

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

UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI-CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre :
Série :

**THESE: Présentée en vue de l'obtention du diplôme du
Doctorat troisième cycle (LMD).**

Spécialité: Chimie pharmaceutique

INTITULÉ:

*COMPOSITION CHIMIQUE ET ÉVALUATION DES
ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES de
Pistacia atlantica Desf. et de Ferula vesceritensis Coss. & Dur.
ET
SYNTHÈSE CATALYTIQUE DE NOUVEAUX
DÉRIVÉS PIPÉRIDINIQUES*

Par

M^{me} Ilhem LABED

Epouse ZOUAD

Devant le jury :

Pr. Salah AKKAL

Pr. Zahia KABOUCHE

Pr. Nour-eddine AOUF

Pr. Amar ZELLAGUI

Pr. Chérif BEHLOUL

(U. des frères Mentouri-Constantine)

(U. des frères Mentouri-Constantine)

(U. Badji Mokhtar - Annaba)

(U. Larbi Ben M'hidi - Oum El-Bouaghi)

(U. des frères Mentouri-Constantine)

Président

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Soutenue le 14/12/2015

Cette thèse est dédiée à :

A mes chers parents qui m'ont encouragée à être ce que je suis, avec tant d'amour. chaque ligne de cette thèse, chaque mot et chaque lettre vous exprime la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être mes parents.

A mon cher mari ABDELOUHAB, qui par son compréhension, sa tendresse et ses encouragements, a soutenu

sans cesse mes efforts durant la réalisation de ce travail.

A ma belle mère et mon beau père pour leur amour et leurs encouragements

A mes chers frères et Sœurs sources constants d'encouragements, de soutien, de confiance et d'affection: Amira, Nouha, Ikhlassa, Mouna, Dounia, Issam,

Ibrahim et Amine

A mes filles : Loudjeine et Mayar et ma nièce Mirale

A mes beaux frères et belles sœurs surtout Somia pour son amour

A tous mes Oncles et tantes spécialement: Fatih et Radia

A tous mes amis et collègues

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Dieu Le Tout Puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience durant ce travail.

*Je tiens particulièrement à remercier Madame la Professeure **Zahia KABOUCHE** pour m'avoir fait confiance, et m'avoir encouragée et conseillé toute au long de ce travail dans le Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST). Pour son soutien et sa grande générosité, qu'elle soit rassurée de ma profonde gratitude.*

*J'exprime ma sincère reconnaissance à Monsieur le professeur **Christian BRUNEAU** de m'avoir accueillie au sein du son laboratoire Catalyse et Organométalliques, université de Rennes 1 et pour m'avoir permis d'effectuer une partie de ce travail dans les meilleures conditions.*

*Je tiens à témoigner ma profonde reconnaissance à Monsieur le docteur **Mathieu ACHARD**. Merci pour votre gentillesse, vos conseils, votre rigueur scientifique et merci pour votre aide précieuse dans la réalisation de la partie synthèse de ce travail, merci mille fois.*

*Mes vifs remerciements vont également à Monsieur le Professeur **Salah AKKAL** de l'université des frères Mentouri Constantine, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de soutenance.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur **Nour-Eddine. AOUF**, de l'Université Badji-Mokhtar (Annaba) pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Je suis très honorée de la présence en tant qu'examinateur du Professeur **Amar ZELLAGUI**, de l'université d'Oum El Bouaghi, je le remercie sincèrement.*

*J'aimerais également remercier Monsieur le Professeur **Chérif BEHLOUL** de l'Université des frères Mentouri Constantine pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur le professeur **BELABED Kadour** et Madame la Professeure **ZAHIA Semra** pour m'avoir bien accueillie dans le laboratoire de bactériologie (CHU Benbadis Constantine, Algérie).*

Toute ma gratitude va à ma mère mon père et mes sœurs pour leur soutien tout au long de mes études et durant cette thèse.

*Mes remerciements les plus forts reviennent également à ma petite famille, spécialement à mon **mari ABDOU** qui m'a encouragés et soutenues pendant toutes ces années de thèse ainsi que pour la rédaction de ce manuscrit*

*Je remercie en particulier ma sœur **Amira** pour son encouragement, son soutien moral, et son aide précieuse tout le long de cet travail*

*Mes remerciements vont également à mes amis **Zeyneb Sahli** et **Jiang Fan** docteurs de l'université de Rennes 1, pour leur encouragement, son soutien moral, son aide précieuse lors de la manipulation de la partie de synthèse catalytique*

*Mes remerciements les plus vifs vont aussi à **Maria Ferhat** pour leur aide dans la réalisation des tests biologiques ET J'aimerais également remercier Monsieur le Professeur **Mehmet Ozturk** pour son aide dans la réalisation des tests de l'activité biologique*

Je remercie également tous les membres du laboratoire des Sciences Chimiques Catalyse et Organométalliques de l'université de Rennes 1, pour les facilités accordées pour la réalisation de ce travail : Dr. Sylvie Dérien, Prof. Cristophe Darcel, Dr. Henry Doucet Dr. Cédric Fischmeister, Dr Jean -Batiste Sortais, Dr. Thomas Dombroy, Beatrice Mahi, Françoise Toupet, K. Yuan, L. Zhao

*Je ne voudrais pas oublier tous mes collègues, notamment **Kacem, Hichem, Naima, Kedong, Yang, Maya, Seif, Khaizoran, Hanane, Meriem, Aya, Sara, Monira, Ahlam, Ilhem, Assia, Nedjwa, Wafa, Aicha, Hamida, Abbas, Rachida, Narimen, Chawki, Radia, Abdellatif, Mehdi, Sabah, Wissem, Amina, Nihed et Sara, Hasna.....**pour leurs encouragements.*

Liste des abréviations

Boc	<i>Tert</i> -butoxycarbone
DMAP	4- <i>N,N</i> -diméthylaminopyridine
Ts	tosyle

Détermination structurale

d	doublet
dd	doublet de doublet
ddd	doublet de doublet de doublet
dl	doublet large
dm	doublet de multiplet
dq	doublet de quadruplet
dt	doublet de triplet
eq	équatorial
<i>J</i> (Hz)	constante de couplage exprimée en Hertz
<i>m</i>	multiplet
ppm	parties par million
<i>qt</i>	quintuplet
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN ¹³ C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone
RMN ¹ H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
s	singulet
sl	singulet large
t	triplet
td	triplet de doublet
δC	Déplacement chimique du carbone en ppm
δH	Déplacement chimique du carbone en ppm
ESI	ElectroSpray Ionization (ionisation par électrospray)
<i>m/z</i>	masse/charge d'un ion
SM	Spectrométrie de Masse
ppm	partie par million

Activité biologique

ABTS : 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)

ATCC : American Type Culture Collection

BHA : ButylHydroxyAnisole

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CUPRAC : CUPric Reducing Antioxidant Capacity

DZI : Diamètre de Zone d'Inhibition

DPPH : 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid

CI50 : Concentration Inhibitrice à 50%

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standard

I% : Pourcentage d'Inhibition

Liste des tableaux: partie phytochimique et activités biologiques

Tableau 1: Répartition géographique des principaux genres des Anacardiaceae d'après Mabberley (1987).....	4
Tableau 2: Le classement de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. dans la systématique	8
Tableau 3 : Composants majoritaires d'huiles essentielles (% \geq 5.0) des espèces les plus étudiées du genre <i>Pistacia</i>	9
Tableau 4: Structures chimiques des principaux composants les plus fréquents dans les huiles essentielles du genre <i>Pistacia</i>	14
Tableau 5: Activité antioxydante des huiles essentielles des espèces de <i>Pistacia</i>	15
Tableau 6: Activité antibactérienne des espèces de <i>Pistacia</i>	16
Tableau 7: Activité antitumorale des espèces de <i>Pistacia</i>	18
Tableau 8: Activité antimutagène des espèces de <i>Pistacia</i>	19
Tableau 9 : Répartition mondiale des genres de la famille Apiaceae.....	21
Tableau 10 : Classement de <i>Ferula vesceritensis</i> dans la systématique.....	24
Tableau 11: Composants majoritaires d'huiles essentielles (% \geq 5.0) des espèces les plus étudiées du genre <i>Ferula</i>	25
Tableau 12 : Structures chimiques des principaux composants les plus fréquents dans les huiles essentielles du genre <i>Ferula</i>	30
Tableau 13: Activité antioxydante d'huiles essentielle des espèces de <i>Ferula</i>	31
Tableau 14: Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i>	32
Tableau 15: Activité spasmolytique d'huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i>	35
Tableau 16: La composition chimique d'huiles essentielles de feuilles et de fleurs de <i>P. atlantica</i>	58

Tableau 17: Les composons majoritaires d'huiles essentielles de <i>P. atlantica</i> de différentes régions géographiques.....	60
Tableau 18 : La composition chimique d'huiles essentielles de <i>F. vesceritensis</i> . Coss. & Dur. de FF, FS, TF, et TS.....	61
Tableau 19 : Activité antibactérienne d'huiles essentielles des feuilles et de fleurs de <i>P. atlantica</i> Desf. (Zones d'inhibition, mm).....	65
Tableau 20 : Concentration mimnimal inhibitrice CMI ($\mu\text{g/mL}$) des huiles essentielles de <i>P. atlantica</i> Desf.....	66
Tableau 21: Activité antibactérienne d'huiles essentielles de différentes parties de <i>F. vesceritensis</i> Coss. & Dur. (Zones d'inhibition, mm).....	67
Tableau 22 : Concentration mimnimale inhibitrice CMI ($\mu\text{g/mL}$) des huiles essentielles de <i>F. vesceritensis</i> Coss. & Dur.....	68
Tableau 23 : Pouvoir d'inhibition IC_{50} des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le test du DPPH.....	71
Tableau 24 : Pouvoir d'inhibition IC_{50} des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le test d'ABTS ⁺	72
Tableau 25 : Pouvoir d'inhibition IC_{50} des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le test du β -carotène-acide linoléique	73
Tableau 26 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le teste de CUPRAC.....	74
Tableau 27 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le teste de chélation des ions ferreux.....	75
Tableau 28 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant l'enzyme cholinestérase AChE.....	77
Tableau 29 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant l'enzyme cholinestérase BChE.....	77

Liste des tableaux de la partie de synthèse

Tableau 30: Activités biologiques de quelques dérivés pipéridiniques brevetés.....	110
Tableau 31: Effet du catalyseur dans la réaction de l'amine N-tosylpropargylique et alcool cinnamique.....	112
Tableau 32: Effet de la concentration de l'alcool cinnamique.....	113
Tableau 33: L'influence de la température sur le rendement de la réaction.....	114
Tableau 34: Effet du solvant sur la réaction.....	115
Tableau 35: Influence des additifs sur la réaction.....	116
Tableau 36 : Semi-hydrogenation de l'énamide 3a.....	135

Listes des figures partie phytochimique et activité biologique

Figure 1: Répartition géographique de la famille des Anacardiaceae.....	4
Figure 2: Distribution géographique du genre <i>Pistacia</i>	6
Figure 3: Distribution géographique de l'espèce <i>Pistacia atlantica</i>	7
Figure 4 : Répartition géographique des Apiaceae.....	21
Figure 5: Images naturelles et schématiques d'espèces <i>Ferula</i>	22
Figure 6 : La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH'.....	37
Figure 7 : La forme réduite ABTS et la forme radical de cation ABTS ^{•+}	37
Figure 8: Réaction de CUPRAC par une molécule antioxydante.....	38
Figure 9: Réaction de test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	39
Figure 10: Réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine.....	41
Figure 11: Réaction colorimétrique d'Ellman.....	41
Figure 12: Mécanismes de neurotransmission cholinergique.....	42
Figure 13: <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	45
Figure 14: <i>Ferula vesceritensis</i> Coss. & Dur.....	46
Figure 15: Préparation de l'inoculum.....	55
Figure 16: Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	56
Figure 17 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le test de DPPH.....	70
Figure 18 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le test d'ABTS ^{•+}	71
Figure 19 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le test du β -carotène- acide linoléique.....	73

Figure 20 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le test de CUPRAC.....	74
Figure 21 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de <i>P. atlantica</i> utilisant le test de chélation des ions ferreux.....	75

Liste des figures de la partie synthèse

Figure 22: Structure du composé 3a : 3-méthylène-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydro-pyridine.....	118
Figure 23: Spectre RMN ^1H du composé 3a : (3-méthylène-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydro-pyridine) (400 MHz, CD_2Cl_2).....	119
Figure 24: Spectre RMN ^{13}C du composé 3a : (3-méthylène-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydro-pyridine) (100 MHz, CD_2Cl_2).....	120
Figure 25: Structure du composé 3d : Tert-butyl 5-méthyl-3-méthylène-3,4-dihydro-pyridine-1(2H)-carboxylate.....	122
Figure 26: Spectre RMN ^1H du composé 3d : Tert-butyl 5-méthyl-3-méthylène-3,4-dihydro-pyridine-1(2H)-carboxylate (400 MHz, CD_3OD).....	123
Figure 27: Spectre RMN ^{13}C du composé 3d : Tert-butyl 5-méthyl-3-méthylène-3,4-dihydro-pyridine-1(2H)-carboxylate (100 MHz, CD_3OD).....	124
Figure 28: Structure du composé 4a : 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-tosyl-piperidine.....	125
Figure 29: Spectre RMN ^1H du composé 4a : 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-tosyl-piperidine (400 MHz, C_6D_6).....	126
Figure 30: Spectre RMN ^{13}C du composé 4a : 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-tosyl-piperidine (100 MHz, C_6D_6).....	127
Figure 31: Structure de composé 6a (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl)méthanol.....	131
Figure 32: Spectre RMN ^1H du composé 6a : (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl)méthanol (400 MHz, C_6D_6).....	132
Figure 33: Spectre RMN ^{13}C du composé 6a : (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl)méthanol (100 MHz, C_6D_6).....	133
Figure 34: Structure du composé 7a : (3R, 4S)-3-méthyl-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-	

<i>Tetra-hydropyridine</i>	136
Figure 35 : Spectre RMN ^1H du composé 7a : (<i>3R, 4S</i>)-3-methyl-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (400 MHz, C_6D_6).....	137
Figure 36 : Spectre RMN ^{13}C du composé 7a : (<i>3R, 4S</i>)-3-methyl-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (100 MHz, C_6D_6).....	138
Figure 37 : Structure aux rayons X du la semi réduction <i>cis</i> -cycliques d'énamide 7a	139

Liste des schémas de la partie synthèse

Schéma 1: Métathèse de diène " Ring closing ".....	99
Schéma 2: Couplage intramoléculaire d'alcènes et d'alcynes.....	99
Schéma 3: Etape intermédiaire, β -élimination d'hydrogène.....	100
Schéma 4: Couplage de diènes et d'énol esters catalysé par [Ru].....	100
Schéma 5: Couplage d'alcène et d'alcyne catalysé par [Ru].....	101
Schéma 6: Cyclopropanation d'ényne avec des composés diaziques catalysée par [Ru].....	101
Schéma 7: Réaction d'Alder-ène.....	102
Schéma 8: Couplage oxydant d'alcynes.....	102
Schéma 9: Synthèse de pyridiazines d'alcyne 1,4-diols.....	103
Schéma 10: Synthèse de dérivés acétal O-hétérocycliques.....	104
Schéma 11: Préparation de pipéridine (34) inhibiteur de peptidases aspartique...	105
Schéma 12: Terpénylation de la pipéridine avec le citronellal.....	106
Schéma 13: Les catalyseurs utilisés pour la terpénylation.....	106
Schéma 14: Etapes clés du processus de transfert d'hydrogène en Tandem.....	107
Schéma 15: <i>N,N</i> -, <i>C</i> -trialkylation en Tandem de l'aniline (38).....	107
Schéma 16: Arylation de Boc-pipéridines contrôlé par le type de ligand.....	108
Schéma 17: Arylation direct d'énamides par une réaction décarboxylante /couplage.....	109
Schéma 18: Couplage C-C / condensation de l'amine (43) et l'alcool (44) catalysée par [Ru].....	109
Schéma 19 : Choix du Catalyseur	112

Schéma 20: Effet de la concentration de l'alcool.....	113
Schéma 21: Influence du solvant.....	115
Schéma 22: Influence de la protection de la fonction amine.....	116
Schéma 23: Influence du nucléophile.....	117
Schéma 24 l'énamide 3b	117
Schéma 25: Synthèse du composé 3 utilisant l'alcool cinnamique dans le THF....	118
Schéma 26: Réaction de l'alcool 4-nitrocinnamique et isopropenylcarbinol dans le THF.....	121
Schéma 27: Synthèse des éthers hémiaminal 4a et 4b	124
Schéma 28: Mécanisme réactionnel de la synthèse des produits 3	128
Schéma 29 : Formation d'acétal <i>via</i> les alcools d'allylique.....	128
Schéma 30: Résumé des résultats.....	129
Schéma 31: Hydroboration-Oxidation de 4a	130
Schéma 32: Semi-hydrogénation de 3a utilisant $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3] \text{PF}_6\}$ comme précatalyseur.....	134
Schéma 33: Additifs utilisés pendant l'hydrogénation.....	135
Schéma 34: Signaux des protons éthyléniques des deux diastéréoisomères de l'énamide 7a	136
Schéma 35: Couplage/Hydrogénation Tandem.....	140

TABLE DE MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
----------------------------	---

I. Composition chimique et évaluation des activités antioxydante anticholinestérase et antibactérienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* et *Ferula vesceritensis*

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I: APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE GENRE *PISTACIA*

I. 1. Généralités sur les ANACARDIACEAE	
I.1.1. Description botanique.....	3
I. 1.2. Place dans la systématique.....	3
I.1.3. Répartition géographique.....	4
I. 1.4. Présentation du genre <i>Pistacia</i>	5
I. 1.5. Répartition géographique du genre <i>Pistacia</i>	5
I. 1.6. Intérêts pharmacologiques, nutritionnels et industriels du genre <i>Pistacia</i>	6
I. 1.7. Rappels botaniques sur <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	7
I. 1.7.a. Place dans la systématique.....	8
I. 1.7. b. Usages traditionnels de <i>Pistacia atlantica</i>	8
I. 1. 8. Travaux antérieurs sur le genre <i>Pistacia</i>	8
I. 1. 8. a. Définition des huiles essentielles.....	9
I. 1. 9. Travaux antérieurs sur les huiles essentielles du genre <i>Pistacia</i>	9
I. 1. 10 Les activités biologiques d'huiles essentielles du genre <i>Pistacia</i>	15
I. 1. 10. a. Activité antioxydante d'huiles essentielles des espèces de <i>Pistacia</i>	15
I. 1. 10.b. Activité antibactérienne d'huiles essentielles des espèces de <i>Pistacia</i>	16
I. 1. 10.c. Activité antitumorale d'huiles essentielles des espèces de <i>Pistacia</i>	17
I. 1. 10.d. Activité antimutagène d'huiles essentielles des espèces de <i>Pistacia</i>	19

