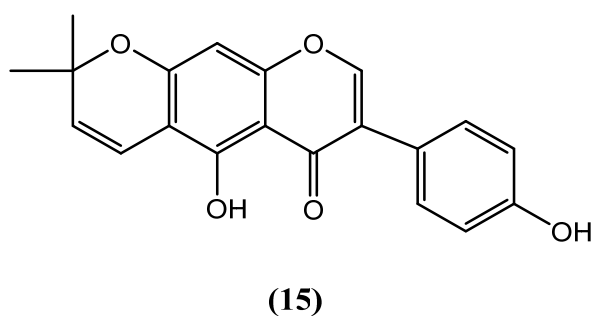
II-2-2-e Activité antivirale

De nombreux travaux ont prouvé un impact positif des flavonoïdes contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immuno déficience acquise (SIDA), le virus de l'herpès (HV) et le virus de la grippe A [26]. Des études réalisées sur certains flavones ont suggéré que la baicaléine (12), la robusta flavone (13), la hinokif flavone (14) sont des inhibiteurs de la transcriptase inverse du VIH-1. [27].



II-3-2-f : Activité cardiovasculaire

Les flavonoïdes sont connus dans le traitement des arythmies et de l'hypertension artérielle grâce à leur effet sur la diminution du stress oxydatif. Ils sont des composés veinoactifs et peuvent diminuer la perméabilité des capillaires sanguins. Les flavonoïdes possèdent également des effets antithrombotiques et peuvent empêcher l'agrégation plaquettaire par interaction avec les récepteurs aux thromboxanes [16]. Des travaux réalisés sur les pyranoisoflavones (15) ont révélé que ces composés présentent une activité vaso-relaxante et une activité sur la fonction érectile comparable à celle du sildénafil [28].



Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines pour lutter contre les infections causées par des champignons ou par des bactéries.

II-3 Les iridoïdes

II-3-1 Définition

Les iridoïdes comportent actuellement près de 1700 composés identifiés à ce jour [29]. Ils sont considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques de plusieurs familles : Scrophulariacées, Verbénacée, Lamiacées, Plantaginaceae et Rubiacées [30]. Iridoïde est un terme dérivé des noms des composés iridomirmécine (**16**), iridolactone (**17**) et iridodial (**18**) isolés pour la première fois des fourmis du genre *Iridomyrmex* [31].

Ce type de produits naturels comprend dix atomes de carbone dans sa structure. Ils appartiennent à la grande classe des terpénoïd. Ils présentent un squelette à base de cyclopenta [c] pyrane, également connu sous le nom de 2-oxabicyclo- [4,3,0]-nonane. Les iridoïdes les plus courants dans la nature sont ceux qui incluent une double liaison C₃=C₄ et une orientation β pour les protons H₅ et H₉ [32, 33].

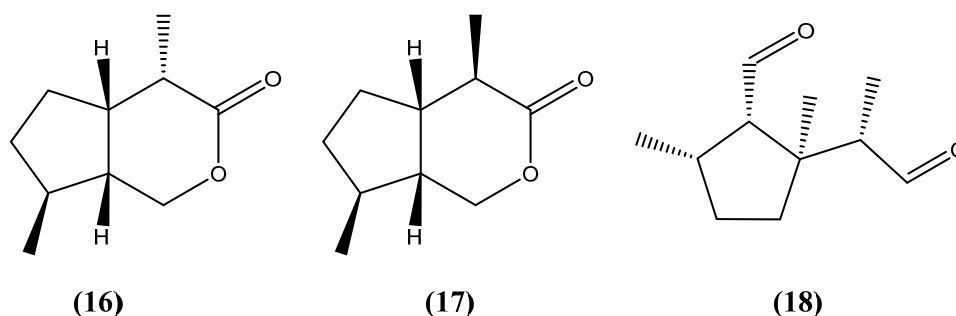


Figure II-6 Structure des composés iridomirmécine, iridolactone et iridodial

Jusqu'à présent, seuls cinq exemples d'iridoïdes naturels montrant une fusion *trans* dans le système bicyclique ont été rapportés (**Figure II-7**). Quatre isolés des espèces du genre *Penstemon Schmidel* et présentent une stéréochimie H₅α et H₉β. Les composés (5αH) -6-épi-dihydrocornine (**19**) [34] et 10-hydroxy- (5αH) -6-épi-dihydrocornine (**20**) ont été obtenus à partir de *P. secundi florus Benth* [35], 5αH-6α-8-épi-dihydrocornine (**21**) et 5αH-6α-7-hydroxy-8-épi-loganine (**22**) ont été purifiés de l'espèce *P. mucronatus*. [36] et l'harpagoside B (**23**) isolé de *Scrophularia deserti Delile* [37].

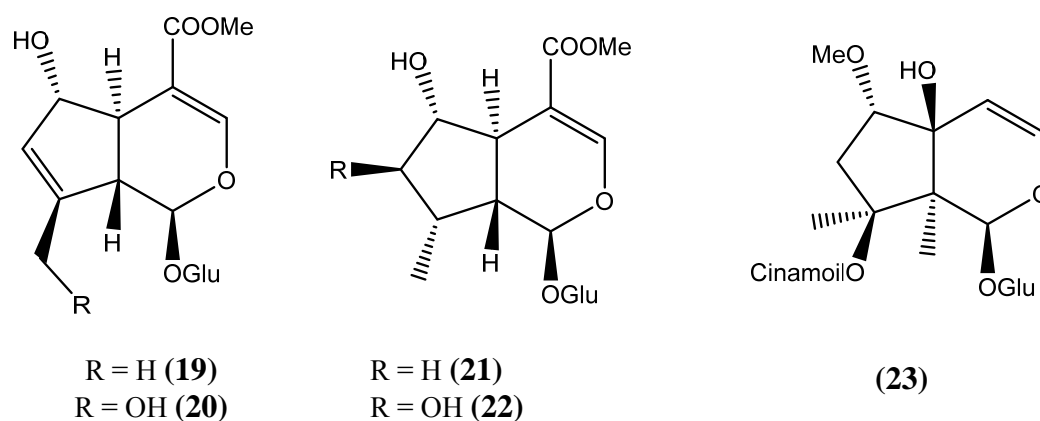


Figure II-7 Iridoïdes naturels présentant une stéréochimie *trans*

II-3-2 Classification d'iridoïdes

Plusieurs classifications des iridoïdes ont été proposées. D'après *H. Franzyk* [38], les iridoïdes peuvent être divisés en trois groupes principaux :

- Les iridoïdes simples
- Les hétérosides d'iridoïdes (regroupant les iridoïdes carbocycliques, les sécoiridoïdes et les bis-iridoïdes).
- Les alcaloïdes monoterpéniques

II-3-2-a Iridoïdes simples

Ils sont souvent appelés aglycones d'iridoïdes ou génines d'iridoïdes. Ils se particularisent des autres iridoïdes par l'absence de l'unité glucosidique. Ces iridoïdes peuvent être classés en quatre sous-groupes [39].

- ❖ Structure de type pluméria possédant un cycle spiro en C8 [40,41] (pluméricine(24), allamandine(25)). (**FigureII-8**)

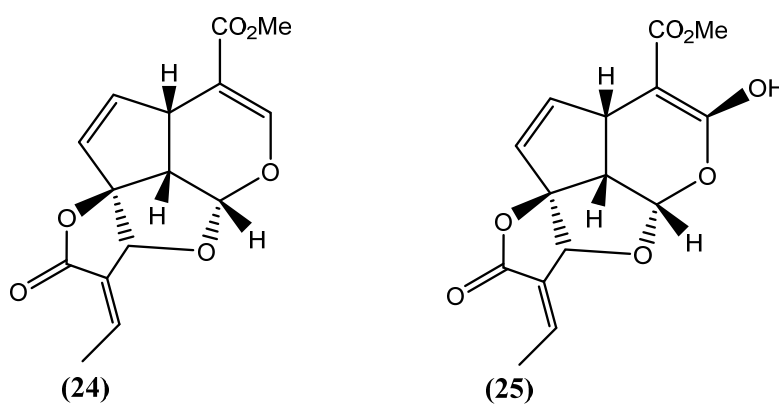


Figure II-8 Iridoïdes de type Pluméria

- ❖ Structure de type valeriana (valtrate(26), patrinoside(27)) possédant une structure comparable au valtrate [42,43]. (Figure II-9)

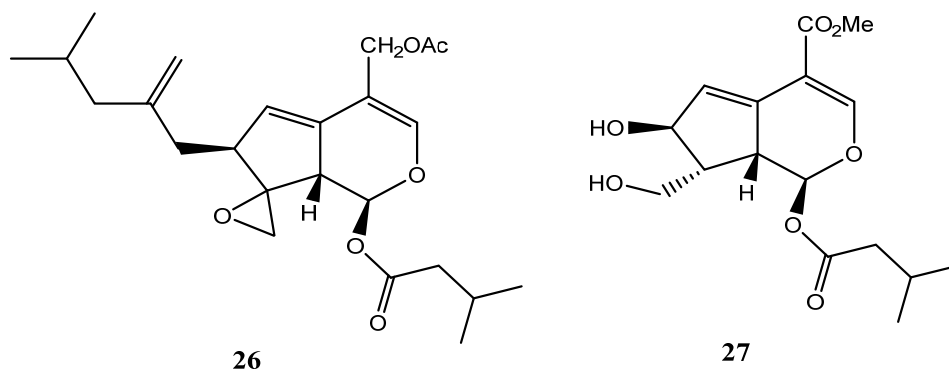


Figure II-9 Iridoïdes de type valériana

- ❖ Structure de type iridiol caractérisé par l'absence du cycle dihydropyrane (menztriol(28), eucommiol (29), gelsemiol (30)) [44–45]. (Figure II-10)

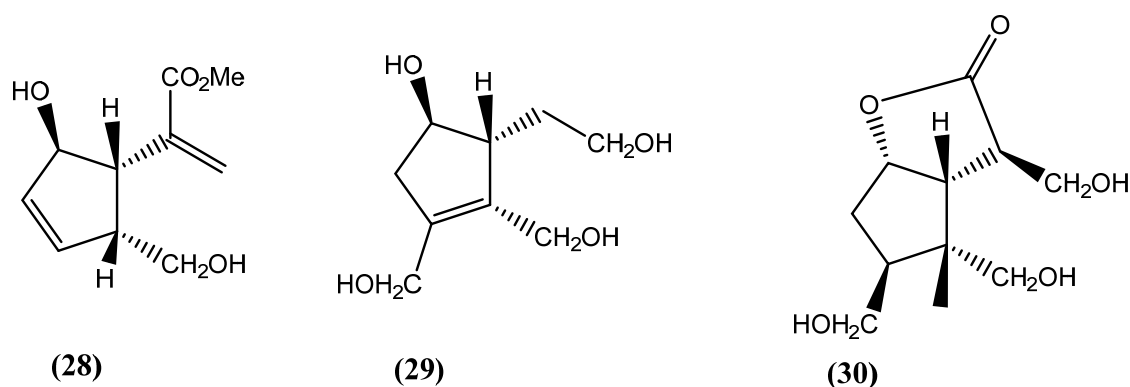


Figure II-10 Iridoïdes du type iridiol

- ❖ Structure de type divers, regroupant les autres iridoïdes non glucosylés spécionine (31), cistachlorine (32), noviburtinal (33) [46–47].

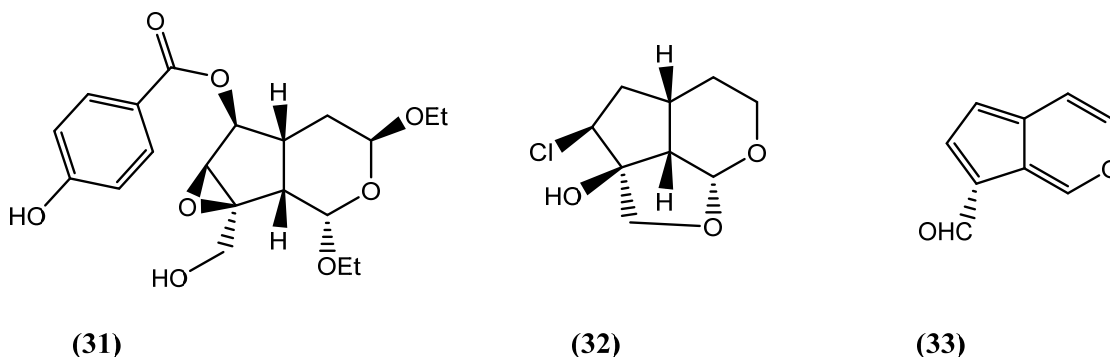


Figure II-11 Divers iridoïdes simples

II-3-2-b Les hétérosides d'iridoïdes

Généralement, le sucre est un glucose lié à la génine en C1. Dans des cas très rares le sucre peut être un rhamnose, un arabinose (jioglutoside **(34)**) ou un oligosaccharide (rehmannioside **(35)**). Le sucre peut être porté aussi par C-6 (scrospioside **(36)**) et C-11 (loganoside **(37)**) [48,49,50]. (**Figure II-12**)

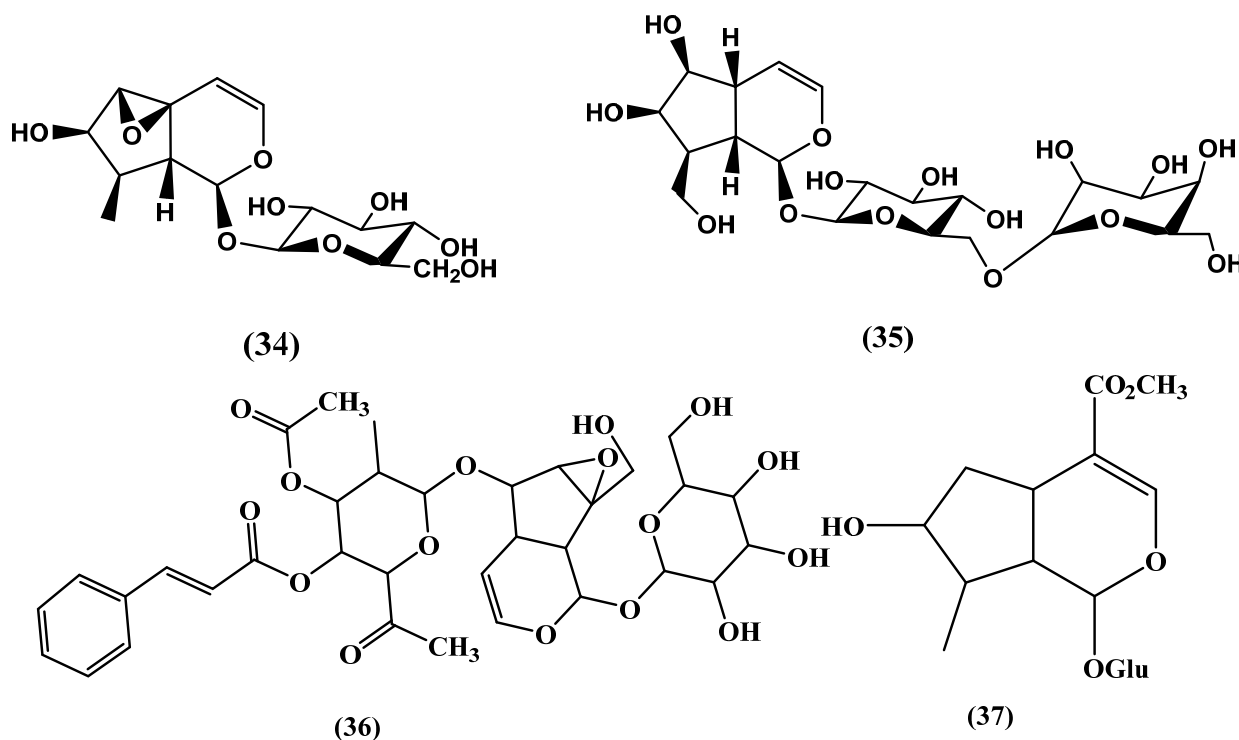


Figure II-12. Exemples de différents sucres présents dans les hétérosides d'iridoïdes

II-2-1-c Iridoïdes carbocycliques

Ce groupe d'iridoïdes possède généralement 10 atomes de carbone (loganine**(38)**, géniposide **(39)**). Dans certains composés comme le népétariaside **(40)** le cycle pyranique est ouvert. On trouve également des composés à 9 atomes de carbones (mentzefoliol **(41)**, randioside **(42)**) et plus rarement des Iridoïdes carbocycliques à 8 atomes de carbone [51, 52, 53]. (**Figure II-13**)

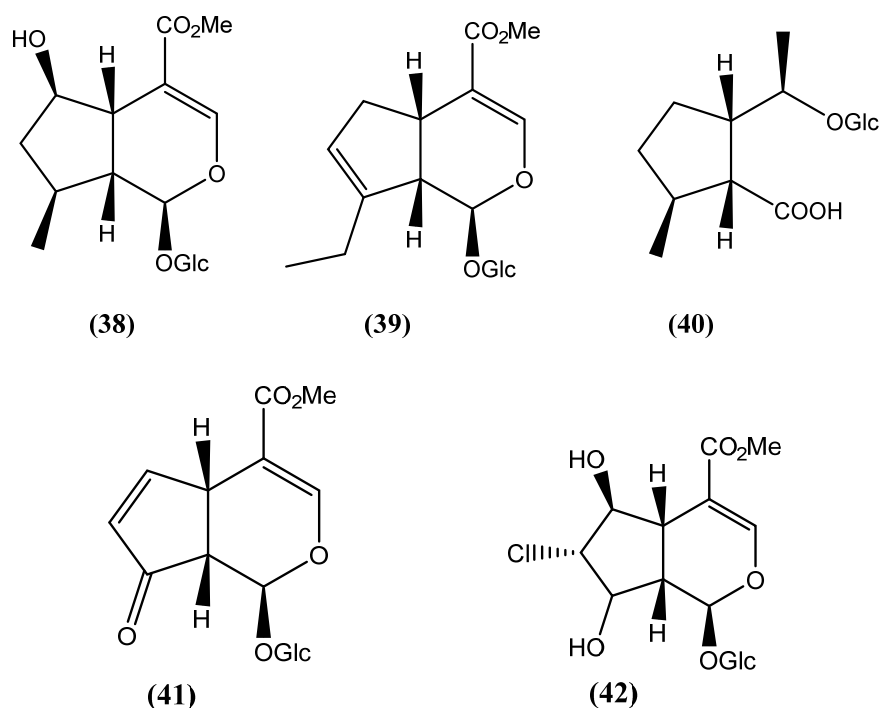


Figure II-13 Iridoïdes carbocycliques

II-3-2-d Séco-iridoïdes

Les seco-iridoïdes proviennent de la rupture de la liaison C7-C8. Les différents génines formés sont caractérisés par la présence:

- ❖ D'un groupe vinyle en C9 : sweroside (43), gentiopicroside (44) et sécologanoside (45)) [54, 55, 56, 57] (Figure II-14)

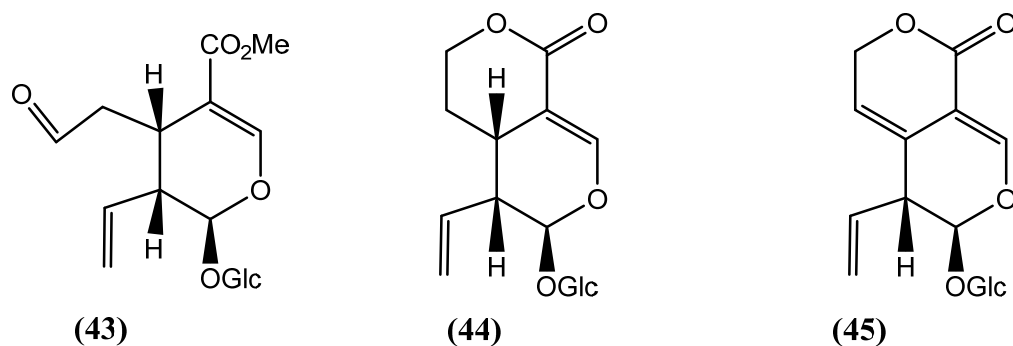


Figure II-14 : Sécoiridoïdes possédant une chaîne latérale vinylique

- ❖ D'un groupement éthylidène en C9 : Oléoside (**46**) ou hydroxyéthylidène (10-hydroxyoléoside-11-méthylester (**47**)). [58, 59, 60] (Figure II-15)

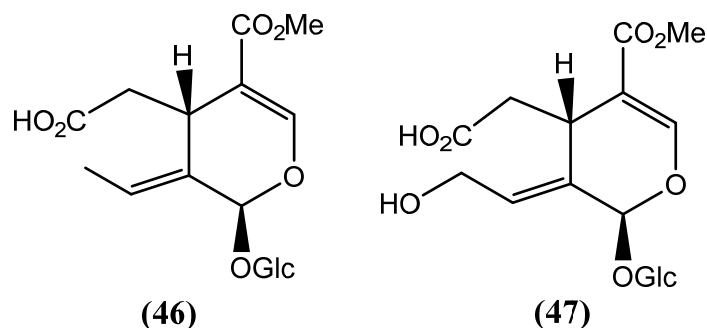


Figure II-15 Sécoiridoïdes avec un groupement éthylidène ou hydroxyéthylidène en C9

- ❖ D'une structure tricyclique par refermeture en C8 *via* une liaison C-O : sécogalioside (**48**) [61] (Figure II-16)

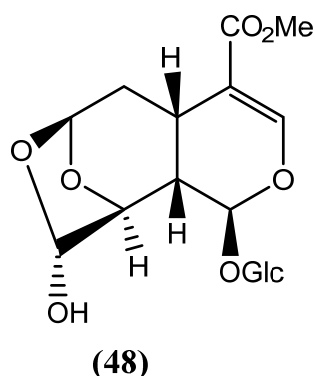


Figure II-16 Sécogalioside

II-3-2-e Bis-iridoïdes

Les bis-iridoïdes sont des iridoïdes dimériques formés de deux composés iridoïques liées généralement par une liaison ester. Les deux unités iridoïdes peuvent être reliées entre eux directement (sylvestroside I (**49**)) ou *via* un squelette intermédiaire (coelobillardine (**50**)). [62,63]. (Figure II-17)

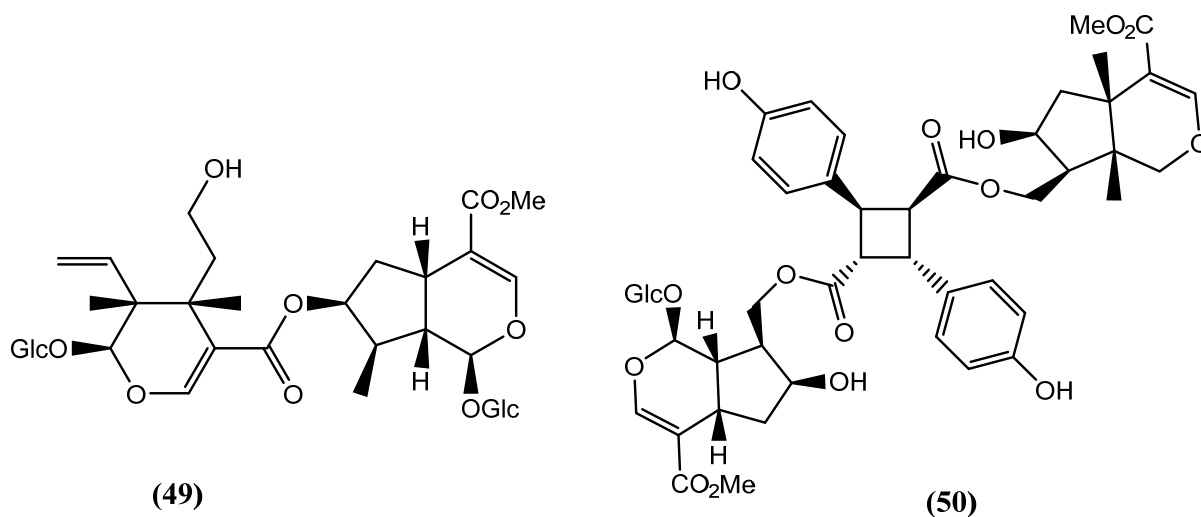


Figure II-17 Exemples de bisiridoïdes

II-3-2-f Alcaloïdes monoterpéniques

Les iridoïdes alcaloïdiques naturels sont peu décrits dans la littérature. On distingue quatre types d'alcaloïdes monoterpéniques :

- ❖ Les alcaloïdes monoterpéniques dérivés de la pyridine: (-)-actinidine (**51**), (+)-rhéxifoline (**52**) [64,65]. (Figure II-18)

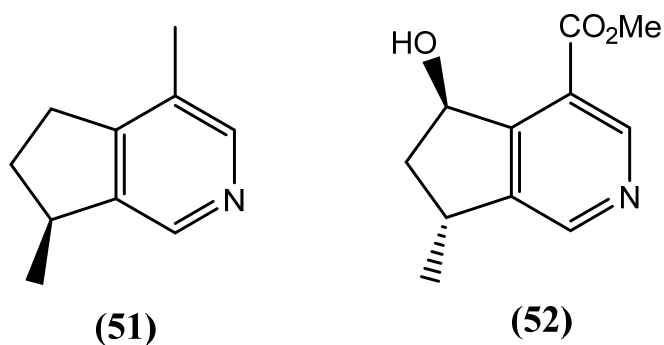


Figure18 Exemples d'alcaloïdes monoterpéniques dérivés de la pyridine

- ❖ Les alcaloïdes monoterpéniques dérivés de la pipéridine : (+)-skythantine(**53**), et incarvilline (**54**) [66,67]. (Figure II-19)

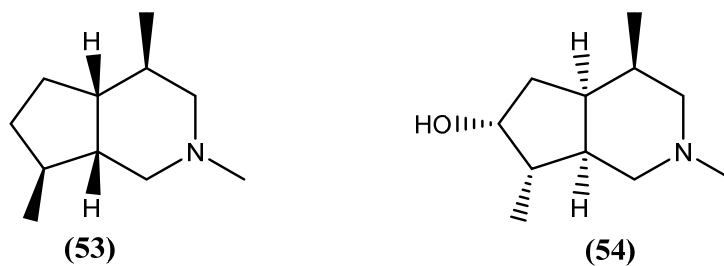


Figure II-19 alcaloïdes monoterpéniques dérivés de la pipéridine

- ❖ Les alcaloïdes monoterpéniques glycosidiques comme le bakankoside (55). [68] (Figure II-20)

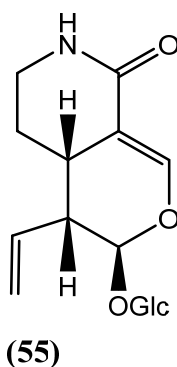


Figure II-20. Bakankoside iridoïde azoté naturel

- ❖ Les alcaloïdes monoterpéniques indoliques comme la strictosidine (56) et istrictosamide (57) qui proviennent du sécologanoside et tryptophane [69]. (Figure II-21)

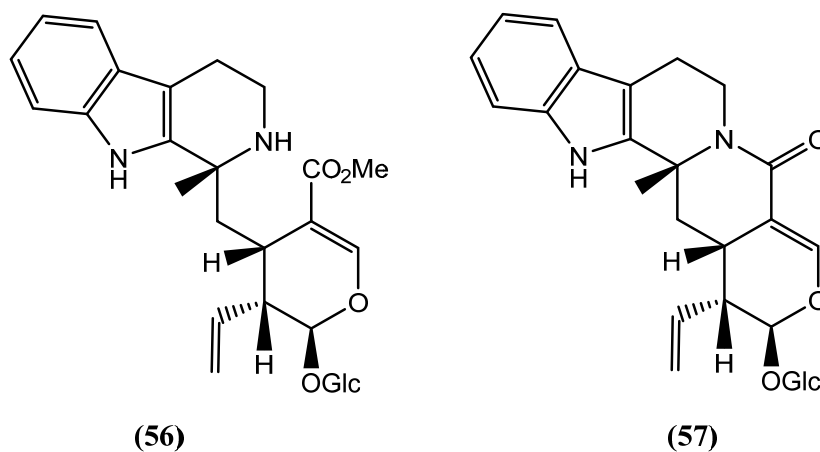


Figure II-21 Exemples d'alcaloïdes monoterpéniques indoliques

II-2-3 Biosynthèses

Plusieurs études ont montré, que le précurseur commun de la biosynthèse des iridoïdes est le Géranyl PyroPhosphate (GPP). Ce dernier est transformé en 10-hydroxygéraniol puis après oxydation, en 10-oxogéraniol. Une cyclisation intramolécule conduit à l'iridodial qui s'oxyde en iridotrial. Ce trialdéhyde est ensuite converti en loganine intermédiaire clé de la plupart des iridoïdes [70]. Le sécologanoside est obtenu par une ouverture oxydante de la liaison C7-C8. (Figure II-22)

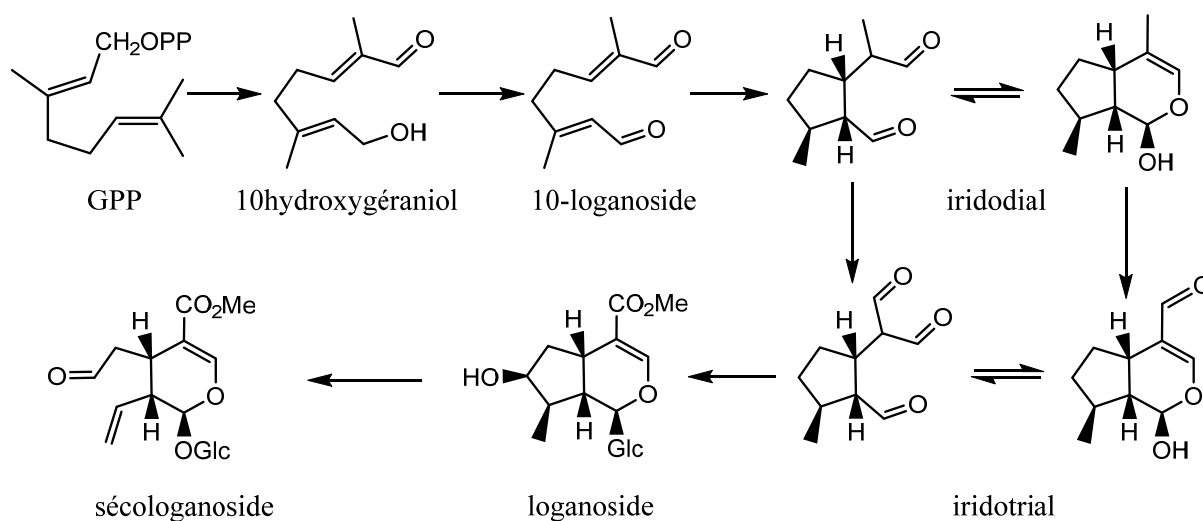


Figure II-22 Biosynthèse des iridoïdes

II-2-4 Activité pharmacologique

Les iridoïdes sont présents dans un grand nombre de plantes utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés thérapeutiques. Ces composés ont été évalués comme neuroprotecteurs, anticancéreux, anti-inflammatoires, antimicrobiens, hypoglycémiques, antispasmodiques, immunomodulateurs, antipyrétiques et cardioprotecteurs [72].

De nombreuses recherches ont montré que les plantes riches en iridoïdes peuvent contribuer à l'amélioration de la neuroplasticité et réduire l'incidence des maladies neurodégénératives.

Rehmannia glutinosa (Phrymaceae) est une plante utilisée en médecine traditionnelle chinoise. Son constituant principal, le catalpol (58) (Figure II-35) est capable de protéger les neurones de l'ischémie globale [73].

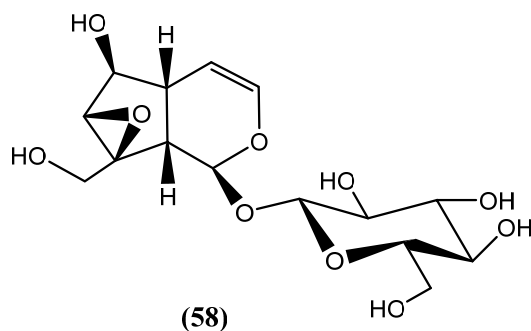


Figure II-23 *Catalpol*

En 2002, il a été découvert que le géniposide (**59**) peut atténuer les dommages de l'ischémie cérébrale chez les rats [74]. Ce produit a également présenté une activité anti-angiogénique dépendante de la dose et un effet inhibiteur de l'ordre de 25 à 100 μ M sur la croissance de la lignée cellulaire transformée Nih3T3 [74].

Des études approfondies menées sur le penta-acétyl géniposide (**60**) obtenu à partir de *Gardenia jasminoides* (Rubiaceae), ont montré qu'il possède une activité chimio-préventive supérieure à celle du géniposide et qu'il empêche les dommages causés au ADN lors de l'activation des enzymes S-transférase (gsT) et la peroxydase (gsh) de phase II, induisant ainsi l'apoptose [75]. De son côté, le catalpol inhibe de manière significative la Taq polymérase, une cible cellulaire importante dans le développement des agents anticancéreux. [76, 77]

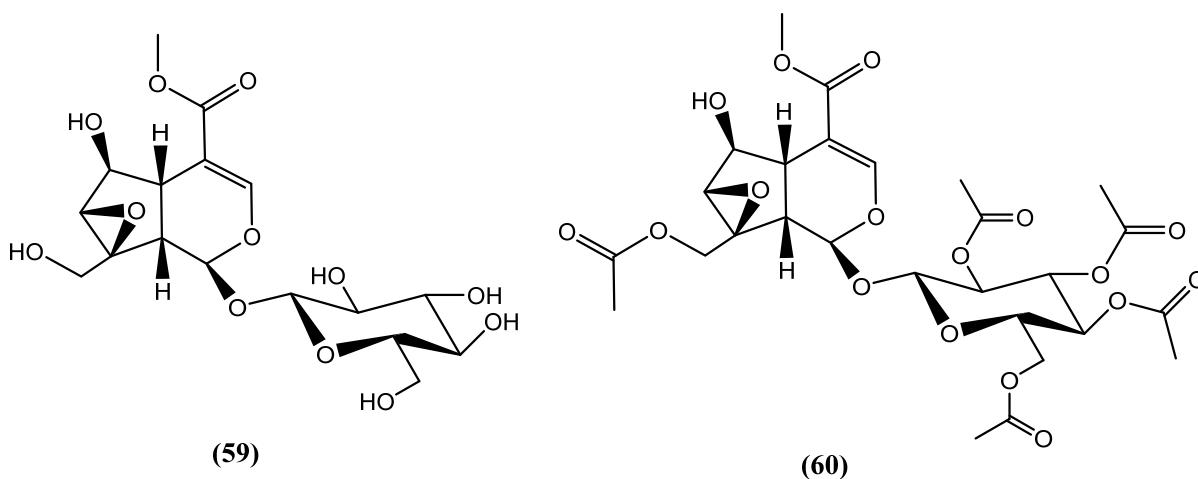


Figure II-24 *géniposide et penta-acétyl géniposide*

Les iridoïdes isolés de *Viburnum luzonicum* Rolfe. (Adoxaxées) les Luzonial A(**61**) et B (**62**) et le luzonidial (**63**) [78] sont caractérisés par la présence d'un groupe E ou Z-*p*-coumaroyle en C7. Ces composés ont montré une activité inhibitrice importante contre la lignée cellulaire HeLa S3.

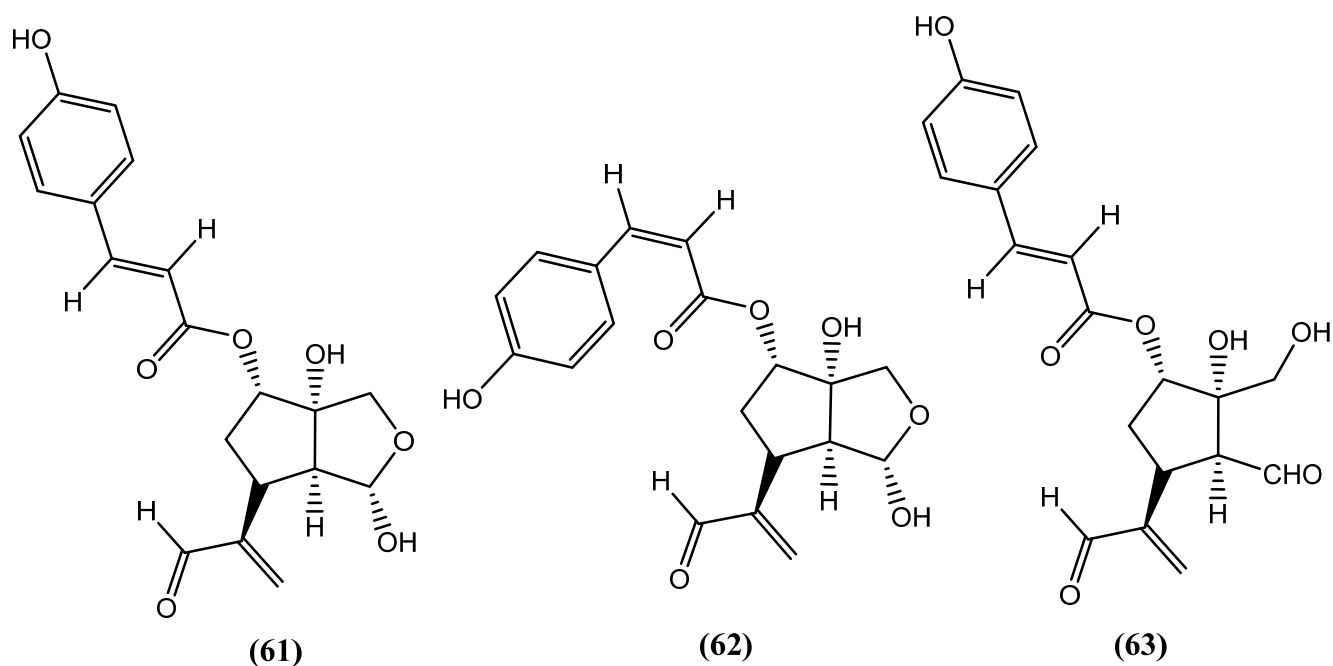


Figure II-25 *Luzonial A, Luzonial B et luzonidial*

Verminoside (**64**) est le composant majeur de l'extrait polaire des fruits de *Kigelia africana* (Lam.) Benth. (Bignoniaceae). Cet iridoïde a montré une activité anti-inflammatoire importante par inhibition de l'expression de iNos (95%) et par la libération de NO (82%) induite par les lipopolysaccharides dans la lignée cellulaire j774.A1 [79]

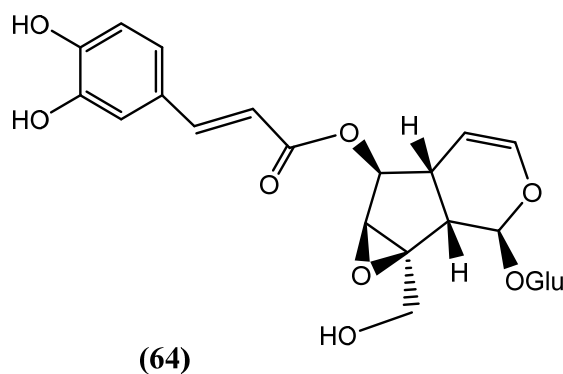


Figure II-26 *verminoside*

L'étude des propriétés antispasmodiques des composés isolés de *Morinda morindoides* a montré que les iridoïdes époxygaertneroside (**65**) et gaertneroside (**66**) possèdent une bonne activité antispasmodique sur les deux agonistes spasmogènes (l'acétylcholine et la solution de KCl dépolarisée) avec des CI50 comprises entre 4 et 7 µg/mL [80].

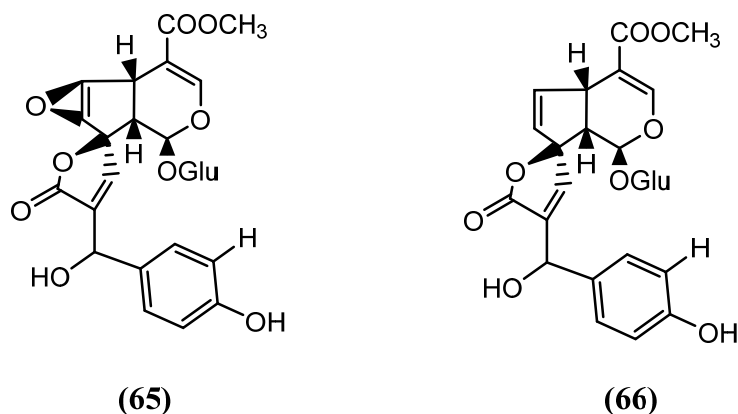


Figure II-27 époxygaertneroside et gaertneroside

Tamura *et al.* ont évalué l'activité antipaludique des iridoïdes isolés de la même espèce *Morinda morindoides*. Les résultats obtenus ont montré que ces iridoïdes présentent tous des propriétés antipaludiques en inhibant la prolifération de *Plasmodium falciparum*. Le plus actif étant le dehydrométhoxygaertneroside (**67**) (IC₅₀=0.04 μM), suivi de l'acétylméthoxy gaertneroside (**68**) (IC₅₀ = 0.1 μM), gaertneroside (**69**) (IC₅₀ = 0.8 μM) et de l'acétyl gaertneroside (**70**) (IC₅₀ = 4.1 μM) [81].

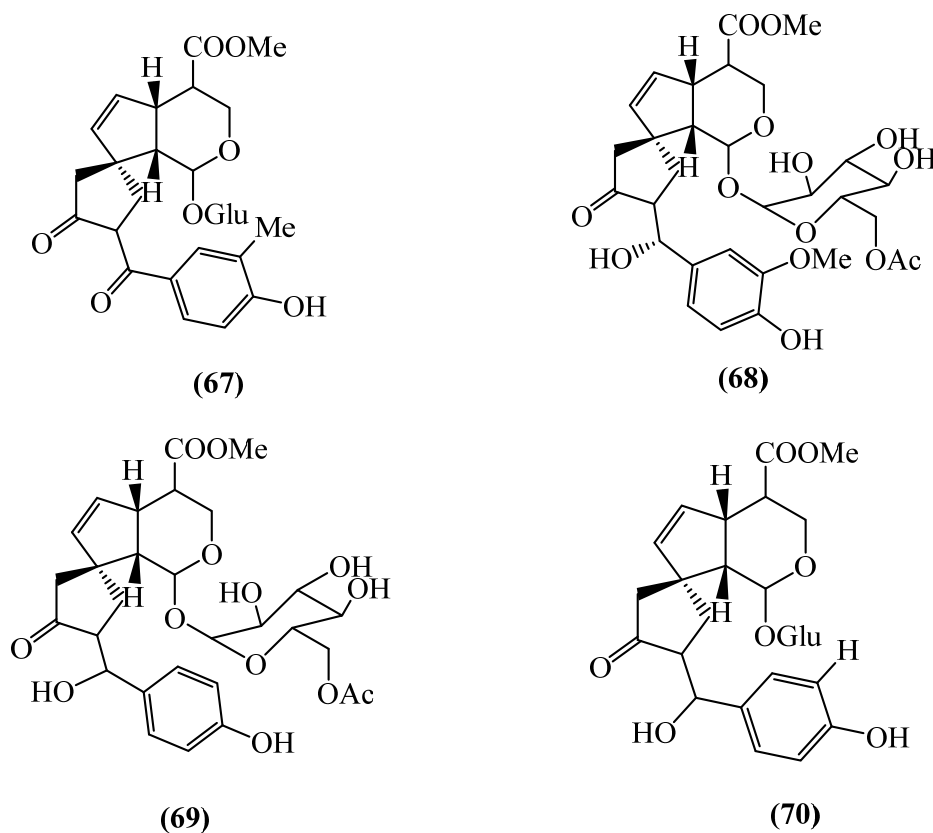


Figure II-28 Iridoïdes de *M. morindoides*

Références

- [1] Bahare S., Mangalpady S. S., Nanjangud V. Anil K., Jelena Ž. , Daniela C., Anca Oana D., Simin E-Y. Ceyda S. K., Tamar G., Silvana N., Giuseppe P., Farukh S., María del Mar C., William C. Cho, Natália M., Javad S.-R., (2019). Veronica Plants—Drifting from Farm to Traditional Healing, Food Application, and Phytopharmacology, *Molecules*, 24, 2454,.
- [2] Malešev D., Kuntić V., (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions, *Journal of the Serbian chemical society*, 72 ,10 ,921-939.
- [3] Karaali A., Boyacioğlu D., Güneş G., Özçelik B., (2004). Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality, nutrition and health—STREP or CA. technical European commission's the 6th framework programme for research, Istanbul technical university, Turkey.
- [4] Agrawal P.K., Markham K.R., (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids, Elsevier Amsterdam.
- [5] Martínez-Flórez J., González-Gallego J.M., Tuñón M.J., (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp*, 17:271-278,.
- [6] Heller W., Forkmann G., (1993). Biosynthesis of Flavonoids. In *The Flavonoids: Advances in research since 1986*. Harborne J.B. Ed. Chapman & Hall. London. 499.
- [7] López Luengo, M.T., (2002). Flavonoides. *Offarm* 21 (4), 108-113,.
- [8] Koukol J., Conn E.E., (1961). The metabolism of aromatic compounds in higher plants. IV. Purification and properties of the phenylalanine deaminase of *Hordeum vulgare*. *The Journal of Biological Chemistry (Baltimore)* 236 : 2692-2698.
- [9] Russell D.W., Conn E.E., (1967). The cinnamic acid 4-hydroxylase of pea seedlings. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 122: 256 – 258,.
- [10] Heller W., Forkmann G., (1988). Biosynthesis Advances in research since 1980. In: Harborne JB (ed) *The flavonoids*. Chapman and Hall, London 399 – 425.
- [11] Bruneton, J., a. (2001). Flavonoides, En *Farmacognosia Fitoquímica. Plantas Medicinales*, 2ªed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España, 305-349,.

