



UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal



Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques
Formation Doctorale : Ressources Naturelles, Environnement et Santé (RNES)

THÈSE

Présentée par

HANANE ACHIBAT

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

Option : Chimie

Spécialité : Chimie Bio-organique et Analytique

**Elaboration de Nouveaux Composés Organoséléniques.
Analyse Physicochimique et Evaluation Pharmacologique des
Extraits de l'Ecorce de la Tige de la Plante Médicinale *Bombax
Buonopozense***

Soutenue le 20/07/2018 à 10h devant la commission d'examen:

M. AKSSIRA	Professeur, Université Hassan II de Casablanca, F.S.T. Mohammedia, Maroc	Président/ Examineur
M. SAFI	Professeur, Université Hassan II de Casablanca, F.S.T. Mohammedia, Maroc	Rapporteur
A. EL-GHAYOURY	Maître de Conférences - HDR, Université d'Angers, Faculté des Sciences, France	Rapporteur
H. OUCHETTO	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Rapporteur
L. SANCENITO	Chercheur, Centre d'études moléculaires et macromoléculaires, Académie polonaise des sciences, Lodz, Pologne	Membre invité
C. SANTI	Professeur, Université de Pérouse, Département des Sciences Pharmaceutiques, Italie	Co-Directeur de thèse
A. HAFID	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Co-Directeur de thèse
M. KHOULI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Directeur de thèse

DEDICACE

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde :

À mes parents

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous aviez consentis pour mon éducation et ma formation. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

**À mes chères sœurs, mes beaux frères, mes nièces et
neveux**

Merci pour votre amour et appui sans limite.

À tous ceux qui me sont chers.

REMERCIEMENTS

Je remercie Dieu de m'avoir donné le courage et la patience à réaliser ce travail.

La première partie de ce mémoire a été réalisée au sein du Groupe de Catalyse et de Chimie Organique Verte, Département des Sciences Pharmaceutiques, Université de Pérouse, Italie, sous la direction du professeur Claudio SANTI à qui j'adresse mes sincères remerciements pour m'avoir accueillie au sein de son groupe de recherche, pour le soutien qu'il m'a apporté durant mon séjour dans son laboratoire et pour ses orientations scientifiques qui ont constitué un apport considérable.

La deuxième partie de ce mémoire a été effectuée au sein de l'équipe de Chimie organique et Organométallique Appliquées (Laboratoire de Chimie Organique et Analytique), à l'Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal, sous la direction des professeurs Mostafa KHOUILI et Abderrafia HAFID. Je tiens à leur exprimer ma profonde gratitude pour m'avoir encadré, soutenue et guidé pendant toutes les années de thèse. Leurs précieux conseils, leurs orientations et apports scientifiques indiscutables m'ont été d'une aide considérable.

Mes vifs remerciements s'adressent également aux membres du jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger mon travail.

Que Monsieur Mohamed AKSSIRA, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia soit assuré de ma gratitude pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider la commission d'examen de cette thèse et pour la caution scientifique qu'il m'apporte en acceptant d'être examinateur.

J'adresse ma plus vive reconnaissance également à Monsieur Mohamed SAFI, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia, Madame Hajiba OUCHETTO, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal et Monsieur Abdelkrim EL-GHAYOURY, Maître de Conférences - HDR à la Faculté des Sciences, Université d'Angers, d'avoir accepté la charge de rapporteurs de cette thèse.

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements au Docteur Luca SANCINETO comme membre invité, pour son aide précieux, son soutien moral pendant mon séjour au Département des Sciences Pharmaceutiques (Groupe de Catalyse et de Chimie Organique Verte), Université de Pérouse, Italie.

Je ne saurais oublier tous mes collègues de doctorat : Jamila BOUALI, , Salha HAMRI Hasna YASSINE, , Jamila ZAITER, Amina AMLIL, Asmae OUMASSAOUD, Ikram EL MAATOUFI, Soufiane AKHRAMEZ, El mahdi OURHZIF, , Mustapha DIB, Youness ACHOUR, Hicham FADILI qui m'ont encouragée, aidée et m'ont permis de réaliser ce travail dans une ambiance fraternelle et sympathique. Veuillez trouver ici l'expression de mes vifs remerciements.

Je remercie vivement mes meilleures amies proches : Zineb MOURHAT et Samira OMARI avec qui je partage tous mes moments quotidiens, et par leur soutien moral, leur sympathie, leur ambiance amicale et leur aide précieux, ont rendu ce travail plus facile et agréable.

Je remercie le Docteur Mounir TILAOUI pour son aide pour la réalisation des tests pharmacologiques au niveau du laboratoire de Génie Biologique, Substances Naturelles, Immunopharmacologie Cellulaire et Moléculaire, Immunobiologie des Cellules Cancéreuses, Faculté des Sciences et Techniques, Béni-Mellal.

J'adresse ma reconnaissance au Professeur M. Abbes FAOUZI, le Docteur Ilias MARMOUZI du laboratoire de Toxicologie et de Pharmacologie, Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat et au Docteur Mourad KHARBACH, département de Chimie Analytique, Chimiométrie Appliquée et Modélisation Moléculaire, Vrije, Université de Bruxelles, Belgique, pour l'aide considérable afin de faire les analyses pharmacologiques et chromatographiques (HPLC/MS).

Je ne peux pas vous citer tous, Etudiants - Chercheurs, Collègues et Amis; à toutes et à tous, du fond du cœur, Merci.

RÉSUMÉ

Ce travail a pour objectif principal d'identifier et de synthétiser de nouveaux composés organiques, susceptibles de présenter certaines activités biologiques et/ou pharmacologiques.

Dans la première partie de ce mémoire, une nouvelle stratégie de synthèse des composés organoséléniques a été menée, en exploitant le sélénium comme catalyseur pour l'oxydation de l'alcool benzylique, puis comme réactif électrophile pour la synthèse de nouveaux hétérocycles à base de sélénium et d'azote, *via* des réactions de cyclisation.

La deuxième partie est consacrée à l'analyse phytochimique, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, l'évaluation pharmacologique de l'activité antioxydante, cytotoxique et antidiabétique *in vitro* des extraits de l'écorce de la tige de la plante médicinale *Bombax buonopozense*, ainsi que l'analyse chromatographique par la technique HPLC/MS.

Mots Clés

Sélénium, Organosélénique, Oxydation, Hétérocycles, Plante médicinale, Analyse phytochimique, Analyse chromatographique, Evaluation pharmacologique.

ABSTRACT

The main objective of this work is to identify and synthesize new organic compounds, which are expected to have certain biological and/or pharmacological activities.

In the first part of this work, a new strategy for the synthesis of organoselenic compounds was presented by using an organoselenium compound as catalyst for the oxidation of benzyl alcohol to benzoic acid, and as electrophilic reagent for the synthesis of new organoselenium and nitrogen heterocycles, via cyclization reactions.

The second part of this work is subjected to phytochemical analysis, to polyphenols and flavonoids dosage, chromatographic analysis, and to evaluation *in vitro* of the pharmacological activities of the stem bark of the medicinal plant *Bombax buonopozense*.

Keywords

Selenium, Organoselenium, Oxidation, Heterocycles, Medicinal plant, Phytochemical analysis, Chromatographic analysis, Pharmacological activities.

LISTE DES ABREVIATIONS :

ADN : Acide désoxyribonucléique
ATP : Adénosine TriPhosphate
BIL : Bilirubine
Cys : Cystéine
DL₅₀ : Dose Létale médiane
DMDSe : Diméthyldiséléniure
DMS_e : Diméthylséléniure
DMS_eO₂ : Diméthylsélénone
ERO : Espèces Réactives Oxygénées
GPx : Glutathione Peroxydase
HPLC : Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance
LDA : Diisopropylamide de lithium
mCPBA : Acide métachloroperbenzoïque
MeSe : Méthylséléniol
MeSeCys : Méthylsélénocystéine
Met : Méthionine
MO : Micro-Onde
NaIO₄ : Periodate de sodium
NCS : N-chlorosuccinimide
OMS : Organisation Mondiale de Santé
Ph₂Se₂ : Diséléniure de diphenyle
Se : Sélénium élémentaire
Se²⁻ : Séléniure
SeCys : Sélénocystéine
SeMet : Sélénométhionine
SeMMet : Méthylsélénométhionine
SeO₃²⁻ : Sélénite
SeO₄²⁻ : Séléniate
TEMPO : 2,2,6,6 tétraméthylpipéridin-1-oxyl
Tr : Temps de rétention
VIH : Virus de l'Immunodéficiência Humaine

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
------------------------------------	---

PARTIE I.

Sélénium et ses dérivés organiques naturels et synthétiques	4
--	---

Chapitre I.

Composés phytochimiques à base de sélénium dans le règne végétal	5
---	---

I. Introduction	6
------------------------------	---

II. Sélénium et santé humaine	8
--	---

II. 1. Historique	8
-------------------------	---

II. 2. Apports alimentaires en sélénium	8
---	---

II. 3. Réponses biologiques du sélénium dans l'organisme humain	10
---	----

II. 3.1. Elément essentiel incorporé au niveau des protéines	10
--	----

II. 3.2. Prévention du cancer	12
-------------------------------------	----

II. 3.3. Implication dans la réponse immunitaire	12
--	----

II. 4. Apports journaliers recommandés.....	13
---	----

II. 4.1. Cas de l'alimentation animale	13
--	----

II. 4.2. Cas de l'alimentation humaine.....	13
---	----

II. 4.3. Intoxication au Sélénium	14
---	----

III. Sélénium dans l'environnement	14
---	----

IV. Sélénium dans les plantes supérieures	16
--	----

IV. 1. Voie d'assimilation.....	17
---------------------------------	----

IV. 2. Classifications des plantes	19
--	----

IV. 2.1. Plantes non accumulatrices	19
---	----

IV. 2.2. Plantes accumulatrices	20
---------------------------------------	----

IV. 2.3. Plantes hyper-accumulatrices.....	20
--	----

V. Phytoremédiation	21
----------------------------------	----

VI. Conclusion	23
-----------------------------	----

Chapitre II.

Etude d'un catalyseur au sélénium dans l'oxydation de l'alcool benzylique	24
--	----

I. Introduction	25
------------------------------	----

II. La catalyse	25
------------------------------	----

II. 1. Intérêt économique et scientifique	25
---	----

II. 2. Types de catalyse	26
III. Rappels Bibliographiques sur l'oxydation catalytique des alcools	27
III. 1. Oxydation catalytique de l'alcool en aldéhyde et cétone correspondant.....	27
III. 2. Oxydation catalytique de l'alcool en acide carboxylique.....	29
IV. Catalyse Biologique	31
V. Oxydation de l'alcool benzylique en acide benzoïque	34
V. 1. Synthèse du catalyseur	35
V. 2. Oxydation de l'alcool benzylique	36
VI. Conclusion.....	40

Chapitre III.

Cyclofonctionnalisation des alcényles et des oxaziridines.....	41
---	-----------

I. Introduction	42
II. Rappel bibliographique sur les composés organoséléniques.....	43
II. 1. Classes d'organosélénium.....	43
II.2. Synthèse d'hétérocycles du sélénium via des réactions de cyclisation.....	44
II.2.1 Synthèse des sélénophènes et leurs dérivés.....	44
II.2.2 Synthèse d'hétérocycles contenant le sélénium et l'azote	47
II.2.3 Synthèse d'hétérocycles contenant le sélénium et l'oxygène	50
II.2.4 Synthèse d'hétérocycles contenant le sélénium et le soufre.....	51
III. Cyclofonctionnalisation des alcényles et des oxaziridines.....	52
III. 1. Cyclisation électrophile des alcényles	52
III. 2. Cyclisation électrophile des alcényles d'oxaziridines	57
III. 2. 1. Synthèse des alcényles d'oxaziridines	57
III. 2. 2. Cyclisation des alcényles d'oxaziridines	59
IV. Conclusion.....	66

PARTIE EXPERIMENTALE.....	67
----------------------------------	-----------

PARTIE II.

Etude phytochimique, évaluation pharmacologique et analyse chromatographique de l'extrait de la plante <i>bombax buonopozense</i>	91
--	-----------

Chapitre I.

Etude bibliographique.....	92
-----------------------------------	-----------

I. Introduction	93
II. Phytothérapie	94
II. 1. Définition	94
II. 2. Types de la phytothérapie	94
II. 2.1. Phytothérapie traditionnelle	94
II. 2.2. Phytothérapie scientifique	94
III. Métabolites des plantes médicinales	95
III. 1. Métabolites primaires	95
III. 2. Métabolites secondaires	95
III. 2.1. Alcaloïdes.....	96
III. 2.2. Phénols et polyphénols.....	96
III. 2.2.1. Acide phénolique.....	97
III. 2.2.2. Coumarines.....	98
III. 2.2.3. Flavonoïdes	99
III. 2.2.4. Tanins	100
III. 2.3. Terpénoïdes et Stéroïdes	100
III. 2.3.1. Terpénoïdes	100
III. 2.3.2. Stéroïdes	101
IV. Identification botanique de <i>Bombax buonopozense</i>	101
IV. 1. Classification botanique	101
IV. 2. Description botanique.....	102
IV. 3. Répartition géographique	102
IV. 4. Phytothérapie traditionnelle.....	102
IV. 5. Travaux antérieurs sur <i>Bombax buonopozense</i>	103
IV. 5.1. Composition chimique	103
IV. 5.2. Données toxicologiques	103
IV. 5.3. Activité biologique de <i>Bombax buonopozense</i>	104
V. Études pharmacologiques de <i>Bombax buonopozense</i>	104
V. 1. Activité Antioxydante	104
V. 1.1. Radicaux libres.....	104
V.1.2. Antioxydants : mécanisme de défense	105
V. 2. Activité anticancéreuse	106
V. 3. Activité antidiabétique	107
V.3.1. Glycémie : stabilité et régulation	108
V. 3.2. Classification du diabète	108
V.3.2.1. Diabète de type I.....	108
V. 3.2.2. Diabète de type II	108

VI. Conclusion	109
-----------------------------	-----

Chapitre II.

Matériels et méthodes	110
------------------------------------	-----

I. Étude phytochimique	111
-------------------------------------	-----

I. 1. Matériel végétal	111
------------------------------	-----

I. 2. Extraction	111
------------------------	-----

I. 2.1. Décoction	111
-------------------------	-----

I. 2.2. Macération	112
--------------------------	-----

I. 3. Analyses phytochimiques	112
-------------------------------------	-----

I. 3.1. Alcaloïdes	112
--------------------------	-----

I. 3.2. Substances polyphénoliques	112
--	-----

I.3.2.1. Tanins.....	112
----------------------	-----

I. 3.2.2. Flavonoïdes	113
-----------------------------	-----

I. 3.2.3. Saponines: Indice de mousse	113
---	-----

I. 3.2.4. Coumarines	113
----------------------------	-----

I. 4. Stérols et triterpènes.	113
------------------------------------	-----

I. 5. Composés réducteurs.....	113
--------------------------------	-----

II. Dosage phytochimique des extraits	114
--	-----

II. 1. Dosage des polyphénols totaux	114
--	-----

II. 2. Dosage des flavonoïdes.....	115
------------------------------------	-----

III. Étude pharmacologique	115
---	-----

III. 1. Évaluation de l'activité antioxydante	115
---	-----

III. 1.1. Test au DPPH.....	116
-----------------------------	-----

III. 1.2. Test de FRAP	117
------------------------------	-----

III. 1.3. Test TEAC	118
---------------------------	-----

III. 2. Évaluation de l'activité cytotoxique (anticancéreuse)	119
---	-----

III. 3. Évaluation de l'activité antidiabétique.....	120
--	-----

III. 3.1. Tests in vitro sur l'activité de l' α -glucosidase	121
---	-----

III. 3.2. Tests in vitro sur l'activité du β -galactosidase.....	122
--	-----

IV. Analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC/MS)	123
--	-----

Chapitre III.

Résultats et discussion	124
--------------------------------------	-----

I. Extraction	125
II. Analyses phytochimiques	125
III. Dosage phytochimique des extraits	127
III. 1. Dosage des polyphénols totaux.....	127
III. 2. Dosage des flavonoïdes	128
IV. Tests pharmacologiques	129
IV. 1. Évaluation de l'activité antioxydante	129
IV. 1.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	129
IV. 1.2. Test de FRAP	134
IV. 1.3. Test TEAC.	135
IV. 2. Évaluation de l'activité anticancéreuse	137
IV. 3. Évaluation de l'activité antidiabétique	139
V. Analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse HPLC/MS	143
VI. Conclusion	147
 Conclusion générale et perspectives	 148
 Références Bibliographiques	 151

INTRODUCTION GENERALE

La santé humaine est un volet très important dans la santé publique. En effet, une mauvaise santé limite les capacités de toutes les populations, en particulier de celles des pays en voie de développement. La malnutrition peut provoquer des effets insidieux et des maladies graves. Donc la prévention par l'alimentation peut paraître comme ensemble des mesures à prendre, pour éviter les problèmes de santé majeurs. Il s'agit de la recherche des agents thérapeutiques naturels ou synthétiques, et leurs mises en application pour la protection et l'amélioration de la santé humaine.

Le sélénium est un oligo-élément essentiel pour l'organisme humain, qui doit forcément être présent dans notre régime alimentaire. Les composés organoséléniés sont considérés comme éléments de base dans plusieurs réactions métaboliques. Ils sont généralement utilisés comme des antioxydants via les sélénoenzymes.

Plusieurs processus de conception des composés organoséléniés, ont été explorés à partir des plantes médicinales contenant du sélénium, ou par la synthèse organique. Ces organoséléniés peuvent rivaliser avec les sélénoenzymes, vis-à-vis du substrat, de point de vue affinité et efficacité. Certains de ces composés ont des meilleures propriétés enzymatiques par rapport à celles des enzymes natives. Ainsi, le sélénium est considéré par les chimistes, comme l'élément noble et en même temps sain.

D'autre part, des produits naturels exemptés de l'élément sélénium, sont les plus répondus comme des agents thérapeutiques modèles, sous différentes formes : brutes ou isolées. Mais cette culture a besoin d'une vaste étude scientifique, afin de rationaliser l'utilisation de ces plantes médicinales, et éliminer toute utilisation non fondée voire même dangereuse. Ceci qui permet l'élaboration de nouveaux composés biologiquement actifs, à partir des molécules extraites et séparées de ces plantes.

Dans ce contexte, notre travail vise la réalisation, d'une part des réactions de synthèse des hétérocycles séléniés, et d'autre part, de chercher des composés naturels susceptibles d'avoir une activité biologique ou/et pharmacologique, à partir de la plante *Bombax buonopozense*, répondue en médecine traditionnelle par son vertu bénéfique.

Ce mémoire est structuré selon deux parties :

La première partie est divisée en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à l'étude bibliographique sur la présence du sélénium dans les plantes naturelles. Nous relatons dans ce chapitre, l'ensemble des données concernant l'incorporation de l'élément du sélénium dans la plante, donnant par la suite des métabolites organoséleniques. Ces derniers, en fonction de l'espèce végétale, peuvent être introduits et passés dans la chaîne alimentaire.¹

En tenant compte de l'intérêt croissant pour ces dérivés, nous nous sommes intéressés à contribuer au développement de cette recherche sur les dérivés organoséleniques. Ceci fait l'objet du deuxième et du troisième chapitre.

Aussi, le deuxième chapitre consiste à réaliser une étude d'optimisation de la réaction d'oxydation de l'alcool benzylique en composés carbonylés correspondants, à travers l'utilisation d'un catalyseur sélénique (schéma 1). En agissant sur plusieurs paramètres, afin de trouver les conditions optimales. Ces catalyseurs séléniques peuvent être considérés comme des agents thérapeutiques potentiels.

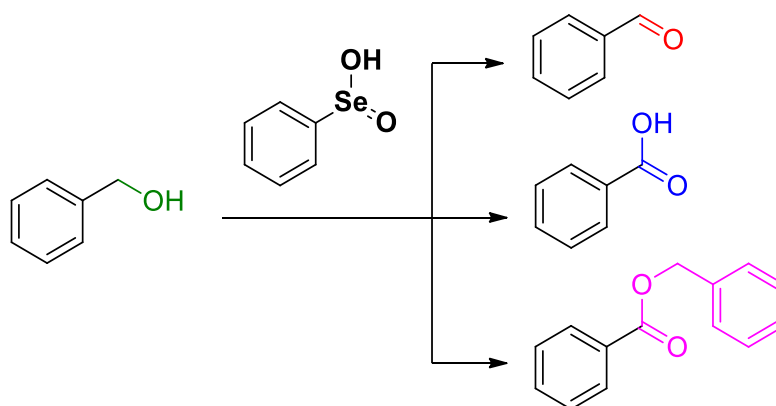


Schéma 1

Le troisième chapitre traite l'utilisation des alcènes et des oxaziridines comme des substrats, pour effectuer des réactions de cyclofonctionnalisation, favorisées par un réactif électrophile du sélénium, en tant que stratégie pratique pour la synthèse des composés hétérocycliques contenant de l'azote et de sélénium (schéma 2).

¹ Achibat, H.; A AlOmari, N.; Messina, F.; Sancineto, L.; Khouili, M.; Santi, C. *Nat. Prod. Commun.* **2015**, *10*, 1885.

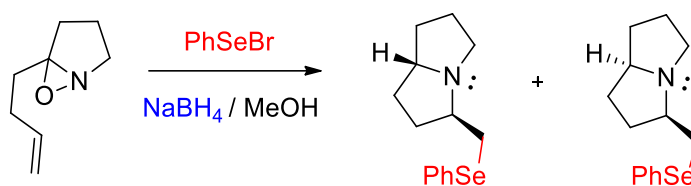


Schéma 2

La deuxième partie est divisée en trois chapitres :

Le premier chapitre fait l'objet d'une étude bibliographique, portant d'une part sur les plantes médicinales, comme source de molécules biologiquement actives, et d'autre part, nous nous sommes intéressés à donner un aperçu systématique sur les différentes utilisations et les propriétés pharmacologiques de la plante *Bombax buonopozense*.

Le deuxième chapitre est dédié à l'étude expérimentale de *Bombax buonopozense*, en explicitant les méthodes d'extractions utilisées, l'analyse phytochimique, le dosage des principaux espèces chimiques, ainsi que les activités pharmacologiques évaluées : l'activité antioxydante, cytotoxique et l'activité antidiabétique in vitro, et enfin, l'analyse chromatographique de l'extrait de plante.

Le troisième chapitre représente les résultats des tests phytochimiques, pharmacologiques et chromatographiques, avec leur interprétation et discussion.

PARTIE I.

Sélénium et ses dérivés organiques naturels et synthétiques

Chapitre I.

Composés phytochimiques à base de sélénium dans le règne végétal.

I. Introduction

Le Sélénium (Se) est l'un des éléments les plus répandus dans la croûte terrestre, et naturellement présent sous les deux formes solubles et insolubles, mais il est également produit par la pollution des activités humaines dans l'environnement. Son incorporation dans les plantes offre les métabolites d'organosélénium. Ces derniers selon la nature de l'espèce végétale, peuvent être incorporés dans des protéines, stockés ou éliminés par volatilisation. La possibilité d'utiliser le métabolisme du sélénium de certaines plantes comme méthode de bioremédiation est discutée, en tenant compte de l'intérêt croissant pour les dérivés organoséléniés comme nouveaux agents thérapeutiques potentiels.

Les applications du sélénium dans plusieurs domaines sont très vastes, en raison de ses propriétés physico-chimiques importantes, il est considéré semi-conducteur, il présente des propriétés électriques se situant entre celles d'un métal et d'un isolant. Il est ainsi largement utilisé dans l'industrie de verre et de céramique.²

Il existe de nombreuses preuves à soutenir les bienfaits des régimes alimentaires riches en fruits, les légumes, les légumineuses, les grains entiers et les noix, parce que les aliments à base des plantes sont des mélanges complexes de composés bioactifs. Certains composés issus des plantes, ayant des propriétés médicinales puissantes, contiennent des hétéroatomes, des métaux ou des non-métaux. Le sélénium à titre d'exemple la sélénométhionine (SeMet) était récemment évalué dans des essais cliniques, visant à évaluer l'impact de supplément de sélénium sur l'auto-immunité thyroïdienne et l'inflammation.³

L'utilisation du sélénium et ses dérivés, en tant qu'agent potentiellement utile sur le plan thérapeutique, a été profondément examinée, démontrant que les composés organoséléniés peuvent être attribués à un certain nombre de produits biologiques. Mais des connaissances plus précises sont nécessaires pour définir mieux le caractère "*Janus*" de sélénium.

² Longchamp, M. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie CURIE. Paris. **2012**.

³De Farias, C. R.; Cardoso, B. R.; De Oliveira, G. M. B.; De Mello Guazzelli, I. C.; Catarino, R. M.; Chammas, M. C.; Cozzolino, S. M. F.; Knobel, M. *J. Endocrinol. Invest.* **2015**, *38*, 1065.

Dans cette partie bibliographique, nous allons mettre l'accent sur le rôle du sélénium dans la nature qui, par son incorporation dans les plantes, offre ensuite et donc des dérivés naturels qui pourraient être théoriquement employés pour la prévention des maladies, ou utilisé comme agents thérapeutiques naturels. Et donc, sera une bonne opportunité d'encourager l'enrichissement de la teneur en sélénium dans les cultures agricoles (schéma 3). On parle alors du caractère "Janus" du sélénium, présente à la fois des fins à caractère médical et écologique. Ceci constitue un défi dans le développement durable des pays respectifs, tout en restant dans le cadre d'une chimie verte et durable.

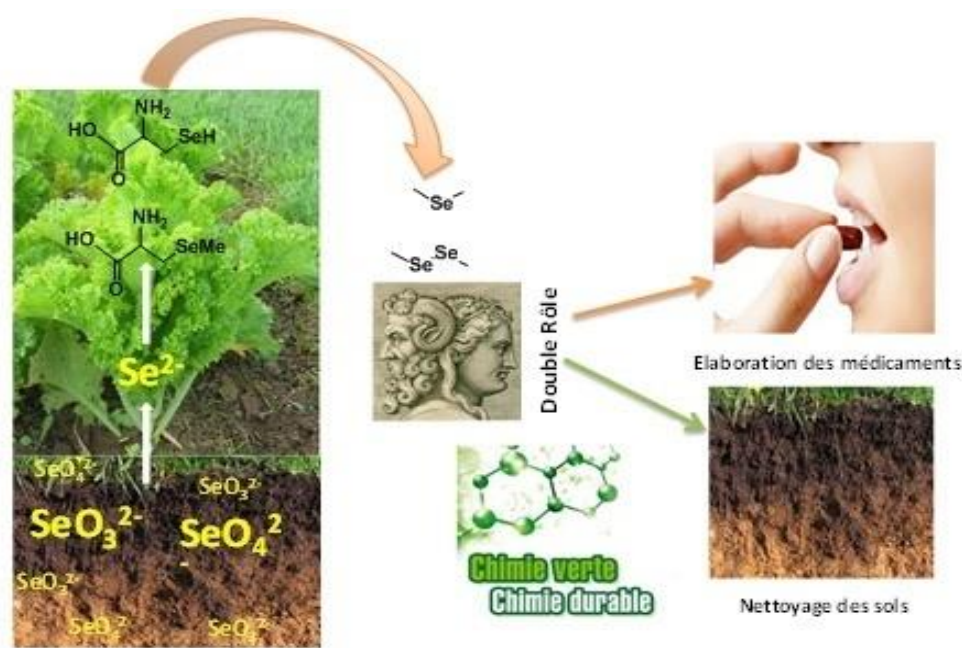


Schéma 3: Valorisation du sélénium contenu dans le sol à des fins médicales et écologiques.

Le sélénium peut être aussi utilisé comme agent thérapeutique synthétique. Ce contexte incite à développer notre compréhension sur le fonctionnement du sélénium, de point de vue réactivité chimique.

Dans ce cadre, nous allons développer le sélénium utilisé en synthèse organique, en essayant de respecter les concepts fondamentaux de la chimie verte, dont la catalyse chimique est un volet très important.

II. Sélénium et santé humaine

II. 1. Historique

En 1818, le chimiste suédois Jacob Berzelius a découvert le sélénium (Se), en tant qu'élément naturellement présent dans l'environnement, et capable de former à la fois des dérivés solubles et insolubles⁴. Cent quarante ans plus tard, Schwarz et Foltz ont identifié le sélénium (Se) comme un élément essentiel pour l'alimentation des animaux, quand ils ont découvert que ses traces protègent contre la nécrose hépatique chez les rats déficients en vitamine E.⁴

Le rôle de cet élément dans la santé humaine a pris de l'ampleur à la fin des années 1960, lorsque plusieurs travaux ont montré que des maladies animales, semblables à celles de l'être humain, sont dues à la sensibilité au sélénium.⁵

Bien qu'aujourd'hui, il est reconnu que le sélénium (Se) est un micronutriment essentiel pour l'organisme humain, et important pour le règne végétal et animal, sans oublier celui des microorganismes (cyanobactéries).⁶ Il peut intervenir dans les conditions de sécheresse et pallier à la pénurie d'eau,⁷ prévenir le stress oxydatif, retarder la sénescence et promouvoir la croissance.^{8,9}

II. 2. Apports alimentaires en sélénium

Le sélénium est présent dans le sol, et il entre dans la chaîne alimentaire à travers les plantes. Le corps humain obtient les doses principales à partir de la nourriture (tableau 1). Les teneurs de cet élément dans les tissus sont facilement influencés par cet apport alimentaire, suivant les différentes régions géographiques. À cette fin, l'utilisation de plantes enrichies en sélénium en tant que complément dans la nourriture est employée jusqu'à présent. Leur utilisation comme médicament à base de plantes serait

⁴Schwartz, K.; Foltz, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 3292.

⁵Combs, S. B.; Combs, G. F. The role of selenium in nutrition. *Academic Press Inc, New York.* **1986**.

⁶Germ, M.; Stibil, J. V. *Acta. Agric.* **2007**, 89, 65.

⁷Kuznetsov, V. V.; Kholodova, V. P.; Kuznetsov, V. I. V.; Yagodin, B. A. *Dokl. Biol. Sci.* **2003**, 390, 266.

⁸Xue, T. L.; Hartikainen, H.; Piironen, V. *Plant Soil.* **2001**, 237, 55.

⁹Pennanen, A.; Xue, T.; Hartikainen, H. *J. Appl. Bot.* **2002**, 76, 66.

recommandable dans l'avenir, puisqu'il est impliqué dans un certain nombre de métabolismes biologiques.¹⁰

Tableau 1 : Concentrations moyennes de sélénium dans diverses sources alimentaires

Aliment	Concentrations moyennes de sélénium (µg/100 g)
Lait	1,5
Bœuf	7,6
Porc	14,0
Agneau	3,8
Poisson	16,0
Fruit	1,0
Légumes	2,0
Céréales	11,0
Pain	4,5

Le sélénium est un antagoniste du soufre, provoquant une inhibition de l'absorption de cet élément.¹¹ En raison des grandes similitudes chimiques entre ces deux atomes, dans certains systèmes biochimiques, le sélénium a remplacé le soufre comme dans le cas des acides aminés : la cystéine (Cys) et la méthionine (Met), qui se produisent naturellement sous la forme séléniée correspondante : sélénocystéine (SeCys) et sélénométhionine (SeMet) (figure 1).^{12,13}

Il existe des différences significatives dans l'activité des composés soufrés et leurs dérivés de sélénium. La liaison sélénium-hydrogène (Se-H) et sélénium-carbone (Se-C) sont plus longues que leur analogue de soufre, et donc plus réactive. Cette propriété influence par exemple la différence entre l'activité catalytique de l'acide aminé systéine (Cys) et sélénocystéine (SeCys).^{14,15}

¹⁰Brown, K. M.; Arthur, J. R. *Public. Health. Nutr.* **2001**, *4*, 593.

¹¹Fordyce, F. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In *Essentials of medical geology. Elsevier, Amsterdam.* **2005**, 373.

¹²Eapen, S.; D'Souza, S. F. *Biotechnol. Adv.* **2005**, *23*, 97.

¹³Plant, J. A.; Kinniburgh, D. G.; Smedley, P. L.; Fordyce, F. M.; Klinck, B. A. *Elsevier Pergamon, Oxford.* **2005**, *9*, 17.

¹⁴Huber, R. E.; Criddle, R. S. *Arch. Biochem. Biophys.* **1967**, *122*, 164.

¹⁵Jacob, C.; Giles, G. I.; Giles, N. M.; Sies, H. *Angew.Chem. Int.* **2003**, *42*, 4742.

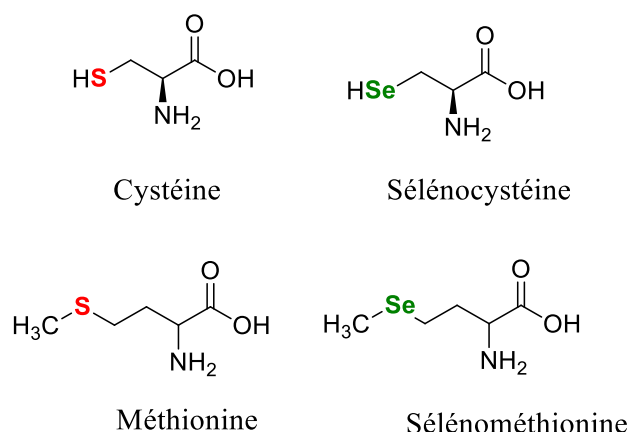


Figure 1: Structure des antagonistes sélocystéine et sélocméthionine

II. 3. Réponses biologiques du sélénium dans l'organisme humain

II. 3.1. Élément essentiel incorporé au niveau des protéines

Des nouvelles recherches ont révélé le rôle insoupçonné du sélénium dans des domaines vitaux, puisqu'il a été reconnu qu'un nombre d'enzymes contenant généralement la sélocystéine (SeCys) au site actif,¹⁶ construisant ainsi le site catalytique des séloenzymes.

Une liste de ces enzymes est listée dans le tableau 2.¹⁷ L'exemple le plus connu est la glutathion peroxydase (GPx), qui réduit le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) nocif en produits inoffensifs. La famille de (GPx) est liée au sélénium suivant un mécanisme d'oxydo-réduction, qui utilise la glutathion comme cofacteur.^{18,19,20}

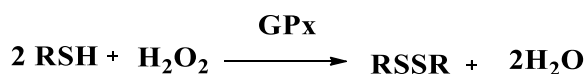


Schéma 4 : Réduction du H₂O₂ dans le test d'activité de GPx.

¹⁶Sunde, R. A. Selenium. In Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements. *Marcel Dekker, New York*. **1997**, 493.

¹⁷Rayman, M. P. *The Lancet*. **2000**, 356, 233.

¹⁸Allan, C. B.; Lacourcière, G. M.; Stadtman, T. C. *Annu. Rev. Nutr.* **1999**, 19, 1.

¹⁹Diplock, A.T. *Mol. Aspects. Med.* **1994**, 15, 293.

²⁰Rotruck, J. T.; Pope, A. L.; Ganther, H. E.; Swanson, A. B.; Hafeman, D. G.; Hoekstra, W. G. *Science*. **1973**, 179, 588.

Tableau 2 : Rôle des sélénoprotéines pour l'organisme humain

Sélénoprotéine	Fonction
<p><i>La glutathion peroxydase (GPx)</i> (GPx 1, GPx 2, GPx 3, GPx 4)</p>	<p>Elimine le peroxyde d'hydrogène, les lipides et l'hydroperoxydes phospholipidiques (ce qui maintient l'intégrité de la membrane, la modulation de la synthèse d'eicosanoïde, la modification de l'inflammation et la probabilité de propagation d'autres dommages oxydatifs aux biomolécules telles que les lipides, les lipoprotéines et l'ADN).</p>
<p>Sélénoprotéine de la capsule mitochondriale, (trouvée dans le sperme)</p>	<p>Protège les spermatozoïdes contre les dommages oxydatifs, puis polymérise en une protéine structurale requise pour la stabilité du sperme.</p>
<p>Thiorédoxine réductase</p>	<p>Réduction des nucléotides dans la synthèse de l'ADN, maintien de l'état redox intracellulaire, critique pour la viabilité cellulaire et la prolifération, régulation de l'expression des gènes par contrôle redox de la liaison des facteurs de transcription à l'ADN.</p>
<p>Sélénoprotéine W</p>	<p>Nécessaire pour la fonction musculaire.</p>
<p>Sélénophosphate-synthétase, SPS2</p>	<p>Nécessaire pour la biosynthèse du sélénophosphate, le précurseur de la sélénocystéine et donc pour la synthèse de sélénoprotéine.</p>
<p>Sélénoprotéine de l'épithélium de la prostate (15 kDa)</p>	<p>Trouvé dans les cellules épithéliales de la prostate ventrale. Il semble avoir une fonction redox (ressemble à PHGPx), protégeant les cellules sécrétoires contre le développement du carcinome.</p>
<p>Sélénoprotéine de spermatozoïdes liée à l'ADN (34 kDa)</p>	<p>Trouvé dans l'estomac et dans les noyaux des spermatozoïdes. Il protège les spermatozoïdes en développement.</p>

II. 3.2. Prévention du cancer

Le sélénium possède d'autres effets importants sur la santé. En particulier, sa relation avec la prévention du cancer de côlon, de poumon, de peau et d'autres types de cancer ont été déclarés.²¹ Son rôle dans la désintoxication des métaux lourds comme le mercure et le plomb sont également importants pour le corps humain.

D'après la littérature, certains composés de sélénium ont été prétendus prévenir le carcinome, ou ralentir le vieillissement et améliorer les activités sexuelles.²²

Le 2-phénylbenzo[*d*][1,2]séléazol-3(2*H*)-one, appelé aussi Ebselen (figure 2), est l'un des premiers composés organoséléniques largement étudié, en tant que médicament potentiel. Il a la capacité à protéger les systèmes vivants, contre les dommages causés par l'excès des espèces réactives d'oxygène (ERO) formées dans les rétinopathies. Il protège ainsi contre le diabète, la maladie d'Alzheimer. C'est un anti-inflammatoire et un excellent agent neuroprotecteur.²³

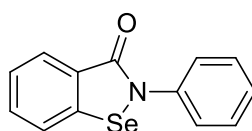


Figure 2 : Structure de l'Ebselen

II. 3.3. Implication dans la réponse immunitaire

Le sélénium peut retarder la progression du Sida par l'inhibition de la prolifération du virus du VIH.²⁴ Une étude de certaines populations Africaines vivant dans la région subsaharienne, pour lesquels la forte prolifération du virus du VIH a été corrélée à la faible concentration de sélénium dans le sol, et par conséquent dans les plantes et les denrées alimentaires.²⁵

Cet élément a été proposé dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, de l'asthme, de la pancréatite et de la prévention de l'athérosclérose.^{26,27} Ainsi il a été

²¹Pezzarosa, B.; Petruzelli, G.; Petacco, F.; Malorgio, F.; Ferri, T. *Chemosphere*. **2007**, *67*, 322.

²²Maihara, V. A.; Gonzaga, I. B.; Silva, V. L.; Favaro, D. I. T.; Vasconcellos, M. B. A. ; Cozzolino, S. M. F. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2004**, *259*, 465.

²³Agata, J. P.; Francesca, M.; Luca, S.; Eder, J. L.; Jacek, Ś.; Claudio, S. *Curr. Chem. Bio.* **2015**, *9*, 97.

²⁴Drain, P. K.; Kupka, R.; Mugusi, F.; Fawzi, W. W. *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *85*, 333.

²⁵Foster, H. D. *Med. Hypotheses*. **2003**, *60*, 611.

²⁶Ducros, V. ; Favier, A. *EMC. Endocrinologie*. **2004**, *1*, 19.

²⁷Rayman, M. P. *Br. J. Nutr.* **2008**, *100*, 254.

démontré qu'une carence importante en sélénium provoque la maladie de Keshan, une cardiomyopathie endémique principalement affectant les enfants et les femmes, dans les pays où le niveau de sélénium est faible, de l'ordre de 10 à 15 µg par jour.²⁸

Une étude ayant porté sur les femmes enceintes, a montré que le taux de sélénium plasmatique est plus faible pour les femmes suivant un régime pauvre en celui-ci, ou nourris avec du végétale cultivée dans un sol à faible concentration en cet élément. Cette condition représente un risque potentiel pour les fœtus et le nouveau-né.²⁹

II. 4. Apports journaliers recommandés

II. 4.1. Cas de l'alimentation animale

Le premier rapport sur l'empoisonnement au sélénium est considéré comme décrit par Marco Polo, une maladie nécrotique des chevaux, qui s'est produite en Chine occidentale.³⁰

Le sélénium à forte dose, peut être toxique pour les animaux et les humains.³¹ La gamme de concentration allant de l'exigence d'élément à la toxicité, et de l'activité antioxydante à la pro-oxydante est assez étroite: le niveau nutritionnel minimal pour les animaux est d'environ 0,05 à 0,10 milligrammes de sélénium par kilogramme de fourragère sèche, tandis que l'exposition aux niveaux de 2 à 5 milligrammes de sélénium par kilogramme de fourragère sèche provoque une toxicité.³²

II. 4.2. Cas de l'alimentation humaine

La principale source de sélénium chez l'homme provient de l'alimentation, et plus particulièrement des produits issus de l'agriculture. La dose appropriée pour cet élément essentiel dépend de l'âge, du sexe et de l'indice de masse corporelle. Pour l'Homme, la gamme peut varier entre 0,2 et 1 microgrammes de sélénium par Kg de masse corporelle.³³

²⁸Combs, G. F. *Br. J. Nutr.* **2001**, 85, 517.

²⁹Gibson, R. S.; Bailey, K. B.; Ampong Romano, A. B.; Thomson, C. D. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* **2011**, 25, 230.

³⁰Santoro, S.; Azeredo, J. B.; Nascimento, V.; Sancineto, L.; Bragab, A. L.; Santi, C. *RSC. Adv.* **2014**, 4, 31521.

³¹Van Vleet, J. F.; Ferrans, V. J. *Biol. Trace. Elem. Res.* **1992**, 33, 1.

³²Wu, L.; Mangem, J. P. V.; Guo, X. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1996**, 31, 329.

³³Adam, C.; Rouelle-Debet, S. Selenium 79 et environnement. *IRSN- Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire.* **2002**, 2.

L'apport quotidien recommandé pour un adulte en bon état physiologique est 55 µg par jour pour femmes, 70 µg par jour pour hommes, et plus bas pour les enfants de moins de 14 ans.³⁴ Les apports quotidiens en dessous de 30 µg par jour sont classés comme déficience, alors que la limite supérieure recommandée est établie à 400 µg par jour.³⁵

II. 4.3. Intoxication au sélénium

Il est important de souligner que les valeurs de la dose nocive de sélénium pour les êtres humains sont encore incertaines. La littérature sur sa toxicité est encore limitée et incomplète. Les cas de sélénois sont moins fréquents et documentés que l'effet produit par la carence. Une étude effectuée en 2009 n'a démontré aucun effet défavorable pour la consommation de 853 µg par jour.³⁶

En général, la toxicité semble être principalement corrélée à la forme chimique de sélénium inorganique et organique. La tolérance a été démontrée lorsque la méthylsélénocystéine (MeSeCys) a été utilisée comme un agent anti-tumoral.³⁷

Les effets néfastes du sélénium peuvent être dus à des interférences avec le métabolisme du soufre, par l'inhibition de systèmes enzymatiques, lors des remplacements des groupements thiols (R-SH) dans les protéines par des groupements séléniol (R-SeH), ou à une inhibition de la glutathion peroxydase (GPx), entraînant l'augmentation de radicaux libres.

Chez les mammifères, dans de nombreuses régions qui sont déficientes en sélénium, le premier rapport sur le bénéfice nutritionnel a été publié en 1957.³⁷ Depuis, l'intérêt a augmenté, surtout en raison de son effet potentiel sur la santé.

III. Sélénium dans l'environnement

Le sélénium présent en quatre états d'oxydation: le séléniate (SeO_4^{2-}), le sélénite (SeO_3^{2-}), sélénium élémentaire (Se) et le séléniure (Se^{2-}). Le (SeO_4^{2-}) et (SeO_3^{2-}) sont les plus abondantes formes inorganiques, ils sont solubles dans l'eau, et pour cette raison, ils

³⁴Dietary, Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. *Institute of Medicine (U.S) and Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. National Academies Press, Washington, D.C. 2000.*

³⁵Monsen, E. R. *J. Am. Diet. Assoc.* **2000**, *100*, 637.

³⁶Ogra, Y.; Anan, Y. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2009**, *24*, 1477.

³⁷Hoekstra, W. *Fed. Proc.* **1975**, *34*, 2083.

sont caractérisés par une bonne mobilité dans les sols. Le sélénium est généralement associé à des minéraux de soufre dans la composition des sédiments, les altérations de roches favorisent sa sortie dans le sol, dont principalement les formes solubles peuvent être facilement assimilées.³⁸

Le sélénium peut également être considéré comme un contaminant environnemental. Le facteur d'enrichissement de la biosphère (FEB) est de 17, correspondant à un enrichissement sévère, et indiquant que son cycle est fortement influencé par les activités anthropiques.

Il s'agit d'un composé utilisé dans la fabrication d'insecticides et fongicides, il est présent dans les déchets associés aux opérations centrales nucléaires, dans les effluents des huiles, les raffineries et les stations de traitement de l'eau. Comme un isotope à longue durée de vie, il est persistant dans l'environnement, continue à être diversifié et présent dans l'écosystème et incorporé dans les sols agricoles, et enfin, bioaccumulé dans les plantes alimentaires.³⁹

L'absorption de sélénium par les plantes dépend d'un certain nombre de paramètres de sol, qui influencent son état d'oxydation, et par conséquent, sa mobilité et sa biodisponibilité.

Le séléniat (SeO_4^{2-}) est la forme la plus biodisponible, sa formation est favorisée par des sols alcalins, tandis que le sélénite (SeO_3^{2-}) est le principal ion normalement présent dans le sol. La présence des cations tel que (Ca^{2+}) favorise l'absorption du sélénium, alors qu'elle est inhibée en présence des anions tels que (Cl^-) et (SO_4^{2-}).

Cette inhibition est particulièrement évidente en présence de l'antagonisme entre les ions sulfates (SO_4^{2-}) et le séléniat (SeO_4^{2-}).^{40,41} Aussi, la cinétique thermodynamique de réduction du séléniat (SeO_4^{2-}) en sélénite (SeO_3^{2-}) est lente, ce qui permet à ce dernier d'être stable et dominant dans les milieux légèrement oxydants. Le sélénite (SeO_3^{2-}) est une forme soluble, mais peut facilement et rapidement s'adsorber sur des particules minérales, principalement sur les oxydes de fer ou de la matière organique. Le sélénium élémentaire (Se) et le séléniure (Se^{2-}) sont majoritaires dans les milieux réducteurs, ils sont potentiellement immobiles.⁴¹

³⁸Batiueles, G.; Schrale, G. *Calif. agric.* **1989**, 19.