CHAPITRE II: APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE GENRE *FERULA*

II. 1. Généralités sur les APIACEAE	
II. 1. 1. Description botanique.....	20
II. 1. 2. Place dans la systématique.....	20
II. 1.3. Répartition géographique.....	21

II. 1.4. Présentation du genre <i>Ferula</i>	22
II. 1.5. Répartition géographique de genre <i>Ferula</i>	22
II. 1.6. Usages économiques et thérapeutiques du genre <i>Ferula</i>	23
II. 1.6. a. Utilisation traditionnelle de quelque espèce de <i>Ferula</i>	23
II. 1.7. Rappels botaniques sur <i>Ferula vesceritensis</i> Coss. & Dur.....	23
II. 1.7. a. Place dans la systématique.....	24
II. 1.7. b. Utilisations traditionnelles de <i>Ferula vesceritensis</i>	24
II. 1.8. Travaux antérieur sur le genre <i>Ferula</i>	24
II. 1.9. Travaux antérieurs sur les huiles essentielles du genre <i>Ferula</i>	24
II. 1.10. Activités biologiques d'huiles essentielles du genre <i>Ferula</i>	30
II. 1.10. a. Activité antioxydante d'huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i>	31
II. 1.10. b. Activité antimicrobienne d'huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i>	31
II. 1.10. c. Activité anticonvulsive d'huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i>	34
II. 1.10. d. Activité Spasmolytique d'huiles essentielles des espèces de <i>Ferula</i>	35
II. 1.10. e. Effet des huiles essentielles de <i>Ferula</i> sur la fonction érectile.....	35

**CHAPITRE III : ACTIVITÉS BIOLOGIQUES : antioxydante, anticholinestérase
et antibactérienne**

III. 1. Activité antioxydante.....	36
III. 1.1. Généralités sur les antioxydants.....	36
III. 1.2. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante.....	36
III. 1.2. a. Le test du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH).....	37
III. 1.2. b. La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS ^{•+}).....	37
III. 1.2. c. Le test de blanchissement ou de décoloration du bêta-carotène (Système β-carotène /Acide linoléique).....	38
III. 1.2. d. Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions cupriques (CUPRAC).....	38
III. 1.2. e. Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques, chélation des ions ferreux (FRAP).....	39
III. 2. Activité anticholinestérase.....	40
III. 2.1. Généralités sur la maladie d'Alzheimer.....	40
III. 2.2. Les cholinestérases.....	40
III. 2.3. Méthodes de mesure des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.....	41
III. 2.3.a- Méthode d'Ellman.....	41

III. 2.4. Les traitements de la maladie d'Alzheimer.....	42
III. 3. Activité antibactérienne.....	43
III. 3.1. Généralités sur les antibactériens.....	43
III. 3.2. Les méthodes antibactériennes <i>in vitro</i>	43
III. 3.2. a. Méthode de diffusion sur disques d'huiles essentielles.....	43
III. 3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	43
III. 3.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution en milieu solide.....	44

PARTIE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE I : MATÉRIEL VÉGÉTAL

I. 1. <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	45
I. 2. <i>Ferula vesceritensis</i> Coss. & Dur.....	46

CHAPITRE II : EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES DE *Pistacia atlantica* Desf. ET *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur.

II. 1. Hydrodistillation d'huiles essentielles.....	47
II. 1.a. <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	47
II. 1.b. <i>Ferula vesceritensis</i> Coss. & Dur.....	47
II. 2. Analyse GC et GC/MS.....	47
II. 2.1. a. Analyse GC d'huiles essentielles de <i>Pistacia atlantica</i>	47
II. 2.1. b. Analyses GC/MS d'huiles essentielles de <i>Pistacia atlantica</i>	47
II. 2.2.a. Analyse GC d' huiles essentielles de <i>Ferula vesceritensis</i>	48
II. 2.2. b. Analyses GC/MS d'huiles essentielles de <i>Ferula vesceritensis</i>	48
II. 3. Identification des composants.....	49

CHAPITRE III : ACTIVITÉS BIOLOGIQUES : antioxydante, anticholinestérase et antibactérienne

III. 1. Activité antioxydante.....	50
III. 1.1. Activité antiradicalaire DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl).....	50
III. 1.2. La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline -6-sulfonique) (ABTS ⁺).....	50
III. 1.3. Le test de blanchissement ou de décoloration du bêta-carotène (Système β -carotène /Acide linoléique).....	51

III .1.4. Chélation des ions ferreux.....	52
III. 1.5. La réduction cuprique (CUPRAC).....	52
III. 2. Activité anticholinestérase.....	53
III. 3. Activité antibactérienne.....	54
III. 3.1. Identification des souches.....	54
III. 3.2. Microorganismes testés.....	54
III. 3.2.a- Microorganismes testés sur les huiles essentielles de <i>Pistacia atlantica</i>	54
III.3.2.b- Microorganismes testés sur les huiles essentielles de <i>Ferula vesceritensis</i> .	54
III. 3.3. L'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé (Méthode des disques)....	55
III. 3.4.Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice).....	56

PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE I : COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

I.1. <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	58
I. 1. 1. Composition chimique des huiles essentielles de <i>P. atlantica</i>	58
I. 2. <i>Ferula vesceritensis</i> Coss. & Dur.....	61
I. 2. 1. La composition chimique des huiles essentielles de <i>Ferula vesceritensis</i> Coss. & Dur.....	61

CHAPITRE II : ACTIVITÉS BIOLOGIQUES : antioxydante, anticholinestérase et antibactérienne

II. 1. Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. et <i>Ferula vesceritensis</i> Coss. & Dur.....	65
II. 1.1 Activité antibactérienne d' huiles essentielles de <i>Pistacia atlantica</i>	65
II. 1.2. Activité antibactérienne d huiles essentielles de <i>Ferula vesceritensis</i>	67
II. 2. Activité antioxydante d' huiles essentielles de <i>Pistacia atlantica</i>	70
II. 2.1. Activité antioxydante d'huiles essentielles de <i>P. atlantica</i> (PAFe et PAFI) déterminée par la méthode du DPPH.....	70
II. 2.2. Activité antioxydante d' huiles essentielles de <i>P. atlantica</i> (PAFe et PAFI) déterminée par la méthode d'ABTS *+.....	71
II. 2.3. Activité antioxydante d'huiles essentielles de <i>P. atlantica</i> (PAFe et PAFI) déterminée par la méthode du β -carotène- acide linoléique.....	72
II. 2.4. Activité antioxydante d' huiles essentielles de <i>P. atlantica</i> (PAFe et PAFI) déterminée par la méthode du CUPRAC.....	74

II. 2. 5. Activité antioxydante d'huiles essentielles de <i>P. atlantica</i> (PAFe et PAFI) déterminée par la méthode de chélation des ions ferreux.....	75
II. 3. Activité anticholinestérase d' huiles essentielles de <i>Pistacia atlantica</i>	77
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	79

II. COUPLAGE OXYDANT SÉLECTIF DES AMINES PROPARGYLIQUES ET DES ALCOOLS ALLYLIQUES

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction.....	98
I.1. Méthodes de synthèse des X-hétérocycles catalysées, par le ruthénium.....	98
I. 1. 1. Métathèse des alcènes N-hétérocycliques.....	98
I. 1. 2. Le couplage intramoléculaire d'alcènes et d'alcynes.....	99
I. 1. 3. Couplage de diènes et d'énol esters.....	100
I. 1. 4. Couplage intermoléculaire d'alcène et d'alcyne.....	100
I. 1. 5. Cyclopropanation d'énynes avec des composés diaziques.....	101
I. 1. 6. Réaction d'Alder-ène.....	101
I. 1. 7. Couplage d'alcynes.....	102
I. 1. 8. Cyclisation d'alcyne utilisant le [Ru] comme accepteur d'hydrogène.....	103
I. 1. 9. Synthèse de dérivés acétal O-hétérocycliques.....	104
I. 2. Synthèse de pipéridines substituées.....	104
I. 2. 1. Synthèse de la pipéridine 3,4-disubstituée.....	104
I. 2. 2. Terpenylations des amines par transfert d'hydrogène.....	105
I. 2. 3. Préparation sélective de N-arylpipéridines en Tandem transfert d'hydrogène...	106
I. 2. 4. N-Boc-pipéridines (ligand- β -sélectif C (sp ³) H d'arylation).....	108
I. 2.5 Arylation direct d'énamides par une réaction décarboxylante/couplage.....	108
I. 2. 6 Synthèses régio et stéréosélectives de dérivés pipéridiniques catalysées par [Ru].....	109
I. 3. Intérêts biologiques des dérivés pipéridiniques.....	110

CHAPITRE II : "SYNTHESE DE NOUVEAUX DÉRIVÉS PIPÉRIDINIQUES CATALYSÉES PAR [Ru]"

II. Introduction.....	112
II.1. Optimisation des conditions réactionnelles.....	112
II 1. 1. Le choix du catalyseur.....	112
II. 1. 2. Effet de la concentration de l'alcool.....	113
II. 1. 3. Influence de la température.....	114
II. 1. 4. Influence du solvant.....	115
II. 1. 5. Influence des additifs.....	116
II.1. 6. Influence de la protection de la fonction amine.....	116
II. 1. 7. Influence du nucléophile.....	117
II. 2. Synthèse de nouveaux dérivés pyridiniques.....	118
II. 2.1-Utilisation de l'alcool cinnamique dans le THF.....	118
-Détermination structurale du produit 3a	118
II. 2. 2.Utilisation des alcools 4-nitrocinnamique et isopropenylcarbinol dans le THF.	121
-Détermination structural du produit 3d.....	122
II. 2. 3. Utilisation de l'alcool cinnamique dans le méthanol.....	124
-Détermination structurale du produit 4a	124
II. 2. 4. Mécanisme de la réaction.....	128
II. 2. 4. a. Résumé des résultats.....	129
II. 3. Hydroboration.....	130
-Détermination structurale du produit 6a	130
II. 4 Hydrogénation catalytique.....	134
II. 4. 1. Hydrogénation du produit 3a	134
-Détermination structurale du produit 7a	136
II. 4. 2. Hydrogénation (tandem).....	140
II. 4. 3. Conclusion.....	141

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

III.1 Généralités.....	142
III.2. Préparation des produits de départ (1a , 1b et 1c).....	142
III.2.1. 4-methyl-N-(prop-4-nyl)benzenesulfonamide 1a	142
III.2.2. Tert-Butyl Prop-2-ynylcarbamate 1b	143
III.2.3. N-(prop-2-ynyl)benzamide 1c	144

III.3.Procédure générale pour la synthèse des énamides.....	144
III.3.1.3-méthylène-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine 3a	145
III.3.2.Tert -butyl-3- méthylène-4-phényl-3,4- dihydropyridine-1 (2H) -carboxylate 3b	145
III.3.3. (3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1 (2H) -yl) (phényl) méthanone 3c	146
III.3.4. 3-méthylène-4- (4-nitrophényl) -1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine 3d	147
III.3.5. 5-méthyl-3-méthylène-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine 3e	147
III.3.6. (5-méthyl-3-méthylène-3,4- dihydropyridin-1 (2H)-yl) (phényl) méthanone 3f	148
III.3.7. Tert-butyl 5-méthyl-3-méthylène-3,4-dihydropyridine-1 (2H) -carboxylate 3g	148
III.3.8. 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-4a tosylpiperidine 3h	149
III.3.9. tert-butyle 2-méthoxy-5-méthylène-4-phénylpipéridine-1-carboxylate 3i	150
III. 4. Procédure générale pour la préparation des acétals 5.....	150
III.4.1. (3,3-diméthoxypropyle) benzène 5a	151
III. 5. (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl) methanol 6a	151
III.6. Mode opératoire général pour la semi-hydrogénation de 3a: (3R, 4S)-3-méthyl-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine 7a	152
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	153
Conclusion générale.....	164
ANNEXE	166

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'industrie pharmaceutique s'est considérablement développée au cours du vingtième siècle, et plus particulièrement après la deuxième guerre mondiale, qui est basée essentiellement sur la chimie. Cette dernière fait aujourd'hui partie de notre quotidien.

Cependant, l'image de la chimie auprès du public s'est progressivement dégradée au rythme de catastrophes aux conséquences humaines ou écologiques lourdes. Par exemple, on découvre en 1961 que la thalidomide, prescrite comme antinauséux, provoque des malformations du nouveau-né lorsqu'elle est administrée aux femmes enceintes durant les premiers mois de la grossesse[1]. Vers la même période, le DDT [2] se révèle être un polluant organique persistant.

Tous ces facteurs favorisent la Naissance du concept de **chimie verte**, qui est défini en 1998 par les chimistes américains Paul Anastas et John C. Warner, appartenant à l'EPA . La chimie verte prévoit l'utilisation de principes pour réduire et éliminer l'usage ou la génération de substances néfastes pour l'environnement, et pour la santé humaine. Face à ces problématiques, la synthèse catalytique a toujours été proposée comme solution verte. Deux prix Nobel ont récemment récompensé les avancées dans le domaine de la catalyse. Le prix Nobel de chimie 2005, a été attribué à trois chercheurs dont le français Yves Chauvin pour leurs travaux sur la réaction de métathèse des oléfines [3].

Par ailleurs, la phytochimie s'est imposée comme discipline fondamentale dans le développement de molécules originales pour la découverte de nouveaux phytomédicaments.

Sur un plan méthodologique cette thèse comporte deux parties:

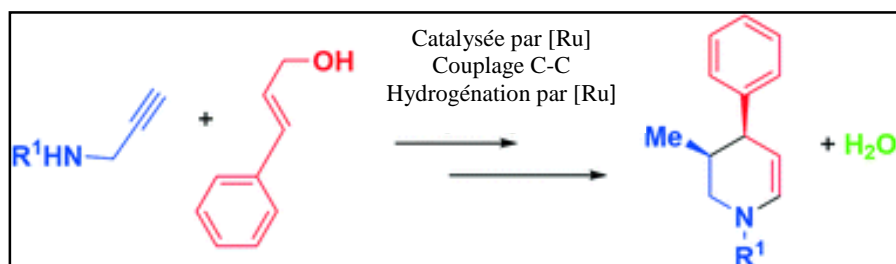
I. Composition chimique et évaluation des activités antioxydante anticholinestérase et antibactérienne d' huiles essentielles de *Pistacia atlantica* et *Ferula vesceritensis* qui sera divisée en trois chapitres :

- Le premier chapitre sera consacré à l'étude bibliographique du genre *Pistacia*, et *Ferula*, et les activités biologiques (antibactérienne, antioxydante et anticholinestérase).

- Le deuxième chapitre dédie aux différentes méthodes phytochimiques et biologiques utilisées dans notre étude.
- Le troisième sera consacré aux travaux personnels avec les résultats des études phytochimiques et biologiques des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. et *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. [4].

Une partie de la synthèse catalytique de nouveaux dérivés pipéridiniques qui sera divisée en trois chapitres:

- Le premier chapitre sera concernera à l'étude bibliographique de différentes méthodes de synthèse des X-hétérocycles catalysée, par le ruthénium, et la synthèse de pipéridines substituées, ainsi que leurs intérêts biologiques et pharmaceutiques [5].
- Le deuxième chapitre sera consacré aux travaux personnels avec les résultats et discussion des réactions de couplage oxydant entre une amine propargylique et un alcool allylique, avec une post-fonctionnalisation de ces produits par de nouveaux processus d'hydroboration et d'hydrogénation.
- Le troisième décrira la partie expérimentale.



Références bibliographiques

1. Dès 1962, l'OMS pousse à l'édification d'un programme mondial de pharmacovigilance. Les États-Unis assurent d'abord cette fonction de 1968 à 1970 avec leur centre basé à Alexandria en Virginie.
2. Le DDT est un insecticide très efficace contre les insectes vecteurs de maladie. Utilisé massivement dans les années 1940 dans la lutte contre le paludisme.
3. Yves Chauvin (2006), Olefin Metathesis: The Early Days (Nobel Lecture 2005), Angewandte Chemie International Edition. 45, 3740-3747.
4. Quezel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, centre nationale de la recherche scientifique, Paris, 611.
5. Murugesan, S., Jiang, F., Achard, M., Bruneau, C., Dérien, S. (2012). Regio- and stereoselective syntheses of piperidine derivatives via ruthenium-catalyzed coupling of propargylic amides and allylic alcohols. Chemical Communications. 48, 6589-6591.

*I-Composition chimique et évaluation des
activités antioxydante, anticholinestérase
et antibactérienne d'huiles essentielles de
Pistacia atlantica Desf. et Ferula vesceritensis
Coss. & Dur.*

PARTIE I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE SUR

LE GENRE PISTACIA

I. 1. Généralités sur les ANACARDIACEAE

I. 1.1. Description botanique

La famille des Anacardiaceae est constituée d'arbres, d'arbustes grimpants, à canaux résinifères, à feuilles composées pennées ou trifoliolées, généralement alternes, dépourvues de glandes ponctiformes. Inflorescence en panicules [1].