-
- [12] Álvarez Castro E., (2003). Orallo Cambeiro F., Actividad biológica de los flavonoides Acción frente al cáncer. *Offarm* 22 (10), 130-140.
- [13] Hodek P., Trefil P., Stiborova M., (2002). Flavonoids-potent and versatile biologicaly activecom pounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*, 139,1–21.
- [14] Halbwirth H., (2010). The creation and physiological relevance of divergent hydroxylation patterns in the flavonoid pathway. *Int. J. Molec. Sci.* 11:595–621,
- [15] Kale A., Gawande S., Kotwal S., (2008). Cancer phytotherapeutics: role for flavonoids at the cellular level. *Phytotherapy Research*, 22, 567–577.
- [16] Leopoldini M., Russo N., Toscano M., (2010). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*. 125,288–306,
- [17] Mladinka P., Zatloukalova L., Filipsky T., Hrdina R., (2010). Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *FreeRadical Biology & Medicine*. 49, 963–975.
- [18] Middleton, E. J., (1996). "Biological properties of plant flavonoids: an overview". *Int. J. Pharmacol.* 34 ,5, 344-348.
- [19] Song J. L., Kun H. S., Hyun P. K., Antiinflammatory activity of naturally occurring flavone and flavonol glycosides, (1993). *Arch. Pharm. Res.* 16, 25.
- [20] Namgoong S.Y., Son K. H., Chang H.W., Kang. S. S., Kim H. P., (1994) Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture *Life Sci.*, 54, 5, 313-320.
- [21] Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G., Wegrzym G., (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.*, 184, 271–178.
- [22] Babayi H., Kolo I., Okogum JI., (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biochemistri.* 16:102–105.
- [23] Ortuno A, Baidez A, Gomez P, Arcas MC, Porrás I, Garcia-Lidon A, Del Rio JA. (2006). Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*., *Food Chem.*, 98, 351–358,
-

-
- [24] Batawita K, Kokon K, Akpagona K, Koumaglo K, Bouchet P., (2002). Fungicide activity of a threatened species from togo flora: *Conyza aegyptiaca* (L.) Ait. var. *lineariloba* (DC.) O. Hoffm. (Asteraceae)., *Acta Bot. Gal.*, 149,41–48.
- [25] Grayer RJ, Harborne JB. (1994). A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry*, 37, 19–42.
- [26] Choi H.J., Song J.H., Park K.S., (2009). Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 37,329–333,
- [27] Cushnie TP., Lamb AJ., ,(2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents.*, 26, 343–356.
- [28]Botta B, Menendez P, Zappia G, Lima RAD, Torge R, Monache GD., (2009). Prenylated isoflavonoids: botanical distribution, structures, biological activities and biotechnological studies. An update (1995-2006). *Curr. Med. Chem.*, 16,3414–3468,
- [29]Dinda B., Debnath S., Harigaya Y., , (2007). Naturally occurring secoiridoids and bioactivity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. A review, part 1, *Chem. Pharm. Bull.*, 55, 159-222.
- [30]Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales*, 4ème édition; Tech & Doc: Paris.
- [31]Roth, L.M.; Eisner, T. (1962). Chemical defenses of arthropods. *Ann. Rev. Entomol.*, 7,107-136.
- [32] Catalano, S.; Flamini, G.; Bilia, A. R.; Morelli, I.; Nicoletti, M.; (1995). Iridoids from *Mentzelia cordifolia*. *Phytochemistry*, 38, 895-897.
- [33]Iwagawa, T.; Yaguchi, S.; Hase T. (1994). Iridoid glucosides from *Viburnum suspensum*. *Phytochemistry*, 35, 1369-1370.
- [34]Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli A., Pinto, G., Pollio, A., (2011). Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, 16, pp 1486-507.
- [35]Taskova R., Handjiev, N., Evstatieva L., Popov S., (1999). Iridoid glucosides from *Plantago cornuti*, *Plantago major* and *Veronica cymbalaria*. *Phytochemistry*, 52, 1443-1445.
- [36] Foderaro T. A., Stermitz F. R., (1992). (5 α H)-6-Epidihydrocornin, the first known iridoid glycoside with a trans-fused ring system. *Tetrahedron Letters*, 33, 2953-2954.
-

-
- [37] Krull R. E., Stermitz F.R., Franzyk H., Jensen S.R., (1998). Iridoid glycoside biosynthesis in *Penstemon secundiflorus*., Another H-5, H-9 trans-iridoid glycoside. *Phytochemistry*, 49, 1605-1608,
- [38] Ahmed B., Al-Rehaily A. J., Al-Howiriny T.A., El-Sayed K. A., Ahmad M. S., (2003). Scropolioside-D2 and Harpagoside-B: two new iridoid glycosides from *Scrophularia deserti* and their antidiabetic and antiinflammatory activity. *Biol. Pharm. Bull.*, 26, 462-467,
- [39] Magiatis P., Skaltsounis A.-L., Tillequin F., Seguin E., Cosson J.-P., (2002). Coelobillardin, an iridoid glucoside dimer from *Coelospermum billardieri*. *Phytochemistry*, 60, 415–418,
- [40] El-Naggar L. J., Beal J. L., (1980). Iridoids A review, *J. Nat. Prod.*, 43, 649–707.
- [41] Coppen J. J. W., Cobb A. L., (1983). The occurrence of iridoids in *Plumeria* and *Allamanda*. *Phytochemistry*, 22, 125–128.
- [42] Kupchan, S. M., Dessertine A. L., Blaylock B. T., Bryan R. F., (1974). Isolation and structural elucidation of allamandin, and antileukemic iridoid lactone from *allamanda cathartica*. *J. Org. Chem.*, 39, 2477–2482,
- [43] Gränicher F., Christen P., Kamalaprija P., Burger U., (1995). An iridoid diester from *valeriana officinalis* var. *sambucifolia* hairy roots. *Phytochemistry*, 38, 103–105.
- [44] Taguchi, H.; Endo, T. (1974). Patrinoside, a new iridoid glycoside from *Patrinia scabiosaefolia*. *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 1935–1937.
- [45] Jensen S. R., Mikkelsen C. B., Nielsen B. J., (1981). Iridoid mono- and di-glycosides in *Mentzelia*. *Phytochemistry*, 20, 71–83.
- [46] Bianco A., Iavarone C., Trogolo C., (1974). Structure of eucommiol a new cyclopentenoid-tetrol from *Eucommia Ulmoides*. *Tetrahedron*, 30, 4117–4121.
- [47] Jensen S. R., Kirk O., Nielsen B. J., Norrestam R., (1987). 9-hydroxy substituted iridoids from *Gelsemium sempervirens*. *Phytochemistry*, 26, 1725–1731.
- [48] Jensen S.R., Çalış İ., Gotfredsen Ch. H., Søtofte I., (2007). Structural revision of Some recently published iridoid glucosides. *J. Nat. Prod.*, 70, 29-32.
-

-
- [49] Franzyk H., (2000). Synthetic aspects of iridoid chemistry. In *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* 79, 1–114,
- [50] Boros C. A., Stermitz F. R., (1990). Iridoids An Updated Review. Part I. *J. Nat. Prod.*, 53, 1055–1147.
- [51] Morota T., Sasaki H., Nishimura, H., Sugama, K., Chin (Chen Zhengxiong), M., Mitsuhashi H., (1989). Two iridoid glycosides from *Rehmannia glutinosa*. *Phytochemistry*, 28, 2149–2153.
- [52] Oshio H., Inouye H., (1982). Iridoid glycosides of *Rehmannia glutinosa*. *Phytochemistry*, 21, 133–138,
- [53] Anet F., Hughes G., Ritchie E., (1953). Alkaloids of Australian *Strychnos* species. I. Constituents of *S. lucida* R.Br. and *S. psilosperma* F.Muell. *Aust. J. Chem.*, 6, 58.
- [54] Endo T., Taguchi H., (1973). The Constituents of *Gardenia jasminoides* Geniposide and Genipin-gentiobioside., *Chem. Pharm. Bull.*, 21, 2684–2688.
- [55] Murai F., Tagawa M. Inouye H., Ishida T., Inoue M., (1987). A new iridoid glucoside, nepetariaside, from *Nepeta cataria*. *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 2533–2537.
- [56] Linde H. H., A. Ragab M. S., (1967). Stereochemie und Konformation des Swerosids. *Helv. Chim. Acta*, 50, 991–993.
- [57] Asahina Y. Asano J., Tanase Y., Ueno Y., (1936). Über das Gentiopikrin (I. Mitteil.). *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 69, 771–779.
- [58] Battersby A. R., Burnett A. R., Parsons P. G., (1968). Preparation of secologanin: its conversion into ipecoside and its role in indole alkaloid biosynthesis. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)*, 1280.
- [59] Souzu I., Mitsuhashi H., (1969). Structures of iridoids from *Lonicera Morrowii* A. Gray. *Tet. Lett.*, 32, 2725–2728.
- [60] Gariboldi P., Jommi G., (1986). Secoiridoids from *Olea europaea*. *Phytochemistry*, 25, 865–869.
- [61] Shen Y.-C., Lin C.-Y., Chen C.-H., (1990). Secoiridoid glycosides from *Jasminum multiflorum*. *Phytochemistry*, 29, 2905–2912.
-

-
- [62] Panizzi L., Scarpati M., Oriente G., (1960). The constitution of oleuropein, a bitter glucoside of the olive with hypotensive action. *Gazz. Chim. Ital.*, 90, 1449–1485.
- [63] Bock K., Jensen S. R., Nielsen B. J., Johnson I., Taticchi A., Anthonsen, T., (1976). Secogalioside, an Iridoid Glucoside from *Galium album* Mill. and ¹³C NMR Spectra of Some Seco-iridoid Glucosides. *Acta Chem. Scand.*, 30b, 743–748.
- [64] Van der Eycken E., Van der Eycken J. Vandewalle M. (1985). Iridoids the revised structure of specionin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1719.
- [65] Joshi K. C., Singh P., Taneja S., Cox P. J., Allan Howie, R., Thomson R. H., (1982). New terpenoid aldehydes from *Kigelia pinnata*: crystal structure of pinnatal. *Tetrahedron*, 38, 2703–2708.
- [66] Kobayashi H., Karasawa H., Toshio M., Fukushima S., (1984). Studies on the constituents of *Cistanchis Herba*. II. Isolation and structures of new iridoids cistanin and cistachlorin. *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 1729–1734.
- [67] Johnson R. D., Waller G. R., (1971). Isolation of actinidine from *valeriana officinalis*. *Phytochemistry*, 10, 3334–3335.
- [68] Roby M. R., Stermitz F. R., (1984). Penstemonoside and Other Iridoids from *Castilleja rhexifolia*. Conversion of Penstemonoside to the Pyridine Monoterpene Alkaloid Rhexifoline. *J. Nat. Prod.*, 47, 854–857.
- [69] El-Naggar L.J., Beal J.L., (1980). Iridoids. A review., *J. Nat. Prod.*, 43, 649-707.
- [70] Chong Xu Ch., Chou G.-X., Wang Ch.-H., Wang Z.-T., (2012). Rare noriridoids from the roots of *Andrographis paniculata*. *Phytochemistry*, 77, 275-279.
- [71] Lino von Poser G., Schripsema J., Henriques A.T., Jensen S.R., (2000). The distribution of iridoids in Bignoniaceae, *Biochem. Syst. Ecol.*, 28, 351-366.
- [72] Ghisalberti E. L., (1998). Review, Biological and pharmacological activity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. *Phytomedicine*, 5, 147-163.
- [73] Li D.Q., Bao Y.M., Zhao J.J., Liu C.P., Liu Y., An L.J., (2004). Neuroprotective properties of catalpol in transient global cerebral ischemia in gerbils: dose-response, therapeutic time-window and long-term efficacy. *Brain Res.*, 1029, 179-185.
-

-
- [74] Kim S. R., Lee K. Y., Koo K. A., Sung S. H., Lee N. G., Kim J., Kim Y. C., (2002). Four new neuroprotective iridoid glycosides from *Scrophularia buergeriana* roots. *J. Nat. Prod.*, 65, 1696-1699.
- [75] Galvez M., Martin-Cordero C., Ayuso M.J., (2005). Iridoids as dna topoisomerase I poisons. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 20, 389-392.
- [76] Zhang Z.J., Li P., Wang Z., Li P.T., Zhang W.S., Sun Z.H., Zhang X.J., Wang Y.Y., (2006). A comparative study on the individual and combined effects of baicalin and jasminoidin on focal cerebral ischemia-reperfusion injury. *Brain Res.*, 1123, 188-195.
- [77] Li P., Matsunaga K., Yamakuni T., Ohizumi Y., (2000). Potentiation of nerve growth factor-action by picrosides I and II, natural iridoids, in PC12D cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 406, 203-208.
- [78] Saha P., Mandal S., Das A., Das S., (2006). Amarogentin can reduce hyperproliferation by downregulation of Cox-II and upregulation of apoptosis in mouse skin carcinogenesis model. *Cancer Lett.*, 244, 252-259.
- [79] Park K.S., Chang I.M., (2004). Anti-inflammatory activity of aucubin by inhibition of tumor necrosis factor-alpha production in RAW 264.7 cells. *Planta Med.*, 70, 778-779,
- [80] Cimanga R.K., et al., (2010). The spasmolytic activity of extracts and some isolated compounds from the leaves of *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. (*Rubiaceae*). *Journal of Ethnopharmacology*, 127, 215-220.
- [81] Tamura, S., et al., (2010). New anti-malarial phenylpropanoid conjugated iridoids from *Morinda morindoides*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 1520-1523.

Chapitre III

*Etude phytochimique de
l'espèce Veronica rosea*

III-1 Etude phytochimique de l'espèce *Veronica rosea*

III-2 Rappel botanique

Selon la classification phylogénétique [1] *Veronica rosea* est une espèce de la famille des Plantaginacées, c'est une plante herbacée basse, souvent rampante, à tiges légèrement velues. Feuilles ovales à elliptiques, opposées, brièvement pétiolées. Limbe à poils doux à bord denté.

Les fleurs sont hermaphrodites, pollinies par les insectes. L'inflorescence est un racème (grappe) au long pédoncule, à bractées linéaires très petites, portant de nombreuses fleurs d'une couleur mauve. La floraison commence au bas du racème, les premiers fruits sont déjà formés au bas de la grappe florale lorsque les dernières fleurs du haut de la grappe s'épanouissent.

Les fleurs portent quatre petits sépales. Leur corolle est petite (inférieure à 1 cm). Elles possèdent quatre pétales striés, deux étamines et un ovaire à deux carpelles (**Figure III.1**).



Figure II-1 *Veronica rosea*

Cette espèce est classée comme suit :

Classe : Equisetopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Plantaginacea (plantaginacées)

Tribu : Veroniceae

Genre : *Veronica*

Espèce : *Veronica rosea*

III-3 Préparation de la matière première

La plante *Veronica rosea* (Plantaginacea) a été récoltée en mois de Juin 2015 dans les montagnes de chelia, à kenchela Est Algérien. L'identification botanique a été réalisée par le

Professeur Bachir OUDJEHIH, du l'institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques de l'Université **Batna1**.

III-4 Chimie extractive

III-4-1 Extraction

Les parties aériennes ont été séchées dans un endroit sec et aéré à l'abri des rayons solaires, puis broyées jusqu'à l'obtention d'une fine poudre (500 g). La macération a été réalisée trois fois avec 5L de EtOH-H₂O (70: 30) à température ambiante pendant 3 jours. Après extraction liquide-liquide avec les solvants (Ether de pétrole, acétate d'éthyle et *n*-butanol) nous avons obtenu 3g de l'extrait éthéro-pétrolique, 8g de l'extrait d'acétate d'éthyle et 17g d'extrait *n*-butanolique.

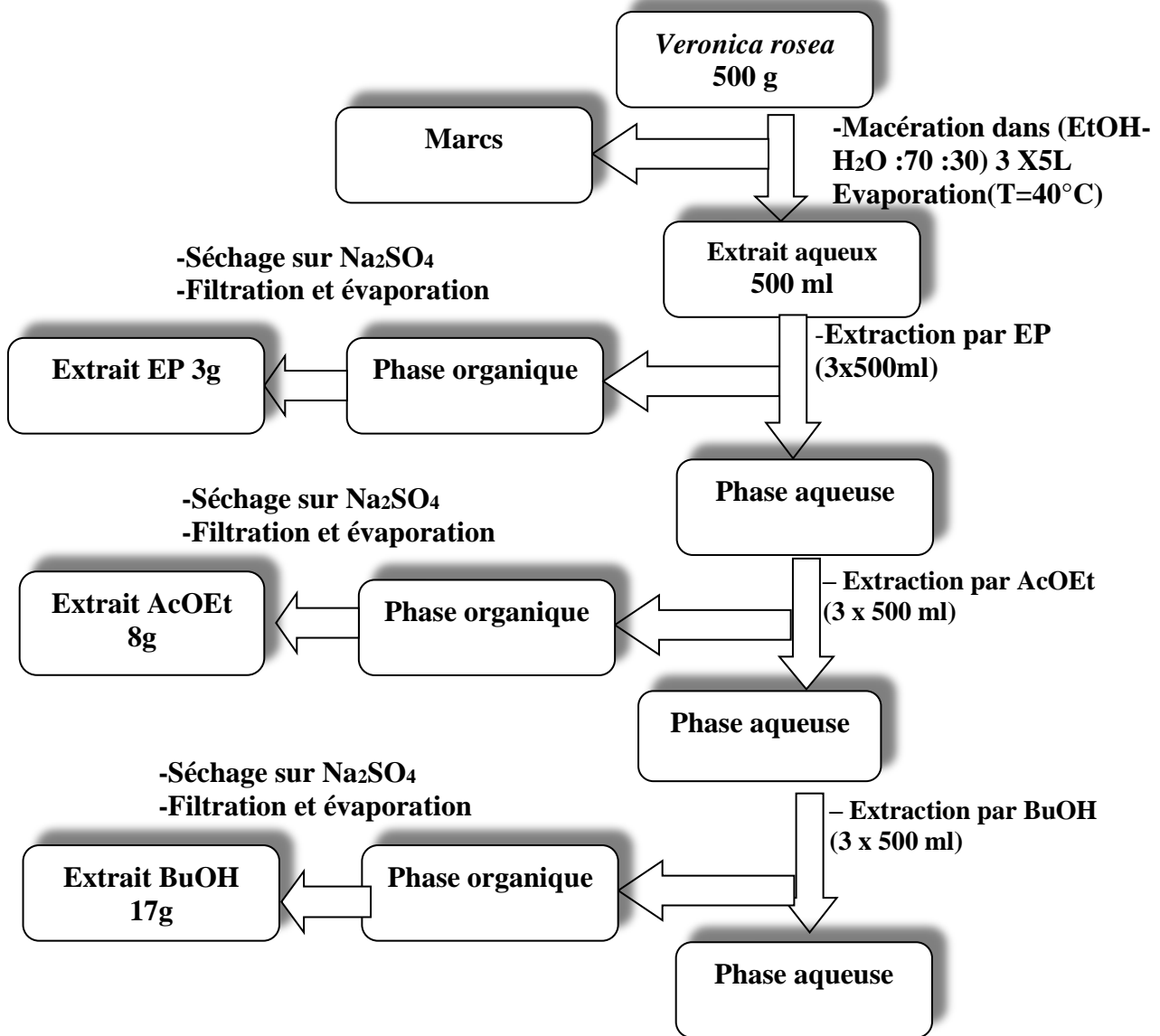


Figure III-2 Schéma de séparation de l'extrait butanolique de *Veronica rosea*

Les différents extraits obtenus sont analysés par CCM dans des systèmes d'élution différents. Notre choix était en faveur de l'extrait *n*-butanolique en raison de sa richesse en métabolites secondaires, constatés par la présence de plusieurs taches intéressantes comparativement aux extraits acétate d'éthyle et éthéro-pétrolique.

III-4-2 Fractionnement de l'extrait butanolique

8g de l'extrait butanolique sont dissous dans le méthanol puis mélangés avec une petite quantité de gel polyamide. L'ensemble est séché sous vide jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Cette dernière est déposée sur une colonne de gel de polyamide en utilisant un gradient d'élution toluène-méthanol allant de (100 :0) à (0 :100).

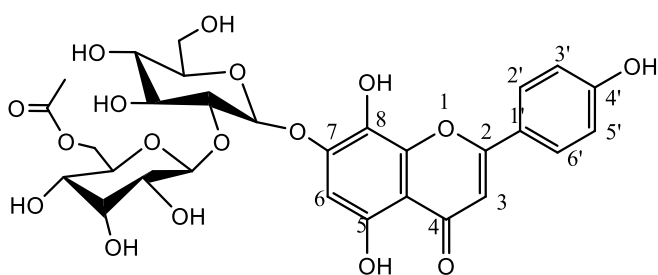
Des fractions de 100 ml recueillies à chaque fois sont soumises à une chromatographie sur couche mince (C.C.M), visualisées à la lumière UV (254 et 365 nm) et révélées avec une solution de chlorure d'aluminium ou à la vanilline sulfurique et chauffage à 100°C.

Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau III-1**.

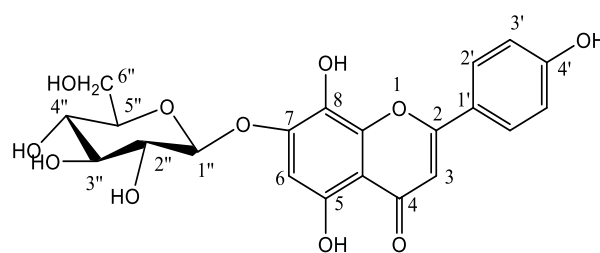
Tableaux III-1 Fractionnement de l'extrait butanolique

Lots	Elution Toluène /MeOH	Poids de la fraction (mg)
F1 : 1-30	100/0	30
F2 : 31-60	98/2	234
F3 : 61-85	96/4	334,9
F4 : 86-110	92/8	752,8
F5 : 111-140	90/10	565,7
F6 : 141-165	85/15	976,6
F7 : 165-185	80/20	716,8
F8 : 186-215	80/20	864,2
F9 : 116-245	75/25	876,8
F10 : 246-270	65/35	893,6
F11 : 271-320	20/80	579,6
F12 : 321-400	0/100	289,8

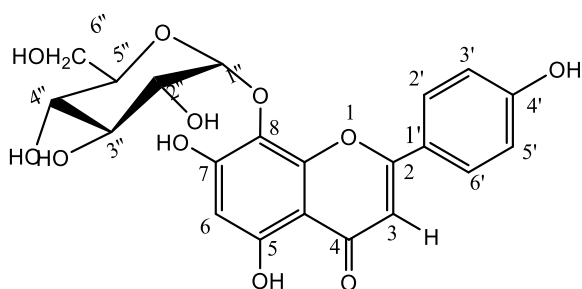
Le suivi de ce fractionnement par chromatographie sur couche mince, a permis de rassembler les fractions présentant des similitudes, ce qui aboutit à l'obtention de 12 fractions majoritaires (**Fr1-Fr12**). Plusieurs étapes de séparation et purification par une combinaison de chromatographie sur colonne de gel de silice ainsi les plaques préparatives (CCE) ont conduit à l'isolement de 10 composés naturels purs (**Figure III-3**).



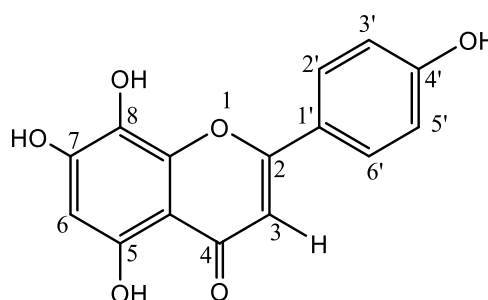
VR1 : Isoscutellareine 7-O- [6-O-acétyl- β -D-allopyranosyl- (1 \rightarrow 2)] - β -D-glucopyranoside



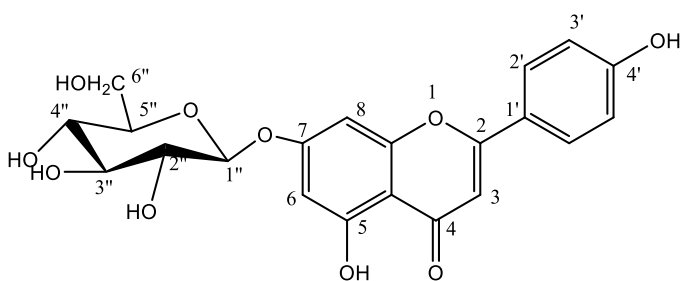
VR2 : Isoscutellareine-7-O - β -D-glucopyranoside



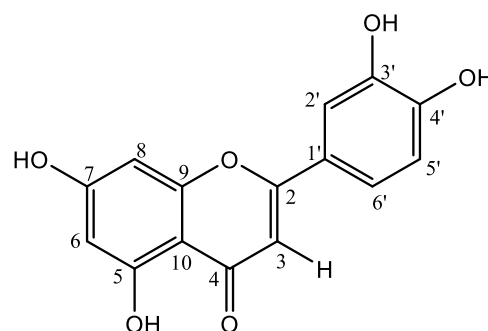
VR3 : Isoscutellaréine-8-O - β -D-glucopyranoside



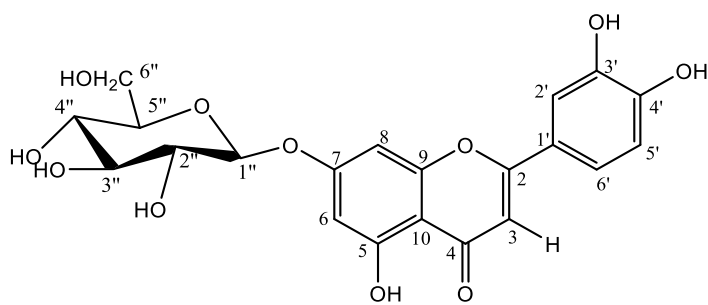
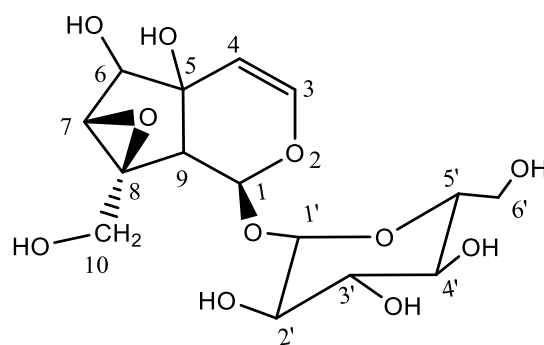
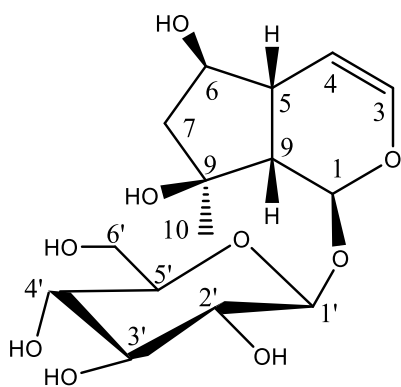
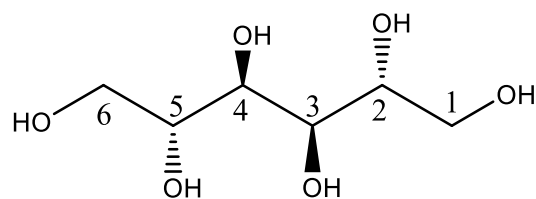
VR4 : Isoscutellaréine



VR5 : apigénine-7-O- β -glucopyranoside



VR6 : Lutéoline

**VR7 : Lutéoline-7-O-Glucoside****VR8 : Macfadiénoside****VR9 : Ajugol****VR10 : Mannitol****Figure III-3** Composés isolés à partir de l'extrait butanolique de l'espèce *Veronica rosea*

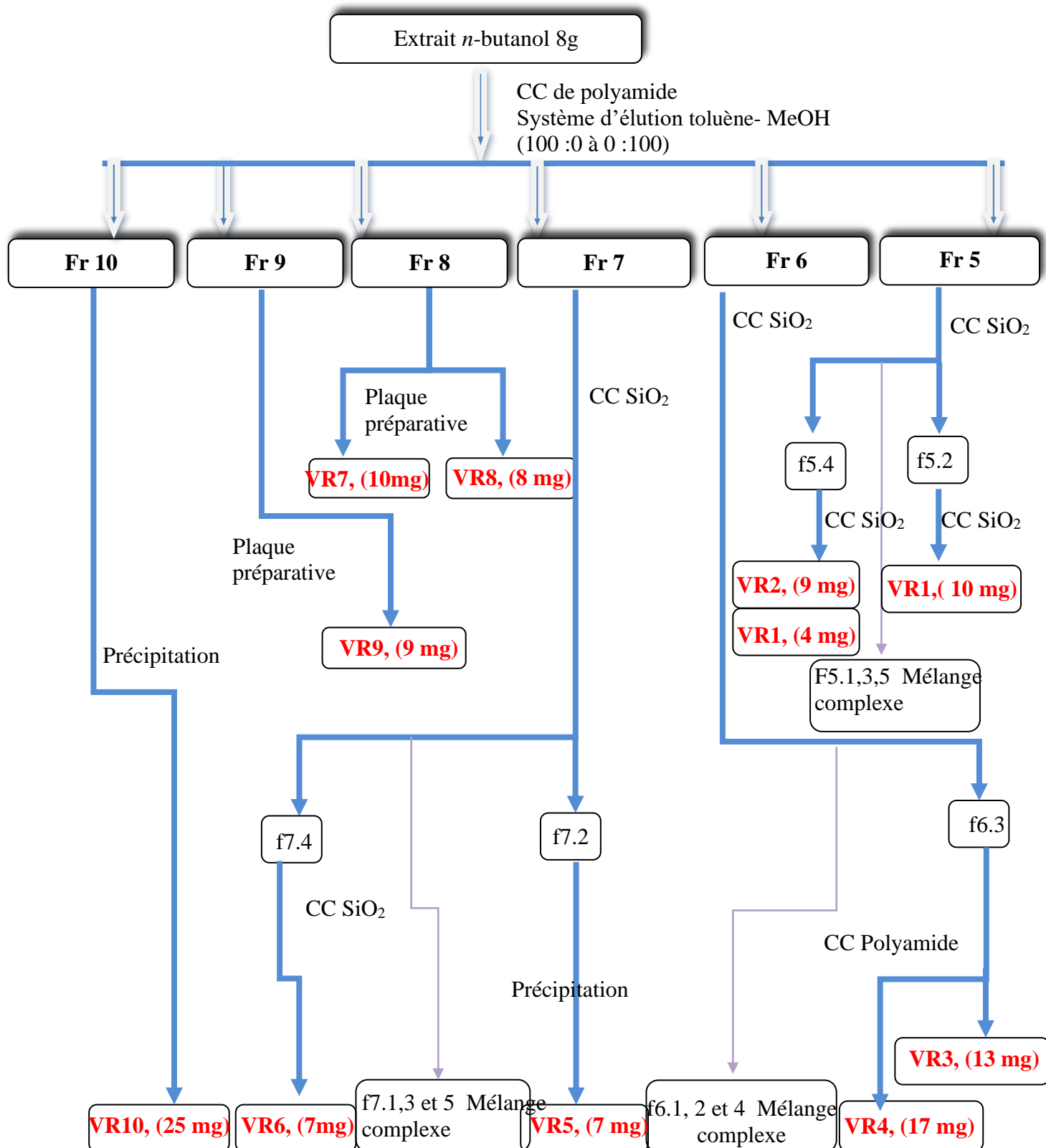
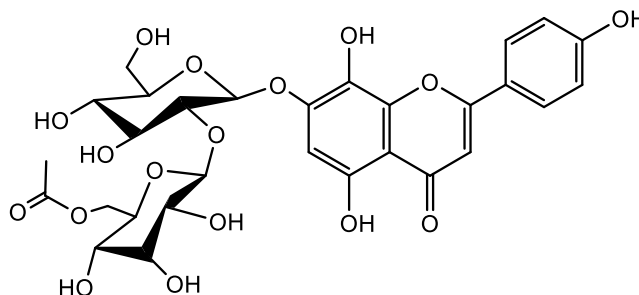


Figure III-4 Schéma de purification des produits de l'extrait butanolique de *Veronica rosea*

III-5 Caractérisations des produits obtenus

L'identification structurale des composés isolés est basée sur les données d'analyse spectroscopiques : l'ultraviolet (UV), la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire monodimensionnelle et bidimensionnelle (RMN ^1H , RMN ^{13}C , COSY, HSQC et HMBC), la spectrométrie de masse, et par la comparaison avec les données de la littérature.

III-5-1 Elucidation de la structure du composé VR1



Isoscutellareine 7-O- [6-O-acétyl- β -D -allopyranosyl- (1 \rightarrow 2)] - β -D-glucopyranoside

Le produit **VR1** est isolé sous forme d'un précipité jaune soluble dans le méthanol. Il se révèle en jaune avec une solution de chlorure d'aluminium après chauffage à 100°C. La fluorescence violette du composé **VR1** sous la lampe UV à 365 nm suggère qu'il s'agit d'une flavone ou flavonol.

Le spectre de masse ESI de ce composé (**Figure III-5**) montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 651,156 correspondant à $[\text{M}-\text{H}]^+$ attestant une masse moléculaire de 652 uma en accord avec la formule $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_{17}$.

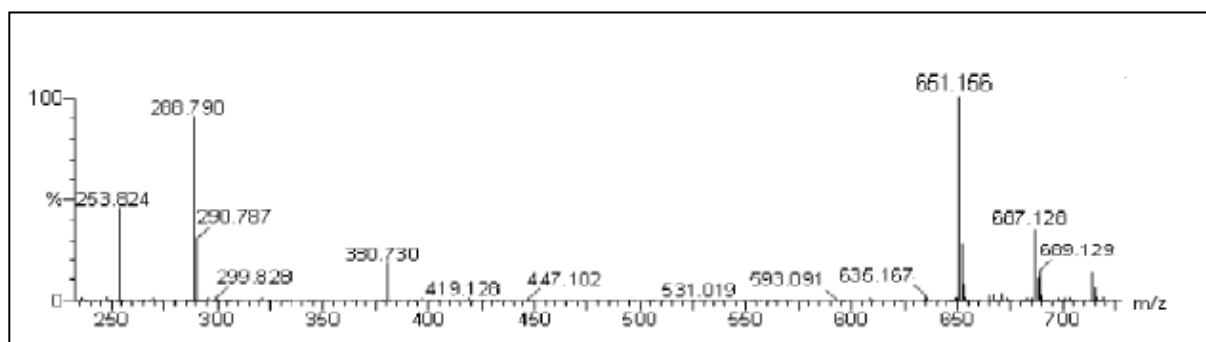


Figure III-5 Spectre de masse du composé VR1

L'analyse des spectres UV enregistré dans le méthanol (**Figure III-6**) du composé **VR1** révèle les indications suivantes :

- La présence de deux bandes d'absorption à 277 et 323 laissant envisager un squelette

flavone ou flavonol substitué en position 3.

➤ Le déplacement bathochrome ($\Delta\lambda = +23$ nm) de la bande I en présence de ($\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$) comparativement à celui enregistré dans le méthanol indique la présence d'un groupement OH libre en C5.

➤ L'addition du réactif NaOH conduit à un déplacement bathochrome de la bande I ($\Delta\lambda = +56$ nm), ce qui suggère la présence d'un OH libre en position 4'.

➤ L'absence de déplacement bathochrome de la bande II après addition de NaOAc par rapport à celui du spectre enregistré dans le méthanol laisse prévoir une oxygénation en C7.

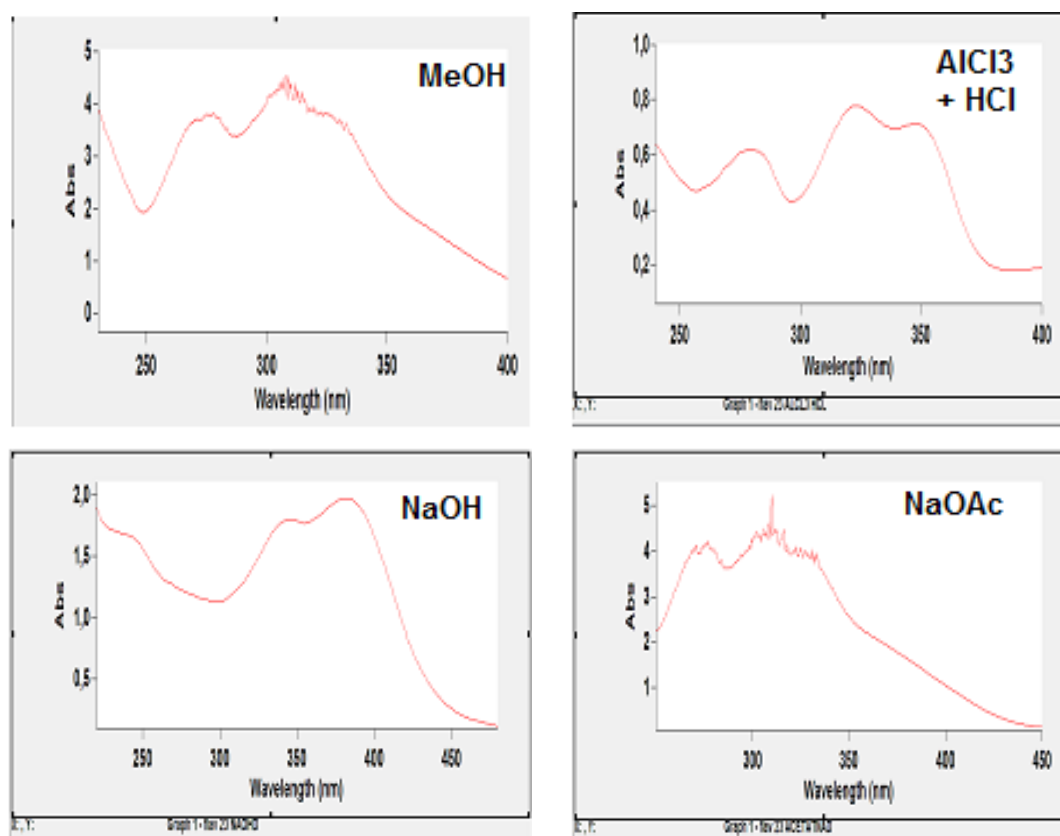


Figure III-6 Série des spectres UV-visible du composé VR1

L'examen du spectre RMN ^1H du composé VR1 enregistré dans le MeOD (Figure III-7), confirme la présence des signaux caractéristiques d'un squelette de type flavonoïde. En effet on observe :

➤ Deux doublets d'intégration 2H ortho-couplés ($J = 8,5$ Hz) à δ_{H} 7,01 (H-3'/5') et 7,98 (H-2'/6') formant un système AA' BB', indiquant une mono substitution en C4' sur le cycle B.

➤ Un singulet à δ_{H} 6,85 d'intégration 1H attribués au proton H-3.

- Un signal sous forme d'un singulet d'intégration 1H à δ_H 6,69 indiquant ainsi la substitution du cycle A en trois positions. Ce signal est attribuable soit au proton H-6 ou au proton H8.
- Un signal à 2,10 ppm d'intégration 3H sous forme singulet attribuable à un méthyle.
- Plusieurs signaux de protons osidiques sortant dans l'intervalle 3,30-4,40ppm. La présence de deux signaux sous forme de doublet d'intégration 1H à δ_H 4,79 (d, $J = 7,5$ Hz, H-1''') et 5,16 (d, $J = 8,1$ Hz, H-1'') caractéristiques de protons anomériques révèle que le composé **VR1** est diosidique. Les grandes valeurs des constantes de couplage pour ces deux protons (7,5 et 8,1 Hz) indiquent une conformation β pour chaque unité osidique.

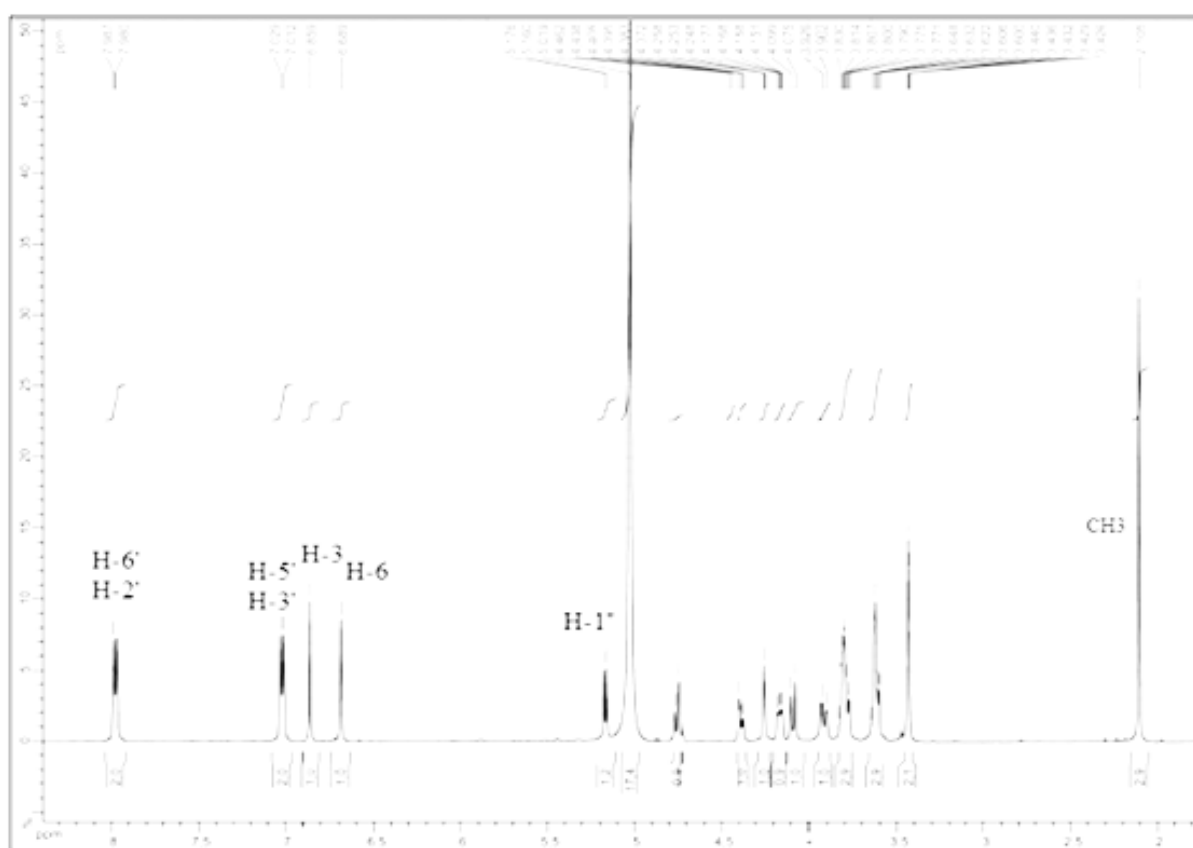


Figure III-7 Spectre RMN 1H du composé VR1

Le spectre RMN ^{13}C (**Figure III-8**) montre 29 signaux de carbones repartis en 14 carbones aromatiques, 12 osidiques, 2 carbonyles et un méthyle.

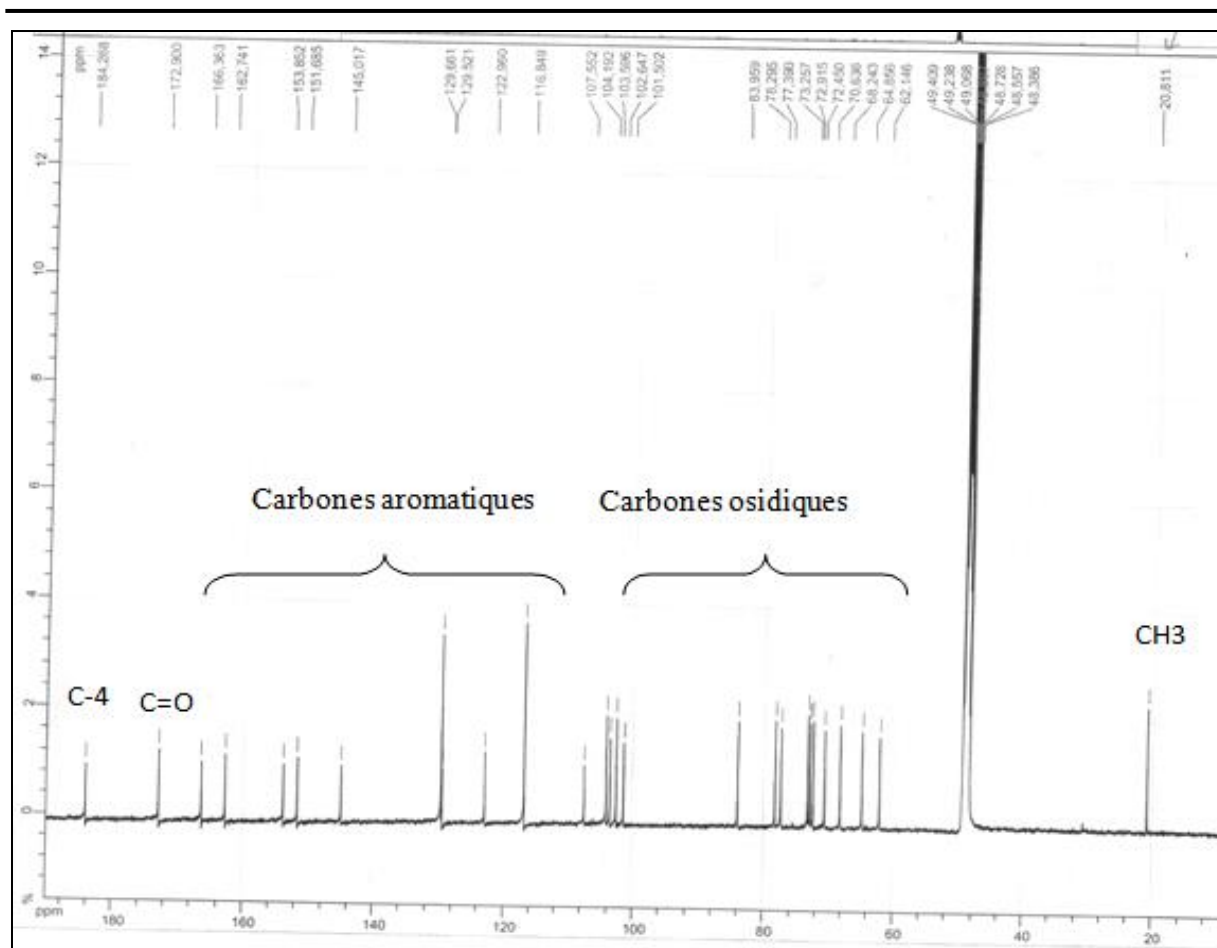


Figure III-8 Spectre RMN ^{13}C du composé VR1

A partir des protons déjà identifiés par RMN ^1H , l'expérience HSQC (**Figure III-9**) permet de déterminer facilement les déplacements chimiques de leurs carbones à δ_{C} 129,5 (C-2'et C-6'), δ_{C} 116,8 (C-3'et C-5'), à δ_{C} 103,6 C-3, à δ_{C} 20,8 le méthyle et les deux carbone anomériques C1''et C1''' à δ_{C} 102,6 et 104,2. Le singulet à δ_{H} 6,69 (H-6 ou H-8) montre une tâche de corrélation avec le carbone à 101,5 ppm.

La présence de 12 signaux entre 62,1 ppm et 104,2 ppm indique la présence de deux sucres hexoses [1,2].

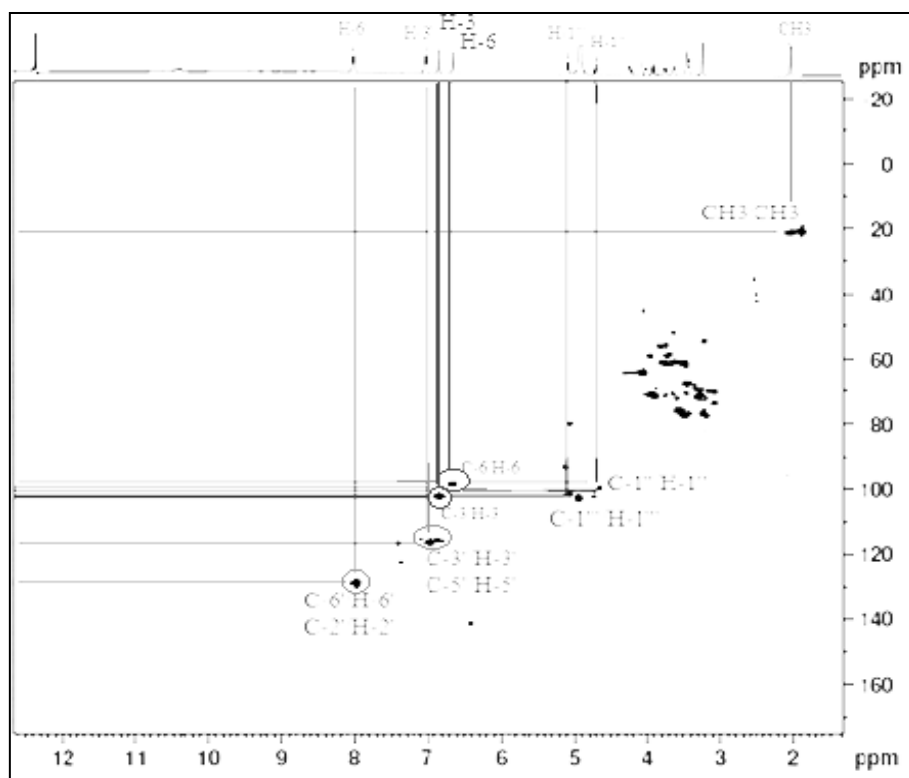


Figure III-9 Spectre HSQC du composé VR 1

L'analyse du spectre HMBC (Figure III-10) permet de visualiser des corrélations entre le proton (H-6 ou H-8) et les deux carbones oxygénés C-5 et C-7. Ceci indique que ce proton ne peut être qu'en C-6. Une autre tache de corrélation est observée entre ce proton H-6 et un carbone quaternaire oxygéné à δ_c 129,7 ppm ne pouvant être que le carbone C-8.

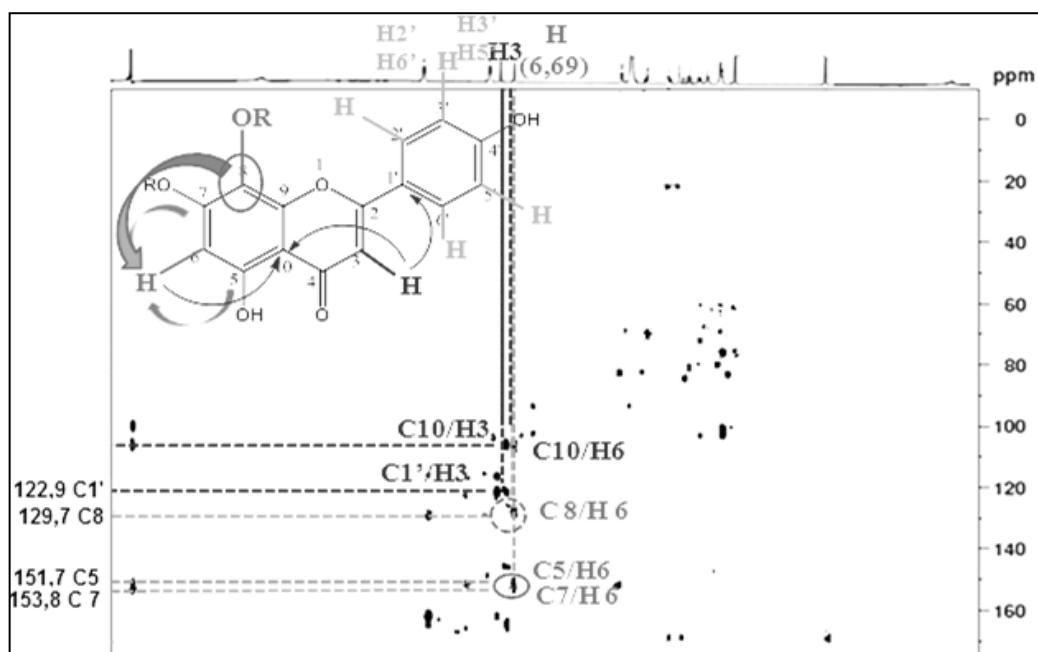


Figure III-10 Spectre HMBC du composé VR1

Toutes ces données nous permettent de proposer une structure partielle menant à l'isoscutellarine (**Figure III-11**).