³⁹Melanie, L. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie CURIE. Paris. **2012**.

⁴⁰Hyun, S.; Burns, P. E.; Murarka, I.; Lee, L. S. *Vadose. Zone. J.* **2006**, 5, 1110.

⁴¹Grieve, C. M.; Poss, J. A.; Suarez, D. L.; Dierig, D. A. *Ind. Crops. Prod.* **2001**, 13, 57.

IV. Sélénium dans les plantes supérieures

Le sélénium n'a pas été classé comme un élément essentiel pour les plantes, son rôle a été jugé bénéfique, lorsqu'il est dans les plantes séléno-accumulatrices.⁴² Un certain nombre d'activités humaines produisent du sélénium, qui peut s'écouler dans la chaîne alimentaire, par son accumulation dans les sols.⁴³ Les plantes ayant le caractère hyper-accumulatrices, peuvent favoriser la transformation du sélénium en dérivés organiques moins toxiques ou volatils, tels que le diméthylséléniure (DMS₂) et le diméthyldiséléniure (DMDSe) (figure 3).

L'utilisation des plantes pour la bioremédiation, représente une alternative intéressante, pour récupérer les dommages environnementaux infligés aux activités humaines.^{44,45} C'est un moyen simple de collecter des dérivés naturels enrichis en sélénium, avec un intérêt potentiel pour la santé.⁴⁶

La chimie d'organosélénium a occupé une place importante dans la communauté chimique, en raison de leur application potentielle dans divers domaines. Elle a permis de poursuivre cette voie de valorisation du sélénium à partir des plantes. Une étude récente, menée par Boualy Brahim et son groupe de recherche, a démontré le rôle des catalyseurs séléniés dans la synthèse organique, en se basant sur la valorisation des produits naturels extraits des plantes pour la préparation de nouveaux organosélénium.

Cette étude a permis de synthétiser le catalyseur Se(bêta-pinène)₂ **2**, à partir de bêta-pinène **1**, extraite d'une plante médicinale (schéma 5).⁴⁷

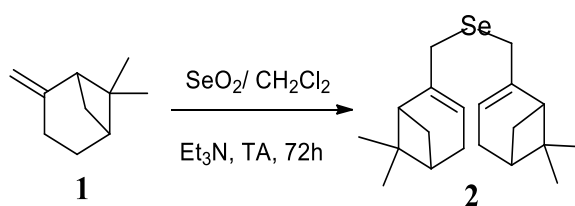


Schéma 5

⁴²Shanker, A. K. *Plant. Soil.* **2006**, 282, 21.

⁴³Haygarth, P. M. Global importance and global cycling of selenium. In *Selenium in the environment*. Marcel Dekker, New York, N.Y. **1994**, 1.

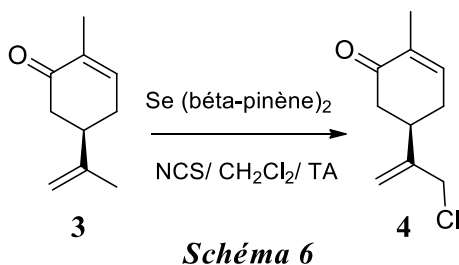
⁴⁴Dumont, E.; Vanhaecke, F.; Cornelis, R. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 385, 1304.

⁴⁵Zayed, A.; Lytle, C. M.; Terry, N. *Planta.* **1998**, 206, 284.

⁴⁶Lyons, G.; Genc, Y.; Stangoulis, J.; Palmer, L.; Graham, R. *Biol. Trace. Elem. Res.* **2004**, 101, 155.

⁴⁷ Boualy, B.; El Houssame, S.; Sancineto, L.; Santi, C.; Ait Ali, M.; Stoeckli-Evans, H.; El Firdoussi, L. *New. J. Chem.* **2015**, 1, 1

L'application du catalyseur $\text{Se}(\text{b}\beta\text{-pin\grave{e}ne})_2$ est exploitée dans les réactions de chloration des oléfines terpéniques **3** en présence de *N*-chlorosuccinimide (NCS), à température ambiante (schéma 6).



Nous pouvons alors constater le rôle important que jouent les plantes pour la valorisation de sélénium du côté environnemental. À travers ces composés organoséleniques naturels ou synthétiques, et grâce au rôle de la chimie moderne, des nouveaux composés chimiques voire thérapeutiques peuvent s'élaborer.

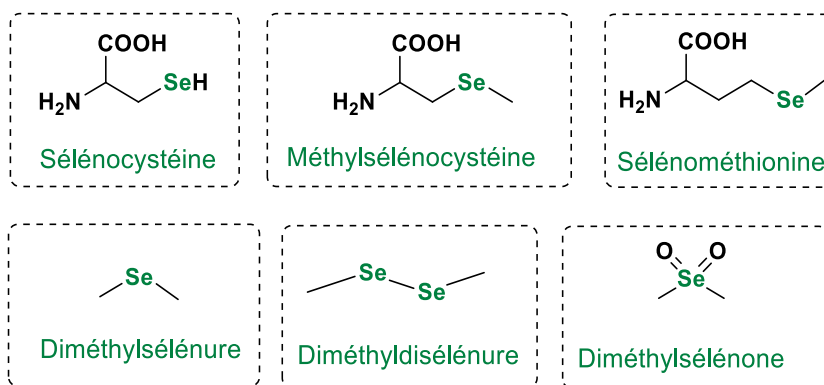


Figure 3 : Métabolites organoséleniques

IV. 1. Voie d'assimilation

Le sélénium est absorbé par le système racinaire, puis il peut suivre trois voies métaboliques différentes (figure 4):^{48,49,50}

(i) Translocation du séléniate (SeO_4^{2-}) et du sélénite (SeO_3^{2-}) des racines aux parties aériennes

⁴⁸ Martens, D. A.; Suarez, D. L. *Environ. Sci. Technol.* **1997**, 31, 133.

⁴⁹ Hansen, D.; Duda, P. J.; Zayed, A.; Terry, N. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32, 591.

⁵⁰ Azaizeh, H. A.; Gowthaman, S.; Terry, N.; Zayed, A. M.; de Souza, M. P.; Tarun, A. S. *Environ. Sci. Technol.* **1997**, 26, 666.

(ii) Transformation métabolique des formes inorganiques du sélénium contenant des acides aminés : sélénométhionine (SeMet), sélénocystéine (SeCys), Méthylsélénocystéine (MeSeCys)

(iii) La biométhylation avec formation de diméthylsélénure (DMSe), diméthyldisélénure (DMDSe), diméthylsélénone (DMS₂O) et méthylsélénol (MSe)

Certains microorganismes, comme *Alternaria* et *Penicillium Corynbacterium* peuvent également être impliqués dans ces processus.

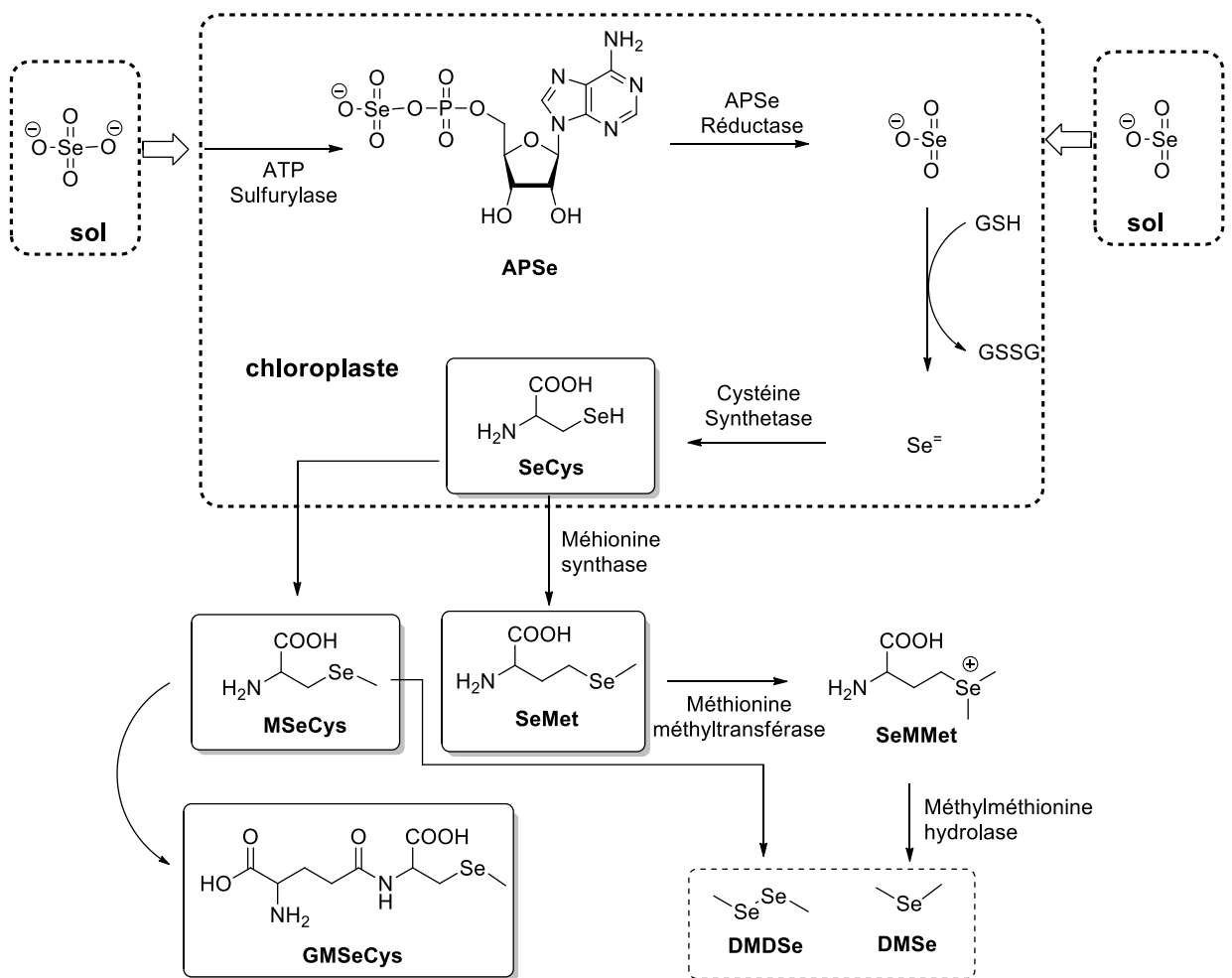


Figure 4 : Voies de biosynthèse du sélénium du sol aux métabolites et/ou à la volatilisation

Le métabolisme du sélénium par la plante (figure 4) passe par les étapes suivantes :

Compte tenu des similitudes chimiques, le processus métabolique du sélénium est similaire à celui du soufre.^{51,52} Son absorption par les plantes du sol implique soit du séléniate (SeO_4^{2-}) ou sélénite (SeO_3^{2-}).

Le séléniate (SeO_4^{2-}) est transporté dans les chloroplastes, où il est activé par l'ATP sulfurylase, formant l'adénosine phosphoséléniate (APSe). La réduction de séléniate (SeO_4^{2-}) au sélénite (SeO_3^{2-}) est une étape limitante dans le métabolisme du sélénium dans les plantes. L'adénosine phosphoséléniate (APSe) est ensuite réduite au sélénite (SeO_3^{2-}) par l'adénosine phosphosulfate réductase (APS réductase).⁵³

L'étape suivante correspond à la réduction du sélénite (SeO_3^{2-}) en séléniure (Se^{2-}). Dans la littérature, une voie enzymatique uniquement plastidiale, faisant intervenir le sulfite réductase, ainsi qu'une voie non enzymatique chloroplastique ou cytosolique, impliquant le précurseur de glutathion (GSH).⁵³

Le séléniure (Se^{2-}) agit comme un précurseur pour la synthèse de sélénocystéine (SeCys) et sélénométhionine (SeMet). Ce dernier par une méthylation catalysée par la L-méthionine synthase et méthionine méthyltransférase, se transforme en sélénométhylméthionine (SeMMet), qui donne par une hydrolyse enzymatique le Diméthylséléniure volatil (DMSe).⁵³

La S-méthyltransférase (SMT) comme source d'un groupement méthyle, favorise la conversion de la sélénocystéine (SeCys) en Méthylsélénocystéine (MSeCys). La méthylation empêche l'incorporation du séléno-amino-acide dans les protéines. Le (MSeCys) peut être accumulé, car il est conjugué sous la forme de gamma-glutamyl-Méthylsélénocystéine (GMSeCys). Il a également été proposé que le (MSeCys) puisse être décomposé pour offrir le Diméthyldiséléniure (DMDS), contribuant à la volatilisation du sélénium.⁵³

IV. 2. Classifications des plantes

IV. 2.1. Plantes non accumulatrices

⁵¹Leustek, T. Sulfate metabolism. In *The Arabidopsis Book*. Somerville. American Society of Plant Biologists. **2002**, 1.

⁵²Leustek, T. ; Martin, M. N.; Bick, J. A.; Davies, J. P. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **2000**, *51*, 141.

⁵³Ellis, D. R.; Salt, D. E. *Curr. Opin. Plant. Biol.* **2003**, *6*, 273.

Les plantes diffèrent dans leur capacité à accumuler le sélénium. Certaines plantes sont capables d'hyperaccumuler cet élément dans leurs pousses, lors de leurs croissances sur des sols sélénifères.

Dans la littérature, un groupe de chercheur a étudié, en 2015, l'affectation de la spéciation du sélénium et son accumulation dans les plantes voisines. Aucune corrélation n'a été détectée durant ces travaux de recherche réalisés sur les plantes telles que : *Artemisia Ludoviciana*, *Symphotrichum Ericoides* et *Album Chenopodium*.⁵⁴ Ainsi, ces plantes fourragères et végétales, ainsi que les graminées contiennent moins de 25 grammes de sélénium par kilogramme de poids sec, elles sont habituellement appelées non accumulatrices de sélénium.^{55,56}

IV. 2.2. Plantes accumulatrices

Une deuxième catégorie de plantes, connue sous le nom de plantes accumulatrices, peuvent accumuler jusqu'à 1000 mg de Se/Kg de poids sec. Les espèces *d'Aster*, *Astragalus*, *Atriplex*, *Castilleja*, *Comandra*, *Grayia*, *Grindelia*, *Gutierrezia* et *Machaeranthera* sont les plus connues.⁵⁷

IV. 2.3. Plantes hyper-accumultrices

La famille des espèces *Allium* et *Brassica* sont incluses dans la classe d'accumulateurs secondaires de sélénium, avec une concentration typique de plusieurs grammes de sélénium par kilogramme de poids sec dans leurs tissus, lorsqu'ils poussent sur des sols contenant des niveaux modérés de sélénium.⁵⁸

Des études sur des cultures où les sols étaient alimentés en séléniat (SeO_4^{2-}) ont été menées, l'ail (*Allium sativum*), l'oignon (*Allium cepa*), le poireau (*Allium ampeloprasum*) et le brocoli (*Brassica oleracea*), ont accumulé du séléno-amino-acide, tandis que

⁵⁴ El Mehdawi, A. F.; Lindblom, S. D.; Cappa, J. J.; Fakra, S. C.; Elizabeth, A.; Pilon-Smits, H. *Int. J. Phytoremediation*. **2015**, *17*, 753.

⁵⁵ Yasin, M.; El-Mehdawi, A. F.; Jahn, C. E.; Anwar, A.; Turner, M. F. S.; Faisal, M. *Plant Soil*. **2015**, *386*, 385.

⁵⁶ Brown, T. A.; Shrift, A. *Biol. Rev.* **1982**, *57*, 59.

⁵⁷ Parker, D. R.; Page, A.L. Vegetation management strategies for remediation of selenium contaminated soil. In *Selenium and the Environment*. Marcel Dekker, New York **1994**, 327.

⁵⁸ Banuelos, G.; Ajwa, H. A.; Mackey, M.; Wu, L.; Cook, C. *J. Environ. Qual.* **1997**, *26*, 639.

Arabidopsis thaliana et *Brassica juncea*⁵², ont accumulé le sélénium principalement sous forme de sélénite (SeO_3^{2-}).⁵⁹

En 2013, Yuan et al⁶⁰, ont découvert *Cardamine hupingshanensis* (*Brassicaceae*), une nouvelle usine d'accumulation de sélénium en Chine, une telle plante a pu s'accumuler 99% du sélénium total comme sélénocystéine (SeCys).

V. Phytoremédiation

La phytoremédiation est une biotechnologie verte, consistant à nettoyer les environnements contaminés par le sélénium, principalement par phytoextraction et phytovolatilisation.

Les plantes peuvent nettoyer de grandes surfaces et des volumes de sols, enlever le sélénium sous forme de séléniat (SeO_4^{2-}) et sélénite (SeO_3^{2-}), puis les formes organiques. Une fois absorbé par les racines des plantes, le sélénium est retiré du site, ce processus appelé phytoextraction.⁶¹

De nombreuses espèces ont été évaluées pour leur efficacité dans la phytoremédiation. Certaines espèces d'*Astragalus* (*A.A.bisculatus* et *A. Racemosus*) ont été trouvées pour accumuler le sélénium, ce qui a conduit certains chercheurs à suggérer leur utilisation comme accumulateurs potentiels.⁵⁴

La phytovolatilisation pose un problème, car elle élimine complètement le sélénium de l'écosystème local dans l'atmosphère, cela réduit au minimum l'entrée de ce dernier dans la chaîne alimentaire.⁶²

La biofortification est une stratégie biotechnologique, qui vise à augmenter les teneurs en micronutriments, par enrichissement dans les parties comestibles des plantes, animaux ou champignons, par élevage ou application des fertilisants.

Les stratégies de phytoremédiation tentent de sélectionner des espèces végétales, qui accumulent plus de polluants. Ces stratégies sont considérées comme sûres et efficaces pour atténuer la malnutrition en micronutriments dans de nombreuses zones ou pays.⁶³

⁵⁹Pilon-Smits, E. A. H.; Quinn, C. F. Selenium metabolism in plants. In Cell Biology of Metals and Nutrients. In Plant Cell Monographs. Springer-Verlag, Heidelberg **2010**, 225.

⁶⁰ Yuan, L.; Zhu, Y.; Lin, Z. Q.; Bañuelos, G. L. W.; Yin, X. *PloS. One.* **2013**, *8*, 1.

⁶¹Bañuelos, G. S.; Lin, Z. Q.; Wu, L.; Terry, N. *Rev. Environ. Health.* **2002**, *17*, 291.

⁶²Zayed, A. M.; Terry, N. *J. Plant. Physiol.* **1994**, *143*, 8.

Cependant, l'une des difficultés associées à la phytoremédiation, est la façon d'utiliser ou éliminer les déchets de plantes récoltées à partir de sites de phytoremédiation. Différentes options de gestion ont été discutées par les chercheurs, concernant l'élimination des déchets végétaux, y compris les décharges et l'incinération, mais aucune de ces options n'est considérée comme durable ou respectueuse de l'environnement.⁶⁴

Généralement, les matériaux végétaux récoltés à partir des sites de phytoremédiation peuvent contenir des concentrations élevées de Sélénium, si elles sont incorrectement gérées, peuvent être potentiellement toxiques pour la faune via la biomagnification.

En général, il existe deux exigences très basiques pour gérer ce problème: premièrement, les tissus végétaux sélectionnés devraient être comestibles ou convertibles en nourriture, et deuxièmement, la partie comestible de la plante devrait accumuler des concentrations plus élevées en sélénium, mais pas d'autres composés toxiques.⁶⁵

Des études ont été menées pour déterminer si l'amélioration du *brocoli* (*Brassica oleracea*) avec sélénium, produirait une plante avec des avantages sur la santé. En particulier, l'inclusion de *brocolis* enrichis dans le régime de rats, induit des activités de sélénoprotéine-thiorédoxine réductase, au delà des activités maximales induites par le sélénium seul.

Ces résultats mettent l'accent sur les interactions complexes des molécules bioactives. Celle-ci s'explique par le fait de maximiser un composant, pouvant affecter l'accumulation d'un autre, entraînant par la suite des interactions métaboliques inattendues dans le corps.⁶⁶

⁶³ Zhao, F. J.; McGrath, S. P. *Curr. Opin. Plant. Biol.* **2009**, *12*, 373.

⁶⁴ Wu, Z.; Bañuelos, G. S.; Lin, Z. Q.; Liu, Y.; Yuan, L.; Yin, X.; Li, M. *Front. Plant. Sci.* **2015**, *6*, 1.

⁶⁵ Rodrigo, S.; Santamaria, O.; Chen, Y.; McGrath, S. P.; Poblaciones, M. J. *J. Agric. Food. Chem.* **2014**, *62*, 5948.

⁶⁶ Finley, J. W.; Sigrid-Keck, A.; Robbins, R. J.; Hintze, K. J. *J. Nutr.* **2005**, *135*, 1236.

VI. Conclusion

D'après cette analyse bibliographique, relatant l'existence du sélénium dans les plantes, il apparaît évident que certaines espèces naturelles, pouvant métaboliser et accumuler le sélénium sous formes de dérivés organoséléniques, sont considérés comme agents thérapeutiques potentiels en médecine et en pharmacie.

Poussé par leurs propriétés chimiques et biologiques intéressantes, la synthèse des composés organoséléniques, continue d'être un domaine de recherche très actif. En fait, une diversité de composés sont bien connus par leur traitement des tumeurs et des cancers, fait actuellement l'objet d'un intérêt intense.⁶⁷

Dernièrement, certains hétérocycles contenant du sélénium, ont été testés contre différentes lignées de cellules cancéreuses. Les dérivés de thioamide montrent une meilleure efficacité vis-à-vis le cancer de côlon.⁶⁸

Dans ce contexte, dans les chapitres suivants, notre objectif de travail a été mené sur l'utilisation de l'élément de sélénium, en tant que composé principale pour la synthèse d'hétérocycles séléniques. Le sélénium sera utilisé comme catalyseur ou réactif électrophile, en étudiant sa réactivité en synthèse organique.

⁶⁷ Hill, J. E.; Linder, M. K.; Davies, K. S.; Sawada, G. A.; Morgan, J.; Ohulchanskyy, T. Y.; Detty, M. R. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8622.

⁶⁸ Kryman, M.W.; Schamerhorn, G. A.; Hill, J. E.; Calitree, B. D.; Davies, K. S.; Linder, M. Ohulchanskyy, T. Y.; Detty, M. R. *Organometallics*. **2014**, *33*,2628.

Chapitre II.

Etude d'un catalyseur au sélénium dans l'oxydation de l'alcool benzylique

I. Introduction

Au cours des dernières années, le terme « Catalyseur biologique » est largement introduit pour indiquer l'utilisation par voie biologique des catalyseurs dans certaines réactions de synthèse organique dans le cadre d'une *chimie biomimétique*.

La chimie biomimétique est une approche qui s'inspire des systèmes biologiques naturels, elle permet d'inventer de nouveaux catalyseurs, et consiste à copier les sites actifs d'enzymes d'intérêt afin de réaliser des réactions proches de ce que font les enzymes dans la nature ou dans notre organisme. La démarche est la suivante : Lorsqu'on cherche des catalyseurs pour une réaction donnée, il peut être judicieux de savoir comment il procède. L'étude détaillée permet de caractériser à l'échelle atomique le site actif, où les substrats sont activés et transformés.

Dans ce contexte, la catalyse sera l'axe principal de ce chapitre. Dans le cadre de notre recherche sur l'utilisation d'un catalyseur organosélénique avec un protocole biomimétique oxydatif pour l'oxydation de l'alcool benzylique en acide benzoïque correspondant. La réaction doit être accélérée par le catalyseur, afin d'être complétée dans un temps de réaction raisonnable. Le choix des catalyseurs organoséléniques est basé sur les intérêts biologiques énormes du sélénium, qui sont déjà cités dans le chapitre précédent, et surtout l'activité antioxydante.

II. La catalyse

II. 1. Intérêt économique et scientifique

L'un des enjeux actuels des chimistes, est de mettre au point de nouveaux catalyseurs, pour créer de nouveaux produits, dans des conditions optimales de temps et de produits désirés.

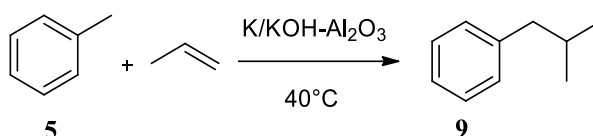
La catalyse est un atout majeur de la chimie verte, puisqu'elle permet en général de :

- a) utiliser de conditions moins extrêmes en termes d'énergie (température, pression et temps réactionnel)

- b) diminuer la quantité de réactifs utilisés : économie d'atomes
- c) augmenter la sélectivité des produits, en diminuant les efforts de purification
- d) réduire le nombre d'étapes de la synthèse : en générale, les réactifs catalytiques sont plus efficaces que les réactifs stœchiométriques, mais à condition d'éviter les sous-produits, et réduire le nombre d'étapes de la synthèse des molécules organiques.

La molécule d'isobutylbenzène **9** est utilisée dans la synthèse des médicaments, a été obtenue grâce à un procédé de catalyse en une seule étape, au lieu de deux étapes, avec une économie d'atomes importante.⁶⁹

Voie catalytique



Voie classique

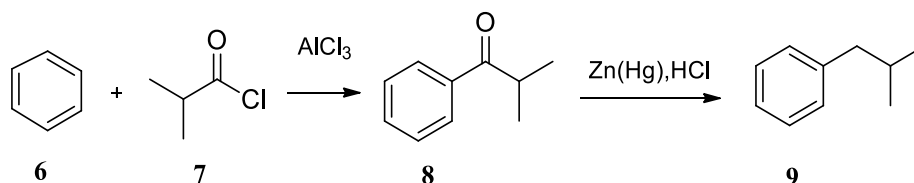


Schéma 7

II. 2. Types de catalyse

Les catalyseurs sont classés généralement selon deux critères :

- Le mécanisme catalytique

La catalyse peut être classifiée en fonction du mécanisme mis en jeu, par exemple la catalyse acido-basique, catalyse d'oxydoréduction, catalyse nucléophile, catalyse par transfert de phase et catalyse enzymatique.

⁶⁹Chouillet, C.; Villain, F.; Kermarec, M.; Lauron-Pernot, H.; Louis, C. *J. Phys. Chem. B.* **2003**, *107*, 3565.

- La nature du catalyseur

On distingue généralement deux types de catalyse selon la nature du mélange réactifs-catalyseur. Si le mélange réactifs-catalyseur forme une seule phase (catalyseur souvent liquide), on parle de catalyse homogène, et s'il forme plusieurs phases, on parle de catalyse hétérogène (catalyseur souvent solide ou gazeux).

III. Rappels bibliographiques sur l'oxydation catalytique des alcools

L'oxydation catalytique des alcools aux composés carbonylés, figure parmi les transformations de groupes fonctionnels les plus importantes pour les chimistes organiciens, en présence de plusieurs agents oxydants comme NaClO_2 , NaBrO_3 , l'oxone, H_2O_2 , l'iode, l'oxygène moléculaire, avec une grande diversité de catalyseurs et de méthodes de préparations décrites dans la littérature.

De point de vue environnemental et économique, les procédures traditionnelles utilisent toujours de grandes quantités d'oxydants nocifs, de solvants organiques non verts qui sont déconseillés, pour la raison que la plupart d'entre eux souffrent de faible efficacité atomique,⁷⁰ et une grande quantité de déchets organiques ou inorganiques,⁷¹ entraînant un grave impact sur l'environnement.⁷²

En conséquence, l'intérêt des recherches axées sur l'oxydation catalytique, préfère d'utiliser de l'oxygène moléculaire, et les sous-produits inoffensifs (H_2O ou H_2O_2), comme oxydant terminal, avec économie élevée d'atomes.^{73,74}

III. 1. Oxydation catalytique des alcools en aldéhydes et cétones correspondants

Le développement de méthodes d'oxydation douces et efficaces est un domaine de recherche actif en chimie organique.⁷⁵

Un nouveau système basé sur l'utilisation de radical nitroxylé TEMPO, en tant que catalyseur pour l'oxydation sélective d'alcools aux aldéhydes et cétones correspondants.

⁷⁰Mallat, T.; Baiker, A. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3037e.

⁷¹Trost, B. M. *Science.* **1991**, *254*, 1471e.

⁷²Eissen, M.; Metzger, J. O.; Schmidt, E.; Schneidewind, U. *Angew. Chem. Int.* **2002**, *41*, 414e.

⁷³Hirashima, S.; Itoh, A. *Green. Chem.* **2007**, *9*, 318e.

⁷⁴Qiu, S.; Wei, Y.; Liu, G. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 2751e.

⁷⁵Ekoue-Kovi, K.; Wolf, C. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6302.

NaIO₄ comme oxydant terminal, et NaBr comme co-catalyseur, dans des conditions acides à température ambiante. De plus, ce système sans tampon, fournit une méthode alternative pour l'oxydation des alcools qui sont sensibles aux conditions de base, il a été développé, afin d'être recyclé jusqu'à six fois sans désactivation remarquable.⁷⁶

Cette étude est menée premièrement sur l'alcool benzylique **10**, qui est complètement oxydé au benzaldéhyde **11**, le mélange est en deux phases, lorsque la phase aqueuse a été ajustée à pH 2.0 par H₂SO₄, donnant un excellent rendement de 95%. Ce résultat est valable à tous les alcools primaires benzyliques substitués (Schéma 8).

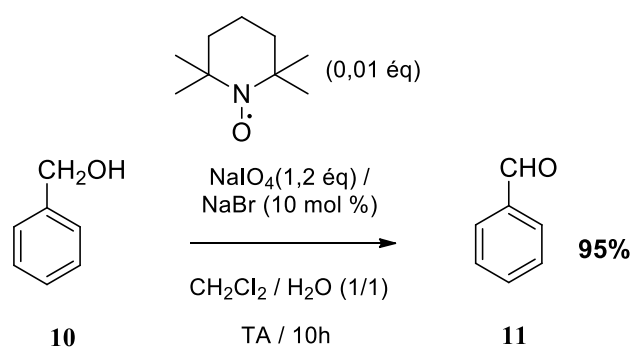


Schéma 8

Nous constatons d'après cette étude que tous les alcools primaires et secondaires, aliphatiques et benzyliques **12**, pourraient également être oxydés en aldéhydes correspondants, avec des rendements excellents ; mais une réaction prolongée en temps (20-28 h), ils peuvent être oxydés en cétones **13** avec des rendements de 95-96% (Schéma 9).

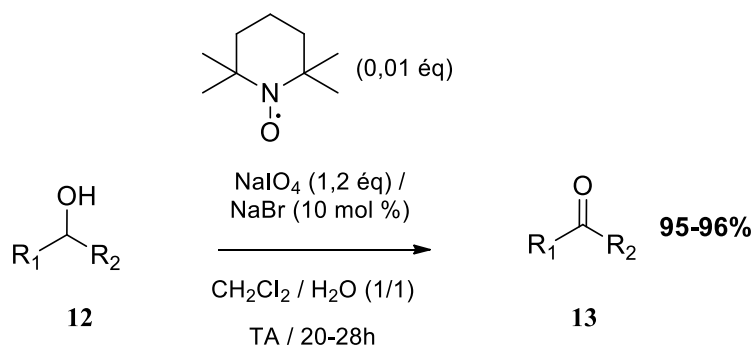


Schéma 9

⁷⁶Ming, L.; Rui-Jun, H.; Yan-Guang, W. *Tetrahedron*. **2006**, 62, 8928.

Un autre système catalytique utilise aussi le TEMPO comme catalyseur et l'oxone comme oxydant s'est révélé particulièrement efficace pour la synthèse des cétones **13**, en présence de toluène comme solvant et à température ambiante (Schéma 10).⁷⁷

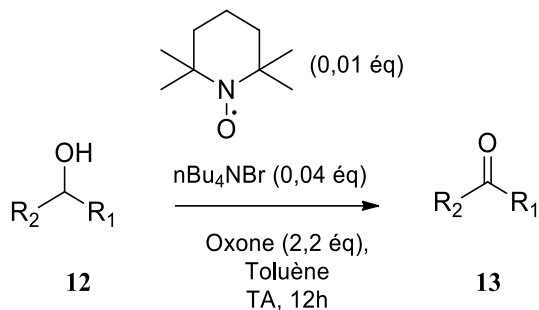


Schéma 10

III. 2. Oxydation catalytique des alcools en acides carboxyliques

Les travaux cités par Dong-Fang Yu et *al.*,⁷⁸ développent une méthodologie précieuse qui utilise les carbènes N-hétérocycliques (CNH) en tant que catalyseurs, pour l'oxydation sélective des alkylaryl alcools en acides carboxyliques correspondants, avec des rendements modérés à élevés. Ces réactions utilisent généralement des oxydants non toxiques et pas coûteux, tels que l'oxone, NaCN, H₂O₂, O₂ et CO₂.⁷⁹

La condition optimale d'oxydation est trouvée, dans le cas où l'alcool benzylique **14** est utilisé comme substrat, le CH₂Cl₂ comme solvant, un précatalyseur commercial a été ajouté avec une base inorganique NaOtBu. Nous avons constaté que l'alcool benzylique était oxydé en acide benzoïque **15** en présence d'O₂ (Schéma 11).⁷⁷

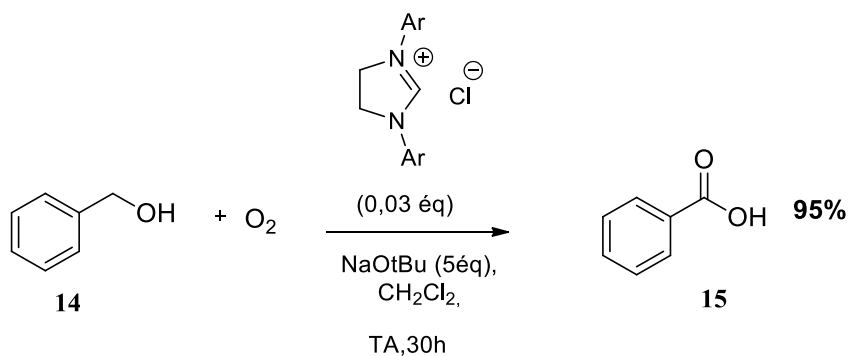


Schéma 11

⁷⁷ Bolm, C.; Magnus, A. S.; Hildebrand, J. P. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1173.

⁷⁸ Dong-Fang, Yu.; Ping, X.; Biao, J. *Tetrahedron.* **2015**, *71*, 4269

⁷⁹ De Sarkar, S.; Studer, A. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1992.

AlCl_3 est appliqué comme catalyseur pour l'oxydation de l'alcool dans un milieu aqueux et en présence de l'oxone. L'étude de Shang Wu et *al.*⁸⁰ montre qu'une variété des alcools, y compris les alcools aliphatiques inactifs, pourrait être convertie en composés carbonylés correspondants, avec une excellente conversion et sélectivité. En particulier, la présente réaction avait plusieurs avantages, qui comprennent des moyens de réaction verts, une large tolérance de groupe fonctionnel, ainsi qu'une isolation pratique des produits.

Cette réaction montre clairement l'impact catalytique de AlCl_3 dans l'oxydation de l'alcool **16** en acide correspondant **17** (Schéma 12).

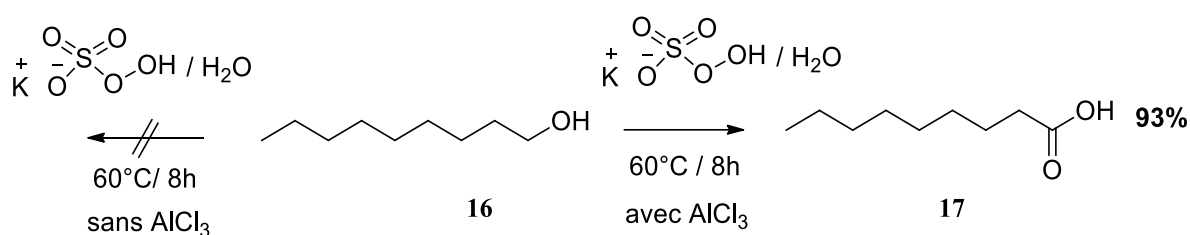


Schéma 12

Ce système catalytique est actif pour l'oxydation d'une grande variété d'alcools, y compris les alcools benzyliques, benzhydrols et alcools cycliques et aliphatiques. Cette nouvelle forme de réaction d'oxydation devrait fournir une réaction alternative d'oxydation douce pour les chimistes organiciens, en raison de sa compatibilité avec les notions de la chimie verte, qui s'avère dans la non-utilisation des métaux lourds, de solvants halogénés et à haut rendement. La réaction générale de l'oxydation des alcools **18** en acide **19** ou en cétone **20** se fait avec un rendement qui varie de 36% à 98% (Schéma 13).

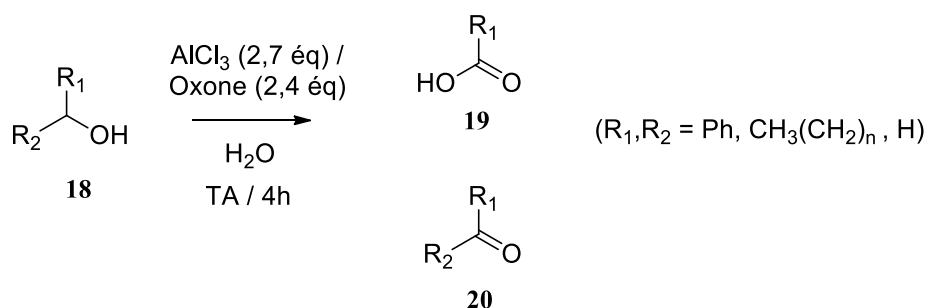


Schéma 13

⁸⁰ Shang, W.; Hengchang, M.; Ziqiang, L. *Tetrahedron*. **2010**, *66*, 8641e.

Les travaux cités par Keshaba Nanda Parida et *al*,⁸¹ montrent qu'une oxydation des alcools primaires et secondaires en acides correspondants, en présence de l'oxone, se fait par l'intermédiaire de l'aldéhyde selon le mécanisme suivant :

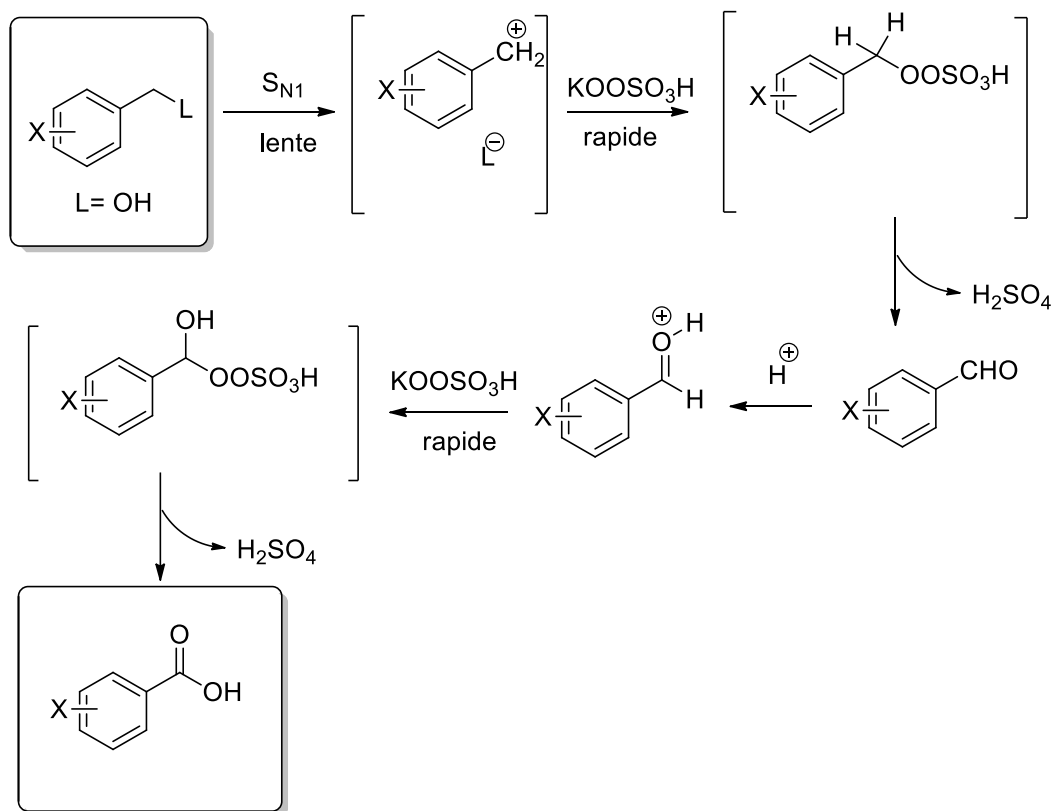


Schéma 14

IV. Catalyse Biologique

Il a été remarqué que le terme *catalyse biologique*, était largement utilisé dans plusieurs études des catalyseurs organoséléniques, en particulier, dans certaines réactions d'oxydation (figure5). Celles-ci ont été effectuées en utilisant du H₂O₂ en quantité stœchiométrique, comme un oxydant "vert", étant capable de réagir avec des composés organiques, et générant de l'eau comme sous-produit, et l'acide benzènesélénonique (PhSeO₃H) comme catalyseur impliqué dans un mécanisme qui s'est révélé très similaire à celui de l'enzyme naturelle de glutathion peroxydase.⁸²

⁸¹Keshaba Nanda, P.; Samik, J.; Susovan, M.; JaruguNarasimha, M . *Tetrahedron*. **2012**, 68, 9763e.

⁸²Tidei, C.; Santi, C. Selenium and "Bio-Logic" Catalysis: New Bioinspired Catalytic Reactions -: in *Organoselenium Chemistry between synthesis and biochemistry*. *Bentham*. **2013**, 345.

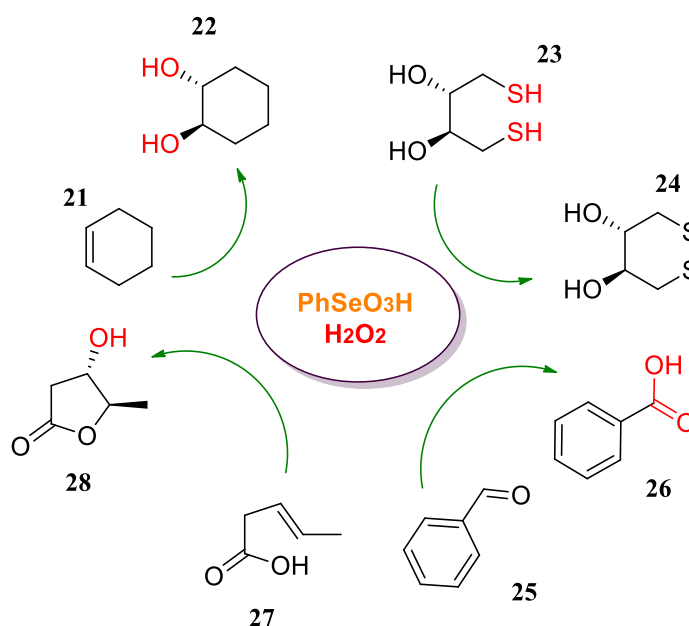


Figure 5

La 1,2-dihydroxylation de la double liaison carbone-carbone de l'alcène **21** conduisant à la formation stéréosélective de 1,2-diols **22**. La réaction a été effectuée en présence de H_2O_2 comme oxydant et de l'eau comme milieu réactionnel. La réaction a montré une stéréosélectivité appréciable en donnant les 1,2 diols.⁸³

Le milieu réactionnel contenant le catalyseur hydrosoluble a été récupéré efficacement, et réutilisé plusieurs fois, en conservant une activité catalytique appréciable. En outre, le couple catalytique $\text{PhSeO}_3\text{H}/\text{H}_2\text{O}_2$ favorise rapidement l'oxydation des thiols **23** aux disulfures **24** correspondants, par le mécanisme de réaction qui imite parfaitement celui de la glutathion peroxydase, il est possible d'utiliser des thiols appropriés comme sonde et établir un test simple et rapide, pour l'évaluation de l'activité de type GPx de plusieurs composés contenant du soufre et du sélénium.⁸⁴

Les travaux cités par Sancineto Luca et *al.*,⁸⁵ montrent que l'oxydation des aldéhydes **29** aux acides **30** correspondants peut être facilement réalisée dans des conditions douces, ce qui est normalement associé à un niveau élevé d'économie d'atomes (schéma 15).

⁸³Santi, C.; Di Lorenzo, R.; Tidei, C.; Bagnoli, L.; Wirth, T. *Tetrahedron*. **2012**, 68, 10530.

⁸⁴Tidei, C.; Piroddi, M.; Galli, F.; Santi, C. *Tetrahedron. Lett.* **2012**, 53, 232.

⁸⁵Sancineto, L.; Tidei, C.; Bagnoli, L.; Marini, F.; Lenardão, E. J.; Santi, C. *Molecules*. **2015**, 20, 10496.

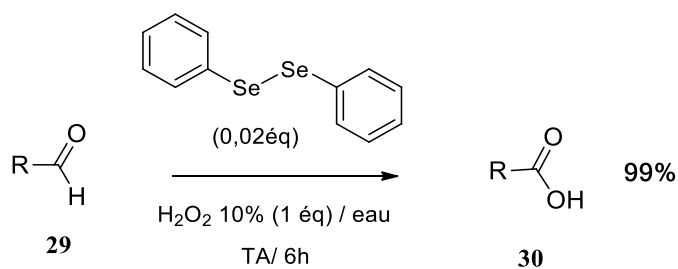


Schéma 15

Cette oxydation est réalisée selon un mécanisme médié par le diséléniure de diphenyle comme catalyseur, il s'avère clairement le rôle de l'acide benzènesélénonique dans le procédé catalytique, il se forme raisonnablement, et sa présence est essentielle pour l'oxydation (schéma 16).