Les feuilles de cette famille sont actinomorphes, hétérochlamydées, parfois apétales, 5-mères, hétérosexées ou unisexuées, généralement hypogynes, diplostémones ou haplostémones (à filets souvent concrescents, à la base), apocarpes ou syncarpes. Disque intrastaminal. Gynécée isomère ou réduit à 3-1 carpelle, mais généralement 1-loculaire par avortement, à placentation axile, chaque carpelle étant 1-ovules apotropes 2 (-1)-tegminés. Le fruit est généralement une drupe souvent à mésocarpe résineux. Graine exalbuminée ou presque, à embryon courbe. Pollen divers, souvent 2-3-colporé, ou avec 3-8 apertures circulaires ou non. Cloisons des vaisseaux à perforation unique (sauf quelques cas). [1]

I. 1.2. Place dans la systématique

La famille Anacardiaceae a été proposée pour la première fois par Lindley en 1830 [2], les Anacardiaceae appartiennent à l'ordre des Sapindales, à la sous-classe des Rosidae ou Eudicots moyennes dialypétales (plus de 90 000 espèces connues), à la classe des Eudicots, au sous-embranchement des Magnoliophyta ou Angiospermes et à l'embranchement des Spermaphyte [3]. Les espèces de cette famille sont des lianes à feuilles alternes, composées et imparipennées [4]. La composition de cette famille en genres et espèces diffère selon les auteurs. D'après Kokwaro et Guyot elle compte 60 genres et 600 espèces [5,6]. Pour Mabberley elle renfermerait 73 genres et 850 espèces [7].

Tableau 1: Répartition géographique des principaux genres des Anacardiaceae d'après Mabberley (1987) [7].

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

I. 1.3. Répartition géographique

Les Anacardiaceae sont distribuées dans la région méditerranéenne, les régions tropicales à subtropicales et dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord et l'Est de l'Asie et en Amérique [5,7] (figure I. 1).

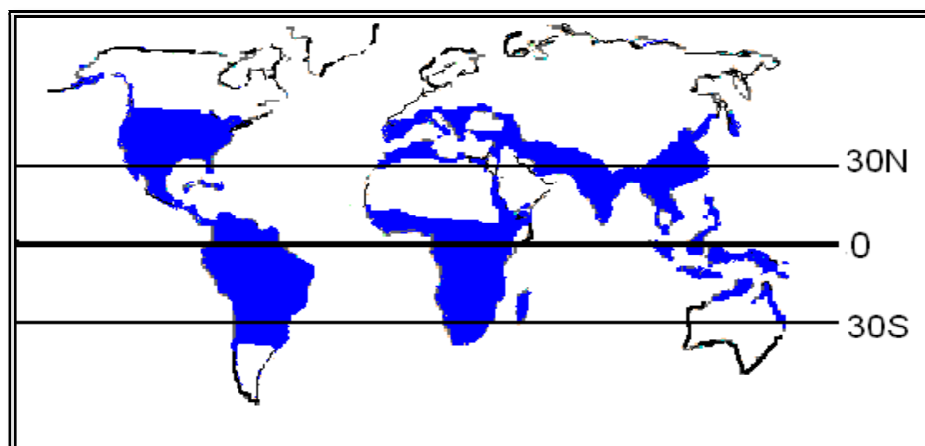


Figure 1: Répartition géographique de la famille des Anacardiaceae

I. 1.4. Présentation du genre *Pistacia*

Le genre *Pistacia* appartient à la famille des Anacardiaceae, ce genre comprend environ 11 espèces d'arbustes appartenant à l'ordre des Sapindales et à la famille des Anacardiaceae. D'origine asiatique ou méditerranéenne, les pistachiers sont des arbustes dioïques (fleurs mâles et femelles poussant sur des arbustes différents). Les fleurs d'une couleur plus ou moins marron, sont groupées en racèmes. Les fruits sont des drupes [8,9].

Trois espèces sont très connues, *Pistacia lentiscus* (Lentisque pistachier) dont on extrait une résine et qui présente un feuillage persistant, *Pistacia terebinthus*, arbre au feuillage caduc dont on extrait l'huile de térébenthine et enfin *Pistacia vera* (Pistachier vrai) arbuste au feuillage caduc dont on consomme les graines grillées (les pistaches).

Les espèces du genre *Pistacia* sont [10] :

- *Pistacia atlantica* Desf.
- *Pistacia chinensis*
- *Pistacia lentiscus* L.
- *Pistacia terebinthus* L.
- *Pistacia vera* L.
- *Pistacia integerrima*
- *Pistacia khinjuk*
- *Pistacia afghanistania*,
- *Pistacia mexicana*,
- *Pistacia palestina*,
- *Pistacia wienmannifolia*.

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *P. lentiscus*, *P. terebinthus*, *P. vera* et *P. atlantica* Desf. [11].

I. 1.5. Répartition géographique du genre *Pistacia*

Ce genre est distribué dans les régions méditerranéennes et les zones du Moyen-Orient, le *Pistachio* est la seule espèce cultivée et commercialisée de ce genre [8,12]. Il est distribué largement en Algérie, la Turquie, le Maroc, la France, l'Espagne, l'Italie et la Grèce [13] (figure 2).

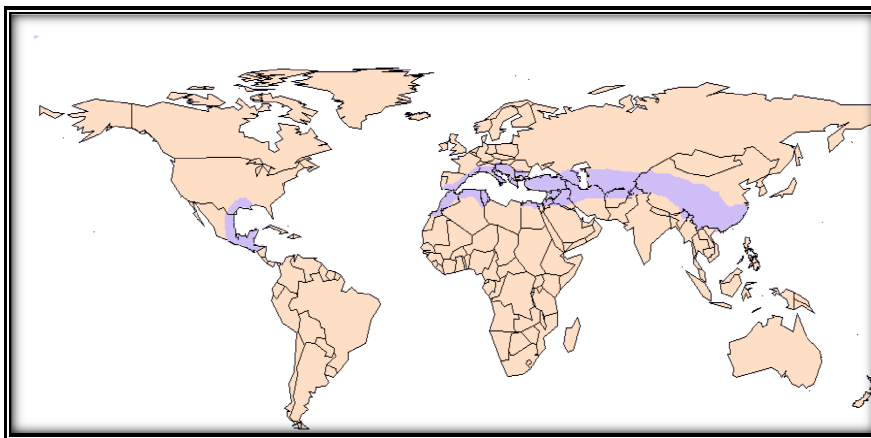


Figure 2: Distribution géographique du genre *Pistacia*.

I. 1.6. Intérêts pharmacologiques, nutritionnels et industriels du genre *Pistacia*

Les espèces de *Pistacia* sont utilisées en traitement de l'eczéma, la paralysie, diarrhée, les infections de gorge, la jaunisse, l'asthme et les douleurs d'estomac et des calculs rénales [14,15].

Elles ont diverses activités biologiques, anti-athérogène, hypoglycémique, antioxydante, anti-inflammatoire et insecticide [16,19].

La résine de différentes espèces de *Pistacia* est traditionnellement utilisée comme une gomme à mâcher et protège les lèvres contre la sécheresse, contre certaines maladies d'estomac et comme antiseptique pour le système respiratoire [20,21].

Les espèces de *Pistacia* ont une large utilisation dans l'industrie alimentaire [22].

La résine est utilisée comme un rafraîchissant dans les boissons alcoolisées et non alcoolisées, dans certains mélanges de cosmétiques et de parfumerie, et dans la production de dentifrice [20].

Les feuilles de *P. terebinthus* sont utilisées dans le traitement des brûlures, la résine utilisée comme antiseptique en cas de bronchites et autres troubles respiratoires et dans le traitement des maladies du système urinaire [23].

Récemment, l'extrait méthanolique des galls de *Pistacia terebinthus* a été révélé actif contre les affections inflammatoires [24].

P. weinmannifolia est une plante largement répandue dans la province du Yunnan en Chine, elle est anti-inflammatoire, antimutagène, anticancérogène et antioxydante [25]. Les

feuilles de cette plante sont utilisées quotidiennement comme boisson aux herbes et contre la dysenterie, l'entérite, la grippe, les saignements post-traumatiques et pour soulager des maux de tête et en cas du cancer des poumons [25].

I. 1.7. Rappels botaniques sur *Pistacia atlantica* Desf.

Le pistachier de l'Atlas ou "Betoum" (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae, Sapindales, Magnoliopsida) est nommé aussi "Betm" [26]. C'est un arbre puissant pouvant atteindre 20 m de hauteur, à tronc bien individualisé et à feuilles caduques composées, imparipennées; 3 à 5 folioles ovales acuminées.

Les fruits sont appelés El-khodiri par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur vert foncé à maturité. Ce sont des drupes comestibles de la grosseur d'un pois, légèrement ovales et aplaties, riches en huile dense très énergétique [26]. Le pistachier de l'Atlas peut être classé en quatre sous-espèces, à savoir *mutica*, *cabulica*, *kurdica* et *atlantica*; cette dernière est présente en Afrique du Nord [27].

De par ses fleurs nues, *P. atlantica* constitue une espèce particulière des Anacardiaceae [1]. Mais quelques pieds, exceptionnellement monoïques, ont été rencontrés dans les montagnes de Yunt de la Province de Mania en Turquie. Il existe à l'état disséminé dans toute l'Algérie: régions semi-arides et arides, dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussera, Messaad), Laghouat (*partie* sud) et Ghardaia (dans l'oued M'zab) [28,29]. Cet arbre a une écologie difficile à cerner; il est d'une grande plasticité, lui permettant d'exister depuis les marges du Sahara jusqu'aux moyennes montagnes subhumides [30] (figure 3).

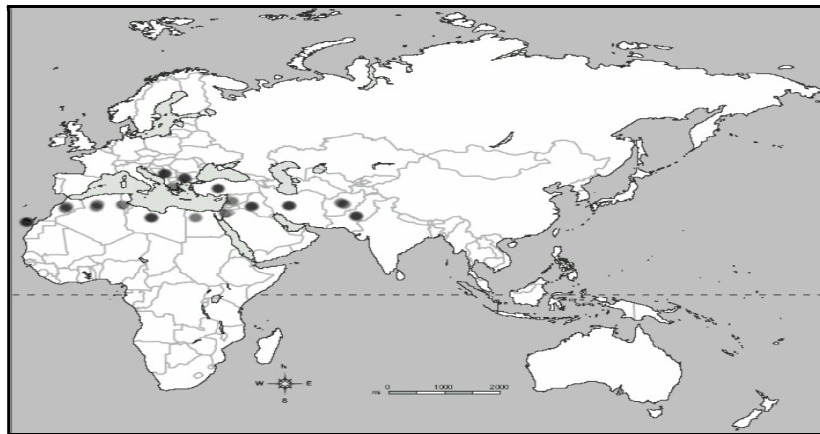


Figure 3: Distribution géographique de l'espèce *Pistacia atlantica* Desf.

I. 1.7.a. Place dans la systématique

Le classement de *P. atlantica* dans la systématique est comme dans le tableau 2

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

I. 1.7. b. Usages traditionnelles de *Pistacia atlantica*

En Algérie, le fruit du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*), riche en matière grasse, n'est utilisé que par la population locale d'une façon très artisanale en médecine comme antidiarrhéique et aussi en alimentation des troupeaux. Le suintement du tronc d'arbre donnant l'encre rouge est utilisé dans la tannerie des peaux [31].

Cette plante est très utile comme antiseptique, antifongique, et dans les maladies abdominales [32].

I. 1. 8. Travaux antérieurs sur le genre *Pistacia*

Plusieurs études phytochimiques indiquent que les espèces du genre *Pistacia* sont riches en:

- Monoterpènes [33].
- Triterpenoides tétracycliques [34].
- Des triterpenoides [35,36].
- Des flavonoïdes [37].
- Des composés phénoliques [38].
- Des huiles essentielles [26,39].

I. 1. 8. a. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont un mélange complexe de composés, principalement des monoterpènes, des sesquiterpènes et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, esters, éthers, cétones et phénols). D'autres composés volatiles spécifiques comprennent le phénylpropène, le soufre ou l'azote. Généralement, la composition de l'huile est un équilibre de divers composés, bien que de nombreuses espèces puissent avoir le même constituant [40].

Ces composantes volatiles sont synthétisées par les plantes aromatiques sous forme de métabolites secondaires et adaptées en tant que partie du système de défense à base de plantes contre bactérienne, virale, fongique et les attaques d'insectes. L'histoire de l'application des huiles essentielles revient sur les temps anciens, étant utilisées principalement pour leur arôme, propriétés sanitaires et médicinales.

La plante utilise l'huile pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques. Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner [41,43].

I. 1. 9. Travaux antérieurs sur les huiles essentielles du genre *Pistacia*

Divers composés de différents groupes phytochimiques ont été identifiés à partir des huiles essentielles des espèces *Pistacia*. Pour obtenir une meilleure compréhension de la diversité de composition de ce genre, on va présenter les différentes classes de composés et leur diversité dans la composition des huiles essentielles du genre *Pistacia* (tableau 3)

Tableau 3 : Composants majoritaires d'huiles essentielles ($\% \geq 5.0$) des espèces les plus étudiées du genre *Pistacia*

Espèce	Composants majoritaire $\geq 5\%$	Pourcentage (%)	Origine	Réf
<i>P. atlantica</i>	α -Pinène	70.0	Iran	[44]
	Citral	5.72		
Myrtenol	5.31			
	α -Pinène	42.9	Maroc	[45]

	β -Pinène Terpinen-4-ol Bornyl acetate Elemol	13.2 21.7 21.5 20.0		
	α -Pinène <i>p</i> -Mentha1(7),8-diene Myrcène Sabinene Terpinen-4-ol	11.6 41.1-42.4 34.5 14.9-52.1-17.8- 6.0 -25.7	Grèce	[46]
	α -Pinène Camphène β -Pinène Germacrène D α -Terpineol Limonène	32.6-54.7 10.0 8.0 -20.0 11.1 9.2 6.9	Algérie	[47]
	α -Pinène Spathulenol Camphène <i>p</i> -Cymène Terpinen-4-ol β -Pinène	6.2-40.4 32.6 20.8 15.9 13.2 10.19	Algérie	[48]
	α -Pinène β -Pinène	81.9 7.4	Iran	[49]
	α -Pinène, Myrcène Camphène β -Pinène	68.2 -57.9 5.0- 15.3- 14.3 8.7 6.0-7.0	Iran	[50]
	α -Pinène Limonène Sabinène	92.42 84.10 5.23-1.26 3.29 -1.58	Iran	[51]
	α -Pinène Myrcène Limonène	55.0 11.44 10.08	Iran	[52]
	α -Pinène β -Pinène	75.6 9.5	Turquie	[53]
<i>P. vera</i>	α -Pinène Limonène α -Terpineol Camphene	29.2 12.4 9.6 8.3	Turquie	[54]
	α -Pinène α -Terpinolene	54.6-30.0 31.2-17.6	Grèce	[55]
	α -Pinène α -terpinène Limonène	16.07 32.44 25.1	Tunisie	[56]
	α -Pinène α -Terpinolene Myrcène	31.5 20.2 11.5	Iran	[57]

	Pinocarvone	6.2		
<i>P. terebinthus</i>	α -Pinène	16.4-54.8	Italie	[58]
	β -Pinène	5.9-22.2		
	α -Terpineol	8-9		
	α -Phellandrène	4.9-8.2		
	<i>trans</i> -Verbenol	5		
	α -Pinène	51.3	Turquie	[59]
	Caryophyllène	51.0		
	<i>p</i> -Cymen-8-ol	40.0		
	Limonène	39.0		
	Spathulenol	20.7		
α -Pinène	26.31	Turquie	[60]	
<i>trans</i> - β -Ocimène	15.88			
δ -3-Carène	14.06			
Limonène	7.08			
<i>cis</i> - β -Ocimène	9.34			
β -Caryophyllène	5.21			
α -Pinène	19.21	Tunisie	[56]	
Terpinène	41.34			
δ -Terpinène	8.01			
Limonène	6.99			
α -cadinol	6.9	Turquie	[61]	
Phytol	5.4			
δ -Cadinène	5.1			
α -Terpineol	5.0			
Terpinen-4-ol	33.7	Turquie	[54]	
α -Terpineol	8.1			
γ -Terpinène	9.3	Turquie	[62]	
Terpinen-4-ol	33.7			
α -Terpineol	8.1			
α -Pinène	5.3-15.6	Turquie	[63]	
β -Pinène	8.0-22.5			
Limonène	9.4-34.2			
Germacrène D	19.9			
<i>P. lentiscus</i>	α -Pinène	39.6	Grèce	[64]
	β -Pinène	19.5		
Sabinène	6.5			
α -Pinène	13.0	Espagne	[65]	
Limonène	5.4			
β -Phellandrène	5.4			
β -Caryophyllène	6.9-13.1			
δ -Cadinène	8.1			
Germacrène D	6.8			

	β -Pinène β -Phellandrène β -Caryophyllène Germacrène D γ -Cadinène	18.71 12.83 13.22-31.38 12.05 6.48	Italie	[66]
	Limonène Terpinen-4-ol α -Terpineol (Z)-3-Hex-1-enyl benzoate	10.6 29.6 11.6 6.7	Turquie	[62]
	α -Pinène β -Myrcène Limonène Terpinen-4-ol Bornyl acetate	16.5-38.5 10.2-11.5 6.8-9.8 32.7-43.8 7.1-13.5 6.8-10.3	Maroc	[67]
	Terpinen-4-ol α -Terpineol	29.9 11.6	Turquie	[54]
	Sabinène α -Pinène Germacrène D Limonène β -Phellandrène Terpinene-4-ol β -Caryophyllène <p>Cymène </p>	23.2 19.4 14.1 6.9 6.5 5.7-29.2 5.7-29.2 7.1	Turquie	[61]
	α -Pinène γ -Terpinene Terpinen-4-ol	17 9 12	Tunisie	[68]
	Terpinen-4-ol α -Terpineol Germacrène D	17.3-34.7 10.4-11.0 8.4-15.8	Algérie	[69]
	Longifolène α -Pinène β -Pinène γ -Cadinène <i>trans</i> - β -Terpineol Terpinen-4-ol γ -Muurolene sabinene	12.8-16.4 19.0 6.5 6.2 5.0-15.6 7.0 5.7 12.6	Algérie	[70]
<i>P. lentiscus</i>	α -Pinène β -Myrcène <p>Cymène Terpinen-4-ol </p>	14.8-22.6 1-19.4 1.6-16.2 14.2-28.3	Italie	[71]
	α -Pinène Myrcène Limonène	20.0-34.2 23.0-33.1 25.5-43.8	Algérie	[72]
	α -Pinène	9.4-24.9	Grèce	[73]

	β -Pinène Limonène Terpineol-4-ol	6.9 9.0-17.8 6.8-10.6		
	α -Pinène Myrcène	37.9-51.5 27.0-69.7	Algérie	[74]
	Myrcène Limonène β -Gurjunène	39.2 10,3 7.8	Maroc	[75]
	α -Pinène β -Pinène Limonène Terpineol-4-ol	24.25 12.58 7.56 6.98	Maroc	[76]
	α -Pinène Limonène Terpinene-4-ol α -Terpineol α -Phellandrène β -Caryophyllène	9.48 19.11 23.32-41.24 7.12-9.79 3.20 22.62-38.33	Tunisie	[77]
	β -Cubebène Spathulenol	5.53 13.35	Algérie	[78]

Il ressort du tableau 3 qu'il y a beaucoup de variations qualitatives et quantitatives entre la composition chimique des huiles essentielles des différentes espèces du genre *Pistacia*. Ces variations sont liées à plusieurs paramètres comme la partie étudiée, le sexe, le moment de la récolte, l'origine géographique et les conditions climatiques [51, 53, 55].