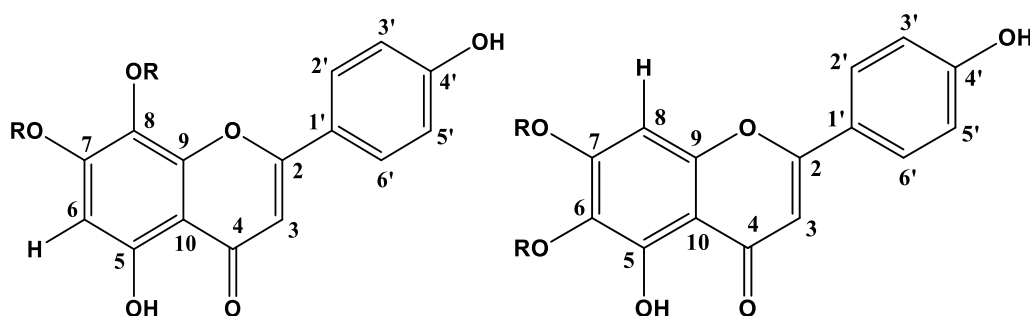


Figure III-11 Isoscutellarine

L'hydrolyse acide du composé VR1 montre sur CCM que ces deux hexoses sont un glucose et un allose. Ce dernier est bien confirmé par le proton H^{3'''} résonnant à 4,25 ppm sous forme d'un triplet, avec une constante de couplage $J = 2,5$ Hz. Ce qui indique que ce proton est en position équatoriale.

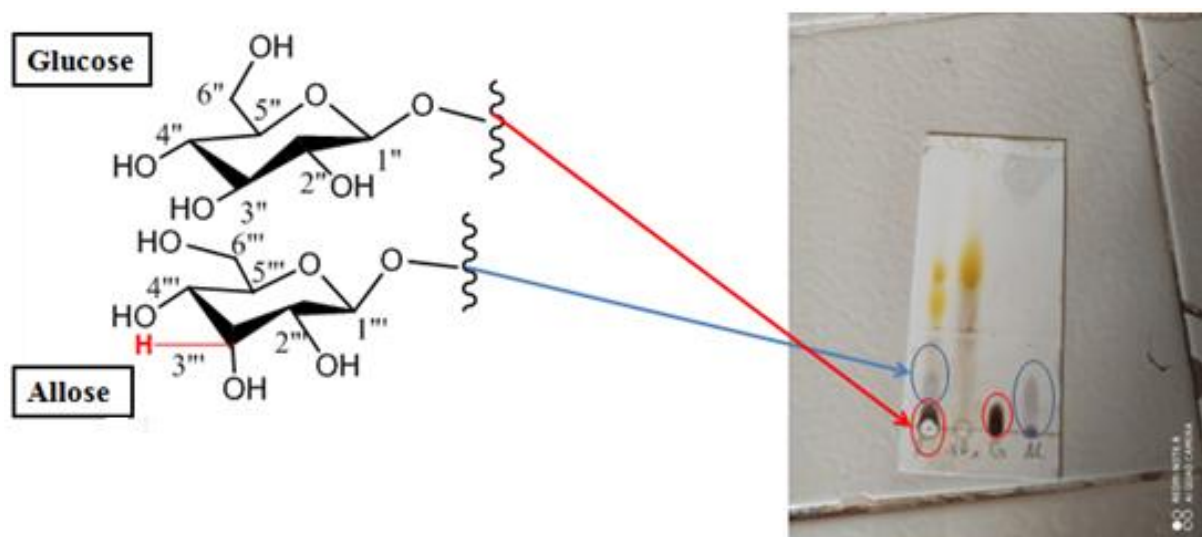


Figure III-12 Plaque CCM hydrolyse acide du composé VR1

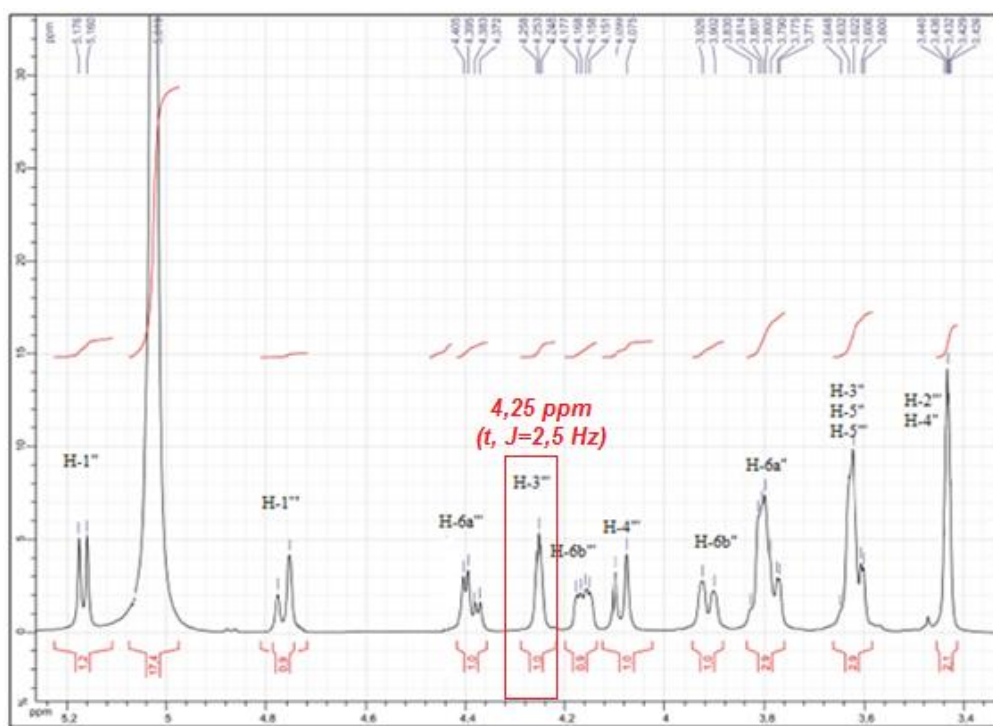


Figure III-13 Spectre RMN ^1H du composé VR1

L'analyse de spectre HSQC (figure III-14) ainsi que la comparaison avec les données de la littérature nous a permis d'identifier tous les protons et carbones osidiques [2, 3, 4].

Les déplacements chimiques de carbones caractéristiques du β -D-glucose sont : δ_{C} 83,9 (C-2''), 77,4 (C-3''), 70,6 (C-4''), 78,3 (C-5'') et à 62,1 (C-6'').

Les déplacements chimiques de carbones caractéristiques du β -D-allose ont: δ_{C} 72,9 (C-2'''), 72,5 (C-3'''), 68,2 (C-4'''), 73,3 (C-5'''), et à 64,8 (C-6''').

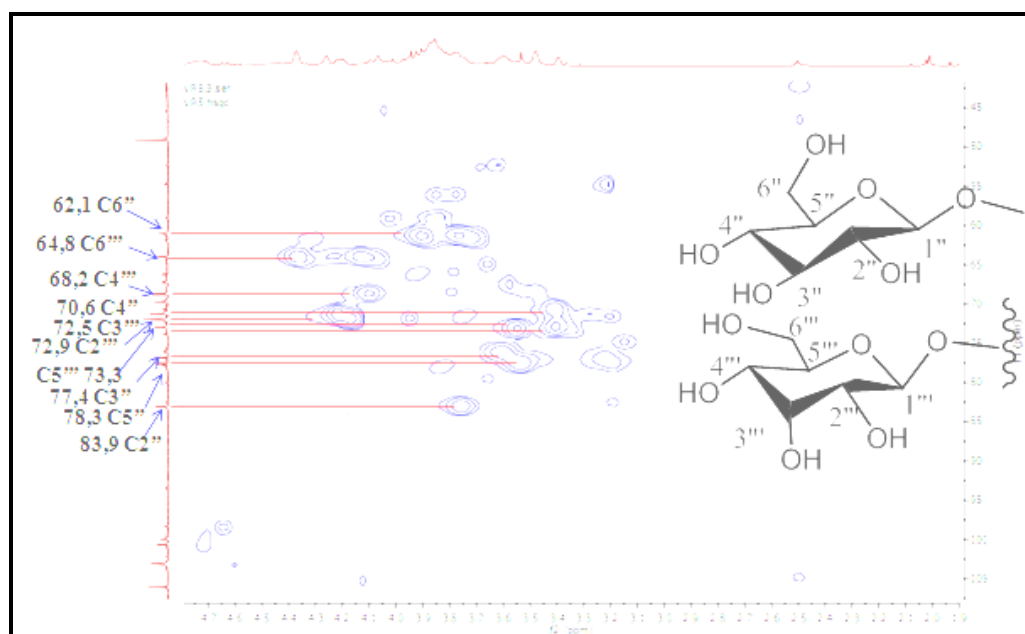


Figure III-14 Spectre HSQC du composé VR1

La présence d'une tâche de corrélation sur le spectre HMBC (**figure III-16**) entre le carbone C-7 (δ_C 153,85) et H-1'' (δ_H 5,16) indique la glycosylation est en C7.

Le proton anomérique à δ_H 4,79 montre une tâche de corrélation sur le spectre HMBC (Figure III-11) avec le carbone C-2'' résonant à δ_C 83,9ppm indiquant une liaison : β -D-glucosyl (1 \rightarrow 2)- β -D-allose.

Le spectre HMBC montre aussi des corrélations entre les protons du méthyle (δ_H 2,10 ppm) et le carbone d'un carbonyle (δ_C 172,1 ppm) mettant en évidence la présence d'un groupement acétyle. Ce carbonyle exhibe d'autres corrélations sur ce spectre avec les deux protons Ha-6''' et Hb-6''' du l'allose révélant son estérification en position 6'''.

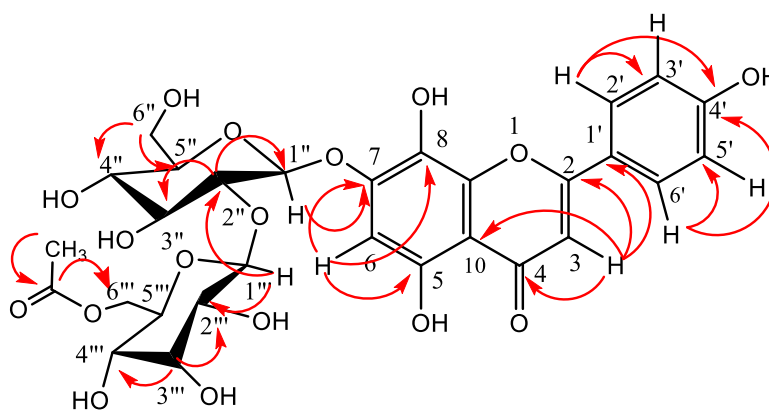


Figure III- 15 Corrélations HMBC du composé VRI

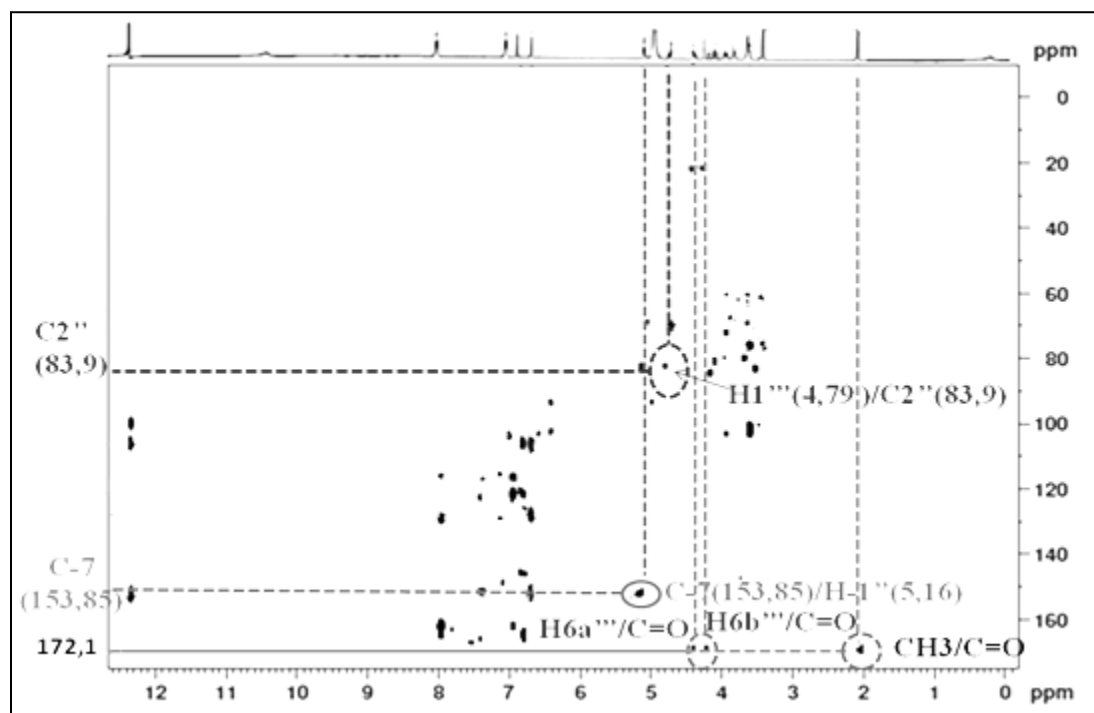


Figure III-16 Spectre HMBC du composé VRI

Ces données spectrales plus la comparaison avec des données de la littérature [5,6,7,8] permettent de proposer pour ce composé la structure isoscutellareine 7-O- [6-O-acétyl-β-D-allopyranosyl-(1 → 2)] - β-D-glucopyranoside. Ce composé a été isolé ultérieurement à partir de plusieurs espèces du genre *Veronica* telles que *V. pectinata* Var [1, 9], *V. glandulosa* [1], et *V. persica* [2, 10], *V. orientalis* [2], et *V. thymoides* Subsp. *Pseudocinerea* [7].

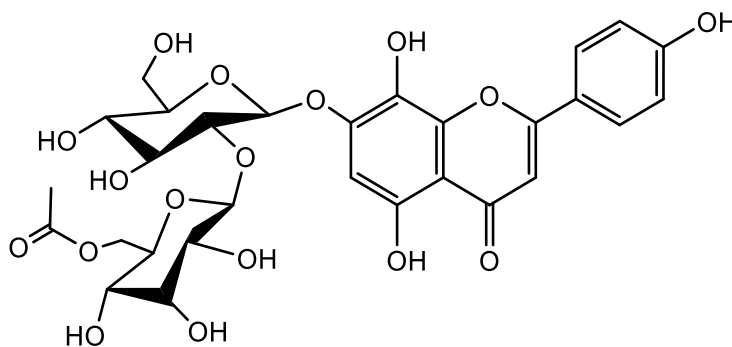
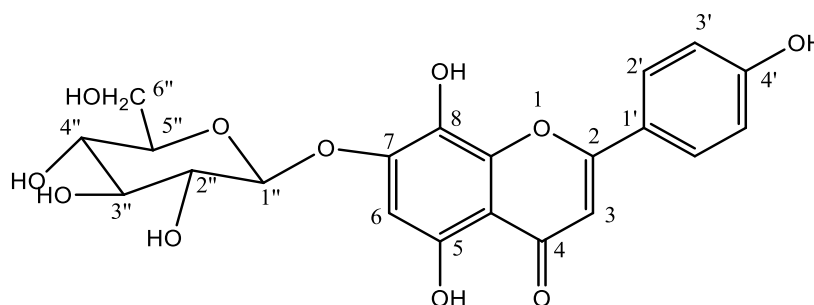


Tableau III-2 Déplacements chimiques RMN 1H (500 MHz) et 13C (125 MHz) du composé VRI dans CD₃OD.

Position	δ _C (ppm)	δ _H (ppm), (m, J (Hz))
2	166,4	
3	103,6	6,85 (1H, s)
4	184,3	
5	151,7	
6	101,5	6,69 (1H, s)
7	153,8	
8	129,7	
9	145,0	
10	107,6	
1'	122,9	
2'	129,5	7,98(2H, d, J=8,5)
3'	116,8	7,01(2H, d, J=8,5)
4'	162,7	
5'	116,8	7,01(2H, d, J=8,5)
6'	129,5	7,98 (2H, d, J=8,5)
1''	102,6	5,16(1H, d, J= 7,5)
2''	83,9	3,80 (1H, m)

3''	77,4	3,63 (1H, m)
4''	70,6	3,43 (1H, m)
5''	78,3	3,63(1H, m)
6''(a)	62,1	3,80 (1H, m)
(b)		3,91(1H, dl, $J= 12$)
1'''	104,2	4,74 (1H, d, $J = 8,1$)
2'''	72,9	3,43 (1H, m)
3'''	72,5	4,25 (1H, t, $J = 2,5$)
4'''	68,2	4,08 (1H, dl, $J=12$)
5'''	73,3	3,63 (1H, m)
6'''(a)	64,8	4,40(1H, dd, $J= 12 ; 5$)
(b)		4,16(1H, dd, $J= 12 ; 2,5$)
CH₃	20,8	2,10(3H, s)
C=O	172,9	

III-5-2 Elucidation de la structure du composé VR 2



Isoscutellareine-7-O - β -D-glucopyranoside

Le composé **VR2** est obtenu sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol et présente une fluorescence noire violette sous la lumière UV (365 nm). Ce composé donne une coloration jaune après révélation par chlorure d'aluminium et chauffage à 100°C, caractéristique à la présence d'un squelette flavonoïdique.

L'analyse du spectre de masse en mode positif (**figure III-17**) permet d'observer un pic d'ion pseudo-moléculaire à m/z 471,089 $[M+Na]^+$ soit une masse moléculaire de 448 uma, correspondant à une formule brute $C_{21}H_{20}O_{11}$.

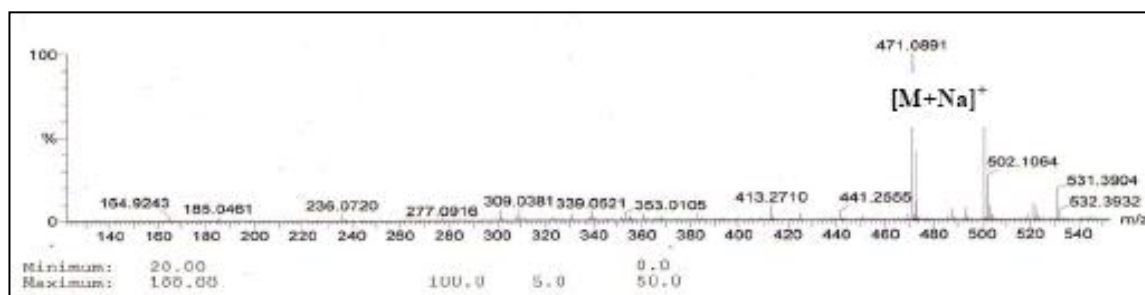


Figure III-17 Spectre de masse ESI-MS du composé VR 2

Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C enregistrés dans le DMSO- d_6 (**Figure III-18 et III-19**) du composé **VR2** montrent une grande similitude avec ceux du composé **VRI**. La seule différence consiste en l'absence des signaux relatifs au sucre allose. La masse moléculaire de 448 uma correspond parfaitement à une flavone glycosylée.

L'analyse du spectre RMN ^1H permet de reconnaître sans équivoque tous les signaux des protons constituant le noyau isoscutellareine glycosylé. En effet, on identifie facilement :

- Deux doublets à δ_{H} 6,95 (2H, d, $J=8,8$ Hz) et à δ_{H} 7,96 (2H, d, $J=9,6$ Hz) attribuables aux protons H-3'/H-5' et H-2'/H-6' respectivement, formant un système AA'BB'. Ceci confirme la présence d'un seul substituant sur le cycle B en position 4'
- Un singulet résonant à 6,81 ppm correspond au proton H3.
- Un autre singulet à 6.70 ppm correspondant au proton H-6 du cycle A.

En plus de ces signaux, le spectre RMN ^1H (**Figure III-14**) montre également :

- Un signal sous forme de doublet d'intégration 1H à δ_{H} 5,07 (1H, d, $J=8,0$ Hz) caractéristique au proton anomérique H-1'' du sucre, en l'occurrence le glucose. La grande constante de couplage attribue pour ce glucose indique une configuration β .
- Un signal sous forme de triplet d'intégration 1H à 3,60 ppm ($J=9,8$ Hz) attribuable au proton H-2''
- Un signal sous forme d'un massif à δ_{H} 3,27 s'intégrant pour 1H correspondant au H-4''.
- Un signal massif à δ_{H} 3,45-3,55 s'intégrant pour 2H correspondant aux protons H-3'' et H-5''.
- Un doublet de doublet résonant à δ_{H} 3,75 (1H, $J=12,5; 4,0$ Hz) attribuable au proton H-6''a
- Un autre doublet de doublet à δ_{H} 3,88 ppm (1H, $J=12,5; 8,5$ Hz) correspondant au proton H-6''b

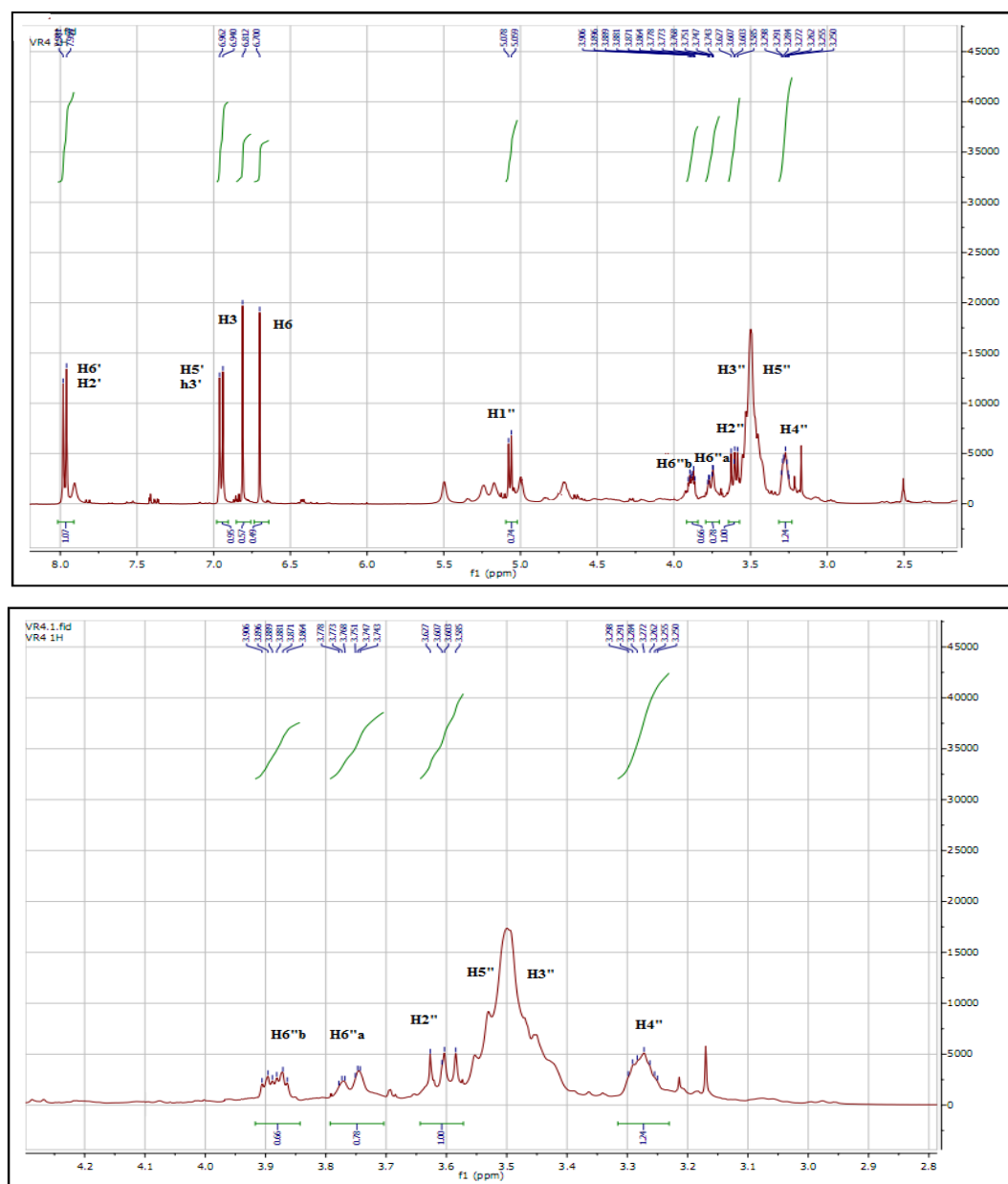


Figure III-18 Spectre RMN ^1H du composé VR2

Les spectres RMN ^{13}C et HSQC (**Figures III-19 et III-20**) en apporte la preuve de la nature flavone glycosylé du composé **VR2**. L'analyse conjointe de ces spectres permet d'attribuer les déplacements chimiques de tous les carbones caractéristiques de l'aglycone isoscutellareine : 182,8 (C-4) , 164,5 (C-2), 161,8 (C-4'), 152,6 (C-5), 150,9 (C-7) , 144,2 (C-9), 129,1 (C-6'), 129,1 (C-2'), 127,9 (C-8), 121,6 (C-1'), 116,4 (C-3'), 116,4 (C-5'), 106,0 (C-10), 103,0 (C-3), 99,9 (C-6).

On observe également un signal à δ_{C} 100,9 ppm correspondant au carbone anomérique. Les déplacements chimiques des carbones osidiques ont été attribués par comparaison aux

données du composé VR1, ainsi que ceux de la littérature [11]. Ces carbones sont identifiés comme suit : δ_C 83,1 (C-2''), 77,6 (C-5''), 76,1 (C-3''), 69,4 (C-4''), 61,0 (C-6'').

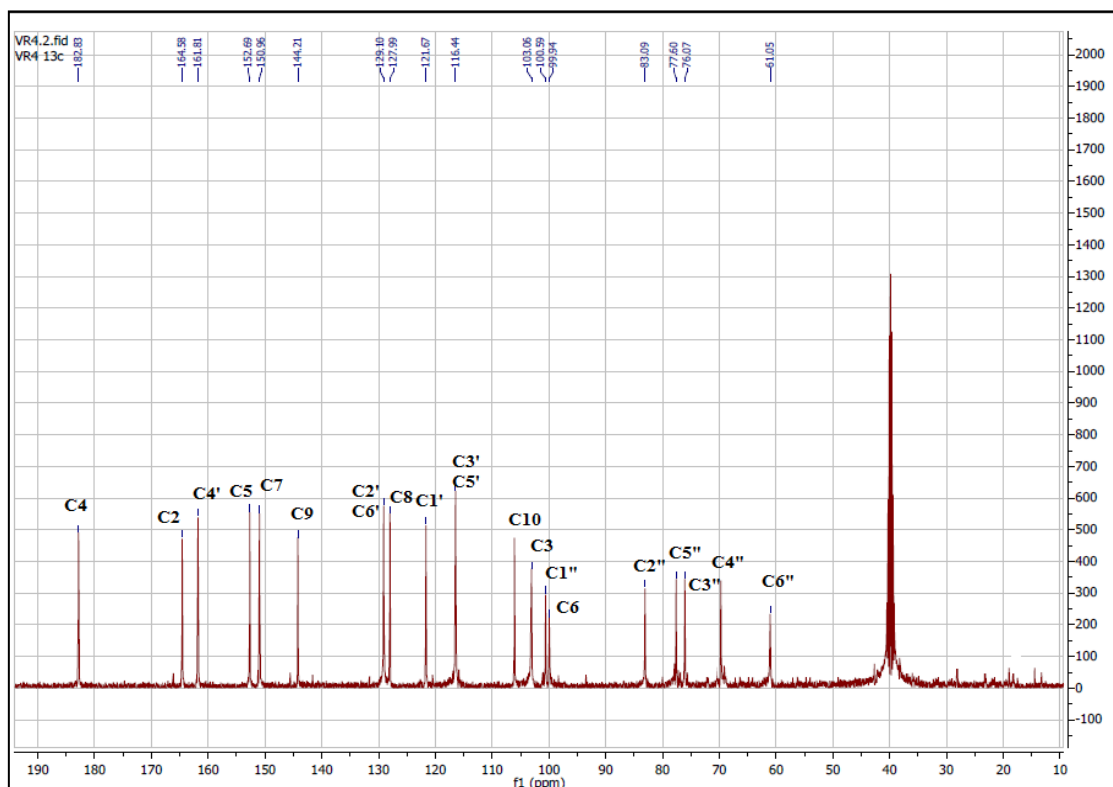


Figure III-19 Spectre RMN ^{13}C du composé VR2

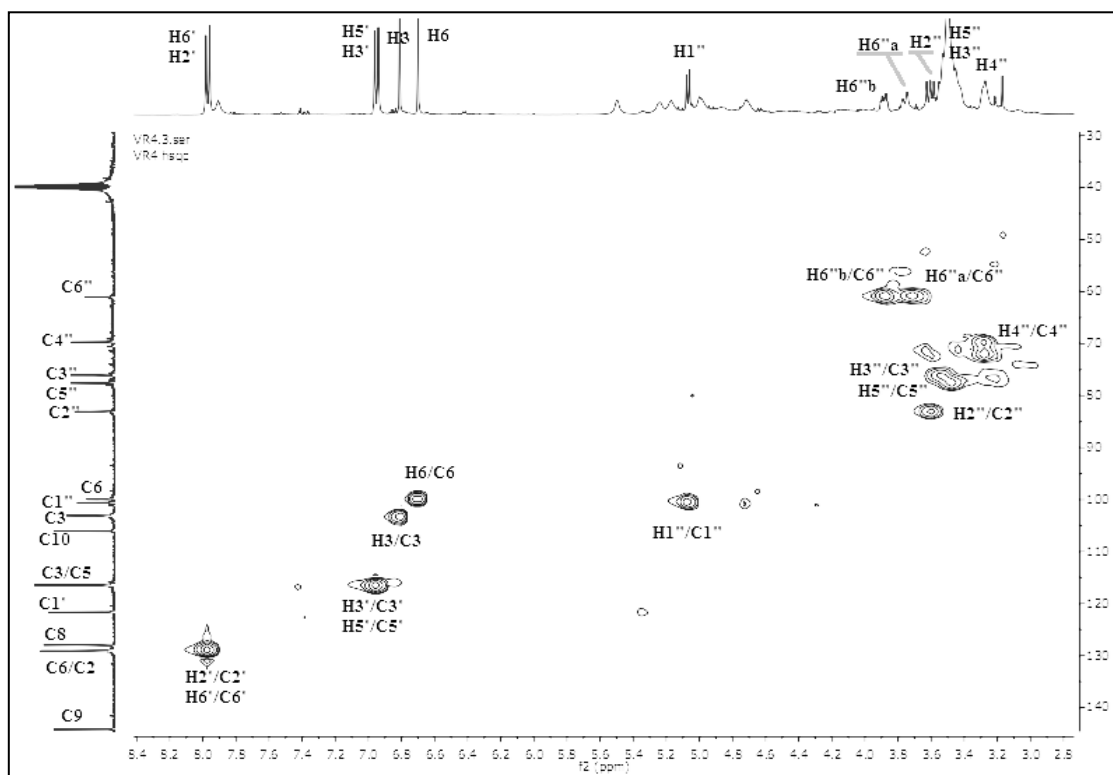


Figure III-20 Spectre HSQC du composé VR 2

L'expérience HMBC (**Figure-III-22**) permet de déterminer les positions précises des constituants du composé **VR2**, la tâche de corrélation correspondant au proton anomérique résonnant à δ_H 5,07 avec le signal à δ_C 150,96 du carbone C-7 de l'aglycone indiquant la glycosylation est en C-7. Ce spectre montre également des tâches de corrélation entre le proton H-6 et les carbones C-5 et C-7 et entre le proton H-3 le carbone C-2 et C=O.

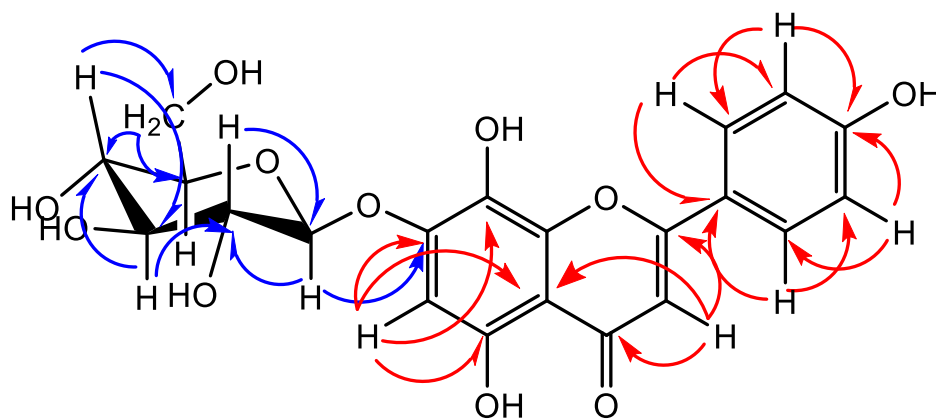
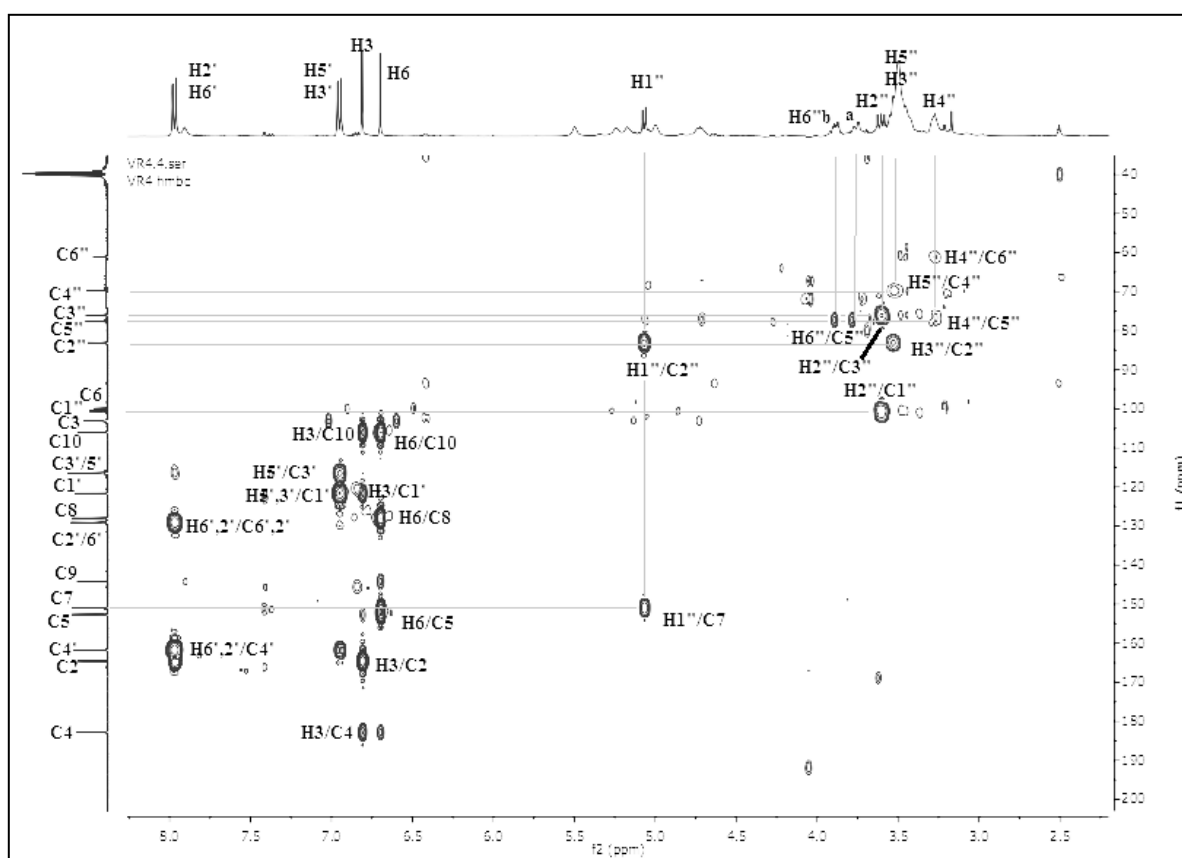


Figure III-21 Corrélations HMBC du composé VR2



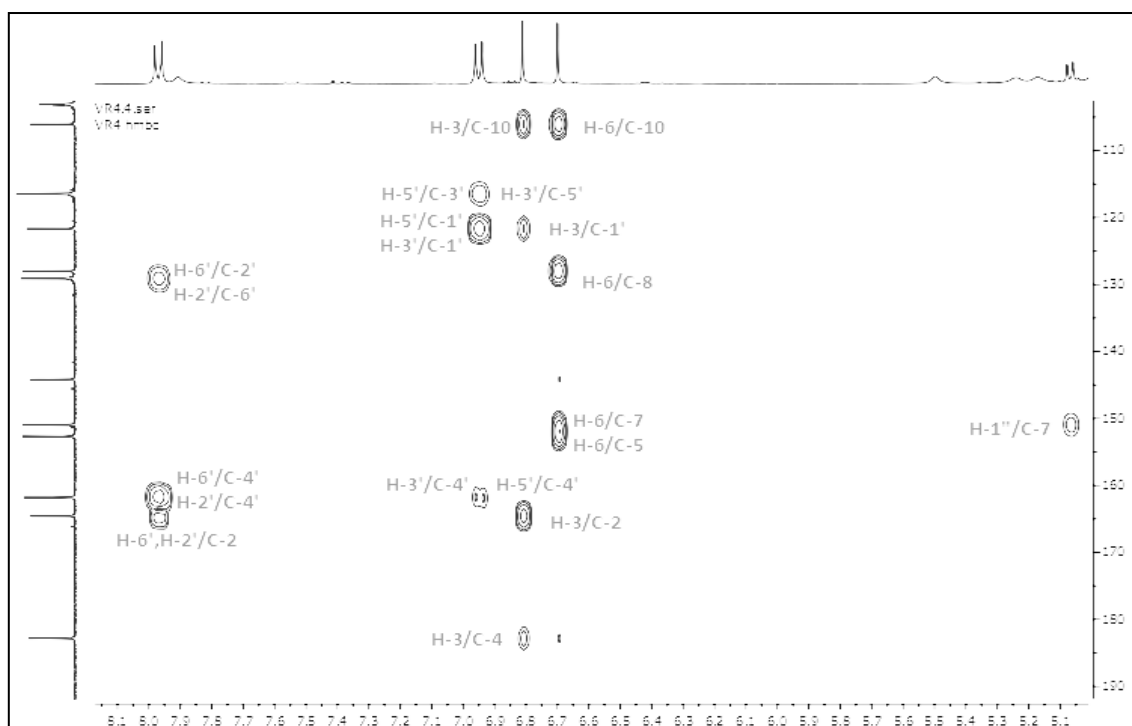


Figure III-2 Spectres HMBC du composé VR2

Toutes ces données spectroscopiques ainsi que la comparaison avec celles de la littérature [11], conduisent à l'identification du composé **VR2** l'isoscutellareine-7-O- β -D-glucopyranoside. Ce composé a déjà été isolé antérieurement de plusieurs espèces du genre *veronica* : *V. teucrium* L. et *V. jacquinii* [12, 13].

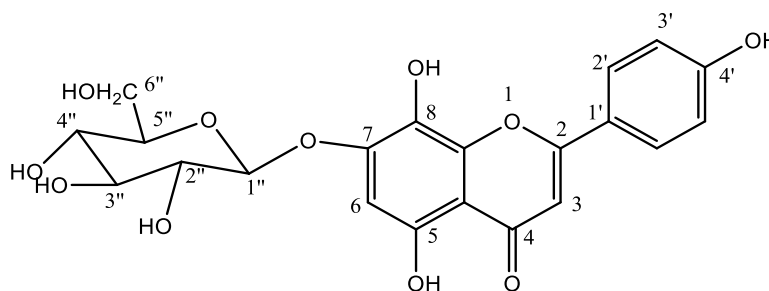
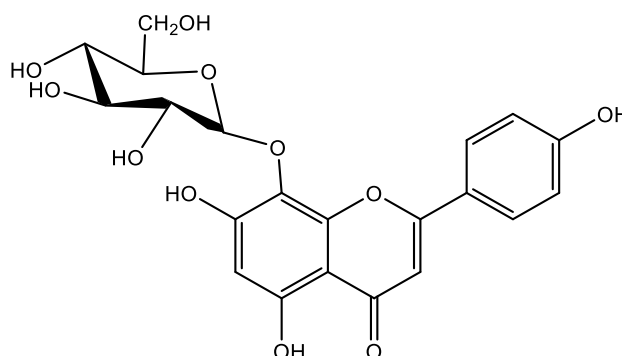


Tableau III-3 Déplacements chimiques RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé VR2 dans DMSO.

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), (m, J (Hz))
2	164,5	
3	103,0	6,81 (1H, s)
4	182,8	
5	152,6	
6	99,9	6,70 (1H, s)
7	150,9	

8	127,9	
9	144,2	
10	106,0	
1'	121,6	
2'	129,1	7,95(2H, d, $J = 8,8$)
3'	116,4	6,95(2H, d, $J = 9,6$)
4'	161,8	
5'	116,4	6,95(2H, d, $J = 9,6$)
6'	129,1	7,95(2H, d, $J = 8,8$)
1''	100,9	5,09 (1H, d, $J = 8,0$)
2''	83,1	3,60(1H, t, $J = 9,8$)
3''	76,1	3,48(m)
4''	69,4	3,27(m)
5''	77,6	3,52(m)
6''(a)	61,0	3,75(1H, dd, $J = 12,5, 4,0$)
(b)		3,88(1H, dd, $J = 12,5 ; 8,5$)

III-5-3 Elucidation de la structure du composé VR 3



Isoscutellareine-8-O - β -D-glucopyranoside

Le composé **VR 3** est isolé sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. La coloration jaune de ce composé sur CCM après révélation par chlorure d'aluminium suggère qu'il s'agit d'un flavonoïde.

L'examen des spectres RMN ^1H (**figure III-23**) et RMN ^{13}C (**figure III-25**) enregistrés dans le DMSO- d_6 du composé **VR3**, sont très voisins à ceux du composé **VR2** et semblables à ceux attendus pour une flavonoïde Isoscutellareine glycosylée que l'on peut identifier par la présence des signaux caractéristiques de ce squelette. On observe :

Deux doublets d'intégration 2H chacun à δ_{H} 6,93 ($J = 9$ Hz) et δ_{H} 8,14 ($J = 8,8$ Hz) attribuables aux protons (H-3'/H5') et (H-2'/H6') respectivement.

- Un singulet d'intégration 1H résonnant à δ_H 6,80 caractéristique au proton H-3
- Un autre singulet d'intégration 1H à δ_H 6,26. Ce proton corrèle sur le spectre HSQC (**figure III-24**) avec le carbone dont le signal apparaît à δ_C 99,4. Ce ci indique que ce proton ne peut être que H-6.

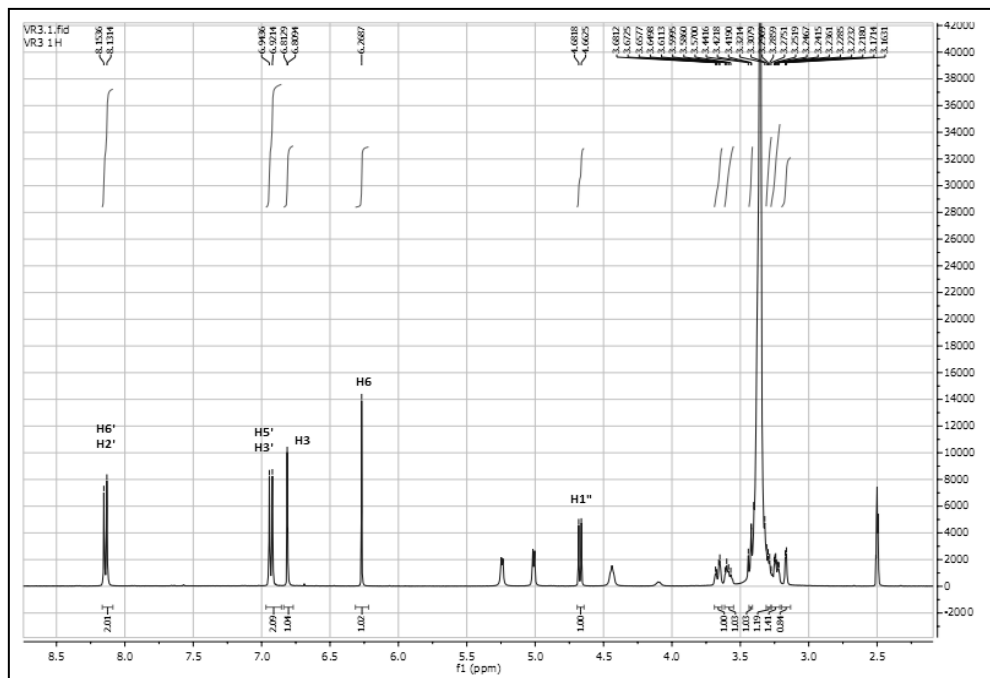


Figure III-23 Spectre RMN 1H du composé VR3

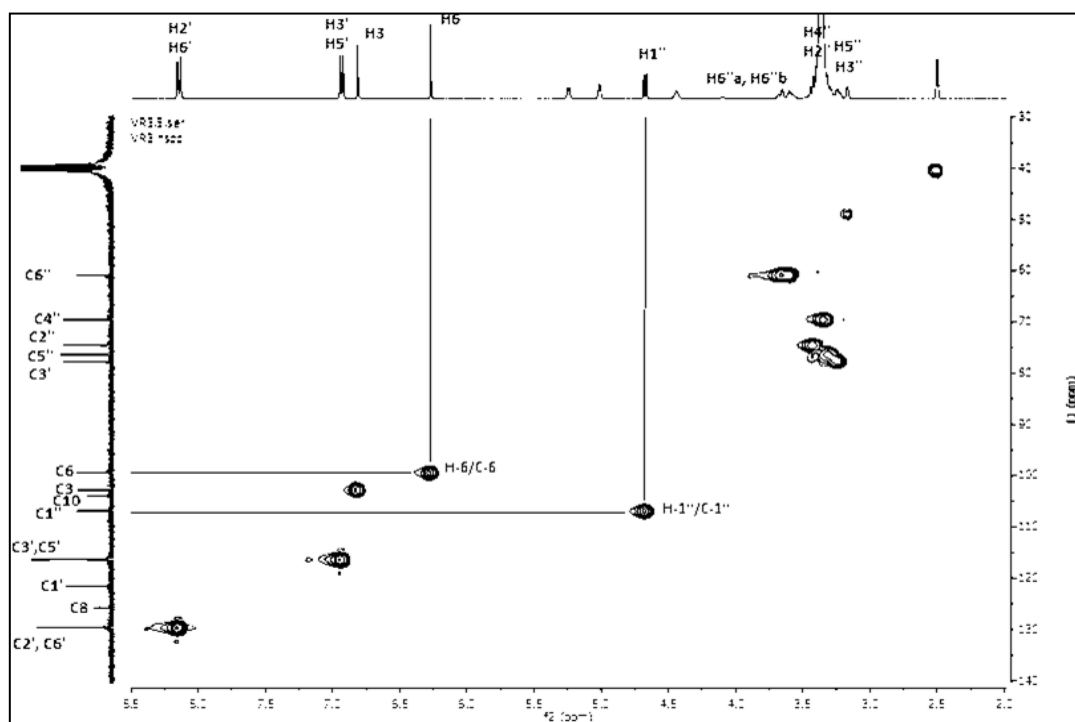


Figure III-24 Spectre HSQC du composé VR3

Le spectre RMN ^{13}C (**Figure III-25**) montre la présence de 21 atomes de carbone résonnant à δ_{C} 182,3 (C-4), 164,4 (C-2), 161,7 (C-4'), 157,7 (C-5), 157,5 (C-7), 149,8 (C-9), 129,6 (C-2'et C-6'), 125,7(C-8), 121,5 (C-1'), 116,2(C-3'et C-5'),99,4 (C-6),103,9(C-10), 102,8(C-3), 106,9 (C-1'') 77,7(C-3''), 76,4(C-5''), 74,5(C-2''), 69,5(C-4''), 60,9(C-6'').