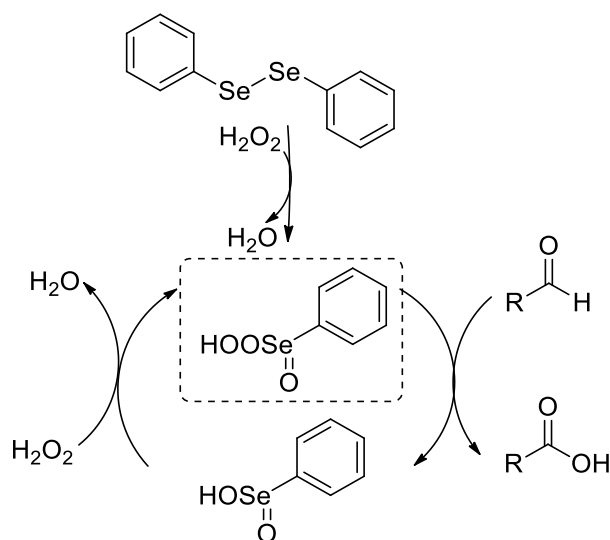


Schéma 16

Un autre exemple d'un composé organosélénique utilisé dans l'oxydation est le dioxyde de sélénium, de formule brute SeO_2 , il est considéré comme réactif important dans l'oxydation de Riley, comme l'oxydation de la cyclohexanone à la cyclohexane-1,2-dione.⁸⁶ Il est également renommé aussi pour l'oxydation allylique (Schéma 17).⁸⁷

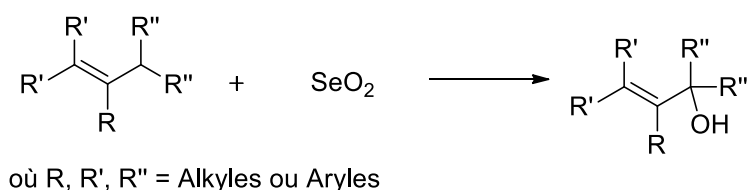


Schéma 17

⁸⁶ Hach, C. C.; Banques, C. V.; Diehl, H. *Org. Synth.* **1963**, 4, 229.

⁸⁷ Coxon, J. M.; Dansted, E.; Hartshorn, M. P. *Org. Synth.* **1988**, 6, 946.

Le SeO₂ est préparé par oxydation du sélénium par le peroxyde d'hydrogène ou par déshydratation de l'acide sélénieux.⁸⁵

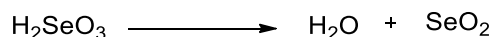
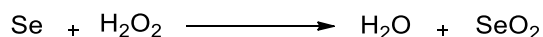


Schéma 18

V. Oxydation de l'alcool benzylique en acide benzoïque

L'acide benzoïque qui est un précurseur approprié pour un certain nombre de produits chimiques finis, y compris le phénol, le caprolactame et les sels de benzoate.

La méthode industrielle pour préparer l'acide benzoïque reste coûteuse, elle implique la pression et les températures élevées pour effectuer l'oxydation à peine durable du toluène.⁸⁸

Pour cette raison, au cours des dernières années, un certain nombre de catalyseurs ont été proposés, pour permettre l'oxydation de l'alcool benzylique **31**, en utilisant du H₂O₂ comme oxydant pour accéder à l'acide benzoïque **32**. Considérons l'exemple d'oxydation de l'alcool benzylique en présence du catalyseur liquide ionique bifonctionnel (CuCl₂ / BIL). Cette réaction verte qui se fait sans solvant, et illustre les progrès vers la synthèse, avec un avantage majeur de recyclage et réutilisation de BIL pour cinq fois, sans perte significative de son activité (Schéma 19).⁸⁹

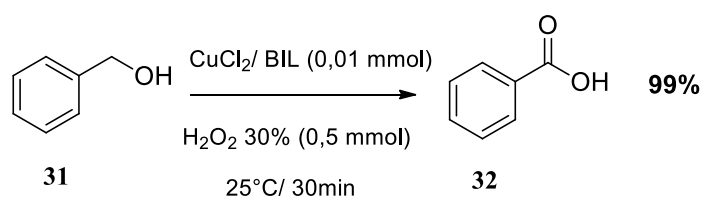
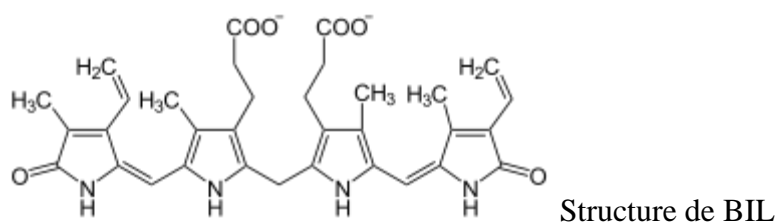


Schéma 19



⁸⁸Weissermel, K.; Arpe, H. J. *Industr. Org. Chem.* **2003**, 7,1384.

⁸⁹Parasuraman, K.; SachinArunrao, A.; PrashantNarayan, M.; PundlikRambhau, B.; Senthil, K. *Catal. Commun.* **2012**, 26, 189.

Les catalyseurs d'organosélénium ont joué un rôle efficace dans la synthèse stéréosélective d'un certain nombre de composés chimiques, via des procédures douces et simples. Dans ce contexte, notre objectif sera l'oxydation de l'alcool benzylique, avec un catalyseur organosélénique synthétisé.

V. 1. Synthèse du catalyseur

Les acides séléniniques sont généralement des catalyseurs utiles, pour les réactions d'époxydations et dans plusieurs réactions d'oxydations.

Le catalyseur sélénié **34** a été synthétisé par oxydation du Ph_2Se_2 **33** avec H_2O_2 dans le CH_2Cl_2 froid, et en présence de l'agent oxydant H_2O_2 . La réaction s'est déroulée à 0°C , pendant 3 heures et avec agitation.⁹⁰

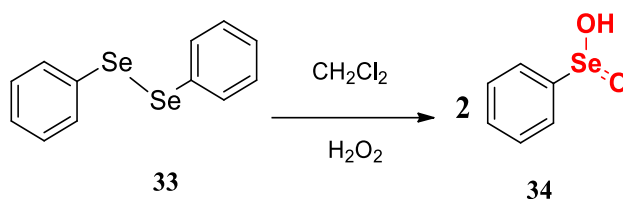


Schéma 20

Ce catalyseur sera utilisé dans la réaction suivante pour l'oxydation de l'alcool benzylique en composés carbonylés correspondants.

⁹⁰Syper, L.; Mlochowsky, J. *Synthesis*. **1984**, 9, 747.

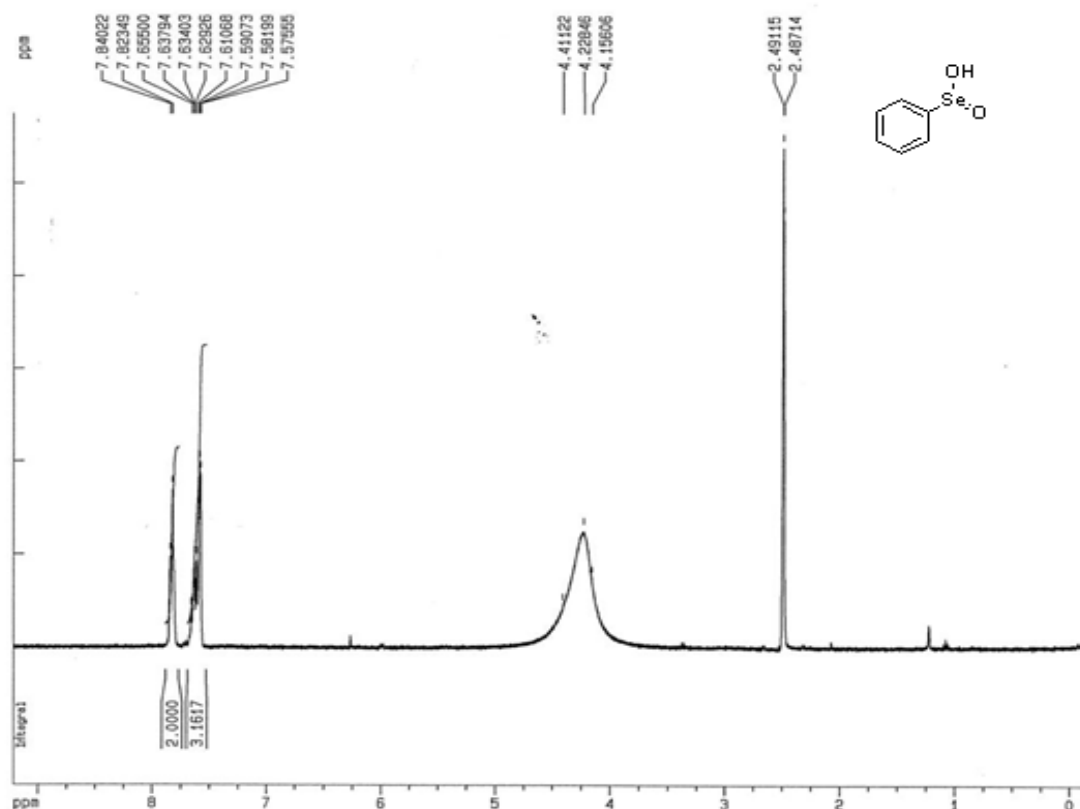


Figure 6 : Spectre RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz) de produit 2

V. 2. Oxydation de l'alcool benzylique

L'oxydation catalytique de l'alcool benzylique peut théoriquement donner trois composés différents, l'aldéhyde en tant que produit d'oxydation intermédiaire, l'acide carboxylique, et l'ester en tant que produit de l'oxydation de l'hémiacétal intermédiaire, résultant de la condensation entre l'alcool et l'aldéhyde. Sur la base de notre expérience antérieure,⁸⁴ nous avons déjà démontré que le benzaldéhyde n'est pas stable en présence de H_2O_2 et d'un catalyseur au sélénium, et même dans des conditions très douces, il est rapidement oxydé en acide carboxylique correspondant.

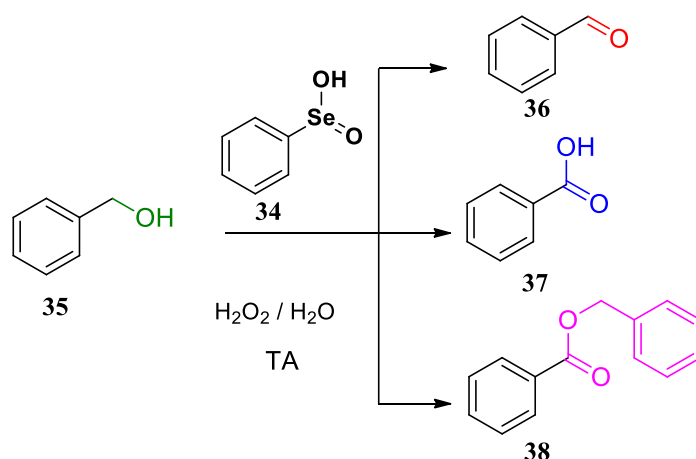


Schéma 21

Nous rapportons ici les résultats préliminaires de la réaction d'oxydation catalytique de l'alcool benzylique **35** par H₂O₂, et catalysée par l'acide benzeneséléninique **34**.

Tableau 3: Oxydation de l'alcool benzylique par l'acide benzeneséléninique /H₂O₂^a

Entrée	Catalyseur (éq)	Température (°C)	Temps	Conversion (%) en composé 37
1	0,2	TA	24h	(10%)
2	0,2	Reflux	2h	(100%)
3	1	60	2h	(100%)
4	0,2	60	2h	(45%)
5	0,2	Micro-ondes	4min	(64%)

^aSolution aqueuse d'eau oxygénée à 30% (v/v) (20éq).

Dans notre étude, la réaction a produit l'acide benzoïque **37**, dans les différentes conditions de temps, température et nombre d'équivalent, l'ester **38** et l'aldéhyde **36** ne sont pas formés dans la réaction. Ceci explique les résultats rapportés dans le tableau 3.

Dans l'entrée 1, où la température ambiante en présence de 0,2éq de l'acide benzeneséléninique préformé, la conversion est très faible 10%, et seulement l'acide benzoïque **37** est présent en majorité dans le milieu réactionnel, comme confirmé par la RMN. Avec l'augmentation de la température (reflux), la consommation du réactif de

départ est complète après 2 heures (entrée 2), et le même effet a été observé, lors de l'utilisation d'une quantité stœchiométrique du catalyseur à basse température (entrée 3).

Afin d'améliorer l'efficacité de l'activation thermique, l'utilisation de micro-ondes a été explorée, 64% de la conversion a été obtenue après 4 cycles d'irradiation pour une minute à 400 watts (entrée 5). Il est à noter que dans tous les cas, l'acide benzoïque **37** était le seul produit de la réaction. Cela nous a conduit à supposer que dans l'oxydation, le benzaldéhyde **36** est trop instable pour être isolé à la fin de la réaction, mais réagit avec l'excès de l'oxydant plus rapidement qu'avec l'alcool benzylique **35**, empêchant la formation de l'ester **38**.

Le mécanisme général proposé de cette réaction d'oxydation de l'alcool benzylique en acide benzoïque correspondant est illustré dans le schéma ci-dessous.

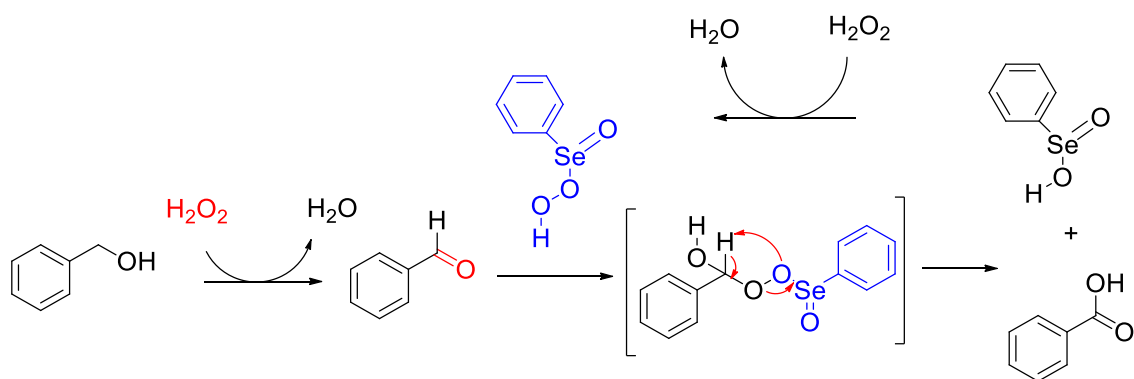


Schéma 22

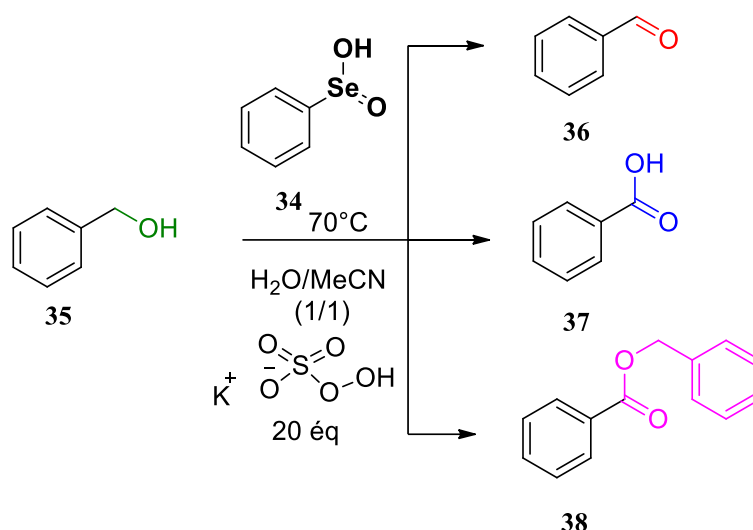
Plusieurs articles rapportent que l'oxone dans un mélange bouillant de H₂O/MeCN, convertit très efficacement l'alcool benzylique **35** en acide benzoïque **37**,^{91,92,93} même en absence d'un certain catalyseur.⁹⁴

⁹¹Saona, S.; Samik, J.; Jarugu Narasimha, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 12, 2445.

⁹²Xiao-Mei, Z.; Jiang-Min, C.; Kyle, M.; Viktor, V. Z. *Tetrahedron. Lett.* **2011**, 52, 5652.

⁹³Ziqiang, L.; Penghua, Y.; Yaoxia, Y. *Catal. Lett.* **2007**, 118, 69.

⁹⁴Keshaba, N. P.; Samik, J.; Susovan, M.; Jarugu, N. M. *Tetrahedron.* **2012**, 68, 9763.



Nous vérifions notre réaction avec l'oxone. Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus.

Tableau 4 : *Oxydation de l'alcool benzylique par l'acide benzésélinique/oxone^a*

Entré	Catalyseur (éq)	Température °C	Temps	Conversion (%) en composé 37
1	----	70	30min	(57%)
2	0,2	70	30min	(81%)
3	0,2	70	1h	(91%)
4	0,2	70	2h	(100%)
5	0,2	70	9h	(78%) ^b

^a Les oxydations ont été effectuées en utilisant l'oxone (20éq) dans de l'eau/MeCN 1/1;

^b En utilisant 5éq d'oxone.

Nous avons vérifié que dans les conditions reportées dans le tableau 4 (entrée 1 ; absence du catalyseur), la réaction donne après 30 minutes une conversion de 57% de la matière de départ **35** en acide benzoïque **37**. Néanmoins, la présence du catalyseur a accéléré le processus, en donnant 81% de conversion dans 30 min (entrée 2). La réaction est quantitative après deux heures, 100% de conversion à l'acide benzoïque **37** (entrée 4). Afin de réduire la quantité d'oxone, nous effectuons la réaction avec 5éq d'oxone (entrée 5), nous obtenons une conversion de 78% après 9 heures de réaction.

VI. Conclusion

En conclusion, nous avons signalé que l'acide benzènesélinique ($C_6H_5SeO_2H$) **34** pouvait activer H_2O_2 dans l'oxydation de l'alcool benzylique **35** en acide correspondant **37**. La réaction peut être commodément effectuée en milieu aqueux, et elle est bien accélérée par irradiation micro-ondes. En comparant les résultats avec ceux obtenus avec l'oxone, en tant qu'oxydant sur-stœchiométrique, et un gros réactif consommant beaucoup d'atomes, et pour cette raison non compatible avec les postulats de la chimie verte, le couple catalytique $C_6H_5SeO_2H/H_2O_2$ s'est avéré être largement préférable, en termes de durabilité, principalement en relation avec l'économie d'atomes.

Chapitre III.

Cyclofonctionnalisation des alcényles et des oxaziridines

I. Introduction

En raison des avancées des connaissances dans la compréhension des mécanismes de certaines fonctions organiques, et l'identification de nouvelles potentielles pour le traitement médical, un besoin pressant en nouvelles structures organiques se fait sentir.

Les composés organoséléniques sont connus depuis longtemps comme réactifs polyvalents en chimie organique. Au cours des dernières années, il y a eu un développement considérable des méthodes à base de sélénium pour la synthèse organique.

En raison de leurs propriétés physiques, chimique et biologiques. Le sélénium est un élément très réactive, il peut être un oxydant,⁹⁵ un groupe protecteur,⁹⁶ un agent de fluoration,⁹⁷ et un stabilisant des cations et des anions.⁹⁸ En fait, une variété des composés organoséléniques sont bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes, biocides, anti-inflammatoires, antioxydantes et antiradicalaires.^{99,100} Leur application pratique en médecine pour le traitement des tumeurs et les cancers font actuellement l'objet d'un intérêt intense.¹⁰¹

Dans ce chapitre, plusieurs hétérocycles séléniques seront synthétisés, à partir des alcényles et des oxaziridines, avec du sélénium comme réactif électrophile. Ce dernier intervient dans des réactions importantes de cyclofonctionnalisation, et en présence de l'atome d'azote comme nucléophile interne. Cette stratégie reste pratique et innovante, pour la synthèse de nouveaux composés à base de sélénium, pouvant constituer une plateforme originale pour l'élaboration de chimiothèques de composés. Le sélénium présente une chimie extrêmement riche, fine et sélective.

⁹⁵Patai, S.; Rappoport, Z. *Chemistry in Organoselenium and Tellurium Compounds*. John Wiley & Sons, New York **1987**.

⁹⁶Paulmier, C. *Selenium Reagents and Intermediates in Organic Synthesis*. Pergamon, Oxford **1985**.

⁹⁷Wirth, T. *Organoselenium Chemistry*. Springer, Berlin **2000**.

⁹⁸Jones, D. N.; Mundy, D.; Whitehouse, R. D. *Chem. Commun.* **1970**, 86.

⁹⁹Stadtman, T. C. *Science*. **1974**, *183*, 915.

¹⁰⁰Naithani, R. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2008**, *8*, 657.

¹⁰¹Lamani, D. S.; Bhowmick, D.; Mugesh, G. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7933.

II. Rappel bibliographique sur les composés organoséléniques

II. 1. Classes d'organosélénium

On peut distinguer plusieurs classes de composés organoséléniques, dont les méthodes de préparation sont différentes, mais ils se basent en général sur l'utilisation de sélénium comme réactif électrophile. Ces organosélénium ont des propriétés similaires, mais pas identiques à celles de leurs analogues soufrés.¹⁰²

Tableau 5 : Différentes classes de sélénium

Composés organoséléniques
Séléniols: R-Se-H
Sélénoxyde : R-Se(O)-R
Sélénonnes : R-SeO ₂ -R
Acide sélénonique : R-SeO ₃ H
Séléniures : R-Se-R
Diséléniures : R-Se-Se-R
Dérivés des séléniures: R ₃ SeX
Dérivés séléniés analogues des cétones : R-CSe-R
Sélénocyanates : R-Se-CN

Prenons l'exemple des dérivés de séléniures : les diarylséléniures. Il existe plusieurs méthodes décrites pour les synthétiser, par différentes voies synthétiques qui mènent aux séléniures par l'utilisation des réactifs à base de sélénium :¹⁰³

a) à l'aide de H₂Se sur des aldéhydes aliphatiques et aromatiques.

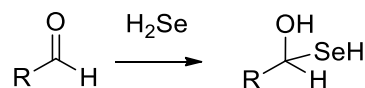


Schéma 24

¹⁰² Campbell, T. O.; Walker, H. G.; Coppinger, G. M. *In Some aspects of the organic chemistry of selenium*. **1951**, 280.

¹⁰³ Bryce, M. R.; Chesney, A. J. *Chem. Soc. chem. Commun.* **1995**, 195.

b) à l'aide de chlorure de phénylesélényle sur des composés carbonyles énolisables.

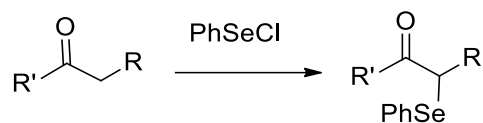


Schéma 25

c) par la transformation des sulfones. Cette réaction peut être effectuée à partir de l'action de la diphenylsulfone sur le sélénium:

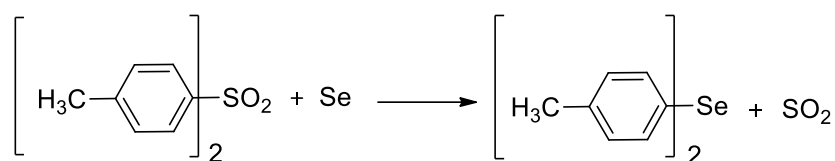


Schéma 26

II. 2. Synthèse d'hétérocycles du sélénium via des réactions de cyclisation

Au cours des dernières années, on constate un intérêt intense pour la synthèse de nouveaux composés organiques contenant du sélénium, en raison de leurs propriétés chimiques, activités biologiques, et leur potentiel pharmaceutique. Cet élément est considéré moins toxique dans l'ensemble des systèmes hétérocycliques. Pour cela, nous citons plusieurs méthodes de préparation de nouveaux hétérocycles contenant l'atome de sélénium.

II.2.1 Synthèse des sélénophènes et leurs dérivés

Récemment, Ranu et *al*¹⁰⁴ a développé une nouvelle approche pour la synthèse de sélénophènes **39** et sélanyl sélénophènes **41** par la réaction de KSeCN avec des bromures de diènes conjugués **38** et des bromures géminaux de diènes conjugués **40** respectivement. La réaction est catalysée par des nanoparticules de CuO (schéma 27)

¹⁰⁴ Maity, P.; Kundu, D.; Roy, R.; Ranu, B. C. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 4122.

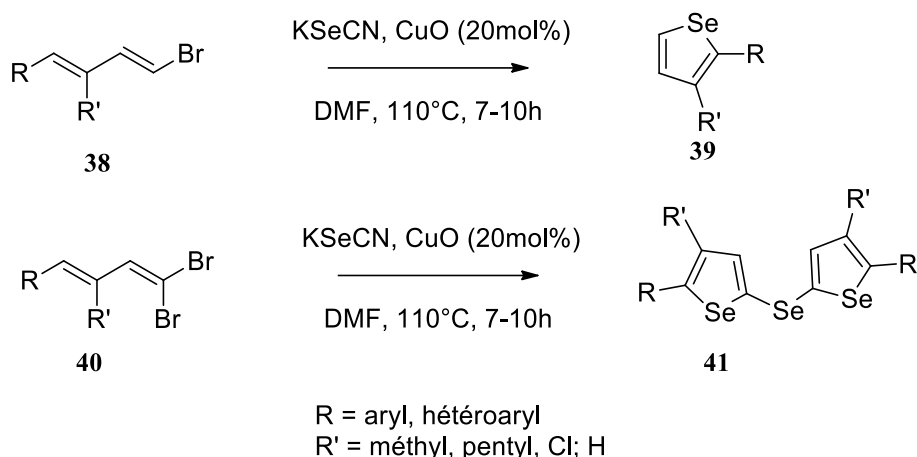


Schéma 27

Dans le même contexte, les cyclisations catalysées par le CuBr_2 de l'homopropargyle de sélénure **42** en 4-halo-2,3-dihydroséléniophène **43**, séléniophène **44** et 3-haloséléniophène **45** ont été rapportés par Zeni et al¹⁰⁵(schéma 28).

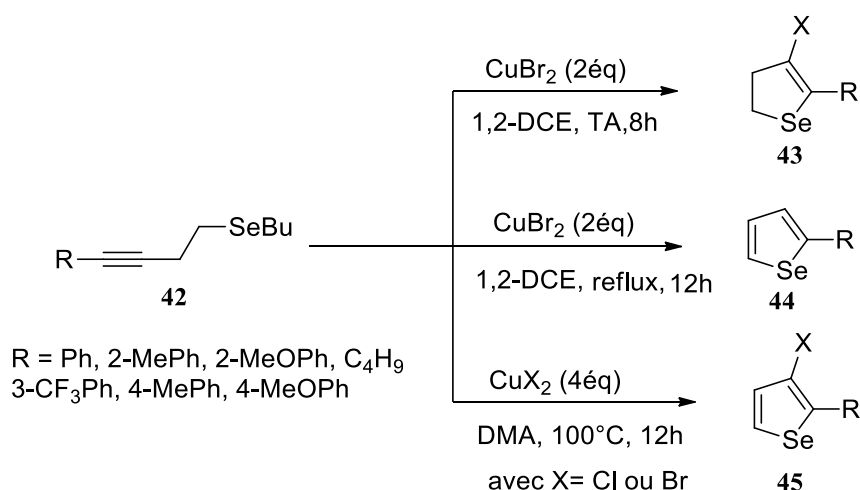


Schéma 28

La cyclisation du composé **42** dans le 1,2-dichloroéthane (DCE) à température ambiante, en présence de deux équivalents de CuBr_2 a donné le composé **43** avec un bon rendement. Effectuant la même cyclisation à reflux, on obtient le composé **44**. Cependant la conduite de la réaction dans le diméthylacétamide (DMA) à 100°C a donné le composé **45** exclusivement, en prenant comme catalyseur soit CuBr_2 , soit CuCl_2 .

¹⁰⁵ Schumacher, R. F.; Rosario, A. R.; Leite, M. R.; Zeni, G. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 13059.

Le même groupe de chercheurs à étudié une autre réaction de cyclisation, en utilisant des alcynes conjugués **46** comme substrats avec un réactif électrophile de sélénium, conduisant à la formation des chalcogénophènes **48**.¹⁰⁶

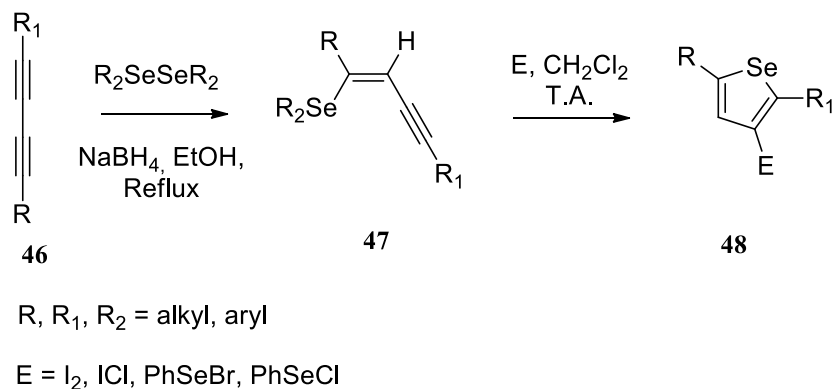


Schéma 29

La cyclisation électrophile des deux isomères éthylnthiophènes **49** et **51** sous la influence des chlorures et des bromures de sélénium (I), (II), (IV) sont avérés simples et considérée comme une approche efficace pour le système des sélénophéno[3,2-b]thiophènes **50** et sélénophéno[2,3-b]thiophènes **52** (schéma 30).¹⁰⁷

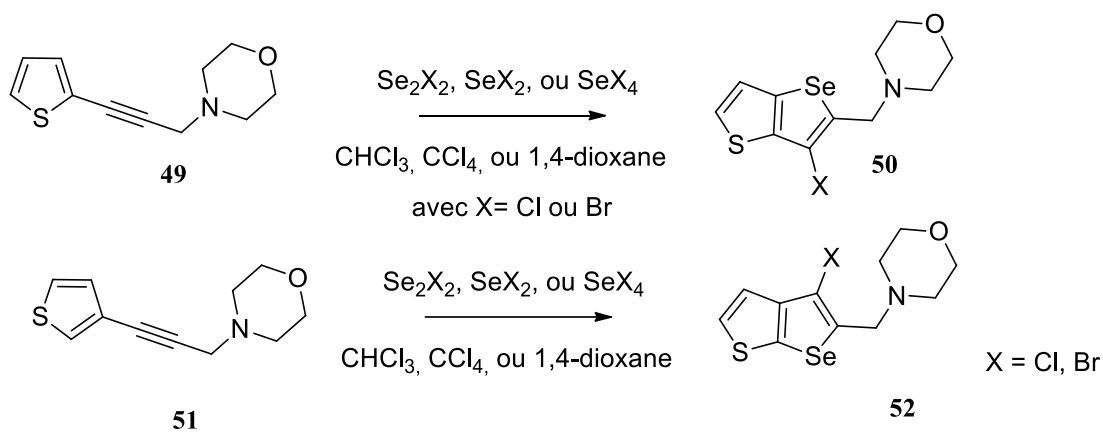


Schéma 30

¹⁰⁶ Stein, A. L. ; Rocha, J. ; Menezes, P. H. ; Zeni, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 4, 705.

¹⁰⁷ Arsenyan, P.; *Tetrahedron. Lett.* **2014**, 55, 2527.

Le système cyclique benzodisélenophène **54** est formé avec rendement de 56%, en utilisant le substrat ((2,5-dibromo-1,4-phénylène)bis(éthyne-2,1-diyl))bis(triméthylsilane) **53** avec le sélénium élémentaire et *t*-BuLi dans l'EtOH (schéma 31).¹⁰⁸

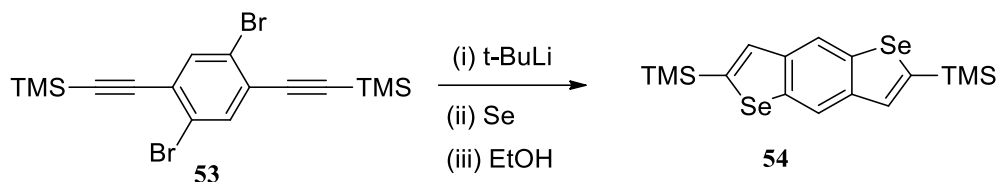


Schéma 31

II.2.2 Synthèse d'hétérocycles contenant le sélénium et l'azote

La synthèse du benzo[d][1,2]sélénazol-3-yl(phényl)méthanone **60** a été réalisée via deux voies alternatives. Ces voies commencent par 1-(2-chlorophényl)-2-phényléthanone **55**, à travers des séléniures intermédiaires **56** et **59** (schéma 32).¹⁰⁹

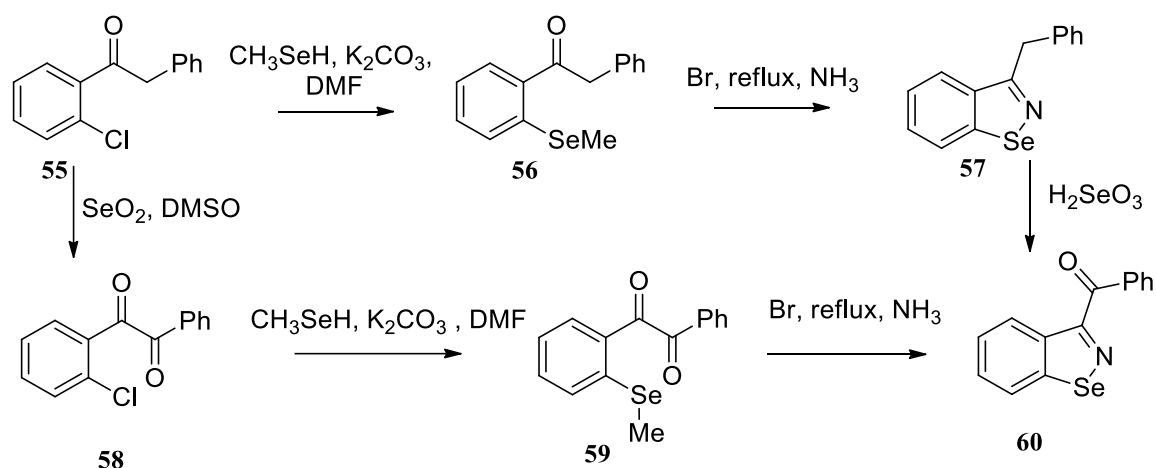


Schéma 32

Un autre système cyclique contenant le sélénium et l'azote : le 3,3-diméthyl-2,3-dihydrobenzo[d][1,2]sélénazole **64** est obtenu par traitement de 2-(2-bromophényl)propan-2-amine **63** avec KSeCN. Le composé **63** a été synthétisé à partir le 2-(2-bromophényl)-2-méthylpropanenitrile **61** (schéma 33).¹¹⁰

¹⁰⁸ Wang, Y.; Parkin, S. R.; Watson, M. D.; *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4421.

¹⁰⁹ Messali, M.; Abboudi, M.; Aouad, M. R.; Rezki, N.; Christiaens, L. E. *Org. Chem. Inter.* **2011**, *1*.

¹¹⁰ Erdelmeier, I.; Tailhan-Lomont, C.; Yadan, G. C. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8152.

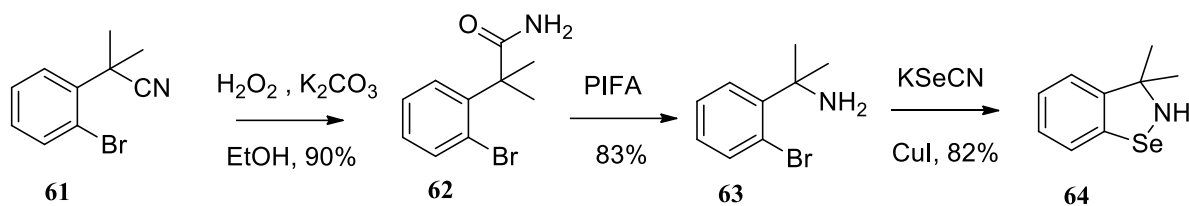


Schéma 33

Récemment, Li et *al.*¹¹¹ ont conçu une nouvelle série de composés ayant les principales caractéristiques structurales de l'antioxydant Ebselen. Ces composés ont été testés pour la maladie d'Alzheimer.

En outre, une série d'analogues d'Ebselen **67** ont été synthétisée, où le chlorure 2-(chlorosélénio) de benzoyle **65** a été traité avec une série d'amines commerciales **66**. Les composés ciblés sont obtenus en rendement modéré à élevé (schéma 34).¹¹²

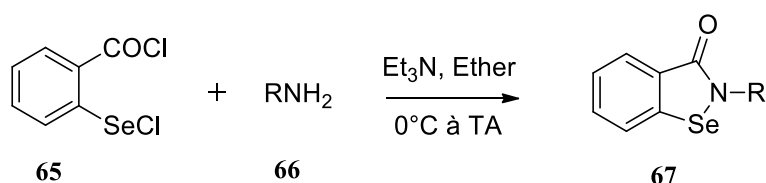


Schéma 34

Dans ce contexte, une nouvelle méthode de synthèse des sélénazoles, en particulier les analogues d'Ebselen a été développée. Il nécessite les dérivés de 2-halobenzamide comme substrats, avec la poudre de sélénium (schéma 35).¹¹³

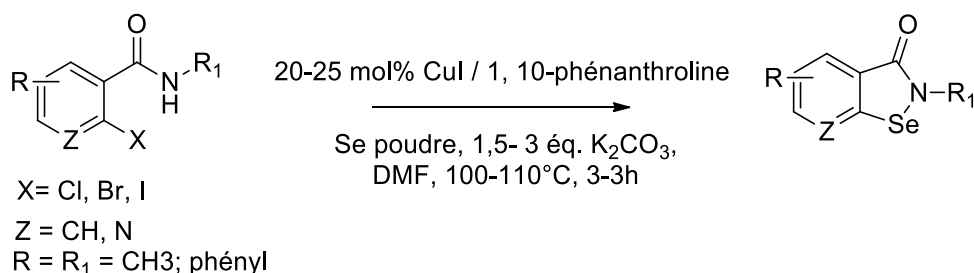


Schéma 35

¹¹¹ Li, Z.; Sheng, J.; Sun, Y.; Lu, C.; Yan, J.; Liu, A.; Luo, H.; Huang, L.; Li, X. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 9089.

¹¹² Elsherbini, M.; Hamama, W. S.; Zoorob, H. H.; Bhowmick, D.; Mugesh, G.; Wirth, T. *Heteroatom. Chem.* **2014**, *25*, 320.

¹¹³ Balkrishna, S. J.; Bhakuni, B. S.; Kumar, S. *Tetrahedron.* **2011**, *67*, 9565.

Une méthode de synthèse de 1,3-sélénozoles trisubstitués a été rapportée, à travers une réaction des alcools phénylsélanylpropargyle et du sélénoamide, et catalysée par (Sc(OTf)₃) (schéma 36).¹¹⁴

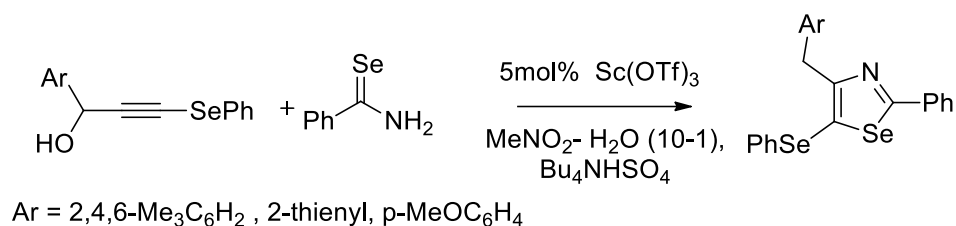


Schéma 36

La réaction des α -bromocétones **68** avec les sélénoamides **69** dans l'EtOH à reflux, représente une alternative simple et efficace pour accéder aux sélénozoles trisubstitués **70** (schéma 37).¹¹⁵

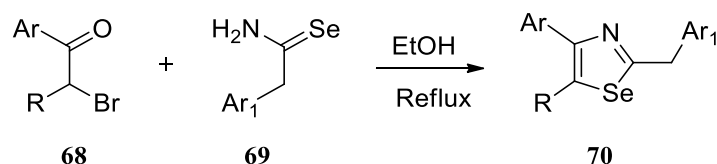


Schéma 37

Pour éviter l'utilisation d' α -halocétones, toxiques, dans la synthèse des sélénozoles, une autre synthèse apparaît bien avec des moyens rendements. Il consiste à réagir les sélénoamides **71** avec but-2-ynedioate de diméthyle (DMAD) **72**, pour obtenir le 2-aryl-5-méthoxycarbonylméthylène-4,5-dihydro-1,3-sélénozole-4-ones **73** (schéma 38).¹¹⁶

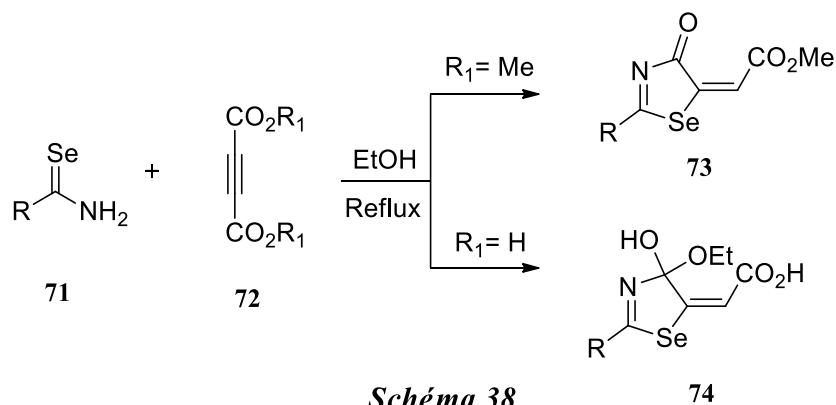


Schéma 38

¹¹⁴ Yoshimatsu, M.; Yamamoto, T.; Sawa, A.; Kato, T.; Tanabe, G.; Muraoka, O. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2952.

¹¹⁵ Geisler, K.; Langer, P.; Künzler, A.; Below, H.; Bulka, E.; Pfeiffer, W. D. *Synthesis*. **2004**, *97*, 105.

¹¹⁶ Koketsu, M.; Ando, H.; Sasaki, T.; Ishihara, H. *J. Heterocycl. Chem.* **2007**, *44*, 231.

Les 2-aryl-5-carboxyméthylène-4-éthoxy-4,5-dihydro-1,3-sélénezole-4-ols **74** sont les produits de réaction lorsque (DMDA) est remplacé par son acide.

le nouveau système hétérocyclique benzimidazo[1,2c]-1,2,3-sélénezadiazole **76** a été obtenu par la réaction de dérivés d'aminobenzimidazole **75** avec SeO₂ dans l'acide acétique (schéma 39).¹¹⁷

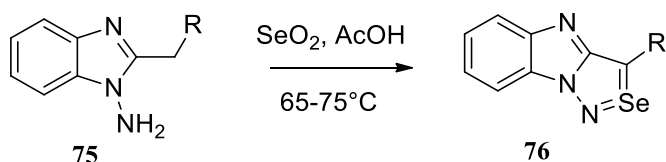


Schéma 39

Une nouvelle réaction pour la synthèse des sélénezadiazoles a été menée, conduisant au benzo[c][1,2,5]sélénezadiazole-4-amine ou benzo[c][1,2,5]sélénezadiazol-5-amine **79**, qui sont préparés par la réaction de SeO₂ avec le benzène-1,2,3-triamine ou benzène-1,2,4-triamine **78**, ces derniers sont obtenus par réduction de leurs précurseurs **77** (schéma 40).¹¹⁸

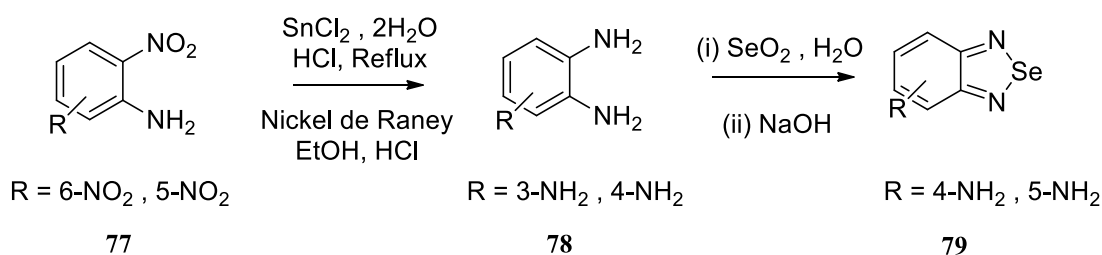


Schéma 40

II.2.3 Synthèse d'hétérocycles contenant le sélénium et l'oxygène

Dans le cadre de recherche de nouveaux composés ayants une puissante activité de type GPx, Back et al ¹¹⁹ ont récemment synthétisé l'ester sélézinique **84**. La séquence de la réaction nécessite l'implication d'un composé bromé **80**, puis le protéger par le méthoxyméthyle (MOM) **81**. Ce dernier est transformé en diséléziure **82** qu'a subi une oxydation après déprotection **83**, et enfin a produit l'ester sélézinique cyclique **84** (schéma 41).

¹¹⁷ Labanauskas, L.; Dudutiene, V.; Matulis, D.; Urbelis, G. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2009**, *45*, 1153.

¹¹⁸ Bella, M.; Schultz, M.; Milata, V. *Arkivoc.* **2012**, 242.

¹¹⁹ McNeil, N. M. R.; Matz, M. C.; Back, T. G. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 10369.

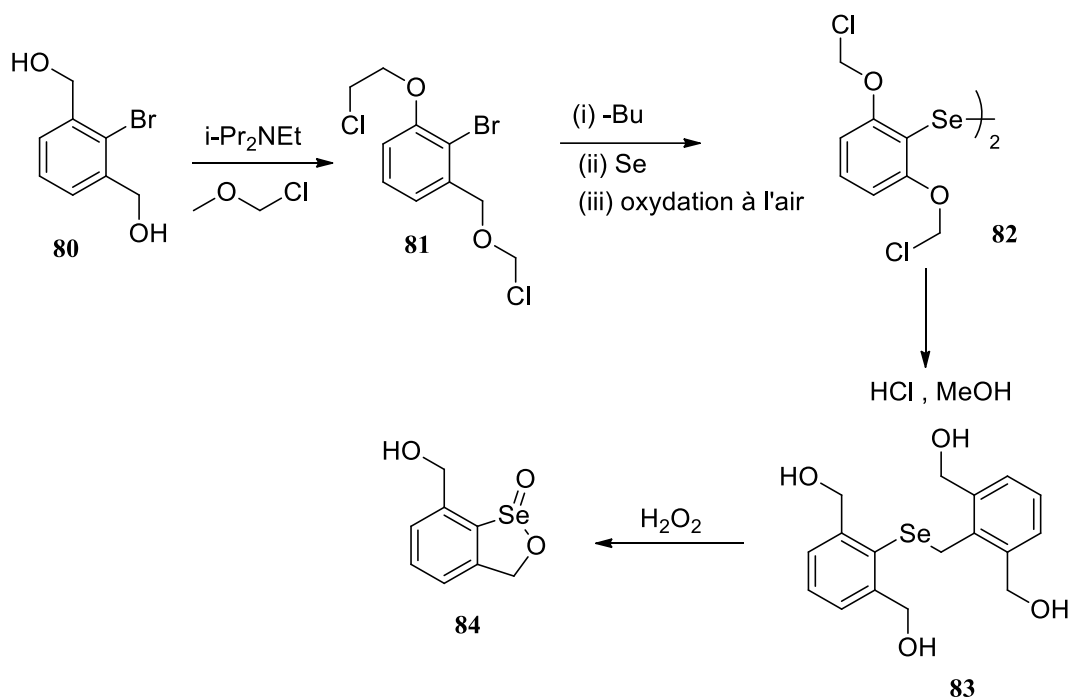


Schéma 41

Lorsqu'on a laissé les alk-2-yn-1-ol **85** réagir avec le sélénium élémentaire et les isocyanates en présence de DBU dans le THF, le 2-imino-4-alkylidène-1,3-oxasélenolanes **86** est obtenu (schéma 42).¹²⁰

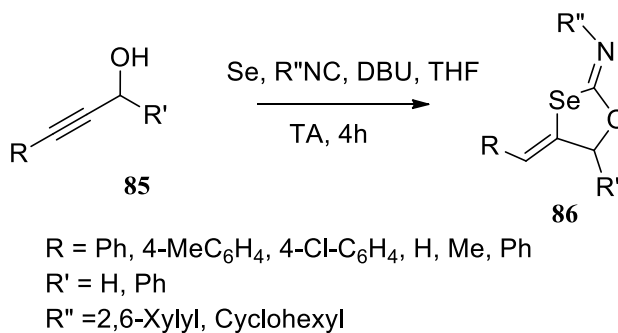


Schéma 42

II.2.4 Synthèse d'hétérocycles contenant le sélénium et le soufre

La réaction de SeBr₂ avec le sulfure de divinyle **87** dans le chloroforme, a révélé la formation du produit cinétique 2,6-dibromo-1,4-thiasélenane **88**, ce dernier subit un réarrangement favorisant la formation de 5-bromo-2-bromométhyl-1,3-thiasélenolane **89**.