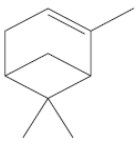
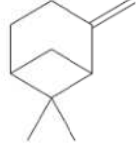
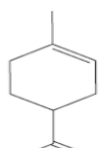
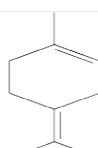
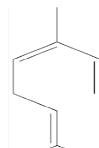
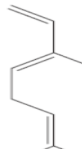
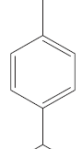

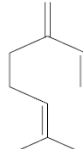
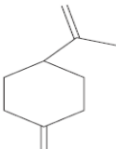
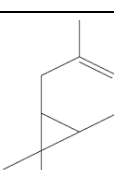
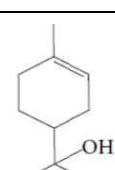
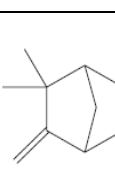
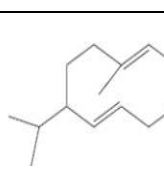
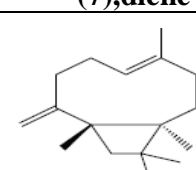
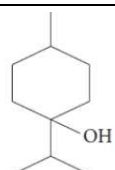
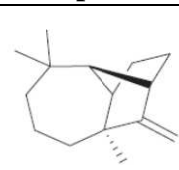
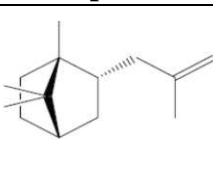
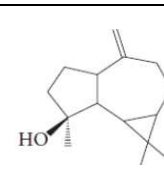
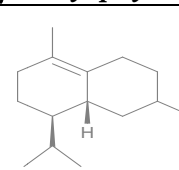
Au vu des résultats obtenus de l'étude bibliographique, on constate que les monoterpènes hydrocarbonés et les monoterpènes oxygénés sont les principaux constituants chimiques des huiles essentielles du genre *Pistacia*.

- **L' α -pinène** est majoritairement trouvé dans les huiles essentielles des espèces de *P. atlantica* [44–52] *P. vera* [53, 57], *P. terebinthus* [58–60], *P. lentiscus* [61,65–68,70-74].
- **Le limonène** est un composant majoritaire dans les huiles essentielles des fruits de *P. terebinthus* [61] et des feuilles et fruits de *P.lentiscus* [72, 73, 77].
- **Le myrcène** est majoritairement trouvé dans les huiles essentielles des feuilles et fruits de *P. atlantica* [46,50,55], les grains de *P. vera* [57] et de *P. lentiscus* [72,74, 75].
- **Le sabinène** a été identifié comme composant majoritaire isolée des huiles essentielles de *P. atlantica* [46], *P. terebinthus*[61], et de *P. lentiscus* [70].
- **L' α -terpinolène** est un composant majoritaire dans les huiles essentielles de *P. vera* [55,57].

- **Le terpinèn-4-ol** est un composant majoritaire dans les huiles essentielles de *P. vera* [54], de *P. terebinthus* [62], et de *P. lentiscus* [67, 71, 77].
- **Le camphène** est un composant majoritaire dans les huiles essentielles de *P. atlantica* [47,48, 50] et de *P. vera* [54].
- **L' α -terpinéol** est majoritairement trouvé dans les huiles essentielles de *P. atlantica* [47], *P. vera* [54], *P. terebinthus*[54,58,62], et de *P. lentiscus* [54,62,69,77].
- **Le germacrène D** a été isolé de *P. atlantica* [47], *P. terebinthus* [63], et de *P. lentiscus* [61, 65, 66, 69].
- **β -caryophyllène** a été isolé de *P. terebinthus*[60], et de *P. lentiscus* [61, 65, 66,77].

Les structures chimiques des composants majoritaires les plus fréquents dans les huiles essentielles du genre *Pistacia* sont mentionnées dans le tableau 4.

Tableau 4: Structures chimiques des principaux composants les plus fréquents dans les huiles essentielles du genre *Pistacia*

				
α-Pinène	β-Pinène	Limonène	Tèrpinolène	α-Ocimène
				
β-Ocimène	<i>p</i>-Cymène	Sabinène	Myrcène	<i>p</i>-Mentha-1(7),diène
				
δ-3-Carène	α-Terpinéol	Camphène	Germacrène-D	β-Caryophyllène
				
Terpinène 4-ol	Longifolène	Bornyl acétate	Spathulenol	δ-Cadinène

I. 1. 10 Les activités biologiques des huiles essentielles du genre *Pistacia*

Les différentes activités biologiques des huiles essentielles des espèces de *Pistacia* ont été décrites en détail dans les tableaux 5-8

I. 1. 10. a. Activité antioxydante des huiles essentielles des espèces de *Pistacia*

L'activité antioxydante des plusieurs parties des espèces de *Pistacia* a fait l'objet de plusieurs études comme le montre le tableau 5

Tableau 5: Activité antioxydantes des huiles essentielles des espèces de *Pistacia*

Espèces (Origine)	La partie étudiée	Méthode utilisée	Observation	Réf
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Feuilles	DPPH et FRAP	Une faible activité antiradicalaire	[48]
<i>P. terbintus</i> (Turquie)	Fruits	H ₂ O ₂ métal chélate	Inactif contre le radical H ₂ O ₂ Pouvoir remarquable pour le métal chélate	[60]
<i>P. lentiscus</i> (Italie)	Feuilles	DPPH	0.52- 4.61mmol/l	[71]
<i>P. lentiscus</i> (Grèce)	Parties aériennes	DPPH	IC ₅₀ :5.09 -11.0 mg/l 84.6 and 131.4 mmol	[73]
<i>P. lentiscus</i> (Tunisie)	Feuilles	DPPH, β -carotène, métal chélate	IC ₅₀ :60–110 μ g/mL Faible blanchissement de β -carotène aucune activité de métal chélate	[77]
<i>P. lentiscus</i> (Algérie)	Feuilles et fruits	DPPH	Une faible activité antiradicalaire	[78]
<i>P. lentiscus</i> (Italie)	Parties aérienne	DPPH	Une faible activité antiradicalaire	[79]

L'activité antioxydante du genre *Pistacia* a été réalisée *in vitro* par plusieurs méthodes : la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH, H₂O₂, β -carotène, métal chélate (tableau 5).

Les huiles essentielles extraites des feuilles de *P. atlantica* (Aïn-Oussera, Laghouat, Hassi R'mel d'Algérie) a montré une faible activité antioxydante du radical DPPH par rapport à l'acide ascorbique aux antioxydants [50]. Cependant l'huile essentielle des fruits de *P. terbintus* collectée en Turquie a montré des propriétés importantes pour le métal chélate par rapport à l'EDTA [62]. Les parties aériennes de *P. lentiscus* ont montré des propriétés antiradicalaires différentes selon la région géographique et la composition chimique des huiles essentielles testées [73, 75, 79, 80, 81].

I. 1. 10.b. Activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces de *Pistacia*

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces de *Pistacia* sont résumés dans le tableau 6.

Tableau 6: Activité antibactérienne des espèces de *Pistacia*

Espèces (Origine)	La partie étudiée	Méthode d'activité antibactérienne	Observation	Réf
<i>P. lentiscus</i> (Tunisie)	Feuilles	Diffusion sur disque	CMI= 30 µg/mL qui inhibe <i>Salmonella Enteritidis</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> CMI: 150 µg/mL moins actif vis a vis de <i>Salmonella typhimurium</i>	[68]
	Feuilles	Diffusion sur disque	CMI =30 - 620 µg/mL qui inhibe <i>Salmonella Enteritidis</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , et <i>Staphylococcus aureus</i> CMI= 1000 µg/mL qui inhibe <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pseudomonas. aeruginosa</i> , et <i>Escherichia coli</i> .	[80]
<i>P. lentiscus</i> (Grèce)	Gomme	Diffusion sur disque	Faible activité antibactérienne	[81]
<i>P. veras</i> (Turquie)	Gomme	Micro dilution, Diffusion sur disque	CMI de 0.05 à 1.0 µg/mL qui inhibe <i>Candida albicans</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Klabiella fragilis</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>M. smegmatis</i>	[53]
<i>P. veras</i> (Iran)	Gomme	Micro dilution, Diffusion sur disque	CMI =1.55 mg/mL qui inhibe les 12 souches testées	[82]
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Gomme	diffusion sur disque	CMI =8-11 mg/mL inhibe <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i>	[83]
	Résine	Diffusion sur disque	CMI =10 µg/mL vis-à-vis <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> mais <i>Candida albicans</i> a présenté une forte résistance	[84]

Les espèces de *Pistacia* ont présenté une activité antibactérienne significative contre diverses bactéries à Gram négatif et à Gram positives comme le montre le tableau 6.

Les huiles essentielles de *P. lentiscus*, récoltées de différentes régions de Tunisie ont été testées *in vitro* sur plusieurs isolats cliniques. Elle ont inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*, *Ent. faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *E. coli*. à des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variées entre 30 µg/mL et 1000 µg/mL [68, 80], tandis que l'huile essentielle extraite de gomme de *P. lentiscus* (Grèce) a présenté une activité antibactérienne modérée vis à vis d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus subtilis* [81].

L'huile essentielle de gomme de *P. vera*, récoltée en Turquie, sur la croissance de 13 bactéries et 3 levures a montré un effet inhibiteur sur tous les microorganismes sauf sur *Bacillus areus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*. La même espèce Iranienne a inhibé la croissance de 12 isolats cliniques avec une concentration minimale inhibitrice CMI= 1.55 mg/mL [82].

Les huiles essentielles extraites de gomme de l'espèce *P. alantica* récoltée de la région de Mascara (Ouest Algérien) a présenté un effet antibactérien modéré, qui a inhibé la croissance d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*, à une concentration minimale inhibitrice assez élevée CMI =8-11 mg/mL [83].

Cependant les huiles essentielles extraites de la résine de *P. alantica*, récoltée de trois régions de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien (Sidi-Bel-Abbès, Saida et Naama), ont inhibé modérément la croissance des souches Gram positif et Gram négatif aux concentrations de 10^2 , 10^3 et 10^4 mg/mL. La meilleure activité antibactérienne a été constatée vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis* et de *Staphylococcus aureus* avec une concentration minimale inhibitrice CMI =10 µg/mL [84].

I. 1. 10.c. Activité antitumorale des huiles essentielles des espèces de *Pistacia*

Les résultats relatifs à l'activité antitumorale des huiles essentielles du genre *Pistacia* sont consignés dans le tableau 7.

Tableau 7: Activité antitumorale des espèces de *Pistacia*

Espèces (Origine)	La partie étudiée	Méthode utilisée	Observation	Réf
<i>P. lentiscus</i> Grèce	Gomme	Cellules de carcinome du poumon de Lewis	Inhibition de la PTEN partiellement inversée sur la croissance des cellules tumorales.	[85]
		Souris immunocompétentes	Inhibition de la croissance tumorale 56,4% +/- 5,7 de volumes tumoraux.	[86]
		Modèle CAM d'angiogenèse	Exerce un effet antiprolifératif et pro-apoptotique sur les cellules leucémiques K562 humaines.	[87]

Le tableau 7 montre que les huiles essentielles extraite de *P. lentiscus* récoltée, des différentes régions de la Grèce ont exercé une activité antitumorale par inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses [85-87]. Moulos et ces collaborateurs ont montré que les carcinomes pulmonaires de Lewis exposé à l'huile essentielle extraite de la gomme de *P. lentiscus* ont provoqué une altération en fonction du temps de l'expression de gènes 925 [85].

Dans le même contexte, l'huile essentielles extraite de la gomme de *P. lentiscus* est utilisée pour aborder l'efficacité et les mécanismes d'activité antitumorale *in vivo*. Magkouta a montré que le traitement des souris immunocompétentes avec l'huile essentielle (45 mg / kg de poids corporel), par voie intraperitonéale, inhibe la croissance tumorale par une réduction significative maximale du volume de la tumeur, sans aucune toxicité [86].

Une autre étude sur l'huile essentielle extraite de la gomme de *P. lentiscus* a montré l'effet antiprolifératif et pro-apoptotique sur les cellules leucémiques K562 humaines, par inhibition de la libération de facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF), par les cellules de mélanome de souris B16 et K562 [87].

I. 1. 10.d. Activité antimutagène des huiles essentielles des espèces de *Pistacia*

Les données sur l'activité antimutagène des huiles essentielles du genre *Pistacia* sont indiquées dans le tableau 8.

Tableau 8: Activité antimutagène des espèces de *Pistacia*

Espèce (Origine)	La partie étudiée	Méthode utilisée	Observation	Réf
<i>P. lentiscus</i> (Tunisie)	Feuilles	Aflatoxine B1	Inhibition mutagène de 76,7% en 250, de 82,8% en 500, et 96,5% en 1000 μg / plaque.	[68]
		Aflatoxine B1 et azide de sodium	Diminution du nombre de révertants de <i>Salmonella typhimurium</i>	[80]

Douissa a étudié, *in vitro*, le pouvoir antimutagène d'huile essentielle extraite des feuilles de *P. lentiscus*, récoltée de Tunisie, à plusieurs concentrations 250, 500 et 1000 μg /plaque. L'effet antimutagénique était respectivement de 76,7% , 82,8% et 96,5% [68].

L'huile essentielle extraite des feuilles de *P. lentiscus* d'une autre espèce tunisienne a présenté une activité antimutagène contre l'aflatoxine B1 (AFB1) et de l'azide de sodium avec diminution du nombre de révertants de la *Salmonella typhimurium* par plaque, de manière significative [80].

CHAPITRE II

APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE SUR LE

GENRE FERULA

II. 1. Généralités sur les APIACEAE

II. 1. 1. Description botanique

Il s'agit de plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois arbustives. Les feuilles sont alternes, composées, rarement simples. Souvent, les pétioles sont élargis à leur base, engainant la tige. La tige est souvent creuse. Les fleurs sont réunies en ombelles simples ou composées. Elles comptent 5 pétales et 5 étamines et un ovaire à deux loges. Les fruits sont formés de 2 méricarpes accolés à un axe central, le carpophore, se séparant à maturité. Chaque méricarpe présente deux faces : commissurale (plane) et dorsale (convexe). La face dorsale porte au moins 5 côtes séparées par 4 vallécules contenant des canaux sécréteurs courts (bandelettes) [88, 89].

II. 1. 2. Place dans la systématique

La famille des Apiaceae, appelées anciennement Ombellifères (Umbelliferae), est une famille de plantes dicotylédones. Elle comprend près de 3 000 espèces réparties en 420 genres et sont surtout présentes dans les régions tempérées du monde. C'est une famille relativement [85] chimiques, la famille appartient à la division des Magnoliophyta (encore appelées Angiospermes ou plantes à fleurs), classe des Magnoliopsida, sous-classe des Rosidae et ordre des Apiales. Cette position systématique est discutée au sein de la communauté scientifique des Botanistes [90-92].

Les Apiaceae contiennent des plantes alimentaires (la carotte, *Daucus carota*), des condiments (le cumin, *Cuminum cyminum*), des plantes médicinales (le khella, *Ammi visnaga* et le fenouil, *Foeniculum vulgare*) ainsi que des plantes toxiques (la grande ciguë, *Conium maculatum*) [93].

Les principaux genres sont [94]:

- *Eryngium*, avec 230 espèces.
- *Bupleurum*, avec 180 espèces.
- *Ferula*, avec 170 espèces.
- *Pimpinella*, avec 150 espèces.
- *Peucedanum*, avec 120 espèces.
- *Hydrocotyle*, avec 120 espèces.

- *Angelica*, avec 100 espèces.
- *Lomatium*, avec 70 espèces.
- *Heracleum*, avec 65 espèces.
- *Apium*, avec 25 espèces.

Les genres se répartissent entre les continents, avec une prédominance pour le continent asiatique, voire le tableau 9.

Tableau 9 : Répartition mondiale des genres de la famille Apiaceae [6].

Continent	Genres	Espèces endémiques
Afrique	126	50
Amérique	197	52
Asie	256	159
Australie	36	11
Europe	139	29

II.1. 3. Répartition géographique

La famille des Apiaceae occupe une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces [7]. Cette famille est présente sur presque tout le globe, mais surtout dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et les montagnes tropicales [7] (figure 3).

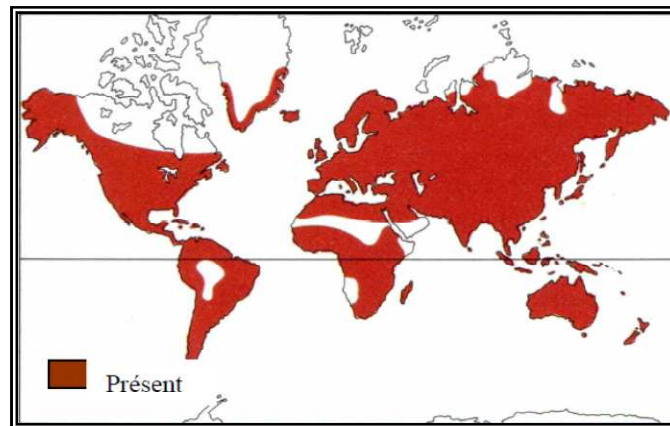


Figure 4: Répartition géographique des Apiaceae.