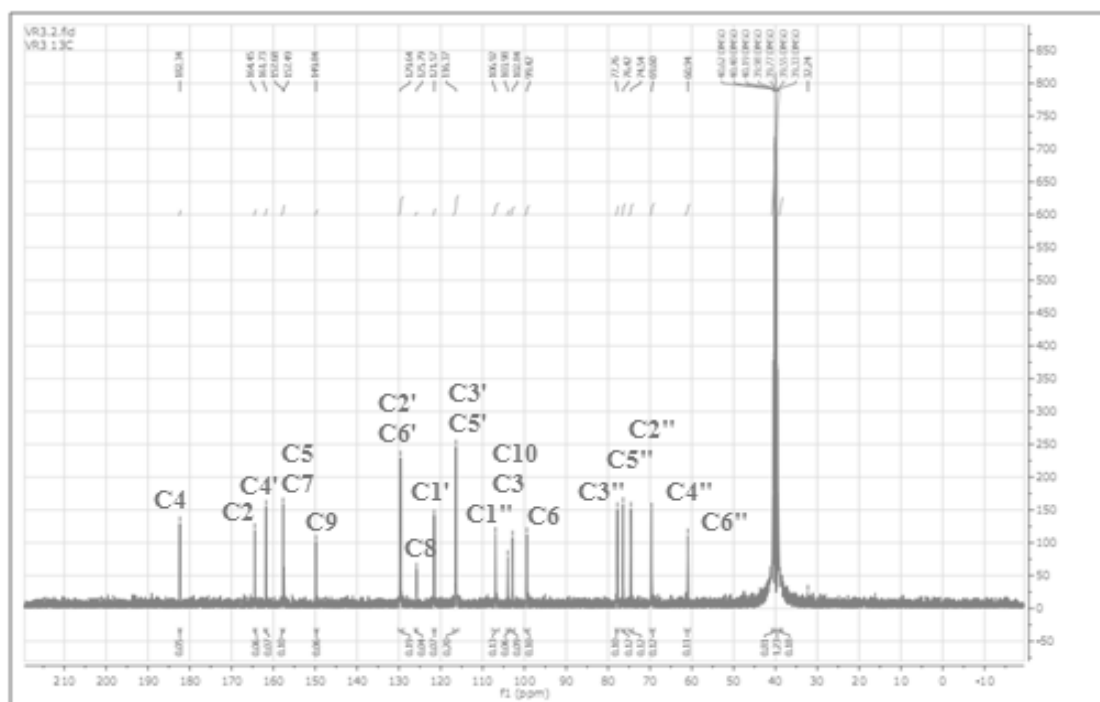


Figure III-25 Spectre RMN ^{13}C du composé VR3

En plus, le spectre RMN ^1H étalé (**Figure III-26**) permet de visualiser :

➤ Un proton anomérique à δ_{H} 4,67 ($J = 7,7$ Hz), la grande constante de couplage suggère une liaison de configuration β .

- Un signal sous forme de triplet à δ_{H} 3,42 (t, $J= 8$ Hz) correspondant au proton H-2''.
- Un autre triplet d'intégration 1H à δ_{H} 3,32(t, $J= 8,1$ Hz) correspondant au proton H- 3''
- Un doublet de doublet à δ_{H} 3,67 (dd, $J= 12,0, 4,0$ Hz) attribuable au proton H-6''a
- Un autre double de doublet à δ_{H} 3,59 (dd, $J= 12,0, 8,0$ Hz) attribuable au proton H-6''b
- Un massif d'intégration de 2 H à δ_{H} 3,25 attribuable aux protons H-4''et H-5''

Les grandes valeurs des constantes de couplage et les déplacements chimiques des protons osidiques sont caractéristique d'un glucose [14].

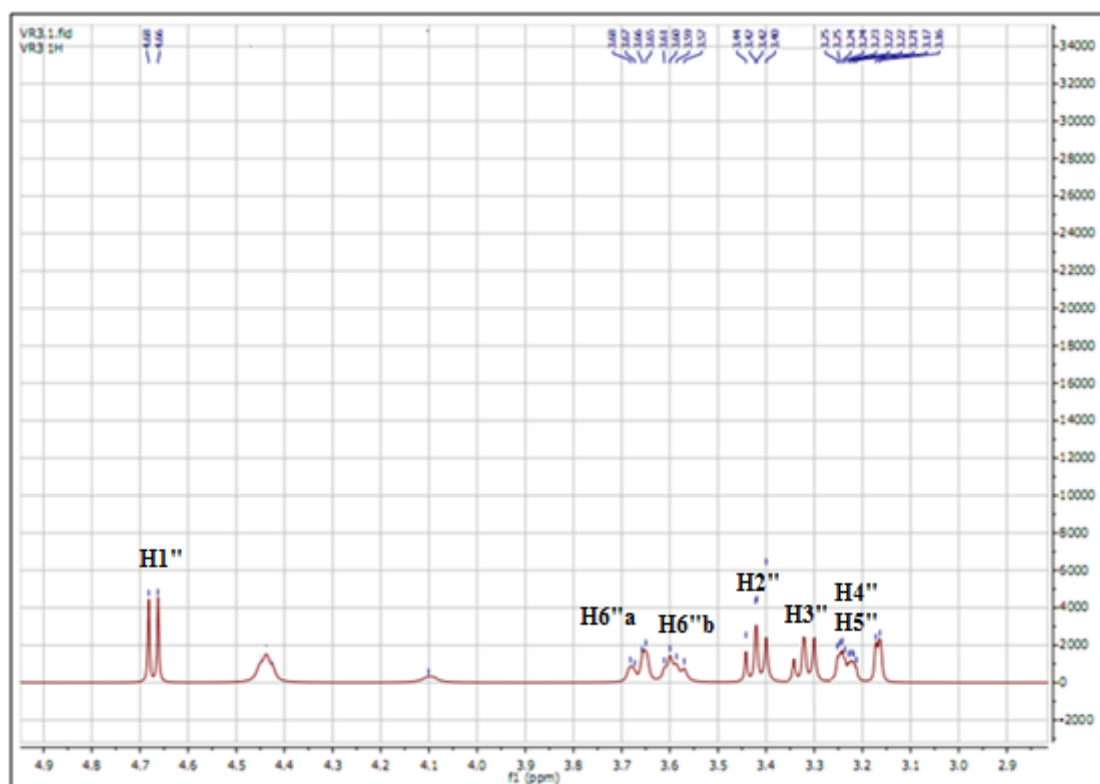


Figure III-26 Spectre RMN ^1H du composé VR3 (partie osidique)

Le spectre HSQC (figure III-24) permet de localiser les carbones osidiques δ_{C} 106,9 (C-1''), δ_{C} 74,5 (C-2''), δ_{C} 77,7 (C-3''), δ_{C} 69,7 (C-4''), δ_{C} 76,4 (C-5'') et δ_{C} 60,9 (C-6''). Les déplacements chimiques des protons et des carbones de cet hexose sont caractéristiques d'un β -D-glucose [14].

Le point de branchement du glucose sur la genine est localisé en position C-8 suite aux corrélations visualisées sur le spectre HMBC (figures III-28) entre le proton anomérique du glucose à δ_{H} 4,67 et le carbone résonant à δ_{C} 125,79. Ce dernier carbone corrèle avec le proton H-6, ce qui indique que ce carbone ne pouvant être que le carbone C-8.

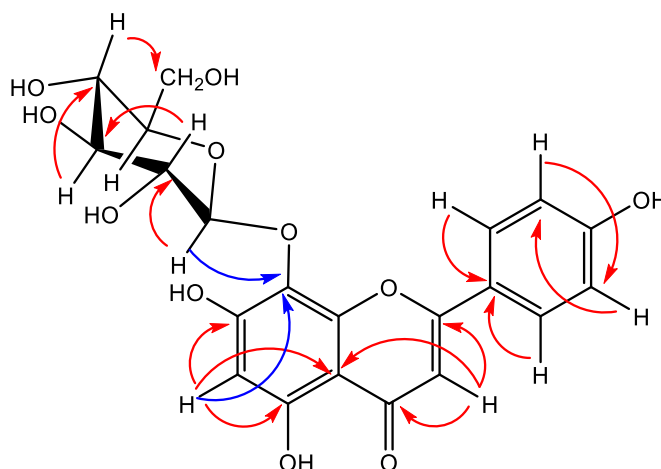


Figure III- 27 Corrélations HMBC du composé VR3

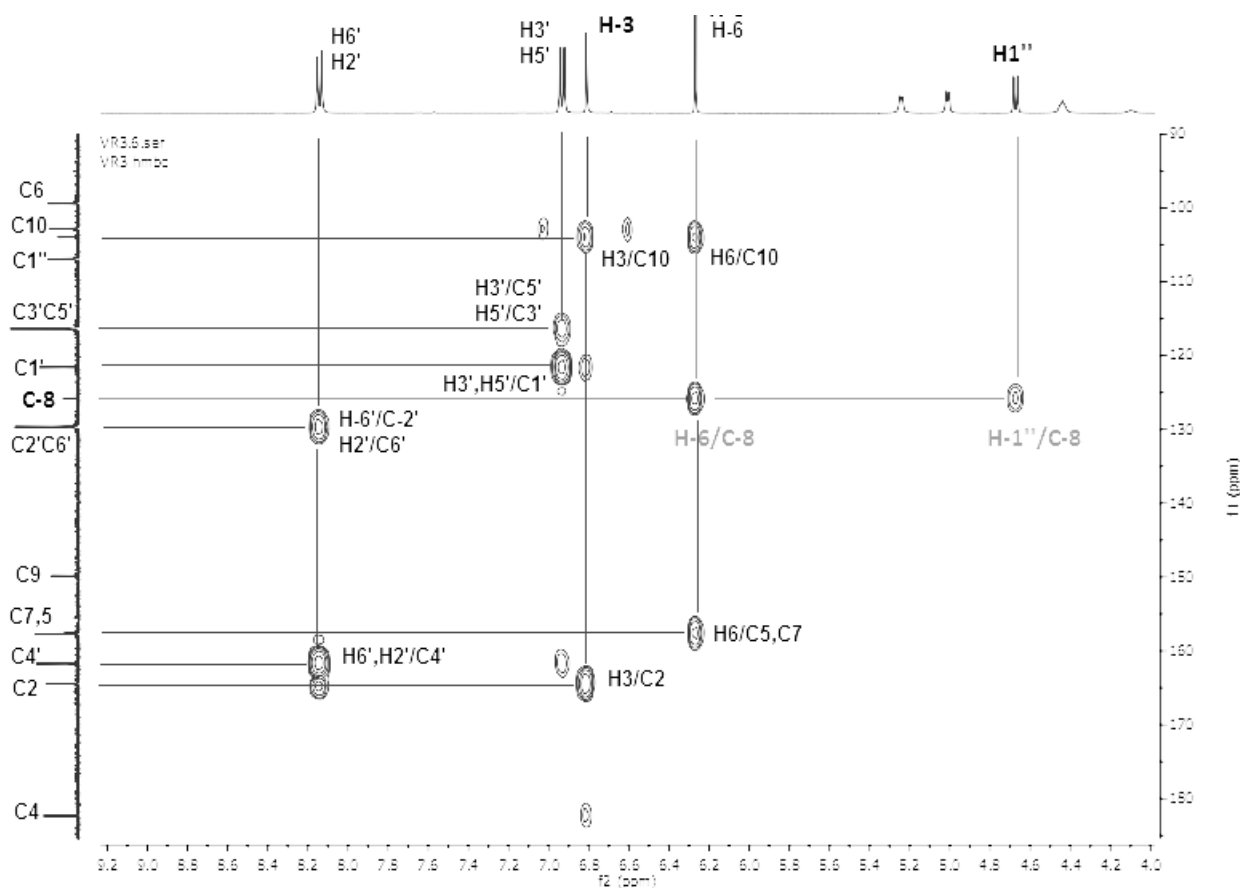


Figure III-28 Spectre HMBC du composé VR3

Sur la base de cette analyse et par comparaison avec les données de la littérature [15,16], le composé **VR3** est identifié comme étant l'isoscutellareine-8-O- β -D-glucopyranoside. Il a été isolé antérieurement de l'espèce *Pistaciaterbinthus* [17] et de l'espèce *L. multifida* [18,19]. Ce composé est caractérisé pour la première fois dans le genre *Veronica*.

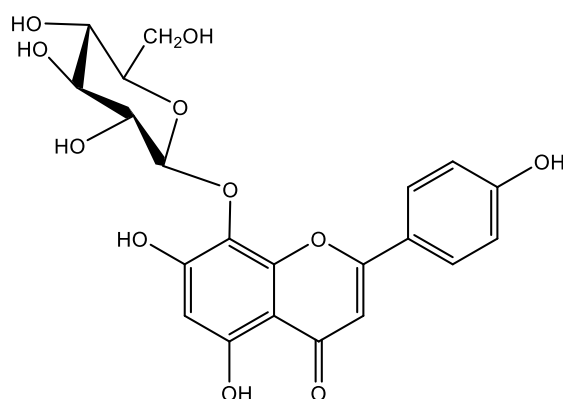
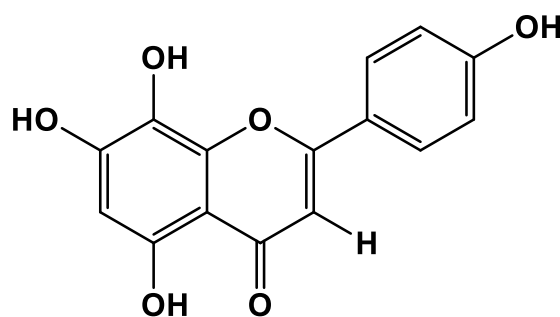


Tableau III-4. Déplacements chimiques RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C 9125 MHz) du composé VR3 dans DMSO.

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), (<i>m</i> , <i>J</i> (Hz))
2	164,4	
3	102,8	6,80 (1H, s)
4	182,3	
5	157,7	
6	99,4	6,26 (1H, s)
7	157,5	
8	125,7	
9	149,8	
10	103,9	
1'	125,7	
2'	129,6	8,14 (2H, d, <i>J</i> = 8,8)
3'	116,8	6,93 (2H, d, <i>J</i> = 9)
4'	161,7	
5'	116,8	6,93 (2H, d, <i>J</i> = 9)
6'	129,6	8,14 (2H, d, <i>J</i> = 8,8)
1''	106,9	4,67 (1H, d, <i>J</i> = 7,7)
2''	74,5	3,42 (1H, t, <i>J</i> = 8,0)
3''	77,7	3,32 (1H, t, <i>J</i> = 8,1)
4''	69,6	3,25 (1H, m)
5''	76,4	3,25 (1H, m)
6''(a)	60,9	3,67 (1H, dd <i>J</i> = 12,0 ; 4,0)
(b)		3.58 (1H, dd, <i>J</i> = 12 ; 8,0)

III-5-4 Elucidation de la structure du composé VR 4



Isoscutellareine

Ce composé se présente sous forme d'une poudre jaunâtre visible sous la lumière UV. Il donne une coloration jaune après révélation par une solution de chlorure d'aluminium et chauffage à 100 °C. Ceci traduit une nature flavonoïdique pour ce composé.

Le spectre de masse (**Figure III-29**) obtenu en mode négatif par électrospray ESI montre un pic d'ion pseudo moléculaire à m/z 285,172 [M-H]⁻, soit une masse moléculaire de 286 uma correspondant à une formule brute en C₁₅H₁₀O₆.

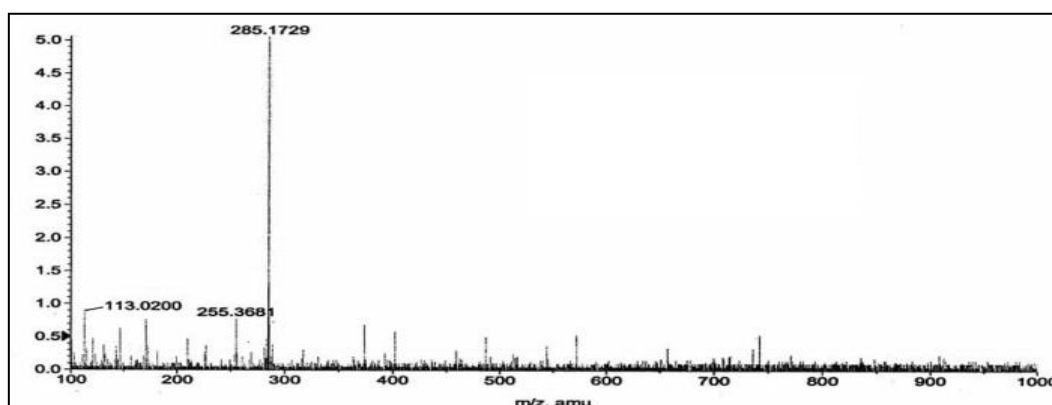


Figure III-29 Spectre de masse du composé VR4

Le spectre RMN ¹H (**Figure III-30**) du composé **VR4** confirme sa nature flavonoïdique par les signaux déblindés qu'il exhibe dans la région s'étalant de 6,5 jusqu'à 7,88 ppm. Il présente une grande similitude dans cette zone avec celle des composés **VR1**, **VR2** et **VR3** et montre facilement les signaux caractéristiques du noyau isoscutellareine que l'on peut identifier comme suit :

- Deux signaux d'intégration 2H résonant chacun sous forme de doublet à δ_H 7,88 et δ_H 6,91 ($J = 10,0$ Hz), sont attribués respectivement aux protons (H-2'/H-6') et (H-3'/H-5') du noyau B oxygéné en position para.
- Un signal sous forme de singlet à δ_H 6,59 caractéristique au proton H3.
- Un autre singlet à δ_H 6,75 d'intégration un proton attribuable au proton H6.

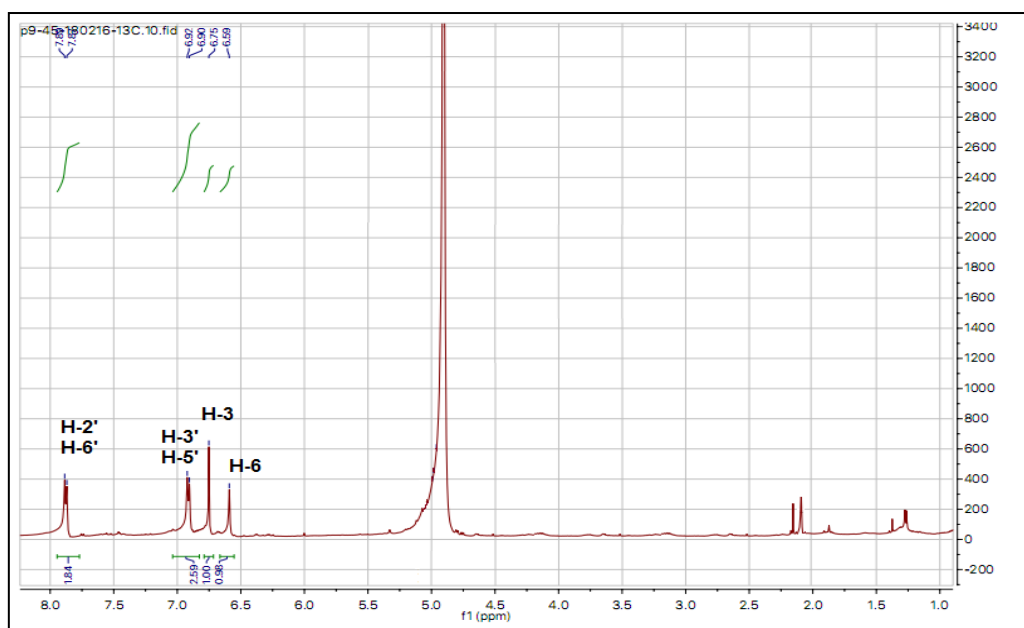


Figure III-30 Spectre RMN ^1H du composé VR4

L'analyse conjuguée des spectres RMN ^{13}C et HSQC (Figures III-31 et III-32) a permis de reconnaître tous les carbones du composé VR4. Ces carbones, au nombre de 15, sont identifiés comme suit: $\delta_{\text{C}}183,0(\text{C-4})$ $\delta_{\text{C}}165,1(\text{C-2})$; $\delta_{\text{C}}161,5(\text{C-4}')$; $\delta_{\text{C}}152,5(\text{C-7})$; $\delta_{\text{C}}150,4(\text{C-5})$; $\delta_{\text{C}}143,7(\text{C-9})$; $128,4(\text{C-2}'\text{ et C-6}')$; $128,2(\text{C-8})$; $121,6(\text{C-1}')$; $115,6$ (C-3' et C-5'); $106,2(\text{C-10})$; $102,8$ (C-3); $100,2(\text{C-6})$.

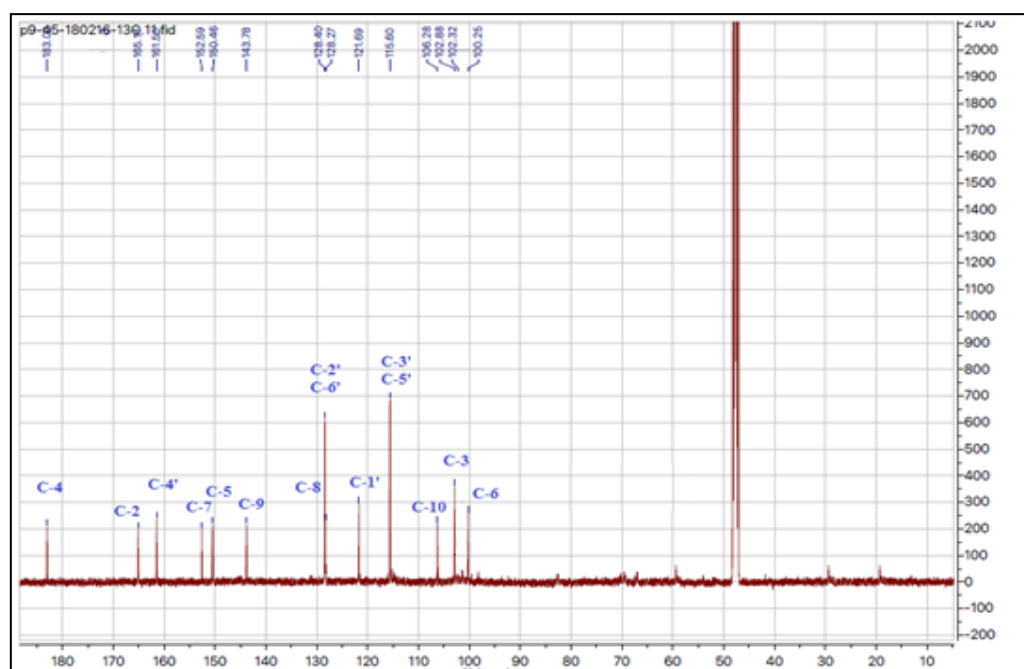


Figure III-31 Spectre RMN ^{13}C du composé VR4

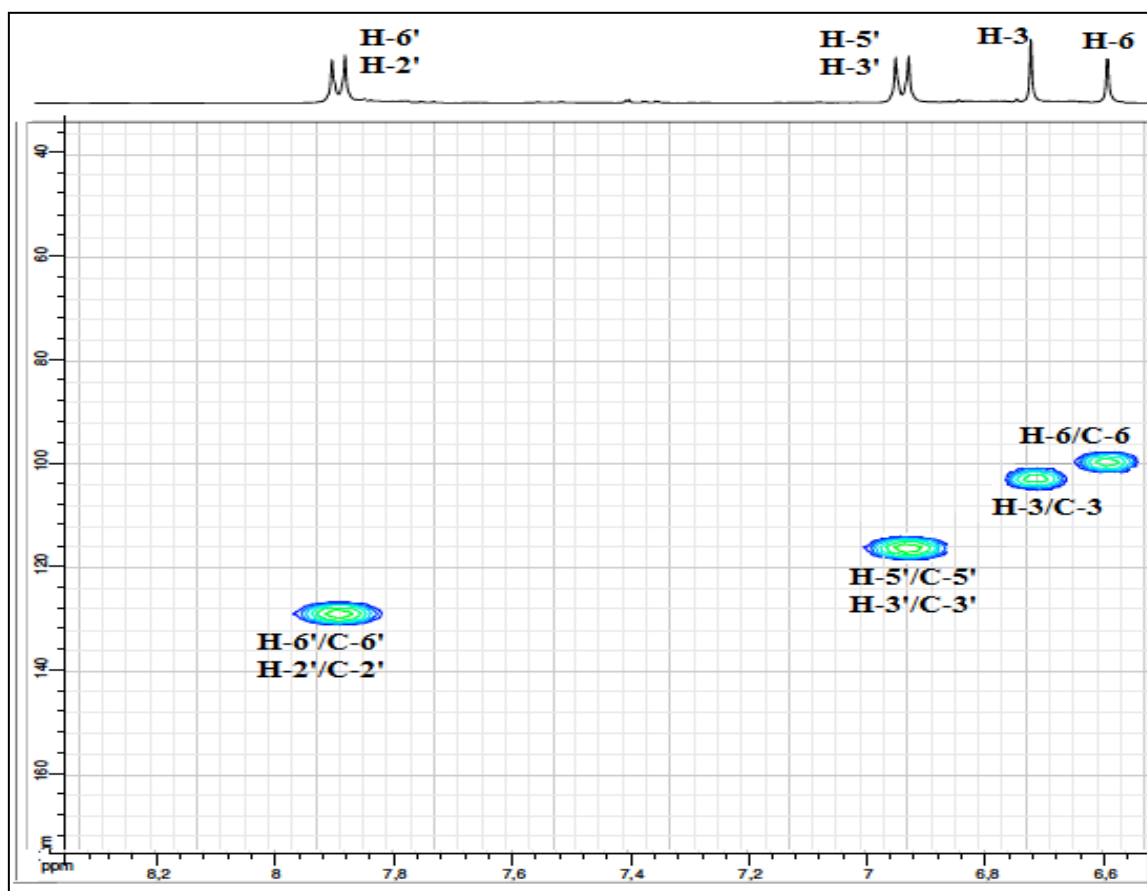
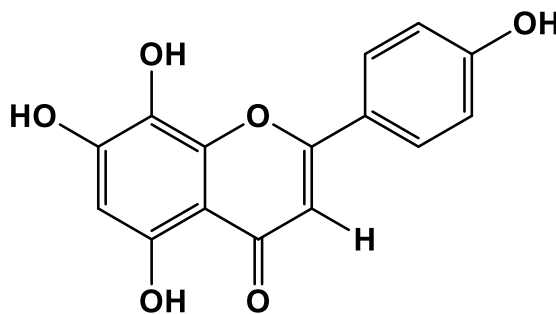


Figure III-32 Spectre HSQC du composé VR4

Toutes ces données spectroscopiques confirment bien que ce composé correspond au 5,7,8,4'-tétrahydroxyflavone [20, 21] connu sous le nom Isoscutellareine. Ce composé qui a été isolé antérieurement de l'espèce *pinguicula vulgaris* [13], et identifié pour la première fois dans le genre *Veronica*.

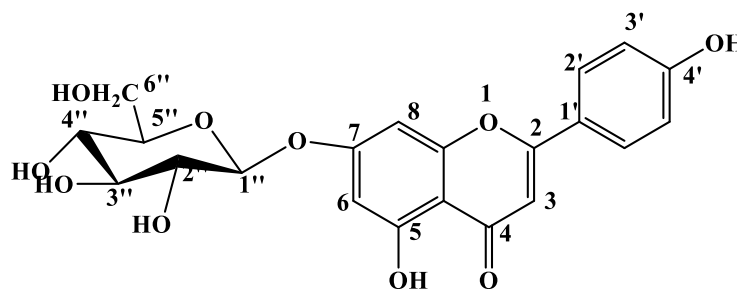


Isoscutellareine

Tableau III-5 Déplacements chimiques RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé VR4 dans CD3OD.

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), (<i>m</i> , <i>J</i> (Hz))
2	165,1	
3	102,8	6,75 (1H, s)
4	183,0	
5	150,4	
6	100,2	6,59 (1H, s)
7	152,5	
8	128,2	
9	143,7	
10	106,2	
1'	121,6	
2'	128,4	7,88 (2H, d, <i>J</i> = 10Hz)
3'	115,6	6,91 (2H, d, <i>J</i> = 10Hz)
4'	161,5	
5'	115,6	6,91(2H, d, <i>J</i> =10Hz)
6'	128,4	7,88 (2H, d, <i>J</i> =10Hz)

III-5-5 Elucidation de la structure du composé VR5



Apigenin-7-O- β -glucopyranoside

Le composé **VR5** se présente sous forme d'une poudre blanche. Il présente sur CCM une tâche visible à la lumière UV à 254 et 366 nm et se colore en jaune après révélation par une solution de chlorure d'aluminium et chauffage à 100°C.

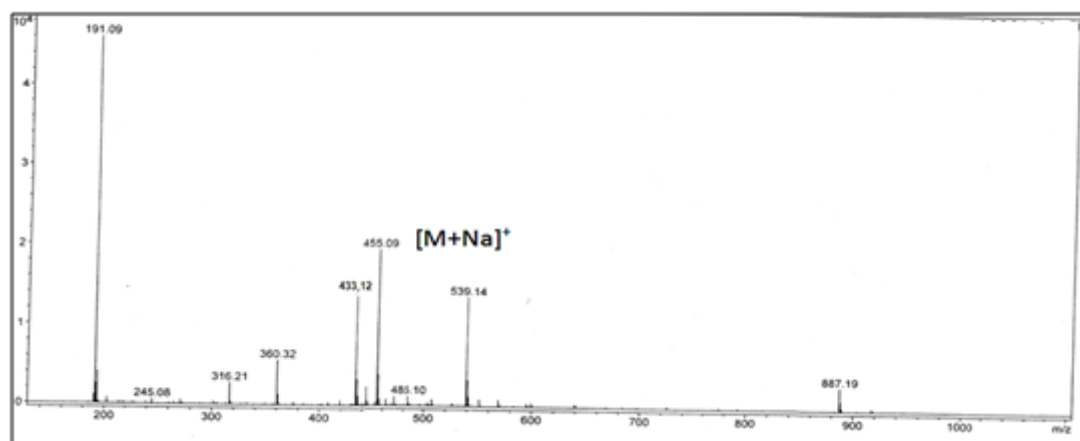


Figure III-33 Spectre de masse ESI-MS du composé VR5

Le spectre de masse obtenu en mode positif révèle la présence des pics d'ions pseudo-moléculaires $[M+Na]^+$ à $m/z = 455,09$; $[M+H]^+$ à $m/z = 433,12$ soit une masse moléculaire égale à 432 uma correspondant à un squelette carboné d'une formule brute en $C_{21}H_{20}O_{10}$.

La détermination de la structure du composé **VR5** est basée principalement sur l'examen des spectres RMN 1H et ^{13}C et la comparaison avec les données de la littérature. En effet l'analyse du spectre RMN 1H (**Figure III-34**) montre clairement les signaux caractéristiques d'une flavone glycosylée de type apigénine. Ce spectre permet de déterminer les signaux des protons suivants :

- Deux doublets à $\delta_H 7,86$ ($J = 9,0$ Hz) et à $\delta_H 6,91$ ($J = 7,5$ Hz) d'intégration 2H chacun, attribuables aux protons (H-2', H-6') et (H-3', H-5') respectivement du noyau B oxygéné en position 4'.
- Un signal à $\delta_H 6,80$ ppm sous forme d'un singulet d'intégration 1H attribuable au proton H-3.
- Deux singulets d'intégration 1H chacun à $\delta_H 6,63$ et à $\delta_H 6,47$ correspondant aux protons H-8 et H-6 du cycle A respectivement.
- Un signal sous forme de doublet large à 3,93 ppm (dl, $J=13,0$ Hz) attribuable au proton H-6b''
- Un doublet de doublet résonant à 3,72 ppm (dd, $J= 6,0, 12,5$ Hz) correspondant au proton H-6a''
- Un ensemble de multiplets dans l'intervalle 3,2- 3,7 ppm, ainsi un doublet à 5,06 ppm ($J = 7,3$ Hz) d'intégration 1H attribuable au proton anomérique H-1'' du sucre en

l'occurrence le glucose. La valeur de la constante de couplage ($J = 7,3$ Hz) indique qu'il est de configuration β .

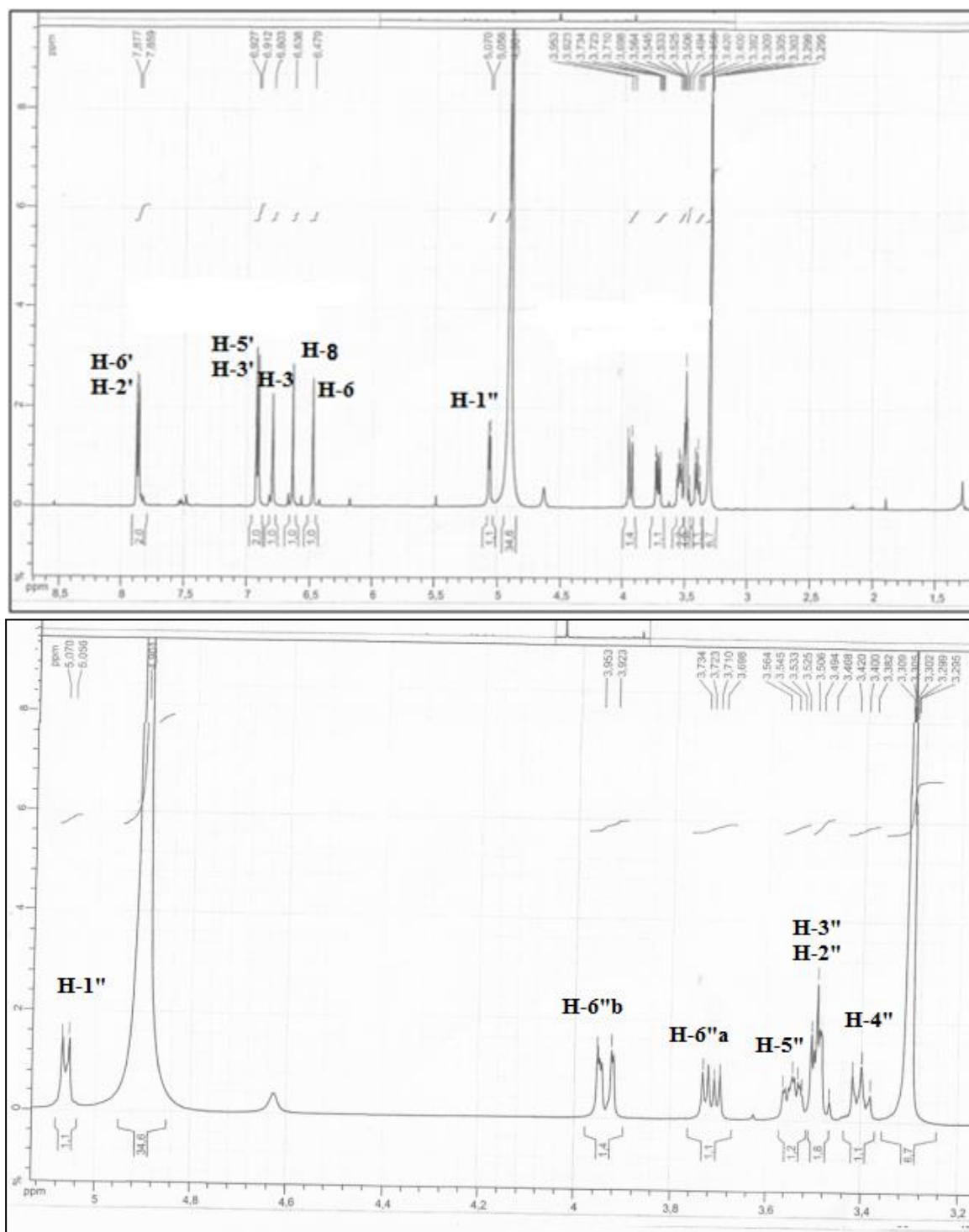


Figure III-34 Spectre RMN ^1H du composé VR5

Le spectre RMN ^{13}C (Figure III-35) du composé VR 5 présente 21 signaux distincts dont quinze correspondent aux signaux du noyau apigénine, et les six signaux restants sur le

spectre appartient au glucose [22]. Ce spectre confirme les données des analyses précédentes par la présence de :

- Un signal à 182,0 ppm attribuable au carbone du groupement carbonyle C-4.
- Un signal à 99,5 ppm ppm caractéristique du carbone anomérique confirmant ainsi la jonction *O*-glucoside.
- Les signaux à ($\delta = 72,6, 75,7, 69,1, 76,3$ et $60,3$ ppm pour C-2,' C-3'', C-4'', C-5'' et C-6'') caractéristiques d'un glucopyranoside.
- Sept groupements CH résonant à $\delta_c 102,0$ (C-3), 99,1 (C-6), 93,9 (C-8), 127,5 (C-2'/C-6') et $\delta_c 114,9$ (C-3'/C-5')
- Huit carbones quaternaires résonant à $\delta_c 164,6$ (C-2), 182,0 (C-4), 160,8(C-5), 161,0 (C-7), 156,8 (C-9), 104,9 (C-10), 120,9 (C-1') et $\delta_c 162,7$ (C-4').

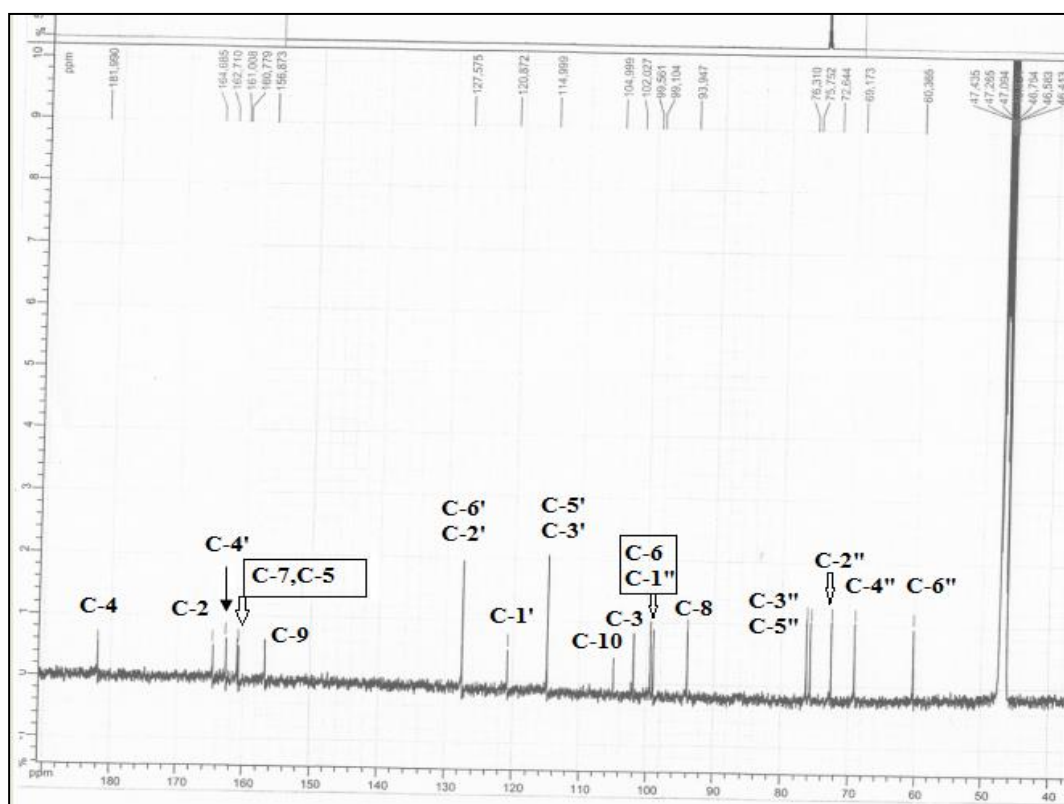


Figure III- 35 Spectre RMN ^{13}C du composé VR5

L'ensemble de ces données spectrales ainsi que la comparaison avec les données de la littérature, nous permettent d'attribuer au composé **VR5** la structure suivante: l'apigenin-7-*O* glucopyranoside (5,4'-dihydroxyflavone-7-*O*- β -D-glucoside). Ce composé a été

antérieurement isolé des espèces du genre *Veronica*, telles que *V. Linariifolia*, *V. Montana*, *V. Polita*, *V. Spuria* [23], *V. teucrium* [24] et *V. jacquinii* [12].

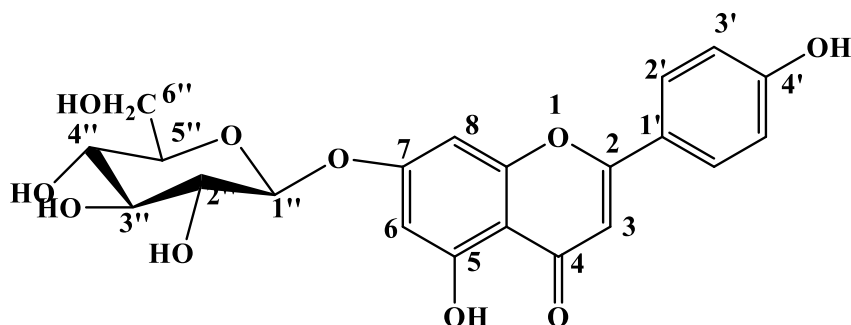
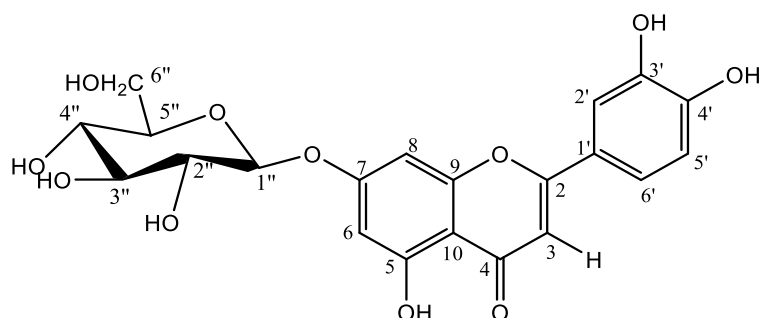


Tableau III-6 Déplacements chimiques RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé VR5 dans CD_3OD .

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), (<i>m</i> , <i>J</i> (Hz))
2	164,6	
3	102,0	6,80(1H,s)
4	182,0	
5	160,8	
6	99,1	6,47(1H,s)
7	161,0	
8	93,9	6,63(1H,s)
9	156,8	
10	104,9	
1'	120,9	
2'	127,5	7,86(2H, d, <i>J</i> = 9,0)
3'	114,9	6,91 (2H, d, <i>J</i> = 7,5)
4'	162,7	
5'	114,9	6,91 (2H, d, <i>J</i> = 7,5)
6'	127,5	7,86 (2H, d, <i>J</i> = 9,0)
1''	99,5	5,06 (1H, d, <i>J</i> = 7,3)
2''	72,6	3,50 (1H,m)
3''	75,7	3,50 (1H,m)
4''	69,1	3,40 (1H, t, <i>J</i> = 10)
5''	76,3	3,56 (1H, t, <i>J</i> = 9,5)
6''(a)	60,3	3,72 (1H,dd, <i>J</i> = 6,0, 12,5)
(b)		3,93 (1H, dl, <i>J</i> = 13,0)

III -5-6 Caractérisation du composé VR6



Lutéoline-7-O-Glucoside

Le composé **VR6** est purifié sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol, il réagit avec le chlorure d'aluminium et donne une tache jaune après chauffage. Ce composé montre une fluorescence noire violette laissant envisager une structure de type flavone.

Le spectre de masse du composé **VR6** (**Figure III-36**) obtenu en mode positif donne un ion pseudo moléculaire $[M+Na]^+$ à $m/z= 471$ soit une masse moléculaire de 448 uma, correspondant à une formule brute $C_{21}H_{20}O_{11}$.

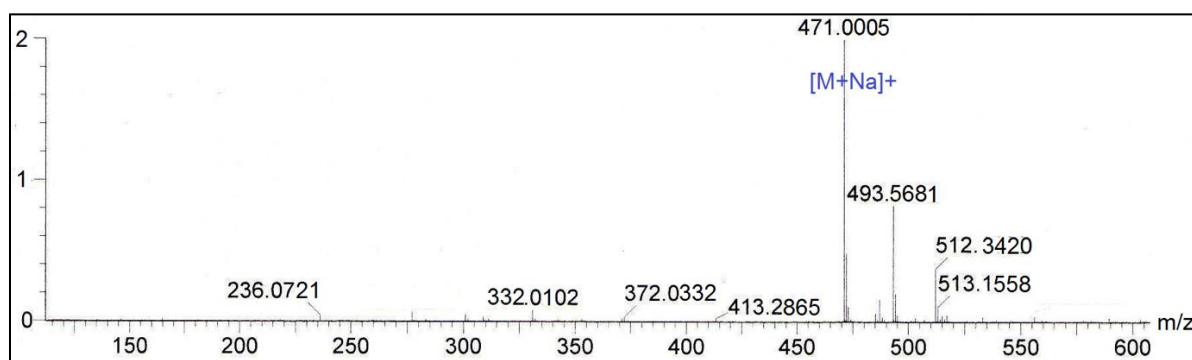


Figure III-36 Spectre de masse ESI-MS du composé VR6

Son spectre UV (**Figure III-37**) enregistré dans le méthanol montre deux maxima d'absorption: la bande **I** vers 348 nm correspondant au cycle B et la bande **II** vers 256 nm correspondant au cycle A.

➤ L'addition d' $AlCl_3$ provoque un déplacement bathochromique de $\Delta\lambda = + 48$ nm pour la bande **II**. Ce déplacement traduit la présence d'une fonction OH en C-5 du cycle A.

➤ L'ajout de NaOH donne un déplacement bathochrome $\Delta\lambda = + 53$ nm de la bande **I**, ce qui signifie la présence d'un OH libre en position 4'

➤ L'addition de NaOAc ne provoque pas de déplacement bathochrome de la bande **II**. Ceci indique la substitution du groupement hydroxyle en position 7.

➤ L'ajout de H₃BO₃ à NaOAc donne un déplacement bathochromique de la bande **I** $\Delta\lambda = 20$ nm par rapport au spectre enregistré dans le MeOH. Ce déplacement révèle la présence de deux groupement OH en position ortho 3', 4' sur le cycle B.

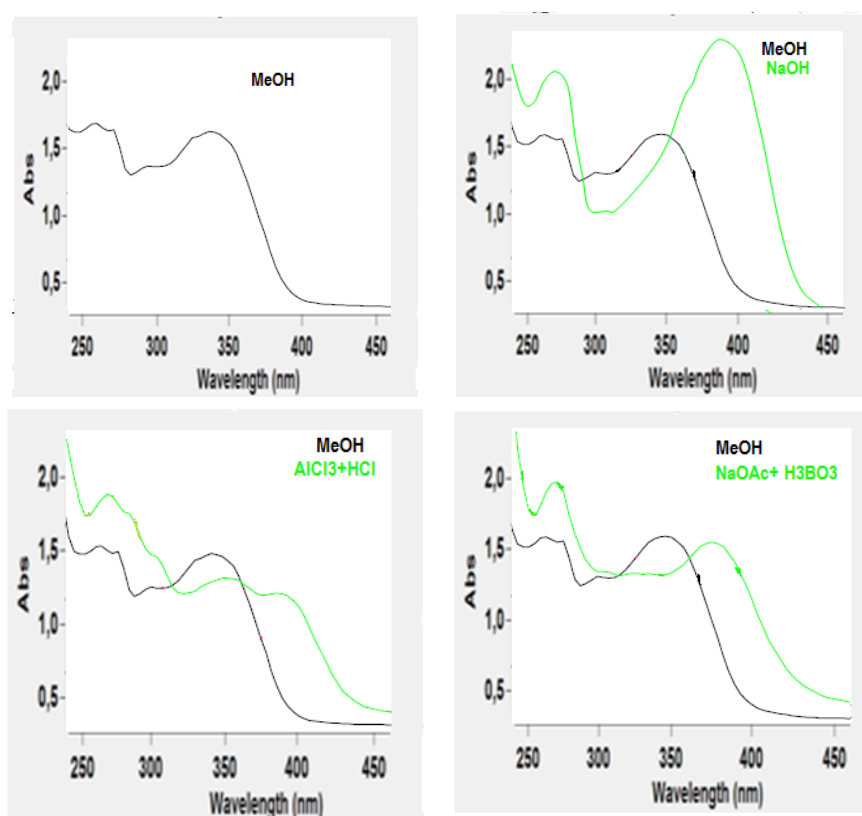


Figure III-37 Spectre UV du composé VR6

L'analyse des données de la série spectrale UV permet de suggérer une structure partielle lutéoline pour le composé **VR6** (Figure III-38).

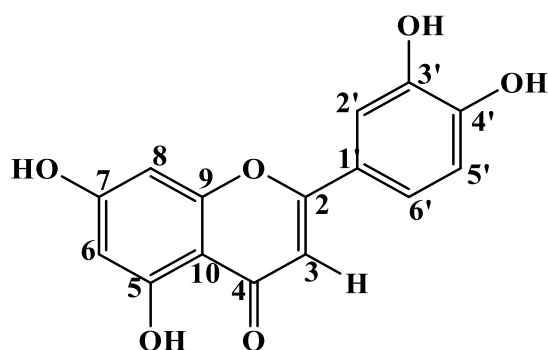


Figure III-38 Structure lutéoline

L'étude des spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **VR6** enregistré dans le méthanol (MeOD) (**Figure III-39, III-40**) montrent la présence des signaux caractéristiques d'une flavone osidique de type lutéoline reconnaissable par :

- Deux signaux singulets s'intégrant chacun pour un proton à 6,49 et 6,79 ppm attribuables aux protons (H-6) et (H-8) respectivement.
- Un signal à δ_{H} 6,60 d'intégration 1H sous forme d'un singlet correspondant au proton H-3.
- Un signal doublet d'intégration 1H repéré à 6,90 ppm ($J = 9,0$ Hz) attribuable au proton H-5'.
- Un signal sous forme d'un massif à 7,40 ppm d'intégration 2H est attribué aux protons H-2' et H-6'.