¹²⁰ Asanuma, Y.; Fujiwara, S. I.; Shin-ike, T.; Kambe, N. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4845.

De plus, le composé **89** subit une déshydrobromation en formant le 2-bromométhyl-1,3-thia-sélénole **90**, en présence de chloroforme et à température ambiante (schéma 43).¹²¹

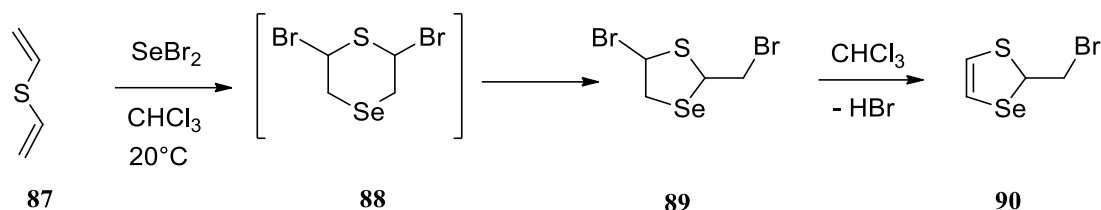


Schéma 43

Ce passage bibliographique couvre certains développements récents dans la chimie des systèmes organiques contenant du sélénium, et met en évidence leurs propriétés intéressantes.

Au cours des dernières années, les méthodes d'incorporation de sélénium dans les squelettes organiques en particulier, par la catalyse, réactifs de transfert de sélénium, et l'échange de sélénium-métal ont été développés significativement, ce qui a donné une forte impulsion à la chimie des hétérocycles contenant du sélénium.

Plus que les propriétés thérapeutiques des composés organoséléniés, les hétérocycles azotés sont aussi considérés parmi les composés qui présentent une large gamme d'activités biologiques.¹²² Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à synthétiser à travers des réactions de cyclofonctionnalisation, des hétérocycles contenant l'atome de sélénium et d'azote, en commençant par des alcényles, puis des oxaziridines.

III. Cyclofonctionnalisation des alcényles et des oxaziridines

III. 1. Cyclisation électrophile des alcényles

La cyclofonctionnalisation des alcényles est l'une des stratégies les plus importantes, pour préparer de nouveaux composés hétérocycliques (figure 7).

¹²¹ Amosova, S. V.; Penzik, M. V.; Albanov, A. I.; Potapov, V. A. *Russ. J. Gen. Chem.* **2009**, 79, 161.

¹²² Nagariya, A. K.; Meena, A. K.; Kiran, A. K.; Niranjan, U. S.; Pathak, A. K.; Singh, B.; Rao, M. M. *J. Phar. Res.* **2010**, 3, 575.

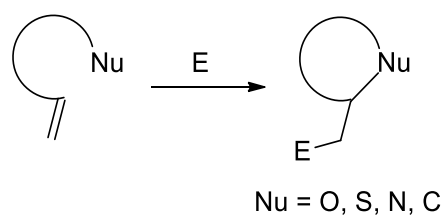


Figure 7

Plusieurs réactifs électrophiles ont été utilisés à cette fin.^{123,124,125} Les dérivés du sélénium jouent un rôle important, en particulier lorsque le nucléophile interne est un atome d'oxygène, comme les alcools ou les acides carboxyliques, produisant respectivement des éthers cycliques ou des lactones.

Particulièrement, les cas intéressants sont les cas où le nucléophile interne est un azote, permettant la préparation des alcaloïdes, ces derniers possèdent une activité biologique potentielle.¹²⁶

Les amines libres ne réagissent pas toujours. En effet, la cyclisation est possible lorsque l'azote est substitué par des groupes électroattracteurs,¹²⁷ qui réduisent la dureté de l'atome d'azote (schéma 44).

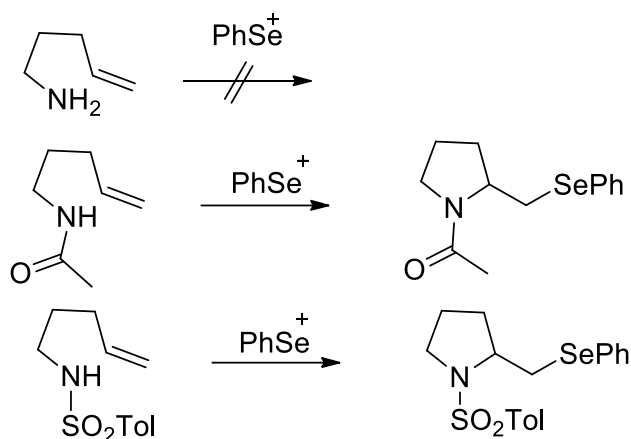


Schéma 44

¹²³Cardillo, G.; Orena, M. *Tetrahedron*. **1990**, *43*, 3321.

¹²⁴Tiecco, M.; Tingoli, M.; testaferrri, L.; Bagnoli, L.; Santi, C. *Synlett*. **1993**, 798.

¹²⁵Tiecco, M.; Tingoli, M.; testaferrri, L.; Bagnoli, L.; Santi, C. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 637.

¹²⁶Tiecco, M.; testaferrri, L.; Tingoli, M.; Bartoli, D.; Balducci, R. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 429.

¹²⁷Cooper, M. A.; Ward, A. D. *Tetrahedron. Lett.* **1992**, *33*, 5999.

Dans ce dernier cas, en utilisant du sélénium comme électrophile. La cyclisation n'est pas toujours possible. Il a été rapporté qu'il était corrélé au caractère dur de l'azote en tant que nucléophile, par rapport à l'ion séléniranium, ce dernier est considéré comme un cation limite dans la théorie de Pearson durs-mous.

De Kimpe et *al*¹²⁸, a démontré que l'aldimine **91** peut être facilement cyclisée en sel d'iminium correspondant. Ce dernier a été réduit in situ avec le NaBH₄, pour donner des hétérocycles saturés **92** contenant de l'azote (schéma 45).

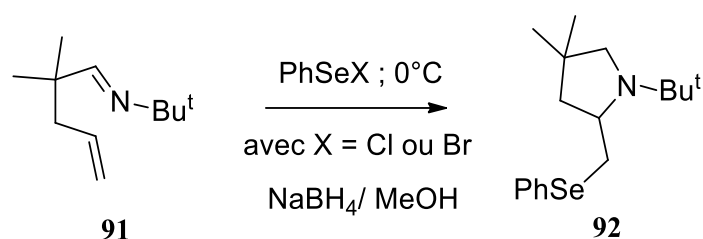


Schéma 45

Le mécanisme général proposé de la réaction, d'après la littérature, entre l'aldimine et le PhSeX est le suivant:

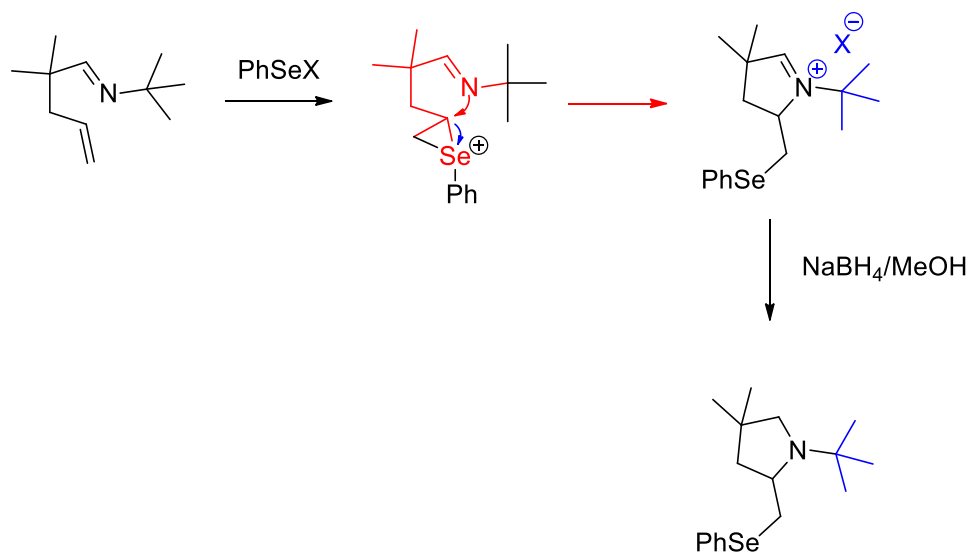


Schéma 46

¹²⁸ De Kimpe, N.; Boelens, M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 916.

La synthèse des nouveaux dérivés du 3,4-dihydro-2H-pyrrole **94**, **95** et **96** a été obtenue, à partir de l'imine **93** dans le THF à 0°C et par un traitement avec du LDA, suivi d'une alkylation avec les halogénures d'alkyle désirés.

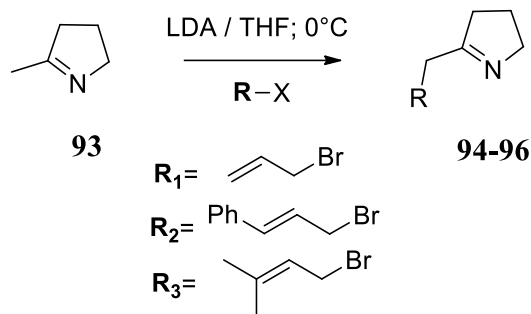


Schéma 47

Les résultats de cette synthèse sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : Synthèse des nouveaux alcényles

Entrée	Bromure allylique	Produit
1		
2		
3		

Ces produits intermédiaires sont tous quantitatifs, mais ils ne subissent pas d'une purification, à cause de leur instabilité sur le gel de silice.

La synthèse du composé **98** a été obtenue, en ajoutant l'amine **97** dans l'acétone pendant 1heure, avec la présence de MgSO₄ comme agent desséchant.

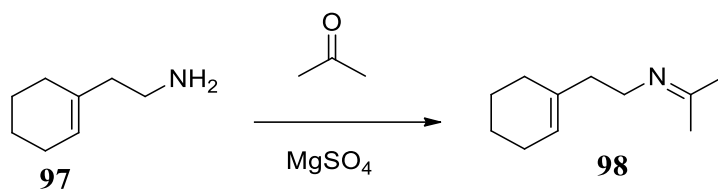


Schéma 48

Notre travail consiste à cycliser des composés **94**, **95**, **96** et **98** dans les mêmes conditions opératoires de l'aldimine **I** (schéma 45). Selon le bilan réactionnel suivant :

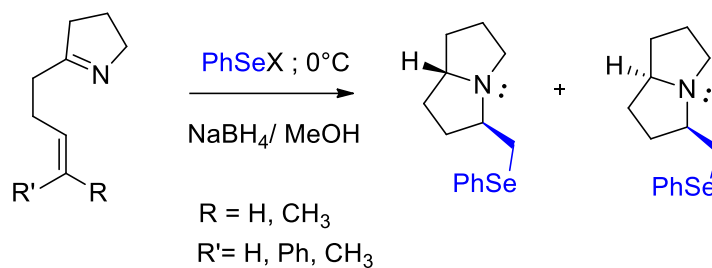
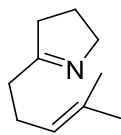
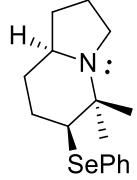
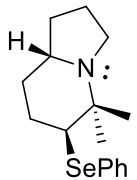
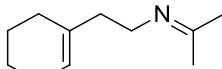


Tableau 7: Réactions de cyclisation des alcényles synthétisés

Entrée	Réactif	Produits		Rendement %/ Ratio	Temps (h)
		Isomère 1	Isomère 2		
1	 94	 99	 100	5 % 99/100 1:1	3
2	 95	 101	 102	5% 101/102 95:5	3

3				5% 103/104 5:95	3
4		-	-	-	

Les faibles rendements obtenus pour synthétiser ces hétérocycles par une cyclisation électrophile, nous ont poussés d'utiliser un autre substrat qui est l'alcényle d'oxaziridine.

III. 2. Cyclisation électrophile des alcényles d'oxaziridines

III. 2.1. Synthèse des alcényles d'oxaziridines

Le traitement de l'imine **94**, **95**, **96** et **98** avec une quantité stœchiométrique de mCPBA, a produit une oxydation de C=N, en donnant l'oxaziridine **105**, **106**, **107** et **108**.¹²⁹

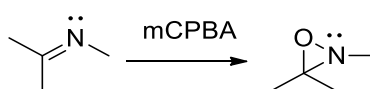
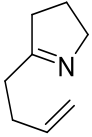
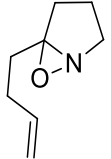
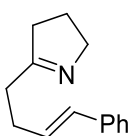
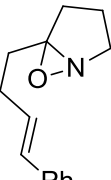
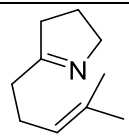
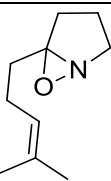
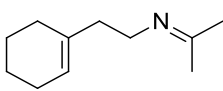
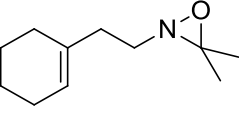


Schéma 49

¹²⁹ Usiki, Y.; Wang, Y.; Aubé, J. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 8028.

Tableau 8 : Les dérivés d'alcényles d'oxaziridines

Entrée	Réactif	Produit	Rendement %	Temps (h)
1	 94	 105	75%	3
2	 95	 106	75%	3
3	 96	 107	70%	3
4	 98	 108	52%	3

Prenons un exemple de spectre RMN^1H des oxaziridines synthétisés.

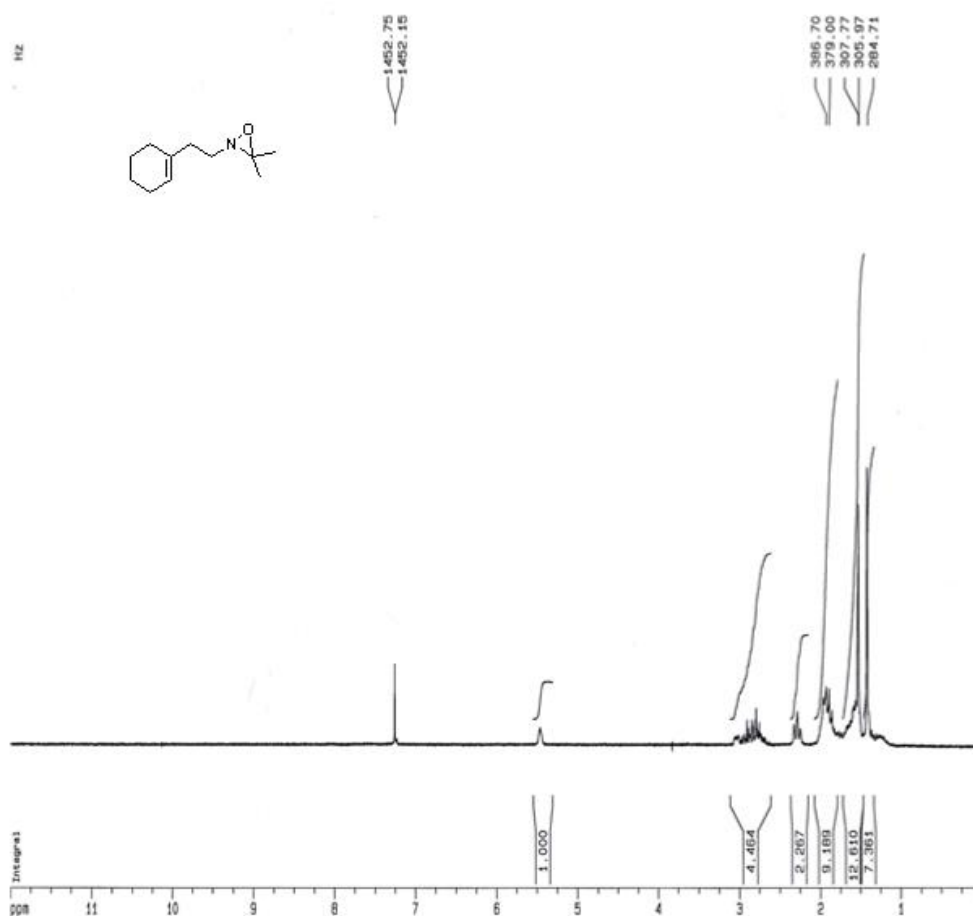


Figure 8 : Spectre RMN^1H ($CDCl_3$, 400MHz) de produit **108**

Le spectre RMN du proton du produit **108** est caractérisé par des signaux qui sortent dans la zone de déplacement chimique entre 1 ppm et 6 ppm. Ces différents signaux sortent sous forme de groupement aryle (1,37-1,47 ppm) et le proton lié au C hybridé Sp^2 du cycle aromatique sortant sous forme singulet à 5,41 ppm. On constate la présence des signaux sous forme de multiplets et triplet situés entre 1,54 ppm et 2,84 ppm ; ils représentent les deux protons de CH_2 .

III. 2.2. Cyclisation des alcényles d'oxaziridines

Lorsque les oxaziridines **105**, **106**, **107** et **108** ont été soumises à la condition de cyclisation préétablie (schéma 45), des rendements considérablement meilleurs ont été remarqués pour les produits obtenus (tableau 9).

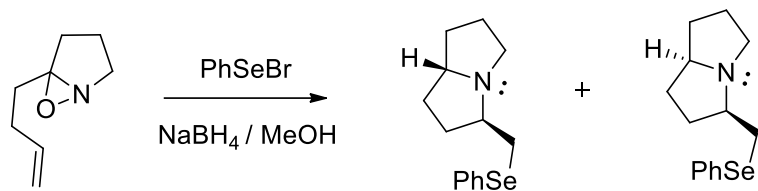


Schéma 50

Tableau 9: Hétérocycles synthétisé à partir d'oxaziridines

Entré	Réactif	Produit		Rendement %/ Ratio	Temps (h)
		Isomère 1	Isomère 2		
1	 105	 109	 110	78% 109/110 1:1	3
2	 106	 111	 112	90% 111/112 95:5	3
3	 107	 113	 114	88% 113/114 10:90	3
4	 108	 115	 116	29 : 115% 30 : 116%	3

Nous avons proposé le mécanisme élaboré dans le schéma 51 du composé **105**. La réaction de l'électrophile avec la double liaison C=C génère l'ion sélénium **105-I**, qui est soumis à la cyclisation donnant **105-II** connu comme oxydant puissant, et qui peut se décomposer avec formation d'un sel d'iminium de l'hypobromite **105-III**. La réduction qui en résulte montre une stéréosélectivité qui dépend fortement de la stabilité thermodynamique des composés finaux. Dans le cas du composé **105**, la réduction du sel d'iminium **105-III** n'est pas stéréocontrôlée, et les deux isomères (**109** et **110**) sont formés avec la même quantité.

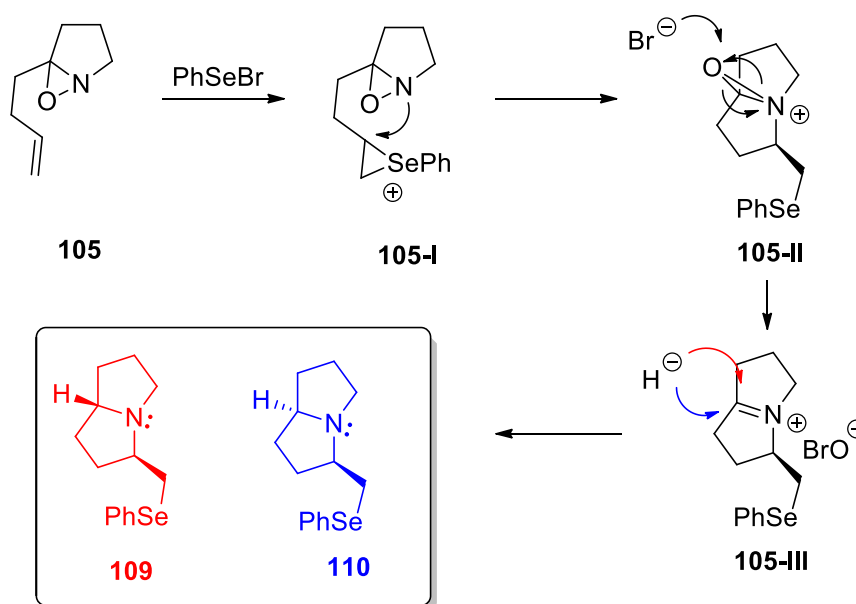


Schéma 51

De même, le mécanisme de la cyclisation des composés **106** et **107** qui conduit à la formation prédominante de deux isomères comme indiqué dans le schéma 52.

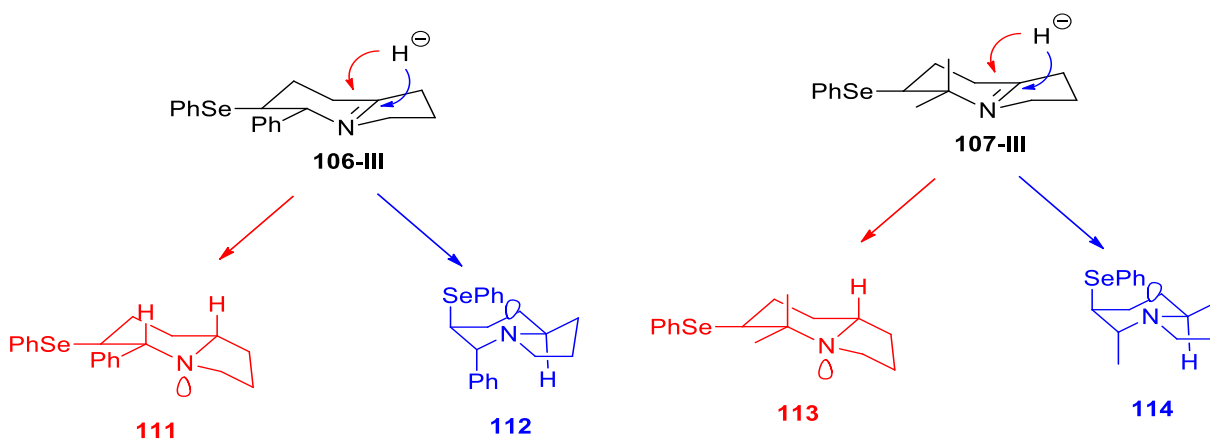


Schéma 52

Dans la cyclisation de composé **108**, on peut supposer que la formation de composé **116** est corrélée à une instabilité de l'intermédiaire d'iminium, qui est dans les conditions réductrices, n'est que lentement réduite, et peut être rapidement soumise à une hydrolyse pendant le traitement (schéma 53).

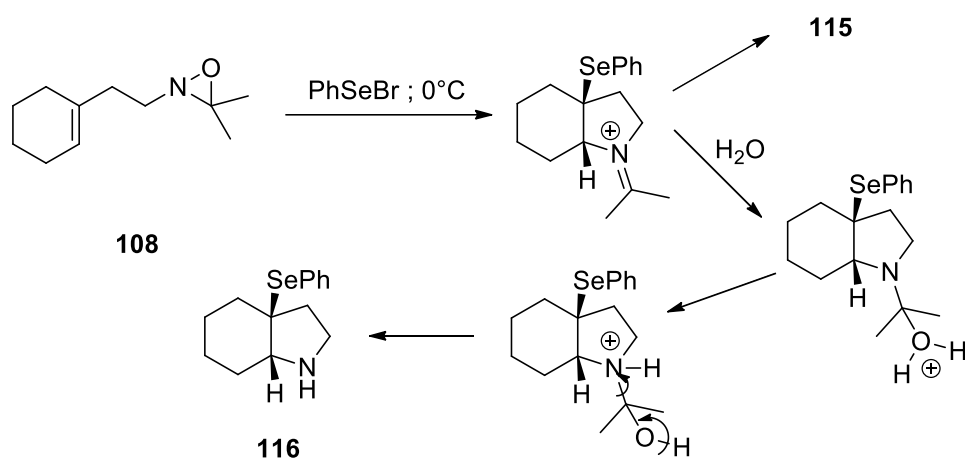


Schéma 53

Prenons l'exemple de spectre RMN^1H du produit **116** :

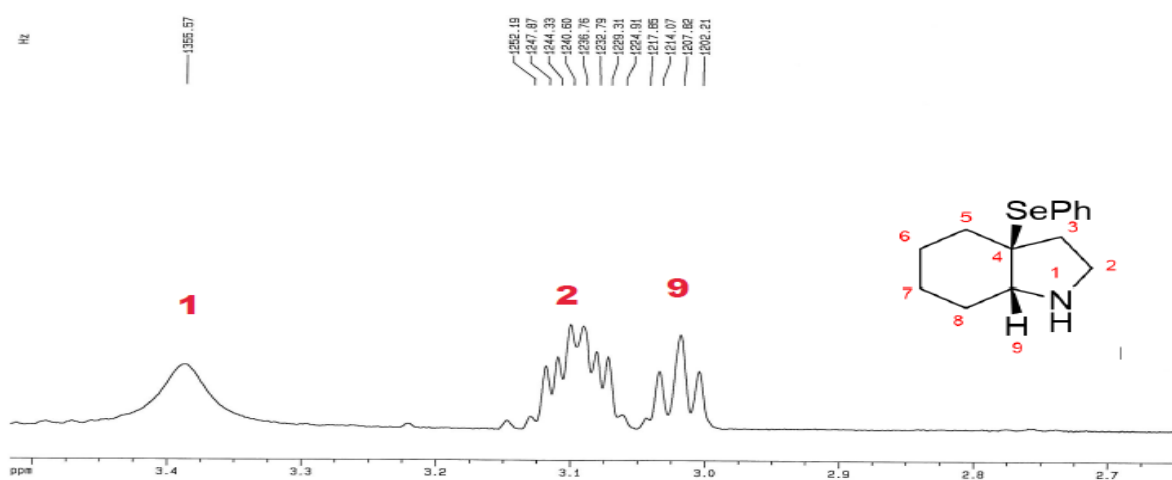
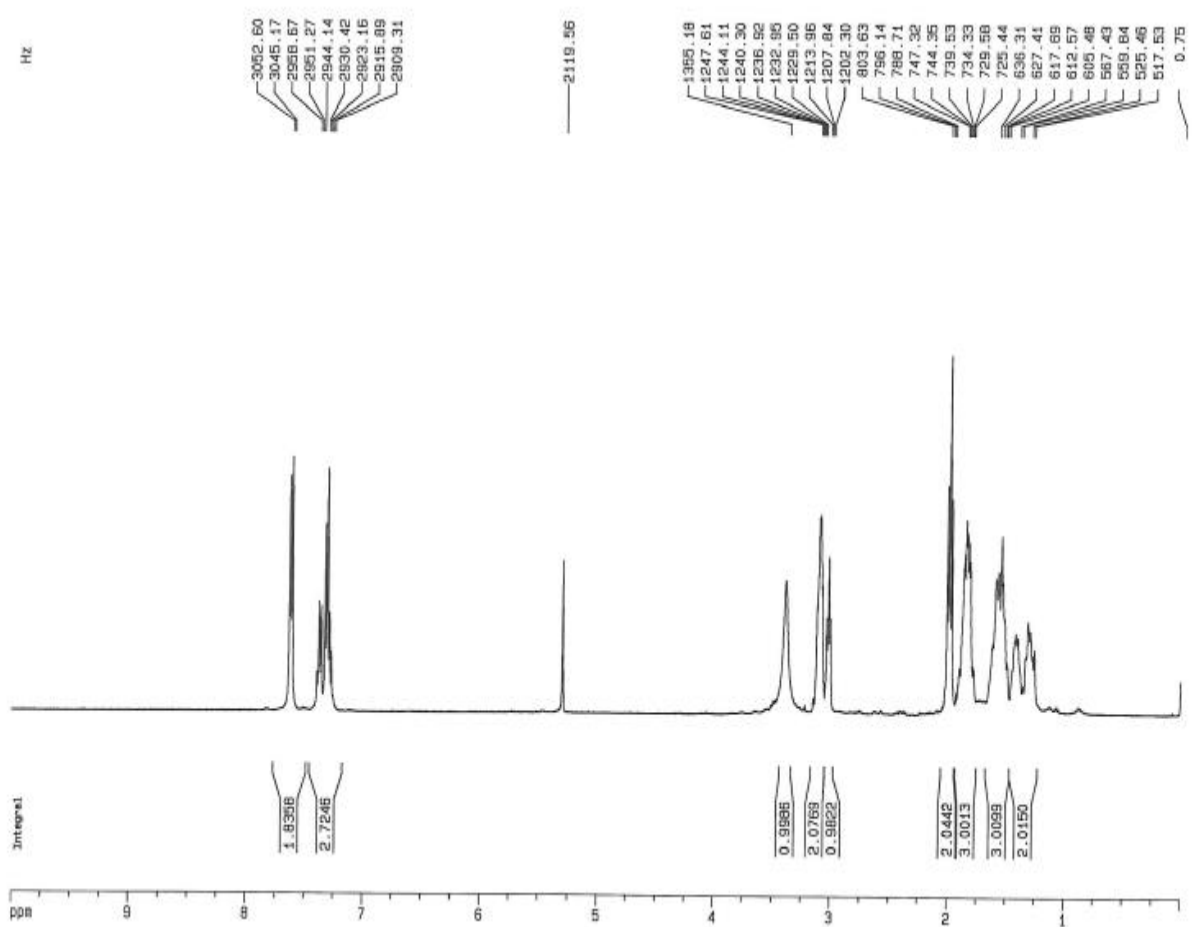


Figure 9 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) du composé 116

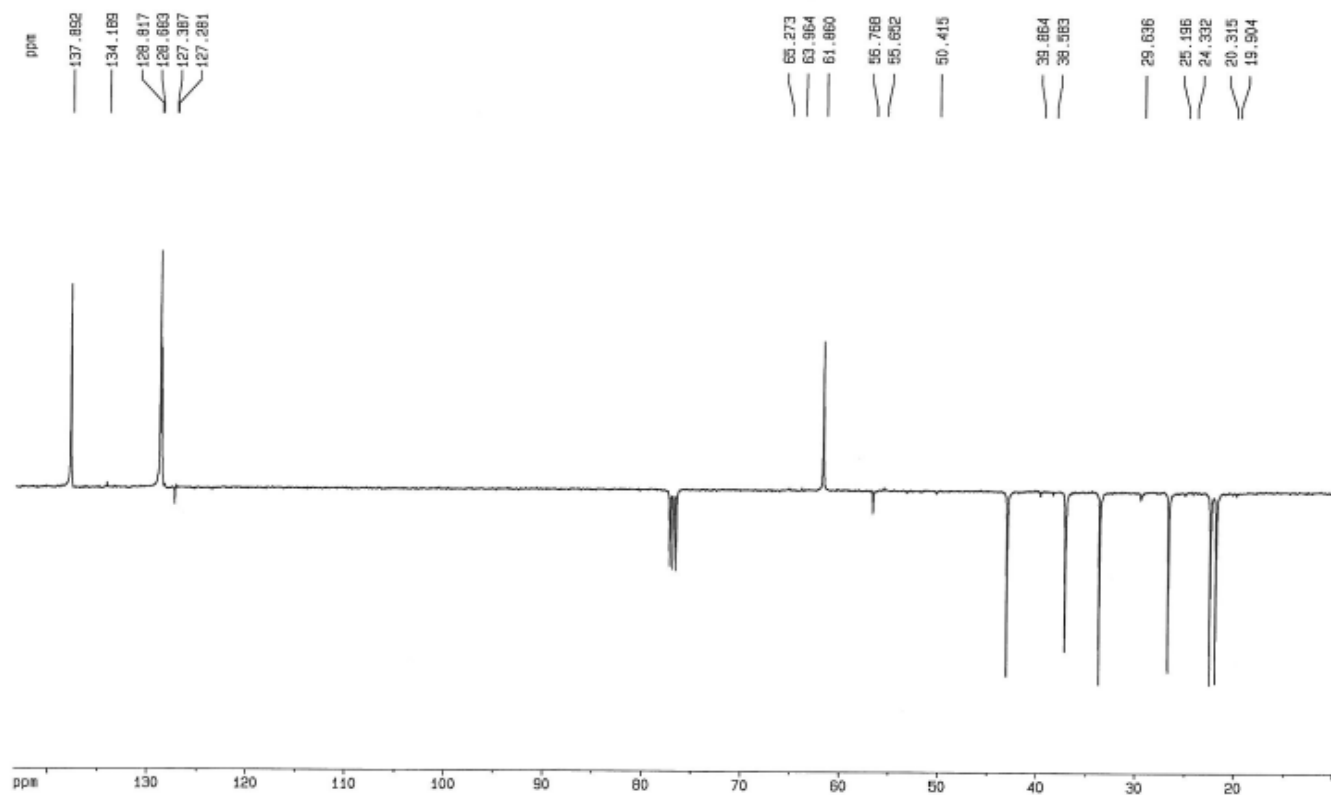


Figure 10 : Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100,6 MHz) du composé **116**

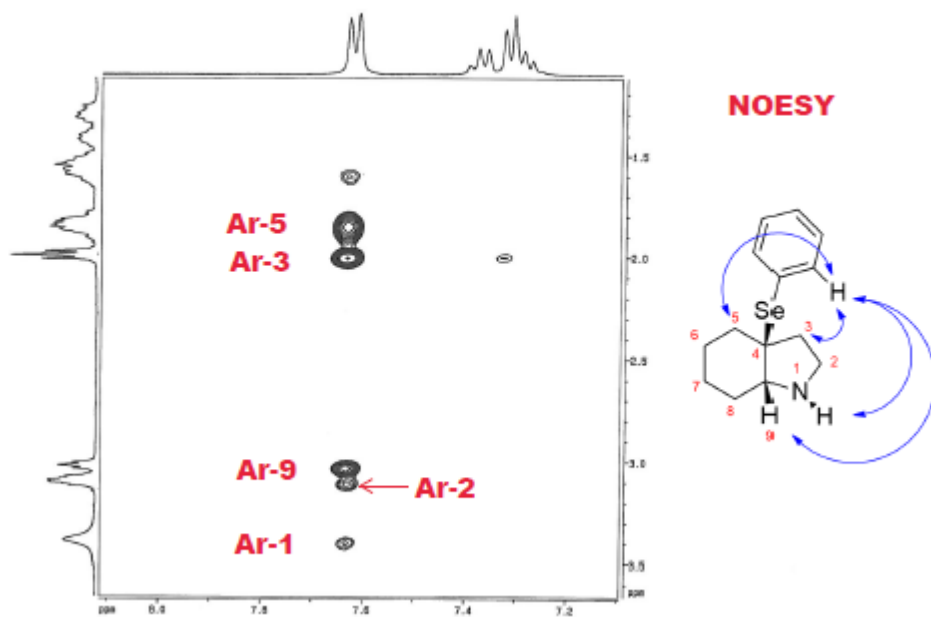
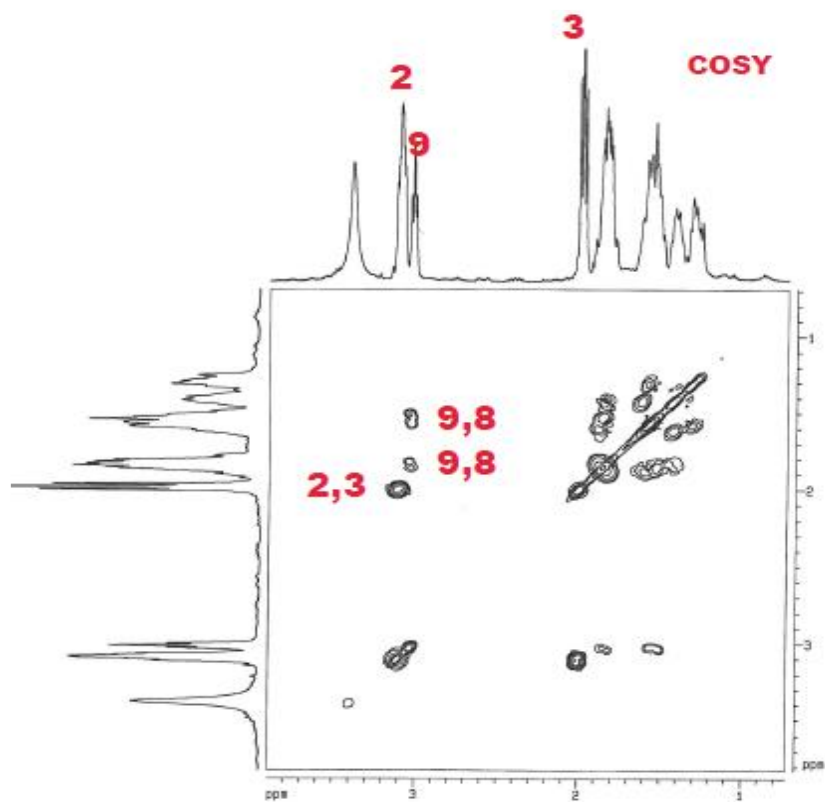


Figure 11 : Spectre RMN 2D du composé 116

Le spectre COSY a été utilisé pour mettre en évidence l'existence de couplage 3J entre 2H portés par des carbones en alpha ou 2J entre deux H portés par le même atome de carbone. Le spectre NOESY met en évidence de la relation dipolaire croisée et il indique des relations des proximités à travers l'espace.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre, en nous inspirant de la formation de nouveaux hétérocycles. Il apparait évident que les réactions de cyclofonctionnalisation, par l'utilisation des réactifs électrophiles à base de sélénium, constituent une pratique rentable, pour la conception et la synthèse de nouveaux hétérocycles séléniques.

La cyclisation est effectuée à partir des alcényles et des oxaziridines. Les résultats montrent que les hétérocycles synthétisés à partir des oxaziridines donnent les meilleurs rendements. Celle-ci constitue une nouvelle approche pour s'inspirer d'autres réactions en synthèse hétérocyclique.

PARTIE EXPERIMENTALE

INDICATIONS

TECHNIQUES D'ANALYSE

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton (^1H) et du carbone 13 (^{13}C) ont été enregistrés sur un appareil de de type Burker DRX 400 (400MHz pour le ^1H et 100,6MHz pour le ^{13}C). Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés en parties par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane pris comme étalon interne, les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz).

La multiplicité est représentée de la manière suivante :

s : singlet ; d : doublet ; dd : doublet de doublet ; t : triplet ; q : quadruplet ; m : multiplet ; br : singulet large ; dt : doublet de triplet ; ddd : doublet de doublet de doublet ; ddt : doublet de doublet de triplet ; dq : doublet de quadruplet.

Les points de fusion

Les points de fusion en $^{\circ}\text{C}$, non corrigés, ont été déterminés à l'aide d'un banc Köfler ou d'un appareil pour point de fusion à capillaire.

Microonde

Les expériences sous irradiation microondes sont effluées sur un appareil Anton Paar sous contrôle de température seulement (Puissance maximum : 850W, Pression maximum 30bar).

La chromatographie

L'évolution des réactions est suivie par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice (60F-254) de 0,25 mm d'épaisseur. La révélation est réalisée sous une lampe ultraviolette à 254 nm.

La révélation se réalise au moyen d'une lampe ultra-violet à 254 et 365 nm, puis par le diiode.

Les purifications par chromatographie sur colonne sont effectuées sur gel de silice (gel Kieselgel 60 (70–230 mesh)).

Spectrométrie de masse

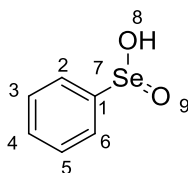
Cette analyse a été effectuée par une chromatographie en phase gazeuse HP-6890 (colonne de diméthylsilicone, 12,5 m) équipé d'un détecteur sélectif de masse HP-5973.

HPLC/MS

Appareillage chromatographique est composé d'une colonne de type Zorbax C18, le volume d'injection était de 10 µl et la température de la colonne était de 35°C. Le débit de la phase mobile était de 0,5 ml/min.

Le spectromètre de masse fonctionnait en mode ion négatif avec les paramètres suivants: tension capillaire, 3,0 kV; tension de cône, 20 V; tension de l'extracteur, 2 V. La température de la source était de 100°C, la température de désolvatation était de 350°C, le débit de gaz de cône était de 30 l/h et le débit de gaz de désolvatation était de 350 l/h.

Acide benzeneséléninique (2)



Formule chimique : $C_6H_6SeO_2$

Masse molaire = 189.95 g/mol

Dans un ballon, on met une solution de disélénure de diphenyle **1** (2,5g ; 8,01mmol) dans le CH_2Cl_2 froid (6 ml). Après 30 minutes, on ajoute goutte à goutte H_2O_2 à 30% v/v (3g ; 26,86mmol). La réaction (solution jaune) est agitée vigoureusement à 0°C pendant 3 heures. Une décoloration partielle du mélange réactionnel est observée, le mélange froid est filtré sous vide, le précipité est lavé avec de l'eau froide et le CH_2Cl_2 froid. Le produit résultant est séché à l'air.

Aspect : solide blanc.

PF: 120,1-120,3°C.

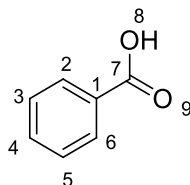
Rdt: 89%

RMN 1H (DMSO- d_6 , 400MHz): δ (ppm) 7,84-7,82 (m, 2H, H_{Ar}); 7,66-7,58 (m, 3H, H_{Ar}).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz): δ (ppm) 134, 70 (C1); 131, 90 (C4); 130 (C3, C5); 127, 30 (C6, C2).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée: 189,95; Trouvée : 189

Acide benzoïque (5)



Formule chimique : $C_7H_6O_2$

Masse molaire = 122,04 g/mol

En présence de H_2O_2

Dans un ballon contenant de l'alcool benzylique **3** (108,13mg ; 1mmol), on ajoute le catalyseur : l'acide benzèneséléninique (37,81mg ; 0,2mmol), puis l'agent oxydant H_2O_2 30% v/v dans l'eau (680,2 mg; 20 mmol), le mélange est porté sous agitation à température ambiante. A la fin de la réaction, une extraction liquide-liquide avec l'acétate d'éthyle est effectuée. La phase organique obtenue est évaporée au rota-vapeur.

Aspect : solide blanc.

PF : 122°C.

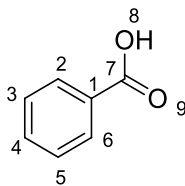
Rdt: 99%

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 11,88 (br, 1H); 8,13 (d, 2H, $J = 7,6$ Hz, H_{Ar}); 7,63 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, H_{Ar}); 7,49 (dd, 2H, $J = 7,6$ et 6,8 Hz, H_{Ar}).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm) 172,50 (C7); 133,80 (C1); 130,50 (C4); 130,20 (C3,C5); 128,50 (C6,C2).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 122,04; Trouvée : 122

Acide benzoïque (5)



Formule chimique : $C_7H_6O_2$

Masse molaire = 122,04 g/mol

En présence d'oxone

Dans un ballon contenant de l'alcool benzylique **3** (108,13 mg ; 1 mmol), on ajoute l'acide benzèneséléninique (37,81 mg ; 0,20 mmol), puis l'oxone (3,04 g ; 20 mmol) dans un mélange de solvant de $H_2O/MeCN$ 1/1, le mélange est porté à une température de $70^\circ C$ sous agitation. Après, une extraction liquide-liquide du mélange réactionnel avec l'acétate d'éthyle est effectué. La phase organique obtenue est évaporée au rota-vapeur

Aspect : solide blanc.

PF : $122^\circ C$.

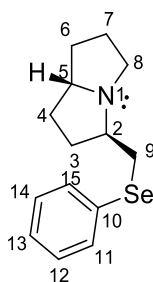
Rdt: 99%

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 11,88 (br, 1H); 8,13 (d, 2H, $J = 7,6$ Hz, H_{Ar}); 7,63 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, H_{Ar}) ; 7,49 (dd, 2H, $J = 7,6$ et 6,8 Hz, H_{Ar}).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm) 172,50 (C7); 133,80 (C1); 130,50 (C4); 130,20 (C3, C5); 128,50 (C6,C2).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 122,04; Trouvée : 122

3-((Phénylsélanyl)méthyl)hexahydro-1H-pyrrolizine (13)



Formule chimique : C₁₄H₁₉NSe

Masse molaire = 281,07 g/mol

Dans un ballon, on met l'imine 5-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole **7** (83,13mg ; 1mmol) dans le THF (5ml), le mélange réactionnel est porté sous agitation à une température de 0°C. Après 15min, on ajoute le LDA (117,83mg; 1,1mmol). L'halogénure d'alkyle **R₁**: 3-bromoprop-1-ène (180mg ; 1,5mmol) est ajouté après 1heure. Un suivi par CCM est effectué chaque heure. Après 5heures, on obtient le produit **8** : 5-(but-3-én-1-yl)-3,4-dihydro-2H-pyrrole. Ce dernier (123,20mg; 1mmol) est dissout dans le CH₂Cl₂ (2ml) sans purification, ce mélange est porté sous agitation à température ambiante, puis on verse goutte à goutte, avec la pipette pasteur le PhSeBr (235,97 mg; 1mmol) dissous dans le CH₂Cl₂ (5ml). Après, le NaBH₄ (75,66 mg; 2mmol) dissous dans le MeOH (2ml) a été ajouté et agité encore pour 3heures (suivi par CCM). Enfin, le mélange réactionnel a été extrait trois fois avec l'AcOEt. La phase organique est séchée avec Na₂SO₄. Le produit brut a été obtenu après évaporation du solvant, suivie par une purification par chromatographie sur colonne de gel de silice, en utilisant CH₂Cl₂/MeOH (99%/1%) comme éluant.