II. 1.4. Présentation du genre *Ferula*

La flore algérienne comprend 5 espèces de *Ferula* dont 2 sont endémiques [11]. Ce sont des plantes vivaces, à tige mesurant de 1-4 m, creuse, glabre, robuste, et à racines épaisses. Les feuilles sont toutes composées en lanières linéaires. Les fleurs sont jaunes, en ombelles à 5-40 rayons, les latérales plus petites que la centrale et souvent stériles et à involucelle nulle ou à plusieurs folioles. Le calice a 5 dents ; les pétales sont ovales, acuminés, entiers, à pointe dressée ou courbée en dedans, les styles sont étalés ou réfléchis.

Le fruit est ovale ou oblong, comprimé par le dos, glabre, entouré d'un rebord plan ; les méricarpes sont à 5 côtes, les trois dorsales filiformes, égales, les deux marginales dilatées en aile aplanie; les vallécules sont à plusieurs bandelettes, le carpophore est libre, bifide et les graines sont à face commissurale plane [88] (figure II. 2).

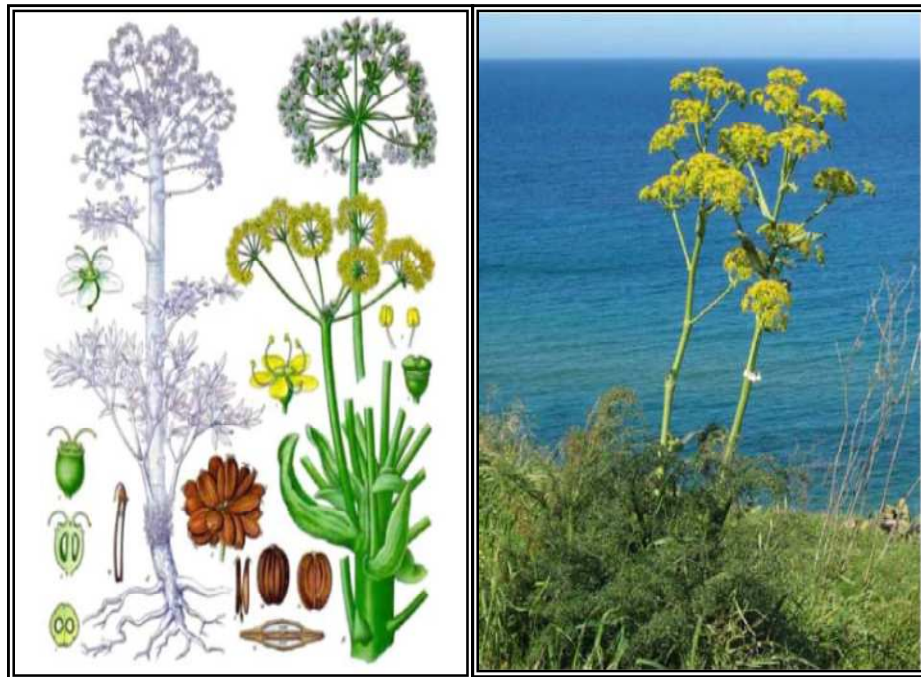


Figure 5: Images naturelles et schématiques d'espèces *Ferula*.

II. 1. 5. Répartition géographique du genre *Ferula*

Les plantes du genre *Ferula* L. croissent souvent dans les régions arides. Ce genre comporte environ 150 espèces présentes du bassin méditerranéen jusqu'à l'Asie centrale [95, 97].

II. 1. 6. Usages économiques et thérapeutiques du genre *Ferula*

De nombreuses espèces de *Ferula* sont connues depuis l'antiquité en tant que sources de gommes-oléorésines (des sécrétions obtenues par entailles répétées de la partie supérieure des racines) Les racines et les résines des espèces de *Ferula* sont souvent les parties utilisées en médecine traditionnelle [93].

II. 1.6.a. Utilisation traditionnelle de quelque espèces de *Ferula*

- *F. alliacea* Boiss. Traitement de l'épilepsie, de l'hystérie et des piqûres de scorpion. Propriétés carminatives et antiseptiques intestinales [96].
- *F. assa-foetida* L. Arômes alimentaires, propriétés expectorantes, carminatives, laxatives, stimulantes, antispasmodiques et anthelminthiques, traitement de la grippe et du cancer [96, 97].
- *F. gummosa* Source de galbanum, propriétés stimulantes, traitement de l'épilepsie, de l'hystérie et des maux d'estomac [96].
- *F. communis* L. Autrefois utilisée pour traiter l'hystérie et la dysenterie, utilisée pour son latex, pour traiter les infections de la peau [98].
- *F. persica* Willd. Source de gommes-oléorésines. Antidiabétique, utilisée aussi contre les douleurs dorsales et les rhumatismes [96].
- *F. sumbul* Hook. Source de gommes-oléorésines, propriétés antispasmodiques, stimulantes et carminatives. Pour traiter les problèmes de système nerveux [96].
- Les parties aériennes de *F. elaeochytris* sont utilisées pour augmenter la fertilité chez les animaux. Aphrodisiaque [99].
- *F. ferulago* est utilisée comme un antispasmodique [100].

II. 1.7. Rappels botaniques sur *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur.

Ferula vesceritensis est une plante vivace lorsque les conditions climatiques le permettent, pouvant atteindre plus de 1 mètre de haut. En été, elle n'est représentée que par une rigide tige creuse. Feuilles à division allongées, droite. Fleurs vertes, à pétales larges portant des poils sur leur nervure dorsale. Fruits ovales, à sommets pointus et portés par des pédoncules plus courts qu'eux [11].

II. 1.7.a. Place dans la systématique

Classement dans la systématique est comme dans le tableau 10 :

Règne	<i>Plantae</i>
Division	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Euastéridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Ferula</i>
Espèce	<i>F. vesceritensis</i> Coss. & Dur.

II. 1.7.b. Utilisations traditionnelles de *Ferula vesceritensis*

Les fruits de *F. vesceritensis* (Kalkha / Habet lehlaoua) sont utilisés en médecine traditionnelle comme infusion pour traiter les maux de tête (la migraine), la fièvre, les infections de la gorge et les angines [101].

II. 1.8. Travaux antérieurs sur le genre *Ferula*

Jusqu'à présent, plus de 70 espèces de ce genre ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques [101-108].

II. 1.9. Travaux antérieurs sur les huiles essentielles du genre *Ferula*

Les données phytochimiques du genre *Ferula* ont été rapidement développées pendant les 20 dernières années. Les huiles essentielles de centaines espèces de ce genre ont déjà fait l'objet d'études, et des centaines de composés ont été identifiés dont la majorité appartiennent aux terpenoïdes, plus précisément aux dérivés sesquiterpéniques.

Pour obtenir une meilleure compréhension de la diversité de composition des huiles essentielles du genre *Ferula*, nous présentons différentes classes de composés et leur diversité dans la composition des huiles essentielles des espèces de ce genre (tableau 11).

Tableau 11: Composants majoritaires d'huiles essentielles (% \geq 5.0) des espèces les plus étudiées du genre *Ferula*

Espèces <i>Ferula</i>	Composants majoritaire $\geq 5\%$	Pourcentage (%)	Origine	Réf
<i>F. arrigonii</i>	α -Phellandrène,	16.6	France (Corse)	[109]
	Germacrene -1(10),5-dien-11-ol	15.4		
	Linalool	12.5		
	Sabinène	5.6		
	Linalyl acetate	5.5		
<i>F. badra-kema</i>	α -Pinène	45.8	Iran	[110]
	β -Pinène	10.9		
<i>F. communis</i>	Myrcène	53.5	France (Corse)	[111]
	Aristolène	8.5		
	α -Pinène	6.6	Italie	[112]
	Aristolène	47.1		
(<i>E,E</i>)-Farnesol	21.2			
β -Gurjunene	7.6			
<i>F. elaeochytris</i>	Nonane	27.1	Turquie	[113]
	α -pinène	12.7		
	Germacrène B	10.3		
<i>F. feruloides</i>	Guaiol	58.8	Ouest de la Mongolie	[114]
	(<i>E</i>)-Nerolidol	10.2		
<i>F. flabelliloba</i>	δ -Cadinène	13.2	Iran	[115]
	α -Cadinol	12.0		
	Cadina-4,1(10)-dien-8 β -ol	10.9		
	α -Pinène	10.0		
	α -Bisabolol	7.5		
	Rosfolol	6.0		
	Limonène	5.0		
	(<i>E</i>)- β -Ocimene	5.0		
<i>F. glauca</i> (Feuilles)	10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol	14.1	Iran	[116]
	β -Dihydroagarofurane	13.3		
	α -Bisabolol	9.9		
<i>F. glauca</i> (Fleurs)	(<i>E</i>)-Caryophyllène	24.9	Italie	[116]
	Caryophyllène oxide	14.3		
	α -Humulène	6.8		
<i>F. glauca</i> (Fruits)	Germacrène D	14.2	Italie	[116]
	Myrcène	13.6		
	α -Pinène	11.7		
	β -Pinène	5.1		
<i>F. glauca</i> (Fruits)	α -Pinène	24.2	Italie	[116]
	β -Pinène	14.7		

<i>F. glauca</i> (Racines)	(<i>E</i>)- β -Farnesène	10.0	Italie	[116]
	Elemicine	9.0		
	Myristicin	7.4		
	<i>epi</i> -Zonarene	7.1		
	γ -Cadinène	6.8		
	β -Barbatène	6.1		
	β -Bisabolène	5.1		
<i>F. gummosa</i>	β -Pinène	50.1	Iran (Téhéran)	[117]
	α -Pinène	18.3		
	δ -3-Carène	6.7		
<i>F. gummosa</i> (Fruits)	β -Pinène	43.8	Iran (Isfahan)	[119]
	α -Pinène	27.3		
	β -Pinène	26.85-69.1	Plusieurs régions d'Iran	[119]
	α -Pinène	51.42- 33.9		
γ -3-Carène	10.59 -11.80			
	Limonène	1.06 - 9.15		
<i>F. gummosa</i> (Latex)	β -Pinène	58.8	Iran	[120]
	γ -3-Carène	12.1		
	α -Pinène	5.7		
<i>F. gummosa</i> (Olegum resin)	Limonène	14.0	Iran	[121]
	α -Pinène	13.0		
	Myrcène	10.0		
	Terpinolène	10.0		
	Linalool	9.0		
	γ -3-Carène	9.0		
	γ -Terpinène	6.0		
	Phellandral	5.0		
<i>F. gummosa</i> (Tiges et racines)	β -Pinène	46.4-58.8	Iran	[122]
	<i>cis</i> -Chrysanthenyl acétate	6.1		
	(<i>E</i>)-Nérolidol	5.2		
<i>F. hirtella</i>	α -Pinène	15.4	Iran	[123]
	thymol	14.9		
	Spathulenol	6.5		
	Citronéllol	6.4		
	β -Pinène	5.9		
	Limonène	5.1		
<i>F. jaeschkeana</i>	Limonène	26.0	(Kashmir) Himalaya	[124]
	<i>p</i> -Cymène	14.3		
	α -Pinène	8.3		
	Terpinen-4-ol	5.8		
<i>F. macrocolea</i>	β -Pinène	15.9	Iran	[125]
	α -Pinène	10.4		
	(<i>Z</i>)- β -Caryophyllène	8.6		
	<i>Cis</i> -Sesquisabinène hydrate	5.9		
	(<i>E</i>)- β -Caryophyllène	5.2		

	α -Pinène Nonane β -Pinène Limonène	19.2 13.2 13.0 5.4	Iran	[123]
<i>F. orientalis</i>	β -Phellandrène (<i>E</i>)- β -Ocimène α -Pinène α -Phellandrène Dehydro-sesquicineole	23.6 13.8 12.5 11.5 10.1	Turquie	[126]
<i>F. ovina</i> (Fruits)	α -pinène β -phellandrène Isobornyl acétate α -Fenchene Myrcène	37.4 10.8 9.2 8.9 5.8	Iran (Khorasan)	[127]
<i>F. ovina</i> (Parties aériennes)	Carvacrol α -Pinène Limonène Carotol	9.0 8.2 6.7 6.5	Iran (Khorasan)	[127]
	Carvacrol α -Pinène Géranyl isovalerate Géranyl propionate Limonène Carotol	9.0 8.2 7.2 7.0 6.7 6.5	Iran (Isfahan)	[128]
	α -Pinène Limonène β -Pinène α -Fenchyl acetate Bornyl acetate	50.0 11.5 9.7 7.4 6.0	Iran (Azerbaijan)	[129]
<i>F. stenocarpa</i>	α -Pinène β -Pinène	48.8 30.1	Iran	[130]
<i>F. szowitsiana</i>	α -Pinène Germacrène D β -Pinène <i>epi</i> - γ -Cadinol Myrcène β -Phellandrène Bicyclogermacrène	12.6 12.5 10.1 8.9 7.0 5.6 5.6	Iran	[131]
	Neryl acétate β -Caryophyllène α -Pinène β -Pinène	33.0 8.9 8.0 6.7	Iran	[132]
<i>F. szowitsiana</i> (Feuilles et	β -Eudesmol α -Eudesmol α -Pinène α -Caryophyllene	29.5-32.0 16.6-18.2 6.4-8.6 5.6	Turquie	[133]

Tiges)	Guaiol	5.3-5.0		
<i>F. assa-foetida</i>	(<i>E</i>)-1-Propenyl <i>sec</i> -butyl disulfide	40.0	Iran	[134]
	(<i>Z</i>)-1-Propenyl <i>sec</i> -butyl disulfide	8.7		
	Germacrène B	7.8		
	α -Pinène	5.9		
	β -Pinène	5.0		
<i>F. assa-foetida</i>	<i>sec</i> -butyl-(<i>E,Z</i>)-1-propényl disulfide	37.9	Pakistan	[135]
	1-(methylthio) propyl-(<i>E,Z</i>)-1-propényl disulfide	36.8		
<i>F. fukanensis</i>	<i>sec</i> -butyl-(<i>E</i>)-1-propényl disulfide	40.0	Chine	[136]
<i>F. latisecta</i>	<i>sec</i> -butyl-(<i>Z</i>)-propényl disulfide	65.2	Iran	[137]
	<i>sec</i> -butyl-(<i>E</i>)-propényl disulfide	6.8		
<i>F. persica</i>	Dill-apiole	57.3	Iran	[138]
	Elemicine	5.6		
<i>F. sinkiangensis</i>	<i>sec</i> -Butyl-(<i>Z</i>)-1-propenyl disulfide	44.0	Chine	[139]
<i>F. vesceritensis</i>	9, 9-Tetradecadiyne	24.7	Algérie (Ghardaia)	[140]
	Germacrène D	24.5		
	Farnesène	8.5		
	α -Bisabolène	8.5		

Le tableau 11 résume la plupart des études bibliographiques sur les huiles essentielles obtenues à partir de différentes parties d'espèces de *Ferula*. Les résultats obtenus montrent beaucoup de différences dans la composition chimique des huiles étudiées qui pourraient être attribuées aux changements climatiques et géographiques aussi bien qu'aux différences de la composition de sol, la méthode d'extraction, la partie de la plante (les fleurs, les graines, les feuilles, les tiges, l'écorce, les fruits ou les racines), l'âge de la plante et l'étape de croissance [141-142].

Les monoterpènes et les sesquiterpènes hydrocarbonés constituent le grand nombre de produits identifiés dans les huiles essentielles extraites des différentes espèces de *Ferula* avec un pourcentage \geq à 5% :

- **L' α -pinène** a été trouvé comme composant majoritaire dans les huiles essentielles de 24 espèces de *Ferula* comme un composant principale dans les huiles

essentielles 9 espèces étudiées: *F. badrakema*, *F. gluca*, *F. hutella*, *F. jaeschkeana*, *F. macrocolea*, *F. orientalis*, *F. ovina*, *F. stenocarpa* et *F. szowitsiana* [110,116, 123, 124, 126, 127, 129, 130, 131].

- **Le β -pinène** a été trouvé comme composant majoritaire dans les huiles essentielles de 12 espèces de *Ferula* comme un composant principal dans *F. macrocolea* [125] et *F. gummosa* [122, 120, 118].
- **Le limonène** a été trouvé comme composant majoritaire dans les huiles essentielles de 9 espèces de *Ferula* [115, 119, 123, 127, 128, 129], comme un composant principal dans *F. gummosa* [121] et *F. jaeschkeana* [124].
- **Le myrcène** a été trouvé comme composant majoritaire dans les huiles essentielles de 5 espèces de *Ferula* *F. gluca*, *F. gummosa*, *F. ovina*, *F. szowitsiana* [116, 121, 127, 131] et comme un composant principal dans *F. communis* [111].
- **Le germacrène D** a été trouvé comme composant majoritaire dans les huiles essentielles de 3 espèces de *Ferula*, *F. szowitsiana* [131], *F. vesciritensis* [140] et comme un composant principal dans *F. gluca* [116].
- **Le β -phellandrène** a été trouvé comme composant majoritaire dans les huiles essentielles de 3 espèces de *Ferula*, *F. ovina* [127], *F. szowitsiana* [131] et comme un composant principal dans *F. orientalis* [126].

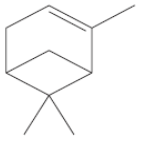
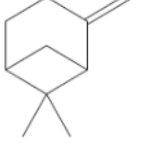
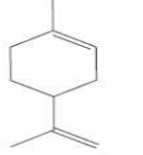
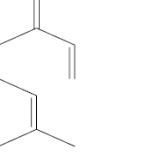
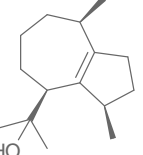
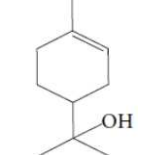
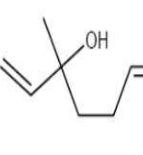
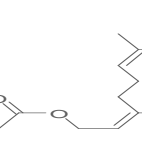
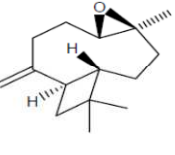
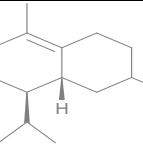
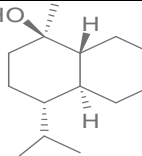
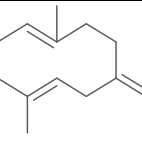
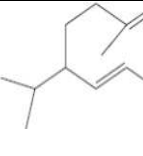
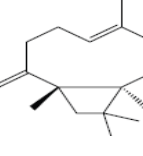
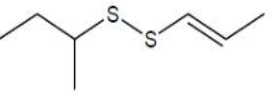
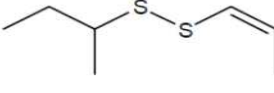
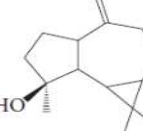
Une échelle possible pour la classification des huiles essentielles obtenues à partir de *Ferula* spp. pourrait être basée sur la présence de composés soufrés parmi les composants identifiés de l'huile. Selon cette mesure, les huiles de *F. assa foetida*, *F. fukanensis*, *F. latisecta*, *F. persica* et *F. sinkiangensis* ont été trouvées pour contenir des composés de soufre tandis que d'autres huiles sont dépourvues de ces composés. Parmi leurs composants identifiés le *sec*-Butyl-(*Z*)-propenyl disulfure et le *sec*-butyl-(*E*)-propenyl disulfure se sont révélés être les composés soufrés qui se produisent dans les huiles essentielles d'espèces de *Ferula*.