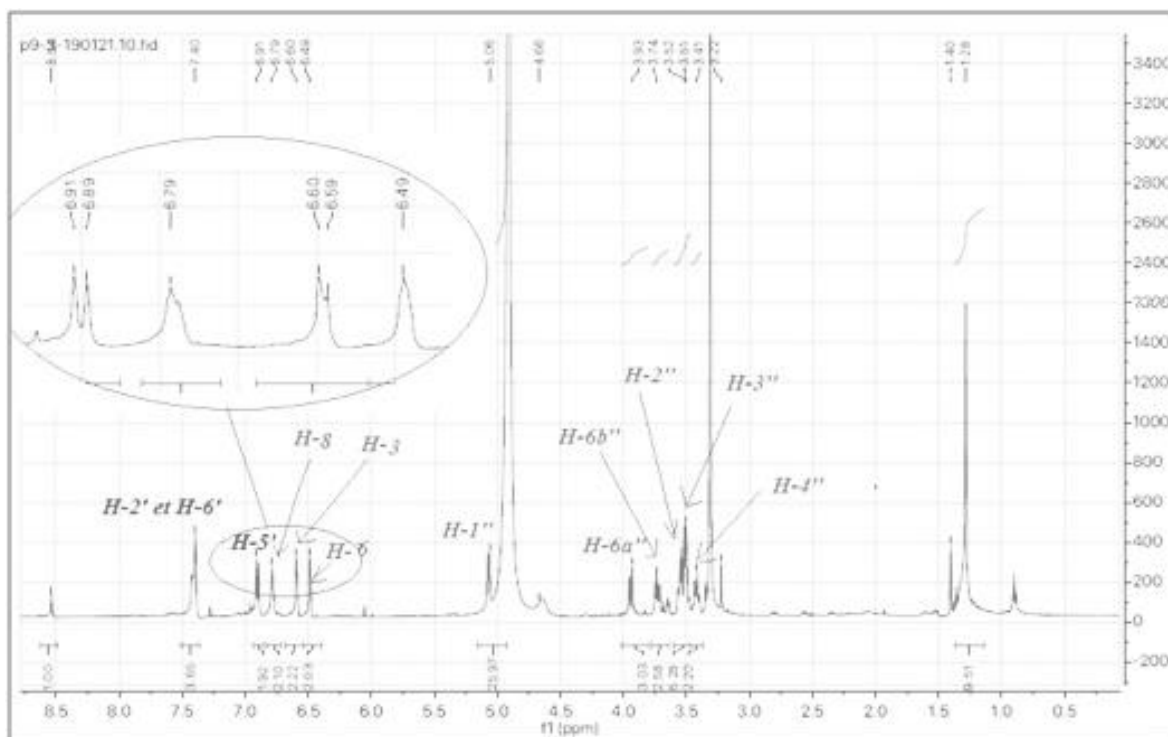


Figure III-39 Spectre RMN ^1H du composé VR6

Le spectre RMN ^{13}C du composé **VR6** (**Figure III-40**) montre clairement les déplacements chimiques des carbones caractéristiques du noyau lutéoline résonant à : δ_{C} 182,6 (C-4), 165,4 (C-2), 163,3 (C-7), 161,4 (C-5), 157,5 (C-9), 149,4 (C-4'), 145,6 (C-3'), 122,0 (C-1'), 119,1 (C-6'), 115,3 (C-5'), 112,8 (C-2'), 105,6 (C-10), 102,7 (C-3), 99,7 (C-6), 94,6 (C-8).

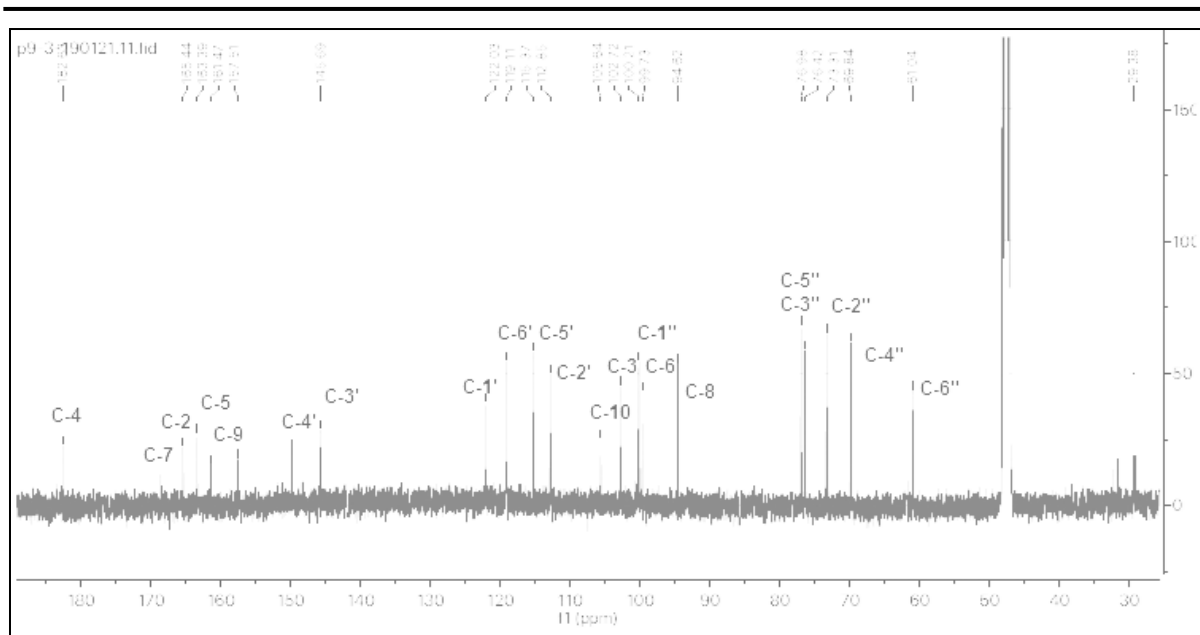


Figure III-40 Spectre RMN ^{13}C du composé VR6

Pour la partie osidique, le spectre RMN ^1H étalé (**Figure III-41**) de ce composé, montre la présence de plusieurs signaux d'intégration 6H dans la zone allant de 3,35 à 3,97 ppm, ainsi un doublet à δ_{H} 5,06 ppm ($J = 9,4$ Hz) attribuable au proton anomérique.

La valeur du déplacement chimique indique une jonction *O*-sucre, alors que la valeur de la constante de couplage est en faveur d'une configuration β -osidique.

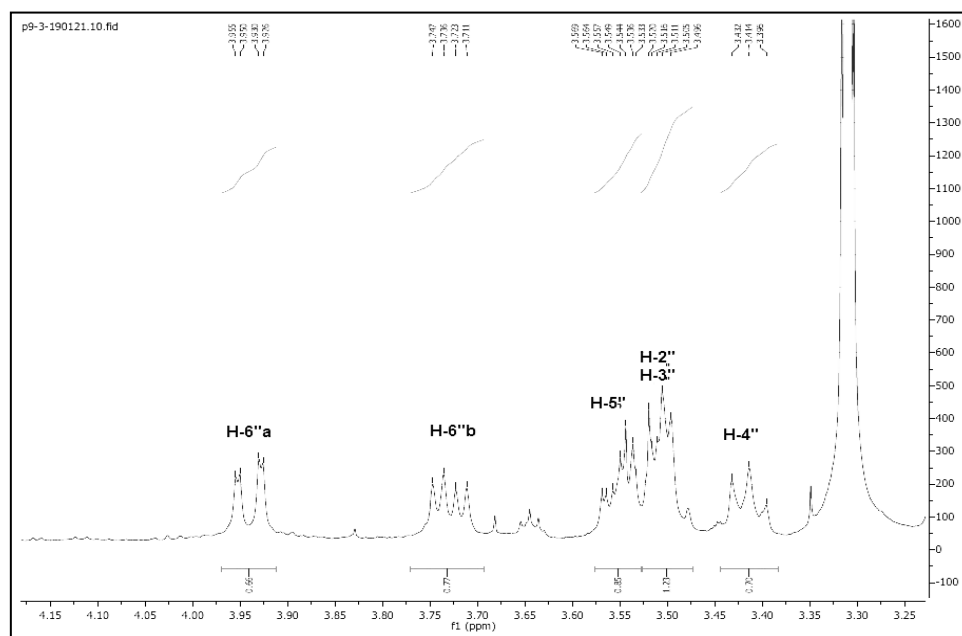


Figure III-41 Spectre RMN ^1H étalé du composé VR6

Les déplacements chimiques des carbones osidiques sont déduits par analyse combinée des spectres RMN ^1H , ^{13}C et HSQC (**Figures III- 39, III-40 et III-42**) ainsi que par comparaison avec les données de la littérature [25]. On observe :

- Un proton anomérique H-1" (5,06 ppm) corrèle avec son carbone C-1" à 100 ppm.
- Un multiplet résonant à δ_{H} 3,50 corrèle avec les signaux à δ_{C} 73,3 et 76,4 attribuables aux carbones C-2'' et C-3'' respectivement.
- Un triplet sortant à δ_{H} 3,41 ($J = 9$ Hz) corrèle avec le signal à δ_{C} 69,8 correspondant au carbone C-4".
- Un proton à δ_{H} 3,55 corrèle avec le signal à δ_{C} 76,9 attribuable au carbone C-5".
- Deux protons résonant sous forme de doublet de doublet à δ_{H} 3,94 ($J = 12,5 ; 2,5$ Hz) et à 3,73 ($J = 12,5 ; 6,0$ Hz) corrélient avec le signal à δ_{C} 61,0 attribuable au carbone C-6".

La multiplicité de H-4" (t, $J = 9$ Hz) ainsi que la valeur de la constante de couplage indique que les protons H-3", H-4" et H-5" sont en position axiale. Cette constatation ainsi que les déplacements chimiques des carbones de cet hexose permettent de déduire qu'il s'agit d'un glucose.

L'analyse combinée du spectre RMN ^{13}C avec celui du HSQC (**Figure III-40 et III-42**) montre un signal à δ_{C} 100,2 du carbone anomérique, un autre signal d'un carbone méthylène oxygéné à δ_{C} 61,0 (C-6") et d'autres signaux de carbones oxyméthines résonant à δ_{C} 73,3 (C-2"), 76,4 (C-3"), 69,8 (C-4") et 76,9 (C-5"). Les déplacements chimiques des protons et carbones osidiques sont caractéristiques d'un β -glucose.

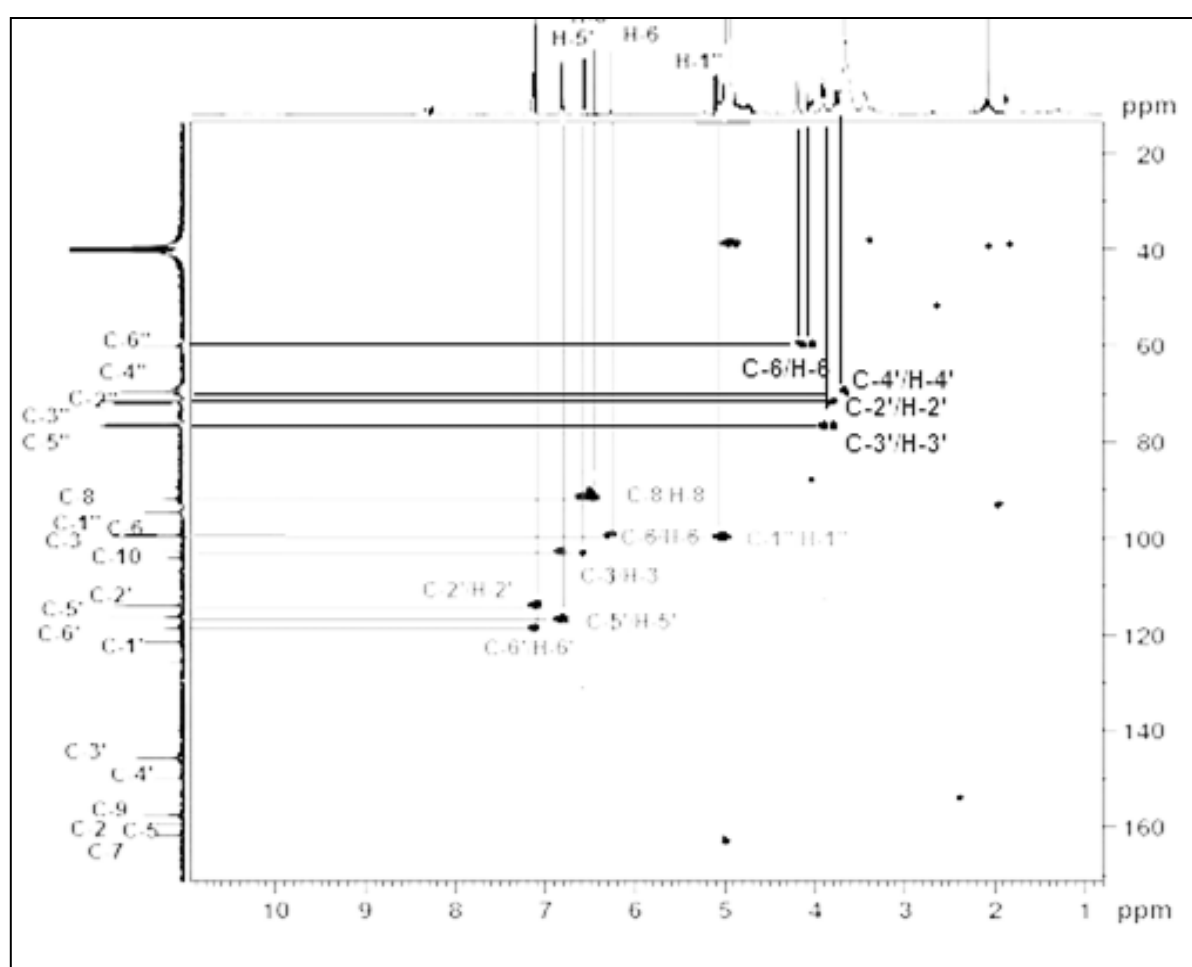


Figure III-42 Spectre HSQC du composé VR6

Le point de branchement du glucose avec la flavone lutéoline est localisé en position C-7 en raison de la présence d'une tache de corrélation sur le spectre HMBC (**Figure III-43**) entre le proton anomère H-1'' et le carbone C-7 (163,3 ppm).

D'autres corrélations ont été observées entre :

- H-2'' et le carbone C-3'' (76,4 ppm)
- H-3'' et les carbone C-4'' (69,8 ppm) et C-5'' (76,9 ppm)
- H-4'' et le carbone C-2'' (73,3 ppm)
- H6 et les carbone C7 (163,3 ppm) et C5 (161,4 ppm)

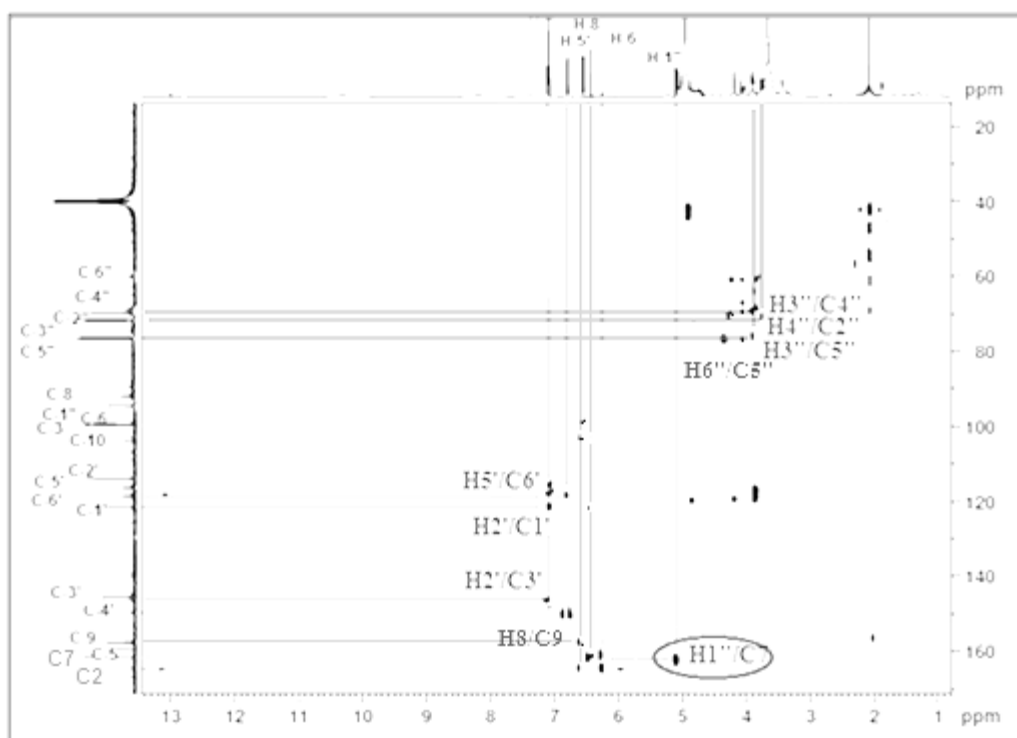


Figure III-43 Spectre HMBC du composé VR6

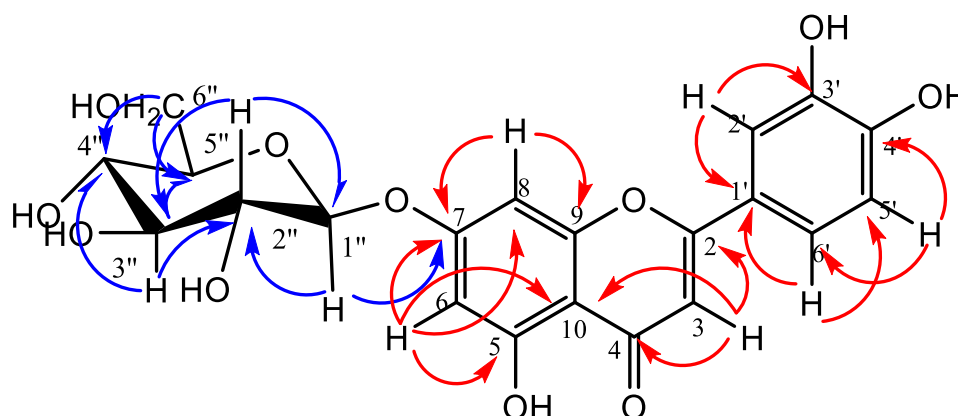


Figure III-49 Corrélations HMBC du composé VR6

L'exploitation des différentes méthodes d'analyse spectroscopiques (SM, UV, RMN ^1H , RMN ^{13}C , HSQC et HMBC) ainsi que la comparaison avec les données de la littérature [26, 27, 28, 29] nous permettent de déterminer sans ambiguïté la structure du composé **VR6** comme étant le 5,3',4' trihydroxyflavone-7-*O*- β -D-glucoside, généralement appelé lutéoline-7-*O*- β glucoside.

Ce composé a été détecté dans plusieurs espèces du genre *Veronica*, *V. jacquinii* [12], *V. teucrium* [24], *V. linariifolia* Pal [30, 31], *V. thymoides* subsp et *V. fushii* [7,32].

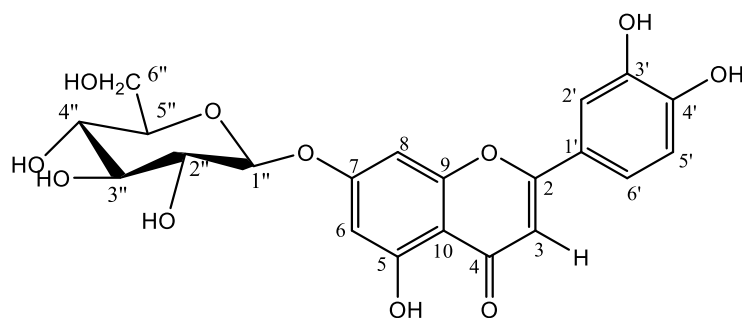
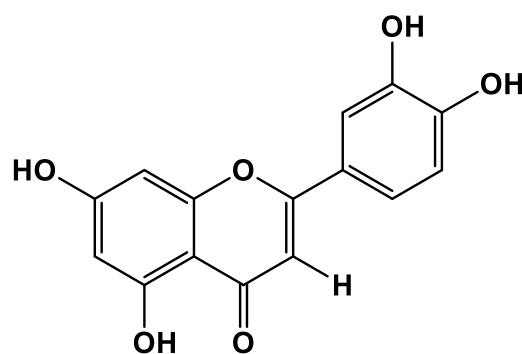


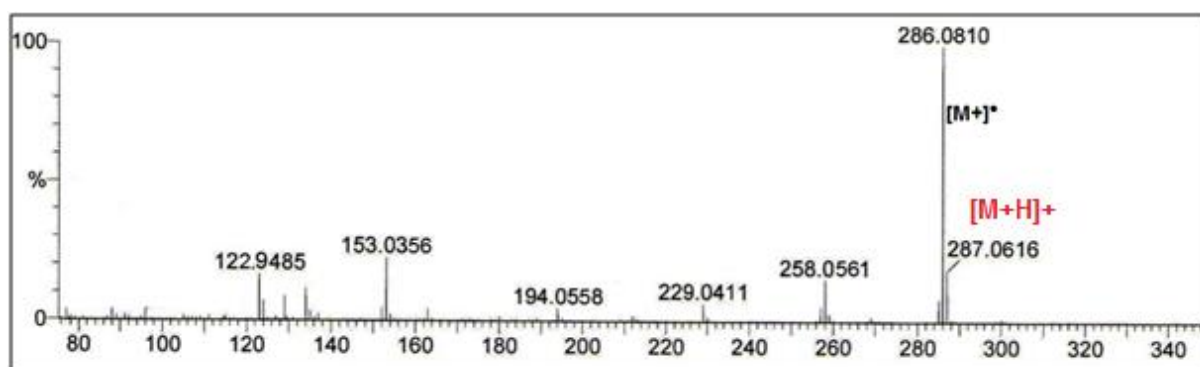
Tableau III-7 Les déplacements chimique RMN ^1H et ^{13}C (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé VR6 dans CD_3OD

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), (m, J (Hz))
2	165,4	
3	102,7	6,60 (1H, s)
4	182,6	
5	161,4	
6	99,7	6,49 (1H,s)
7	163,3	
8	94,6	6,79 (1H,s)
9	157,5	
10	105,6	
1'	122,0	
2'	112,8	7,40 (2H, m)
3'	145,6	
4'	149,4	
5'	115,3	6,91 (1H, d, $J=9,0$)
6'	119,1	7,40 (2H, m)
1''	100,2	5,06 (d, $J=9,4$)
2''	73,3	3,50 (2H, m)
3''	76,4	3,50 (2H, m)
4''	69,8	3,41 (1H, t, $J=9$)
5''	76,9	3,55 (1H, m)
6''(a)	61,0	3,94 (1H, dd, $J=12,5 ; 2,5$)
(b)		3,73 (1H, dd, $J=12,5 ; 6,0$)

III-5-7 Elucidation de la structure du composé VR7**Lutéoline**

Le produit **VR7** est obtenu sous forme d'une poudre jaune, soluble dans le méthanol. Il montre une fluorescence violette noire laissant supposer une structure de type flavone.

On observe sur son spectre de masse ESI (**Figure III-50**) enregistré en mode positif un pic d'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z = 287.0616$, soit une masse moléculaire de 286 uma compatible avec une formule brute $C_{15}H_{10}O_6$.

**Figure III-50** Spectre de masse ESI-MS du composé VR7

Les données spectrales RMN 1H et ^{13}C (**Figure III-51, III-52**) sont très similaires à ceux du composé **VR6** notamment dans la région aromatique. En effet, on reconnaît tous les signaux caractéristiques des protons et carbones de la lutéoline, à savoir:

- Un signal sous forme d'un singulet à δ_H 6,50 attribuable au proton H-3.
- Deux signaux à δ_H 6,16 et 6,40 ($J = 5,0$ Hz), typiques d'un couplage en *meta* sur un cycle aromatique attribuables aux protons H-6 et H-8 respectivement du cycle A
- Un doublet à δ_H 6,86 ($J = 10$ Hz) correspondant au proton H-5'
- Un signal sous forme de multiplet à 7,35 ppm d'intégration 2H attribuable aux protons H-2' et H-6'.

Toutes ces élucidations spectrales ainsi que la comparaison avec les données de la littérature, permettent de proposer pour le composé **VR7** la structure 5,7,3',4'-tétrahydroxy flavone connu sous le nom lutéoline [33]. Il a été antérieurement isolé de l'espèce *Veronica multifida* [34,10].

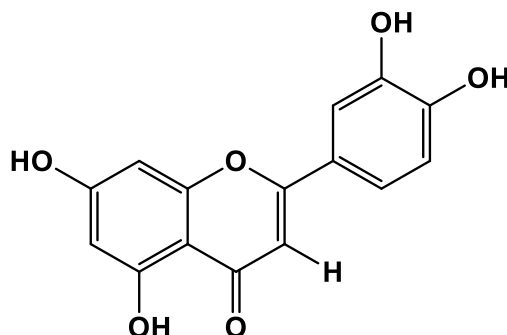
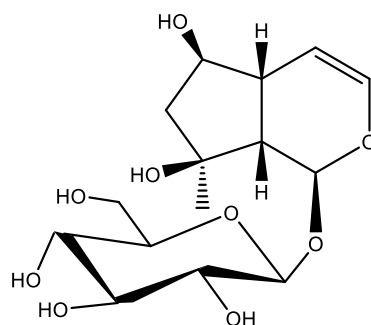


Tableau III-8 Déplacements chimiques RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé VR7 dans CD_3OD .

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), (<i>m</i> , <i>J</i> (Hz))
2	164,6	
3	102,4	6,50 (1H, s)
4	182,4	
5	161,7	
6	98,7	6,16 (1H, d, <i>J</i> =5,0)
7	164,8	
8	93,6	6,40 (1H, d, <i>J</i> =5,0)
9	157,9	
10	103,8	
1'	122,2	
2'	112,7	7,35 (2H, m)
3'	145,6	
4'	149,6	
5'	115,3	6,86(1H, d, <i>J</i> = 10)
6'	118,9	7,35 (2H, m)

III-5-8 Elucidation de la structure du composé VR8



Ajugol

Le produit **VR8** se présente sous forme d'une poudre blanche. Il est invisible à la lumière UV et se révèle en marron par une solution de vanilline et chauffage à 100°C.

Le spectre de masse ESI enregistré en mode positif (**Figure III-53**) de ce composé présente un pic d'ion pseudo-moléculaire moléculaire à $m/z = 371 [M+Na]^+$, soit une masse moléculaire égale à 348 uma, correspondant à une formule brute en $C_{15}H_{24}O_9$.

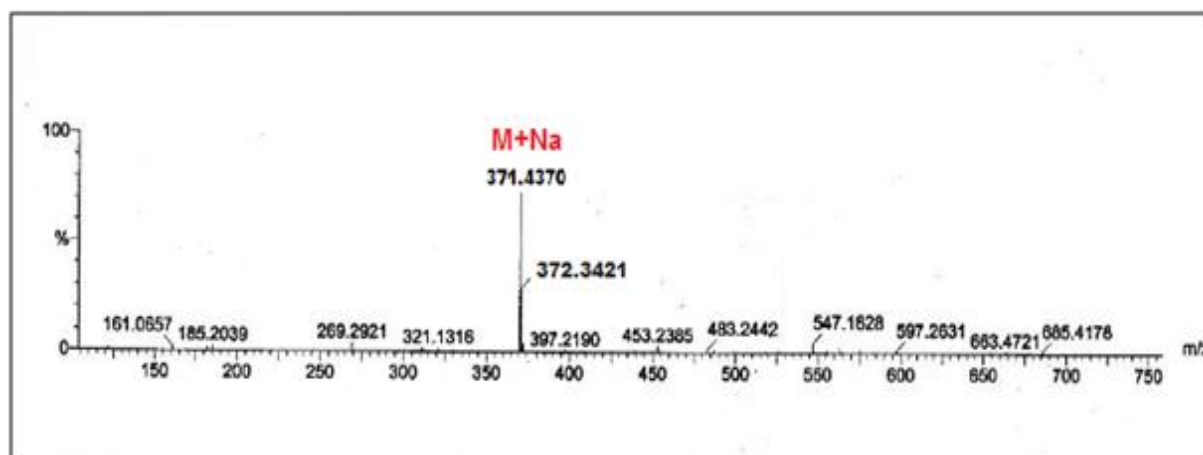


Figure III-53 Spectre de masse du composé VR8

L'analyse du spectre RMN 1H (**Figure III-54**) du composé **VR8** enregistré dans le méthanol deutéré, présente des signaux caractéristiques d'un squelette iridoïde reconnaissable par:

- Les signaux des deux protons oléfiniques H-3 et H-4 résonant respectivement à 6,24ppm (dd, $J = 6,3 ; 2,2$ Hz) et 5,0 ppm (dd, $J = 6,2; 2,6$ Hz).
- Un signal sous forme de doublet à 5,53 ppm ($J = 2,5$ Hz) caractéristique du proton H-1.

- Un signal sous forme de doublet de doublet à 2,60 ppm ($J = 9,3; 2,5$ Hz) caractéristique du proton H-9.
- Un signal sous forme de doublet à 4,69 (d, $J = 7,9$ Hz) caractéristique au proton β -anomérique H-1'
- Les signaux entre 3,10 et 3,92 ppm correspondent aux protons de l'unité hexose
- Un singulet résonant à 1,51 ppm s'intégrant pour trois protons attestant de la présence d'un groupement méthyle.

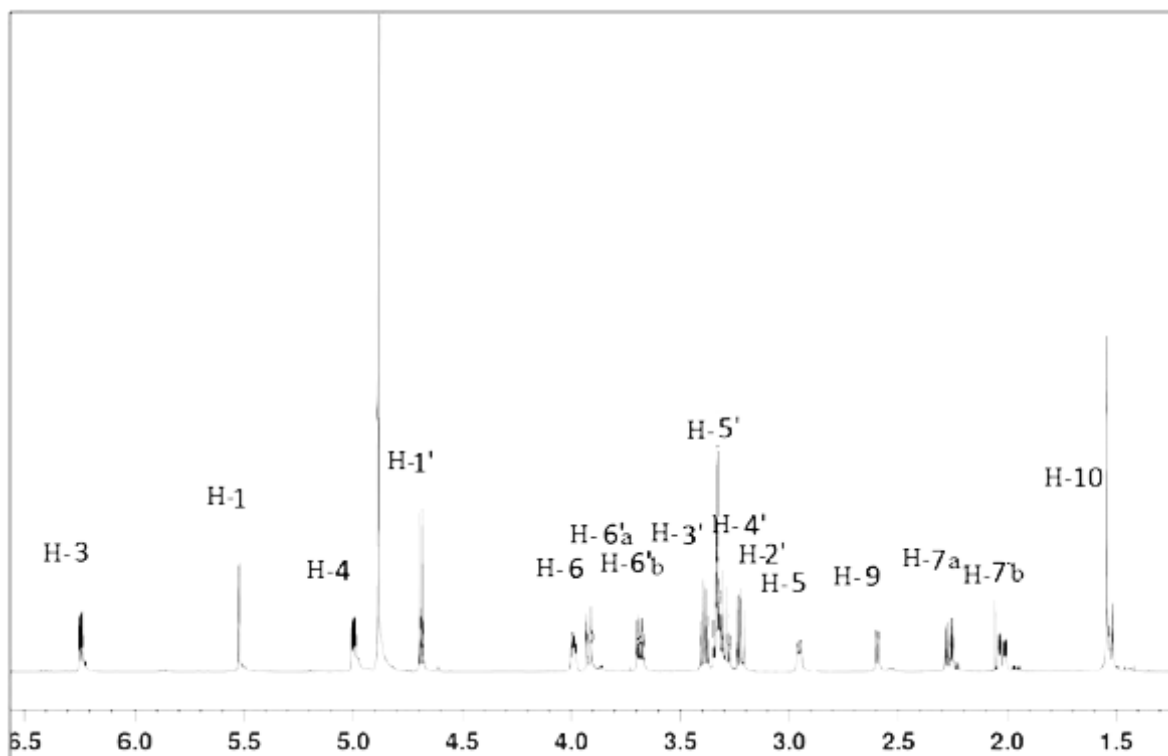


Figure III-54 Spectre RMN 1H du composé VR8

Le spectre COSYH-H (**Figure III-57**) permet d'observer les corrélations suivantes :

- Les deux protons oléfiniques H-3 et H-4.
- Le proton H-4 et un autre proton résonant à 2,95 ppm sous forme de multiplet qui ne peut être que le proton H-5.
- Le proton H-9 et les deux protons H-1 et H-5. La grande constante de couplage ($J = 9,5$ Hz) indique une jonction cis bicyclique H-5/H-9.
- Le proton H-5 et un proton résonant à 3,95 ppm qui ne peut être que le proton H-6. La valeur du déplacement chimique indique que ce proton est porté par un carbone C-6 oxygéné.

- Le proton H-6 et deux protons diastéréotopiques à 2,02 ppm (dd, $J= 14,2, 4,0$ H) et 2,27 ppm (dd, $J=14,2 ; 6,4$ Hz) ne pouvant être que les protons H-7.

La présence d'un groupement méthyle à 1,51 ppm et deux protons diastéréotopiques H-7a et H-7b permet de proposer pour le composé **VR9** un squelette ajugol.

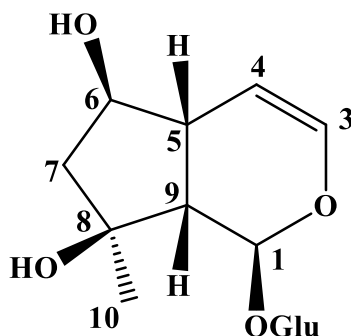


Figure III-55 Squelette de l'ajugol

L'analyse du spectre COSY H-H a permis également de localiser les protons de l'unité hexose par les couplages suivants :

- Le proton anomère H-1' à 4,69 (d, $J = 7,9$ Hz) et le proton H-2' résonant à 3,22 ppm sous forme de doublet de doublet ($J = 9,2$ et $7,9$ Hz).
- Le proton H-2' et le proton H-3' résonant à 3,39 ppm.
- Le proton H-3' et le proton H-4' résonant à 3,31 ppm.
- Le proton H-4' et le proton H-5' résonant à 3,33 ppm.
- Le proton H-5' et les deux protons H-6'a et H-6'b résonants respectivement à 3,68 et 3,92 ppm sous forme de doublet de doublet.

Les grandes tâches de corrélation traduisant de grandes constantes de couplage, indiquent que l'hexose est un glucose de configuration β ($J= 7,9$ Hz).

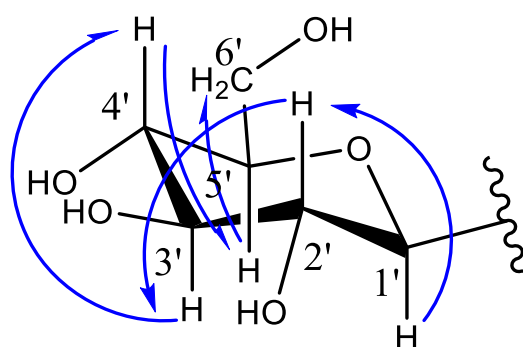


Figure III-56 Corrélations COSY du β -D-glucose

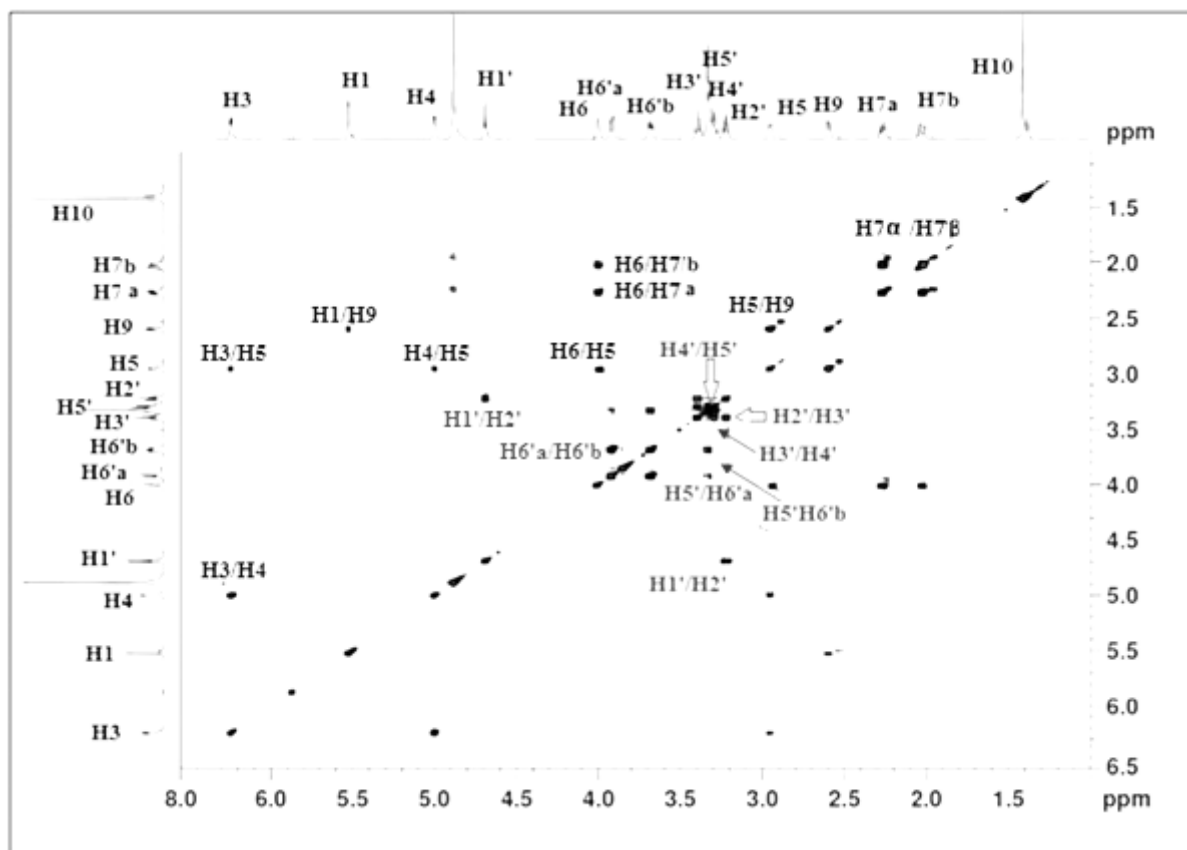


Figure III-57 Spectre COSY du composé VR 8

L'expérience HSQC (**Figure III- 59**) permet d'accorder les protons identifiés précédemment à leurs carbones par les corrélations visualisées entre:

- Le proton H-1 et son carbone C-1 résonant à 93,4 ppm.
- Le proton H-3 et son carbone C-3 résonant à 141,1 ppm.
- Le proton H-4 et son carbone C-4 résonant à 104,6 ppm.
- Le proton H-5 et son carbone C-5 résonant à 37,9 ppm.
- Le proton H-6 et son carbone C-6 résonant à 77,1 ppm.
- Les deux protons diastéréotopiques H-7a et H-7b et leur carbone C-7 résonant à 46,5ppm.
- Le proton H-9 et son carbone C-9 résonant à 50,2 ppm.
- Les protons H-10 et leur carbone C-10 résonant à 24,6 ppm.

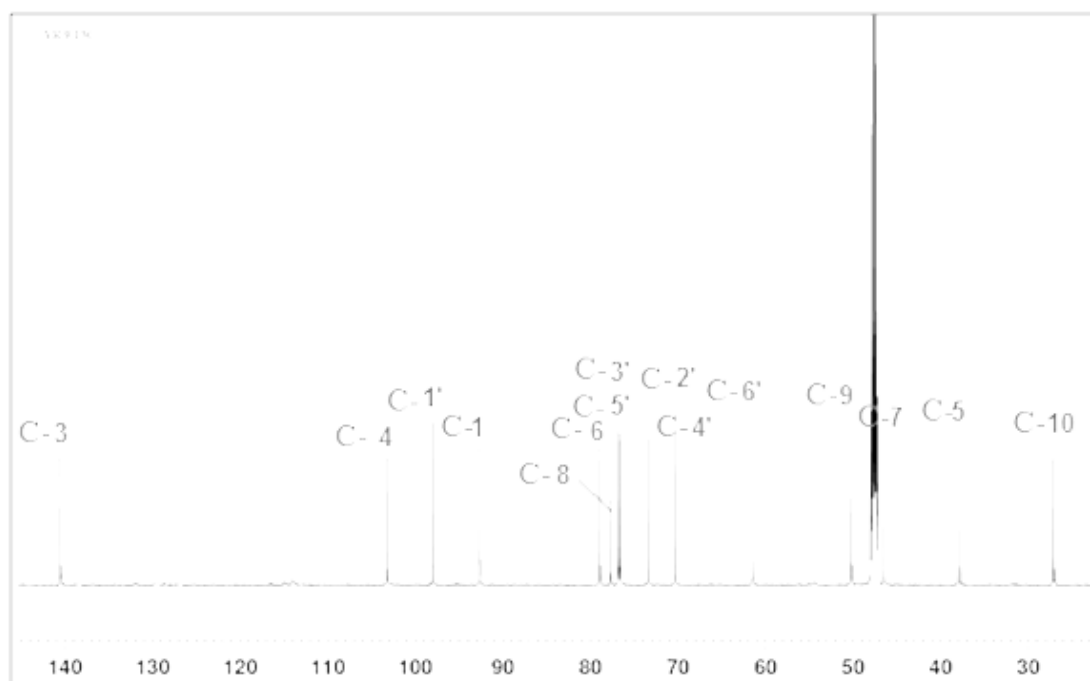


Figure III-58 Spectre RMN ^{13}C du composé VR8

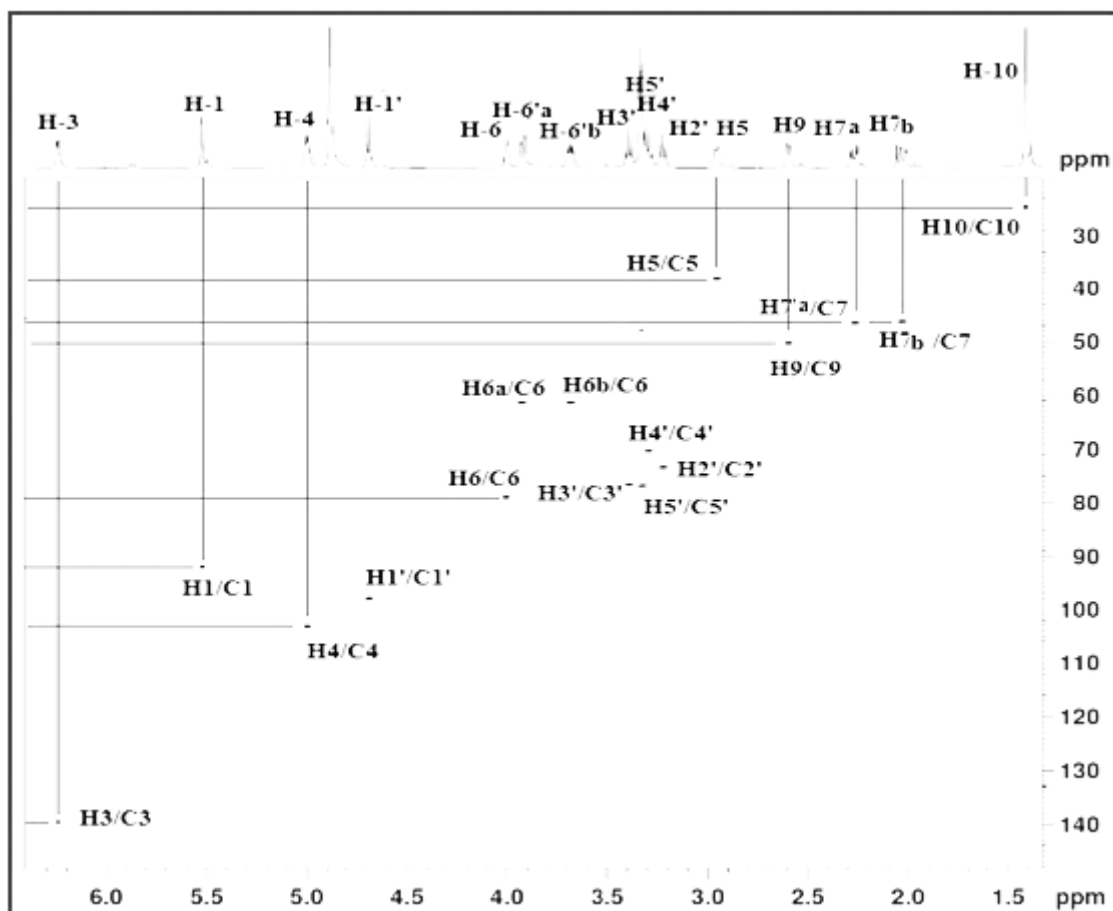


Figure III- 59 Spectre HSQC du composé VR 8

Les données spectrales HMBC (**Figure III- 61**) permettent de confirmer le squelette ajugol grâce aux corrélations entre :

- Le proton H-9 et les carbones C-10, C-5, ainsi qu'un carbone quaternaire résonant à 79,0 ppm ne pouvant être que le carbone C-8
- Le proton H-4 et les carbones C-5 et C-6
- Le proton H-1 et les carbones C-3, C-5 et C-1'. Le couplage de ce proton avec le carbone anomère C-1' du glucose confirme que ce dernier est positionné en C-1.

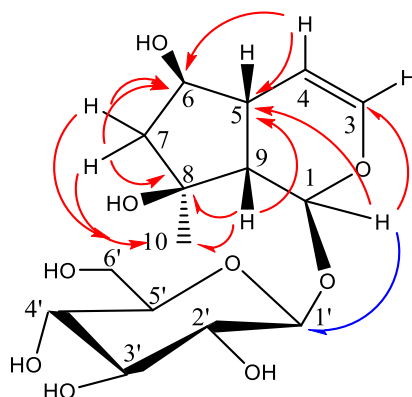
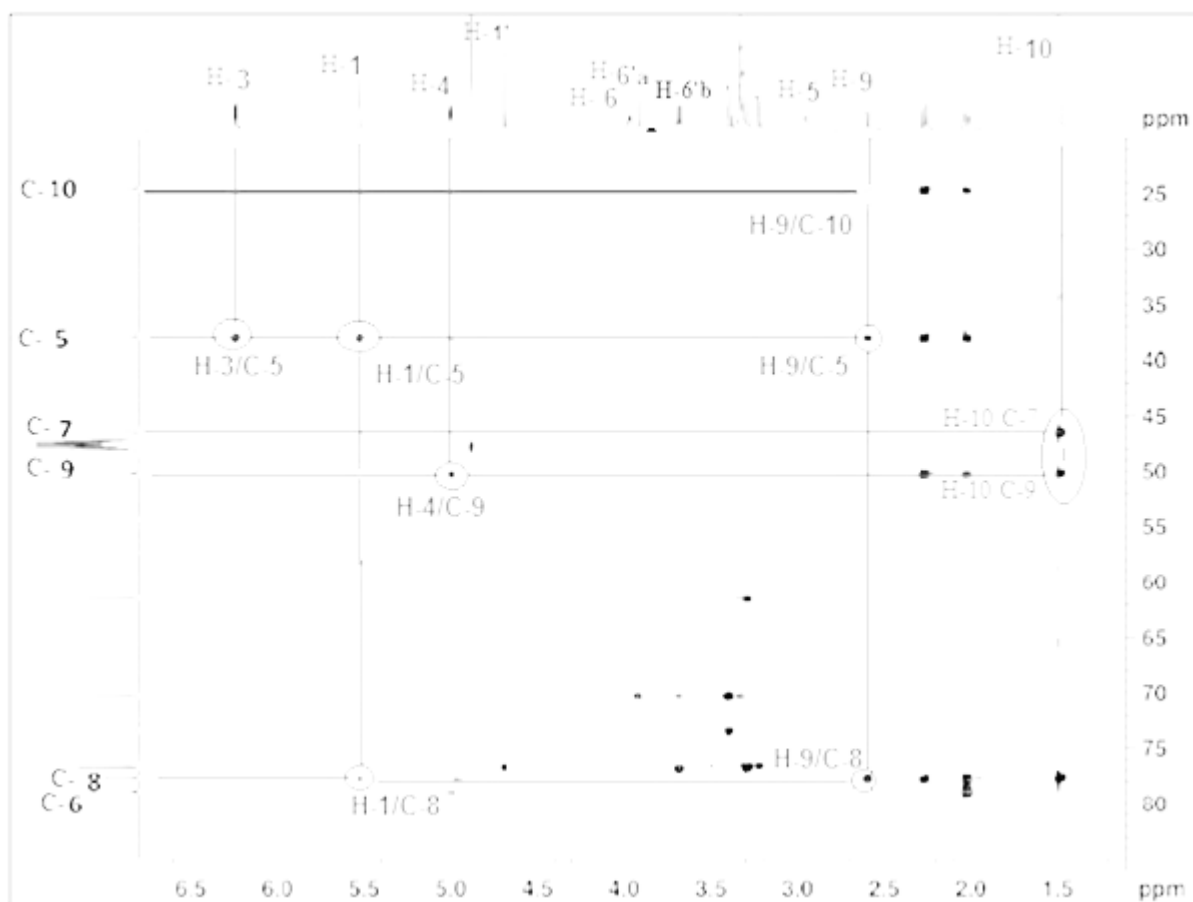


Figure III-60 Corrélations HMBC de l'ajugol



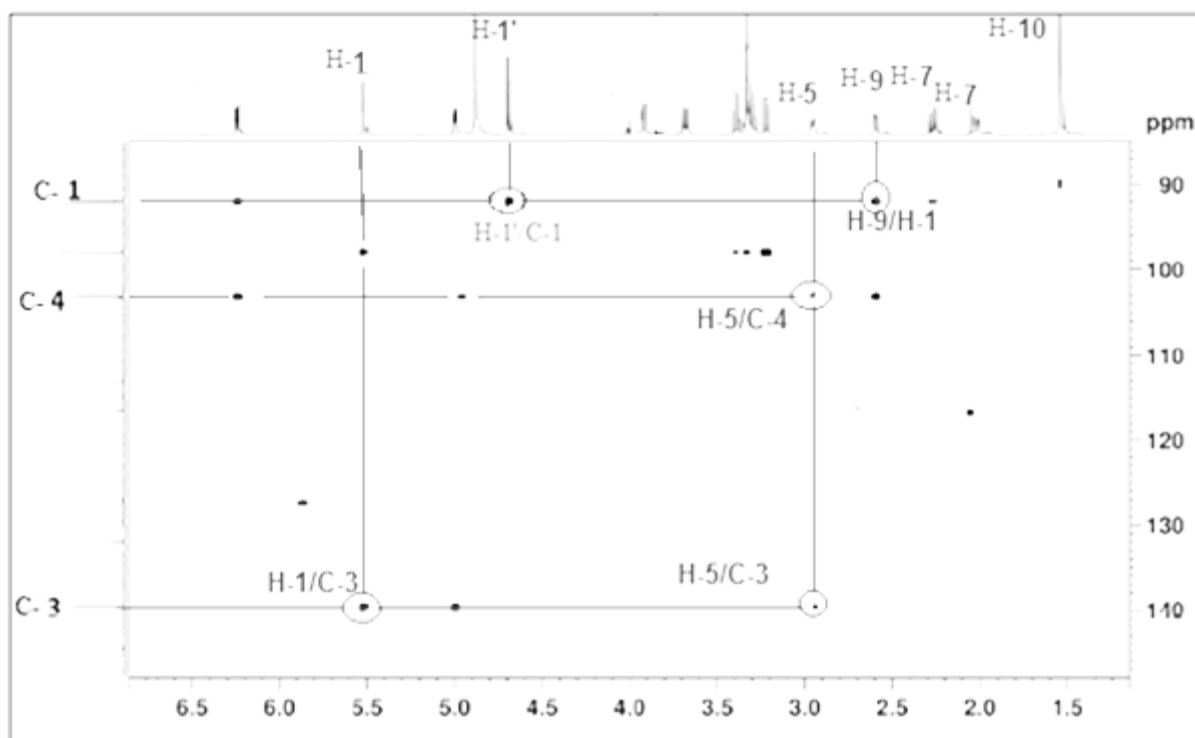


Figure III-61 Spectre HMBC du composé VR8

L'ensemble de ces données spectrales, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = 168^\circ$, C 0,3 CHCl_3) ainsi que la comparaison avec les données de la littérature [35, 36] nous permettent de déterminer la structure du composé **VR8** comme étant l'ajugol, ce composé a été isolé antérieurement de plusieurs espèces du genre *Veronica* : *V. campylopoda* [30], *V. biloba* [30], *V. argute-serrata* [37], *V. arvensis* [38].