Aspect : huile incolore.

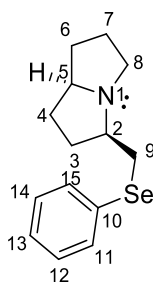
Rdt: 2,5%

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ (ppm) 7,60-7,39 (m, 2H, H_{Ar}) ; 7,08-6,90 (m, 3H, H_{Ar}) ; 3,61 (q, 1H, J = 7,1 Hz, CH) ; 3,18 (dd, 1H, J = 5,0 et 11,9 Hz, CH) ; 3,03 (dd, 1H, J = 7,6 et 11,9 CH) ; 3,02 (dt, 1H, J = 6,2 et 10,5 CH) ; 2,68 (m, 1H, CH) ; 2,37 (dt, 1H, J = 6,2 et 10,6 CH) ; 1,9-1,12 (m, 6H, 6CH) ; 1,11-0,8 (m, 2H, 2CH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6MHz): δ (ppm) 132,70 (C15/C11); 132,10 (C10); 128,90 (C13); 126,50 (C14/C12); 67,60 (C5); 65,80 (C2); 54,20 (C8); 33,30 (C9); 32,10 (C3); 31,90 (C6); 25,70 (C4); 23,70 (C7).

SM (IC/NH₃) m/z : Calculée : 281,07; Trouvée : 281

3-((Phénylsélanyl)méthyl)hexahydro-1H-pyrrolizine (14)



Formule chimique : $C_{14}H_{19}NSe$

Masse molaire = 281,07 g/mol

Le composé **14** est préparé selon le protocole expérimental décrit pour le produit **13**.

Aspect : huile incolore.

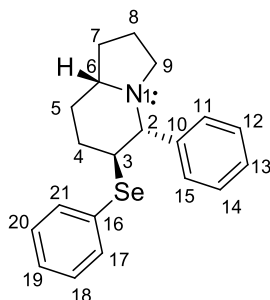
Rdt: 2,5 %

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 7,60-7,42 (m, 2H, H_{Ar}); 7,38-7,18 (m, 3H, H_{Ar}); 3,73-3,58 (m, 1H, CH); 3,48-3,2 (m, 2H, 2CH); 3,08-2,89 (m, 2H, 2CH); 2,58 (dt, 1H, $J=6,8$ et $9,3$ Hz, CH); 2,20 (ddt, 1H, $J=3,6$; $7,5$ et $11,5$ Hz, CH); 2,08-1,74 (m, 4H, 4CH); 1,70-1,23 (m, 3H, 3CH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm) 132,30 (C_{15}/C_{11}); 129,00 (C_{10}); 126,80 ($C_{13}/C_{14}/C_{12}$); 65,00 (C_5); 62,90 (C_2); 46,10 (C_8); 32,10 (C_9); 31,40 (C_3); 29,0 (C_6); 28,50 (C_4); 25,90 (C_7).

SM (IC/NH_3) m/z : Calculée : 281,07; Trouvée : 281

5-Phényl-6-(phénylsélanyl)octahydroindolizine (15)



Formule chimique: C₂₀H₂₃NSe

Masse molaire = 357,10 g/mol

Le produit **15** est préparé selon le mode opératoire de la réaction de cyclisation du produit **13**. Le produit intermédiaire (*E*)-5-(4-phénylbut-3-én-1-yl)-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole **9**, qu'a subi la cyclisation, est obtenu par utilisation de l'halogénure d'alkyle **R₂** : (*E*)-(3-bromoprop-1-én-1-yl)benzène, avec l'imine **7** et LDA, comme décrit dans le mode opératoire de **13**.

Aspect : huile incolore.

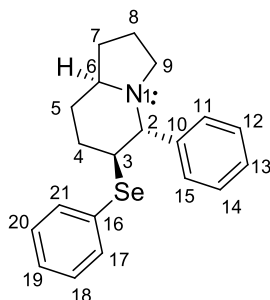
Rdt: 4,75 %

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ (ppm)7,68-7,52(m, 1H, H_{Ar}); 7,41-7,05 (m, 9H, H_{Ar}); 3,37 (ddd, 1H, *J* = 4,2 ; 10,3 et 12,02 Hz, CH) ; 3,04 (d, 1H, *J* = 10,3 Hz, CH) ; 2,6-2,23 (m, 1H, CH) ; 2,18 (dq, 1H, *J* = 4,2 et 12,4 Hz, CH); 2,11-1,20 (m, 9H, 9CH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6MHz): δ (ppm)142,30 (C10); 135,40 (C21/C17); 131,50 (C16); 129,10(C20/C18); 128,50 (C19); 128,00 (C14/C12); 127,60 (C15/C11); 127,20 (C13); 74,50 (C6); 64,30 (C2); 52,90 (C9); 34,20 (C5); 31,90 (C7); 30,50 (C8); 20,80 (C4).

SM (IC/NH₃) m/z : Calculée : 357,10; Trouvée : 357

5-Phényl-6-(phénylsélanyl)octahydroindolizine (16)



Formule chimique: $C_{20}H_{23}NSe$

Masse molaire = 357,10 g/mol

Le composé **16** est préparé selon le protocole expérimental décrit pour le produit **15**.

Aspect : huile incolore.

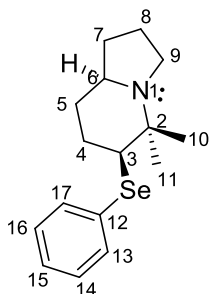
Rdt: 0,25 %

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm)7,45-7,05(m, 10H, H_{Ar}); 3,66 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, CH); 3,52 (dt, 1H, $J = 3,4$ et 8,5 Hz, CH); 3,28-3,12 (m, 1H, CH) ; 2,83-2,69 (m, 1H, CH) ; 2,52 (dt, 1H, $J = 8,5$ et 11,5 Hz, CH) ; 2,15-1,52 (m, 8H, 8CH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm)140,50 (C10);135,00 (C21/C17); 130,90 (C16); 128,80 (C20/C18); 128,20 (C19); 127,70 (C14/C12); 127,40 (C15/C11); 127,00 (C13); 73,90 (C6) ; 66,20 (C2); 58,70 (C9); 47,20 (C5); 27,80 (C7); 26,80 (C8); 21,40 (C4).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 357,10; Trouvée : 357

5,5-Diméthyl-6-(phénylsélanyl)octahydroindolizine (17)



Formule chimique: C₁₆H₂₃NSe

Masse molaire = 309,10 g/mol

Le produit **17** est préparé selon le mode opératoire de la réaction de cyclisation du produit **13**. Le produit intermédiaire 5-(4-méthylpent-3-én-1-yl)-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole **10**, qu'a subi la cyclisation, est obtenu par utilisation de l'halogénure d'alkyle (**R₃** : 1-bromo-3-méthylbut-2-én), avec l'imine **7** et LDA, comme décrit dans le mode opératoire de **13**.

Aspect : huile incolore.

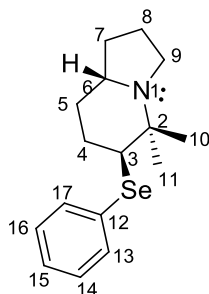
Rdt: 0,25 %

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ (ppm)7,60-7,5 (m, 2H, H_{Ar}) ; 7,20-7,10(m, 3H, H_{Ar}) ; 3,20 (dd, 1H, *J* = 3,0 et 3,5 Hz, CH) ; 2,95 (dt, 1H, *J* = 3,0 et 8,6 Hz, CH) ; 2,50-2,30 (m, 1H, CH) ; 2,30(q, 1H, *J* = 8,6 Hz, CH) ; 2,21-2,00 (m, 3H, 3CH) ; 1,40 (s, 3H, CH₃) ; 1,10 (s, 3H, CH₃) ; 2,00-1,31 (m, 5H, 5CH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6MHz): δ(ppm)133,70(C17/C13); 128,80(C12); 126,50 (C16/C15/C14); 78,30 (C6); 57,50 (C2); 56,10 (C9); 45,20 (C3); 31,70 (C5); 29,60 (C7); 28,20 (C10/C11); 20,40 (C8); 14,40 (C4).

SM (IC/NH₃) m/z : Calculée : 309,10; Trouvée : 309

5,5-Diméthyl-6-(phénylsélanyl)octahydroindolizine (18)



Formule chimique: $C_{16}H_{23}NSe$

Masse molaire = 309,10 g/mol

Le produit **18** est préparé selon le mode opératoire de la réaction de cyclisation du produit **17**.

Aspect: huile incolore.

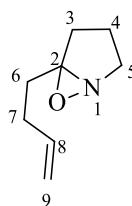
Rdt: 4,75 %

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 7,60-7,51 (m, 2H, H_{Ar}) ; 7,20-7,10 (m, 3H, H_{Ar}) ; 3,20 (dd, 1H, $J = 4,3$ et $12,3$ Hz, CH) ; 3,00 (dt, 1H, $J = 3,4$ et $8,6$ Hz, CH) ; 2,60-2,31 (m, 3H, 3CH) ; 2,10-1,52 (m, 5H, 5CH) ; 1,40 (s, 3H, CH_3) ; 1,40-1,22 (m, 2H) ; 1,00 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm) 134,00(C17/C13); 128,90(C12); 127,00 (C16/C15/C14); 78,30 (C6); 55,80 (C2); 54,90 (C9); 46,00 (C3); 32,80 (C5); 31,00 (C7); 29,60 (C10/C11); 20,60(C8); 11,50 (C4).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 309,10; Trouvée : 309

5-(But-3-én-1-yl)-6-oxa-1-azabicyclo[3.1.0]hexane (19)



Formule chimique: C₈H₁₃NO

Masse molaire = 139,10 g/mol

Dans un ballon, on met l'imine 5-(but-3-én-1-yl)-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole **8** (123,20mg ; 1mmol) dissous sans purification dans l'éther diéthylique (5ml), le mélange réactionnel est porté sous agitation à température ambiante, puis le mCPBA (224,34mg ; 1,3mmol) est ajouté petit à petit. Après 3heures, en contrôlant avec la CCM. L'oxaziridine **19** est obtenu, et il a été rapidement purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice, en utilisant 5% de l'AcOEt dans de l'éther de pétrole comme éluant.

Aspect : huile incolore.

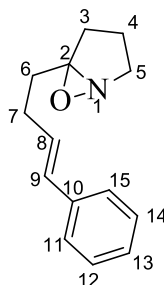
Rdt:75%

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ (ppm) 5,81 (ddt, 1H, *J* = 7,0 ; 10,90 et 17,1 Hz, CH); 5,20-4,90 (m, 2H, CH₂); 3,50-3,10 (m, 1H, CH); 2,90 (dt, 1H, *J* = 8,6 et 14,5, CH); 2,40-2,10 (m, 3H, 3CH); 2-1,50 (m, 5H, 5CH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6MHz): δ (ppm)137,10 (C8); 115,70 (C9); 89,40 (C2); 54,60 (C5); 31,1 (C6); 28,40 (C3); 28,10 (C7); 19,20 (C4).

SM (IC/NH₃) m/z : Calculée : 139,10; Trouvée : 139

(E)-5-(4-phénylbut-3-én-1-yl)-6-oxa-1-azabicyclo[3.1.0]hexane (20)



Formule chimique: C₁₄H₁₇NO

Masse molaire = 215,13 g/mol

Dans un ballon, on met l'imine (*E*)-5-(4-phenylbut-3-en-1-yl)-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole **9** (199,29 ; 1mmol) dissous sans purification dans l'éther diéthylique (5ml), le mélange réactionnel est porté sous agitation à température ambiante, puis le mCPBA (224,34mg ; 1,3mmol) est ajouté petit à petit. Après 3heures, en contrôlant avec la CCM. L'oxaziridine **20** est obtenu, et il a été rapidement purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice, en utilisant 5% de l'AcOEt dans de l'éther de pétrole comme éluant.

Aspect : huile incolore.

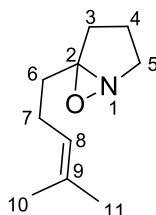
Rdt:75%

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ (ppm) 7,40-7,10 (m, 5H, H_{Ar}); 6,40 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, CH); 6,20 (dt, 1H, *J* = 15,9 et 6,4 Hz, CH); 3,40 (ddd, 1H, *J* = 2,7 ; 6,4 et 14,5 Hz, CH); 2,87 (ddd, 1H, *J* = 8,7 ; 9,8 et 14,5 Hz, CH); 2,40-2,20 (m, 3H, 3H) ; 2,10-1,90(m, 2H, 2CH); 1,90-1,50 (m, 3H, 3H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6MHz): δ (ppm)137,30 (C10); 130,20(C8); 129,20 (C12/C14); 128,20 (C11/C15); 126,70 (C13); 125,70 (C9); 89,70 (C2); 55,00 (C5); 31,80 (C6); 28,80 (C3); 27,70 (C7); 19,50 (C4).

SM (IC/NH₃) m/z : Calculée : 215,13; Trouvée : 215

5-(4-Méthylpent-3-én-1-yl)-6-oxa-1-azabicyclo[3.1.0]hexane (21)



Formule chimique: C₁₀H₁₇NO

Masse molaire = 167,13 g/mol

Dans un ballon, on met l'imine 5-(4-méthylpent-3-én-1-yl)-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole **10** (151,25 ; 1mmol) dissous sans purification dans l'éther diéthylique (5ml), le mélange réactionnel est porté sous agitation à température ambiante, puis le mCPBA (224,34mg ; 1,3mmol) est ajouté petit à petit. Après 3heures, en contrôlant avec la CCM. L'oxaziridine **21** est obtenu, et il a été rapidement purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice, en utilisant 5% de l'AcOEt dans de l'éther de pétrole comme éluant.

Aspect: huile incolore.

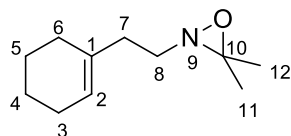
Rdt:70%

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ (ppm); 5,20 (t, 1H, *J* = 15,9 Hz, CH) ; 3,50-3,10 (m, 1H, CH) ; 2,90 (dt, 1H, *J* = 8,6 et 14,5, CH) ; 2,40-2,10 (m, 3H, 3CH) ; 2-1,50 (m, 5H, 5CH) ; 1,60 (s, 3H, CH₃) ; 1,70 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6MHz): δ (ppm)131,80 (C9); 123,20 (C8); 90,30 (C2), 60,50 (C5); 45,10 (C6); 37,00 (C3); 32,30 (C11); 28,70 (C4); 25,40 (C10); 17,40 (C7).

SM (IC/NH₃) m/z : Calculée : 167,13; Trouvée : 167

2-(2-(Cyclohex-1-én-1-yl)éthyl)-3,3-diméthyl-1,2-oxaziridine (22)



Formule chimique: $C_{11}H_{19}NO$

Masse molaire = 181,15 g/mol

Dans un ballon, on met l'amine le 2-(cyclohex-1-én-1-yl)éthanamine **11** (125,21mg ; 1mmol) dans l'acétone (5ml). Le mélange réactionnel est porté sous agitation à la température ambiante. Après disparition de l'amine **11** dans environs 1 heure, le mélange a été filtré et évaporé sous vide, en obtenant l'imine **12**. Ce dernier a été dissous dans l'éther diéthylique sans purification, puis traitée avec mCPBA (224,34mg ; 1,3mmol) à température ambiante pendant 3heures, en contrôlant avec la CCM. L'oxaziridine **22** résultante a été rapidement purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice, en utilisant 5% de l'AcOEt dans de l'éther de pétrole comme éluant.

Aspect: huile incolore.

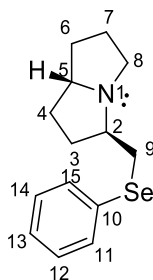
Rdt: 52%

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 5,41 (s, 1H, CH); 2,84-2,68 (m, 2H, CH_2) ; 2,23 (t, 2H, $J = 7,71$ Hz, CH_2) ; 1,92-1,88 (m, 4H, 2 CH_2) ; 1,57-1,54 (m, 4H, 2 CH_2) ; 1,47 (s, 3H, CH_3) ; 1,37 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm) 134,40 (C1); 121,90 (C2); 80,60 (C10); 52,70 (C8); 36,50 (C11/C12); 28,00 (C7); 25,30 (C3); 24,60 (C6); 22,30 (C4); 21,70 (C5).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 181,15; Trouvée : 181

3-((Phénylsélanyl)méthyl)hexahydro-1H-pyrrolizine (23)



Formule chimique : $C_{14}H_{19}NSe$

Masse molaire = 281,07 g/mol

Dans un ballon, on met l'oxaziridine **19** (139,19 mg ; 1mmol) dissout dans le CH_2Cl_2 (2ml), ce mélange est porté sous agitation à température ambiante, puis on verse goutte à goutte, avec la pipette pasteur, le $PhSeBr$ (235,97 mg; 1mmol) dissous dans le CH_2Cl_2 (5ml). Après, le $NaBH_4$ (75,66 mg; 2mmol) dissous dans le MeOH (2ml) a été ajouté et agité. La réaction s'arrête après 3heures (suivi par CCM), une solution basique (NaOH 10%) est ajoutée dans le mélange, puis extraite trois fois avec l'AcOEt. La phase organique est déshydratée avec Na_2SO_4 . Le produit brut obtenu par évaporation du solvant au rota vapeur, a été purifié par chromatographie sur colonne, en utilisant $CH_2Cl_2/MeOH$ à 1% comme éluant.

Aspect : huile incolore.

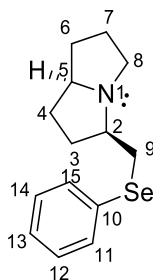
Rdt: 39 %

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 7,60-7,39 (m, 2H, H_{Ar}) ; 7,08-6,90 (m, 3H, H_{Ar}) ; 3,61 (q, 1H, $J = 7,1$ Hz, CH) ; 3,18 (dd, 1H, $J = 5,0$ et 11,9 Hz, CH) ; 3,03 (dd, 1H, $J = 7,6$ et 11,9, CH) ; 3,02 (dt, 1H, $J = 6,2$ et 10,5, CH) ; 2,68 (m, 1H, CH) ; 2,37 (dt, 1H, $J = 6,2$ et 10,6, CH) ; 1,90-1,12 (m, 6H, 6CH) ; 1,11-0,80 (m, 2H, 2CH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm) 132,70(C15/C11); 132,10(C10); 128,90 (C13); 126,50 (C14/C12); 67,60 (C5); 65,80 (C2); 54,20 (C8); 33,30 (C9); 32,10 (C3); 31,90 (C6); 25,70 (C4); 23,70 (C7).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 281,07; Trouvée : 281

3-((Phénylsélanyl)méthyl)hexahydro-1H-pyrrolizine (24)



Formule chimique : $C_{14}H_{19}NSe$

Masse molaire = 281,07 g/mol

Le composé **24** est préparé selon le protocole expérimental décrit pour le produit **23**.

Aspect : huile incolore.

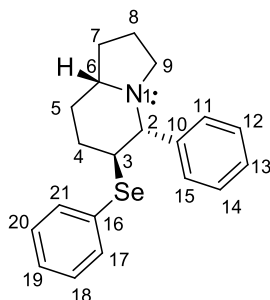
Rdt: 39 %

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 7,60-7,42 (m, 2H, H_{Ar}); 7,38-7,18 (m, 3H, H_{Ar}); 3,73-3,58 (m, 1H, CH); 3,48-3,20 (m, 2H, 2CH); 3,08-2,89 (m, 2H, 2CH); 2,58 (dt, 1H, $J=6,8$ et $9,3$ Hz, CH); 2,20 (ddt, 1H, $J=3,6$; $7,5$ et $11,5$ Hz, CH); 2,08-1,74 (m, 4H, 4CH); 1,70-1,23 (m, 3H, 3CH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm) 132,30 (C_{15}/C_{11}); 129,00 (C_{10}); 126,80 ($C_{13}/C_{14}/C_{12}$); 65,00 (C_5); 62,90 (C_2); 46,10 (C_8); 32,10 (C_9); 31,40 (C_3); 29,00 (C_6); 28,50 (C_4); (C_7)25,90.

SM (IC/NH_3) m/z : Calculée : 281,07; Trouvée : 281

5-Phényl-6-(phénylsélanyl)octahydroindolizine (25)



Formule chimique: $C_{20}H_{23}NSe$

Masse molaire = 357,10 g/mol

Dans un ballon, on met l'oxaziridine **20** (215,29 mg ; 1mmol) dissout dans le CH_2Cl_2 (2ml), ce mélange est porté sous agitation à température ambiante, puis on verse goutte à goutte, avec la pipette pasteur, le $PhSeBr$ (235,97 mg; 1mmol) dissous dans le CH_2Cl_2 (5ml). Après, le $NaBH_4$ (75,66 mg; 2mmol) dissous dans le MeOH (2ml) a été ajouté et agité. La réaction s'arrête après 3heures (suivi par CCM), une solution basique (NaOH 10%) est ajoutée dans le mélange, puis extraite trois fois avec l'AcOEt. La phase organique est déshydratée avec Na_2SO_4 . Le produit brut obtenu par évaporation du solvant au rota vapeur, a été purifié par chromatographie sur colonne, en utilisant $CH_2Cl_2/MeOH$ à 1% comme éluant.

Aspect : huile incolore.

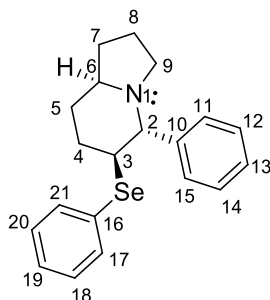
Rdt: 85,5 %

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm)7,68-7,52(m, 1H, H_{Ar}); 7,41-7,05 (m, 9H, H_{Ar}); 3,37 (ddd, 1H, $J = 4,2 ; 10,3$ et $12,02$ Hz, CH) ; 3,04 (d, 1H, $J = 10,3$ Hz, CH) ; 2,60-2,23 (m, 1H, CH) ; 2,18 (dq, 1H, $J = 4,2$ et $12,4$ Hz, CH); 2,11-1,20 (m, 9H, 9CH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm)142,30 (C10); 135,40 (C21/C17); 131,50 (C16); 129,10(C20/C18); 128,50(C19); 128,00(C14/C12); 127,60 (C15/C11); 127,20 (C13); 74,50 (C6); 64,30 (C2); 52,90 (C9); 48,30 (C5); 34,20 (C7); 31,90 (C8); 30,50(C4); 20,80 (C3).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 357,10; Trouvée : 357

5-Phényl-6-(phénylsélanyl)octahydroindolizine (26)



Formule chimique: $C_{20}H_{23}NSe$

Masse molaire = 357,10 g/mol

Le composé **26** est préparé selon le protocole expérimental décrit pour le produit **25**.

Aspect : huile incolore.

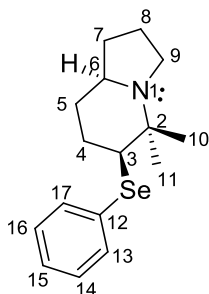
Rdt: 4,5%

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm)7,45-7,05(m, 10H, H_{Ar}); 3,66 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, CH); 3,52 (dt, 1H, $J = 3,4$ et 8,5 Hz, CH); 3,28-3,12 (m, 1H, CH) ; 2,83-2,69 (m, 1H, CH) ; 2,52 (dt, 1H, $J = 8,5$ et 11,5 Hz, CH) ; 2,15-1,52 (m, 8H, 8CH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm)140,50 (C10);135,00 (C21/C17); 130,90 (C16); 128,80 (C20/C18); 128,20 (C19); 127,70 (C14/C12); 127,40 (C15/C11); 127,00 (C13); 73,90 (C6) ; 66,20 (C2); 58,70 (C9); 51,80 (C5); 47,20 (C7); 27,80 (C8); 26,80 (C4); 21,40 (C3).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 357,10; Trouvée : 357

5,5-Diméthyl-6-(phénylsélanyl)octahydroindolizine (27)



Formule chimique: C₁₆H₂₃NSe

Masse molaire = 309,10 g/mol

Dans un ballon, on met l'oxaziridine **21** (167,13 mg ; 1mmol) dissout dans le CH₂Cl₂ (2ml), ce mélange est porté sous agitation à température ambiante, puis on verse goutte à goutte, avec la pipette pasteur, le PhSeBr (235,97 mg; 1mmol) dissous dans le CH₂Cl₂ (5ml). Après, le NaBH₄ (75,66 mg; 2mmol) dissous dans le MeOH (2ml) a été ajouté et agité. La réaction s'arrête après 3heures (suivi par CCM), une solution basique (NaOH 10%) est ajoutée dans le mélange, puis extraite trois fois avec l'AcOEt. La phase organique est déshydratée avec Na₂SO₄. Le produit brut obtenu par évaporation du solvant au rota vapeur, a été purifié par chromatographie sur colonne, en utilisant CH₂Cl₂/MeOH à 1% comme éluant.

Aspect : huile incolore.

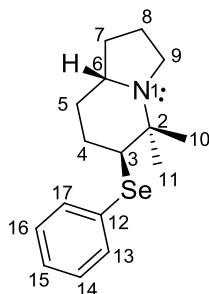
Rdt: 8,8%

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ (ppm) 7,60-7,50(m, 2H, H_{Ar}) ; 7,20-7,10(m, 3H, H_{Ar}) ; 3,20 (dd, 1H, J = 3,0 et 3,5 Hz, CH) ; 2,95 (dt, 1H, J = 3,0 et 8,6 Hz, CH) ; 2,50-2,30 (m, 1H, CH) ; 2,30(q, 1H, J = 8,6 Hz, CH) ; 2,20-2,00 (m, 3H, 3CH) ; 1,40 (s, 3H, CH₃) ; 1,10 (s, 3H, CH₃) ; 2,00-1,30 (m, 5H, 5CH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6MHz): δ(ppm) 133,70(C17/C13); 128,80(C12); 126,50 (C16/C15/C14); 78,30 (C6); 57,50 (C2); 56,10 (C9); 45,20 (C3); 31,70 (C5); 29,60 (C7); 28,20 (C10/C11); 20,40 (C8); 14,40 (C4).

SM (IC/NH₃) m/z : Calculée : 309,10; Trouvée : 309

5,5-Diméthyl-6-(phénylsélanyl)octahydroindolizine (28)



Formule chimique: $C_{16}H_{23}NSe$

Masse molaire = 309,10 g/mol

Le produit **28** est préparé selon le mode opératoire de la réaction de cyclisation du produit **27**.

Aspect: huile incolore.

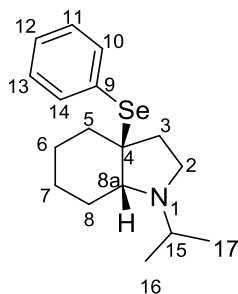
Rdt: 79,2 %

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 7,60-7,50(m, 2H, H_{Ar}) ; 7,20-7,10 (m, 3H, H_{Ar}) ; 3,20 (dd, 1H, $J = 4,3$ et $12,3$ Hz, CH) ; 3,00 (dt, 1H, $J = 3,4$ et $8,6$ Hz, CH) ; 2,60-2,30 (m, 3H, 3CH) ; 2,10-1,50 (m, 5H, 5CH) ; 1,40 (s, 3H, CH_3) ; 1,41-1,20(m, 2H); 1,01 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6MHz): δ (ppm) 134,00(C17/C13); 128,90(C12); 127,00 (C16/C15/C14); 78,30 (C6); 55,80 (C2); 54,90 (C9); 46,00 (C3); 32,80 (C5); 31,00 (C7); 29,60 (C10/C11); 20,60 (C8); 11,50(C4).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 309,10; Trouvée : 309

(3aS,7aR)-1-isopropyl-3a-(phénylsélanyl)octahydro-1H-indole (29)



Formule chimique: $C_{17}H_{25}NSe$

Masse molaire = 323,12 g/mol

Dans un ballon, on met l'oxaziridine **22** (181,27 mg ; 1mmol) dissout dans le CH_2Cl_2 (2ml), ce mélange est porté sous agitation à température ambiante, puis on verse goutte à goutte, avec la pipette pasteur, le $PhSeBr$ (235,97 mg; 1mmol) dissous dans le CH_2Cl_2 (5ml). Après, le $NaBH_4$ (75,66 mg; 2mmol) dissous dans le MeOH (2ml) a été ajouté et agité. La réaction s'arrête après 3heures (suivi par CCM), une solution basique (NaOH 10%) est ajoutée dans le mélange, puis extraite trois fois avec l'AcOEt. La phase organique est déshydratée avec Na_2SO_4 . Le produit brut obtenu par évaporation du solvant au rota vapeur, a été purifié par chromatographie sur colonne, en utilisant $CH_2Cl_2/MeOH$ à 1% comme éluant.

Aspect: huile incolore

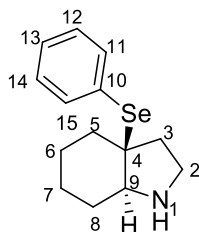
Rdt: 12%

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ (ppm) 7,65-7,63 (m, 2H) ; 7,38-7,28 (m, 3H) ; 0,91 (s, 3H) ; 1,08 (s, 3H) ; 2,86-2,74 (m, 3H) ; 3,00-2,90 (m, 1H) ; 2,05-2,01 (m, 2H) ; 1,73-1,40 (m, 8H).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100,6 MHz): δ (ppm) 137,80(C14, C10) ; 128,60(C18) ; 127,30(C11/ C13) ; 128,80(C9) ; 68,50(C8a) ; 22,30(C7) ; 24,80(C5) ; 43,00(C4) ; 16,00(C16) ; 20,00(C8) ; 33,30(C3) ; 24,50 (C6) ; 37,00(C2) ; 47,50 (C15) ; 14(C17).

SM (IC/ NH_3) m/z : Calculée : 323,12; Trouvée : 323

(3a*S*,7a*S*)-3a-(phénylsélanyl)octahydro-1*H*-indole (30)



Formule chimique: C₁₄H₁₉NSe

Masse molaire = 280,27 g/mol

Le produit **30** est préparé selon le mode opératoire de la réaction de cyclisation du produit **29**.

Aspect: huile incolore.

Rdt: 60%

RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 7,63-7,61 (m, 2H) ; 7,4-7,27 (m, 3H) ; 3,38 (s, 1H) ; 3,09(m, 2H) ; 3,01 (t, 1H, $J= 5,93$ Hz) ; 1,99 (m, 2H) ; 1,83 (m, 3H) ; 1,54 (m, 3H) ; 1,35 (m, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100,6 MHz): δ (ppm); 137,89 (C11/C15); 128,68(C13) ; 128,81 (C10) ;127,39(C12) ; 127,28 (C14) ; 61,86 (C9); 57,0 (C4) ; 43,00 (C2) ; 37,00(C3) ; 34,00(C8); 26,50 (C5); 22,50 (C7) ; 22,00(C6).

SM (IC/NH₃) m/z : Calculée : 280,27; Trouvée : 280

PARTIE II :

Analyse physicochimique et évaluation
pharmacologique des extraits de la plante
bombax Buonopozense

Chapitre I.

Etude bibliographique

I. Introduction

Il est certain que les plantes médicinales faisaient partie de notre alimentation quotidienne. Cependant, le long des deux dernières décennies, ils découvraient que les plantes ont des effets thérapeutiques contre les pathologies.^{130,131} Les produits naturels issus des plantes ont été caractérisés par une résurgence d'intérêt, grâce à la découverte de nouvelles molécules bioactives dites principes actifs, qui constituent les composants essentiels des médicaments, et donc le traitement et la prévention des maladies.¹³²

Le corps médical a pris conscience de l'intérêt thérapeutique des plantes, pour soigner efficacement un grand nombre d'infections, appuyées sur les progrès des technologies d'isolation et les méthodes d'analyse scientifiques.

Aujourd'hui, il y a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie.¹³³ Les plantes constituent une base pour la pratique de la médecine traditionnelle systématique dans le monde entier, et surtout dans les pays en voie de développement qui trouvent leurs soins de santé grâce aux plantes médicinales, les habitants de ces régions ne peuvent pas avoir accès à la médecine moderne, à cause de leur niveau de pauvreté d'une part et la non disponibilité des soins d'autre part.¹³⁴

Selon l'OMS, plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé, voici le grand retour de la pharmacopée naturelle. En effet, 200 000 espèces végétales recensées sur la planète, poussant dans les pays tropicaux d'Afrique ont des propriétés thérapeutiques.¹³⁵

¹³⁰Okigbo, R. N.; Eme, U. E.; Ogbogu, S. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* **2008**, *6*, 127.

¹³¹Pifferi, G.; Vitali, R. *Chim. Ind.* **1993**, *75*, 382.

¹³²Paterson, I.; Anderson, E. A. *Science*. **2005**, *310*, 451.

¹³³Lahsissene, H.; Kahouadji, A.; Tijane, M.; Hseini, S. Catalogue des Plantes Médicales Utilisées dans la région de Zaer (Maroc occidental). *Lejeunia, Revue de botanique*. **2009**.

¹³⁴Mokgolodi, N. C.; Yan, H.; Shi, L.; Yu-jun, L. *For. Stud. China*. **2011**, *13*, 163.

¹³⁵Millogo, H.; Guisson, I. P.; Nacoulma, O.; Traore, A. S. Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. *Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humaine, Lyon*. **2005**.

II. Phytothérapie

II. 1. Définition

Étymologiquement, le mot phytothérapie provient de deux mots grecs « *phyton* » qui signifie plante, et « *therapein* » qui signifie soigner. La phytothérapie est donc une pratique thérapeutique, qui utilise les plantes médicinales pour prévenir et/ou soigner la maladie. La phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des médecines alternatives.¹³⁴

II. 2. Types de la phytothérapie

II. 2.1. Phytothérapie traditionnelle

Une pratique traditionnelle des plantes médicinales, qui désigne une grande variété de méthodes de traitement, où les plantes étaient utilisées telles quelles subissant de moindres transformations (macération, infusion, décoction...). Ces pratiques souvent issues de traditions et de connaissances anciennes, basées sur l'observation de l'éventuelle activité d'une plante sur l'organisme, et ne pouvait être révélée que par la modification de la symptomatologie du patient. Elle est encore massivement employée dans les pays en voie de développement.¹³⁶

La phytothérapie traditionnelle est considérée comme une médecine traditionnelle. C'est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'outils scientifiques, de l'expérience et donc d'étude clinique.

II. 2.2. Phytothérapie scientifique

Une pratique développée avec l'avènement de la chimie moderne, permet d'étudier les plantes médicinales, isoler les principes actifs, réaliser l'essai clinique, et déterminer les mécanismes d'action régissant les propriétés thérapeutiques.

La pharmacognosie et la phytothérapie clinique ont permis de valoriser l'utilisation des plantes médicinales, et de réaliser le passage vers une phytothérapie moderne. Celle-ci intègre les données ancestrales et scientifiques, elle prend les principes actifs, en exploitant

¹³⁶ Carillon, A. Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. *Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales, Djerba. 2009.*

l'ensemble de ses potentialités connues (synergie, utilisation de doses pondérées), afin de rétablir l'équilibre physiologique du patient.¹³⁵

III. Métabolites des plantes médicinales

Une plante médicinale est une plante possédant des propriétés bénéfiques pour la santé humaine, utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales, dont au moins une partie possède des propriétés thérapeutiques. Malgré les progrès de la médecine moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin thérapeutique important.¹³⁷

III. 1. Métabolites primaires

Dans Le règne végétal, les composés organiques d'une plante sont divisés en deux catégories, les premiers produits sont les métabolites primaires qui existent dans toutes les cellules, et qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal des cellules, ils interviennent de façon déterminante dans la corrélation entre les différents processus physiologiques au sein de la plante, comme les saccharides, les acides gras et les acides aminés.¹³⁶

III. 2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes sont la deuxième catégorie des métabolites qui constituent une classe extrêmement large de substances naturelles, ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, et ils ne se rencontrent pas chez toutes les espèces végétales, mais renferment en général des vertus thérapeutiques.^{138,139}

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes : alcaloïdes, phénols et polyphénols, terpénoïdes et stéroïdes.

¹³⁷Elqaj, M.; Ahami, A.; Belghyti, D. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. *Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques", Maroc* **2007**.

¹³⁸Lovkova, M.; Buzuk, G. N.; Sokolova, S. M.; Kliment'eva, N. I. *Appl. Biochem. Micro.* **2001**, 37, 229.


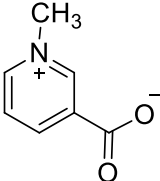
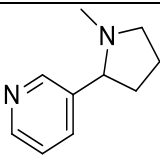
¹³⁹Hanson, J. R. *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 1772.

III. 2.1. Alcaloïdes

Parmi les premiers produits naturels isolés des plantes médicinales sont les alcaloïdes. Ils sont chimiquement des matières organiques composés de carbone, d'hydrogène, d'azote et d'oxygène. Selon les structures de leurs hétérocycles, les alcaloïdes sont des dérivés de la pyrrolidine, la pyridine, la pipéridine, la quinoline, l'isoquinoline, l'indole, la tropane, la quinolizidine, la purine, etc.¹⁴⁰

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes par leurs activités pharmacologiques, qui s'exercent dans des domaines variés, ils sont des antidépresseurs, des stimulants, des narcotiques, et des poisons.¹⁴¹

Tableau 10 : Exemple d'une classe d'alcaloïdes.

Classe	Principaux groupes	Exemples
Dérivés de la pyridine 	Dérivés simples de la pyridine	 Trigonelline
	Dérivés polycycliques de pyridine non condensé	 Nicotine

III. 2.2. Phénols et polyphénols

Les composés phénoliques ont des compositions chimiques diverses et abondantes dans les plantes.¹⁴² Cependant, ils présentent dans leur structure au moins un cycle

¹⁴⁰Schauenberg, P.; Paris, F. Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. *Delachaux et Niestlé*. 2005.

¹⁴¹ Ziegler, J.; Facchini, P. J. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 2008, 59, 735.

¹⁴²Urquiaga, I.; Leighton, F. *Biol. Res.* 2000, 33, 55.

aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH.¹⁴³

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement, ils permettent de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes, ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux au stress oxydatif. Chez l'homme, les composés phénoliques présentent plusieurs effets (figure 12).¹⁴⁴

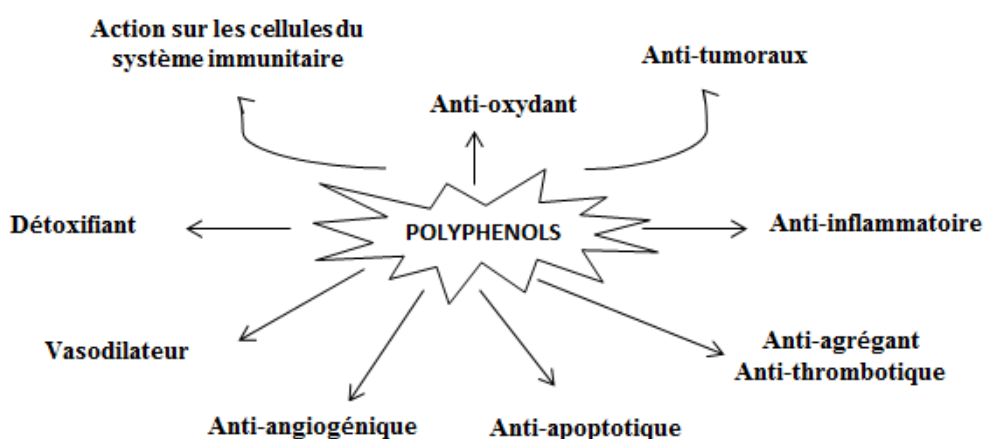


Figure 12 : Effets biologiques des polyphénols

III. 2.2.1. Acide phénolique

Les acides phénoliques présents en abondance dans les aliments et divisés en deux classes :

A. Acides hydroxybenzoïques

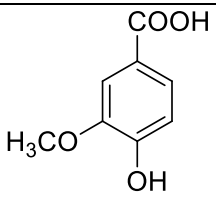
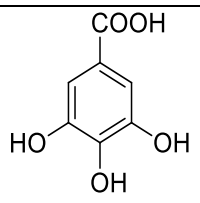
Sont des dérivés de l'acide benzoïque. Quelques acides sont répertoriés dans le tableau 11.¹⁴⁵

¹⁴³Hennebelle, T.; Sahpaz ,S.; Bailleul, F. *Phytothér.* **2004**, *1*, 3.

¹⁴⁴ Martin, S.; Andriantsitohaina, R. *Ann. Cardiol. Angeiol.* **2002**, *51*, 304.

¹⁴⁵Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V. Les polyphénols en agroalimentaire. *Lavoisier.* **2006**.

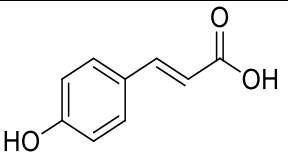
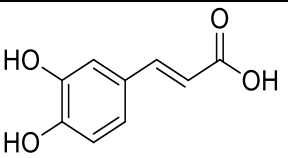
Tableau 11 : Exemples des Acides hydroxybenzoïques

Acides phénoliques	Structure
Acide vanillique	
Acide gallique	

B. Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique, le tableau ci-dessous représente deux exemples d'acides hydroxycinnamiques.¹⁴³

Tableau 12 : Exemples des Acides hydroxycinnamiques

Acides phénoliques	Structure
Acide parahydroxycinnamique	
Acide caféique	

III. 2.2.2. Coumarines

Les coumarines sont des substances phénoliques synthétisées à partir de la fusion des noyaux benzènes et α pyrone.¹⁴⁶

¹⁴⁶O'Kennedy, R.; Thomes, R. D. Coumarins: biology, applications and mode of action. *Chichester ; New York : John Wiley & Sons, c. 1997.*

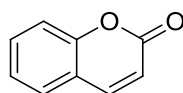


Figure 13 : Squelette de base de coumarine

Les activités biologiques des coumarines sont diverses, ils sont des antifongiques,¹⁴⁷ antibactériens,¹⁴⁸ antiviraux,¹⁴⁹ antimalariaux in vivo et in vitro, et anti-tumoraux.¹⁵⁰

III. 2.2.3. Flavonoïdes

Ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B), qui sont reliés entre eux par une chaîne en 3 carbones (C).¹⁵¹

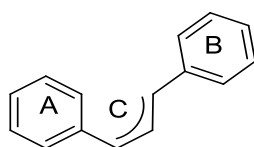


Figure 14 : Squelette de base des flavonoïdes

Les diverses classes de flavonoïdes diffèrent en fonction de la cyclisation et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle (C), alors que les composés individuels au sein d'une classe diffèrent par la substitution des cycles (A) et (B). Certains exemples des flavonoïdes sont présentés dans la figure 15.

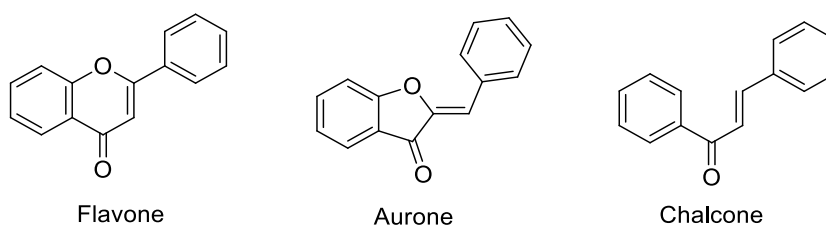


Figure 15: Quelques structures de flavonoïdes

¹⁴⁷Sardari ,S.; Mori, Y.; Horita, K.; Mictich, R. G.; Nishibe, S.; Daneshtalab, M. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7, 1933.

¹⁴⁸ Kwon, Y. S.; Kobayashi , A.; Kajiyama, S. I.; Kawazu, K.; Kanzaki, H.; Kim, C. M. *phytochemistry.* **1997**, 44, 887.

¹⁴⁹ Fuller, R.W.; Bokesch, H. R.; Gustafon, K. R.; Mckee, T. C.; Cardellina, J. H.; McMahon, J. B.; Cragg, G. M.; Sojaerto, D.; Boyd, M. R. *Bioorganic. Med. Chem. Lett.* **1994**, 4, 1961.

¹⁵⁰Seliger, B. *Immunol. Today.* **1997**, 10, 93.

¹⁵¹ Erdman, J.; Balentine, J. D.; Arab, L.; Beecher, G.; Dwyer, J. T.; Folts, J.; HarnlyHollman, J. P.; L-Keen, C.; Mazza, G.; Messina , M.; Scalbert, A.; Vita, J.; Williamson, G.; Burrowes, J. *J. Nutr.* **2007**, 137, 718 s.

Dans le domaine médical, les flavonoïdes présentent plusieurs activités biologiques, dont l'activité antioxydante est la plus importante.¹⁵² On leur reconnaît ainsi des activités anti-virales, anti-bactériennes, anti-fongiques.¹⁵³ Ils exercent aussi des activités antidiabétiques,¹⁵⁴ anti-inflammatoires, anti-allergiques,¹⁵⁵ et anti-tumorales.¹⁵⁶

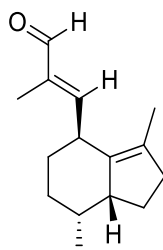
III. 2.2.4. Tanins

Les tanins exercent une activité antidiarrhéique, certains sont connus pour leurs propriétés antiseptiques, antibactériennes, antifongiques et antioxydant.¹⁵⁷

III. 2.3. Terpénoïdes et Stéroïdes

III. 2.3.1. Terpénoïdes

Les métabolites terpéniques sont des dérivés d'isoprène (C₅H₈). Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les triterpènes C₃₀, et les tétraterpènes en C₄₀.¹⁵⁸



Valerenal

Figure 16 : Structure d'un Terpénoïde

¹⁵²Montoro, P.; Braca, A.; Pizza, C. *Food. Chem.* **2005**, 92, 349.

¹⁵³Harbone, J. B.; Williams, C. A. *phytochemistry.* **2000**, 55, 481.

¹⁵⁴Ong, K. C.; Khoo, H. E. *Life. Sci.* **2000**, 67, 1695.

¹⁵⁵ Middleton, J.; Kardsnami, C. The flavonoids, advanced in research since. *Chapman and Hall, London.* **1993**.

¹⁵⁶Barrero, A. F.; Herrador, M. M.; Artega, P.; Cabrera, E.; Rodriguez-Garcia, I.; Garcia-moreno, M.; Gravalos, D. G. *Fitoterapia.* **1997**, 68, 281.

¹⁵⁷Amina, B. Thèse de doctorat national, Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat. **2016**.

¹⁵⁸Modolo, L. V.; Reichert, A. I.; Dixon, R. A. Introduction to the Different Classes of Biosynthetic Enzymes. In *Plant-derived Natural Products; Synthesis, Function, and Application.* London, New York, Springer. **2009**.