Les composés les plus fréquents sont l' α -pinène, le β -pinène, le myrcène et limonène (monoterpènes), le linalol, l' α -terpineol et l'acétate de néryle (monoterpènes oxygénés), le β -caryophyllène, le germacrène B, le germacrène D et l' δ -cadinène (sesquiterpènes hydrocarbonés), l'oxyde caryophyllène, l' α -cadinol, le guaiol et le spathulenol

(sesquiterpènes oxygénés) et le sec-butyl- (Z) - propényl disulfure sec-butyle et (E), et le disulfure de -propényl (composés soufrés) [146].

Les structures chimiques des composants majoritaires les plus fréquents dans les huiles essentielles du genre *Ferula* sont résumés dans le tableau 12

Tableau 12: Structures chimiques des principaux composants les plus fréquents dans les huiles essentielles du genre *Ferula*

				
<i>α</i>-Pinène	<i>β</i>-Pinène	<i>Limonène</i>	<i>Myrcène</i>	<i>Guaiol</i>
				
<i>α</i>-Terpineol	<i>Linalool</i>	<i>Néryl acétate</i>	<i>Caryophyllène oxide</i>	
				
<i>δ</i>-Cadinène	<i>α</i>-Cadinol	<i>Germacrène-B</i>	<i>Germacrène-D</i>	<i>β</i>-Caryophyllène
				
<i>Sec- Butyl-(Z) propeny disulphide</i>		<i>Sec- Butyl-(E) propeny disulphide</i>		<i>Spathuléol</i>

II. 1.10. Activités biologiques des huiles essentielles du genre *Ferula*

Les huiles essentielles du genre *Ferula* possèdent des activités biologiques diverses: antimicrobienne, anti-inflammatoire, anticonvulsivante, antimycobactérienne, antioxydante antispasmodique, et hypotensive [96-100]. Au moins, une partie des activités biologiques des plantes de ce genre peut être attribuée à leurs huiles essentielles [110-146].

II. 1.10.a. Activité antioxydante des huiles essentielles des espèces de *Ferula*

L'activité antioxydante des huiles essentielles d'espèces de *Ferula* a fait l'objet de plusieurs études comme le montre le tableau 13.

Tableau 13: Activité antioxydante d'huiles essentielle des espèces de *Ferula* :

Espèces (Origine)	La partie étudiée	Méthode d'activité antioxydante	Observation	Réf
<i>F. assafoetida</i> (Iran)	oléo-gomme-résine	Méthode de ROS, RNS, H ₂ O ₂ et TBARS	CI ₅₀ (mg/mL) = ORG ₁ 0.012 ± 0.0020 ORG ₂ 0.025 ± 0.0023 ORG ₃ 0.035 ± 0.0012	[144]
<i>F. heuffelii</i> (Serbie)	Les racines	Méthode du DPPH	L'activité substantielle avec SC ₅₀ = 22,43 µg / mL	[145]
<i>F. orientalis</i> (Turquie)	Parties aériennes	Méthode de DPPH β-carotène/ linoléique acide	L'activité antioxydante relative de HE =28%	[126]

Les huiles essentielles extraites de *F. assa foetida*-oléo-gommes-résines (OGRS) récoltée en Juin 15 (OGR1), 30 Juin (OGR2) et 15 Juillet (OGR3) 2011. ont montré une activité de piégeage des radicaux avec des CI₅₀: 0,012 à 0,035, 0,025 à 0,047 et 0,035 à 0,066 mg / mL, respectivement [144].

L'huiles essentielle obtenue des racines de *F. heuffelii* a été testé contre l'effet de piégeage du radical libre DPPH, cette huile essentielle a montré une activité substantielle avec un SC₅₀ = 22,43 µg / mL [145].

L'huile essentielle extraite des parties aériennes de *F. orientalis* a montré un potentiel antioxydant fort vis à vis du radical DPPH et pour le dosage de β-carotène/ acide linoléique [126].

II. 1.10.b. Activité antimicrobienne des huiles essentielles des espèces de *Ferula*

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des espèces de *Ferula* sont résumés dans le tableau 14.

Tableau 14: Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielle des espèces de *Ferula*

Espèces (Origine)	La partie étudiée	Méthode utilisée	Observation	Réf
<i>F. heuffelii</i> (Serbie)	Racines	Diffusion sur disque + CMI	Inhibe <i>Candida albicans</i> à CMI = 7,0 et 13,7 µg / mL, et <i>Micrococcus luteus</i> à CMI = 13,7 µg / mL et <i>Staphylococcus epidermidis</i> à CMI = 17,6 µg / mL, et <i>Bacillus subtilis</i> à CMI = 21,1 µg / mL et <i>Micrococcus flavus</i> à CMI = 28,2 µg / mL	[145]
<i>F. badrakema</i> (Iran)	Fruit	Diffusion sur disque	Une faible activité vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[110]
<i>F. gluca</i> (Italie)	Parties aérienne	Diffusion sur disque	Une faible activité vis-à-vis de <i>Staphylococcus mutans</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> et <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Candida albicans</i> ont présenté une forte résistance	[116]
<i>F. latiescta</i> (Iran)	Fruits	Diffusion sur disque	Inhibe <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Candida albicans</i>	[137]
<i>F. gummosa</i> (Iran)	Fruits	Diffusion sur disque	Inhibe <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus épidermus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurim</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> et <i>Candida kefir</i> .	[118]
<i>F. gummosa</i> (Iran)	Graines	Diffusion sur disque	actif contre les <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> et moins actif contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[146]
<i>F. szowitsiana</i> (Iran)	Feuilles	Diffusion sur disque + CMI	Inhibe <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i>	[133]
<i>F. szowitsiana</i> (Turquie)	Parties aérienne	Diffusion sur disque	inhibe <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> ,	[132]

			<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas. aeruginosa</i> et les souches fongiques <i>Aspergillus Niger</i> <i>Candida albicans</i>	
<i>F. assa-fotida</i> (Iran)	Graines	diffusion sur disque	Inhibe les 5 espèces fongiques d' <i>Aspergillus</i> : <i>A. awamori</i> , <i>A. niger</i> , <i>flavus</i> , <i>A. foetidus</i> and <i>A. oryzae</i>	[147]
<i>F. assa-fotida</i> (Inde)	Les résines	Diffusion sur disque + CMI	Inhibe <i>Escherichia coli</i> et <i>Bacillus subtilis</i> à CMI= 5 µg /mL Inhibe 70% de <i>Penicillium chrysogenum</i> et <i>Aspergillus ochraceus</i>	[148]
<i>F. assa-fotida</i> (Iran)	Oléogomme -résine	Diffusion sur disque + CMI	CMI= 0.028-0.111, 0.027-0.107 et 0.018-0.058 mg/mL	[144]

L'huile essentielle de *F. heuffelii* présente une activité antimicrobienne contre les deux souches de *Candida albicans* (CMI = 7,0 et 13,7 µg / mL), ainsi que contre *Micrococcus luteus* (CMI = 13,7 µg / mL), *Staphylococcus epidermidis* (CMI = 17,6 µg / mL), *Bacillus subtilis* (CMI = 21,1 µg/mL) et *Micrococcus flavus* (CMI = 28,2 µg / mL) [145].

L'huile essentielle de *F. badrakema* a présenté une activité modérée *vis-à-vis* des bactéries à Gram positif: *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* et de la souche fongique *Candida albicans*. Cependant, les souches à Gram négatif d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa* semblent résistantes aux effets inhibiteurs de cette huile [110].

Dans une autre étude, les huiles essentielles de *F. glauca* ont été évaluées pour l'activité antibactérienne et antifongique. Les résultats ont montré que *Bacillus subtilis* à Gram-positif était la souche la plus sensible. Les huiles essentielles ont également montré une activité inhibitrice modérée contre *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* et *Escherichia coli* alors qu'aucune activité remarquable n'a été observée contre *S. aureus* et *Candida albicans* [110].

L'huile essentielle de fruits de *F. latisecta*, a inhibé la croissance de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, mais n'a eu aucun effet sur *P. aeruginosa* et *E. coli* [137].

L'huile essentielle extraite des fruits de *F. gummosa* a présenté une forte activité antibactérienne et antifongique contre *S. aureus*, *S. épiderme*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, et *P. aeruginosa* et les champignons *Candida albicans* et *C. kefir* [118].

L'huile essentielle de graines de *F. gummosa* a également été rapportée pour être active contre les *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* et moins active contre *P. aeruginosa* [146].

L'huile essentielle extraite des feuille de *F. szowitsiana*, possède une activité antimicrobienne contre *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* et aux souches résistantes à la méthicilline *S. aureus* et *S. epidermidis*. à une CMI de 0,156 à 1,25 µg / mL [133].

L'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes de *F. szowitsiana* a inhibé *Bacillus subtilis* *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et les souches fongiques *Aspergillus Niger* et *Candida albicans* [145].

L'activité antifongique d'huile de graine de *F. assa foetida* a été testée contre cinq espèces des moisissures alimentaires *Aspergillus* (*A. awamori*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. foetidus* and *A. oryzae*). elle a montré un pouvoir inhibiteur pour les trois étapes de la reproduction asexuée, la germination des spores, la croissance du mycélium, et la formation de spores [147].

Les huiles essentielles isolées des deux variations de *F. assa foetida* (Pathani et Irani) ont été testées contre 13 organismes bactériens et fongiques d'origine alimentaire. Pathani était le plus efficace contre les bactéries comme *E. coli* et *Bacillus subtilis* avec une zone d'inhibition de 18 mm et 28 mm, respectivement à une concentration minimale inhibitrice de 5 µg / ml. L'huile essentielle d'Irani a montré respectivement 75 et 70% d'inhibition de la croissance de *Penicillium chrysogenum* et *Aspergillus ochraceus* alors que l'huile volatile de Pattani inhibé 49 et 45% des souches fongiques [148].

Les huiles essentielles extraites des oléo-gomme-résine de *F. assa foetida* ont inhibé la croissance des microorganismes *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans* à une concentration minimale inhibitrice qui varie entre 0.028-0.111, 0.027-0.107 et 0.018-0.058 mg/mL des huiles essentielles de OGR1, OGR2 et OGR3, respectivement [144].

II. 1.10.c. Activité anticonvulsive des huiles essentielles des espèces de *Ferula* :

L'huile essentielle des fruits de *F. gummosa* était évaluée pour l'activité anticonvulsive contre les crises expérimentales. L'huile essentielle n'a aucun effet sur les crises induites par un électrochoc mais elle protège les souris contre les crises induites par le

pentylènetétrazole. Mais, la dose protectrice produit une neurotoxicité et était trop proche de la dose DL₅₀ d'huile essentielle [117].

II. 1.10.d. Activité Spasmolytique des huiles essentielles des espèces de *Ferula*

L'activité spasmolytique des espèces de *Ferula* a fait l'objet de plusieurs études comme le montre le tableau 15.

Tableau 15: Activité spasmolytique des huiles essentielles des espèces de *Ferula*

Espèces (Origine)	La partie étudiée	Méthode utilisée	Observation	Réf
<i>F. gummosa</i> (Iran)	oléo-gomme-résine	KCl et l'acétylcholine	un effet relaxant sur l'iléon isolé des rats	[121]
<i>F. heuffelii</i> (Serbie)	Les racines	KCl et l'acétylcholine	à 86,64 µg /ml présentait 50% de l'effet maximum relaxant de l'atropine	[145]

Sadraei et ces collaborateurs [121] ont montré que l'huile essentielle extraite d'oléo-gomme-résine de *F. gummosa* possède un effet relaxant sur l'iléon isolé des rats contre les contractions induites par le KCl et l'acétylcholine. Les auteurs ont indiqué qu'au moins une partie de cet effet inhibiteur peut être dûe à l' α -pinène et au β -pinène qui sont les composants majoritaires de l'huile essentielle.

L'huile essentielle extraite des racines de *F. heuffelii* a été testée pour l'activité antispasmodique. Elle a inhibé la contraction spontanée de l'iléon isolé des rats à la concentration de 86,64 µg /mL présentant 50% de l'effet maximum de l'atropine. Après incubation avec 75,00 µg /mL de l'huile essentielle, l'acétylcholine n'a pas induit des contractions de l'iléon, et à 250,00 µg /mL, l'huile essentielle a aboli presque complètement l'effet spasmodique du chlorure de potassium (80 mM) [145].

II. 1.10.e. Effet des huiles essentielles de *Ferula* sur la fonction érectile

L'huile essentielle extraite des graines de *F. harmonis* a révélé que cette plante pourrait améliorer la fonction érectile chez les rats. Mais elle peut aussi causer une certaine toxicité quand elle est utilisée pendant une longue période [149].

CHAPITRE III

*ACTIVITÉS BIOLOGIQUES : Antioxydante,
Anticholinestérase et Antibactérienne*

III. 1. Activité antioxydante

III. 1.1. Généralités sur les antioxydants

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels a augmenté considérablement à cause de leurs propriétés thérapeutiques. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires [150-152].

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants synthétisés ou d'origine naturelle possèdent des groupements hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) et superoxydes (O_2^\bullet) [153-156].

III. 1.2. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de différents radicaux [157-160] on cite:

- Le test du diphényl picrylhydrazyl (**DPPH**).
- La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (**ABTS**^{•+}).
- Le test de blanchissement ou de décoloration du bêta-carotène (**Système β -carotène /Acide linoléique**).
- Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques, chélation des ions ferreux (**FRAP**) en anglais: "ferric reducing antioxidant power".
- Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions cupriques (**CUPRAC**) en anglais: "Cupric reducing antioxidant capacity".

III. 1.2.a- Le test du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de coloration violette foncée, il absorbe à 517 nm, lorsqu'il est réduit, en présence de composés anti radicalaires, il change de couleur en virant au jaune (figure 6). Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•], qui est proportionnel au pouvoir antioxydant de l'échantillon [161].

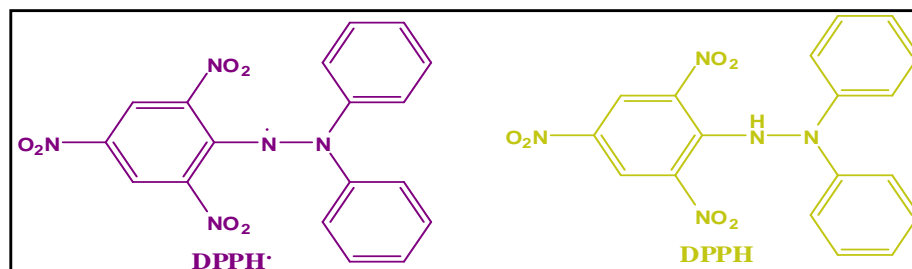


Figure 6 : La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH[•].

III. 1.2.b- La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+})

L'ABTS[•] est un radical libre stable. Il est très utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des huiles essentielles, des extraits ou bien des composés purs [153]. Ce radical cation est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleu (figure 7). Le radical formé est stable avec des coefficients d'extinction molaire élevés à 416, 650 et 734 nm. La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à ces longueurs d'onde [156].

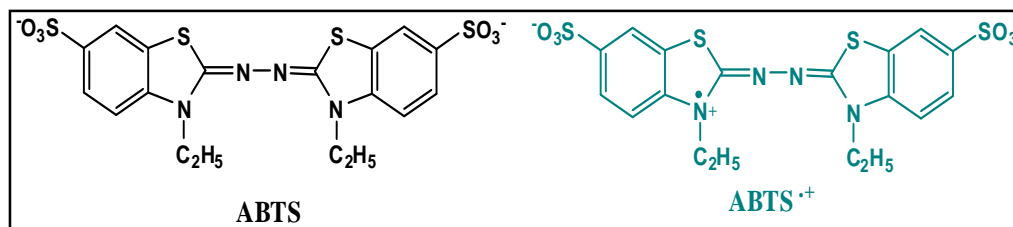


Figure 7 : La forme réduite ABTS et la forme radical de cation ABTS^{•+}.

III. 1.2.c- Le test de blanchissement ou de décoloration du bêta-carotène (Système β -carotène /Acide linoléique)

Dans ce test, l'activité antiradicalaire des huiles essentielles est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydatif du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres qui vont par la suite oxyder le β -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, cette méthodes est suivie spectrophotométriquement à 490 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène [162].

III. 1.2.d- Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions cuprique (CUPRAC)

La méthode du CUPRAC a été développée par Apak et ces coauteurs [163, 164]. Ce dosage est basé sur la réduction de Cu^{2+} en Cu^+ par l'action combinée de tous les antioxydants ou les réducteurs dans un milieu aqueux-éthanolique (pH=7,0) en présence de Néocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline), par les polyphénols, donnant un complexe Cu^+ avec un pic d'absorption maximale à 450 nm (figure 8) [165]. Cette méthode peut être utilisée pour la détermination de la capacité antioxydante des huiles essentielles par le complexe Cu^{2+} Neocuproïne (Cu^{2+} -Nc) en tant que réactif oxydant chromogène. Ce procédé est capable de mesurer à la fois des antioxydants hydrophiles et hydrophobes.