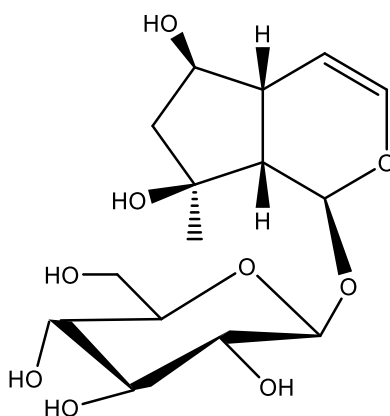
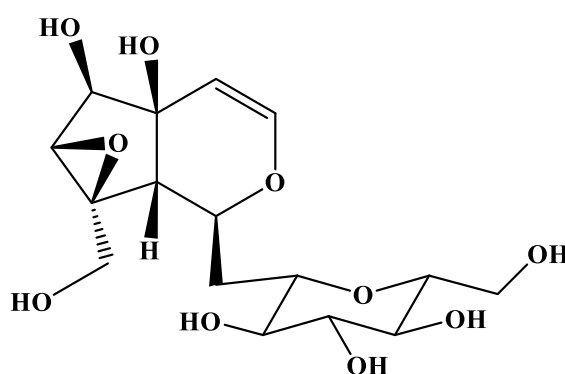


Tableau III-9 Déplacements chimiques RMN 1H (500 MHz) et 13C (125 MHz) du composé VR 8 dans CD₃OD.

Position	δ_C (ppm)	δ_H (ppm), (m, J (Hz))
1	93,4	5,53 (d, J= 2,7)
2		
3	141,1	6,24(dd, J= 6,4, 2,5)
4	104,6	5,00 (dd, J=6,4, 2,6)
5	37,9	2,95 (m)
6	77,1	4,95 (ddd, J= 6,6, 4,2, 2,7)
7 a	46,5	2,02(dd, 14,2; 4,0)
b		2,27 (dd, J=14,2; 6.4)
8	64,9	
9	50,2	2,60 (dd, J=9,5; 2,5)
10	24,6	1,51 (s)
1'	97,9	4,69 (d, J=7.9)
2'	73,3	3,22 (t, J= 9,2)
3'	76,8	3,39 (t, J= 9,2)
4'	70,3	3,31 (m)
5'	77,1	3,33 (m)
6' a	61,4	3,69 (dd, J= 10; 5,2)
b	93,4	3,91 (dd, J= 10; 2.2)

III-5-9:Elucidation de la structure du composé VR9



Macfadienoside

Le composé **VR9** est obtenu sous forme d'une huile jaune, invisible à lumière UV. Il se colore en marron après révélation par une solution de vanilline et chauffage à 100 C°.

Le spectre de masse (**Figure III-62**) montre un pic d'ion pseudo-moléculaire à $m/z = 385,1$ $[M+Na]^+$ soit une masse moléculaire égale à 362 uma, correspondant à une formule brute en $C_{15}H_{22}O_{10}$.

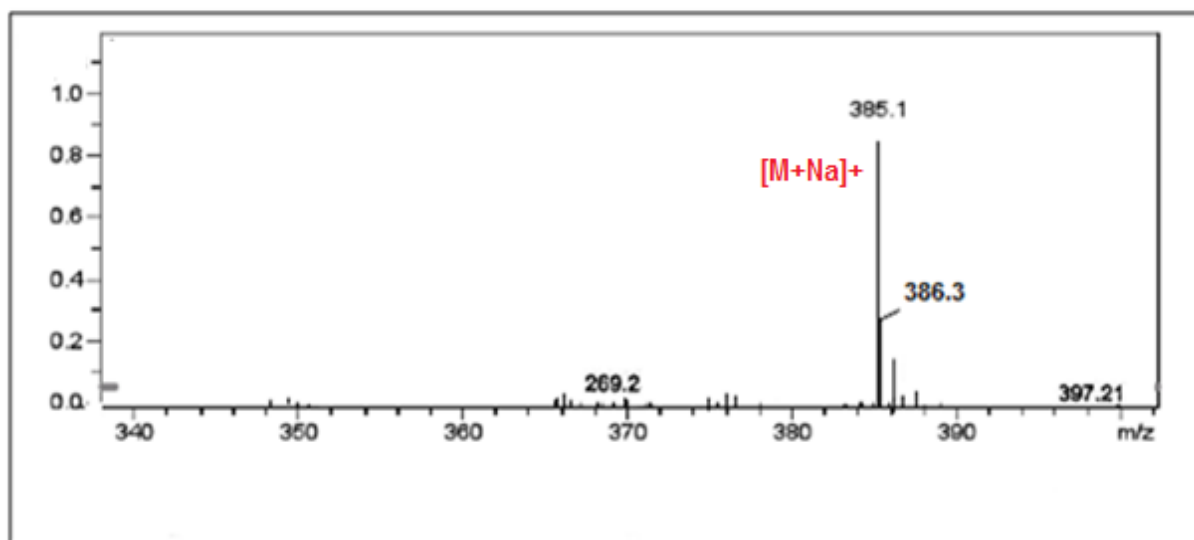


Figure III-62 Spectre de masse ESI-MS du composé VR9

Le spectre RMN 1H (**Figure III-63**) du composé **VR9** enregistré dans le méthanol deutéré montre des signaux caractéristiques d'un squelette de type iridoïde que l'on peut identifier par:

- Deux signaux doublets à δ_H 6,41 et δ_H 4,91 ($J = 6,2$ Hz) intégrant chacun pour 1H, caractéristique aux protons oléfinique H-3 et H4 respectivement. La multiplicité de ces deux protons indique que la position C-5 est substituée.
- Un signal sous forme de doublet à 5,42 ppm ($J = 7,1$ Hz) caractéristique du proton H-1
- Un doublet à δ_H 2,41 ($J = 7,3$ Hz) attribuable au proton H9
- Un signal sous forme de doublet résonant à δ_H 4,28 ($J = 4,2$ Hz) correspondant au proton H6. Le déplacement chimique de ce proton suggère une oxydation du carbone C-6 qui le porte.

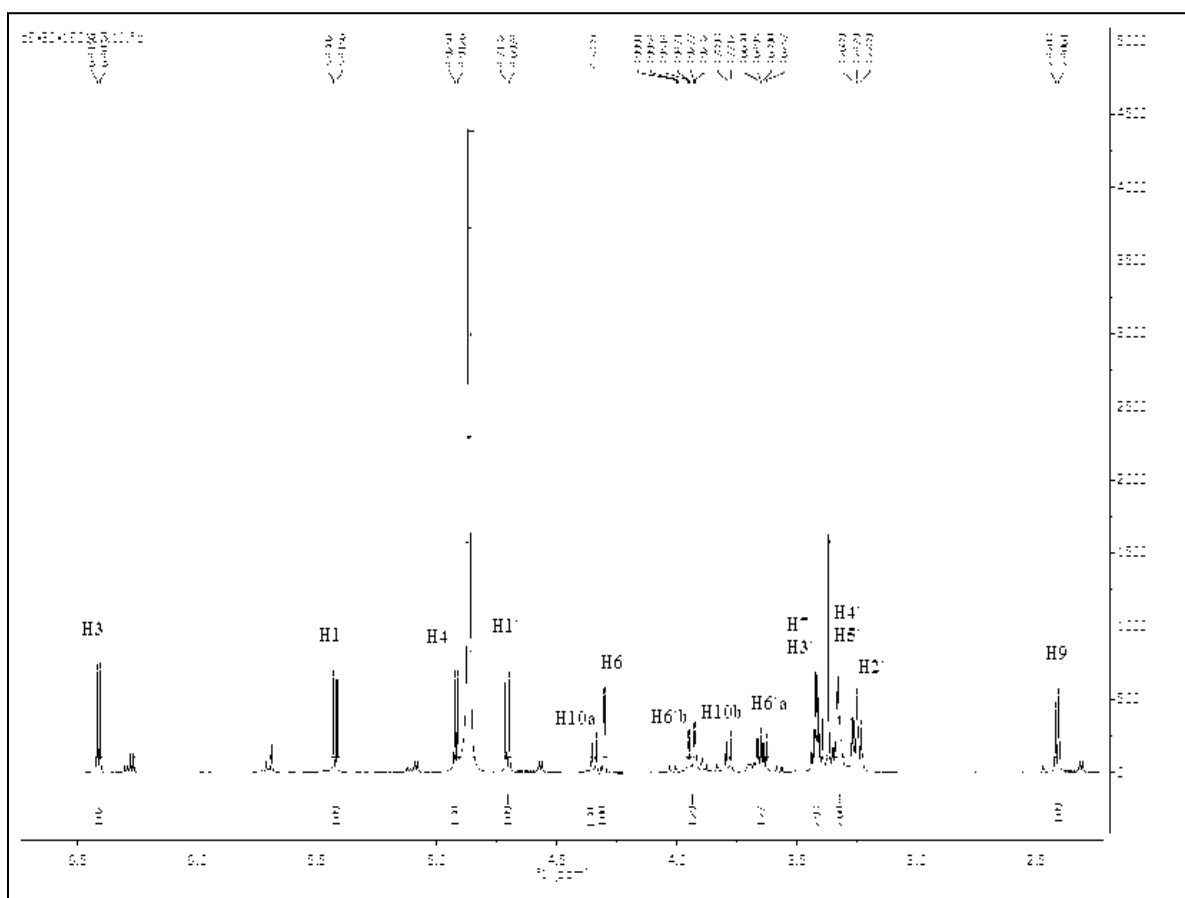


Figure III-63 Spectre RMN 1H du composé VR 9

En plus de ces signaux, le spectre RMN 1H (**Figure III-64**) montre également :

- Deux signaux sous forme de deux doublets fortement couplés ($J = 9,2$ Hz) résonant à δ_H 4,31 et δ_H 3,78 correspondant aux protons H10a et H10b d'un groupement hydroxy méthylène CH₂OH localisé généralement en C8
- Des signaux entre 3,22 et 3,93 ppm, caractéristiques aux protons osidiques
- Un signal doublet ($J = 7,9$ Hz) résonant à δ_H 4,70 caractéristique du proton anomère H1'.

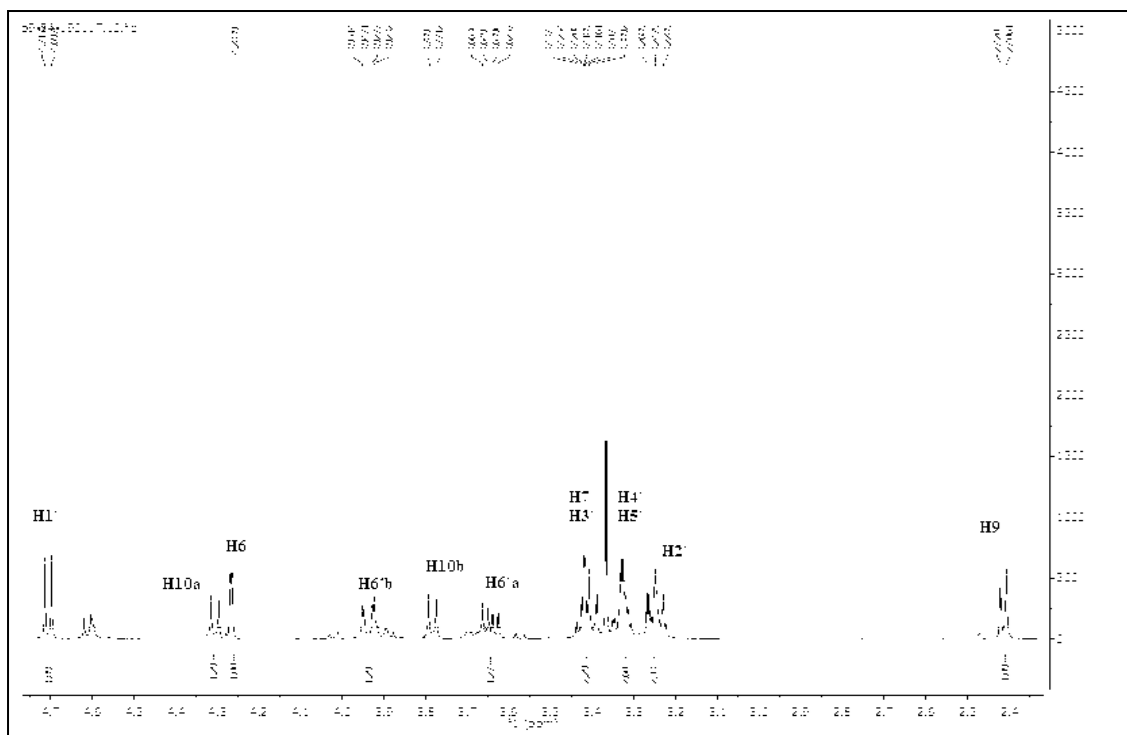


Figure III-64 Spectre RMN ^1H du composé VR9

L'analyse du spectre relatif à l'expérience COSY H-H (**Figure III-67**) permet de tirer les indications suivantes :

- Le proton H-3 montre une tâche de corrélation avec le proton oléfinique H-4
- Le proton H-9 présente une tâche de corrélation avec le proton H-1
- Le protons H-6 corrèle avec un proton résonant à 3,41 ppm sous forme de multiplet ne pouvant être que le proton H-7.
- Le proton H-10a montre une tâche de corrélation avec le proton H-10b formant un système AB.

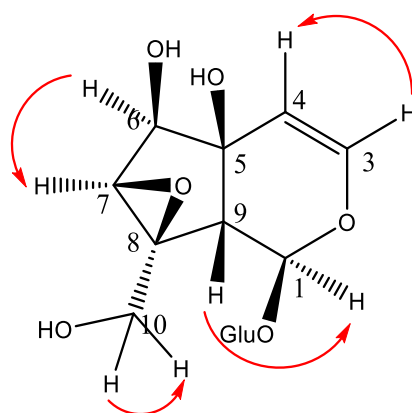


Figure III-65 Corrélations COSY de l'aglycone

L'unité osidique glucose est clairement identifiée à partir de cette expérience COSY H-H, en reliant les protons à travers leurs taches de corrélation. On observe les couplages entre

- Le proton anomère H-1' et le proton H-2' résonant à 3,24 ppm sous forme de triplet ($J = 9,5$ Hz), lui-même corrélant avec un signal triplet à 3,42 ppm correspondant au proton H-3'
- Le proton H-3' montre une tache de corrélation avec le proton H-4' résonant sous forme de multiplet à 3,33 ppm.
- Le proton H-5' corrèle avec deux protons résonant sous forme de doublet de doublet chacun à 3,93 ppm ($J = 11,9$ et $2,2$ Hz) et 3,63 ppm ($J = 11,9$ et $6,6$ Hz) correspondant respectivement aux protons H-6'a et H-6'b.

Les grandes taches de corrélation indiquant de grandes valeurs de constantes de couplage, révèlent que tous les protons sont axiaux. Cette analyse permet d'identifier clairement un D-glucose de configuration β ($J_{1'-2'} = 7,9$ Hz).

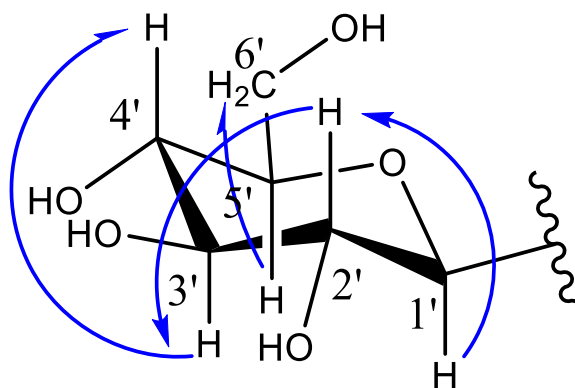


Figure III-66 Corrélations COSY du β -D-glucose

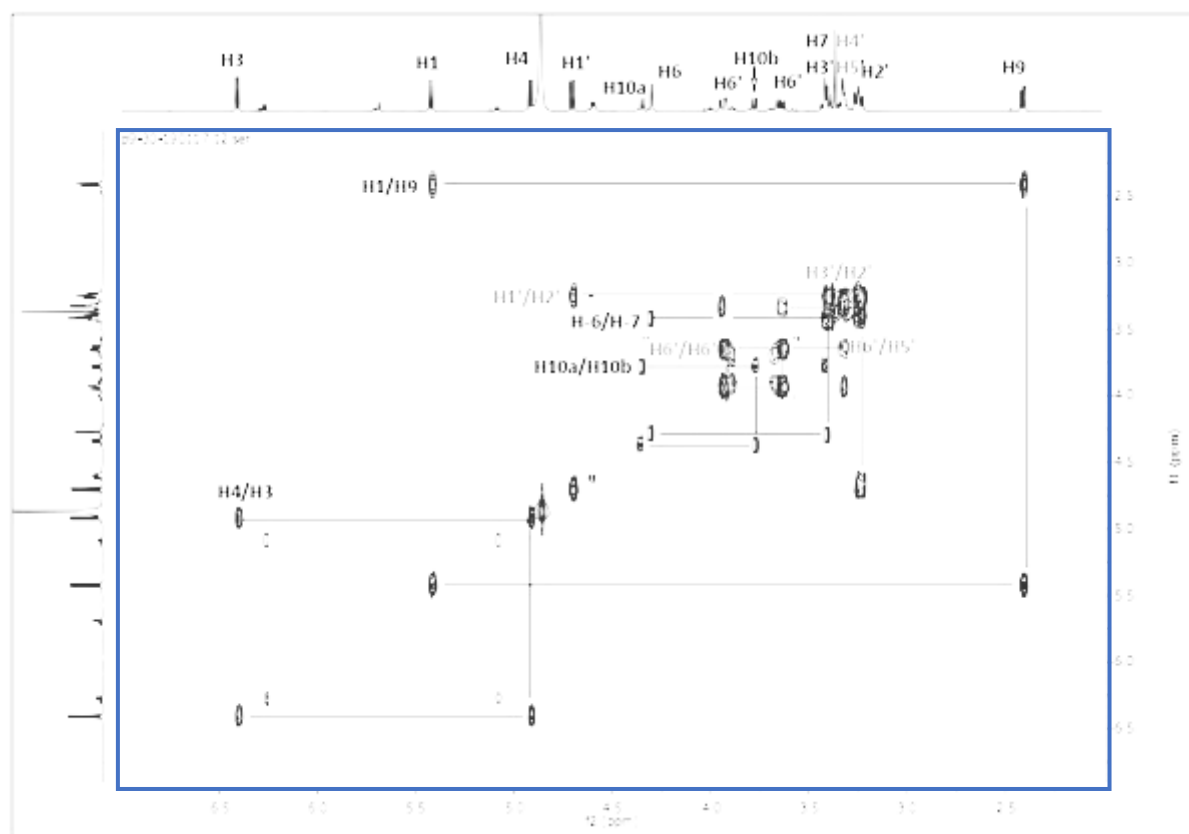


Figure III-67 Spectre COSY du composé VR9

Le spectre HMBC confirme le squelette de l'aglycone (**Figure III-69**) par la présence des corrélations suivantes :

- Le proton H-3 montre des tâches de corrélation avec les carbones C-4 ($\delta_c 106,7$), C-1 ($\delta_c 94,3$) et un carbone à $\delta_c 73,9$. Ce dernier présente des tâches de corrélation avec les protons H-4, H-1 et H9, donc ce carbone ne peut être que C-5. La valeur du son déplacement chimique ($\delta_c 73,9$) indique qu'il est oxygéné.
- Le proton H-9 montre des tâches de corrélation avec les carbones C-1 ($\delta_c 94,3$), C-5 ($\delta_c 73,9$), un carbone à $\delta_c 65,0$ qui montre lui aussi des tâches de corrélation avec les protons H-7 et H-6, donc ce carbone ne peut être que C-8.
- Le proton H-4 montre des tâches de corrélation avec le carbone C-3 ($\delta_c 142,3$), C-9 ($\delta_c 51,9$), C-5 et le carbone à $\delta_c 77,2$. Ce dernier présente des tâches de corrélation avec le H-9 et H-7 donc ce carbone ne peut être que le C-6.
- Le proton H-1 montre des tâches de corrélation avec les carbones C-9, C-5 et le carbone anomérique C-1' ($\delta_c 99,1$). Ceci indique que le β -D-glucose est lié à la partie monoterpénique en position C-1.

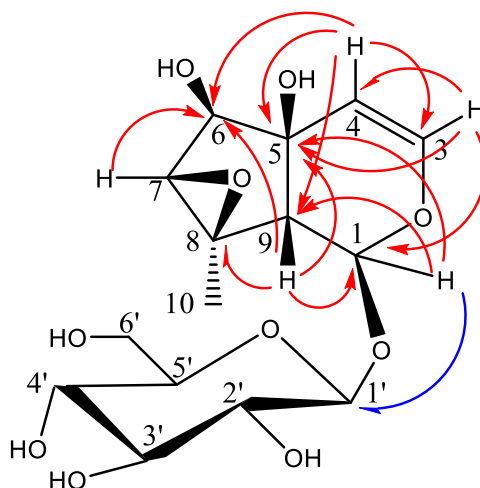


Figure III-68 Corrélation HMBC de l'aglycone

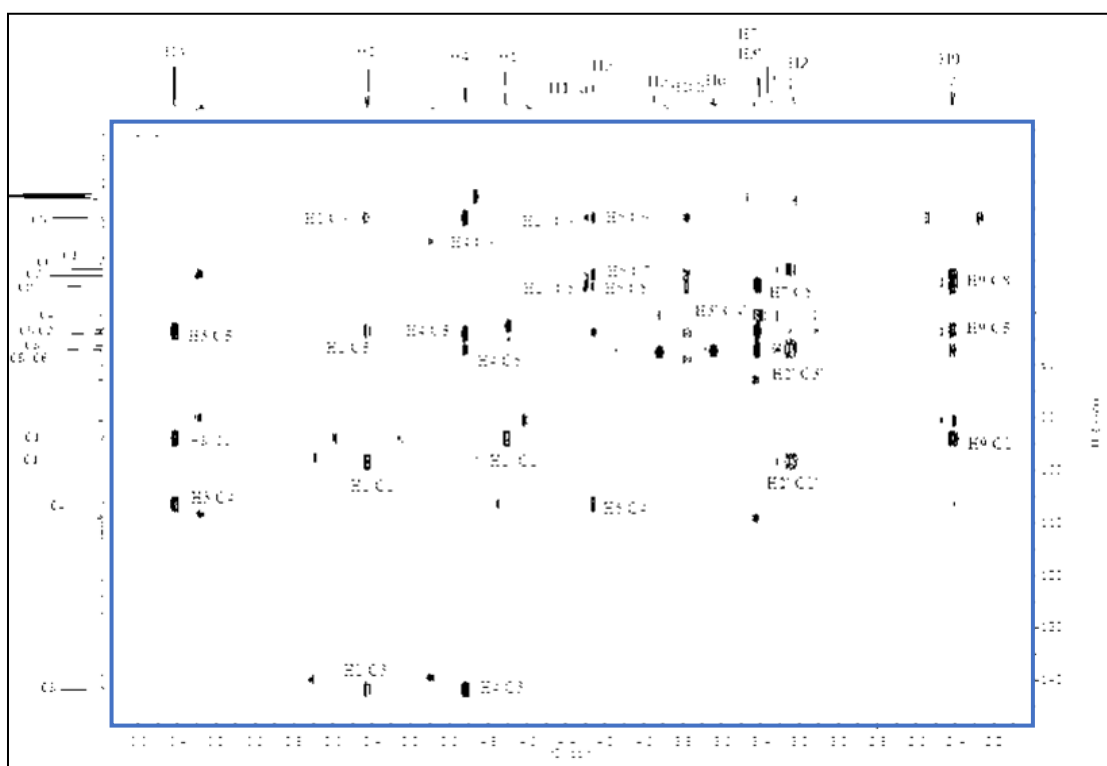


Figure III-69 Spectre HMBC du composé VR 9

Le spectre RMN ^{13}C (**Figure III-70**) montre 15 signaux se répartissant comme suit :

- Neuf atomes de carbone constituant le squelette iridoïde résonant à δ_{C} 142,3 (C-3), 106,7(C-4), 94,1(C-1), 76,9(C-6), 73,9 (C-5), 65,0(C-8), 62,6 (C-7) 60,4 (C-10), et C-9 (51,9).
- Six atomes du sucre glucose résonant à δ_{C} 99,1 (C- 1'), 77,1 (C-5'), 76,9 (C-3'), 73,3 (C-2'), 70,2 (C-4'), 61,8 (C-6')

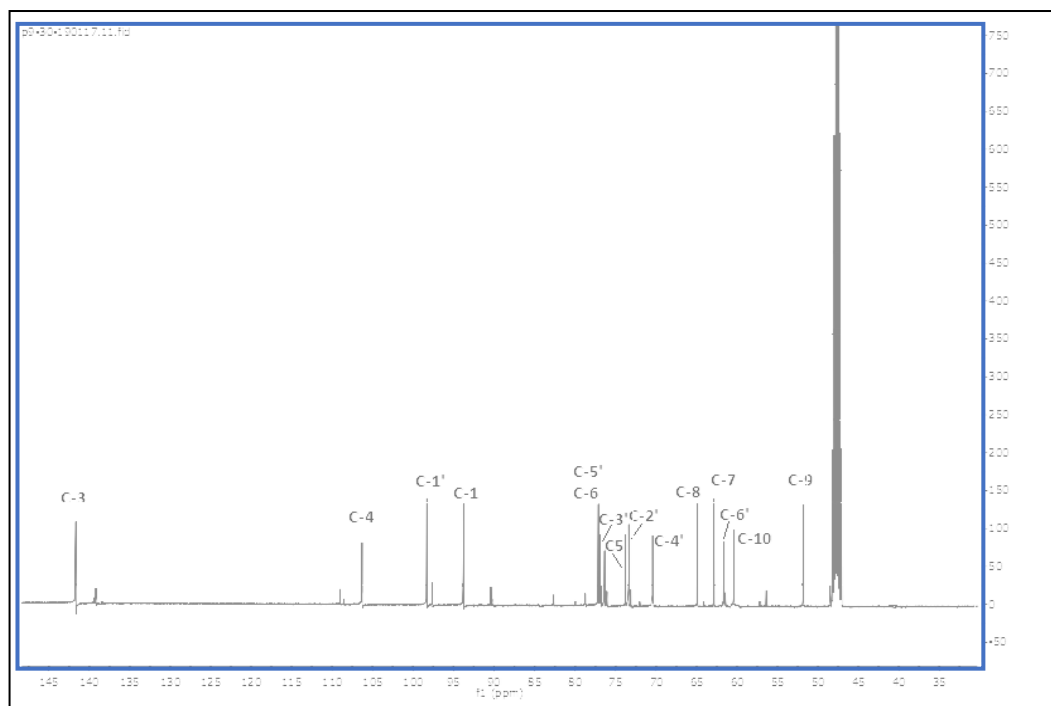


Figure III-70 Spectre RMN ^{13}C du composé VR9

A l'issue de ces données spectroscopiques, la valeur du pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D = 30^\circ, \text{C } 0,02, \text{ MeOH}$) ainsi que la comparaison avec les données de la littérature [39], le composé **VR9** est identifié au Macfadienoside.

Ce composé a été isolé antérieurement à partir des espèces *Macfadyena* (bignoniaceae) [40], *Cymbalaria muralis* (Scrophulariaceae) [41, 42] et *Scutellaria velenovskyi* (Lamiaceae) [43]. Autre connaissance, ce composé est identifié pour la première fois dans le genre *Veronica*.

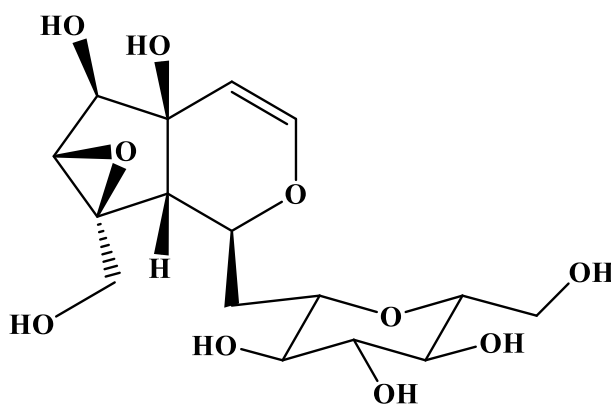
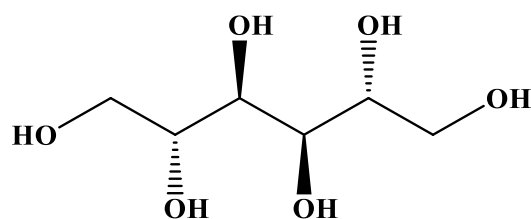


Tableau III-10 Déplacements chimiques RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé VR9 dans MEOD.

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), (m, J (Hz))
1	94,1	5,42 (1H, d, $J=7,1$)
2		
3	142,3	6,41 (1H, d, $J=6,2$)
4	106,7	4,91 (1H, d, $J=6,2$)
5	73,9	-
6	76,9	4,28 (1H, d, $J=4,2$)
7	62,6	3,421H, (m)
8	65,0	-
9	51,3	2,41 (1H, d, $J=7,3$)
10(a)	60,4	4,30 (1H, d, $J=9,2$)
(b)		3,77 (1H, d, $J=9,2$)
1'	99,1	4,70 (1H, d, $J=7,9$)
2'	73,3	3,24 (1H, t, $J=9,5$)
3'	76,9	3,42 (1H, m)
4'	70,2	3,33 (1H, m)
5'	77,1	3,33 (1H, 1H, m)
6'(a)	61,8	3,93 (1H, dd, $J=11,9 ; 2,2$)
(b)	94,1	3,63 (1H, dd, $J=11,9 ; 6,6$)

III -5-10 Elucidation de la structure du composé VR10



Mannitol

Le produit **VR10** est isolé sous forme de cristaux blancs solubles dans le DMSO. Il est invisible à la lumière UV et se révèle en noir par une solution de vanilline et chauffage à 100°C.

Le pic de l'ion pseudo-moléculaire $m/z = 205,0$ $[M+Na]^+$ observé sur le spectre de masse enregistré en mode positif (**Figure III-71**) indique une masse moléculaire de 182 uma et une formule brute en $C_6H_{14}O_6$.

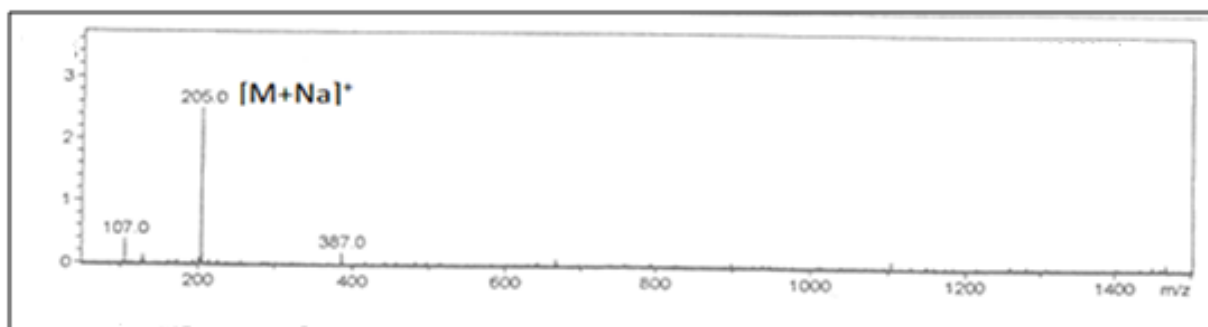


Figure III-71 Spectre de masse ESI-MS du composé VR10

Les spectres de masse, RMN 1H et RMN ^{13}C du composé **VR10** nous orientent vers une molécule à squelette symétrique. En effet les spectres RMN ^{13}C et DEPT (**Figure III-72** et **Figure III-73**) enregistrés dans le DMSO- d_6 révèlent trois signaux de carbones oxygénés. Deux signaux de carbones méthines CHO résonnant à δ_C 71,7 et à 70,0 et un signal de carbone méthylène CH_2O repéré à 64,3 ppm.

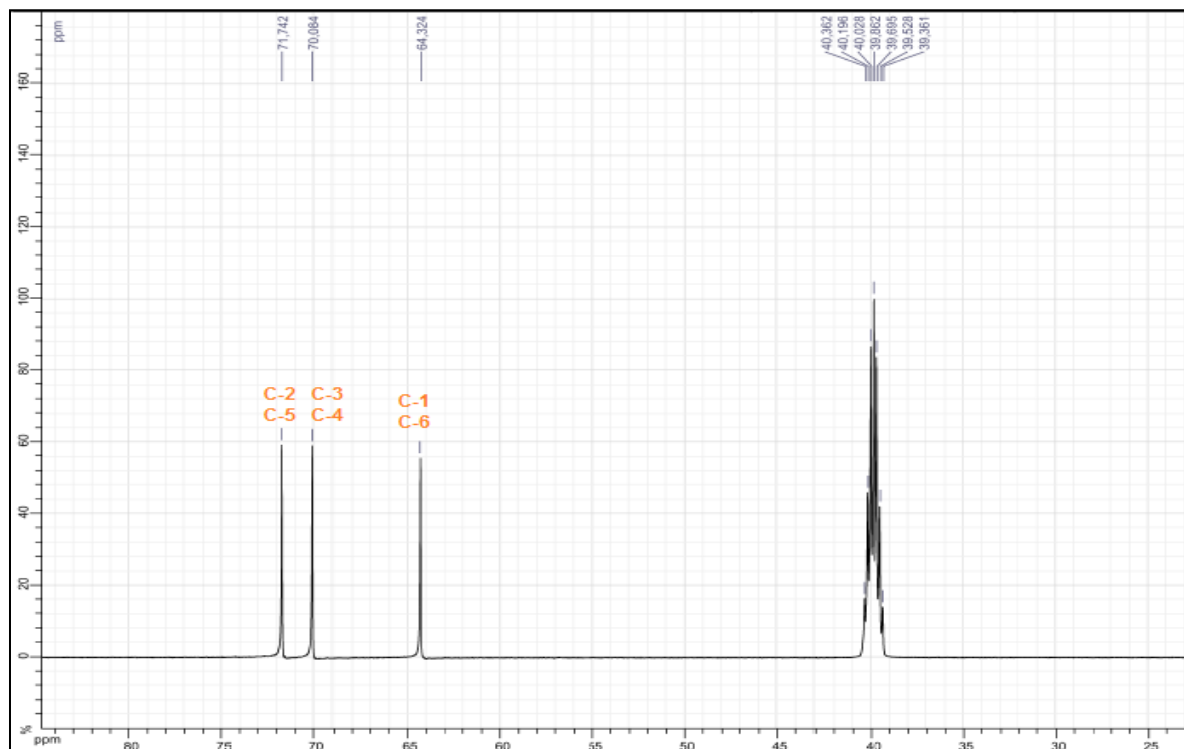


Figure III-72 Spectre RMN ^{13}C du composé VR10

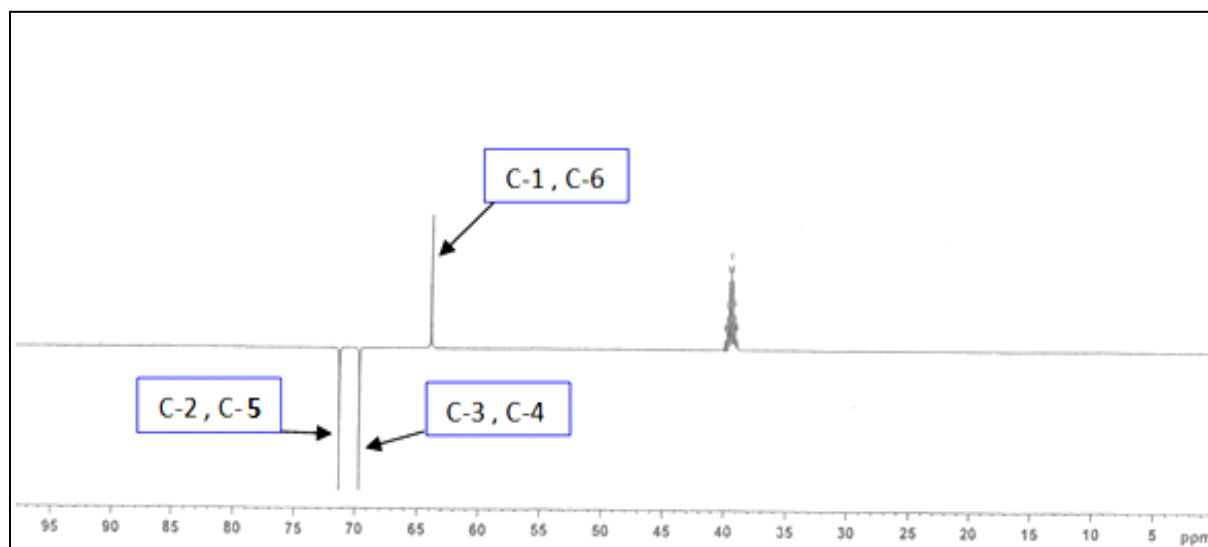


Figure III-73 Spectre RMN ^{13}C DEPT du composé VR10

L'examen du spectre RMN ^1H (**Figure III-74**) enregistré dans le DMSO-*d*₆ du composé **VR10** confirme sa simplicité par le nombre des signaux des protons oxygénés qu'il présente dans la zone entre 3,35 ppm et 4,45 ppm. On observe :

- Deux doublets d'intégration 2H chacun résonant à δ_{H} 4,14 ($J = 7,0$ Hz) et δ_{H} 4,41 ($J = 5,5$ Hz) attribuables aux protons hydroxyles OH liés à un groupement méthine (CHOH)
- Un triplet d'intégration 2H qui sort à δ_{H} 4,35 ($J = 5,0$ Hz) attribuable au proton hydroxyle attaché à un groupement méthylène (CH₂OH).
- Trois signaux sous forme de multiplet d'intégration 2H chacun sortant à δ_{H} 3,36, 3,45 et à δ_{H} 3,59
- Un signal sous forme de triplet d'intégration 2H résonant à δ_{H} 3,52 ($J = 7,7$ Hz).

Ces constatations ainsi que les résultats obtenus par analyse du spectre de masse indiquent que ce produit possède deux groupements CH₂OH et quatre groupements CHOH.

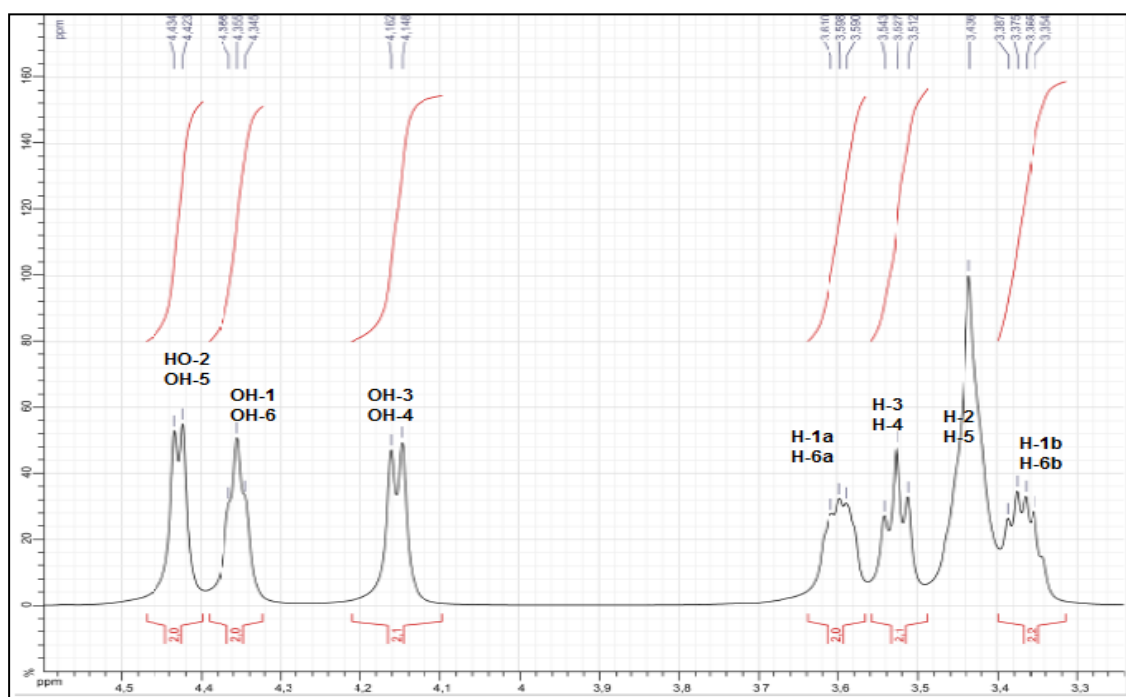
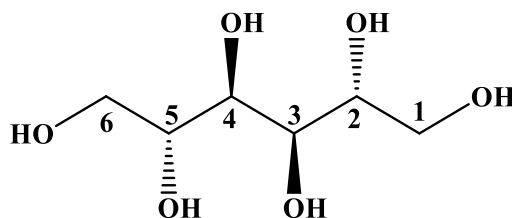


Figure III-74 Spectre RMN ^1H du composé VR10

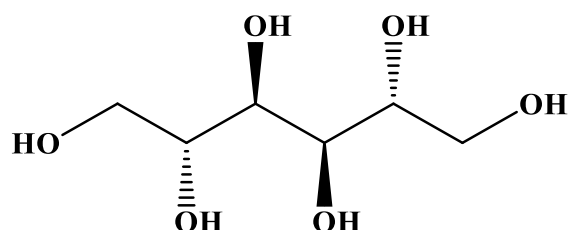
La combinaison des données fournies par l'analyse des spectres RMN ^{13}C (Figure III-72), DEPT (Figure III-73) et RMN ^1H (Figure III-74) permettent de proposer pour ce composé la structure suivante :



Cette proposition se trouve en parfait accord avec les données de la littérature [44] et conduit ainsi à l'identification de tous protons et carbones du produit **VR10** comme suit :

- Le signal du carbone à δC 64,3 ppm attribuable aux carbones C-1 et C-6.
- Le signal du carbone à δC 70,0 ppm attribuable aux carbones C-3 et C-4.
- Le signal du carbone à δC 71,7 ppm attribuable aux carbones C-2 et C-5.
- le signal multiplet à δH = 3,36 ppm attribuable aux protons H-1b et H-6b.
- le signal multiplet à δH 3,45 ppm attribuable aux protons H-2 et H-5.
- Le signal sous forme de triplet à δH 3,52 (J = 7,7 Hz) attribuable aux protons H-3 et H-4.
- le signal multiplet à δH = 3,59 correspondant aux protons H-1a et H-6a.

Sur la base de cette analyse et par comparaison avec les données de la littérature [44, 30,45,46] le composé **VR10** est identifié comme étant le 1,2,3,4,5,6-hexanehexol connu sous le nom Mannitol. Composé isolé antérieurement de plusieurs espèces du genre *Veronica* : *V. ligustrifolia* [47], *V. andersonii* [48], *V. axillare* [44, 30], *V. salicifolia*, *V. argute-serrata* [37, 30], *V. perfoliata* [49].



Les déplacements chimiques des protons et carbones du composé **VR10** sont regroupés dans le (tableau III-12) suivant :

Tableau III-11: Déplacements chimiques RMN ^1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) du composé VR10 dans DMSO- d_6 .

Position	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), (<i>m</i> , <i>J</i> (Hz))
1(a)	64,3	3,36 (2H, m)
(b)		3,59 (2H, m)
2	71,7	3,45 (2H, m)
3	70,0	3,52(2H, t, <i>J</i> =7,7)
4	70,0	3,52 (2H, t, <i>J</i> = 7,7)
5	71,7	3,45 (2H, m)
6 (a)	64,3	3,59 (2H, m)
(b)		3,36 (2H, m)

III-6 Conclusion

Ce travail présente une étude phytochimique réalisée sur les parties aériennes de l'espèce *Veronica rosea*. Cette plante qui appartient à la famille Plantaginacea n'a jamais été étudiée du point de vue chimique. Au cours de cette étude dix composés ont été isolés et identifiés. Ils se répartissent en :

➤ Sept flavonoïdes :

- Isoscutellareine 7-*O*- [6-*O*-acétyl-β-D -allopyranosyl- (1 → 2)] - β-D-glucopyranoside
- Isoscutellareine-7-*O* -β-D-glucopyranoside
- Isoscutellareine-8-*O* -β-D-glucopyranoside
- Isoscutellareine
- Apigénine-7-*O*-β-glucopyranoside
- Lutéoline
- Lutéoline-7-*O*-Glucoside

➤ Deux iridoïdes

- macfadénoside
- Ajugol

➤ Un sucre

- Mannitol

Il est à noter que les deux flavonoïdes l'isoscutellareine-8-*O*-β-D-glucopyranoside et Isoscutellareine ainsi l'iridoïde Macfadénoside sont identifiés pour la première fois dans le genre *Veronica*.