III. 2.3.2. Stéroïdes

Les stéroïdes sont dérivés de triterpènes tétracycliques. Beaucoup de stérols et terpènes se produisent sous forme de glycosides, caractérisés par les saponines stéroïdiennes et saponines triterpéniques. Ceux-ci sont responsables de la formation de la mousse produite par de nombreuses plantes.

Les saponines stéroïdiennes et triterpénique ont une importance médicale considérable. En effet, Les saponines stéroïdiennes représentent la matière première principale pour la fabrication des drogues hormonales (cortisone, hydrocortisone, etc...), largement répandues pour le traitement de l'arthrite, du keratitis et de l'iritis, et sert également à traiter les maladies virales et fongiques.¹⁵⁹

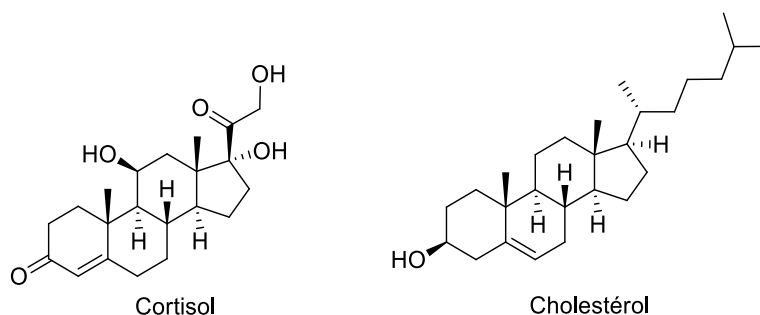


Figure 17 : *Quelques structures des stéroïdes*

IV. Identification botanique de *Bombax buonopozense*

IV. 1. Classification botanique

Règne : Plantae

Ordre : Malvales

Famille: *Bombaceae*

Genre : *Bombax*

Espèce : *Bombax buonopozense*

Nom binomial : *Bombax buonopozense* P Beauv

Nom commun : Kapokier, Kapokier de forêt, Tulipier d'Afrique.¹⁶⁰

¹⁵⁹Elks, J. Steroid Saponins and Sapogenins. *Elsevier, Amsterdam. 1971.*

¹⁶⁰ Denise, G. B. *Actual. bot. 1989, 3, 45.*

IV. 2. Description botanique

Bombax buonopozense appartient à la famille *Bombaceae*, c'est un grand arbre tropicale qui atteint une hauteur de 40 m, avec de grandes racines de contreforts qui peut s'étendre à 6 m. L'écorce est recouverte de grandes épines coniques, surtout quand elles sont jeunes, avec de grandes fleurs roses à rouge. Les branches sont disposées verticillés, les feuilles sont composées, et ils ont 5 à 9 folioles, et 5 à 25 veines secondaires.^{161,162}



Figure 18 : Bombax buonopozense

IV. 3. Répartition géographique

La plante *Bombax buonopozense* est largement répandue dans les pays africains comme le Ghana, la Sierra Leone, l'Ouganda, le Gabon, Au Nord du Nigeria, et parfois dans les forêts dense semi-décidue, et les forêts sempervirentes que l'on rencontre en Afrique de l'Ouest de la Guinée au Cameroun.¹⁶³

IV. 4. Phytothérapie traditionnelle

Bombax buonopozense présente plusieurs propriétés thérapeutiques, une décoction des feuilles sont prises pour le traitement du paludisme,¹⁶⁴ et les douleurs surtout des douleurs musculaires. La macération des racines est utilisée pour les maux antimicrobiens

¹⁶¹Akuodor, G. C.; Mbah, C. C.; Megwas, U. A. *Intern. J. Biol. Chemical Sc.* **2011**, *5*, 1790.

¹⁶²Beentje, H.; Sara, S. *Syst. Geogr. Plant.* **2001**, *71*, 284.

¹⁶³Dubost, G. *J. Mammal.* **1984**, *62*, 298.

¹⁶⁴ Godwin, G. C.; IdrisUsman, M.; Ibrahim, J. A. *Afr. J. Biotechnol.* **2011**, *10*, 3191.

et de l'estomac.¹⁶⁵ Une cuite de l'écorce dans du riz ou en frottement sur la tête, pour lutter contre les vertiges et les étourdissements. La décoction d'écorce calme les douleurs des menstruations, elle est fébrifuge, ainsi utilisée contre dermatoses prurigineuses.¹⁶²

IV. 5. Travaux antérieurs sur *Bombax buonopozense*

IV. 5.1. Composition chimique

L'analyse phytochimique de l'extrait de l'écorce de *Bombax buonopozense*, par macération dans l'eau a révélé la présence des alcaloïdes, terpènes, stérols, flavonoïdes, tanins, saponines et de glucides.¹⁶⁶ Une macération avec 70% de méthanol dans l'eau de l'extrait des feuilles, montre la présence des métabolites suivants : tanins, saponines, terpènes, stérols, flavonoïdes, alcaloïdes et glucides. L'extrait de macération des racines dans une solution de 70% de méthanol dans l'eau révéla des alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponines, terpènes, stérols, anthraquinones, et des hydrocarbures.¹⁶⁷

IV. 5.2. Données toxicologiques

L'efficacité d'une substance en pharmacologie n'est pas suffisante pour justifier son éventuelle introduction en thérapeutique. En effet, il faut définir le rapport bénéfice risque dans l'indication thérapeutique de chaque substance. Ceci ne peut être réalisé que par l'intermédiaire de deux types d'étude : l'étude de l'efficacité chez l'animal (pharmacologie expérimentale) et chez l'homme (effet bénéfique), puis une étude de sécurité chez l'animal (toxicologie) et chez l'homme (effet indésirable).¹⁶⁸

Pour la plante *Bombax buonopozense*, l'extrait aqueux de l'écorce de la tige, ainsi que l'extrait au méthanol des feuilles, ne présentaient pas de mortalité observée chez les souris après l'administration orale, même à des doses aussi élevées que 5000 mg/kg, ce qui signifie que la DL50 orale était supérieure à 5000 mg/kg de poids corporel.¹⁴⁵

¹⁶⁵ Godwin, C. A.; Chukwuemeka, C. M.; Uchenna, A. M.; Nwakaego, C. I.; Joseph, L. A.; Benjamin, O. O.; Uche, A. O. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **2011**, *5*, 1790.

¹⁶⁶ Tom, C. I.; Godwin, C. A.; Augustine, D. E.; Florence, C. N.; Joseph, L. A.; Dorcas, O. O.; Uche, A. O. *East. J. Med.* **2012**, *17*, 72.

¹⁶⁷ Godwin, C. A.; Augustine, D. E.; Jemilat, A. I.; Augustine, B. ; Joseph, L. A.; Nwakaego, C.I.; Simon, C. O. *Asia. J. Med. Sc.* **2011**, *2*, 190.

¹⁶⁸ Antonius, G. F.; Kochhar, T. S.; Jarret, R. L.; Syder, J. C. *J. Environ. Sci. Health.* **2006**, *41*, 1237.

IV. 5.3. Activité biologique de *Bombax buonopozense*

La plante *Bombax buonopozense* a été signalée pour posséder d'énormes activités biologiques, comme les activités anti-inflammatoires,¹⁶⁹ antipaludiques¹⁷⁰ et cytotoxiques.¹⁷¹ D'autres études ont rapporté ses activités antimicrobiennes,¹⁷² et anti-ulcères.¹⁷³

V. Etude pharmacologiques de *Bombax buonopozense*

Dans nos études pharmacologiques de la plante *Bombax buonopozense*, nous allons intéresser à l'étude de l'activité antioxydante, l'activité anticancéreuse et l'activité antidiabétique.

V. 1. Activité Antioxydante

Les flavonoïdes sont préconisés pour leur action antioxydante, contribuant à protéger l'organisme des méfaits liés à la pollution, à l'ingestion de substances toxiques (alcool, tabac...), à l'exposition au soleil... Ces polluants sont appelés radicaux libres, qui peuvent dégrader les parois des cellules, des protéines ou de l'ADN, et donc responsables du vieillissement cellulaire. C'est à ce moment que les antioxydants interviennent et trouvent toute leur raison d'être.¹⁷⁴

V. 1.1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié sur la couche externe.¹⁷⁵ Ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher ou céder un électron. Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux, ceci

¹⁶⁹Liu, Q. L.; Chen, A. H.; Tang, J. Y.; Ma, Y. L.; Jiang, Z. H.; Liu, Y. P.; Xu, W. *Nat. Prod. Res.* **2017**, 1.

¹⁷⁰Benelli, G.; Maggi, F.; Petrelli, R.; Canale, A.; Nicoletti, M.; Rakotosaona, R.; Rasoanaivo, P. *Ind. Crops Prod.* **2017**, 103, 19.

¹⁷¹Hijazi, M. A.; Aboul-Ela, M.; Bouhadir, K.; Fatfat, M.; Khalife, H.; Ellakany, A.; Gali-Muhtasib, H. *Recor. Nat. Prod.* **2017**, 11, 114.

¹⁷²Mann, A.; Salawu, F. B.; Abdulrauf, I. *Eur. J. Sci. Res.* **2011**, 48, 627.

¹⁷³Nwagba, C. A.; Ezugwu, C. O.; Eze, C. C.; Anowi, F. C.; Ezea, S. C.; Nwakile, C. D. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2013**, 3, 139.

¹⁷⁴Laraoui, H. Mémoire magistère, Université Hadj Lakhdar, BATNA. **2007**.

¹⁷⁵Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford.4, Clarendon Press.* **2006**.

explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans l'organisme humain.¹⁷⁶

On distingue deux types de radicaux libres, les radicaux primaires qui jouent un rôle particulier en physiologie comme le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$, puis le second type, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule comme H_2O_2 .^{177,178}

Dans le cas de l'ADN, le radical hydroxyle réagit avec les bases, en s'additionnant sur les doubles liaisons, prenant l'exemple de la base de guanine, deux radicaux libres sont formés : R_1 (centré sur l'atome de carbone) et R_2 (centré sur l'atome d'azote). Ce dernier donne naissance à la 8-oxo-guanine, un des principaux marqueurs du stress oxydant dans l'ADN.¹⁷⁹

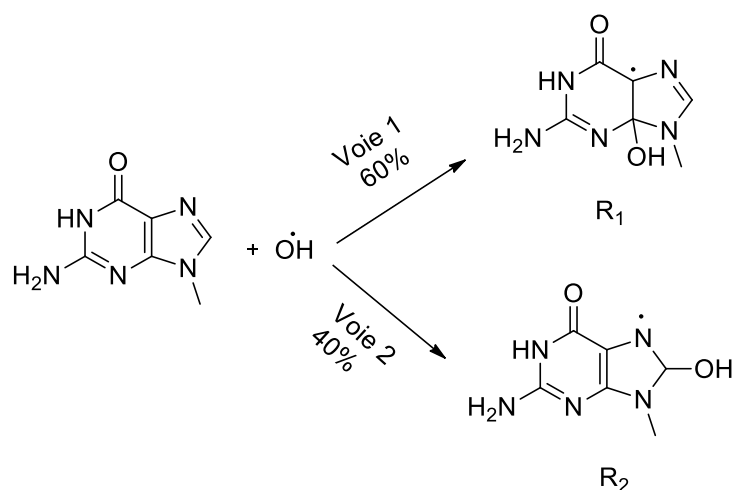


Figure 19 : Mode d'action des radicaux hydroxyles sur la guanine

V.1.2. Antioxydants : mécanisme de défense

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'une molécule, elle est capable d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne, avant que les molécules vitales ne soient endommagées.¹⁸⁰

¹⁷⁶Milane, H. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg. **2004**.

¹⁷⁷ Yoshikawa, M.; Shimoda, H.; Uemura, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 2071.

¹⁷⁸ Favier, A. *L'Act. Chim.* **2003**, 108.

¹⁷⁹ Cadet, J.; Delatour, T.; Douki, T.; Gasparutto, D.; Pouget, J. P.; Ravanat, J. L.; Sauvaigo, S. *Mut. Res.* **1999**, *424*, 9.

¹⁸⁰ Bani, S.; Kaul, A.; Jaggi, B. S.; Suri, K. A.; Suri, O. P.; Sharma, O. P. *Fitoterapia.* **2000**, *71*, 655.

Les mécanismes de défense antioxydante du corps humain peuvent être divisés en deux catégories. Premièrement, les antioxydants enzymatiques, un certain nombre d'enzymes sont synthétisées à partir des protéines, ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire, surtout au niveau du H₂O₂, conduisant finalement à la formation de H₂O et l'oxygène moléculaire. L'enzyme la plus connue est la Glutathion peroxydase.¹⁸¹

Quant au second groupe d'antioxydants est non enzymatique, il doit être obtenu par l'alimentation, puisque ces derniers ne peuvent être synthétisés par l'être humain. Ils comprennent les nutriments et les métabolites végétaux : vitamines E et C, le sélénium, l'acide caféique, les flavonoïdes...

V. 2. Activité anticancéreuse

Le cancer est devenu au fil des années une cause majeure de mortalité dans le monde. Par définition, une cellule cancéreuse est une cellule qui échappe aux mécanismes de régulation de son tissu d'origine. C'est un phénomène qui se présente par une prolifération incontrôlée d'une cellule sur ses voisines, jusqu'à lui permettre d'envahir l'organisme de l'hôte.

Le processus de la cancérogenèse est considéré comme un complexe multi-séquentiel, menant une cellule initialement normale et saine à un état précancéreux et finalement à un stade précoce de cancer, cette rupture de l'équilibre cellulaire est due à une anomalie des gènes contrôlant la vie et la prolifération des cellules.¹⁸²

Depuis longtemps, on associe le cancer au type d'alimentation. De nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers, et qui sont susceptibles de retarder, voire d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant d'une manière spécifique les risques d'en avoir chez les sujets humains.¹⁸³

Plusieurs études montrent l'activité anticancéreuse de certains flavonoïdes, et signalaient que l'inhibition des différents stades de développement de cancer est assurée par tous les flavonoïdes. La quercétine et la rutine sont les deux flavonoïdes les plus

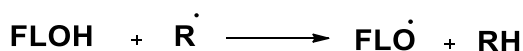
¹⁸¹Lehucher-Michel, M. P.; Lesgards, J. F.; Delubac, O. *Press. Med.* **2001**, 30, 1076.

¹⁸²Pincemail, J.; Meurisse, M.; Limet, R. L.; Defraigne, J. O. *Medi. Sphere.* **1999**, 9, 29.

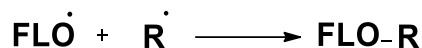
¹⁸³Hertog, M. G. *Proc. Nutr. Soc.* **1996**, 55, 385.

conseillés, pour prévenir l'apparition du cancer de l'appareil gastro-intestinal,¹⁸⁴ le épigallocatechine-3 gallate représente des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses de prostate.¹⁸⁵

Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, selon la réaction de piégeage représentée ci-dessous :¹⁸⁶



Cette réaction de piégeage donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyyle (FLO•), ce dernier va subir un changement de structure par résonance, redistribution des électrons impairs sur le noyau aromatique, pour donner des molécules de faible réactivité par rapport aux radicaux R.



En outre les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs.



V. 3. Activité antidiabétique

Le diabète peut être considéré comme une maladie émergente. Cette maladie se développe de manière épidémique depuis quelques décennies, et sa prévalence augmente fortement et rapidement dans tous les pays, principalement dans les pays industrialisés, mais aussi dans les pays pauvres.

Le diabète est généralement caractérisé par une hyperglycémie chronique, résultant d'un défaut de sécrétion ou d'action de l'insuline, associé à des complications sévères, tels que l'infarctus du myocarde, l'athérosclérose, la néphropathie et la neuropathie. L'aggravation de la maladie ainsi que l'apparition de ces complications chroniques, sont longtemps supposées liées à l'élévation chronique du glucose et au stress oxydant.¹⁸⁷

¹⁸⁴Depeint, F.; Gee, J. M.; Williamson, G.; Johnson, I. T. *Proc. Nutr. Soc.* **2002**, *61*, 97.

¹⁸⁵Brusselmans, K.; Vrolix, R.; Verhoeven, G.; Swinnen, J. V. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 5636.

¹⁸⁶Amić, D.; Davidović-Amić, D.; Bešlo, D.; Trinajstić, N. *Croat. Chem. Acta.* **2003**, *76*, 55.

¹⁸⁷Sabu, M. C.; Smitha, K.; Kuttan, R. *J. Ethnopharmacol.* **2002**, *83*, 109.

V. 3.1. Glycémie : stabilité et régulation

La régulation de la glycémie est une fonction importante de notre organisme. Dans les conditions physiologiques normales, le taux de glucose dans le sang que l'on appelle glycémie, pour les individus en bonne santé, auront une glycémie normale autour de 0,7 à 1,1g/l. Lorsqu'il est supérieur à 1,26 g/l, on parle d'hyperglycémie. À l'inverse, lorsque la glycémie est trop basse, inférieure à 0,7 g/l, on parle d'hypoglycémie.¹⁸⁸

V. 3.2. Classification du diabète

V. 3.2.1. Diabète de type I

Le diabète de type 1 est la conséquence de la destruction des cellules β due à une maladie auto-immune. Ces cellules pancréatiques sont détruites partiellement ou entièrement, qui se caractérise par la présence importante dans le sang d'au moins un des quatre auto-anticorps du diabète : anti-îlot (ICA), anti-insuline (IAA), anti-décarboxylase de l'acide glutamique (GAD) ou anti-tyrosine phosphatase membranaire (IA2), ce qui entraîne une carence en insuline absolue et définitive responsable de l'apparition d'une hyperglycémie chronique permanente.¹⁸⁹

Le diabète de type I nécessite un traitement exclusivement basé sur la prise régulière d'insuline par le patient, d'où sont nom de diabète insulino-dépendant (DID).

V. 3.2.2. Diabète de type II

Ce type de diabète est dit insulino-résistant, car il se caractérise par la résistance de l'organisme à l'action de l'insuline.

Le diabète de type II est traité par des mesures hygiéno-diététiques (un régime adapté pauvre en sucre et par une réduction de charge pondérale grasse), mais aussi parfois par des mesures thérapeutiques, par la prise d'antidiabétiques oraux, voire éventuellement une insulinothérapie. Cette forme de diabète représente près de 90 % des diabétiques.¹⁹⁰

¹⁸⁸Beardsall, K.; Diderholm, B. M.; Dunger, D. B. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **2008**, *22*, 4.

¹⁸⁹Atkinson, M. A.; Eisenbarth, G. S.; Michels, A. W. *Lancet.* **2014**, *383*, 69.

¹⁹⁰Dabelea, D.; Mayer-Davis, E. J.; Saydah, S.; Imperatore, G.; Linder, B.; Divers, J.; Bell, R.; Badaru, A.; Talton, J. W.; Crume, T.; Liese, A. D.; Merchant, A. T.; Lawrence, J. M.; Reynolds, K.; Dolan, L.; Liu, L. L.; Hamman, R. F. *J.A.M.A.* **2014**, *311*, 1778.

Devant l'augmentation considérable de la prévalence du diabète et les effets secondaires des médicaments antidiabétiques, de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique des plantes traditionnelles et donc leur intérêt en médecine traditionnelle.

VI. Conclusion

La médecine traditionnelle est pratiquée depuis l'origine de l'humanité, c'est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques, qui reposent sur les théories, et expériences propres des êtres humains, qui sont par tâtonnements successifs ont peu à peu trouvé des moyens de soulager la douleur, prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales.

Les plantes médicinales jouent un rôle important dans le système d'hygiène, elles représentent justement un composant axial dans les médicaments traditionnels ou synthétiques, Ils comprennent les matières végétales brutes des parties aériennes ou souterraines d'une plante, la matière première extraite de la plante est obtenue sous forme de sucs, gommés, huiles essentielles, résines ou poudres. Ces matières sont préparées selon divers procédés et méthodes d'extractions, telles que la macération, la décoction, la diffusion, l'entraînement à la vapeur, le Soxhlet

Dans une logique de stratégie des études des plantes médicinales ; la valorisation ne s'arrête pas uniquement au niveau des connaissances ethnopharmacologiques et biologiques des plantes, mais l'étude phytochimique est obligatoire pour cerner l'ensemble des informations nécessaires à la valorisation. L'isolement des composés naturels actifs est basé sur la combinaison de méthodes chromatographiques. La détermination structurale est obtenue grâce à l'utilisation de techniques physico-chimiques et spectroscopiques, telles que la spectrométrie de masse, la RMN, HPLC/MS. L'IR, l'UV

Dans ce contexte, notre plante médicinale *Bombax buonopozense* a été choisie, d'une part, en fonction de son emploi traditionnel très fréquent en Afrique, mais d'une autre part, à cause de l'insuffisance d'études scientifiques complètes surtout sur le plan chimique.

Chapitre II.

Matériels et méthodes

I. Étude phytochimique

I. 1. Matériel végétal

Bombax buonopozense a été récoltée de la région de Nkolbisson (région centrale du Cameroun). La partie utilisée dans cette étude est l'écorce de la tige, elle est séchée à l'ombre et à température ambiante (à l'abri du soleil), puis broyées pour obtenir une fine poudre, de couleur marron, et qui est utilisée par la suite pour la préparation de l'extrait.

Nous avons déterminé les rendements en extrait sec par la relation suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (M1/ M2) \times 100$$

M1 : Masse de l'extrait obtenu

M2 : Masse de la matière végétale avant extraction

I. 2. Extraction

Deux types d'extraction ont été réalisés : l'extraction par décoction pendant 1heure, et l'extraction par macération sous agitation pendant 48 heures.

Au cours de cette étude, quatre solvants d'extraction de polarité croissante sont employés (hexane, acétate d'éthyle, éthanol et l'eau).

I. 2.1. Décoction

L'extrait total aqueux de l'écorce de la tige de *Bombax buonopozense* par décoction a été préparé, en suivant une méthode de décoction préconisée en médecine traditionnelle.¹⁹¹

La méthode d'extraction par décoction a été adaptée à celle utilisée par Azzi et *al.*¹⁹²

Dans ce protocole, on introduit 10g de la poudre de l'écorce dans 100 ml d'eau distillée un ballon à triple col de 250 ml, menu d'un réfrigérant, et maintenu à reflux

¹⁹¹Konkon, N. G.; Simaga, D.; Adjoungova, A. L.; N'guessan, K. E.; Zirihi, G. N.; Koné, B. D. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* **2006**, *15*,73.

¹⁹²Azzi, R. Thèse de Doctorat. Université Abou BekrBelkaid -Tlemcen. **2012**.

pendant une heure. Après refroidissement, le mélange est filtré sur du papier filtre et le filtrat obtenu est évaporée, en donnant un extrait total aqueux solide de couleur marron.

I. 2.2 Macération

Afin de faire une analyse phytochimique comparative, des différents groupes chimiques de l'extrait en poudre de l'écorce, on a choisi la méthode de macération avec différentes polarités (eau, éthanol, acétate d'éthyle et hexane). Ces différents extraits ont été obtenus selon une méthode adaptée à celle de Zihiri et *al.*¹⁹³ Dans ce protocole d'extraction, 25g de la poudre d'écorce étaient soumis à une macération avec agitation magnétique pendant 48 heures dans 1.25 L de solvant. Le mélange a été filtré sur un papier filtre et le filtrat a été évaporé. L'extrait total a été obtenu sous forme de solide marron.

I. 3. Analyses phytochimiques

Les analyses phytochimiques sont des analyses qualitatives/quantitatives des groupes chimiques de la plante, basées sur des réactions de coloration et/ou de précipitation.¹⁹⁴

I. 3.1. Alcaloïdes

Le test est réalisé par des réactions de précipitation avec les réactifs de Dragendorff, pour cela ; on place 1 ml de l'extrait à analyser dans un tube à essai et on ajoute 5 gouttes du réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité de coloration orangée révèle la présence d'alcaloïdes.¹⁹⁵

I. 3.2. Substances polyphénoliques

I. 3.2.1. Tanins

Dans un tube à essai, on introduit 5 ml de l'extrait à analyser et ajoute 1 ml de la solution aqueuse de FeCl₃ à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.¹⁹⁶

¹⁹³Zihiri, G. N. Thèse de Doctorat d'état. Université de Cocody-Abidjan. **2006**.

¹⁹⁴Klotoé, J. R.; Dougnon, T. V.; Sacramento, T. I.; Dandjesso, C.; Eдорh, A. P.; Koudokpon, H.; Fanou, V. B. A.; Atègbo, J. M.; Loko, F.; Dramane, K. *J. appl. pharm. sci.* **2012**, 2, 66.

¹⁹⁵ Atkinson, M. A. ; Eisenbarth, G.S. ; Michels, A. W. *Lancet.* **2014**, 383, 69.

¹⁹⁶Karumi, Y.; Onyeyili, P. A.; Ogugbuaja, V. O. *J. Med. Scien.* **2004**, 4, 179.

I. 3.2.2. Flavonoïdes

1 ml de l'extrait est ajouté à 1 ml d'alcool chlorhydrique et 1 ml d'alcool isoamylique avec quelques copeaux de magnésium.

Si la coloration de la phase surnageante est rose orangée : flavones ; rose violacé : flavonones ; rouge : flavonols ou flavanonols.¹⁹⁷

I. 3.2.3. Saponines: Indice de mousse

10 ml de l'extrait sont agités pendant 15 secondes, puis laissés au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, si supérieure à 1 cm, il indique la présence de saponines.¹⁹⁶

I. 3.2.4. Coumarines

5 ml de l'extrait sont évaporés à sec. Le résidu est dissout dans l'eau chaude (2 ml). Le mélange est partagé dans deux tubes. On ajoute à un des tubes 0,5 ml NH₄OH 25%. Une goutte de chaque tube est prélevée, puis déposée sur un papier filtre et observée sous la lumière UV à 365 nm. Une fluorescence intense est observée pour le tube contenant le NH₄OH.¹⁹⁸

I. 4. Stérols et triterpènes

5 ml de l'extrait sont évaporés à sec. Le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de H₂SO₄ concentré. L'apparition à l'interphase d'un anneau violet indique la présence des Stérols et triterpènes.¹⁹⁹

I. 5. Composés réducteurs

On introduit 2 ml d'extrait dans un tube, puis on ajoute 2 ml de liqueur de Fehling. L'ensemble est incubé pendant 8 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.²⁰⁰

¹⁹⁷N'Guessan, K.; Kadja, B.; Zirihi, G.; Traoré, D.; Aké-Assi, L. *Sci. Nat.* **2009**, *6*, 1.

¹⁹⁸Bruneton, J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *France : Tech & Doc-Lavoisier* **1999**.

¹⁹⁹Edeoga, H. O.; Okwu, D. E.; Mbaebie, B. O. *Afric. J. Biotech.* **2005**, *4*, 685.

²⁰⁰Cai, L. Y.; Shi, F. X.; Gao, X. *J. Med. Plants. Res.* **2011**, *5*, 4059.

II. Dosage phytochimique des extraits

II. 1. Dosage des polyphénols totaux

a. Principe

Les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits sont déterminées selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Ce réactif est réduit par l'oxydation provoquée par les composés phénoliques, en donnant un mélange de couleur bleu. L'intensité de cette coloration est directement proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés.²⁰¹

b. Mode opératoire

Un volume de 0,5 ml de la solution d'extrait à la concentration de 1 mg/ml est introduit dans des tubes à essais et 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau distillée) ont été additionnés. Le mélange est agité à l'aide d'un vortex. Ensuite 4 ml de Na_2CO_3 7,5% (m/v) sont ajoutés, ensuite incubé dans un bain mari à 45°C pendant 30 minutes. L'intensité de la coloration bleue produite a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre, à la longueur d'onde 765 nm.

La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée par un standard étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations (0,487 ; 0,975 ; 1,95 ; 3,9 ; 7,81 ; 15,625; 31,25 μ g/ml), dans les mêmes conditions que les extraits.

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 1 gramme d'extrait (mg EAG/1 g Ex), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

$$Y = 0,0104X + 0,0204 ; R^2 = 0,998$$

²⁰¹Boizot, N.; Charpentier, J. P. *Cah. techn. I.N.R.A.* **2006**, 79.

II. 2. Dosage des flavonoïdes

a. Principe

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode colorimétrique,²⁰² avec le réactif d'AlCl₃ et NaOH. AlCl₃ forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et NaOH forme un complexe rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

b. Mode opératoire

1 ml de l'extrait (1 mg/ml) et 6,4 ml d'eau distillée et 0,3 ml de la solution de NaNO₂ 5 % (m/v) ont été successivement introduit dans des tubes à essais. Après cinq minutes, 0,3 ml d'AlCl₃ 10 % (m/v) a été ajouté, le mélange a été laissé au repos pendant 6 min. Ensuite 2 ml de NaOH (1M) ont été ajoutés, la solution a été bien mélangée. Puis l'ensemble est incubé à l'abri de la lumière et à la température ambiante pendant 30 minutes. Les absorbances ont été mesurées immédiatement à une longueur d'onde égale à 510 nm.

Les teneurs en flavonoïdes totaux dans chaque extrait sont calculées en se référant à l'équation de régression, la courbe d'étalonnage établie avec le standard étalon la Rutine à différentes concentrations (50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 250 ; 300 ; 350 ; 400 µg/ml), dans les mêmes conditions et en suivant les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents de Rutine par 1 gramme d'extrait (mg ER/g de l'Ex), en utilisant l'équation suivante :

$$Y = 0.001X + 0.056 ; R^2 = 0,9550$$

III. Étude pharmacologique

III. 1. Évaluation de l'activité antioxydante

De nombreux tests ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante d'un extrait. La plupart de ces tests sont basés sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le

²⁰²Dewanto, V.; Xianzhong, W.; Kafui, K. A.; RuiHai, L. *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, *50*, 3010.

milieu réactionnel, et consiste à effectuer le dosage de radicaux libres stables. Dans notre étude, nous avons utilisé trois tests à savoir : le test DPPH, FRAP et ABTS.

III. 1.1. Test au DPPH

a. Principe

C'est d'une méthode simple, rapide et largement utilisée. Elle consiste à effectuer le dosage de radicaux libres stables de DPPH.²⁰³

La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe à 517 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution, en acceptant un atome d'hydrogène.

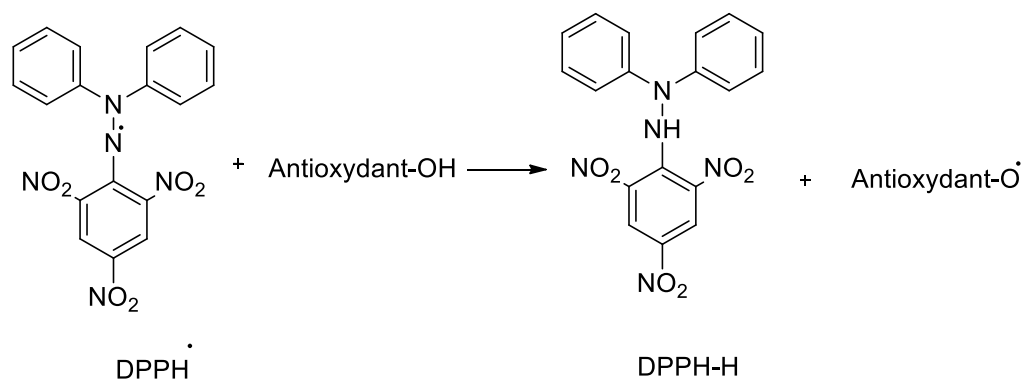


Figure 20: Réduction du du DPPH[•]

b. Mode opératoire

L'évaluation de l'activité antioxydante est réalisée comme suit : une solution méthanolique de DPPH[•] (100 µL, 0,2 mM) a été ajoutée aux solutions méthanoliques de l'extrait de plante et 200 µl de standard à diverses concentrations (800 ; 400 ; 200 ; 100 ; 50 ; 25 ; 12.5 et 6.25 µg/ml). Après incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 517 nm. L'acide ascorbique (vitamine C) a été utilisé comme médicament standard.

²⁰³Limei, Yu.; Mouming, Z.; Jin shui, W.; Chun, C.; Bao, Y.; Yueming, J.; Qiangzhong, Z. *Food. Sci. Emerg. Technol.* **2008**, 9, 122.

L'activité de balayage de l'extrait contre le DPPH stable est expliqué par une décroissance de l'absorbance de la solution méthanolique de DPPH suite à l'agent antioxydant (la vitamine C et /ou l'extrait de plante), cette décroissance est convertie en pourcentage d'activité Scavenger qui correspond au pourcentage d'inhibition, il est calculé selon la formule suivante:

$$I\% = [(AB-AA) / AB] \times 100$$

I% : pourcentage de l'activité antiradicalaire (AAR%)

AB : absorbance de DPPH + méthanol (contrôle négatif)

AA : absorbance de DPPH + essai (extrait ou standard).

Le pourcentage d'inhibition a été calculé et le graphique a été tracé pour déterminer la valeur IC₅₀.

III. 1.2. Test de FRAP

a. Principe

Le test de la réduction du fer est considéré comme un test direct et rapide, utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques.

Le test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est effectué selon la méthode décrite par Oyaizu et *al.*²⁰⁴

Cette méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe³⁺ présent dans le complexe de [K₃Fe(CN)₆] en Fe²⁺, la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du Fe³⁺ en couleur bleu vert du Fe²⁺, l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

²⁰⁴ Oyaizu, M. *Jap. J. Nutr. Diet.* **1986**, *44*, 307.

b. Mode opératoire

1 ml d'extrait a été mélangé avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate de sodium (0,2 M, pH 6.6) et 2,5 ml de la solution aqueuse de $[K_3Fe(CN)_6]$ à 1% (m/v). La solution est incubée dans un bain-marie à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont additionnés au mélange réactionnel. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. Puis 2,5 ml du surnageant a été mélangé avec 2,5 ml de l'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1%. L'absorbance est mesurée à 700 nm.

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de l'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g de l'Ex), en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique:

$$Y = 0.005X + 0.163 ; R^2 = 0,997$$

III. 1.3. Test TEAC

a. Principe

Le test TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity) ou test de décoloration de l'ABTS, est effectué selon la méthode décrite par Tuberoso et *al.*²⁰⁵ Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique $ABTS^{+\cdot}$ de coloration bleu-verte en le transformant en $ABTSH^+$ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant.

Une comparaison est faite avec la capacité du Trolox (analogue structural hydrosoluble de la vitamine E) à capturer $ABTS^{+\cdot}$. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant, reflète la capacité de capture du radical libre, ce qui entraîne la décoloration de la solution.

²⁰⁵Tuberoso, C. I. G.; Rosa, A.; Bifulco, E.; Melis, M. P.; Atzeri, A.; Pirisi, F. M.; Dessì, M. A. *Food. Chem.* **2010**, *123*, 1242.

b. Mode opératoire

Le radical cationique $ABTS^{\cdot+}$ a été produit par la réaction en traitant 10 ml de la solution d'ABTS (2 mM) par 100 μ l de $K_2S_2O_8$ (70 mM). Le mélange a été mis en incubation à l'obscurité pendant 16 heures à température ambiante. La solution $ABTS^{\cdot+}$ a été ensuite diluée avec le méthanol jusqu'à obtenir une absorbance de 0,70 à 734 nm. 200 μ l de l'extrait ont été mélangés avec 2 ml de la solution d' $ABTS^{\cdot+}$ diluée, puis laissés réagir pendant 1 min. L'absorbance du radical $ABTS^{\cdot+}$ est mesurée à 734nm.

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de Trolox par gramme d'extrait (mg ET/g de l'Ex) en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage de Trolox:

$$Y = -0,09982X + 0,5394 ; R^2 = -0,9934$$

III. 2. Évaluation de l'activité cytotoxique (anticancéreuse)

a. Principe

La cytotoxicité cellulaire a été déterminée par le test de réduction du sel de tétrazolium MTT. Ce test colorimétrique est basé sur la capacité de l'enzyme mitochondriale succinate déshydrogénase à réduire le MTT soluble dans l'eau en formazan coloré et insoluble dans les cellules vivantes.

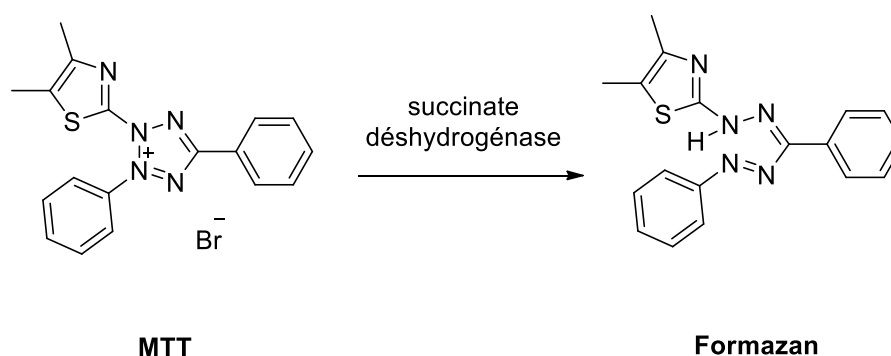


Figure 21: Réduction du MTT

Le test est effectué selon la méthode décrite par Tim Mosmannet et *al*,²⁰⁶ sur les cellules cancéreuses P815, le Cisplatine a été utilisé comme médicament standard.

b. Mode opératoire

Les extraits testé sont solubilisés dans le DMSO, dont les concentrations croissantes (3,12; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 et 200 µg/ml), ils ont été appliqués aux puits contenant la monocouche de cellules confluentes. Le cisplatine comme médicament de contrôle positif, a été ajouté aux mêmes concentrations. Après 48 heures d'incubation, 20 µl de la solution de MTT (5mg/ml dans une solution saline tamponnée au phosphate de potassium) ont été ajoutés. Après incubation dans les mêmes conditions pendant 4 heures, les plaques sont été traitées avec un mélange de HCl/ isopropanol (24 : 1) v/v pour dissoudre le formazan intracellulaire de couleur bleu. 1 heure plus tard, les plaques ont été lues sur un lecteur Micro ELISA, en utilisant la longueur d'onde 540 nm.

L'inhibition relative de la prolifération cellulaire a été calculée par la formule suivante:

$$\% \text{ D'inhibition} = 100 \times (1 - A / A_0)$$

A: absorbance des cellules traitées par l'extrait de plante ou Cisplatine.

A₀: absorbance du contrôle négatif.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé et le graphique a été tracé pour déterminer la valeur IC₅₀.

III. 3. Évaluation de l'activité antidiabétique

Le diabète est caractérisé par une hyperglycémie chronique. Les personnes atteintes cette maladie, présentent une faible tolérance au glucose, et ils ont souvent des taux de glycémie élevés pendant de longues périodes.

L' α -glucosidase et la β -galactosidase sont des enzymes responsables de la dégradation des hydrates de carbone au niveau de l'intestin grêle. Cette dégradation permet

²⁰⁶Mosmann, T. J. *Immunol. Methods*. **1983**, 65, 55.

l'absorption du glucose ce qui augmente la glycémie. De ce fait, l'inhibition de ces enzymes permette une limitation de l'augmentation de la glycémie.²⁰⁷

III. 3.1. Tests in vitro sur l'activité de l' α -glucosidase

a. Principe

L'activité inhibitrice d' α -glucosidase par les différentes concentrations des extraits a été déterminée en utilisant le substrat (pNPG), ce dernier est hydrolysé en alpha-p-glucosidase pour libérer p-nitrophényl (un agent coloré qui peut être dosé à 405 nm). Le test effectué selon la méthode décrite par Kee et al²⁰⁸ avec une certaine modification.

b. Mode opératoire

Différentes concentrations des extraits ont été préparées avec la solution tampon phosphate de sodium (0,1M ; pH 6,7) afin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de l' α -glucosidase. Les concentrations finales utilisées sont 12,5 ; 37,5 et 62,5 μ g/ml.

Un mélange de 125 μ l d'extrait et 150 μ l du tampon phosphate de sodium (0,1M ; pH 6,7) contenant la solution d'enzyme α -glucosidase (0,1 U/ml) a été incubé à 37°C pendant 10 min. Après préincubation, 125 μ l de solution de pNPG (1mM) solubilisé dans la solution tampon de phosphate de sodium (0,1M ; H 6,7) ont été ajoutés. Les mélanges réactionnels ont été incubés à 37°C pendant 30 minutes. Après incubation, on ajoute 600 μ l de Na₂CO₃ (0,1M) ont été additionnés. L'absorbance a été mesuré à 405nm.

L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase a été exprimée en pourcentage d'inhibition, et calculée en utilisant la formule ci-dessous, le graphique a été tracé pour déterminer la valeur IC50. L'acarbose a été utilisée comme témoin positif, suivant les mêmes conditions des extraits.

$$\% \text{ D'inhibition} = ((A_c - A_{cb}) - (A_s - A_{sb})) / (A_c - A_{cb}) \times 100$$

A_c se réfère à l'absorbance de contrôle (enzyme et tampon)

A_{cb} se réfère à l'absorbance de blanc témoin (tampon sans enzyme)

²⁰⁷Goetz, P. *Springer*. 2007, 5, 212.

²⁰⁸Kee, K. T.; Koh, M.; Oong, L. X.; Ken, N. G. *Int. J. Food. Sci. Tech.* 2013, 48, 1884.

A_s se réfère à l'absorbance de l'extrait (enzyme et inhibiteur)

A_{sb} est l'absorbance de l'extrait vierge (inhibiteur sans enzyme)

III. 3.2. Tests in vitro sur l'activité du β -galactosidase

a. Principe

L'activité inhibitrice du β -galactosidase des différentes concentrations des extraits a été déterminée en utilisant le substrat 2-Nitrophényl- β -D-galactopyranoside, qui est hydrolysé par β -galactosidase en autre 2-nitrophényl (un agent coloré qui peut être surveillé à 410 nm), selon la méthode décrite par Ziegler et *al.*²⁰⁹ avec une certaine modification.

b. Mode opératoire

Différentes concentrations des extraits sont préparées dans la solution tampon phosphate (0,1M ; pH 7,6), afin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de β -galactosidase. Les concentrations finales utilisées sont 12,5 ; 37,5 et 62,5 μ g/ml.

Un mélange de 125 μ l de l'extrait aqueux et 150 μ l du tampon phosphate de sodium (0,1M ; pH 7,6) contenant la solution d'enzyme β -galactosidase (0,1 U/ml), a été incubé à 37 °C pendant 10 min. Après la préincubation, 125 μ l de la solution contenant le substrat 2-Nitrophényl- β -D-galactopyranoside (1mM) solubilisé dans la solution tampon de phosphate de sodium (0,1M ; pH 7,6) ont été ajoutés. Les mélanges réactionnels ont été incubés à 37°C pendant 30 minutes. 600 μ l de Na_2CO_3 (0,1M) ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 410 nm en utilisant le spectrophotomètre.

L'activité inhibitrice de la β -galactosidase a été exprimée en pourcentage d'inhibition, elle est calculée par la même formule que celle du test α -glucosidase, et les valeurs IC50 ont été déterminées. La quercétine a été utilisée comme témoin positif.

²⁰⁹ Ziegler, J. ; Facchini, P. J. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **2008**, 59, 735.

IV. Analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse HPLC/MS

a. Définition

La chromatographie est une méthode physique de séparation des constituants d'un mélange. Cette séparation est basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, une phase stationnaire (fixe) et une phase mobile.

b. Principe

Cette méthode basée sur l'entraînement des différents constituants du mélange à séparer en fonction de leurs vitesses d'élution. Les composés sont adsorbés sur la phase fixe, puis désorbés par l'éluant. Les différents constituants du mélange sont récupérés séparément dans plusieurs fractions.²¹⁰

Le mélange à séparer est injecté dans une colonne, et se trouve entraîné par la phase mobile. La séparation des constituants se fait en fonction de plusieurs paramètres, tels que l'affinité du soluté dans l'éluant, la polarité ou la charge électrique. Chaque fraction séparée sera recueillie et identifiée, en se basant sur une comparaison des temps de rétentions (T_R en min) à ceux d'étalons commerciaux élues dans les mêmes conditions.

La chromatographie aboutit à un tracé représentatif de constituant (pic), en fonction de leur temps de rétention à la sortie de la colonne : c'est un chromatogramme qualitatif. Les aires des différents pics permettent de déterminer la concentration de chacun des composés présents dans le mélange étudié.

A la sortie de la colonne, un détecteur qui est un spectromètre de masse caractérise et quantifie chacun des constituants. Les données spectrométrique permettent d'identifier les différents composés du mélange à analyser par comparaison du spectre obtenu à celui contenu dans une bibliothèque de spectres de composés.

²¹⁰ Yost, R. W.; Ettre, L. S.; Conlon, R. D. Practical liquid chromatography. *An introduction*. Perkin-Elmer, U.S.A. **1980**, 255.

Chapitre III.

Résultats et discussion

I. Extraction

Le rendement des extraits de *Bombax buonopozense* par les deux méthodes : décoction et macération, dans de différents solvants, est déterminé par le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = (M1/ M2) \times 100$$

Tableau 13 : Rendement des différents extraits de *Bombax buonopozense*

Espèce	Extraits/ Méthode d'extraction	% Rendement
<i>Bombax buonopozense</i>	Ext1 : Aqueux / (décoction)	11
	Ext2 : Aqueux / (macération)	22
	Ext3 : Ethanolique / (macération)	17,75
	Ext4 : Acétatique / (macération)	6
	Ext5 : Hexanique / (macération)	1,8

L'extraction à chaud par la décoction, et l'extraction à froid par la macération, était dans le but d'observer l'effet de la température sur les principes actifs de la plante, ainsi que l'impact de ces deux différentes méthodes sur le rendement d'extraction.

Les résultats montrent que le rendement de l'extrait aqueux par macération est plus important que celui par décoction est modéré. L'extrait organique dans l'EtOH présente un rendement assez important, comparé avec celui de l'AcOEt et l'hexane qui est faible.

II. Analyses phytochimiques

Nous avons réalisé des tests phytochimiques pour les différents extraits de *Bombax buonopozense*, ces tests qui sont en relation avec l'intensité et la coloration du précipité, à la quantité de substance recherchée. Les résultats du criblage phytochimique de la plante *Bombax buonopozense* sont reportés dans le tableau 14.

Tableau 14: Criblage phytochimique des différents groupes chimiques contenus dans les extraits.

Extraits					
Groupe chimique	Aqueux (décoction)	Aqueux (macération)	Ethanolique (macération)	Acétatique (macération)	Hexanique (macération)
	Ext1	Ext2	Ext3	Ext4	Ext5
Alcaloïdes	-	+++	+++	+	-
Tanins	+++	+++	+++	++	+
Flavonoïdes	+	++	+++	-	-
Coumarines	-	-	-	-	-
Saponines	-	+++	++	+	-
Stérols et triterpènes	+++	+++	+++	+	-
Composés réducteurs	-	-	-	-	-

+++ : Une réaction franchement positive

++ : Une réaction moyennement positive

+ : Une réaction faiblement positive

- : L'absence de la substance

C'est principalement les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les stérols et triterpènes sont détectés dans les extraits aqueux et ethanoliqes obtenus par macération. L'extrait hexanique ne présente que les tanins. Les coumarines et les sucres réducteurs n'étaient pas mis en évidence par le screening phytochimique de tous les extraits.