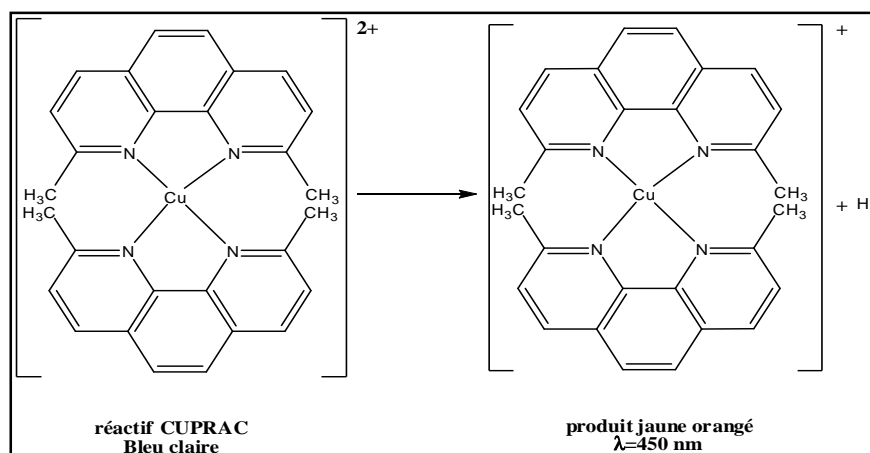


Figure 8: Réaction de CUPRAC par une molécule antioxydante

III. 1.2.e- Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques, chélation des ions ferreux (FRAP)

La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleue [166]. Selon la figure 9 la capacité chélatrice des huiles essentielles étudiée est déterminée selon la méthode de Decker et ses collaborateurs La méthode est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrosine après le traitement des échantillons avec les ions Fe^{2+} [167].

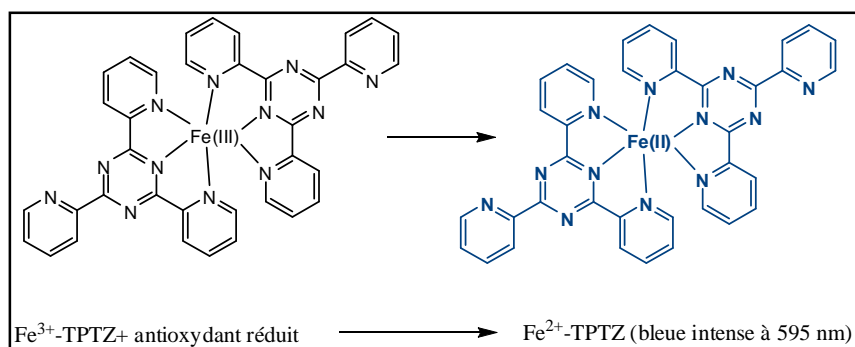


Figure 9: Réaction de test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) [168].

III. 2. Activité anticholinestérase

III. 2.1. Généralités sur la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative (perte progressive de neurones) incurable du tissu cérébral qui entraîne la perte progressive et irréversible des fonctions du cerveau et notamment la mémoire. C'est la forme la plus fréquente de démence chez l'être humain.

Cette maladie est décrite par le médecin allemand Alois Alzheimer en 1906 [169].

"Dans la Maladie d'Alzheimer (MA), les cellules nerveuses se détériorent progressivement", surtout celles produisant de l'acétylcholine, substance importante pour la mémoire. On a montré qu'il existe une baisse de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau de patients atteints de MA [170].

III. 2.2. Les cholinestérases

Il existe deux types de cholinestérases, distinguées par leur affinité pour l'acétylcholine et la butylcholine :

- L'acétylcholinestérase (**AChE**) ou acétylcholine acétylhydrolase, identifiée au départ dans le plasma et dans les synapses.
- La pseudocholinestérase ou butylcholinestérase (**BChE**) ou cholinestérase plasma- arique ou encore acylcholine acylhydrolase, identifiée au départ dans le foie.

L'enzyme de dégradation, l'acétylcholinestérase (**AChE**), se trouve à la fois dans les compartiments présynaptiques du neurone cholinergique et postsynaptique du neurone cholinocéptif (figure 10) [171]. Le compartiment postsynaptique répond à l'AChE par l'intermédiaire de récepteurs de type muscarinique ou de type nicotinique. La glie adjacente contient de la butyrylcholinestérase (**BChE**). L'inhibition des AChE ou BChE par des agents pharmacologiques exerce un effet cholinomimétique en retardant l'hydrolyse de l'AChE. Ils furent les premiers agents pharmacologiques administrés dans la MA et restent les principaux même si leurs effets sont hétérogènes et parfois décevants.

Le système cholinergique joue un rôle dans le contrôle du débit sanguin cérébral [172], dans l'attention et l'éveil cortical [173].

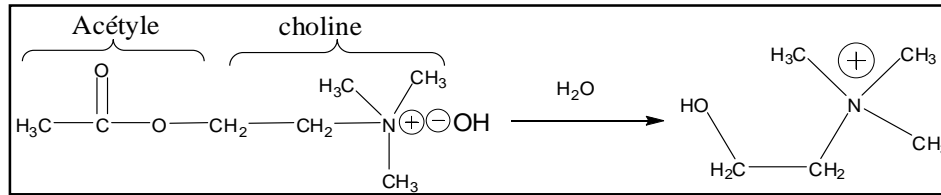


Figure 10: Réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine

III. 2.3. Méthodes de mesure des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Afin de détecter les activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE), plusieurs méthodes sont disponibles. Les principales reposent sur des tests colorimétriques, telles que la méthode d'Ellman [174].

III. 2.3.a- Méthode d'Ellman :

La méthode d'Ellman est la méthode standard utilisée pour détecter et surtout quantifier une inhibition de l'AChE [174]. Elle est basée sur le clivage de l'acétylthiocholine par l'AChE, cette réaction produit de la thiocholine qui réagit avec le 5,5' dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un anion de couleur jaune (figure 11).

Cette méthode, en plus de quantifier l'inhibition sous forme d'IC50 (concentration diminuant l'activité enzymatique de moitié), permet également d'étudier les paramètres cinétiques et par conséquent le taux d'inhibition.

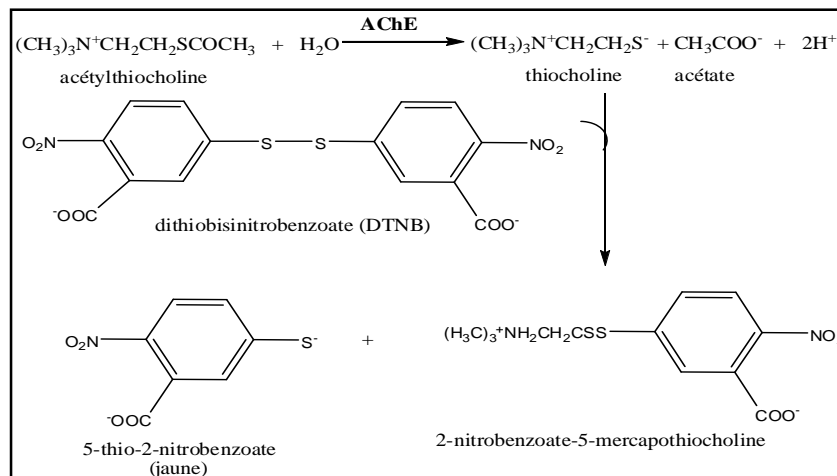


Figure 11: Réaction colorimétrique d'Ellman.

III. 2.4. Les traitements de la maladie d'Alzheimer :

A ce jour, la maladie d'Alzheimer reste incurable. Il existe cependant des traitements permettant d'atténuer les troubles cognitifs, sans empêcher la progression de la maladie. La plupart agissent sur l'activité cholinergique [175], et spécialement les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) qui est une enzyme présente dans le tissu neuronal cette dernière permet la régulation de l'influx nerveux : en dégradant l'acétylcholine résiduelle issue d'une neurotransmission. L'une des solutions pour augmenter le taux d'acétylcholine au niveau synaptique consiste alors à diminuer sa dégradation, ceci en inhibant l'effet de l'enzyme d'acétylcholinestérase (figure 12).

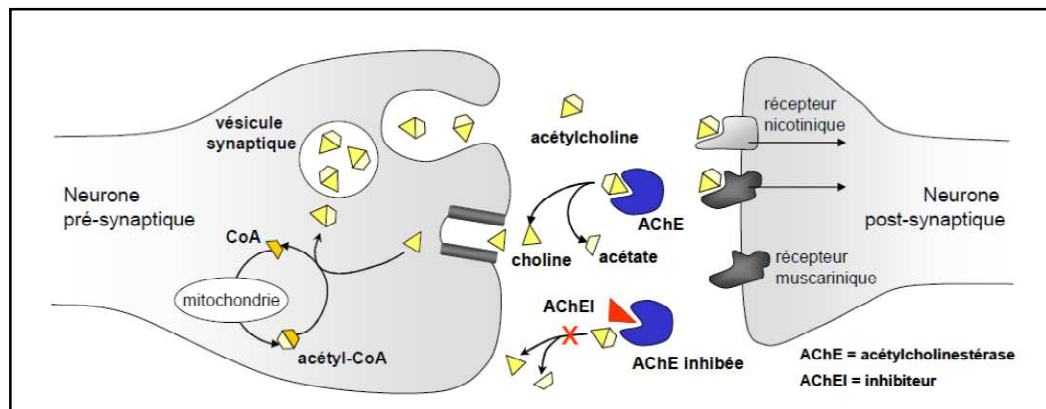


Figure 12: Mécanismes de neurotransmission cholinergique [175].

III. 3. Activité Antibactérienne :

III. 3.1. Généralités sur les antibactériens :

Une substance antibactérienne ou bactéricide est une substance possédant la capacité de tuer des bactéries, elle fait intervenir tous les caractères structuraux et métaboliques qui leur donnent une individualité parmi les microorganismes et permettent de les distinguer d'une part des champignons inférieurs et des protozoaires, d'autre part [176].

III. 3.2. Les méthodes antibactériennes *in vitro* :

Il existe trois méthodes pour déterminer l'activité antibactérienne *in vitro*:

- Méthode de diffusion sur disques.
- Méthode de diffusion en puits.
- Méthode de microatmosphère.

III. 3.2. a- Méthode de diffusion sur disques des huiles essentielles :

Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues [177]. L'aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode de disques est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antimicrobienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton) [177].

III. 3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants. A l'aide d'une anse calibrée à 2 µL, les contenus des tubes dans lesquels aucun trouble n'a été observé ont été prélevés et ensemencés sur une gélose Mueller-Hinton, en commençant par le tube de la CMI [177].

III. 3.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution en milieu solide :

Même si les huiles essentielles sont considérées comme des additifs salubres, leur utilisation est souvent limitée par les critères organoleptiques de l'aliment. Pour cette raison, il sera nécessaire de déterminer la CMI (c'est à dire la plus faible concentration en huile capable d'inhiber toute croissance bactérienne sans affecter la qualité sensorielle de l'aliment), car selon l'effet recherché et les bactéries ciblées, la concentration ne sera pas la même [178].

PARTIE II
MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHARTRE I
MATÉRIEL VÉGÉTAL

I. 1. *Pistacia atlantica* Desf.

La plante a été récoltée en Mars 2012, dans la région de Berriane-Ghardaïa par Mr. Chawki Bensouici et identifiée par le professeur Gérard de Bélair (Université Badji-Mokhtar, Annaba). Un échantillon (Pa 03/12) est conservé dans l'herbier du laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST) au département de chimie, université de Constantine 1. Après séchage dans un endroit sec, à l'abri des rayons solaires, les fleurs et les feuilles ont été pesées séparément 100g (figure 13).



Figure 13: *Pistacia atlantica* Desf. [www.rarepalmseeds.com]

I. 2. *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur

La plante a été récoltée en Mars 2011, dans la région de Berriane-Ghardaïa par Mr. Chawki Bensouici et identifiée par le professeur Gérard de Bélair. (Université Badji-Mokhtar, Annaba). Un échantillon (Fv 03/11) est conservé dans l'herbier du laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques (LOST), au département de chimie, université de Constantine 1. Après séchage dans un endroit sec à l'abri des rayons solaires, les fleurs et les tiges ont été pesées séparément 100g des fleurs et des tiges ont été utilisés à l'état frais (figure I. 14).



Figure 14: *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur [www.science.mnhn.fr]

CHAPITRE II

*EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES
DE Pistacia atlantica Desf. ET Ferula
vesceritensis Coss. & Dur.*

II. 1. Hydrodistillation des huiles essentielles

II. 1.a. *Pistacia atlantica* Desf.

La plante récoltée a été séparée en fleurs et en feuilles (100 g chacune), qui ont été hydrodistillées pendant 3 h dans un appareil de type Clevenger, produisant des huiles jaunes, *Pistacia atlantica* fleurs PAFI (1,7%) et *Pistacia atlantica* feuilles PAFe (1,5%) (w / w) . Les huiles ont été séchées sur Na₂SO₄ anhydre et conservées à 4 °C avant les analyse GC et GC-MS et les tests biologiques.

II. 1.b. *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur

La plante récoltée a été séparées en fleurs et en tiges, une partie des fleurs et des tiges a été séchée à température ambiante. Les fleurs et les tiges fraîches (FF, TF) ont été hydrodistillées pendant 3 h, dans un appareil de type Clevenger. Ensuite, les fleurs et les tiges séchée (FS, TS) étaient également hydrodistillées, produisant des huiles jaunes de FF (1,8%), FS (1,6%), TF (1,6%), TS (1,4%) (p/p), qui ont été séchées sur Na₂SO₄ anhydre et conservées à 4 °C avant l'analyses GC et GC-MS et les tests biologiques.

II. 2. Analyse GC et GC/MS

2.1.a- Analyses GC des huiles essentielles de *Pistacia atalantica*

Les analyses GC des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse Shimadzu GC2010 équipé d'une colonne DB-5 MS réticulé (30 m × 0,25 mm, épaisseur de film de 0,25 µm). La température du four a été programmée comme isotherme à 50°C pendant 5 min, puis à 275°C par une vitesse de 5°C / min et maintenue à cette température pendant 5 min. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1 ml / min.

II. 2.1. b-Analyses GC/MS des huiles essentielles de *Pistacia atalantica*

Les analyses GC/MS ont été réalisées à l'aide d'un GC Shimadzu GC2010 couplé à un détecteur sélectif de masse Shimadzu QP2010 MS. Les conditions opératoires sont les mêmes que pour la GC analytique. Les paramètres d'exploitation MS étaient les suivants:

- 0,1 μL de l'huile essentielle a été mélangé avec de l'éther diéthylique (40%).
- le potentiel d'ionisation : 70 ev.
- courant d'ionisation : 2 A.
- température de trappe d'ions : 200 ° C.
- résolution : 1000.
- temps de scans : 5 s.
- bande de scans de 40 à 400 u.
- rapport de split : 01:50.
- vitesse linéaire : 30,0 cm / s.

Les pourcentages relatifs aux composés identifiés ont été calculés à partir de la GC par intégrateur informatisé

II. 2.2.a- Analyse GC des huiles essentielles de *Ferula vesceritensis*

Les analyses GC des huiles essentielles de *Ferula vesceritensis* ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse Varian CP3800 équipé d'une colonne VF5-MS réticulé (30 m \times 0,25 mm, épaisseur de film de 0,25 μm). La température du four a été programmée comme isotherme à 60°C pendant 5 min, puis à 275°C par une vitesse de 5°C / min et maintenue à cette température pendant 5 min. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1 ml / min.

II. 2.2. b-Analyses GC/MS des huiles essentielles de *Ferula vesceritensis*

Les analyses GC/MS des huiles essentielles de *Ferula vesceritensis* à l'aide d'un GC varian couplé à un détecteur sélectif de masse Saturn 2200. Les conditions opératoires sont les mêmes que pour la GC analytique. Les paramètres d'exploitation MS étaient les suivants:

- 0,1 μL de l'huile essentielle a été mélangé avec de l'éther diéthylique (40%).
- le potentiel d'ionisation : 70 ev.
- courant d'ionisation : 2 A.
- température de trappe d'ions : 180 ° C.
- résolution : 1000.
- temps de scans : 5 s.
- bande de scans de 40 à 400 u.

- rapport de split : 01:30.
- vitesse linéaire : 30,0 cm / s.

Les pourcentages relatifs aux composés identifiés ont été calculés à partir de la GC par intégrateur informatisé

II. 3. Identification des composants

Les composants d'huiles essentielles ont été identifiés en fonction de leurs indices de rétention (RI) (déterminé par référence à une série homologue d'alcane normaux), et par comparaison de leurs modèles de fragmentation de spectrométrie de masse avec ceux rapportés dans la littérature [179-181].

CHAPITRE III

*ACTIVITÉS BIOLOGIQUES : Antioxydante,
Anticholinestérase et Antibactérienne*

III. 1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des huiles essentielles a été testée par 5 méthodes : DPPH, ABTS^{•+}, β-carotène, métal chélation et CUPRAC.

III. 1.1. Activité antiradicalaire DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl)

Le dosage spectrophotométrique a été effectué dans des microplaques de 96 puits. utilisant le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) comme réactif, 40 µl de différentes concentrations des huiles essentielles ont été ajoutés à 160 µl de solution de 0.4 mM de DPPH dans le MeOH. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été lue contre un blanc (MeOH) à 517 nm. La microplaque est insérée dans le spectrophotomètre (SpectraMax 340PC³⁸⁴ : lecteur de microplaques à 96 puits/ logiciel PRO v5.2 software) [182].

Les résultats ont été enregistrés en termes de pourcentage d'inhibition (I %) selon la réaction suivante :

$$(I\%) = (A_{\text{Blanc}} - A_{\text{extrait}} / A_{\text{Blanc}}) \times 100$$

A_{Blanc} : Absorbance de la réaction témoin contenant tous les réactifs sauf l'extrait.

A_{Extrait} : Absorbance de la réaction contenant de l'extrait.

Les résultats sont la moyenne des analyses en *triplicata*, ils ont été enregistrés en moyenne ± écart type. La concentration d'extrait fournissant 50% d'activité de piégeage des radicaux (IC₅₀) a été calculée à partir du graphe de DPPH.

Le BHA et le α-tocophérol ont été utilisés comme des standards antioxydants [182,183].

III. 1.2. La décoloration ABTS, acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+})

L'ABTS^{•+} est un radical libre stable, dans cette méthode nous avons utilisé la méthode de Re et ces co-auteurs avec une légère modification [183-185].

Le radical ABTS⁺ a été produit par la réaction entre 7 mM d'ABTS dans H₂O et 2.45 mM de persulfate de potassium, le mélange a été stocké dans l'obscurité à température ambiante entre 12h-16h. avant utilisation.