Références

- [1] Albach D.C., Grayer R.J., Jensen S.R., Ozgökçe F. Veitch N.C., (2003). Acylated flavone glycosides from *Veronica*, *Phytochemistry* 64,1295-1301.
- [2] saracoğlu İ., harput ü. ş., oghara y., (2004). Acylated Flavone Glycosides from *Veronica pectinata* var. *glandulosa* and *V. persica*, *Turk. J. Chem.*, 28, 751-759.
- [3] Gurni, A. A.; König, W.A.; Kubitzki, K. ,(1981). Flavonoid glycosides and sulphates from the *dilleniaceae*. *Phytochemistry*, 20, 1057–1059.
- [4] Chari, V.M., Grayer-Barkmerjier, R.J., Harborne, J.B., Osterdahl,B.G., (1981). An acylatedallose-containin 8-hydroxyflavone glycoside from *Veronica filiformis*. *Phytochemistry*, 20, 1977–1979.
- [5] Abdel-Sattar A., Bankova V., Popov S., (1995). Acylated flavonoid glycosides from *Sideritisscardica*, *Fitoterapia*, 66, 190.
- [6] Luz Rordiguez-Lyon M., Diaz-Lanza A.M., Bernabe M., (2000). Villaescusa-Castillo L., Flavone glycosides containing acetylate dsugars from *Sideritishys sopifolia Magn.* *Reson. Chem.*, 38, 684-687.
- [7] Saracoglu I., VarelM., HarputUS., Nagatsu A., (2004). Acylated flavonoids and phenol glycosides from *Veronica thymoides* subsp. *Pseudocinerea*, *Phytochemistry*, 65(16):2379-85.
- [8] Harput, U.S., (2002). Phytochemical and biological studies on some Turkish medicinal plants. PhD Thesis, Nagoya City University, Nagoya, Japan.
- [9] Wang C.-Z., Jia Z.J. and Liao J., (1995). Flavonoid and iridoid glycosides from *Veronica didyma* Tenore, *Indian J. Chem.* 34B, 914-916.
- [10] KoçE., ÜngördüA., CandanF., (2019). Antioxidant properties of methanolic extract of '*Veronica multifida*' and DFT and HF analyses of its the major flavonoid component, *Journal of Molecular Structure*, 1179, 436-442.
- [11] Marin, P.D., Grayer, R.J., Grujic-Jovanovic, S., Kite, G.C., Veitch, N.C. (2004) Glycosides of tricetin methyl ethers as chemosystematic markers in *Stachys* subgenus *Betonica*. *Phytochemistry*, 65, 9, 1247–1253.
- [12] JelenaČ. Ž., Joao Barreira, Katarina C. M., Savikin P., Alimpic Ana Z., Dejan S. S., Maria I. D., Celestino S. B., Duletic-Lausevic S. N., Ferreirab Isabel C. F. R., (2017). Chemical Profiling and Assessment of Antineurodegenerative and Antioxidant Properties of *Veronica teucrium L.* and *Veronica jacquiniibaumg.* *Chem. Biodiversity*, 14, 8, e1700167.

-
- [13] Jay M., Gonnet J.F., (1973). isoscutellaréine isolée de *Pinguicula vulgaris*, *Phytochemistry*, 12, 953 - 954.
- [14] Agrawal, P.K. (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids. Central Institute of Medical and Aromatic Plants, India. Édition, Elsevier, New York.
- [15] Matławskaa I., Sikorskaa M., El-Sayedb N. H., Budzianowski J., Hołderna-Kędziad E. and Mabry Tom J., (2007). Bioactive Flavone Sulfates of *Abutilon indicum* Leaves, *Natural Product Communications*, 2, 1003-1008.
- [16] Jan G., (1991). Flavonoids, Phenolic Acids and Coumarins from the Roots of *Althaea officinalis*, *Planta. Med.* 57(3), 284-285.
- [17] Topcu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkurkcu, G., Öztürk, M., Ulubelen, A. A., (2007). new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*. 103(3): 816–822.
- [18] Upson, T.M., Grayer, R.J., Greenham, J.R., Williams, C.A., Al-Ghamdi, F., Chen, F.H., (2000). Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochem. Syst. Ecol.* 28, 991–1007.
- [19] Gamez, M.J., Jimenez, J., Risco, S., Zarzuelo, A. (1987). Hypoglycemic activity in various species of the genus *Lavandula*. *Pharmazie* 42, 706–707.
- [20] Yanna C. F. Teles, C. C. Rebello Horta, M. de Fátima Agra, W. Siheri, M. Boyd, J. O. Igoli, A. I. Gray, and M. de Fátima Vanderlei de Souza (2015). New Sulphated Flavonoids from *Wissadulaperiplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae), *Molecules*, 20, 20161–20172,
- [21] Yoon, K.D.; Jeong, D.G.; Hwang, Y.H.; Ryu, J.M.; Kim, J. (2007). Inhibitors of osteoclast differentiation from *Cephalotaxus koreana*. *J. Nat. Prod.* 70, 2029–2032,.
- [22] Jun L., Hua J., Renbing S., (2009) A new acylated quercetin glycoside from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni *Natural Product Research* 23, 15, 1378–1383
- [23] Barreira J. C.M., Inês Dias M., Živković J., Stojković D., Soković M., Santos-Buelgab C., Ferreira I. C.F.R., Phenolic profiling of *Veronica* spp. grown in mountain, urban and sand soil environments, *Food Chemistry* 163, 275-83, 2014.
- [24] Grayer-Barkmeijer R. J., 'Flavonoids in *Parahebe* and *Veronica*: a chemosystematic study', *Biochem. Syst. Ecol.* 6, 131 – 137, 1978.
- [25] Agrawal P. K., NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry*, 31, 10, 3307-3330, 1992.
- [26] Mabry T.J., Markham K.R., and Thomas M.B. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag. Berlin, 1970.
-

-
- [27] Nissler L. and Pedro J. Flavonoid binding to a multi-drug-resistance transporter protein: an STD-NMR study". *Anal. Bioanal. Chem.*, 379, 1045–1049, 2004.
- [28] Markham K.R. *Techniques of Flavonoid Identification*. Academic Press. London. (1982).
- [29] Kevin A. Flavonoid characters contributing to the taxonomic revision of the *Hebe parviflora* complex, *phytochemistry*. 56, 453-461, 2001.
- [30] Salehi B., Shetty M. S., Anil Kumar N. V., Živković J., Calina D., Docea A. O., Emamzadeh-Yazdi S., Sibel Kılıç C., Goloshvili T., Nicola S., Pignata G., Sharopov F., M. del Mar Contreras, Cho W. C., Martins N. and Sharifi-Rad J., *Veronica* Plants—Drifting from Farm to Traditional Healing, Food Application, and Phytopharmacology, *Molecules*, 24, 13, 2454, 2019.
- [31] Bharat S., Ram Avtar S., *Secondary Metabolites of Medicinal Plants*, Volume 1,2,3 et 4 2020.
- [32] Ozipek M., Saracoglu I., Kojima K., Ogihara Y., Calis I., Fuhioside, a New Phenylethanoid Glucoside from *Veronica fuhii*, *chem. Pharm. Bull.* 47, 4, 561-562, 1999.
- [33] Renee J., Grayer-Barkmeijer Flavonoids in *Parahebe* and *Veronica*: a chemosystematic study, 78, 131-137, 1978.
- [34] Haag-berrurier M., Duquenois P., Extraction and physicochemical characterization of the luteolin in the flowers of the hawkweed *Hieracium pilosella* L. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*. 7, 254, 3419-21, 1962.
- [35] Adriana P., Pinto Jurandir P., Dalva Trevisan F., Ishikawa Noemia K., Braz-Filho R., Iridoid glucoside and antifungal phenolic compounds from *Spathodea campanulata* roots, *Semina: Ciências Agrárias*, 28, 251-255, 2007.
- [36] Arrif S. these de doctorat en sciences « Etude des métabolites secondaires de deux scrophulariacées du genre *Verbascum*: *V. ballii* et *V. dentifolium*, 2008/2009
- [37] Palle P., Charlotte H. G., Steven J. W., Søren Rosendal J., Chemical markers in *Veronica* sect. *Hebe*. II *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 777-784, 2007.
- [38] Rosendal Jensen S., Albach Dirk C., Ohno T., Grayer Rene J., *Veronica*: Iridoids and cornoside as chemosystematic markers *Biochemical Systematics and Ecology* 33 1031-1047, 2005.
-

-
- [39] Bianco A., Guiso M., Iavarone C., Trogolo C., Macfadienoside structure and configuration, *gazzettachimicaitaliana*, 104, 731-734, 1974.
- [40] Aboutable E. A., Hashem F. A., ASleem A., and AMAmoon A., Flavonoids, Anti-Inflammatory Activity and Cytotoxicity of *Macfadyena Unguis-Cati* L. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 5,1, 18–26, 2008.
- [41] bianco A., marcella guiso, G. M. and mauroserafini M., an iridoid from *cymbalaria muralis*, *Phytochemistry*, 44, 8, 1515-1517, 1997.
- [42] serafini M., foddai S., ballerò M., guiso M., bianco A. the occurrence of iridoid glycosides in *cymbalaria* spp. In Italy, *nat. prod. Research* 18, 8, 325-327, 2004.
- [43] Matsaa M., Bardakcib H., Gousiadou C., Kirmizibekmez H., Skaltsaa H., Secondary metabolites from *Scutellaria alba* L. ssp. *velenovskii* (Rech. f.) Greuter & Burdet, *Biochemical Systematics and Ecology*, 83, 71–76, 2019.
- [44] Taskova R., Kokubun T., Ryan Ken G., Garnock-Jones Phil J., Iridoid and Phenylethanoid Glucosides from *Veronica laudiana* *Journal of Natural Products* 74, 6, 1477-83, 2011.
- [45] Branco A., Jener D., Santosa Monalisa G., Pimentel M.A.M., Juan Osuna T.A., Luciano L. S., Jorge M. D., d-Mannitol from *Agave sisalana* biomass waste, *Industrial Crops and Products* 32, 507–510, 2010.
- [46] Ferhat M., Harkat H., Lavaud C., Hamada H., Long C., Benkhaled M., Iridoids and flavonoid from *Linaria aegyptiaca* (L.) Dum. subsp. *fruticosa*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 833–835, 2010.
- [47] Taskova, R.M., Gotfredsen, C.H., Jensen, S.R., *Chemotaxonomy of Veroniceae and its allies in the Plantaginaceae. Phytochemistry* 67, 286-301, 2006.
- [48] Phillip Kroll-Møller K.,
D. Pedersen Chrysoula Gousiadou Tetsuo Kokubun Albach D., Taskova R., Phil J. Garnock-Jones Charlotte H., Gotfredsen Søren R. J., Iridoid glucosides in the genus *Veronica* (Plantaginaceae) from New Zealand, *Phytochemistry* 140, 174-180, 2017.
- [49] Søren R. J., Charlotte H. G., Renée Grayer J., Unusual iridoid glycosides in *Veronica* sects. *Hebe* and *Labiatooides*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 207-215, 2008.
-

Chapitre IV
Etude des activités anti
corrosion et anti oxydante

IV Propriétés inhibitrices de corrosion

IV-1 Introduction

La corrosion est une interaction physico-chimique entre un métal et son environnement entraînant des modifications dans ses propriétés et souvent une dégradation fonctionnelle. Plusieurs méthodes sont disponibles pour empêcher ou retarder la corrosion des matériaux métalliques (**Figure VI-1**). L'utilisation des inhibiteurs est l'une des meilleures techniques qui assure leur protection lorsqu'ils sont en contact avec des milieux agressifs. Récemment les extraits de plantes sont devenus une source d'inhibiteurs écologiques qui garantissent une efficacité élevée à un prix moins cher [1, 2]. L'inhibition de la corrosion à base des produits naturels résulte de leur adsorption à la surface du métal. Ces phénomènes d'adsorption peuvent être décrits par deux principaux types d'interaction, à savoir l'adsorption physique et la chimisorption. Ces deux types d'adsorption sont influencés par la nature, la charge du métal, la structure de l'inhibiteur et le type d'électrolyte [3,4,5,6]

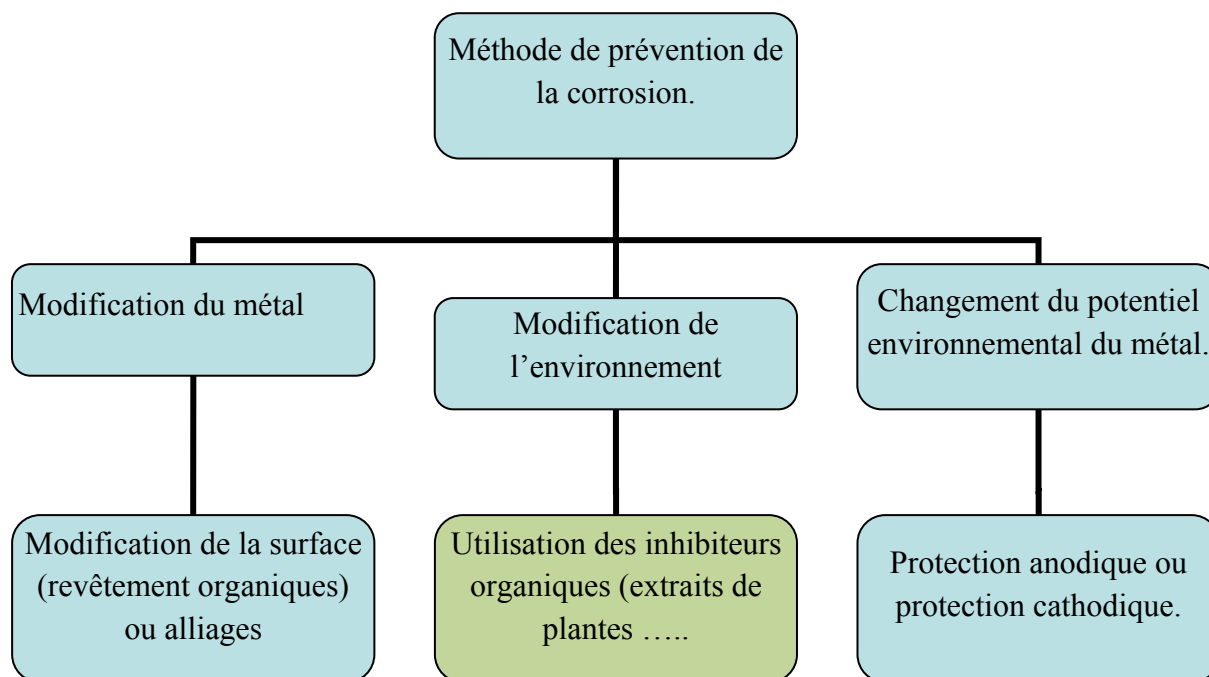


Figure VI-1 Les méthodes de préventions de la corrosion d'un métal.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'efficacité inhibitrice de l'extrait *n*-butanolique de l'espèce *Veronica rosea* à la corrosion du cuivre en milieu acide nitrique (HNO₃ ; 1M). En utilisant l'analyse gravimétrique et la polarisation électrochimiques.

Notre choix est justifié par l'utilisation de l'acide nitrique comme agent décapant dans le domaine de l'électronique où le cuivre est notamment le matériau conducteur par excellence.

Généralement les inhibiteurs organiques agissent par adsorption sur la surface du métal. Afin de déterminer le mode d'action de notre inhibiteur, nous avons calculé et interprété certaines grandeurs thermodynamiques du processus d'activation et d'adsorption (ΔG^0_{ads} et K_{ads}).

IV-2 Analyse gravimétrique

IV-2-1 La gravimétrie

Cette ancienne technique repose sur la mesure directe de la perte de masse (Δm) subie par un échantillon de surface (S), supposée homogène, pendant le temps (t) d'immersion dans une solution corrosive maintenue à température constante. Cette méthode permet de déterminer la vitesse de corrosion, le taux de recouvrement et l'efficacité inhibitrice de corrosion [7]. Elle présente l'avantage de ne pas nécessiter un appareillage important et une mise en œuvre simple.

IV-2-2 La méthode de la perte de masse

IV-2-3 Matériels et méthode

Le cuivre testé dans cette étude est de pureté très élevée 99,9%. Des échantillons de 20 mm sur 2 mm ont été utilisés et nettoyés par lavage à l'eau distillée, dégraissés par l'acétone et lavés une fois de plus avec de l'eau distillée, puis séchés et pesés à l'aide d'une balance analytique ($\pm 0,1$ mg).

La solution corrosive a été préparée par la dilution du HNO_3 de qualité analytique en utilisant de l'eau distillée. Des concentrations de l'inhibiteur (extrait *n*-butanol) de 20, 50, 100 et 300 ppm/ml ont été préparées dans la solution d'électrolyte.

IV-2-4 mesure de la perte de masse

Les échantillons de cuivre ayant une superficie de $1,3182 \text{ cm}^2$ ont été complètement immergés dans des béchers contenant 50 ml de HNO_3 1M, en absence et en présence de différentes concentrations de l'extrait *n*-butanolique de *V. Rosea* à température ambiante. Ces échantillons ont été retirés de la solution électrolytique après 6h, lavés à l'eau distillée et à l'acétone, bien séchés puis pesés une deuxième fois sur une balance analytique.

A partir des données de perte de masse, la vitesse de corrosion (V_{corr}), l'efficacité inhibitrice EI (%) et le taux de recouvrement (θ) ont été calculés en utilisant les équations suivantes :

$$V_{\text{Corr}} = \frac{\Delta m}{A t} \quad \text{Eq .1}$$

$$\text{EI (\%)} = \frac{\Delta m_{(\text{blanc})} - \Delta m_{(\text{inh})}}{m_{(\text{blanc})}} * 100 = \left(1 - \frac{\Delta m_{(\text{inh})}}{\Delta m_{(\text{blank})}} \right) * 100 \quad \text{Eq .2}$$

$$\theta = \frac{\text{EI (\%)}}{100} \quad \text{Eq .3}$$

Où :

V_{corr} est la vitesse de corrosion,

$\Delta m_{(\text{blanc})}$ et $\Delta m_{(\text{inh})}$ sont la perte de masse de l'échantillon sans et avec inhibiteur en **mg**.

A la surface de l'échantillon en cm^2

t est le temps d'immersion en **h**

IV-2-5 Mesures électrochimiques

Les expériences électrochimiques ont été effectuées à l'aide de potentiostat/Galvanostat PGP 201 Voltalab. La gestion des manipulations est réalisée à l'aide du logiciel voltmaster 4 piloté à l'aide d'un PC, ce qui permet l'acquisition des données. Ce potentiostat est connecté à une cellule à trois électrodes : une électrode au calomel saturé et une électrode de platine ont été utilisées comme électrodes de référence et auxiliaires. L'électrode de travail est constituée du même échantillon de cuivre utilisé pour les mesures gravimétriques. Pour l'étude de la polarisation, des échantillons de cuivre ont été exposés à 50 ml de HNO_3 1 M en absence et en présence de l'extrait *n*-butanolique de *Veronica rosea*.

L'efficacité inhibitrice (ϵ'), est calculée en appliquant la relation (Eq. 4)

$$\epsilon' \% = \left(1 - \frac{i'_{\text{corr}}}{i_{\text{corr}}} \right) \times 100 \quad \text{Eq .4}$$

i_{corr} et i'_{corr} sont les densités de courant de corrosion du cuivre en l'absence et en présence

d'inhibiteur respectivement.

Les courbes de polarisation nécessitent la connaissance du potentiel libre. Après différents essais, nous avons opté pour une immersion de l'échantillon pendant une durée de 30 minutes. Ce temps est suffisant pour obtenir une stabilisation satisfaisante du potentiel libre.

IV-3 Effet de la concentration sur la perte de masse, la vitesse de corrosion et l'efficacité inhibitrice

Une série de mesures de perte de masse a été effectuée dans une solution HNO₃ 1M en absence et en présence de l'extrait *n*-butanolique de l'espèce *Veronica rosea* à différentes concentrations. L'efficacité inhibitrice est déterminée après 6 h d'immersion, à température ambiante.

Les résultats de l'effet de la concentration de notre inhibiteur étudié sur la perte de masse, la vitesse de corrosion et l'efficacité inhibitrice sont regroupés dans le **Tableau VI-1**

Tableau VI-1 Les paramètres de corrosion obtenus par gravimétrie de cuivre en absence et en présence des inhibiteurs à différentes concentrations et à 298 K après 6h d'immersion dans la solution corrosive HNO₃1M.

<i>Inhibiteur</i>	<i>C (ppm)</i>	<i>Δm(g)</i>	<i>V_{corr}(g/cm²h)</i>	<i>θ</i>	<i>EI(%)</i>
<i>Extrait n-butanol</i>	Blanc	14,2	1,79		
	20	9,5	1,20	0,330	33,09
	50	4,0	0,50	0,711	71,18
	100	1,5	0,18	0,894	89,43
	300	0,8	0,10	0,943	94,36

Selon les résultats obtenus, nous remarquons que l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur dans le milieu corrosif provoque une diminution de la vitesse de corrosion, par contre l'efficacité d'inhibition augmente et atteint une valeur maximale de 94% pour une concentration de 300ppm. Cette variation est probablement liée à la forte interaction de l'extrait *n*-butanolique et son adsorption sur la surface du cuivre.

La **Figure VI-2** illustre l'évolution de l'efficacité inhibitrice ainsi la vitesse de corrosion du cuivre immergé dans la solution acide HNO₃ 1M en fonction de la concentration de

l'inhibiteur (extrait *n*-butanolique). Cette figure montre clairement que la valeur maximale de l'efficacité inhibitrice est 94,36% et la vitesse de corrosion minimale à 0,1 mg/cm²h, ceci indique que l'extrait *n*-butanolique présente de très bonnes propriétés inhibitrices pour le cuivre dans une solution HNO₃ 1M.

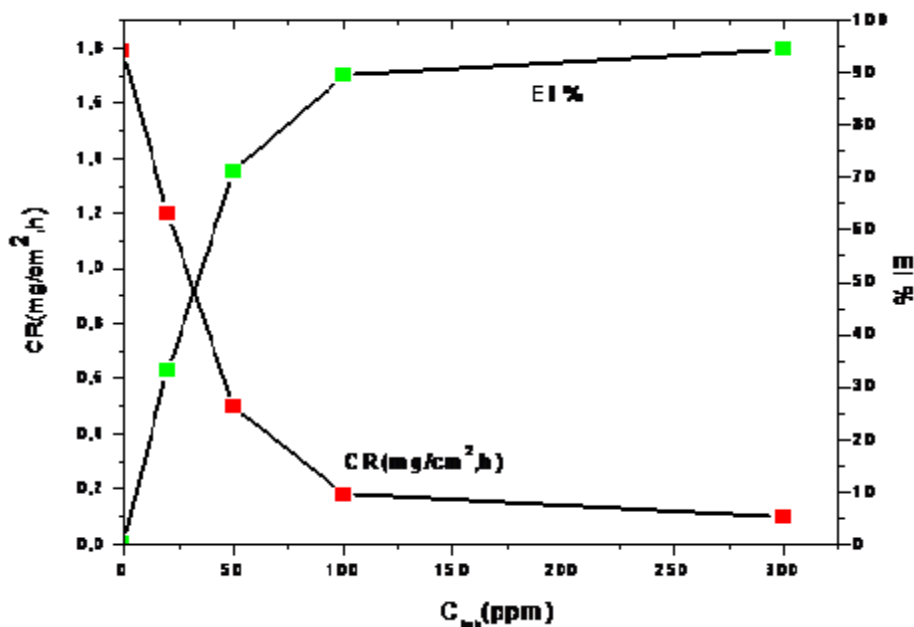


Figure VI-2 Variation de la vitesse de corrosion et de l'efficacité d'inhibition avec différentes concentrations de l'extrait de butanol de *Veronica rosea* à 20 °C (293 K)

IV-4 Courbe de polarisation

Afin de confirmer les résultats obtenus par l'étude gravimétrique, nous avons fait appel à la mesure des courbes de polarisation potentiodynamique [8, 9]. Le domaine de concentration étudiée a été limité à la concentration critique de l'extrait, à savoir 300 ppm. Le tracé de la courbe de polarisation a été effectué dans un domaine de potentiel correspond à [-300 à +300 mV]. Avant toute manipulation l'électrode de travail est maintenue préalablement immergée pendant 30 minutes au potentiel de corrosion. Après plusieurs essais, et afin d'obtenir une bonne reproductibilité des résultats, nous avons opté à une vitesse de balayage égale à de 0,16mV/s.

Ensuite, i_{corr} a été utilisé pour calculer l'efficacité d'inhibition et la couverture de surface (θ) comme indiqué ci-dessous (Eq 5).

$$\%IE = \theta \times 100 = \left(1 - \frac{i_{cor}}{i^{o}cor}\right) \times 100 \quad \text{Eq .5}$$

Où i_{corr} et $i^{\circ}\text{corr}$ sont le courant de corrosion pour l'électrode de cuivre sans et avec l'extrait *n*-butanolique de *Veronica rosea*, respectivement.

Les courbes de polarisation en absence et en présence de l'extrait *n*-butanolique en milieu HNO_3 1M, à température ambiante, sont reportées sur la **Figure VI-3**.

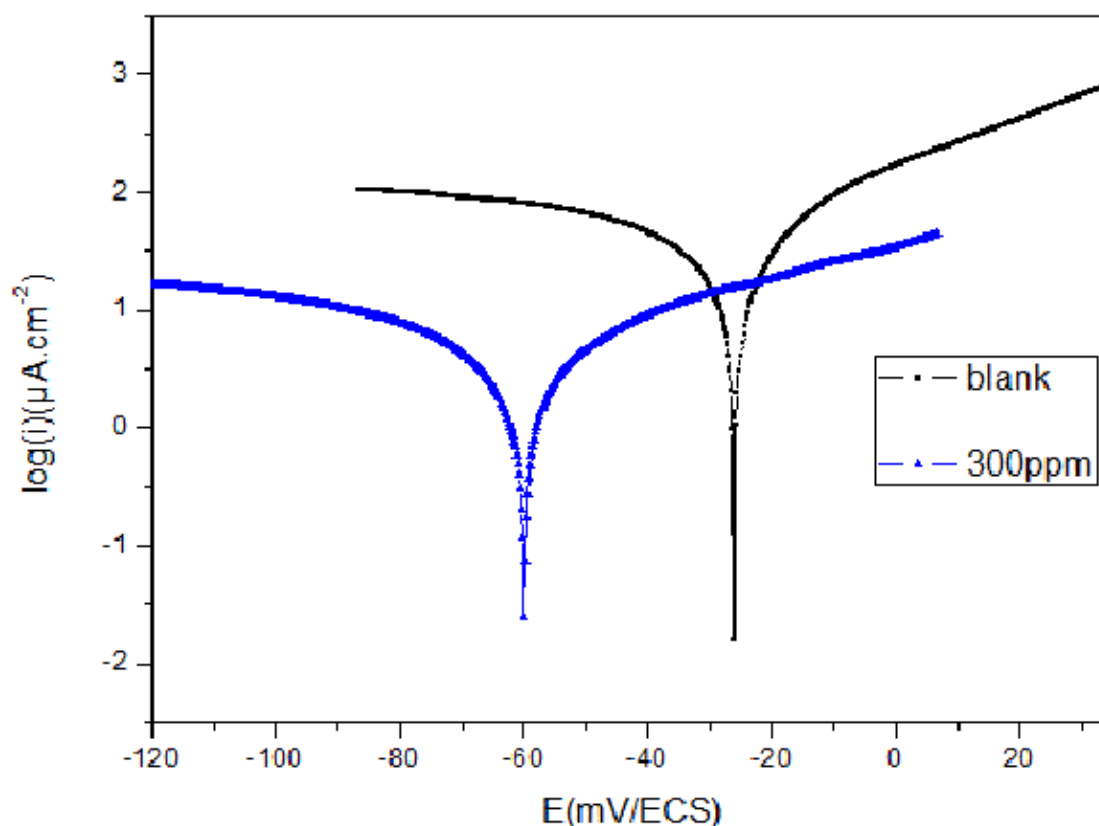


Figure VI-3 Représentations de Tafel du cuivre dans une solution de HNO_3 (1M) en absence et en présence de l'extrait butanolique de *Veronica rosea*.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'addition de l'extrait *n*-butanolique conduit à une diminution des densités de courants anodiques et cathodiques. Les valeurs de ces derniers (i_{corr}), les potentiels de corrosion (E_{corr}), les pentes cathodiques et anodiques (β_a et β_c) et le pourcentage d'efficacité d'inhibitrice (**EI**) sont regroupés dans le **tableau VI-2**.

Tableau VI-2 Les paramètres électrochimiques de corrosion obtenus pour le cuivre en absence et en présence de l'extrait butanolique de *Veronica rosea* dans la solution corrosive HNO_3 1M.

Conc. (ppm)	E(mV)	i_{cor} (mA)	β_c (mV)	β_a (mV)	IE%	Θ
Blank	-26.0	0.1158	-2222	86.9	-	-
300	-60.0	0.0052	-96.3	71.4	95.50	0.955

D'après les données du **Tableau VI.1** et **Figure VI.2**, nous pouvons conclure que :

- La présence de l'extrait *n*-butanolique de *Veronica rosea* provoque une diminution du courant de corrosion (de 0.1118 mA à 0.0052mA).
- L'addition de cet inhibiteur, conduit à une modification des pentes de droites de Tafel cathodique et anodique ainsi que les potentiels de corrosion (de -26mV à -60mV), ce qui permet de classer cet extrait comme inhibiteur mixte
- La surface du cuivre recouverte (θ) en présence de l'extrait *n*-butanolique est de 0.955

Les résultats obtenus par les tests électrochimiques (courbes de polarisation) sont en bonne concordance avec ceux obtenue par les mesures gravimétriques.

VI-5 Isothermes d'adsorption et détermination des paramètres thermodynamiques

L'inhibition de la corrosion au moyen des molécules organiques résulte généralement de leur adsorption à la surface du métal. La détermination des paramètres thermodynamiques caractérisant le type adsorption permet souvent à élucider le mode d'action de ces inhibiteurs. Selon la nature des interactions entre les molécules inhibitrices et de la surface métallique, on distingue deux types d'adsorption: la chimisorption et la physisorption.

Pour modéliser le processus d'adsorption, plusieurs isothermes d'adsorption ont été développés dans la littérature, tel que : Langmuir, Frumkin, Temkin, et Flory-Huggins [6, 9, 10, 11,12]. Les valeurs obtenues du taux de recouvrement θ pour les différentes concentrations de l'extrait *n*-butanolique (**Tableau VI-1**) ont été utilisées pour déterminer l'isotherme correspondante au processus d'adsorption. Pour parvenir, les différents isothermes citées ont été testés (**figures : VI-4, VI-5, VI-6 et VI-7**), afin de trouver l'isotherme d'adsorption convenable.

Un isotherme de Langmuir pourrait appliquer à ce phénomène, qui est donné par l'équation suivante.

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{1}{K_{ads}} + C_{inh} \quad \text{Eq .6}$$

Où : K_{ads} : est la constante d'équilibre du processus d'adsorption.

C_{inh} : la concentration de l'inhibiteur dans la solution.

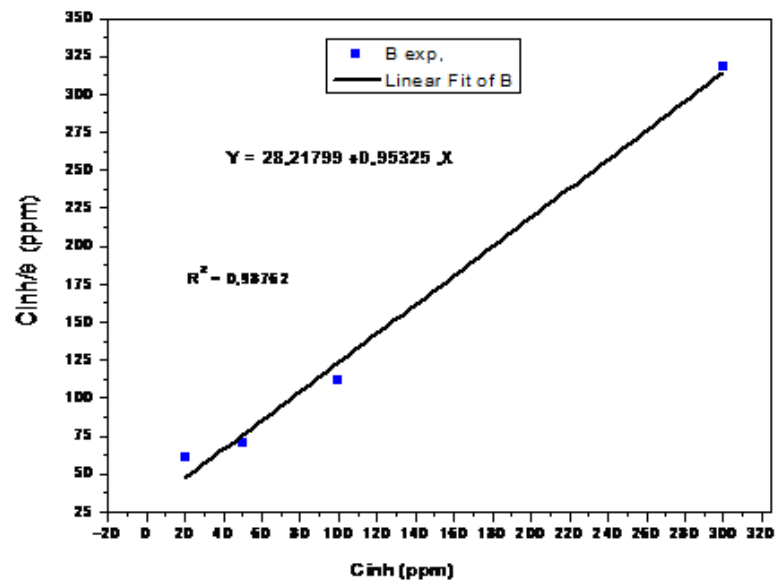


Figure VI-4 Modèle de l'isotherme de Langmuir pour l'adsorption de la l'extrait n-buanolique de *V. rosea* sur la surface du Cuivre dans HNO_3 1.0 M

Le modèle caractéristique de l'isotherme d'adsorption de Temkin est donné par l'équation suivante:

$$\exp(-2a\theta) = K_{ads}C \quad \text{Eq .7}$$

$$\left(\frac{\theta}{1-\theta}\right) \exp(2a\theta) = K_{ads}C \quad \text{Eq .8}$$

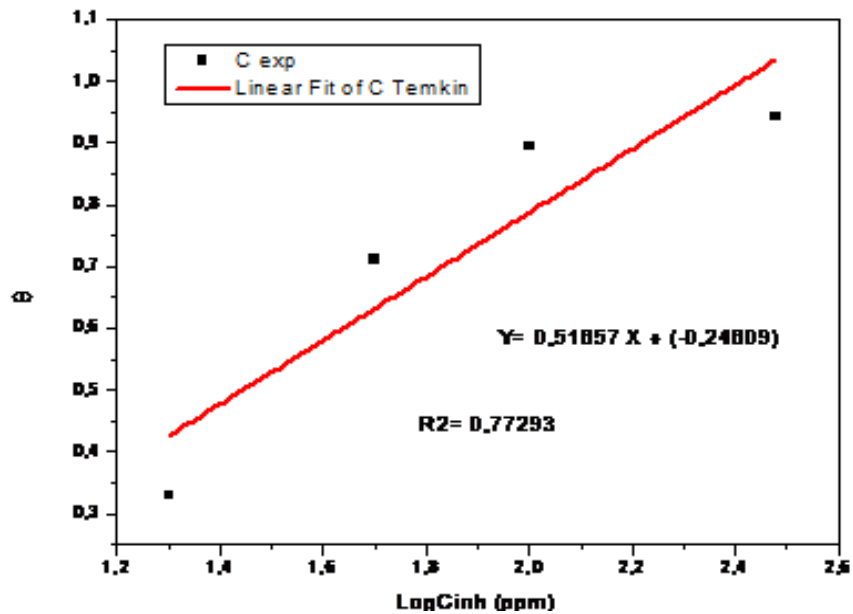


Figure VI-5 Modèle de l'isotherme de Temkin pour l'adsorption de la l'extrait n-buanolique de *V. rosea* sur la surface du Cuivre dans HNO_3 1.0 M

Le modèle caractéristique de l'isotherme d'adsorption de Frumkin est donné par l'équation suivante:

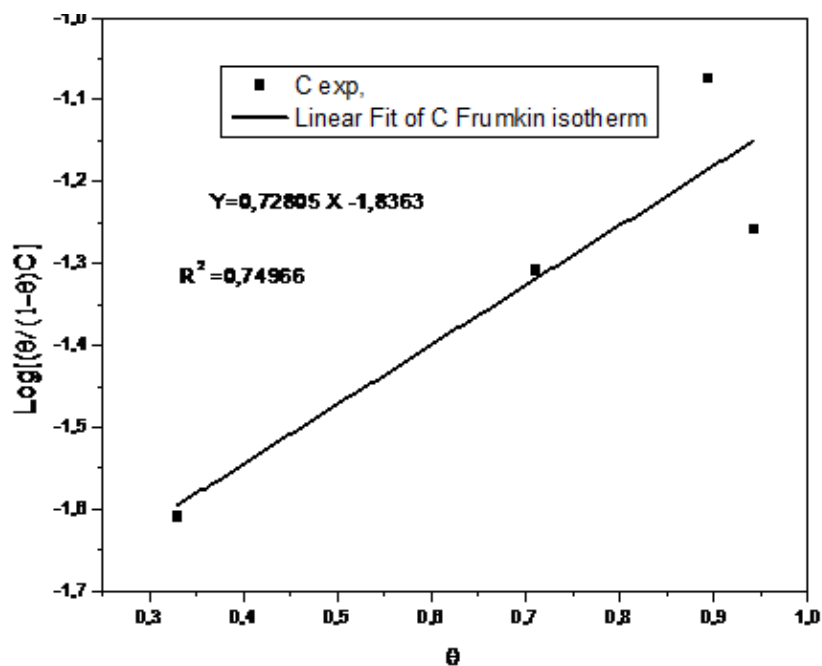


Figure VI-6 Modèle de l'isotherme de Frumkin pour l'adsorption de la l'extrait n-buanolique de *V. rosea* sur la surface du Cuivre dans HNO_3 1.0 M

Le modèle caractéristique de l'isotherme d'adsorption de Langmuir- Freundlich est donné par l'équation suivante :

$$\theta = K_{ads} \times \frac{C_{inh}}{1} + K_{ads} \times C_{inh} \quad \text{Eq. 9}$$

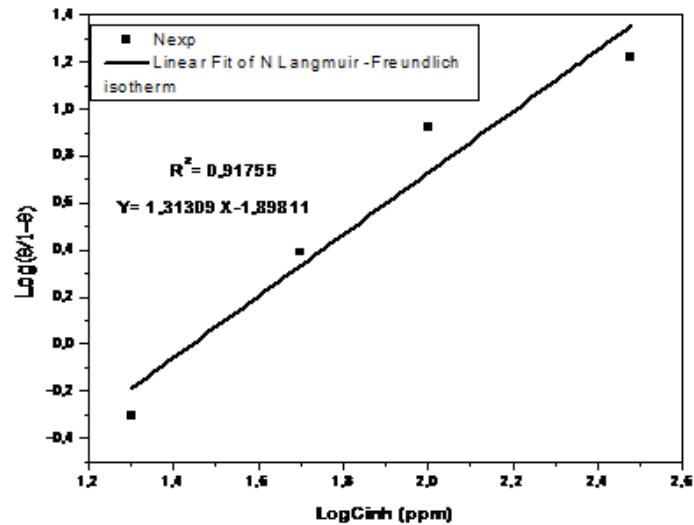


Figure VI-7 Modèle de l'isotherme de Langmuir- Freundlich pour l'adsorption de la l'extrait n-butanolique de *V. rosea* sur la surface du Cuivre dans HNO_3 1.0 M

On remarque que les droites d'ajustement linéaires et leurs coefficients de corrélations R^2 (**Tableau VI-3**) obtenus pour les isothermes testés avec l'inhibiteur étudié (extrait butanolique) montrent que l'extrait *n*-butanolique obéit à l'isotherme d'adsorption de Langmuir. La représentation $C_{inh}/\theta = f(C_{inh})$ pour ce dernier, est une ligne droite avec un coefficient de corrélation très proches de 1 ($R^2= 0.98763$),

Tableau VI-3 Les paramètres de la régression linéaire pour chaque coefficient de corrélation (R^2) cas de l'extrait *n*-butanolique de *Veronica rosea*.

Isotherme	R^2	Slope	intercepte
Langmuir	0,98763	0,95326	28,22051
Temkin	0,77288	0,51653	-0,24604
Frumkin	0,75024	0,72819	-1,83637
Florry-huggin	0,74479	0,62774	-1,58537
Langmuir-freundlich	0,91755	01,31309	-1,89811

L'énergie libre standard d'adsorption (ΔG_{ads}^0) est liée à la constante d'équilibre d'adsorption (K_{ads}) [12, 13, 14, 15, 16] par l'équation suivante :

$$\Delta G_{ads}^0 = -RT \ln (K_{ads} \times 55,55) \quad \text{Eq. 10}$$

Où : K_{ads} est la constante d'équilibre d'adsorption,

ΔG_{ads}^0 est l'énergie libre standard d'adsorption,

55,55 est la concentration d'eau dans la solution en mol/l,

R est la constante de gaz universelle et T est la température absolue en Kelvin.

Les valeurs de K_{ads} et de ΔG_{ads}^0 ont été calculées et sont répertoriées dans le **Tableau VI-4**

Tableau VI-4 Constante d'équilibre (K_{ads}) et énergie libre d'adsorption (ΔG_{ads}^0) d'extrait de butanol de *Veronica rosea* adsorbé à la surface du cuivre dans du HNO₃ 1 M à 293 °K.

Temp. (°K)	R ²	K _{ads} (ppm ⁻¹)	ΔG_{ads}^0 (KJ mole ⁻¹)
293	0,98763	0.0354	-25.503

La valeur négative de l'énergie libre standard d'adsorption (-25,503 kJ mol⁻¹) indique la spontanéité du processus d'adsorption et la stabilité de la couche adsorbée sur la surface du cuivre. Ceci suggère que l'action inhibitrice de l'extrait *n*-butanolique est due à des interactions électrostatiques entre les métabolites secondaires de l'extrait étudié et le cuivre (adsorption mixte) [15, 17, 18,].

IV-6 Activité antioxydante

IV-6-1 Introduction :

Le stress oxydant est un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaire de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense cellulaires antioxydantes. La production de ces d'espèces radicalaires de l'oxygène est utile mais peut être néfaste lors d'une production excessive et en absence de mécanisme de défense. Ces espèces ERO sont impliquées dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose, les maladies

neuro-dégénératives et la cancérogenèse [19, 20, 27]. Pour se protéger des effets toxiques des ERO, l'organisme développe des systèmes de défense antioxydants. Ces derniers sont présents sous de nombreuses formes et peuvent interagir sans danger et participer à leur élimination.

Généralement, les antioxydants sont apportés par les végétaux [27], on y retrouve notamment les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, lignanes, stilbènes), les vitamines (vitamine E, vitamine C et vitamine A) ainsi que les oligoéléments (cuivre, manganèse, sélénium et zinc) [21, 22].

Plusieurs tests standardisés évaluant l'activité antioxydant sont utilisés, dans notre étude nous avons choisis le teste au DPPH pour évaluer la capacité antioxydante de l'extraits *n*-butanolique de l'espèce *Veronica rosea*.

IV-6-2 Teste DPPH

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH* (2,2-DiPhényl-PicrylHydrazyle). Ce dernier est l'un des radicaux libres les plus utilisés pour mesurer la capacité antioxydante. Il se caractérise par son pouvoir à produire des radicaux libres stables par délocalisation des électrons libres au sein de la molécule [23, 24, 25]. La réduction du radical DPPH^o par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie, qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm.(Figure VI-8) [26, 27]

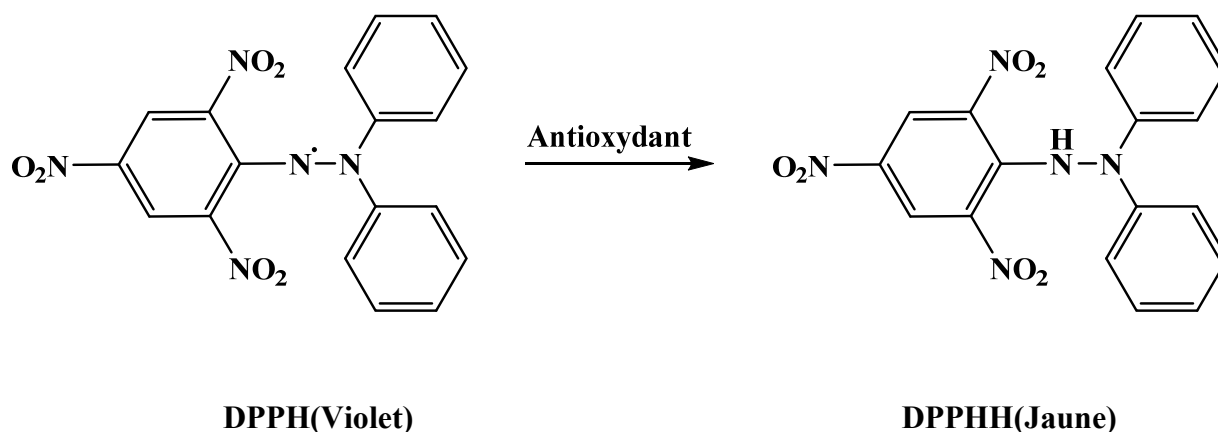


Figure VI-8 Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Ce test a pour avantages d'être facile peu couteux et relativement reproductible. L'activité antiradicalaire est exprimée en IC₅₀ (la concentration minimale inhibitrice), ce paramètre correspond à une réduction de 50% de l'activité du DPPH dans le milieu réactionnel. Plus IC₅₀ est faible, plus la capacité antioxydante est élevée.

IV-6-2-a Mode opératoire

La mesure du piégeage du radical DPPH a été effectuée selon la méthodologie décrite par Bruits et Bucar [28], en utilisant l'acide ascorbique comme contrôle pour la comparaison. 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,1mM) a été mélangé avec 500µl de différentes dilutions de l'extrait testé (0.5 mg/ml). Après 60 min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique a été également analysée à la même concentration.

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Les résultats exprimés en IC₅₀ qui sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait.

Les résultats sont la moyenne de trois expériences menées en parallèle.

IV-6-2-b Résultats et discussion

Les figures (VI-9 et VI-10) présentent les résultats de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et l'extrait butanolique de la plante *Veronica rosea* testé respectivement.

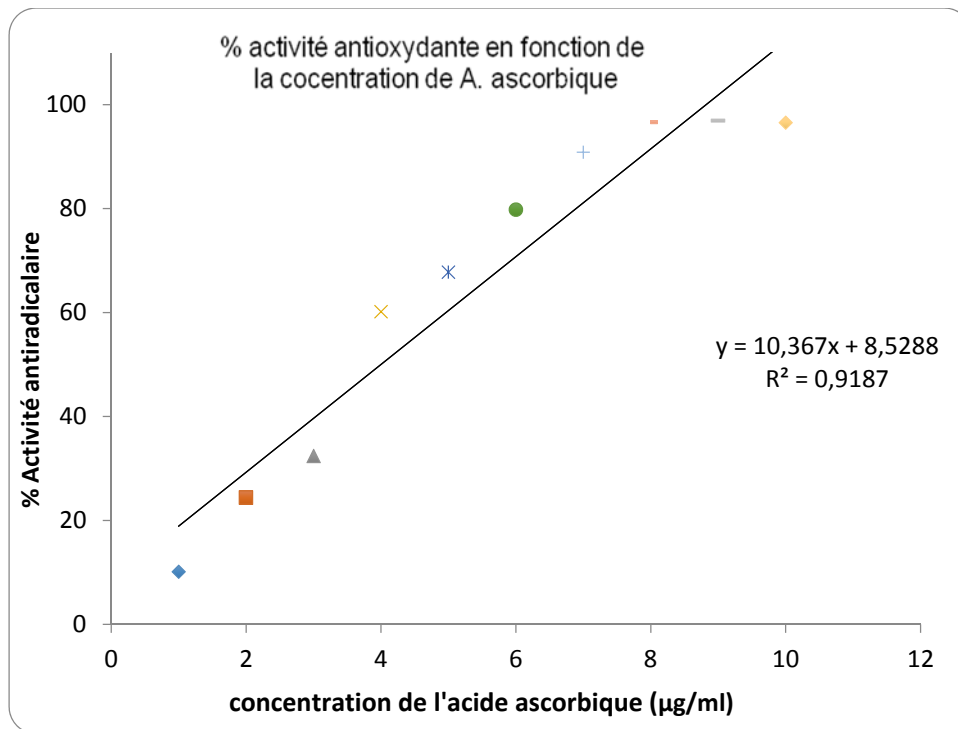


Figure VI-9 Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

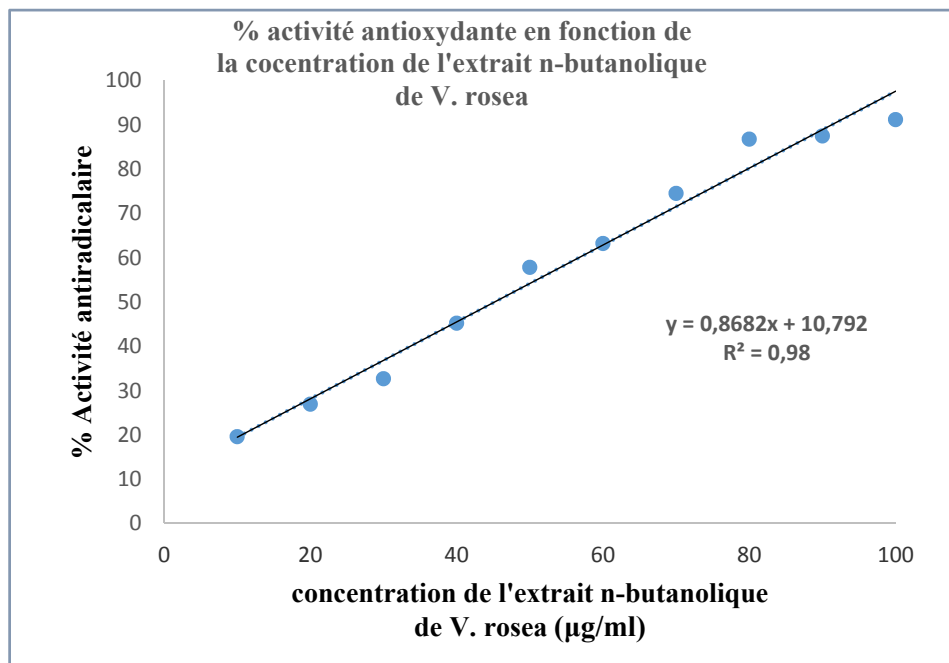


Figure VI-10 Courbe d'étalonnage de l'extrait n-butanolique de la plante V. rosea

Le Tableau VI-5 regroupe les résultats obtenus du pourcentage d'inhibition du radical DPPH pour l'extrait testé

Tableau VI-5 Valeurs des IC_{50} de l'extrait n-butanolique testé et du control acide ascorbique témoin déterminées par le test au DPPH.