En effet, l'étude complète du screening phytochimique, met en évidence la présence des composés chimiques possédants des activités biologiques intéressantes, notamment les substances polyphénoliques (tanins et flavonoïdes).

III. Dosage phytochimique des extraits

III. 1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalent de l'acide Gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait), selon l'équation de type $Y=0,0104X + 0,0204$; avec un coefficient de corrélation $R^2= 0,998$. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique montre une linéarité de l'absorbance est fonction des concentrations.

La teneur en polyphénols totaux des extraits de *Bombax buonopozense* est calculée à partir de la droite d'étalonnage de l'acide gallique.

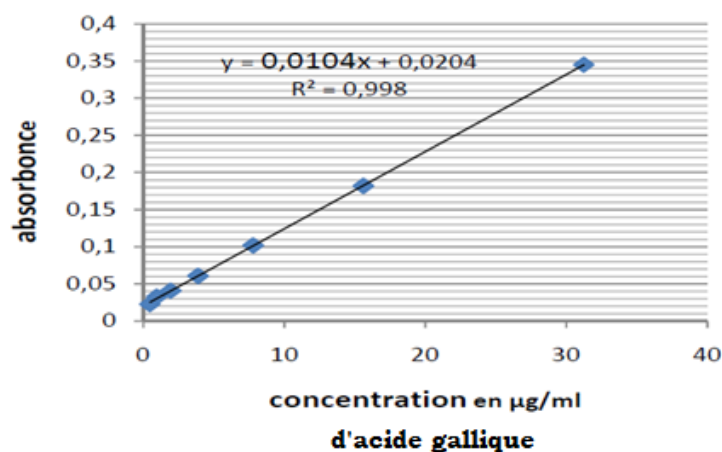


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

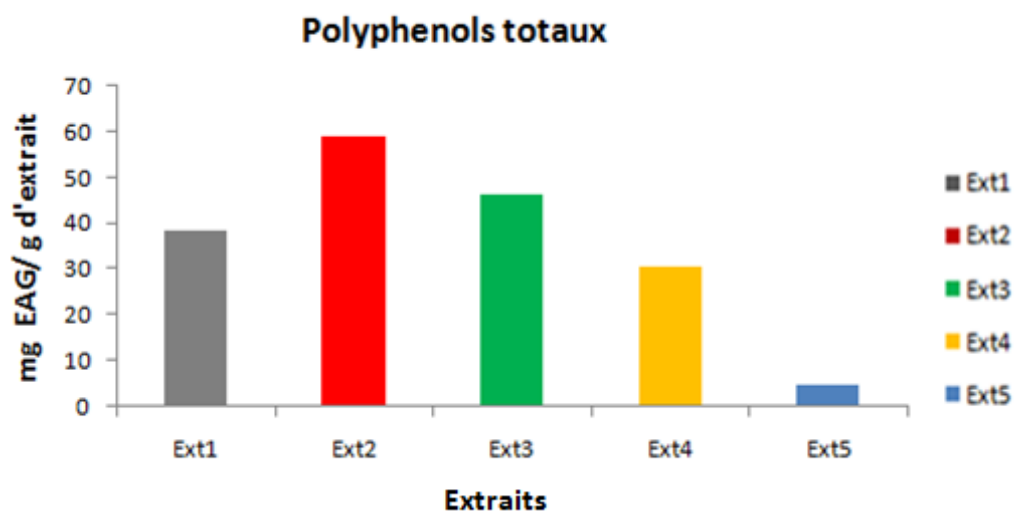


Figure 23 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de *Bombax buonopozense*

Les résultats ont montré que *l'extrait 2* et *l'extrait 3* sont plus riches en polyphénols totaux, avec une teneur de $58,85 \pm 2,22$ mg EAG/g d'extrait et $46,23 \pm 2,04$ mg EAG/g d'extrait respectivement, tandis que *l'extrait 1* contient les polyphénols à moyen taux de $38,55 \pm 0,21$ mg EAG/g d'extrait, proche à celui de *l'extrait 4* qui possède $30,43 \pm 0,51$ mg EAG/g d'extrait. *L'extrait 5* présente une très faible teneur en polyphénols $4,75 \pm 0,77$ mg EAG/g d'extrait.

III. 2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode colorimétrique avec $AlCl_3$, et la Rutine comme étalon. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes d'équivalents de la Rutine par gramme d'extrait (mg ER/g d'extrait).

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été obtenus à partir de la courbe d'étalonnage de la rutine qui suit une équation de type : $Y=0.001X+0.056$; $R^2 = 0,9550$.

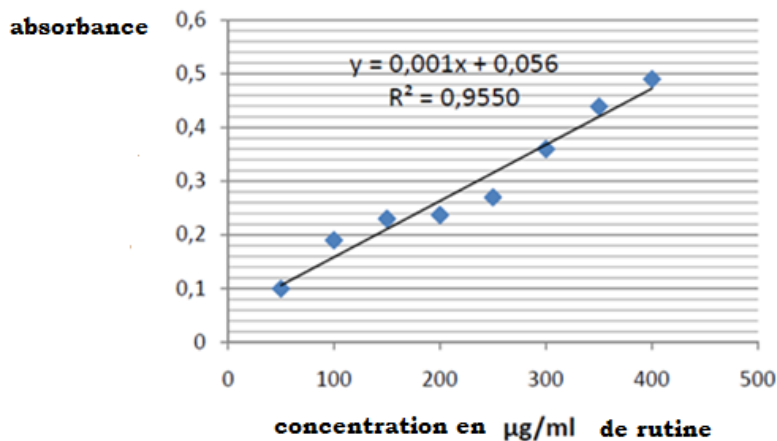


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la rutine

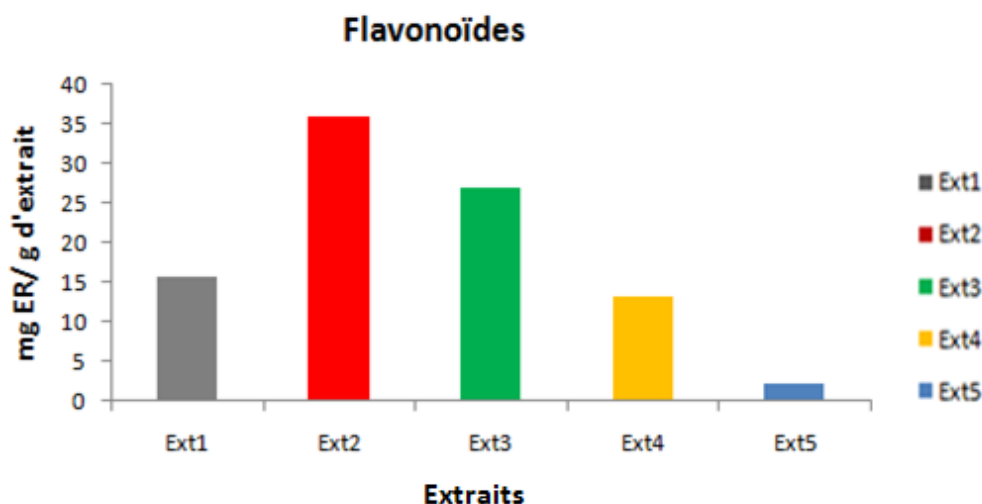


Figure 25 : Teneur en flavonoïdes des extraits de *Bombax buonopozense*

Le test révèle que *l'extrait 2* de *Bombax buonopozense* a une teneur importante en flavonoïdes avec une valeur de $35,98 \pm 1,21$ mg ER/g d'extrait, tandis que celle de *l'extrait 5* n'est que de $2,35 \pm 0,55$ mg ER/g d'extrait (la plus faible teneur). Les autres extraits ont une teneur modérée $27,02 \pm 1,25$ mg ER/g d'extrait (*extrait 3*), $13,18 \pm 1,08$ mg ER/g d'extrait (*extrait 4*) et $15,71 \pm 0,72$ mg ER/g d'extrait (*extrait 1*).

IV. Tests pharmacologiques

IV. 1. Évaluation de l'activité antioxydante

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, le plus souvent, il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires, pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester. Nous avons procédé à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits, avec trois méthodes effectuées *in vitro*, le test au DPPH, le test de FRAP et par ABTS.

IV. 1.1. Piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des extraits vis-à-vis du radical DPPH[•] a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre, il permet de mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres, en suivant sa réduction qui s'accompagne par le passage de la couleur violette (DPPH[•]) à une décoloration partiellement jaune (DPPH-H). La décoloration sera

proportionnelle au nombre de protons captés, elle peut être suivie par la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel à 517 nm.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Bombax buonopozense* par le test de DPPH sont exprimés par le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par chaque concentration d'extrait.

Les figures suivantes montrent l'activité antioxydante de chaque extrait, et exprimée en % d'inhibition du radical DPPH* en fonction de la concentration.

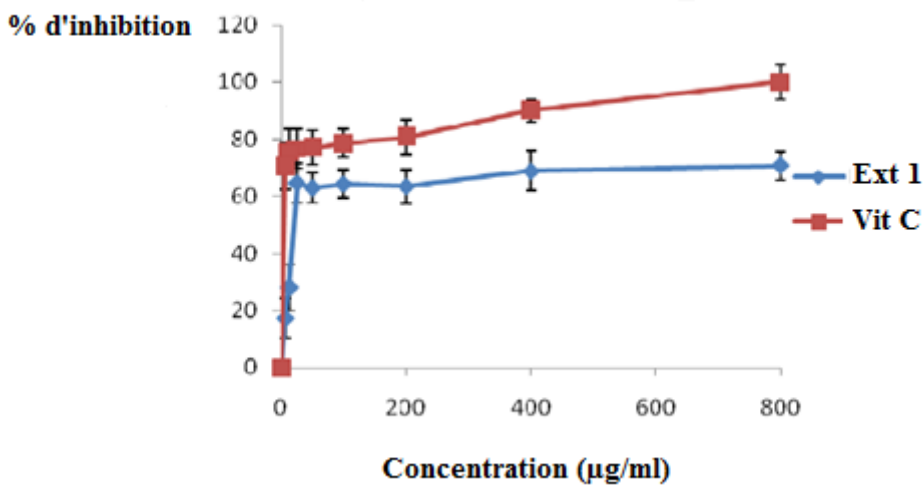


Figure 26 : Activité antioxydante in vitro de l'extrait aqueux (Ext1) de *Bombax buonopozense*

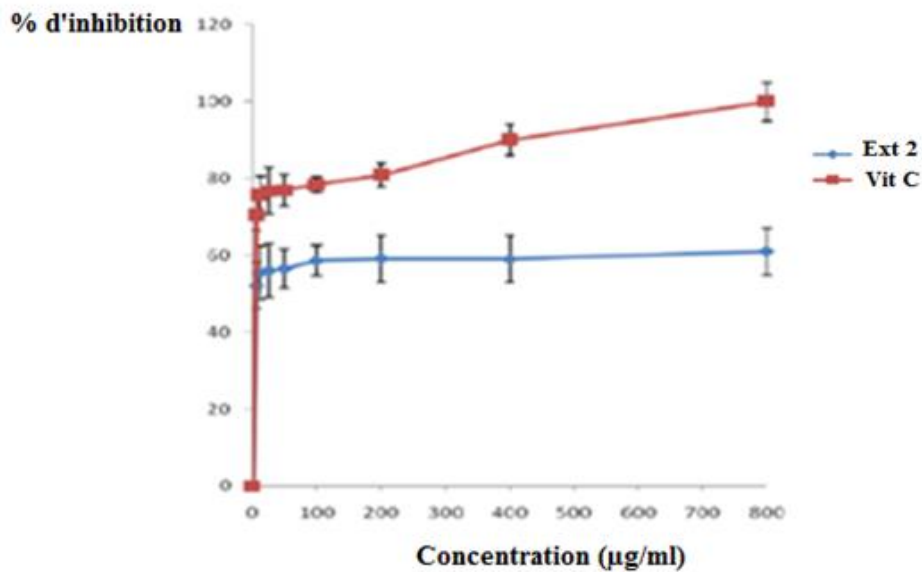


Figure 27 : Activité antioxydante in vitro de l'extrait aqueux (Ext2) de *Bombax buonopozense*

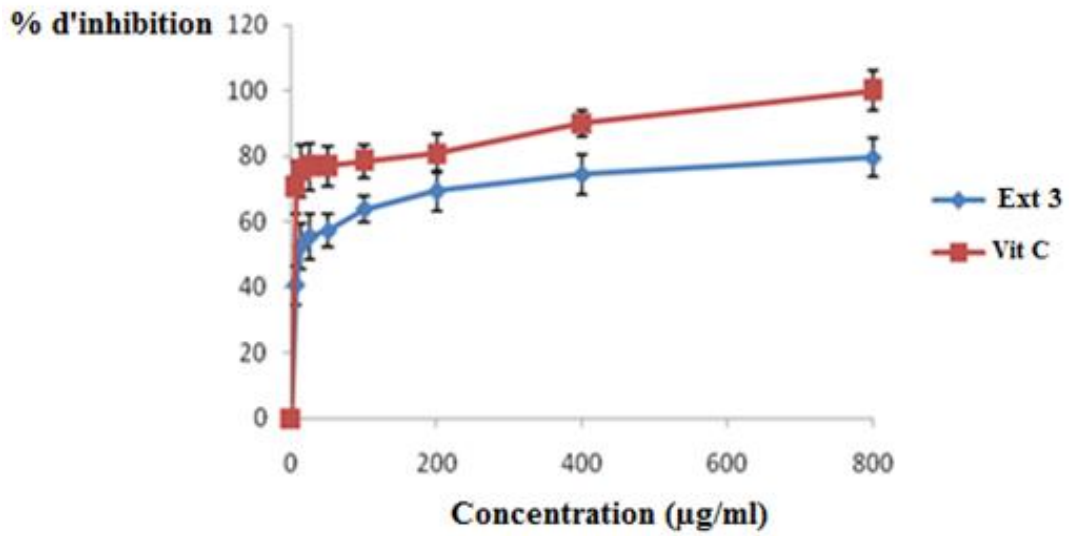


Figure 28: Activité antioxydante in vitro de l'extrait éthanolique (Ext3) de Bombax buonopozense

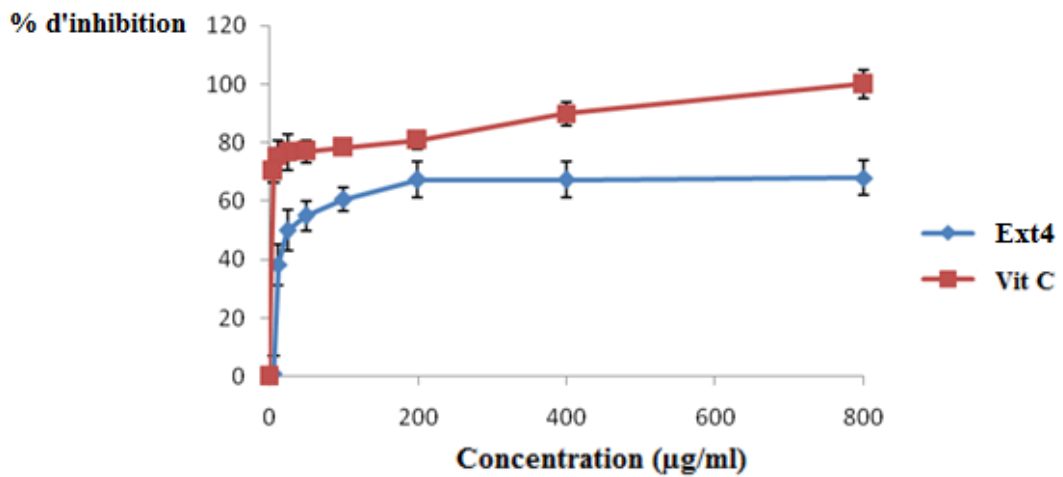


Figure 29 : Activité antioxydante in vitro de l'extrait acétatique (Ext4) de Bombax buonopozense

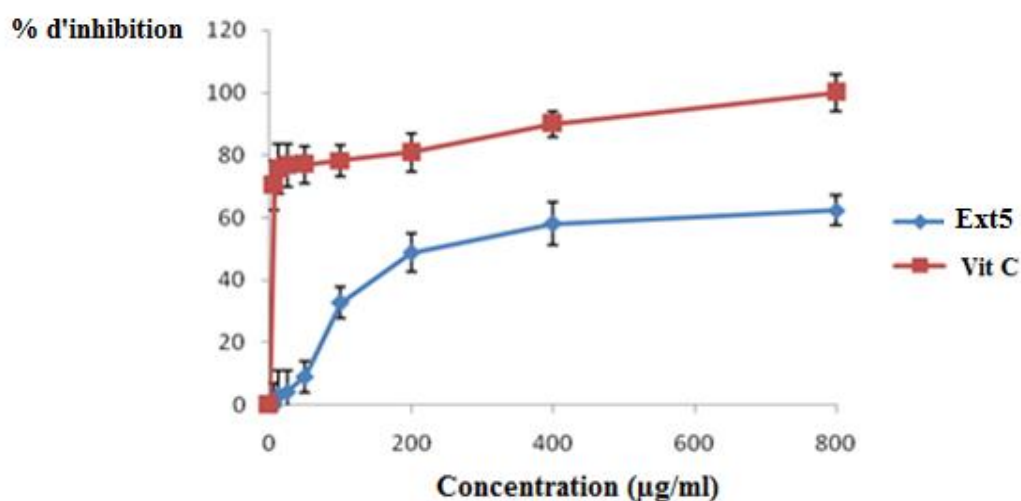


Figure 30 : Activité antioxydante *in vitro* de l'extrait hexanique (Ext5) de *Bombax buonopozense*

D'après les graphes précédents, les résultats de l'inhibition médiane IC_{50} des radicaux DPPH[•] par les extraits de *Bombax buonopozense* sont illustrés dans la figure suivante :

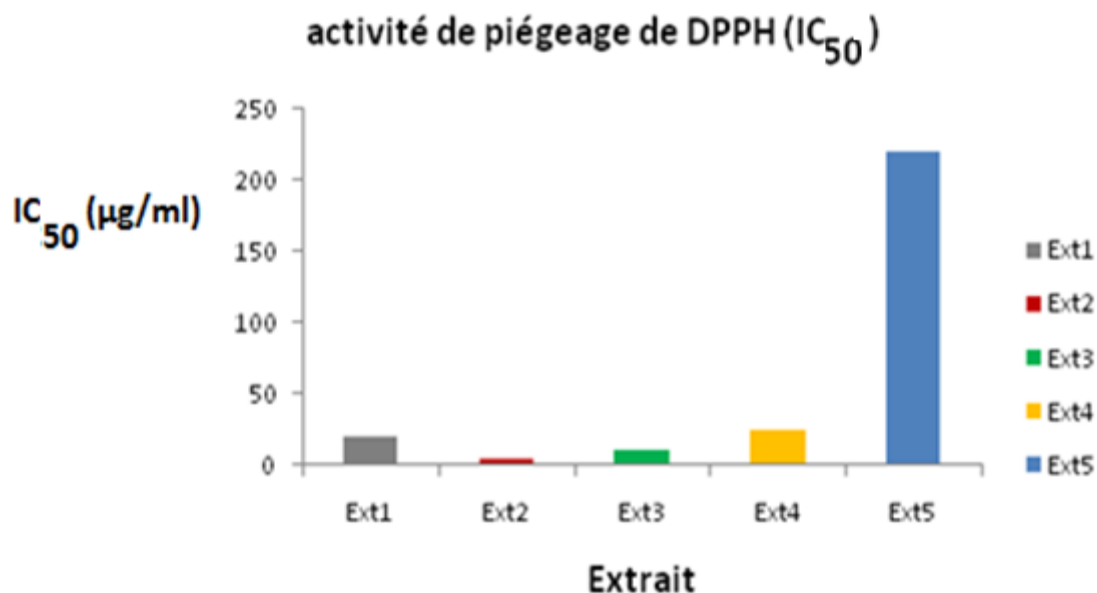


Figure 31 : Pourcentage d'inhibition médiane du radical DPPH[•] par les extraits de *Bombax buonopozense*

Tableau 15 : Activité de piégeage des radicaux DPPH^{*} (IC₅₀) par les différents extraits de *Bombax buonopozense*

Extraits de <i>Bombax buonopozense</i>	Ext1	Ext2	Ext3	Ext4	Ext5	Vit C
IC ₅₀ (µg/ml)	20	5	10	25	220	4,5

Les résultats des extraits de la plante avec la vitamine C ont révélé une inhibition antiradicalaire différente et spécifique à chaque extrait (Figure 26-30). Cette inhibition est dépendante de la dose. La courbe concentration / % d'inhibition de l'activité des radicaux DPPH^{*} de l'extrait 2 montre un effet réducteur plus élevé avec IC₅₀ = 5 µg/ml, et proche de celle de la vitamine C : IC₅₀ = 4,5 µg/ml. L'extrait 3 présente une activité importante avec IC₅₀ = 10 µg/ml. Les extraits 1 et 4 présentent une IC₅₀ moyenne, IC₅₀ = 20 µg/ml et IC₅₀ = 25 µg/ml respectivement. Seul l'extrait 5 qui montre une faible activité antiradicalaire avec IC₅₀ = 220 µg/ml.

Selon les résultats ci-dessus, l'étude a montré que les extraits 2 et 3 obtenus par macération ont un excellent effet réducteur des radicaux de DPPH^{*}, et ils pourraient donc constituer une source potentielle de substances antiradicalaires, comparés avec les extraits 4 et 5 qui présentent une faible activité antiradicalaire, cela peut être expliqué par le degré de polarité des solvants utilisés dans l'extraction, de telle façon, l'eau et l'EtOH ayant une polarité élevée servent à extraire la majorité des principes actifs de la plante, surtout les flavonoïdes et les tanins qui sont responsables de l'activité antioxydante.

En outre, bien que l'extrait 1 obtenu par décoction présente une activité antiradicalaire moyennement importante, par rapport à celle obtenue par macération (Extrait 2), on peut expliquer ces résultats par la différence des méthodes d'extraction, la macération à froid reste la meilleure méthode d'extraction et de protection des substances actives. En effet, les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes et les saponines ont été mis en évidence dans l'Extrait 2 plus que dans l'Extrait 1 (tableau 14).

IV. 1.2. Test de FRAP

L'analyse de l'activité antioxydante de nos extraits est effectuée également par le test FRAP, qui évalue la réduction du fer, en présence d'un antioxydant.

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en mg EAA/g d'extrait, elle a été obtenue à partir la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique, qui suit une équation de type $Y = 0,005X + 0,163$; $R^2 = 0,997$

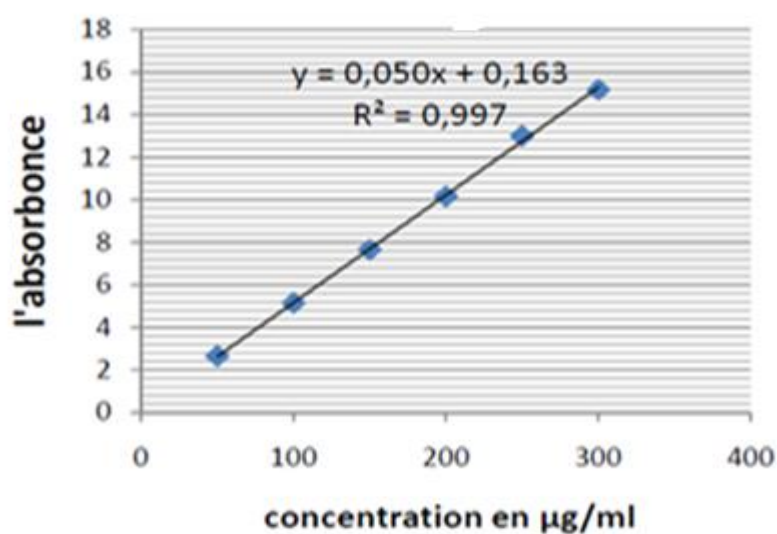


Figure 32 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

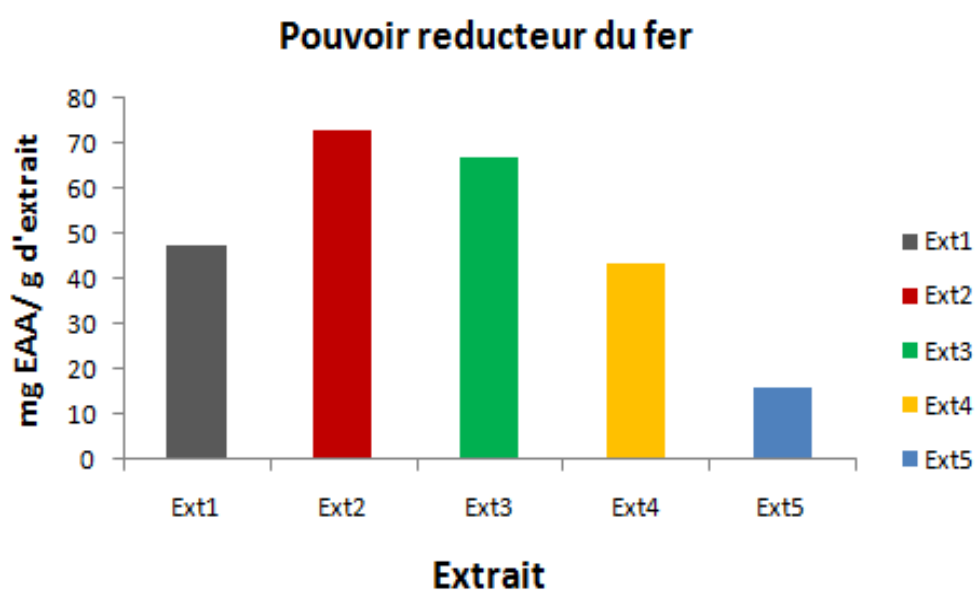


Figure 33 : Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP pour les extraits de *Bombax buonopozense*.

Le test FRAP montre que *l'extrait 2* présente une activité réductrice de $72,66 \pm 3,05$ mg EAA/g d'extrait, *l'extrait 3* présente $66,66 \pm 1$ mg EAA/g d'extrait. Ces résultats montrent clairement que ces deux extraits présentent le pouvoir réducteur de l'ion Fe^{3+} le plus intéressant (le potentiel antioxydant le plus fort), alors que *l'extrait 1* possédant $47,2 \pm 3,41$ mg EAA/g d'extrait et *l'extrait 4* qui a $43,33 \pm 2,61$ mg EAA/g d'extrait présentent un pouvoir réducteur moyennement fort. Comparant ces résultats avec celle de *l'extrait 5*, ce dernier montre un pouvoir réducteur moins fort qui est de $16,06 \pm 0,10$ mg EAA/g d'extrait.

IV. 1.3. Test TEAC

Ce test est basé sur la capacité de l'antioxydant à réduire le radical-cation $ABTS^{+\bullet}$ a été employé en raison de sa simplicité et de sa corrélation avec l'activité biologique des antioxydants.

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en mg ET/g d'extrait, elle a été obtenue à partir la courbe d'étalonnage de Trolox, qui suit une équation de type $Y = -0,09982 X + 0,5394$ avec $R^2 = -0,9934$.

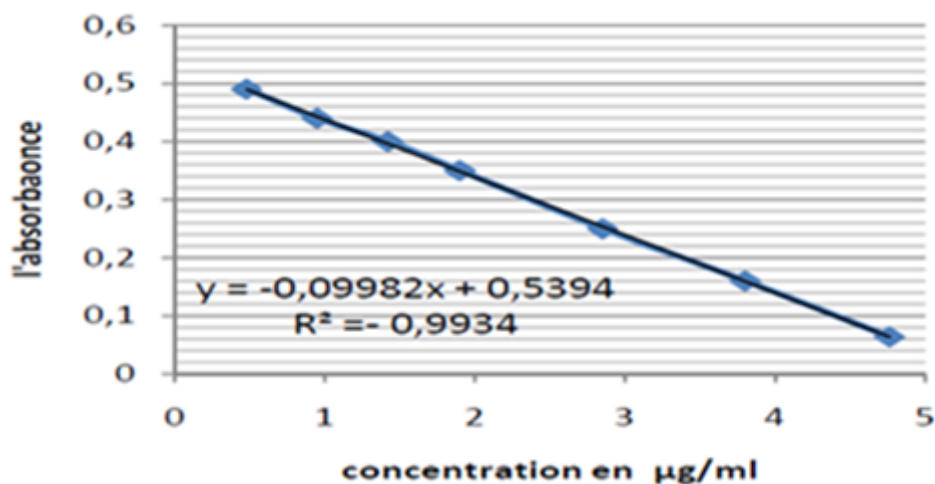


Figure 34 : Courbe d'étalonnage de Trolox

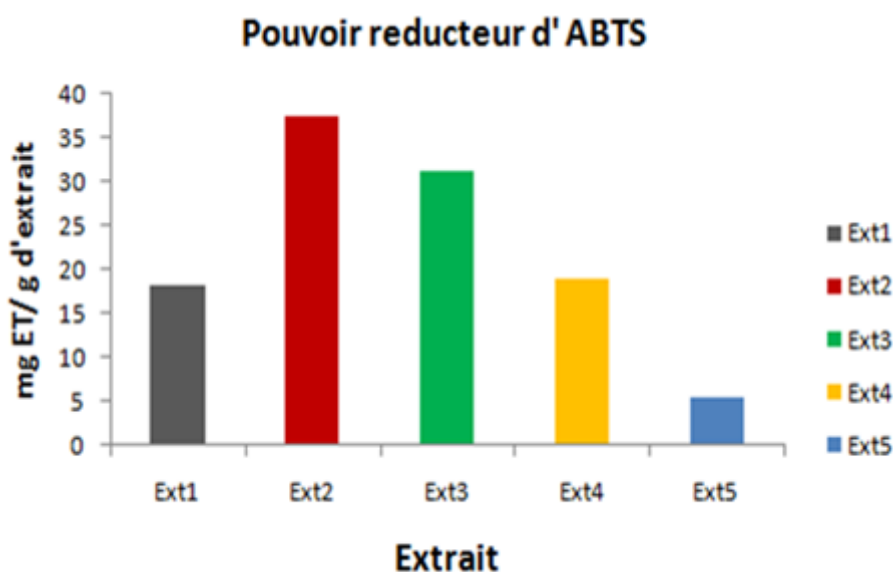


Figure 35 : Évaluation de l'activité antioxydante par le test de l'ABTS pour les extraits de *Bombax buonopozense*

Les résultats de l'activité antioxydante du test de l'ABTS sont $18,2 \pm 1,45$ mg ET/g d'extrait pour l'extrait 1 et $37,41 \pm 1,13$ mg ET/g d'extrait pour l'extrait 2, ce dernier possède le potentiel antioxydant le plus puissant vis-à-vis du radical ABTS, proche à celui de l'extrait 3 qui présente $31,25 \pm 1,69$ mg ET/g d'extrait. L'activité réductrice de l'extrait 4 reste à moyen effet avec $19,02 \pm 0,40$ mg ET/g d'extrait, comparé avec celle de l'extrait 5 qui présente le pouvoir antioxydant le moins puissant vis-à-vis du radical ABTS, avec une activité réductrice de $5,6 \pm 0,63$ mg ET/g d'extrait.

D'après les résultats de l'activité antioxydante réalisée selon les trois tests, nous observons que l'extrait 2 (aqueux) et l'extrait 3 (éthanolique) obtenus par macération présentent dans tous les tests le pouvoir oxydant le plus fort, alors que l'extrait 5 (hexanique) reste faible. En effet, l'analyse phytochimique a montré que ces deux extraits (Ext2 et Ext3) contenaient plus de composés phénoliques : flavonoïdes et tanins (tableau 14), ainsi leur dosage quantitatif confirme qu'ils contiennent les polyphénols totaux, et surtout les flavonoïdes en quantité importante.

Plusieurs études montrent qu'il y a une corrélation linéaire remarquable et significative entre la teneur en polyphénols, dans les extraits méthanoliques et aqueux, et

leur pouvoir piègeur des radicaux libres. L'effet antiradicalaire observé peut donc s'expliquer par la présence de ces composés phénoliques²¹¹.

On conclut que la plante *Bombax buonopozense* a un bon potentiel comme source d'antioxydants naturels, qui pourraient servir d'inhibiteur ou piègeurs des radicaux libres, agissant éventuellement comme antioxydants puissants.

IV. 2. Évaluation de l'activité anticancéreuse

L'extrait 2 (aqueux) a été choisi pour effectuer le test anticancéreux, en raison de son activité antioxydante puissante : IC₅₀ = 5 µg/ml.

L'activité anticancéreuse in vitro a été évaluée à 3,12 ; 6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 µg/ml, contre les cellules tumorales P815. Le résultat est résumé dans la figure 36. La figure 37 montre le résultat de Cisplatine utilisé comme contrôle positif.

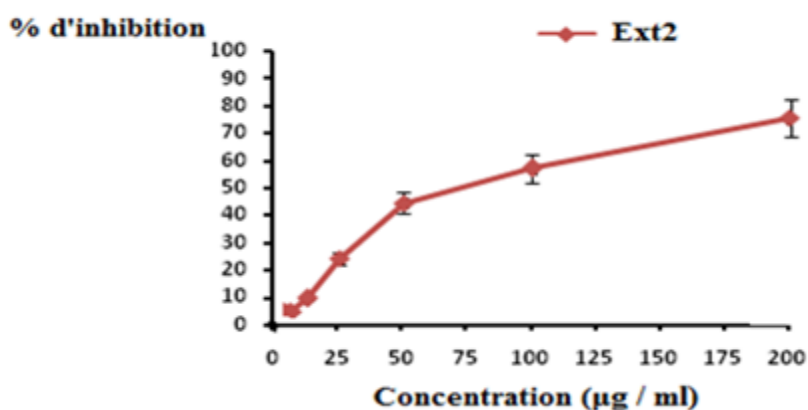


Figure 36 : Activité anticancéreuse in vitro de l'extrait aqueux (Ext2) de *Bombax Buonopozense* contre les cellules P815

²¹¹Yakhlef, G. Mémoire de Biochimie appliquée. Université El Hadj Lakhdar Batna. 2009.

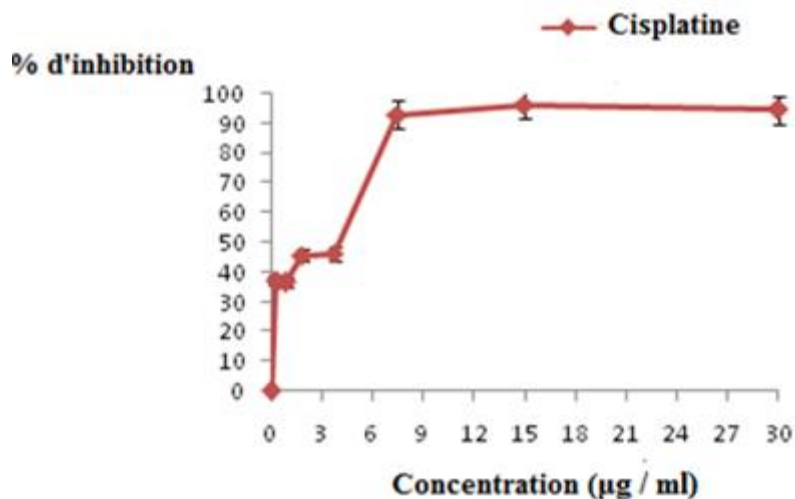


Figure 37 : *Activité anticancéreuse in vitro du Cisplatine contre les cellules P815*

Les résultats d'inhibition médiane IC_{50} de la prolifération cellulaire de la lignée cancéreuse P815, par l'extrait de *Bombax buonopozense* et par le Cisplatine, sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 16 : *Effet inhibiteur sur la prolifération cellulaire de la lignée cancéreuse P815*

	Ext2	Cisplatine
IC_{50} (µg/ml)	74	4

Il apparaît d'après les courbes que l'inhibition de la croissance des cellules tumorales P815 est dépendante de la dose (Figure 36 et 37). On a également observé que l'extrait 2 présente une valeur $IC_{50} = 74\mu\text{g/ml}$, plus élevé par rapport au Cisplatine l' $IC_{50} = 4\mu\text{g/ml}$. Ce dernier considéré comme agent anticancéreux très puissant.

La présence d'alcaloïdes révélés dans l'extrait lors de l'analyse phytochimique, pourrait être à l'origine de l'effet cytotoxique. En effet, de nombreux alcaloïdes notamment la vincristine et vinblastine ainsi que leurs dérivés hémisynthétiques vindésine et vinorelbine possèdent des propriétés anticancéreuses²¹².

²¹²Mann, J. *Nat. Rev. Cancer.* **2002**, 2, 143.

En outre, un extrait peut être une source potentielle de molécules cytotoxiques, lorsqu'elle présente une IC₅₀ inférieure à 30µg/ml²¹³. L'extrait 2 présente une IC₅₀ = 74µg/ml qui est supérieur, mais ce résultat reste acceptable. Après une éventuelle purification, il pourrait faiblement comparé donner certainement de meilleurs résultats.

Ainsi de l'activité cytotoxique des extraits ne dépend pas seulement de la nature de l'extrait et sa composition chimique, mais elle dépend aussi des cellules tumorales cibles. En fait, les mécanismes moléculaires impliqués dans l'activité cytotoxique peuvent être différents d'un type cellulaire à l'autre. Ceux-ci sont confirmés par plusieurs études²¹⁴.

IV. 3. Évaluation de l'activité antidiabétique

L'activité antidiabétique de nos extraits sera évaluée vis-à-vis des enzymes de l'α-glucosidase et la β-galactosidase. Ce sont des enzymes situées dans la membrane de bordure en brosse des cellules intestinales, hydrolysant les oligosaccharides en glucose, qui est alors transporté dans le sang. L'inhibition de l'activité de ces enzymes dans le tube digestif humain retarde l'absorption du glucose, et peut donc constituer une stratégie importante pour la gestion de la glycémie postprandiale chez les patients diabétiques.

Différentes concentrations de nos extraits sont préparées dans la solution tampon de phosphate de potassium, afin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique. Les concentrations finales qui ont été utilisées sont 12,5 ; 37,5 et 62,5 µg/ml.

L'activité inhibitrice des enzymes a été exprimée en pourcentage d'inhibition, puis calculée en utilisant la formule ci-dessous. Le graphique a été tracé pour déterminer la valeur IC₅₀.

$$\% \text{ D'inhibition} = ((A_c - A_{cb}) - (A_s - A_{sb})) / (A_c - A_{cb}) \times 100$$

Dans les mêmes conditions opératoires, l'acarbose a été utilisé comme témoin positif dans le test de l'α-glucosidase et la quercétine dans le test de la β-galactosidase. Leur IC₅₀ ont été évaluées (tableau 17).

²¹³Jhokadze, M.; Eristavi, L.; Kutchukhidze, J.; Chariot, A.; Angenot, L.; Tits, M.; Jansen, O.; Frederich, M. *Phytother. Res.* **2007**, *21*, 622.

²¹⁴Tilaoui, M.; Mouse, A. H.; Jaafari, A.; Aboufatim, R.; Chait, A.; Zyad, A. *J. Pharmacogn.* **2011**, *21*, 781.

Tableau 17 : Les valeurs IC_{50} pour l'inhibition de l' α -glucosidase et de la β -galactosidase par les standards.

IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)		
	α -Glucosidase	β -galactosidase
Acarbose	18,01	—
Quercétine	—	12,90

Les figures ci-dessous montrent l'activité antidiabétique de chaque extrait, elle est exprimée en % d'inhibition de l'enzyme d' α -glucosidase et de la β -galactosidase en fonction de la concentration.

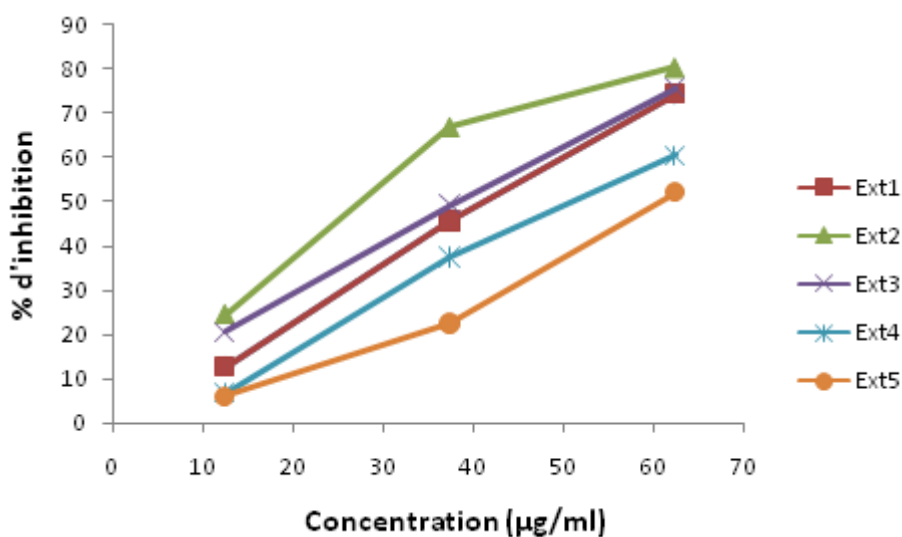


Figure 38 : Évaluation de l'activité antidiabétique des extraits pour l'inhibition de l' α -glucosidase

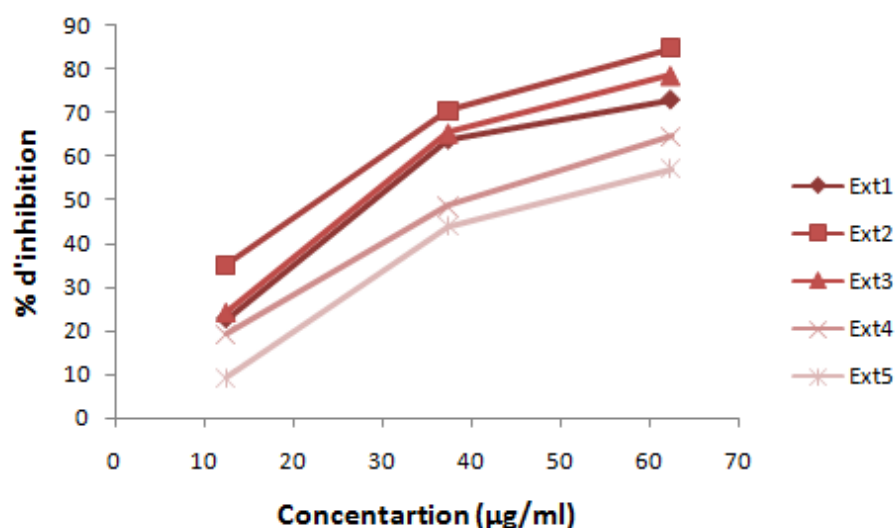


Figure 39 : Évaluation de l'activité antidiabétique des extraits pour l'inhibition de la β -galactosidase.

Les résultats d'inhibition médiane IC_{50} de l'enzyme d' α -glucosidase et de la β -galactosidase par les extraits de *Bombax buonopozense* sont déterminés à partir des graphes, et sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 18: Les valeurs IC_{50} pour l'inhibition de l' α -glucosidase et de la β -galactosidase

Témoin – Extrait	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	
	α -Glucosidase	β -galactosidase
Acarbose	18,01	-----
Quercétine	-----	12,9
Extrait1	42	29,5
Extrait2	28	22,3
Extrait3	38	28
Extrait4	52	40
Extrait5	61	49,5

Les résultats ont révélé que les extraits testés inhibaient l'activité des deux enzymes. En outre, tous les extraits ont montré une activité moins importante que celle des références (acarbose IC_{50} = 18,01 $\mu\text{g/ml}$ et quercétine IC_{50} = 12,9 $\mu\text{g/ml}$).

De même, les extraits ont montré un effet inhibiteur prometteur et dépendant de la concentration sur l'enzyme α -glucosidase. *L'extrait 2* était significativement inhibiteur de l' α -glucosidase avec une meilleure $IC_{50} = 28 \mu\text{g/ml}$, suivi par *l'extrait 3* avec $IC_{50} = 38 \mu\text{g/ml}$, mais pourtant moins que le composé de référence : *acarbose* $IC_{50} = 18,01 \mu\text{g/ml}$.

Sur la même voie, les extraits ont montré un effet inhibiteur acceptable et dépendant aussi de la concentration sur l'enzyme β -galactosidase. Les extraits testés ont présenté un effet inhibiteur de la β -galactosidase, avec plus d'effet pour *l'extrait 2* avec $IC_{50} = 22,3 \mu\text{g/ml}$, suivi par *l'extrait 3* avec $IC_{50} = 28 \mu\text{g/ml}$, mais pourtant moins que le composé de référence : *quercétine* $IC_{50} = 12,9 \mu\text{g/ml}$.

Les effets inhibiteurs importants des *extraits 2 et 3* contre les enzymes α -glucosidase et β -galactosidase argumentent l'hypothèse de leurs capacités potentielles pour réduire l'augmentation postprandiale des taux de glycémie chez les patients diabétiques.

Une corrélation entre les résultats obtenus pour le contenu phénolique total et pour l'inhibition des activités d' α -glucosidase et β -galactosidase, indique que les composés phénoliques présents dans nos extraits peuvent potentiellement être responsables de l'inhibition de l'activité de ces enzymes. Ce n'est pas une découverte inattendue, car les composés phénoliques sont connus par leur capacité à inhiber les activités des enzymes hydrolysantes de glucides. En outre, les flavonoïdes, les différents alcaloïdes et les terpénoïdes identifiés dans ces plantes sont connus par leur potentiel hypoglycémiant.

Par conséquent, la plante *Bombax buonopozense* avec ses capacités inhibitrices contre l' α -glucosidase et la β -galactosidase, peut être un agent thérapeutique efficace pour le contrôle de l'hyperglycémie, et offre une cible attrayante pour découvrir de nouveaux agents pour le traitement du diabète.

Les dosages phytochimiques ont montré que les extraits aqueux de l'écorce de la tige de *Bombax buonopozense* sont plus riches en composés phénoliques et les flavonoïdes. Ainsi qu'ils présentent des meilleures activités pour les tests pharmacologiques effectués. Par la suite, il serait intéressant d'identifier et de quantifier les différents composés présents dans ces extraits aqueux, obtenus par les deux méthodes d'extractions réalisées. En utilisant la méthode d'analyse HPLC/MS.

V. Analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse HPLC/MS

Les figures 40 et 41 montrent les profils des chromatogrammes des deux extraits aqueux, obtenus par les méthodes d'extractions : macération et décoction. Ces analyses sont enregistrées à une longueur d'ondes de 330nm. L'identification puis la quantification des composés présents dans les extraits testés sont faits par comparaison de leurs temps de rétention et des surfaces des pics obtenus avec ceux des étalons.

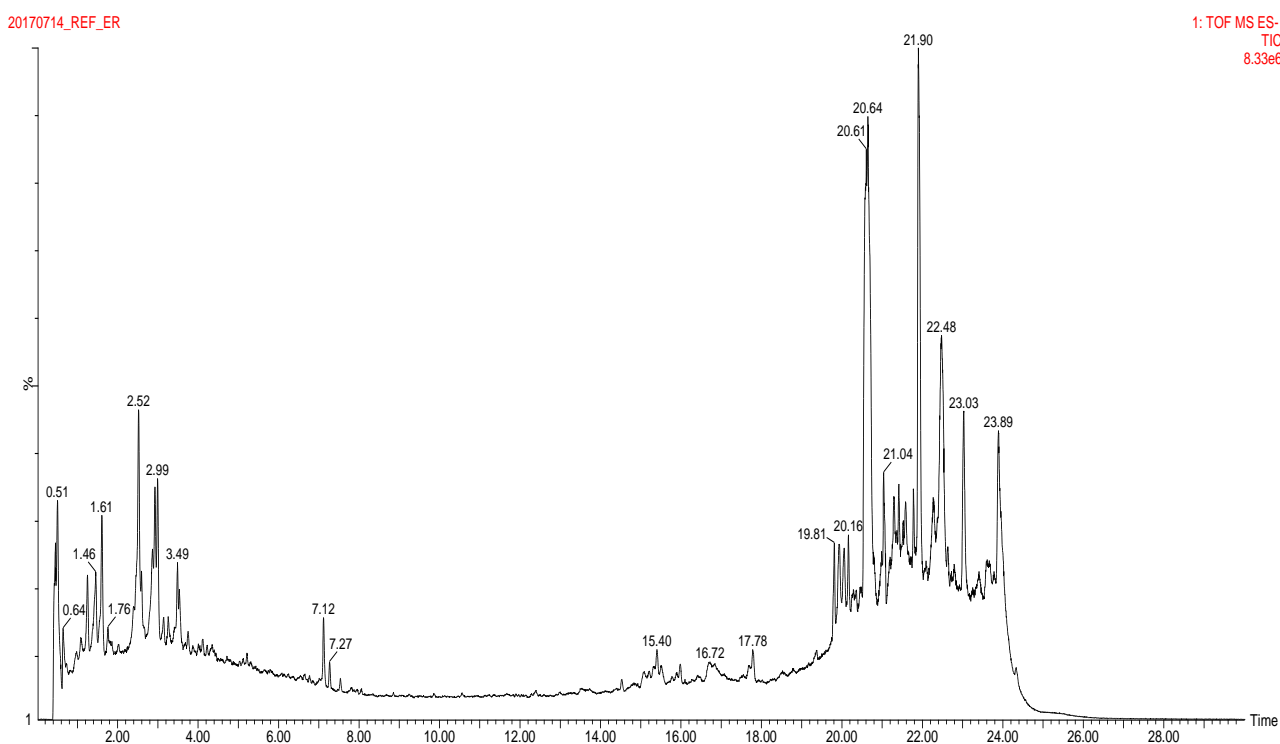


Figure 40 : Profil du chromatogramme HPLC/MS de l'extrait 1 à 330 nm, suite à un criblage sur une colonne de phases stationnaire de type Zorbax SB-C18, la phase mobile est l'acétonitrile dont 0,1% d'acide formique.

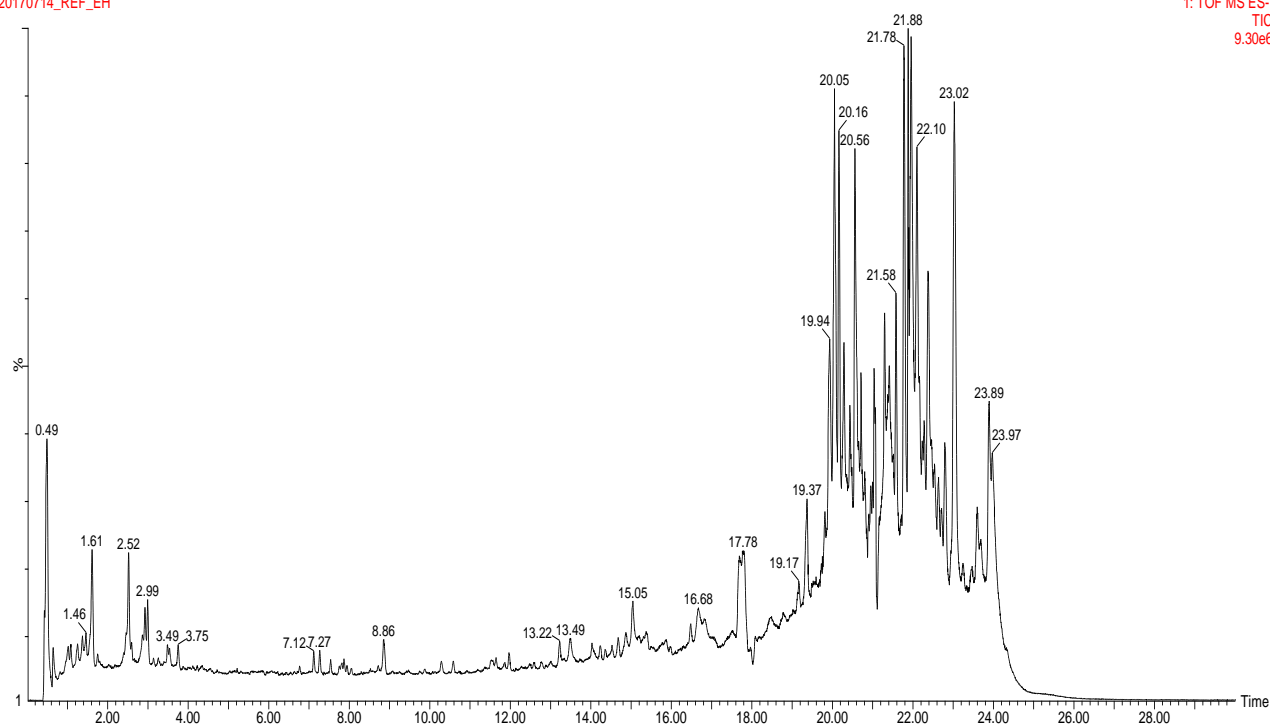


Figure 41 : Profil du chromatogramme HPLC/MS de l'extrait 2 à 330 nm, suite à un criblage sur une colonne de phases stationnaire de type Zorbax SB-C18, la phase mobile est l'acétonitrile dont 0,1% d'acide formique.

Les résultats de l'analyse HPLC/MS des extraits ont révélé la composition chimique illustrée dans les tableaux *ci-dessous*.

Tableau 19 : Les composés détectés dans l'extrait 1

Référence	T _R (min)	Nom du composé	Teneur en mg/kg
1	3,57	Quercétrine	473,8±16,772
2	1,61	Epicatechine	145,778±5,160
3	0,95	Acide 4-hydroxybenzoïque	66,538±2,355
4	1,11	Catéchine	46,434±1,643
5	3,72	Hespéridine	31,619±1,119
6	1,4	Acide vanillique	24,454±0,865
7	2,6	Rutine	12,384±0,438
8	1.29	Acide p-hydroxybenzoïque	12,37± 0,43
9	1,61	Acide 3-hydroxybenzoïque	3,211±0,113
10	1.61	Acide caféique	1,750±0,061

11	1,39	Acide chlorogénique	0,872±0,030
12	3,49	Naringine	0,819±0,028
13	4.34	Acide férulique	0,423±0,014
14	1.68	Acide Syringique	0,359±0,012
15	5,93	Naringinine	0,352±0,012
16	2,18	Acide 4-hydroxycinnamique	0,240±0,008
17	0.64	Acide gallique	0,195±0,006
18	6,22	Kaempférol	0,186±0,006
19	4,99	Quercétine	0,075±0,002
20	2,18	Acide p-coumarique	0,072±0,002
21	5,02	Lutéoline	0,044±0,001
22	3,7	Acide salicylique	0,035±0,000
23	3,62	Acide 2-hydroxycinnamique	0,024±0,000
24	4,75	Resvératrol	0,026±0,000
25	2,56	Acide 3-hydroxycinnamique	0,019±0,00
26	2,87	Acide Sinapique	0,006±0,000

Tableau 20 : Les composés détectés dans l'extrait 2

Référence	T_R (min)	Nom du composé	Teneur en mg/kg
1	1,62	Epicatechine	309,499±10,956
2	1,23	Catéchine	92,205±3,264
3	0,95	Acide 4-hydroxybenzoïque	62,131±2,199
4	1.29	Acide p-hydroxybenzoïque	39,38 ± 1,39
5	1.52	Acide caféique	14,389±0,509
6	3,73	Hespéridine	11,798±0,417
7	1,39	Acide vanillique	9,330±0,330
8	3,56	Quercétrine	7,926±0,280
9	4.33	Acide férulique	6,735±0,238
10	2,59	Rutine	4,938±0,174
11	1,61	acide 3-hydroxybenzoïque	4,211±0,149
12	2,18	Acide 4-hydroxycinnamique	3,722±0,131
13	0.67	Acide gallique	1,592±0,056

14	5,93	Naringinine	1,142±0,040
15	2,18	Acide p-coumarique	1,125±0,039
16	1,39	Acide chlorogénique	0,424±0,015
17	5	Quercétine	0,272±0,009
18	6,22	Kaempférol	0,23±0,008
19	1.68	Acide Syringique	0,22 ±0,011
20	3,48	Naringine	0,082±0,002
21	5,02	Lutéoline	0,059±0,002
22	3,63	Acide 2-hydroxycinnamique	0,055±0,001
23	2,55	Acide 3-hydroxycinnamique	0,047±0,001
24	4,74	Resvératrol	0,025±0,000
25	3,71	Acide salicylique	0,019±0,000
26	2,87	Acide Sinapique	0,002±0,000

L'analyse chromatographique HPLC/MS a révélé une composition phénolique très riche dans les deux extraits, dont les composés majoritaires sont les flavonoïdes (Catéchine, Rutine, Epicatéchine, Hespéridine), et les acides phénoliques (les acides hydroxybenzoïques) sont les très abondants dans la plante.

La présence de ces composés phénoliques en abondance, peut expliquer les résultats pharmacologiques obtenus dans le test antidiabétique, test anticancéreux, et surtout le test antioxydant. Les deux extraits montrent une activité considérable, surtout *l'extrait 2* qui présente le pouvoir le plus important. Cela est forcément dû aux composés phénoliques qui sont responsables de ces activités.

VI. Conclusion

Le présent travail a pour but l'étude phytochimique, biologique et chromatographique de la plante médicinale *Bombax bunopozense*. Elle est choisie sur la base de son usage traditionnel dans les pays africains en voie de développement.

L'objectif était d'apporter des éléments pour la validation de certaines propriétés de la plante étudiée, l'identification phytochimique de leurs principes actifs, et la mise au point des méthodes de dosage et d'évaluation des activités antioxydantes, anticancéreuses et antidiabétiques in-vitro, ainsi que la maîtrise de la technique d'analyse chromatographique HPLC/MS.

L'analyse phytochimique effectuée sur le matériel végétal sec de l'écorce de la tige de la plante, nous a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des stérols et triterpènes.

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont révélé que les extraits aqueux et éthanolique obtenus par macération ont un effet antioxydant vis-à-vis du radical libre DPPH[•], et du radical cation ABTS^{•+}, un pouvoir anticancéreux acceptable ; et un effet inhibiteur intéressant sur l'activité de l'alpha-glucosidase et la beta galactosidase. Cette inhibition est proportionnelle à la concentration de l'extrait, plus on augmente la concentration, plus le pourcentage d'inhibition est important.

Ces résultats permettent de justifier et de confirmer les indications thérapeutiques traditionnelles à base de cette plante. Les préparations aqueuses traditionnelles pouvant être proposées en thérapeutique comme antidiabétiques et antioxydantes, après une confirmation des résultats in vivo, ce qui tend vers l'ouverture des portes pour une utilisation thérapeutique rationnelle voir industrielle.

À la lumière de ces résultats, cette étude avait besoin d'une éventuelle étude chromatographique, (selon la technique HPLC/MS) qui a permis d'identifier les composants majoritaires importants dans cette plante.

Conclusion générale et perspectives

L'objectif affiché au début de cette thèse consiste à inscrire notre travail, au moins partiellement, dans le cadre d'une Chimie thérapeutique. Les travaux réalisés ont pour but de proposer des alternatives vertes à la conception et la synthèse de nouveaux systèmes organiques.

La première partie est consacrée à l'étude d'une problématique actuelle concernant le sélénium : il s'agit d'identifier les facteurs contrôlant le transfert du sélénium dans des plantes destinées à l'alimentation animale et/ou humaine ainsi que de déterminer les modifications métaboliques et les conséquences biologiques et environnementales liées à ce transfert. En effet, le sélénium est un oligo-élément essentiel au métabolisme des mammifères mais avec une gamme de concentrations entre carence et toxicité particulièrement étroite. Cependant, le fait que le sélénium est considéré comme polluant environnemental constitue l'enjeu essentiel.

En effet, la composition du sol, la concentration et la forme du sélénium contenu dans ce sol ainsi que les facteurs intrinsèques de la plante constituent les facteurs majeurs influençant le transfert du sélénium dans la plante.

L'originalité de cette étude est le couplage entre le métabolisme du sélénium par la plante qui donne des molécules organoséléniées biologiquement actives pour l'organisme animal dans le cadre du processus de phytochimie, et en même temps, la décontamination des sols pollués en sélénium. En parlant alors du caractère "Janus" du sélénium qui présente à la fois des fins biologiques et écologiques, et donc l'enjeu actuel de la Chimie verte.

Notre pratique s'appuie sur l'élaboration de nouveaux hétérocycles organoséléniés, par l'utilisation des réactifs électrophile, en donnant des composés, entièrement intéressants.

Pour ces composés organoséléniés, nos perspectives seront d'effectuer les tests pharmacologiques des composés synthétisés. Ainsi, nous envisageons à exploiter l'expertise Italienne et la collaboration du laboratoire de Chimie Organique et Analytique, sous la direction du professeur Mostafa KHOULI à la FST de Béni Mellal et le groupe de Catalyse et de Chimie Organique Verte, Département des Sciences Pharmaceutiques, Université de Pérouse, Italie, sous la direction du professeur Claudio SANTI, afin de lancer

cette chimie de sélénium à Béni Mellal, et qui constitue une chimie intéressante et nouvelle au Maroc.

La deuxième partie concerne le traitement de la plante médicinale *Bombax buonopozense*. La plante qu'est considéré généralement comme élément de base dans le Royaume naturel environnemental. Les résultats de nos recherches bibliographiques et de nos études expérimentales nous ont permis de mieux connaître *Bombax buonopozense* sur le plan chimique qui a permis d'identifier et quantifier la composition chimique de plusieurs extraits obtenus par deux méthodes d'extraction, ainsi, les différentes activités pharmacologiques étudiées à savoir l'activité antioxydante, anticancéreuse et antidiabétique permettant de justifier et de confirmer les indications thérapeutiques traditionnelles à base de cette plante.

La multitude des effets pharmacologiques établie au cours de ce travail, ainsi que la maîtrise de l'identification phytochimique et chromatographique ouvrent les portes pour une utilisation thérapeutique rationnelle voir industrielle, et constitue une base pour d'autres études visant à investiguer les mécanismes d'action ainsi que la synergie en toxicité qu'en pharmacologie.

Ce travail ne s'arrêtera pas à ce stade, car vue la richesse de la plante *Bombax buonopozense* en métabolites secondaires, nous envisageons la purification et la caractérisation de chaque groupe phytochimique, puis, le travail doit s'orienter vers l'étude de ses principes actifs vis-à-vis des activités déjà étudiées, et celle que nous n'avons pas encore testées. Ainsi nous envisageons également l'hémisynthèse de nouvelles molécules à partir de ces composés naturels.

Références bibliographiques

- [1] Achibat, H.; A AlOmari, N.; Messina, F.; Sancineto, L.; Khouili, M.; Santi, C. *Nat. Prod. Commun.* **2015**, *10*, 1885.
- [2] Melanie, L. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie CURIE. Paris. **2012**.
- [3] De Farias, C. R.; Cardoso, B. R.; De Oliveira, G. M. B.; De Mello Guazzelli, I. C.; Catarino, R. M.; Chammas, M. C.; Cozzolino, S. M. F.; Knobel, M. *J. Endocrinol. Invest.* **2015**, *38*, 1065.
- [4] Schwartz, K.; Foltz, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3292.
- [5] Combs, S. B.; Combs, G. F. The role of selenium in nutrition. *Academic Press Inc, New York.* **1986**.
- [6] Germ, M.; Stibil, J. V. *Acta. Agric.* **2007**, *89*, 65.
- [7] Kuznetsov, V. V.; Kholodova, V. P.; Kuznetsov, V. I. V.; Yagodin, B. A. *Dokl. Biol. Sci.* **2003**, *390*, 266.
- [8] Xue, T. L.; Hartikainen, H.; Piironen, V. *Plant Soil.* **2001**, *237*, 55.
- [9] Pennanen, A.; Xue, T.; Hartikainen, H. *J. Appl. Bot.* **2002**, *76*, 66.
- [10] Brown, K. M.; Arthur, J. R. *Public. Health. Nutr.* **2001**, *4*, 593.
- [11] Fordyce, F. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In *Essentials of medical geology.* Elsevier, Amsterdam. **2005**, 373.
- [12] Eapen, S.; D'Souza, S. F. *Biotechnol. Adv.* **2005**, *23*, 97.
- [13] Plant, J. A.; Kinniburgh, D. G.; Smedley, P. L.; Fordyce, F. M.; Klinck, B. A. *Elsevier Pergamon, Oxford.* **2005**, 9,17.
- [14] Huber, R. E.; Criddle, R. S. *Arch. Biochem. Biophys.* **1967**, *122*, 164.
- [15] Jacob, C.; Giles, G. I.; Giles, N. M.; Sies, H. *Angew.Chem. Int .* **2003**, *42*, 4742.
- [16] Sunde, R. A. Selenium. In *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements.* Marcel Dekker, New York. **1997**, 493.
- [17] Rayman, M. P. *The Lancet.* **2000**, 356, 233.
- [18] Allan, C. B.; Lacourciere, G. M.; Stadtman, T. C. *Annu. Rev. Nutr.* **1999**, *19*, 1.
- [19] Diplock, A.T. *Mol. Aspects. Med.* **1994**, *15*, 293.
- [20] Rotruck, J. T.; Pope, A. L.; Ganther, H. E.; Swanson, A. B.; Hafeman, D. G.; Hoekstra, W. G. *Science.* **1973**, *179*, 588.
- [21] Pezzarosa, B.; Petruzelli, G.; Petacco, F.; Malorgio, F.; Ferri, T. *Chemosphere.* **2007**, *67*, 322.
- [22] Maihara, V. A.; Gonzaga, I. B.; Silva, V. L.; Favaro, D. I. T.; Vasconcellos, M. B. A. ; Cozzolino, S. M. F. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2004**, *259*, 465.
- [23] Agata, J. P.; Francesca, M.; Luca, S.; Eder, J. L.; Jacek, S.; Claudio, S. *Curr. Chem. Bio.* **2015**, *9*, 97.
- [24] Drain, P. K.; Kupka, R.; Mugusi, F.; Fawzi, W. W. *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *85*, 333.
- [25] Foster, H. D. *Med. Hypotheses.* **2003**, *60*, 611.
- [26] Ducros, V. ; Favier, A. *EMC. Endocrinologie.* **2004**, *1*, 19.
- [27] Rayman, M. P. *Br. J. Nutr.* **2008**, *100*, 254.
- [28] Combs, G. F. *Br. J. Nutr.* **2001**, *85*, 517.
- [29] Gibson, R. S.; Bailey, K. B.; Ampong Romano, A. B.; Thomson, C. D. *J. Trace. Elem. Med. Biol .* **2011**, *25*, 230.
- [30] Santoro, S.; Azeredo, J. B.; Nascimento, V.; Sancineto, L.; Bragab, A. L.; Santi, C. *RSC. Adv.* **2014**, *4*, 31521.
- [31] Van Vleet, J. F.; Ferrans, V. J. *Biol. Trace. Elem. Res.* **1992**, *33*, 1.
- [32] Wu, L.; Mangem, J. P. V.; Guo, X. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1996**, *31*, 329.
- [33] Adam, C.; Rouelle-Debet, S. Selenium 79 et environnement. *IRSN- Institut de radioprotection et de sûreténucléaire.* **2002**, 2.
- [34] Dietary, Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. *Institute of Medicine (U.S) and Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. National Academies Press, Washington, D.C.* **2000**.
- [35] Monsen, E. R. *J. Am. Diet. Assoc.* **2000**, *100*, 637.
- [36] Ogra, Y.; Anan, Y. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2009**, *24*, 1477.

- [37] Johnson, W. D.; Morrissey, R. L.; Kapetanovic, I.; Crowell, J. A.; McCormick, D. L. *Food Chem. Toxicol.* **2008**, *46*, 1068.
- [38] Batiuelos, G.; Schrale, G. *Calif. agric.* **1989**, 19.
- [39] Melanie, L. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie CURIE. Paris. **2012**.
- [40] Hyun, S.; Burns, P. E.; Murarka, I.; Lee, L. S. *Vadose. Zone. J.* **2006**, *5*, 1110.
- [41] Grieve, C. M.; Poss, J. A.; Suarez, D. L.; Dierig, D. A. *Ind. Crops. Prod.* **2001**, *13*, 57.
- [42] Shanker, A. K. *Plant. Soil.* **2006**, 282, 21.
- [43] Haygarth, P. M. Global importance and global cycling of selenium. In Selenium in the environment. *Marcel Dekker, New York, N.Y.* **1994**, 1.
- [44] Dumont, E.; Vanhaecke, F.; Cornelis, R. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 385, 1304.
- [45] Zayed, A.; Lytle, C. M.; Terry, N. *Planta.* **1998**, 206, 284.
- [46] Lyons, G.; Genc, Y.; Stangoulis, J.; Palmer, L.; Graham, R. *Biol. Trace. Elem. Res.* **2004**, *101*, 155.
- [47] Boualy, B.; El Houssame, S.; Sancineto, L.; Santi, C.; Ait Ali, M.; Stoeckli-Evans, H.; El Firdoussi, L. *New. J. Chem.* **2015**, *1*, 1
- [48] Martens, D. A.; Suarez, D. L. *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 133.
- [49] Hansen, D.; Duda, P. J.; Zayed, A.; Terry, N. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 591.
- [50] Azaizeh, H. A.; Gowthaman, S.; Terry, N.; Zayed, A. M.; de Souza, M. P.; Tarun, A. S. *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *26*, 666.
- [51] Leustek, T. Sulfate metabolism. In The Arabidopsis Book. *Somerville. American Society of Plant Biologists.* **2002**, 1.
- [52] Leustek, T.; Martin, M. N.; Bick, J. A.; Davies, J. P. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **2000**, *51*, 141.
- [53] Ellis, D. R.; Salt, D. E. *Curr. Opin. Plant. Biol.* **2003**, *6*, 273.
- [54] El Mehdawi, A. F.; Lindblom, S. D.; Cappa, J. J.; Fakra, S. C.; Elizabeth, A.; Pilon-Smits, H. *Int. J. Phytoremediation.* **2015**, *17*, 753.
- [55] Yasin, M.; El-Mehdawi, A. F.; Jahn, C. E.; Anwar, A.; Turner, M. F. S.; Faisal, M. *Plant Soil.* **2015**, 386, 385.
- [56] Brown, T. A.; Shrift, A. *Biol. Rev.* **1982**, *57*, 59.
- [57] Parker, D. R.; Page, A.L. Vegetation management strategies for remediation of selenium contaminated soil. In Selenium and the Environment. *Marcel Dekker, New York* **1994**, 327.
- [58] Banuelos, G.; Ajwa, H. A.; Mackey, M.; Wu, L.; Cook, C. *J. Environ. Qual.* **1997**, *26*, 639.
- [59] Pilon-Smits, E. A. H.; Quinn, C. F. Selenium metabolism in plants. In Cell Biology of Metals and Nutrients. In Plant Cell Monographs. *Springer-Verlag, Heidelberg* **2010**, 225.
- [60] Yuan, L.; Zhu, Y.; Lin, Z. Q.; Banuelos, G. L. W.; Yin, X. *PloS. One.* **2013**, *8*, 1.
- [61] Bañuelos, G. S.; Lin, Z. Q.; Wu, L.; Terry, N. *Rev. Environ. Health.* **2002**, *17*, 291.
- [62] Zayed, A. M.; Terry, N. *J. Plant. Physiol.* **1994**, *143*, 8.
- [63] Zhao, F. J.; McGrath, S. P. *Curr. Opin. Plant. Biol.* **2009**, *12*, 373.
- [64] Wu, Z.; Bañuelos, G. S.; Lin, Z. Q.; Liu, Y.; Yuan, L.; Yin, X.; Li, M. *Front. Plant. Sci.* **2015**, *6*, 1.
- [65] Rodrigo, S.; Santamaria, O.; Chen, Y.; McGrath, S. P.; Poblaciones, M. J. *J. Agric. Food. Chem.* **2014**, *62*, 5948.
- [66] Finley, J. W.; Sigrid-Keck, A.; Robbins, R. J.; Hintze, K. J. *J. Nutr.* **2005**, *135*, 1236.
- [67] Hill, J. E.; Linder, M. K.; Davies, K. S.; Sawada, G. A.; Morgan, J.; Ohulchanskyy, T. Y.; Detty, M. R. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8622.
- [68] Kryman, M.W.; Schamerhorn, G. A.; Hill, J. E.; Calitree, B. D.; Davies, K. S.; Linder, M. Ohulchanskyy, T. Y.; Detty, M. R. *Organometallics.* **2014**, *33*, 2628.
- [69] Chouillet, C.; Villain, F.; Kermarec, M.; Lauron-Pernot, H.; Louis, C. *J. Phys. Chem. B.* **2003**, *107*, 3565.
- [70] Mallat, T.; Baiker, A. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3037e.
- [71] Trost, B. M. *Science.* **1991**, *254*, 1471e.
- [72] Eissen, M.; Metzger, J. O.; Schmidt, E.; Schneidewind, U. *Angew. Chem. Int.* **2002**, *41*, 414e.
- [73] Hirashima, S.; Itoh, A. *Green. Chem.* **2007**, *9*, 318e.

- [74] Qiu, S.; Wei, Y.; Liu, G. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 2751e.
- [75] Ekoue-Kovi, K.; Wolf, C. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6302.
- [76] Ming, L.; Rui-Jun, H.; Yan-Guang, W. *Tetrahedron.* **2006**, *62*, 8928.
- [77] Bolm, C.; Magnus, A. S.; Hildebrand, J. P. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1173.
- [78] Dong-Fang, Yu.; Ping, X.; Biao, J. *Tetrahedron.* **2015**, *71*, 4269
- [79] De Sarkar, S.; Studer, A. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1992.
- [80] Shang, W.; Hengchang, M.; Ziqiang, L. *Tetrahedron.* **2010**, *66*, 8641e.
- [81] Keshaba Nanda, P.; Samik, J.; Susovan, M.; JaruguNarasimha, M. *Tetrahedron.* **2012**, *68*, 9763e.
- [82] Tidei, C.; Santi, C. Selenium and “Bio-Logic” Catalysis: New Bioinspired Catalytic Reactions -: in *Organoselenium Chemistry between synthesis and biochemistry. Bentham.* **2013**, 345.
- [83] Santi, C.; Di Lorenzo, R.; Tidei, C.; Bagnoli, L.; Wirth, T. *Tetrahedron.* **2012**, *68*, 10530.
- [84] Tidei, C.; Piroddi, M.; Galli, F.; Santi, C. *Tetrahedron. Lett.* **2012**, *53*, 232.
- [85] Sancineto, L.; Tidei, C.; Bagnoli, L.; Marini, F.; Lenardão, E. J.; Santi, C. *Molecules.* **2015**, *20*, 10496.
- [86] Hach, C. C.; Banques, C. V.; Diehl, H. *Org. Synth.* **1963**, *4*, 229.
- [87] Coxon, J. M.; Dansted, E.; Hartshorn, M. P. *Org. Synth.* **1988**, *6*, 946.
- [88] Weissmehl, K.; Arpe, H. J. *Industr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 1384.
- [89] Parasuraman, K.; SachinArunrao, A.; PrashantNarayan, M.; PundlikRambhau, B.; Senthil, K. *Catal. Commun.* **2012**, *26*, 189.
- [90] Syper, L.; Mlochowsky, J. *Synthesis.* **1984**, *9*, 747.
- [91] Saona, S.; Samik, J.; Jarugu Narasimha, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *12*, 2445.
- [92] Xiao-Mei, Z.; Jiang-Min, C.; Kyle, M.; Viktor, V. Z. *Tetrahedron. Lett.* **2011**, *52*, 5652.
- [93] Ziqiang, L.; Penghua, Y.; Yaoxia, Y. *Catal. Lett.* **2007**, *118*, 69.
- [94] Keshaba, N. P.; Samik, J.; Susovan, M.; Jarugu, N. M. *Tetrahedron.* **2012**, *68*, 9763.
- [95] Patai, S.; Rappoport, Z. *Chemistry in Organoselenium and Tellurium Compounds. John Wiley & Sons, New York* **1987**.
- [96] Paulmier, C. *Selenium Reagents and Intermediates in Organic Synthesis. Pergamon, Oxford* **1985**.
- [97] Wirth, T. *Organoselenium Chemistry. Springer, Berlin* **2000**.
- [98] Jones, D. N.; Mundy, D.; Whitehouse, R. D. *Chem. Commun.* **1970**, 86.
- [99] Stadtman, T. C. *Science.* **1974**, *183*, 915.
- [100] Naithani, R. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2008**, *8*, 657.
- [101] Lamani, D. S.; Bhowmick, D.; Mugesh, G. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7933.
- [102] Campbell, T. O.; Walker, H. G.; Coppinger, G. M. *In Some aspects of the organic chemistry of selenium.* **1951**, 280.
- [103] Bryce, M. R.; Chesney, A. J. *Chem. Soc. chem. Commun.* **1995**, 195.
- [104] Maity, P.; Kundu, D.; Roy, R.; Ranu, B. C. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 4122.
- [105] Schumacher, R. F.; Rosario, A. R.; Leite, M. R.; Zeni, G. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 13059.
- [106] Stein, A. L.; Rocha, J.; Menezes, P. H.; Zeni, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *4*, 705.
- [107] Arsenyan, P.; *Tetrahedron. Lett.* **2014**, *55*, 2527.
- [108] Wang, Y.; Parkin, S. R.; Watson, M. D.; *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4421.
- [109] Messali, M.; Abboudi, M.; Aouad, M. R.; Rezki, N.; Christiaens, L. E. *Org. Chem. Inter.* **2011**, 1.
- [110] Erdelmeier, I.; Tailhan-Lomont, C.; Yadan, G. C. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8152.
- [111] Li, Z.; Sheng, J.; Sun, Y.; Lu, C.; Yan, J.; Liu, A.; Luo, H.; Huang, L.; Li, X. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 9089.
- [112] Elsherbini, M.; Hamama, W. S.; Zoorob, H. H.; Bhowmick, D.; Mugesh, G.; Wirth, T. *Heteroatom. Chem.* **2014**, *25*, 320.
- [113] Balkrishna, S. J.; Bhakuni, B. S.; Kumar, S. *Tetrahedron.* **2011**, *67*, 9565.

- [114] Yoshimatsu, M.; Yamamoto, T.; Sawa, A.; Kato, T.; Tanabe, G.; Muraoka, O. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2952.
- [115] Geisler, K.; Langer, P.; Künzler, A.; Below, H.; Bulka, E.; Pfeiffer, W. D. *Synthesis.* **2004**, *97*, 105.
- [116] Koketsu, M.; Ando, H.; Sasaki, T.; Ishihara, H. *J. Heterocycl. Chem.* **2007**, *44*, 231.
- [117] Labanauskas, L.; Dudutiene, V.; Matulis, D.; Urbelis, G. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2009**, *45*, 1153.
- [118] Bella, M.; Schultz, M.; Milata, V. *Arkivoc.* **2012**, 242.
- [119] McNeil, N. M. R.; Matz, M. C.; Back, T. G. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 10369.
- [120] Asanuma, Y.; Fujiwara, S. I.; Shin-ike, T.; Kambe, N. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4845.
- [121] Amosova, S. V.; Penzik, M. V.; Albanov, A. I.; Potapov, V. A. *Russ. J. Gen. Chem.* **2009**, *79*, 161.
- [122] Nagariya, A. K.; Meena, A. K.; Kiran, A. K.; Niranjana, U. S.; Pathak, A. K.; Singh, B.; Rao, M. M. *J. Phar. Res.* **2010**, *3*, 575.
- [123] Cardillo, G.; Orena, M. *Tetrahedron.* **1990**, *43*, 3321.
- [124] Tiecco, M.; Tingoli, M.; testaferrri, L.; Bagnoli, L.; Santi, C. *Synlett.* **1993**, 798.
- [125] Tiecco, M.; Tingoli, M.; testaferrri, L.; Bagnoli, L.; Santi, C. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 637.
- [126] Tiecco, M.; testaferrri, L.; Tingoli, M.; Bartoli, D.; Balducci, R. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 429.
- [127] Cooper, M. A.; Ward, A. D. *Tetrahedron. Lett.* **1992**, *33*, 5999.
- [128] De Kimpe, N.; Boelens, M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 916.
- [129] Usiki, Y.; Wang, Y.; Aubé, J. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 8028.
- [130] Okigbo, R. N.; Eme, U. E.; Ogbogu, S. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* **2008**, *6*, 127.
- [131] Pifferi, G.; Vitali, R. *Chim. Ind.* **1993**, *75*, 382.
- [132] Paterson, I.; Anderson, E. A. *Science.* **2005**, *310*, 451.
- [133] Lahsissene, H.; Kahouadji, A.; Tijane, M.; Hseini, S. Catalogue des Plantes Médicales Utilisées dans la région de Zaer (Maroc occidental). *Lejeunia, Revue de botanique.* **2009**.
- [134] Mokgolodi, N. C.; Yan, H.; Shi, L.; Yu-jun, L. *For. Stud. China.* **2011**, *13*, 163.
- [135] Millogo, H.; Guisson, I. P.; Nacoulma, O.; Traore, A. S. Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. *Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire, Lyon.* **2005**.
- [136] Carillon, A. Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. *Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales, Djerba.* **2009**.
- [137] Elqaj, M.; Ahami, A.; Belghyti, D. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. *Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques", Maroc* **2007**.
- [138] Lovkova, M.; Buzuk, G. N.; Sokolova, S. M.; Kliment'eva, N. I. *Appl. Biochem. Micro.* **2001**, *37*, 229.
- [139] Hanson, J. R. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1772.
- [140] Schauenberg, P.; Paris, F. Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. *Delachaux et Niestlé.* **2005**.
- [141] Ziegler, J.; Facchini, P. *J. Annu. Rev. Plant. Biol.* **2008**, *59*, 735.
- [142] Urquiaga, I.; Leighton, F. *Biol. Res.* **2000**, *33*, 55.
- [143] Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Bailleul, F. *Phytothér.* **2004**, *1*, 3.
- [144] Martin, S.; Andriantsitohaina, R. *Ann. Cardiol. Angeiol.* **2002**, *51*, 304.
- [145] Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V. Les polyphénols en agroalimentaire. *Lavoisier.* **2006**.
- [146] O'Kennedy, R.; Thomes, R. D. Coumarins: biology, applications and mode of action. *Chichester ; New York : John Wiley & Sons, c.* **1997**.
- [147] Sardari, S.; Mori, Y.; Horita, K.; Mictich, R. G.; Nishibe, S.; Daneshtalab, M. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1933.

- [148] Kwon, Y. S.; Kobayashi, A.; Kajiyama, S. I.; Kawazu, K.; Kanzaki, H.; Kim, C. M. *phytochemistry*. **1997**, *44*, 887.
- [149] Fuller, R.W.; Bokesch, H. R.; Gustafon, K. R.; Mckee, T. C.; Cardellina, J. H.; McMahon, J. B.; Cragg, G. M.; Sojaerto, D.; Boyd, M. R. *Bioorganic. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1961.
- [150] Seliger, B. *Immunol. Today*. **1997**, *10*, 93.
- [151] Erdman, J.; Balentine, J. D.; Arab, L.; Beecher, G.; Dwyer, J. T.; Folts, J.; HarnlyHollman, J. P.; L-Keen, C.; Mazza, G.; Messina, M.; Scalbert, A.; Vita, J.; Williamson, G.; Burrowes, J. *J. Nutr.* **2007**, *137*, 718 s.
- [152] Montoro, P.; Braca, A.; Pizza, C. *Food. Chem.* **2005**, *92*, 349.
- [153] Harbone, J. B.; Williams, C. A. *phytochemistry*. **2000**, *55*, 481.
- [154] Ong, K. C.; Khoo, H. E. *Life. Sci.* **2000**, *67*, 1695.
- [155] Middleton, J.; Kardasami, C. The flavonoids, advanced in research since. *Chapman and Hall, London*. **1993**.
- [156] Barrero, A. F.; Herrador, M. M.; Artega, P.; Cabrera, E.; Rodriguez-Garcia, I.; Garcia-moreno, M.; Gravalos, D. G. *Fitoterapia*. **1997**, *68*, 281.
- [157] Amina, B. Thèse de doctorat national, Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat. **2016**.
- [158] Modolo, L. V.; Reichert, A. I.; Dixon, R. A. Introduction to the Different Classes of Biosynthetic Enzymes. In *Plant-derived Natural Products; Synthesis, Function, and Application*. London, New York, Springer. **2009**.
- [159] Elks, J. Steroid Saponins and Sapogenins. *Elsevier, Amsterdam*. **1971**.
- [160] Denise, G. B. *Actual. bot.* **1989**, *3*, 45.
- [161] Akuodor, G. C.; Mbah, C. C.; Megwas, U. A. *Intern. J. Biol. Chemical Sc.* **2011**, *5*, 1790.
- [162] Beentje, H.; Sara, S. *Syst. Geogr. Plant.* **2001**, *71*, 284.
- [163] Dubost, G. *J. Mammal.* **1984**, *62*, 298.
- [164] Godwin, G. C.; IdrisUsman, M.; Ibrahim, J. A. *Afr. J. Biotechnol.* **2011**, *10*, 3191.
- [165] Godwin, C. A.; Chukwuemeka, C. M.; Uchenna, A. M.; Nwakaego, C. I.; Joseph, L. A.; Benjamin, O. O.; Uche, A. O. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **2011**, *5*, 1790.
- [166] Tom, C. I.; Godwin, C. A.; Augustine, D. E.; Florence, C. N.; Joseph, L. A.; Dorcas, O. O.; Uche, A. O. *East. J. Med.* **2012**, *17*, 72.
- [167] Godwin, C. A.; Augustine, D. E.; Jemilat, A. I.; Augustine, B. ; Joseph, L. A.; Nwakaego, C. I.; Simon, C. O. *Asia. J. Med. Sc.* **2011**, *2*, 190.
- [168] Antonius, G. F.; Kochhar, T. S.; Jarret, R. L.; Syder, J. C. *J. Environ. Sci. Health.* **2006**, *41*, 1237.
- [169] Liu, Q. L.; Chen, A. H.; Tang, J. Y.; Ma, Y. L.; Jiang, Z. H.; Liu, Y. P.; Xu, W. *Nat. Prod. Res.* **2017**, *1*.
- [170] Benelli, G.; Maggi, F.; Petrelli, R.; Canale, A.; Nicoletti, M.; Rakotosaona, R.; Rasoanaivo, P. *Ind. Crops3. Prod.* **2017**, *103*, 19.
- [171] Hijazi, M. A.; Aboul-Ela, M.; Bouhadir, K.; Fatfat, M.; Khalife, H.; Ellakany, A.; Gali-Muhtasib, H. *Recor. Nat. Prod.* **2017**, *11*, 114.
- [172] Mann, A. ; Salawu, F. B.; Abdulrauf, I. *Eur. J. Sci. Res.* **2011**, *48*, 627.
- [173] Nwagba, C. A.; Ezugwu, C. O.; Eze, C. C.; Anowi, F. C.; Ezea, S. C.; Nwakile, C. D. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2013**, *3*, 139.
- [174] Laraoui, H. Mémoire magistère, Université Hadj Lakhdar, BATNA. **2007**.
- [175] Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford.4, ClarendonPress*. **2006**.
- [176] Milane, H. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg. **2004**.
- [177] Yoshikawa, M.; Shimoda, H.; Uemura, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 2071.
- [178] Favier, A. *L'Act. Chim.* **2003**, 108.
- [179] Cadet, J.; Delatour, T.; Douki, T.; Gasparutto, D.; Pouget, J. P.; Ravanat, J. L.; Sauvaigo, S. *Mut. Res.* **1999**, *424*, 9.

- [180] Bani, S.; Kaul, A.; Jaggi, B. S.; Suri, K. A.; Suri, O. P.; Sharma, O. P. *Fitoterapia*. **2000**, *71*, 655.
- [181] Lehucher-Michel, M. P.; Lesgards, J. F.; Delubac, O. *Press. Med.* **2001**, *30*, 1076.
- [182] Pincemail, J.; Meurisse, M.; Limet, R. L.; Defraigne, J. O. *Medi. Sphere*. **1999**, *9*, 29.
- [183] Hertog, M. G. *Proc. Nutr. Soc.* **1996**, *55*, 385.
- [184] Depeint, F.; Gee, J. M.; Williamson, G.; Johson, I. T. *Proc. Nutr. Soc.* **2002**, *61*, 97.
- [185] Brusselmans, K.; Vrolix, R.; Verhoeven, G.; Swinnen, J. V. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 5636.
- [186] Amić, D.; Davidović-Amić, D.; Bešlo, D.; Trinajstić, N. *Croat. Chem. Acta*. **2003**, *76*, 55.
- [187] Sabu, M. C.; Smitha, K.; Kuttan, R. *J. Ethnopharmacol.* **2002**, *83*, 109.
- [188] Beardsall, K.; Diderholm, B. M.; Dunger, D. B. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **2008**, *22*, 4.
- [189] Atkinson, M. A.; Eisenbarth, G. S.; Michels, A. W. *Lancet*. **2014**, *383*, 69.
- [190] Dabelea, D.; Mayer-Davis, E. J.; Saydah, S.; Imperatore, G.; Linder, B.; Divers, J.; Bell, R.; Badaru, A.; Talton, J. W.; Crume, T.; Liese, A. D.; Merchant, A. T.; Lawrence, J. M.; Reynolds, K.; Dolan, L.; Liu, L. L.; Hamman, R. F. *JAMA*. **2014**, *311*, 1778.
- [191] Konkon, N. G.; Simaga, D.; Adjoungova, A. L.; N'guessan, K. E.; Zirihi, G. N.; Koné, B. D. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* **2006**, *15*, 73.
- [192] Azzi, R. Thèse de Doctorat. Université Abou BekrBelkaid -Tlemcen. **2012**.
- [193] Zirihi, G. N. Thèse de Doctorat d'état. Université de Cocody-Abidjan. **2006**.
- [194] Klotoé, J. R.; Dougnon, T. V.; Sacramento, T. I.; Dandjesso, C.; Edoth, A. P.; Koudokpon, H.; Fanou, V. B. A.; Atègbo, J. M.; Loko, F.; Dramane, K. *J. appl. pharm. sci.* **2012**, *2*, 66.
- [195] Atkinson, M. A. ; Eisenbarth, G.S. ; Michels, A. W. *Lancet*. **2014**, *383*, 69.
- [196] Karumi, Y.; Onyeyili, P. A.; Ogugbuaja, V. O. *J. Med. Scien.* **2004**, *4*, 179.
- [197] N'Guessan, K.; Kadja, B.; Zirihi, G.; Traoré, D.; Aké-Assi, L. *Sci. Nat.* **2009**, *6*, 1.
- [198] Bruneton, J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *France : Tech & Doc-Lavoisier* **1999**.
- [199] Edeoga, H. O.; Okwu, D. E.; Mbaebie, B. O. *Afric. J. Biotech.* **2005**, *4*, 685.
- [200] Cai, L. Y.; Shi, F. X.; Gao, X. *J. Med. Plants. Res.* **2011**, *5*, 4059.
- [201] Boizot, N.; Charpentier, J. P. *Cah. techn. I.N.R.A.* **2006**, 79.
- [202] Dewanto, V.; Xianzhong, W.; Kafui, K. A.; RuiHai, L. *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, *50*, 3010.
- [203] Limei, Yu.; Mouming, Z.; Jin shui, W.; Chun, C.; Bao, Y.; Yueming, J.; Qiangzhong, Z. *Food. Sci. Emerg. Technol.* **2008**, *9*, 122.
- [204] Oyaizu, M. *Jap. J. Nutr. Diet.* **1986**, *44*, 307.
- [205] Tuberoso, C. I. G.; Rosa, A.; Bifulco, E.; Melis, M. P.; Atzeri, A.; Pirisi, F. M.; Dessì, M. A. *Food. Chem.* **2010**, *123*, 1242.
- [206] Mosmann, T. *J. Immunol. Methods.* **1983**, *65*, 55.
- [207] Goetz, P. *Springer.* **2007**, *5*, 212.
- [208] Kee, K. T.; Koh, M.; Oong, L. X.; Ken, N. G. *Int. J. Food. Sci. Tech.* **2013**, *48*, 1884.
- [209] Ziegler, J. ; Facchini, P. J. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **2008**, *59*, 735.
- [210] Yost, R. W.; Ettre, L. S.; Conlon, R. D. Practical liquid chromatography. *An introduction*. Perkin-Elmer, U.S.A. **1980**, 255.
- [211] Yakhlef, G. Mémoire de Biochimie appliquée. Université El Hadj Lakhdar Batna. **2009**.
- [212] Mann, J. *Nat. Rev. Cancer.* **2002**, *2*, 143.
- [213] Jhokadze, M.; Eristavi, L.; Kutchukhidze, J.; Chariot, A.; Angenot, L.; Tits, M.; Jansen, O.; Frederich, M. *Phytother. Res.* **2007**, *21*, 622.
- [214] Tilaoui, M.; Mouse, A. H.; Jaafari, A.; Aboufatim, R.; Chait, A.; Zyad, A. *J. Pharmacogn.* **2011**, *21*, 781.