L'extrait	IC 50
acide ascorbique	$3,94 \pm 0,26$
Extrait n-butanolique	$45,17 \pm 0,18$

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. Ceci indique que notre extrait est capable de piéger le radical DPPH. Il possède une activité antioxydante intéressante avec une $IC_{50} = 45,17 \pm 0,18 \mu\text{g} / \text{ml}$, en l'occurrence l'acide ascorbique utilisé comme molécule de référence ($IC_{50} = 3,94 \pm 0,26 \mu\text{g} / \text{ml}$). Ce pouvoir antioxydant est dû probablement à sa richesse en flavonoïdes.

Références

- [1] Deng X. Li, Fu S., H., Allylthiourea as a corrosion inhibitor for cold rolled steel in H₃ PO₄ solution, *Corros. Sci.* 55 280–288, 2012.
- [2] Fouda A. S., Mohamed A. E., Khalid M. A., Trigonella stellate extract as corrosion inhibitor for copper in 1M nitric acid solution, *J. Chem. Pharm. Res.*, 8(2):86-98, 2016,
- [3] Khaled K.F., Experimental and atomistic simulation studies of corrosion inhibition of copper by a new benzotriazole derivative in acid medium, *Electrochimica Acta* 54 4345–4352, 2009.
- [4] Ramesh S.V., Airody V. A., Inhibition of corrosion of mild steel in acid media by N'-benzylidene-3-(quinolin-4-ylthio)propanohydrazide, *Bulletin of Materials Science*, **31**, 699–711, 2008.
- [5] Bartley J., Huynh N., Bottle S.E., Flitt H., Notoya T., Schweinsberg D.P., *Corrosion Science* 45, 81, 2003.
- [6] Yu P., Liao D.M., Luo Y.B., Chen Z.G.: Studies of benzotriazole and tolytriazole as inhibitors for copper corrosion in deionized water. *Corrosion* 59, 314–318 (2003)
- [7] Patel K.K., Vashi R.T, Azadirachta Indica Extract as corrosion Inhibitor for Copper in Nitric Acid Medium, *Res. J. Chem. Sci.* 5(11), 59-66, 2015.
- [8] Aisha H. Al-Moubaraki, Corrosion Protection of Mild Steel in Acid Solutions Using Red Cabbage Dye, *Chemical Engineering Communications*, 202, 1069–1080, 2015.
- [9] Debab H., Douadi T., Daoud D., Issaadi S., Chafaa S., Electrochemical and Quantum Chemical Studies of Adsorption and Corrosion Inhibition of Two New Schiff Bases on Carbon Steel in Hydrochloric Acid Media, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 13, 6958 – 6977, 2018.
- [10] Subramanian R., Lakshminarayanan V., Effect of adsorption of some azoles on copper passivation in alkaline *Corrosion Science* 44, 535-554, 2002.
- [11] Villamil R.F.V., Cordeiro G.G.O., Matos J., D'Elia E., Agodtinho S.M.L., Effect of sodium dodecylsulfate and benzotriazole on the interfacial behavior of Cu/Cu(II), H₂SO₄ *Materials chemistry and physics* 78, 448-452, 2002.
- [12] Antonijevic M. M., Petrovic M. B., Copper Corrosion Inhibitors. A review, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 3, 1 – 28, 2008.

-
- [13] Fouda A.S., Shalabi K., Idress A.A., Ceratonia siliqua extract as a green corrosion inhibitor for copper and brass in nitric acid solutions, green chemistry letters and reviews, vol. 8, nos. 3–4, 17–29, 2015.
- [14] Aisha H. Al-Moubaraki, Corrosion Protection of Mild Steel in Acid Solutions Using Red Cabbage Dye, Chemical Engineering Communications 202, 8, 1069-1080, 2015.
- [15] Fouda A.S., Shalabi K., Idress A.A., Thymus Vulgaris Extract as Nontoxic Corrosion Inhibitor for Copper and α -Brass in 1 M HNO₃ Solutions, Int. J. Electrochem. Sci., 9, 5126 – 5154, 2014.
- [16] Issaadi S., Douadi T., Chafaa S., Adsorption and inhibitive properties of a new heterocyclic furan Schiff base on corrosion of copper in HCl 1 M: Experimental and theoretical, j.apsusc., 316, 582-589, 2014.
- [17] E. Khamis, F. Bellucci, R. M. Latanision and E. S. H. El-Ashry, "Acid Corrosion Inhibition of Nickel by 2-(Triphenylphosphoranylidene) Succinic Anhydride," Corrosion, 47, No. 9, 677-686, 1991.
- [18] Donahue F.M., Nobe K., Theory of organic corrosion inhibitors: adsorption and linear free energy relationships, J. Electrochem. Soc. 112, 886, 1965.
- [19] Aïra R., Thèse pour le doctorat en Phytochimie, Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa), Université des Antilles et de la Guyane, 2012.
- [20] Lerverve, X. Stress oxydant et antioxydants ? Cahiers de Nutrition et de Diététique, 44, 5, 219-224, 2009.
- [21] Fontaine E., Barnoud D., Schwebel C., Lerverve X., Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxydants in critically ill patients. Réanimation, 11, 6, 411-420, 2002.
- [22] El Gharras, H. "Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review." International Journal of Food Science and Technology 44, 12, 2512-2518, 2009.
- [23] Brand-williams W., Cuvelier M., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28, 1, 25-30, 1995.
- [24] Lee S.K., Mbawambo Z.H, Chung H.S, L, Games E.J.C, Metha R.G. et al; Evaluation of the antioxidant potential of natural products. Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening; 1, 35-46, 1998..
- [25] Bozin B., Mimica-dukic N., Samojlik I., Goran A., Igić R; phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). Food Chemistry, 111, 925-9, 2008.
-

- [26] Cristina P., Ilonka S., Bartek T., Evaluation de l'activitéantioxydant des composésphénoliquespar la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de génieindustriel, 4, 25-39, 2009.
- [27]Guillouty A., diplomed'etat de docteur en pharmacie, Plantesmédicinalesetantioxydants, universitetoulouse iii paul Sabatier, 2016
- [28]Burits M., Bucar F., Antioxidantactivity of Nigellasativa essential oil, Phytotherapy Research 14, 323-328, 2000.

Chapitre V
Partie expérimentale

V-1 Matériels et appareillages

V-1-1 Matériel végétal

L'identification botanique de la plante étudiée a été réalisée par le professeur Bachir Oujehih, Département d'agronomie, Institut des Sciences Vétérinaires et Agronomiques, Université Batna 1. Le matériel végétal est séché à l'abri de la lumière et à la température ambiante.

V-1-2 Récolte de la plante *Veronica rosea*

La plante *Veronica rosea* a été récoltée en mois d'août 2015 dans la région de chelia (khenchela). Après séchage, les parties aériennes de cette espèce ont été broyées pour donner 0,5 Kg de poudre fine.

V-1-3 Méthodes chromatographiques de séparation

V-1-3-a Chromatographie sur couche mince et Epaisse (CCM et CCE)

Les analyses par chromatographie sur couche mince (CCM) ont été effectuées en phase normale avec des plaques de Silica gel 60 F254 (Merck) sur feuille d'aluminium. Pour la migration des composés, nous avons utilisé divers systèmes de solvants.

Après développement dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié, les plaques ont été observées à la lumière visible et sous lampe UV (à 254 et 365 nm). Ensuite, elles ont été révélées par le chlorure d'aluminium ou par la vanilline sulfurique.

Les purifications sur couche épaisse (CCE) ont été réalisées sur des plaques préparatives en verre recouverte de Silic agel [Kieselgel 60 F254, Merck® 250 µm (20 Å~ 20 cm)].

V-1-3-b Chromatographie sur colonne (CC)

Des colonnes ouvertes sur polyamide SC6 et gel de silice Merck Kieselgel 60 (70-230 Mesh) ont été utilisées, en utilisant une quantité de silice 40 fois supérieure à la quantité de l'échantillon à déposer. La taille des colonnes, le débit de la phase mobile et le volume des fractions ont été adaptés à la quantité et à la nature (extrait, fraction) des échantillons à séparer.

Le choix des conditions d'élution, le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions ont été effectués sur la base d'analyses par CCM. L'hexane, le toluène, le dichloromethane et le méthanol ont été utilisés comme systèmes d'élution.

V-1-4 Méthodes d'identification structurale.

V-1-4-1 Spectrométrie Ultraviolet-Visible (UV-Vis)

Les spectres UV-Vis des composés ont été enregistrés dans le méthanol sur un spectrophotomètre de type Jasco V-530, piloté par un logiciel Spectra Manager.

V-1-4-2 Spectrométrie de masse (ESI-MS) et (EI)

Les spectres de masse des composés obtenus ont été enregistrés en ionisation par électrospray basse résolution (ESI-MS) en mode positif et négatif. Les échantillons sont solubilisés dans le MeOH.

V-1-4-3 Spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN).

Les spectres de résonance magnétique nucléaire RMN sont enregistrés à 500 et 400 MHz sur deux appareils de type BRUKER Avance, le premier de l'Institut de Chimie Université de Strasbourg et le deuxième du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico –Chimiques- CRAPC- Alger. Les microprogrammes BRUKER et le logiciel de traitement des données MestReNova, sont exploités.

Les échantillons ont été dissous dans des solvants deutérés CD₃OD ou DMSO-*d*₆. Les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS) comme référence interne.

Les abréviations suivantes sont utilisées pour la description des signaux : m (multiplet); s (singulet); d (doublet); t (triplet); q (quadruplet); quint (quintuplet); sext (sextuplet). Les constantes de couplage sont exprimées en Hz.

V-1-4-4 Pouvoir rotatoire

Les pouvoirs rotatoires spécifiques ($[\alpha]_D$) ont été déterminés sur un polarimètre Perkin-Elmer 241. La source de lumière utilisée est la raie D du sodium ($\lambda = 589$ nm). La mesure a été réalisée dans une cuve de 1 ml et d'une longueur de 10 cm, à température ambiante.

V-2 Etude phytochimique de l'espèce *Veronica rosea*.

V-2-1 Extraction.

500 g de la partie aérienne de l'espèce *Veronica rosea*, préalablement séchée et broyée sont mis à macérer pendant 48 h dans un mélange hydro-alcoolique (EtOH–H₂O : 70:30) (5

litres, 3 fois) à température ambiante. Le mélange est ensuite filtré et concentré. 500 ml d'extrait aqueux ont été obtenus.

Après extraction liquide-liquide avec des solvants organiques à polarité croissante (éther de pétrole, acétate d'éthyle et n-butanol) (300 ml, 3 fois). L'évaporation à sec des solvants a permis d'obtenir 3g de l'extrait éthero-pétrolique, 8g de l'extrait acétate d'éthyle et 17g de l'extrait n-butanolique. Les CCM réalisées sur les différents extraits ont montrés la richesse des deux extraits acétate d'éthyle et n-butanol en métabolites secondaires.

V-2-2 Séparation et purification

V-2-3 Fractionnement et purification de l'extrait butanolique

8g de l'extrait n-butanolique sont purifiés par chromatographie sur une colonne de gel de polyamide, l'élution est effectuée avec un gradient de toluène- MeOH (100 :0 à 0 :100). Après analyse sur chromatographie sur couche mince CCM, douze fractions majoritaires sont réunies F1-F12 (Tableau V-1) et ensuite traitées par différentes techniques de chromatographie.

Tableau V-1 Fractionnement et purification de l'extrait butanolique

Eluant colonne	Fractions regroupées	Poids en mg
100/0	F1	3
98/2	F2	234
96/4	F3	334,9
92/8	F4	752,8
90/10	F5	565,7
85/15	F6	976,6
80/20	F7	716,8
80/20	F8	864,2
75/25	F9	876,8
65/35	F10	893,6
20/80	F11	579,6
0/100	F12	289,8

La fraction Fr5 :

La chromatographie de la fraction F5 (123 mg) sur colonne de gel de silice, en utilisant comme système d'éluion un mélange CH₂Cl₂-MeOH (100:0 à 70:30), a conduit à l'obtention de 6 sous fractions.

La purification de la sous fraction **f5.2** (38 mg) sur colonne de gel de silice a aboutit à l'isolement du composé **VR1** (10mg). La sous fraction **f5.4** (27 mg) montrant en C.C.M outre le composé **VR1** un composé majoritaire, est soumise à une chromatographie sur une colonne de gel de silice. L'éluion réalisée par un mélange CH₂Cl₂-MeOH, a permis de séparer le composé **VR2** (9 mg) à l'état pur.

La Fraction Fr6 :

La fraction **Fr6** (101mg) est mise à chromatographier sur colonne de gel de silice en phase et pression normales en utilisant comme éluant le dichlorométhane pur puis un gradient de solvants CH₂Cl₂/MeOH, permettant d'obtenir cinq sous fractions.

La sous-fraction **f6.3** jugée intéressante est soumise à une chromatographie sur colonne de polyamide en éluant avec du Toluène- MeOH (100: 0 à 60: 40). Cette purification a donné les deux composés **VR3** (13mg) et **VR4** (17 mg).

La fraction Fr7 :

La fraction **Fr7** a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice en phase normale. Ce fractionnement a fourni 7 sous fractions. Le composé **VR5** (7 mg) a été obtenu par précipitation de la sous-fraction **f7.2** (32 mg) dans le mélange Hexane/MeOH. La sous fraction **f7.4** (31 mg) contenant un produit majoritaire est purifiée sur colonne gel de silice pour conduire au composé **VR6** (7 mg).

La fraction Fr8 :

La fraction **Fr8** (57 mg) soumise à une chromatographie préparative sur plaque de silice dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH (85 : 25) a permis d'isoler deux composés **VR7** (10 mg) et **VR8** (8 mg)

La fraction Fr9 :

La fraction **Fr9** de masse de (69mg) présente un mélange complexe contenant deux composés majoritaires. Après plusieurs essais avec différents systèmes de solvants, on a

procédé à une séparation sur plaque préparative de gel de silice avec un système d'éluion $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH}$ (65 : 35) pour conduire à l'état pur le composé **VR9** (9 mg) .

La fraction Fr10 :

La fraction **Fr10** (68mg) contient un produit majoritaire qui a précipité dans MeOH. Ce dernier est lavé plusieurs fois au méthanol pour donner le composé **VR10** (25mg).

V-3 Constantes physiques et données spectrales des composés isolés

Composé VR1

Isoscutellarein-7-O-(6''-O-acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucoopyranoside

Formule brute : $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{O}_{17}$

poudre jaune

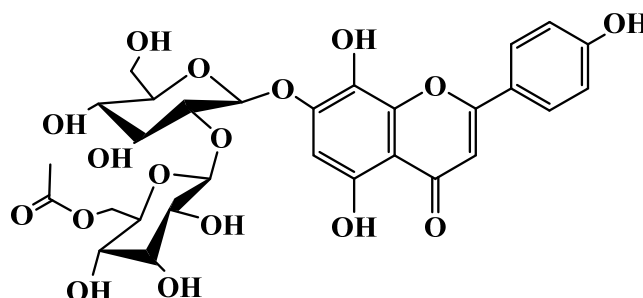
627 g/mol

MS : ESI (mode positif) m/z :

650,019 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) dans (CD_3OD)

(Tableau III-2, pages 66)



Composé VR2

Isoscutellarein-7-O - β -D-glucoopyranoside

Formule brute : $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$

poudre jaune

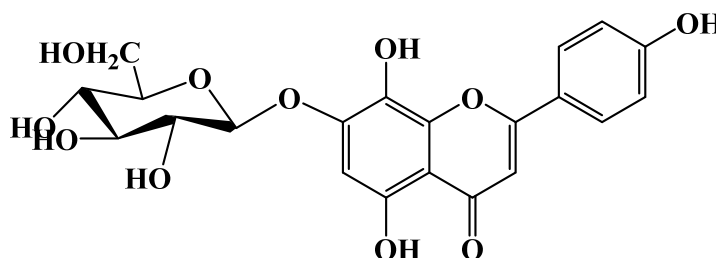
436 g/mol

MS : ESI (mode positif) m/z :

471,009 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (500 MHz) et RMN ^{13}C (125 MHz) dans (DMSO)

(Tableau III-3 pages 72)



Composé VR3**Formule brute** : C₂₁H₂₀O₁₁

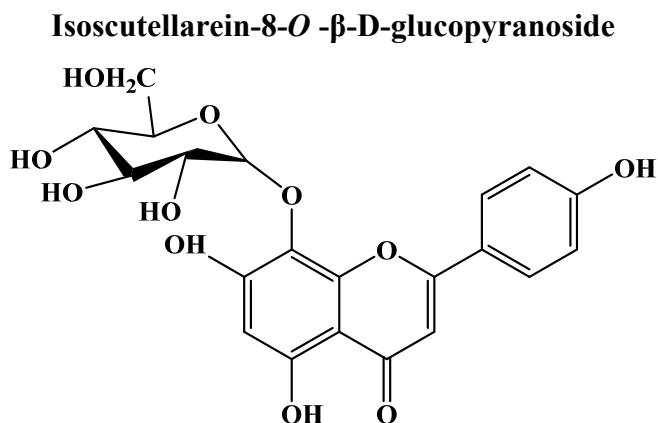
poudre jaune

436 g/mol

RMN 1H (400 MHz) et RMN 13C (125

MHz) dans (DMSO)

(Tableau III-4, pages 77)

**Composé VR4****Formule brute** : C₁₅H₁₀O₆

poudre jaune

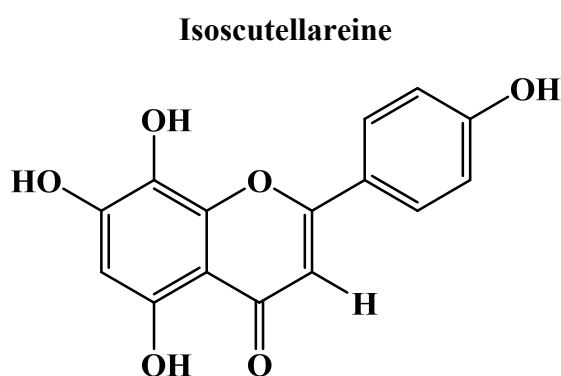
286.239 g/mol

MS : ESI (mode négatif) *m/z* :285,1729 [M-H]⁻

RMN 1H (500 MHz) et RMN 13C

(125 MHz) dans CD₃OD)

(Tableau III-5, pages 81)

**Composé VR5****Formule brute** : C₂₁H₂₀O₁₀

poudre jaune

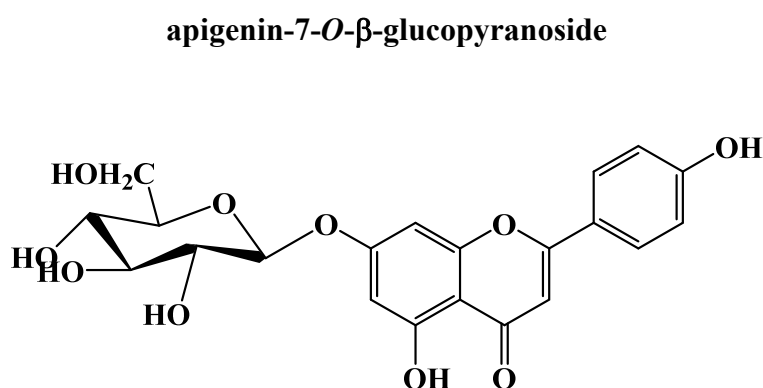
432.4 g/mol

MS : ESI (mode positif) *m/z* :455,09 [M+Na]⁺

RMN 1H (500 MHz) et RMN

13C (125 MHz) dans (CD₃OD)

(Tableau III-6, pages 85)



Composé VR6**Formule brute** : C₂₁H₂₀O₁₁

poudre jaune

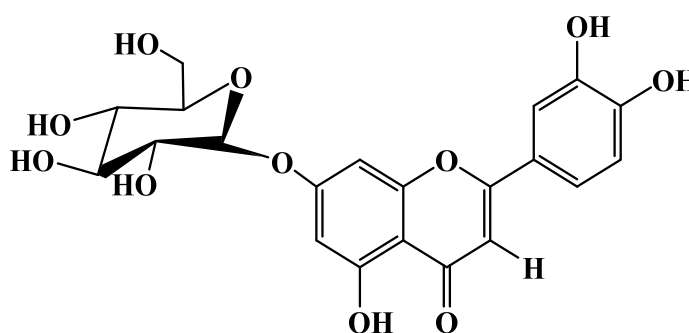
448,37g/mol

MS : ESI (mode positif) *m/z* :**471** [M+Na]⁺

RMN 1H (500 MHz) et RMN

13C (125 MHz) dans CD₃OD)

(Tableau III-7, pages 93)

Luteolin-7-O-Glucoside**Composé VR7****Formule brute** : C₁₅H₁₀O₆

poudre jaune

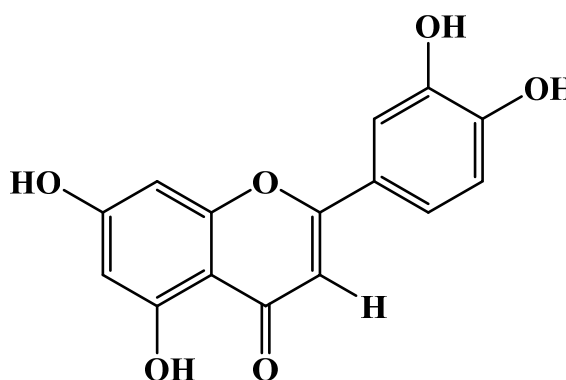
286,24 g/mol

MS : ESI (mode positif) *m/z* :286, 0810 [M+]⁺

RMN 1H (500 MHz) et RMN 13C

(150 MHz) dans (CD₃OD)

(tableau III-8, page 96)

Luteoline**Composé 8****Formule brute** : C₁₅H₂₄O₉

poudre jaune

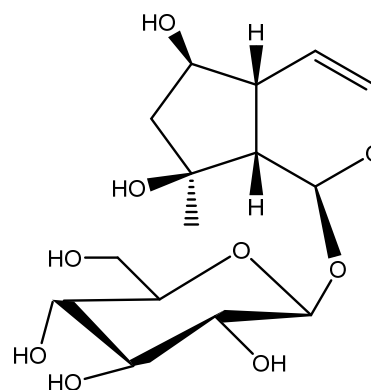
348,345 g/mol

MS : ESI (mode positif) *m/z* : 371.342[M+Na]⁺

RMN 1H (500 MHz) et RMN

13C (150 MHz) dans CD₃OD)

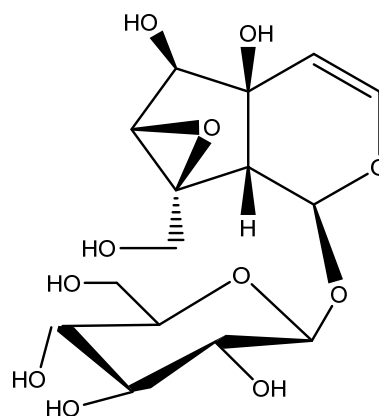
(Tableau III-9, pages 104)

Ajugol

Composé VR9**Formule brute** : C₁₅H₂₂O₁₁

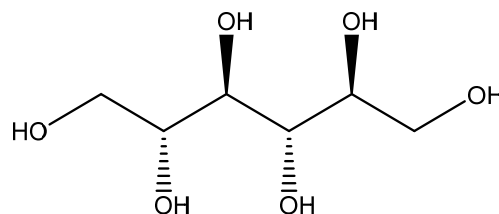
poudre blanche

378,33 g/mol

RMN 1H (500 MHz) et RMN 13C (150 MHz) dans CD₃OD) (Tableau III-10, pages 112)**Macfadeonoside****Composé VR10****Formule brute** : C₆H₁₄O₆

poudre blanche

182 g/mol

MS : ESI (mode positif) m/z : 205,0 [M+Na]⁺
RMN 1H (500 MHz) et RMN 13C (150 MHz) dans (DMSO) (Tableau III-11, pages 116)**Mannitol**

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail de thèse avait pour objectif d'isoler, d'identifier les métabolites secondaires et d'évaluer les activités anti oxydantes et anti corrosion de *Veronica rosea*, une espèce appartenant à la famille des Plantaginacées et qui n'a jamais fait l'objet d'études phytochimiques ni biologiques auparavant.

Après extraction hydroalcoolique des parties aériennes, on procède à la concentration des extraits hydroalcoolique et leurs affrontements par l'éther de pétrole, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol successivement.

Nous soumettons ensuite l'extrait butanolique obtenu aux différentes techniques de séparation notamment la chromatographie sur colonne de gel de silice. Les structures des produits isolés sont déterminées grâce à l'utilisation des différentes méthodes spectrales à savoir la spectrophotométrie UV-Visible, la RMN1D (1H et 13C), RMN 2D (HSQC, HMBC, COSY), la spectrométrie de masse, mesure du pouvoir rotatoire puis par comparaison des données récoltées avec les données de la littérature.

L'étude phytochimique menée a permis l'obtention et l'identification de dix produits. Il s'agit de sept flavonoïdes, deux iridoïdes et un sucre. Ils se repartissent comme suit :

- Isoscutellareine 7-*O*- [6-*O*-acétyl- β -D -allopyranosyl- (1 \rightarrow 2)] - β -D-glucopyranoside
- Isoscutellarein-7-*O* - β -D-glucopyranoside
- Isoscutellarein-8-*O* - β -D-glucopyranoside
- Isoscutellareine
- Apigéniné-7-*O*- β -glucopyranoside
- Lutéoline
- Luteolin-7-*O*-Glucoside
- Macfadienoside
- Ajugol
- Mannitol

La présence majoritaire des flavonoïdes et iridoïdes est en parfait accord avec les études phytochimiques antérieures effectuées sur les plantes du genre *Veronica*. Ces métabolites secondaires sont des marqueurs chimiotaxonomiques de ce genre.

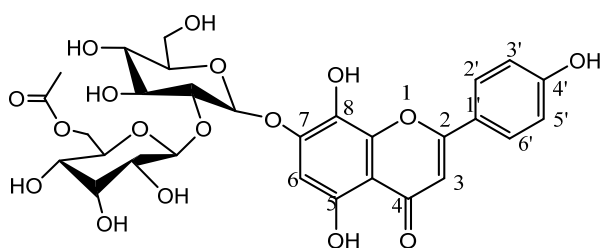
Vu la richesse de l'espèce *Veronica rosea* en flavonoïdes, nous avons évalué *in vitro* l'activité anti oxydante de l'extrait *n*-butanolique par l'utilisation du test scavenger de DPPH.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait testé manifeste un pouvoir anti oxydant significatif ($IC_{50} = 45,17 \pm 0,18$).

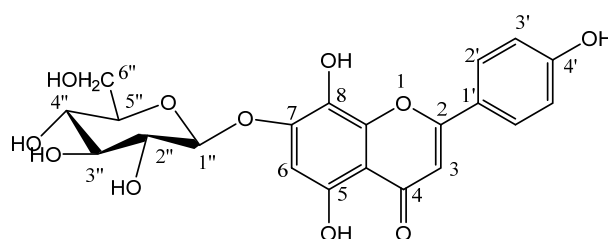
En outre, cet extrait *n*-butanolique a montré une excellente activité inhibitrice de corrosion du cuivre dans une solution de HNO_3 ($IE = 94,36\%$).

Pour la suite, Il est souhaitable de mener une étude phytochimique complémentaires sur la partie des racines, et d'évaluer d'autres activités biologiques *in vitro* et *in vivo* de cette espèce.

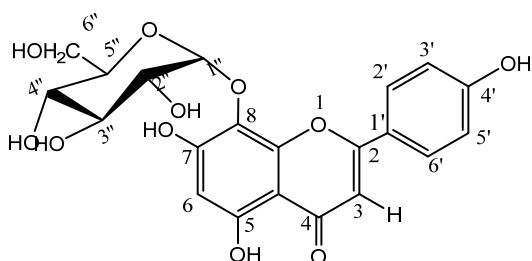
Les structures des composés isolés s'établissent comme suit :



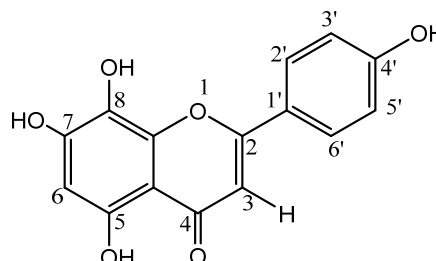
VR1 : Isoscutellareine 7-O- [6-O-acétyl- β -D-allopyranosyl- (1 \rightarrow 2)] - β -D-glucopyranoside



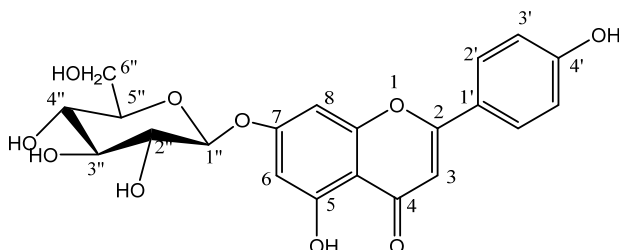
VR2 : Isoscutellarein-7-O- β -D-glucopyranoside



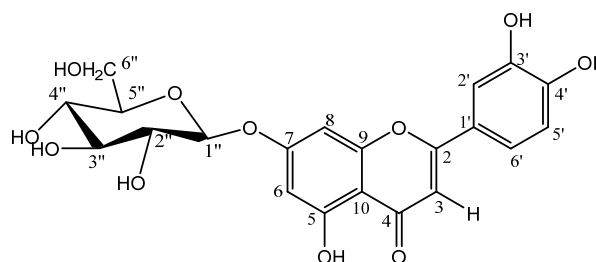
VR3 : Isoscutellarein-8-O- β -D-glucopyranoside



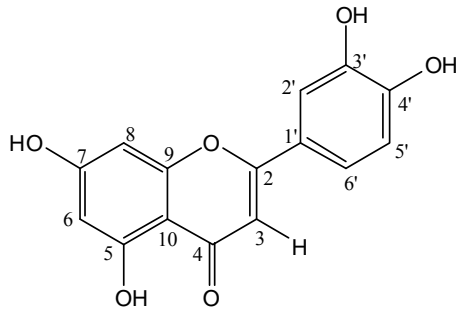
VR4 : Isoscutellareine



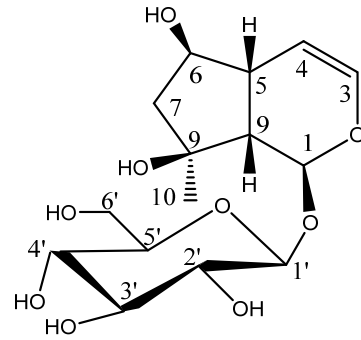
VR5 : apigenin-7-O- β -glucopyranoside



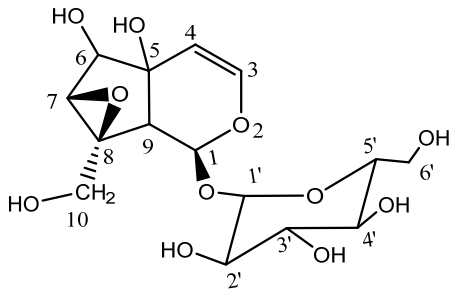
VR6 : Luteolin-7-O-Glucoside



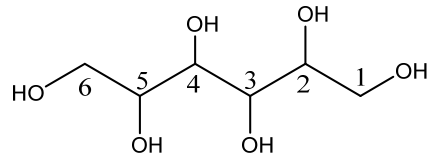
VR7 : Luteoline



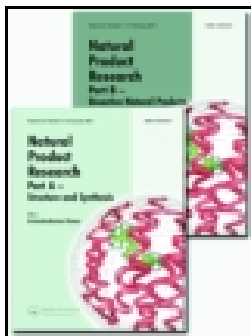
VR8 : Ajugol



VR9 : macfadienoside



VR10 : Mannitol



Natural Product Research

Formerly Natural Product Letters

ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>


Phytochemical compounds and anti-corrosion activity of *Veronica rosea*

Rachid Ouache, Hassina Harkat, Patrick Pale & Kafia Oulmi



To cite this article: Rachid Ouache, Hassina Harkat, Patrick Pale & Kafia Oulmi (2018): Phytochemical compounds and anti-corrosion activity of *Veronica rosea*, *Natural Product Research*, DOI: [10.1080/14786419.2018.1474464](https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1474464)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1474464>

 View supplementary material 

 Published online: 16 May 2018.

 Submit your article to this journal 

 View related articles 

 View Crossmark data 

SHORT COMMUNICATION



Phytochemical compounds and anti-corrosion activity of *Veronica rosea*

Rachid Ouache^{a,b}, Hassina Harkat^a, Patrick Pale^c and Kafia Oulmi^b

^aLaboratoire de physio-toxicologie, pathologie cellulaires et moléculaires-biomolécules (LPTPCMB), Faculté de Médecine, Département de Pharmacie, Université de Batna-2, Batna, Algérie; ^bFaculté des Sciences de la Matière, Département de Chimie, Université de Batna-1, Batna, Algérie; ^cLaboratoire de Synthèse et Réactivité Organiques, Associé au CNRS, Institut de Chimie de Strasbourg UMR 7177, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

ABSTRACT

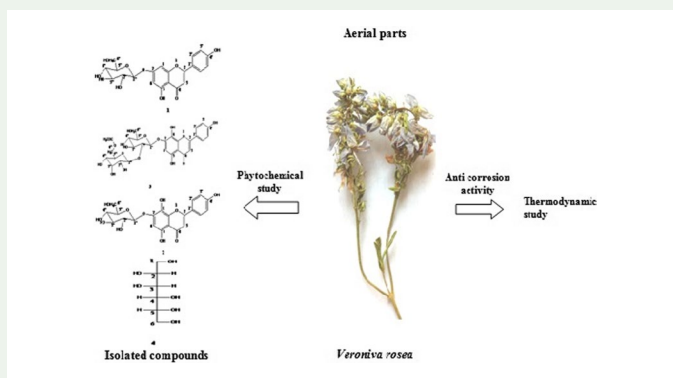
The aim of this work is the phytochemical study of the butanolic extract of the aerial parts of *Veronica rosea*. Four compounds **1–4** have been isolated using different chromatographic methods. The structures of these compounds were determined by NMR spectral analysis and mass spectroscopy. The adsorption and anticorrosion effects of this extract were investigated towards the corrosion of copper in 1 M HNO₃ aqueous by the weight loss technique and potentiodynamic polarization. The results showed that the butanolic extract is a good inhibitor and the inhibition efficiency increases with increasing of concentration of the inhibitor. The adsorption of this extract on the copper specimen surface was spontaneous and obeyed the Langmuir's adsorption isotherm. Large value of adsorption equilibrium Constant ($K_{ads} = 35 \text{ L g}^{-1}$) was obtained. The polarization experiments confirmed the data obtained by gravimetric weight-loss. Tafel plot of polarization curves indicates that the extract acts as a mixed type inhibitor.

ARTICLE HISTORY


Received 7 January 2018
Accepted 6 May 2018

KEYWORDS

Veronica rosea; flavonoids;
green inhibitor; adsorption;
copper



CONTACT Hassina Harkat  harkat_hassina@yahoo.fr

 Supplemental data for this article can be accessed at <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1474464>.

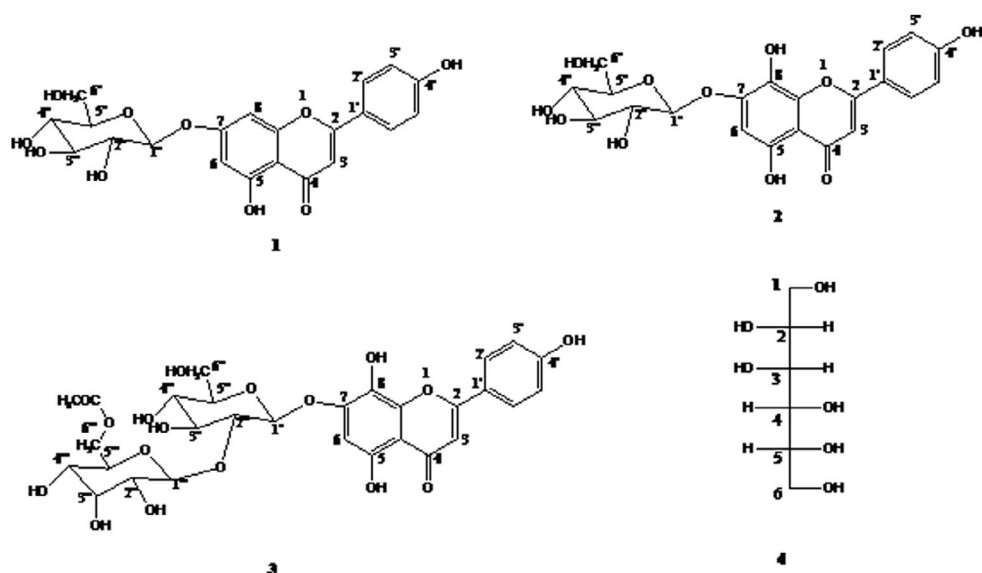


Figure 1. Structures of isolated compounds 1–4.

1. Introduction

The genus *Veronica* (Plantaginaceae), is widely distributed in the temperate zone of both hemispheres, and it is represented by 450 species in the world (López-González et al. 2015). Some of the *Veronica* species have reported interesting biological activities such as antibacterial (Živković et al. 2014), antioxidant (Harpur et al. 2011), and anti-inflammatory (Bera et al. 2015).

In folk medicine, some *Veronica* species are used for pulmonary, and gastrointestinal diseases, as well as renal lithiasis (Gründemann et al. 2013). The genus *veronica* is known for its richness in flavonoid (Albach et al. 2003; Taskova et al. 2008) iridoid (Kroll-Møller et al. 2017) and phenylethanoid metabolites (Kostadinova et al. 2007).

In this work we report the phytochemical study of butanolic extract of the aerial parts as well as the evaluation of the adsorption and the anti-corrosion activity of this extract.

2. Results and discussion

2.1. Plant collection and extraction

2.1.1. Chemical constituents of *n*-butanol extract

The phytochemical study of butanolic extract of aerial parts of *Veronica rosea* led to the isolation and identification of four compounds. The structures of these compounds (Figure 1) were identified clearly by analysis of ¹H- and ¹³C-NMR, mass spectrometry data and by comparison with published data. The isolated compounds were identified as apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside **1** (Taskova et al. 2008; Li et al. 2009) Isoscutellarein-7-O-β-D-glucopyranoside **2** (Palomino et al. 1996), Isoscutellarein-7-O-(6''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2))-β-D-glucopyranoside **3** (Albach et al. 2003) and mannitol **4** (Pedersen et al. 2007). Furthermore,

Table 1. Corrosion rate and inhibition efficiency parameters obtained from Weight Loss for copper in 1 M HNO₃ solution with and without of different concentration of the butanol extract of *V. rosea* at (293 K).

Conc. (ppm)	Weight loss (mg)	CR (mg cm ⁻² h ⁻¹)	CR (mm/y)	IE%	θ
Blank	14.2	1.79	17.54	–	–
20	9.5	1.20	11.76	33.09	0.330
50	4.0	0.50	4.89	71.18	0.711
100	1.5	0.18	1.76	89.43	0.894
300	0.8	0.10	1.18	94.36	0.943

the anticorrosion activity of butanolic extract was examined. To the best of our knowledge, nothing has been specifically reported on the use of *V. rosea* extract for the inhibition of copper corrosion in nitric acid (HNO₃).

2.2. Anti-corrosion activities

2.2.1. Weight loss measurements

The corrosion rates of metals and alloys can be determined using different electrochemical and non-electrochemical methods (Khadraoui et al. 2014; Fouda et al. 2015). The weight loss method of monitoring corrosion rate is useful because of its simple application and reliability (Popova et al. 2003). The corrosion rate of copper was studied at the temperature of 293 K in 1 M nitric acid solution in the absence and the presence of butanolic extract of *V. rosea* (20–300 ppm). The inhibition efficiency (IE%), coverage surface (θ) and corrosion rate (CR) values are summarized in Table 1.

In the absence of inhibitor, the corrosion rate was 1.79 mg cm⁻² h⁻¹ (17.54 mm/y). After adding butanolic extract with different concentrations, the corrosion of copper was retarded. The maximum (%IE) values at 300 ppm was 94.36%, which indicates that butanolic extract of *V. rosea* acts as a good inhibitor for copper corrosion in 1.0 M HNO₃.

2.2.2. Adsorption isotherms analysis

The values of coverage surface (θ) for different concentrations of butanolic extract of *V. rosea* have been used to explain the best isotherm and to determine the adsorption process. Attempts were made to fit (θ) values to various isotherms (Supplementary file), including Langmuir, Langmuir–Freundlich, Frumkin, Temkin and Flory–Huggins isotherms (Koopal 2008; Damaskin et al. Ed. 1971).

In this study, Langmuir adsorption isotherm was found to be suitable for the experimental findings. The best fit of the experimental data was considered acceptable when the correlation coefficient was $R^2 \geq 0.98$.

The negative value of the standard free energy of adsorption and the high value of the adsorption constant indicates a spontaneous adsorption of this organic inhibitor on copper.

2.2.3. Potentiodynamic polarization studies

The cell used for the Potentiodynamic polarization studies, was a conventional three electrode system with platinum auxiliary electrode, saturated calomel as reference electrode and copper specimen as working electrode. The electrochemical parameters; corrosion

Table 2. Potentiodynamic polarization parameters for the corrosion of copper in 1 M HNO₃ solution without and with 300 ppm of butanolic extract of *V. rosea* at (293 K).

Conc. (ppm)	E (mV)	i_{corr} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	β_c (mVdec ⁻¹)	β_a (mVdec ⁻¹)	IE%	θ
Blank	-26.0	55.91	-210.6	52.0		
300	-60.0	7.0678	-149.5	88.5	87.35	0.873

potential (E_{corr}), corrosion current (i_{corr}), anodic Tafel constant (β_a), cathodic Tafel constant (β_c) and IE were calculated and given in Table 2.

Inspection of Table 2 indicates that The inhibition efficiency of this extract is 87.35% . Also, there is significant change in the anodic and cathodic slopes after the addition of the butanolic extract of *V. rosea* (Figure S7). These Tafel curves indicate that this extract acts as a mixed-type inhibitor.

3. Conclusion

The study of butanolic extract of the aerial parts of *V. rosea* acts as a good inhibitor for the copper corrosion in 1.0 M HNO₃ solution. The analysis of the results obtained shows that the inhibition efficiency increases with the increase of the butanolic extract concentrations. The adsorption of the organic compound of this extract on the copper surface follows the Langmuir model. The important value of K_{ads} (35Lg-1) and the negative value of $\Delta G_{\text{ads}}^\circ$ (-25 kJ/mol) indicates that the adsorption of this extract on copper surface is spontaneous and may be explained by the presence of O atoms and conjugate double bond. Polarization curves demonstrated that the butanolic extract of the aerial parts of *V. rosea* is a mixed-type inhibitor for copper surface in 1 M HNO₃ solution. The results obtained from the different methods are in good agreement.

Supplementary material

Experimental material relating to this article and supporting NMR information are available online.

Acknowledgements

The authors wish to express their acknowledgements to the University of Strasbourg (France), for providing research facilities and technical support and Dr for his help to realised the potentiodynamic polarization studies

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

- Albach DC, Grayer RJ, Jensen SR, Özgökçe F, Veitch NC. 2003. Acylated flavone glycosides from Veronica. *Phytochemistry*. 64:1295–1301.
- Beara I, Živković J, Lesjak M, Ristić J, Šavikin K, Maksimović Z. 2015. Phenolic profile and anti-inflammatory activity of three Veronica species. *Ind Crops Prod*. 276–280.

- Damaskin B, Petrii OA, Batrakov VV. 1971. Adsorption of organic compounds on electrodes. New York (NY): Plenum Press.
- Fouda AS, Shalabi K, Idress AA. 2015. Ceratonia siliqua extract as a green corrosion inhibitor for copper and brass in nitric acid solutions. Green Chem Lett Rev. 8:17–29.
- Gründemann C, Garcia-Käufer M, Sauer B, Stangenberg E, Könczöl M, Merfort I, Zehl M, Huber R. 2013. Traditionally used Veronica officinalis inhibits proinflammatory mediators via the NF- κ B signalling pathway in a human lung cell line. J Ethnopharmacol. 145:118–126.
- Harput US, Genç Y, Khan N, Saracoglu I. 2011. Radical scavenging effects of different Veronica species. Rec Nat Prod. 5:100–107.
- Khadraoui A, Khelifa A, Boutoumi H, Hammouti B. 2014. *Mentha pulegium* extract as a natural product for the inhibition of corrosion. Part I: electrochemical studies. Nat Prod Res. 28:1206–1209.
- Koopal LK. 2008. *Interface science*. 2nd ed. Wageningen: Wageningen University.
- Kostadinova EP, Alipieva KI, Kokubun T, Taskova RM, Handjieva NV. 2007. Phenylethanoids, iridoids and a spirostanol saponin from *Veronica turrilliana*. Phytochemistry. 68:1321–1326.
- Kroll-Møller P, Pedersen K, Gousiadou C, Kokubun T, Albach D, Taskova R, Garnock-Jones PJ, Gotfredsen CH, Jensen SR. 2017. Iridoid glucosides in the genus Veronica (Plantaginaceae) from New Zealand. Phytochemistry. 140:174–180.
- Li J, Jiang H, Shi R. 2009. A new acylated quercetin glycoside from the leaves of *Stevia rebaudiana Bertoni*. Nat Prod Res. 23:1378–1383.
- López-González NL, Mayland-Quellhorst EM, Pinto-Carrasco DP, Martínez-Ortega MM. 2015. Characterization of 12 Polymorphic SSR Markers in Veronica Subsect. Pentasepalae (Plantaginaceae) and Cross-Amplification in 10 Other Subgenera. Appl Plant Sci. 3:1500059.
- Palomino OM, Söllhuber M, Carretero E, Villar A. 1996. Isoscutellarein 7-glucosyl(1 \rightarrow 2)xyloside from sixteen species of Sideritis. Phytochemistry. 42:101–102.
- Pedersen P, Gotfredsen CH, Wagstaff SJ, Jensen SR. 2007. Chemical markers in Veronica sect. Hebe. II. Biochem Syst Ecol. 35:777–784.
- Popova A, Sokolova E, Raicheva S, Christov M. 2003. AC and DC study of the temperature effect on mild steel corrosion in acid media in the presence of benzimidazole derivatives. Corros Sci. 45:33–58.
- Taskova RM, Kokubun T, Grayer RJ, Ryan KG, Garnock-Jones PJ. 2008. Flavonoid profiles in the Heliohebe group of New Zealand Veronica (Plantaginaceae). Biochem Syst Ecol. 36:110–116.
- Živković J, Barreira JCM, Stojković D, Čebović T, Santos-Buelga C, Maksimović Z, Ferreira ICFR. 2014. Phenolic profile, antibacterial, antimutagenic and antitumour evaluation of *Veronica urticifolia Jacq.* J Funct Foods. 9:192–201.

Résumé

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique ainsi l'évaluation des activités anti oxydante et anti corrosion des parties aériennes de *Veronica rosea*, une espèce endémique non étudiée, appartenant à la famille des plantaginacées. Cette famille est connue par sa richesse en divers métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique notamment les flavonoïdes et les iridoïdes.

Cette étude a permis l'obtention et l'identification de 10 produits. Il s'agit de sept flavonoïdes, deux iridoïdes et un sucre. La détermination des structures ont été élucidées par les méthodes spectroscopiques (RMN, Masse et UV) et par comparaison avec les données de la littérature.

Une investigation de l'activité antioxydant, par la méthode test scavenger de DPPH de l'extrait butanolique, a montré que notre espèce possède un pouvoir anti oxydant significatif. De plus, l'extrait butanolique a manifesté une excellente activité inhibitrice de corrosion du cuivre dans une solution de HNO₃

Mots clés : *plantaginacées, Veronica rosea, flavonoïdes, iridoïdes, activité antioxydant, activité anti corrosion.*

ملخص

هذا العمل يهتم بالدراسة الفيتوكيميائية وتقييم أنشطة مضادات الأكسدة ومضادات التآكل في الأجزاء الهوائية من *Veronica rosea* ، التي لم يتم دراستها من قبل و المنتمية الى عائلة plantaginacées ،حيث تشتهر هذه العائلة بوفرتها على مختلف المركبات الطبيعية ذات الأهمية البيولوجية الكبيرة خاصة مركبات الفلافونويد والإيريديويد. لقد مكنتنا هذه الدراسة من الحصول على 10 مركبات : سبعة من الفلافونويد ،اثنين من الأيريديويد وسكر واحد. تم التعرف البنوي على المركبات بواسطة مختلف الطرق المطيافية (RMN, Masse et UV) و كذا بالمقارنة مع بيانات المراجع .

أظهرت دراسة نشاط مضاد الأكسدة بواسطة طريقة اختبار DPPH لمستخلص البوتانول ، أن لهذه النبتة لها فعالية معتبرة ضد الأكسدة. بالإضافة إلى ذلك ، أظهر مستخلص البوتانول نشاطاً مثبطاً ممتازاً للتآكل النحاسي في محلول حمضي HNO₃.

كلمات البحث: الفلافونويد، الأيريديويد، أنشطة ضد الأكسدة، *Veronica rosea plantaginacées*.