La solution a été diluée par l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0.708 ± 0.025 à 734 nm. Ensuite, 160 µl de la solution d'ABTS⁺ on été ajoutés à 40µl de la solution de l'extrait dans l'éthanol à différentes concentrations. Ainsi que l'antioxydant standard α -tocophérol dépose déjà en triplicata sur une microplaque à 96 puits.

Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm, en utilisant un lecteur de microplaques de 96 puits. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés pour chaque concentration par rapport à l'absorbance du blanc (EtOH). La capacité de piégeage de l'ABTS⁺ a été calculée selon la réaction suivante :

$$(I\%) = (A_{\text{Blanc}} - A_{\text{huiles}} / A_{\text{Blanc}}) \times 100$$

A_{Blanc}: l'absorbance de la réaction témoin contenant tous les réactifs sauf l'extrait.

A_{Huiles}: l'absorbance de la réaction contenant l'huiles essentielle.

Le BHA et le α -tocophérol ont été utilisés comme des standards antioxydants

III. 1.3. Le test de blanchissement ou de décoloration du bêta-carotène (Système β -carotène /Acide linoléique)

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie par un spectrophotomètre à 490 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène [183,186].

0,5 mg β -carotène dans 1 ml de chloroforme a été ajouté à 25 µl de l'acide linoléique, et 200 mg de Tween 40 mélange d'émulsifiants. Après évaporation du chloroforme sous vide, 100 ml d'eau distillée saturée avec de l'oxygène, ont été ajoutés sous agitation. Quatre mille microlitres de ce mélange ont été transférés dans différents tubes à essai contenant différentes concentrations de l'échantillon dans de l'éthanol. Dès que l'émulsion a été

ajoutée à chaque tube, le temps zéro absorbance a été mesuré à 470 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Un système d'émulsion dépourvue de β -carotène a été incubé pendant 2 heures à 50 °C dans un bain-marie. Le BHT et le α -tocophérol ont été utilisés comme étalons. Le taux de blanchissement (R) de β -carotène a été calculé selon l'équation suivante:

$$R = \ln(a/b)/t$$

$\ln = \log$, a = absorbance à t (0 min), b = absorbance à t (120 min). l'activité antioxydante a été enregistrée en termes de pourcentage d'inhibition (AA %) selon l'équation suivante:

$$(AA\%) = (R_{\text{Blanc}} - R_{\text{huiles}} / R_{\text{Blanc}}) \times 100$$

III 1. 4. Chélation des ions ferreux

L'activité de chélation des ions Fe^{2+} a été mesurée en utilisant la Ferrine [187]. La solution des extraits à différentes concentrations (40 μl) a été ajoutée à: 40 μl EtOH, 40 μl FeCl_2 (0.2 mM) et 80 μl feréne (0.5 mM). L'absorbance a été mesurée après 10 min à 562 nm. L'activité de métal chélation a été calculée selon l'équation suivante:

$$\text{Activité de métal chélation (\%)} = (A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Huile}} / A_{\text{Contrôle}}) \times 100$$

- $A_{\text{Contrôle}}$ est l'absorbance de l'échantillon dépourvu de l'huile
- A_{huiles} est l'absorbance de l'échantillon en présence de l'huile

L'EDTA a été utilisé comme un standard antioxydant pour la comparaison de l'activité de nos huiles.

III. I.5. La réduction cuprique (CUPRAC)

L'activité antioxydante par réduction cuprique (CUPRAC) des extraits a été déterminée selon la méthode de Apak et ces co-auteurs [188].

Pour chaque unité d'une plaque de 96 unités, des solutions ont été ajoutées: 50 μl de Cu(II) (10 mM), 50 μl de neocuproïne (7.5 mM), 60 μl de tampon NH_4Ac (1 M, pH = 7), et 40 μl de l'huile à différentes concentrations.

Après une heure du temps et à l'aide d'un lecteur de microplaques, l'absorbance a été enregistrée contre un blanc à 450 nm.

III. 2. Activité anticholinestérase

Les activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase (**AChE**) et de la butyrylcholinestérase (**BChE**) ont été mesurées utilisant la méthode spectrophotométrique d'Ellman et ses collaborateurs avec une légère modification [188,189]. Les enzymes AChE de l'anguille électrique et BChE de sérum de cheval ont été utilisés, tandis que l'iodure d'acétylthiocholine et le chlorure butyrylthiocholine ont été utilisés comme substrats de la réaction (**AChE** et **BChE** respectivement) de l'acide 5,5'-dithio-bis 2-nitrobenzoïque (DTNB), pour la mesure de l'activité anticholinestérase.

Brièvement, pour mesurer l'activité inhibitrice AChE, un mélange de: 130 µl du tampon de phosphate de sodium (100 mM, pH = 8), 10 µl d'huile à différentes concentrations, et 20 µl de l'enzyme AChE (5.32×10^{-3} U), ont été incubés pendant 15 min à 25°C, puis 20 µl de DTNB (0.5 mM) ont été ajoutés. La réaction est ensuite initiée par l'addition de 20 µl d'iodure d'acétylthiocholine (0.71 mM).

la détermination de l'activité inhibitrice de BChE a suivi les mêmes étapes de celles de l'AChE, en utilisant l'enzyme BChE (6.85×10^{-3} U) et le substrat chlorure butyrylthiocholine (0.2 mM).

L'hydrolyse de ces substrats a été surveillée par spectrophotométrie la coloration jaune de 5-thio-2-nitrobenzoate formé par la réaction de DTNB avec la thiocholine, libérée par l'hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine ou de chlorure de butyrylthiocholine.

L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques à une longueur d'onde de 412 nm.

Le pourcentage d'inhibition des enzymes AChE ou BChE a été déterminé par comparaison de la réaction de l'échantillon comportant l'huile par rapport à l'échantillon à blanc (EtOH dans du tampon phosphate (pH = 8) à l'aide de la formule suivante:

$$I (\%) = (E - S)/E \times 100$$

E : l'activité de l'enzyme sans huile

S : l'activité de l'enzyme en présence d'huile

Les expériences ont été réalisées en *triplicata*, utilisant la galantamine comme composé de référence.

III. 3. Activité antibactérienne

III. 3.1. Identification des souches

Les souches testées sont des souches de référence (ATCC), et les autres sont identifiées au niveau du centre hospitalo-universitaire Ben Badis de Constantine (CHU).

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée en deux étapes selon la méthode de Bauer et ces co-auteurs et CLSI, 2007 [190, 191].

III. 3.2. Microorganismes testés

III. 3.2.a- Microorganismes testés sur les huiles essentielles de *Pistacia atlantica*:

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Streptococcus enterococcus*
- *Enterobacter aerogenes*
- *Proteus vulgaris*
- *Salmonella typhimurium*

III. 3.2.b- Microorganismes testés sur les huiles essentielles de *Ferula vesceritensis*:

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Klebsiella pneumoneae*
- *Morganella morganii*
- *Enterobacter aerogenes*

III. 3.3. L'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé (Méthode des disques)

La technique utilisée dans notre travail est la technique de CLSI, 2007 [191]. Le milieu standard utilisé est le Mueller-Hinton. L'épaisseur de la gélose doit être strictement de 4 mm répartie uniformément. Nous avons utilisé le papier Whatman N°3 coupé en disques de 6 mm. Ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer et doivent être stériles (figure 15).

L'ensemencement de l'*inoculum* de 1 mL est réalisé sur la surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Les boîtes sont laissées pour refroidir pendant 15 min à température ambiante (sur la paillasse) [192].

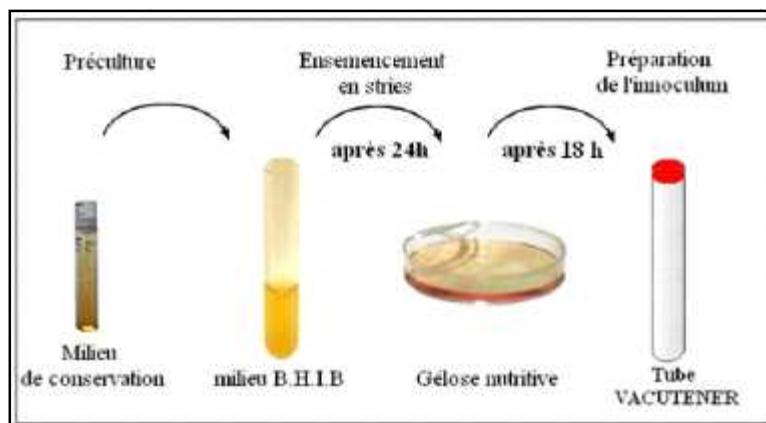


Figure 15: Préparation de l'inoculum.

Des disques stériles (6 mm de papier Whatman N°3) imprégnés d'une quantité des huiles essentielles à l'état pur sont déposés au centre des boîtes. Celles-ci sont ensuite fermées et laissées diffuser pendant 20 mn puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Après incubation, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antibactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque. Pour chaque disque, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle. Ces diamètres mesurés sont comparés à des diagrammes des antibiotiques de référence.

Une fois l'antibiogramme réalisé et les diamètres des zones d'inhibition mesurés avec précision, on passe à la deuxième étape de l'étude de l'activité antibactérienne ; il s'agit de la détermination de la CMI (figure 16).

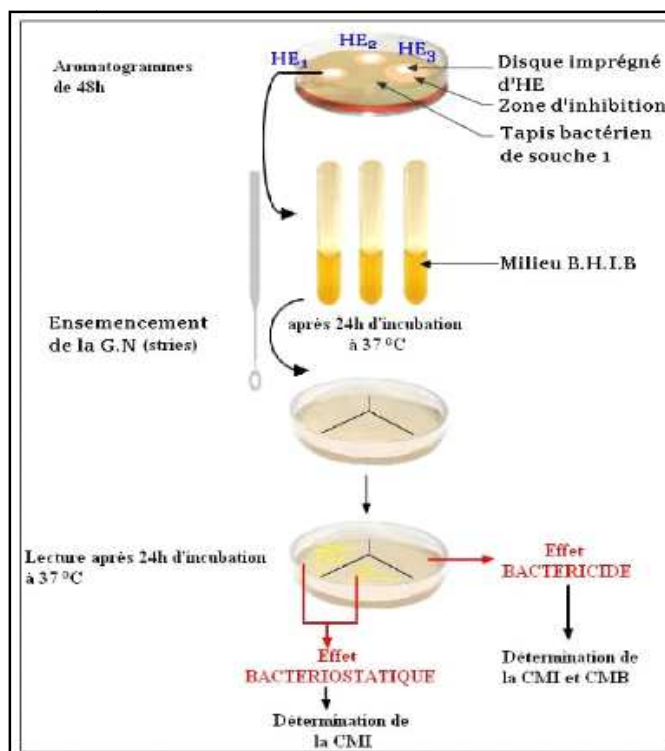


Figure 16: Activité antibactérienne des huiles essentielles

III. 3.4. Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)

la solution mère a été préparée en solubilisant 20 mg des huiles essentielles de chaque plante dans une solution de 10mL d'eau distillée.

Pour avoir la concentration de 1280 $\mu\text{g/mL}$ à partir de la solution de 2000 $\mu\text{g/mL}$, on prend 6,4 ml de cette dernière à laquelle on ajoute 3,6 ml d'eau distillée.

Les étapes à suivre pour la détermination de la CMI sont

- préparer une culture en phase exponentielle en milieu liquide de la bactérie à étudier.
- repiquer les bactéries étudiées dans 10 mL de bouillon M-H.
- mettre à l'étuve à 37°C pendant 3 à 5 heures, jusqu'à l'apparition d'une légère opalescence.
- ajouter 1 mL de ce bouillon à 10 mL de bouillon M-H, préalablement chauffé à 37°C.

- mettre 2 mL de chaque dilution de la gamme de l'extrait déjà préparé dans une boîte de pétri, en allant de la concentration la plus forte vers la concentration la plus faible.
- ajouter 18mL de la gélose M-H chauffée à 45°C, bien mélangée aux boîtes de pétri.
- laisser les boîtes de pétris quelques minutes sur la paillasse pour que la gélose se solidifie.
- sécher Les boîtes pendant 30 minutes à l'étuve à 37°C.
- ensemer en stries, à l'aide d'une anse de platine ou à la pipette rodée, sur toutes les boîtes contenant l'huile essentielle sans oublier la boîte témoin. Incuber les boîtes pendant 18 h à 37°C et faire la lecture [191, 192].

III. 4. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyennes \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI_{50} (Concentration d'inhibition à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)], les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par " student's t-test" et le test ANOVA univarié. les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

PARTIE III
RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE I

*COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES
ESSENTIELLES DE Pistacia atlantica Desf. ET
Ferula vesceritensis Coss. & Dur.*

I.1. *Pistacia atlantica* Desf.

I. 1. 1. Composition chimique des huiles essentielles de *P. atlantica* :

Les huiles essentielles des parties aériennes de *P. atlantica* (feuilles et fleurs) ont été obtenues par l'hydrodistillation. Les analyses GC et GC-MS des huiles ont révélé la présence de trente composés dans l'huile des feuilles (PAFe) et vingt deux composés dans l'huile de fleurs (PAFl) (tableau 16).

Tableau 16: Composition chimique des huiles essentielles de feuilles et de fleurs de *P. atlantica*

Composants $\geq 0.1\%$	IR	PAFe %	PAFl %	Méthodes d'identification
α -Thujène	930	0.9	4.42	MS, RI
α -Pinène	939	18.41	30	MS, RI
Camphène	954	0.40	2.70	MS, RI
Sabinène	975	1.72	2.75	MS, RI
α -Phellandrène	1003	8.93	11.09	MS, RI
α -Terpinène	1017	0.39	17.32	MS, RI
Limonène	1029	5.90	8.94	MS, RI
β -Phellandrène	1030	5.49	13.45	MS, RI
α -Terpinolène	1089	0.41	0.37	MS, RI
Linalool	1091	0.32	0.45	MS, RI
l-Terpineol	1134	-	0.45	MS, RI
Terpinen-4-ol	1177	-	0.67	MS, RI
Pulegone	1237	0.21	-	MS, RI
Limonène dioxide	1294	2.69	-	MS, RI
Thymol	1290	0.73	-	MS, RI
β -Elemène	1391	7.50	-	MS, RI
Caryophyllène	1409	1.03	1.52	MS, RI
Aromadendrène	1441	-	0.45	MS, RI
Ledène	1473	0.67	-	MS, RI
γ -Gurjunène	1477	10.06	-	MS, RI
Germacrène-D	1485	4.75	0.40	MS, RI
β - Guiaïène	1493	0.90	-	MS, RI
Germacrène-A	1508	0.63	-	MS, RI
δ -Cadinène	1514	0.42	0.30	MS, RI
Germacrène-B	1561	6.17	0.39	MS, RI
Spathulenol	1578	10.67	0.47	MS, RI
Caryophyllène oxide	1583	-	0.40	MS, RI
Globulol	1585	0.73	-	MS, RI
Guaiol	1601	1.05	-	MS, RI
β -Eudesmol	1651	0.79	-	MS, RI
α -Eudesmol	1654	1.49	-	MS, RI

α -Cadinol	1654	4.6	-	MS,RI
Guaiol acetate	1727	-	0.22	MS,RI
Sclareol	2223	-	0.18	MS,RI
Total (%)		97.96%	96.94%	

IR: Indice de rétention

PAFe: *P. atlantica* feuilles

PAFl: *P. atlantica* fleurs

Les composants identifiés représentent 97.96% (PAFe) et 96.94% (PAFl), nous avons constaté que les huiles essentielles testées sont riches en monoterpènes et sesquiterpènes oxygénés. Les principaux composants présents dans les huiles essentielles sont : α -pinène (PAFe 18.41%, PAFl 30%), α -phellandrène (PAFe 8.93%, PAFl 11.09%), β -phellandrène (PAFe 5.49%, PAFl 13.45%), α -terpinène (PAFe 17.32%), limonène (PAFe 5.90%, PAFl 8.94%), β -élémente (PAFe 7.50%), γ -gurjunène (PAFe 10.06%), germacrène-B (PAFl 6.17%) et spathuléol (PAFe 10.67%).

Les variations dans la composition entre les huiles essentielles PAFe et PAFl peuvent être expliquées par la volatilité et la biotransformation de monoterpènes, qui procèdent souvent en plusieurs voies métaboliques conduisant à un mélange de produits et qui peuvent subir une auto-oxydation spontanée [193].

Les résultats obtenus pour la composition des huiles essentielles de *P. atlantica*, (Berriane-Ghardaïa) montrent la présence de l' α -pinène (PAFe18.41%, PAFl 30%), le limonène (PAFe 5,90%, PAFl 8,94%) et le spathulenol (PAFe 10.67%) comme constituants principaux, ce qui est en accord avec la littérature (tableau 17), mais elle diffère considérablement des études antérieures sur des huiles essentielles algériennes de *P. atlantica* recueillies auprès de Laghouat et d'Aïn-Oussera, [47,48], en raison de la domination de certains autres composés majeurs comme l' α -phellandrène, le β -phellandrène, l' α -terpinène, le β -élémente, le γ -gurjunène et le germacrène-B, qui sont rapportés ici en tant que composants majoritaires pour la première fois dans les huiles essentielles du genre *Pistacia*.

Tableau 17: Composants majoritaires des huiles essentielles de *P. atlantica* de différentes régions géographiques:

Origine géographique	Composants majoritaires	Pourcentage \geq 5%	Réf
Iran (Kurdistan)	α -Pinène, Citral, Myrtenol	70.0, 5.7, 5.31	[44]
Maroc (Marrakech)	α -Pinène, β -Pinène, Terpinèn-4-ol, Bornyl acetate, Elémol	42.9,13.2,21.7 , 21.5,20.0	[45]
Grèce	α -Pinène, Sabinène, Myrcène, Terpinen-4ol, <i>p</i> -Mentha1(7),8-diène	11.6,14.9-52.1,17.8-34.5,6.0 -25.7,41.1-42.4	[46]
Algérie (Aïn-Oussera)	α -Pinène, Camphène, β -Pinène, Limonène, α -Terpinéol, Germacrène D	32.6-54.7,10.0,8.0 20.0,6.9,9.2, 11.1	[47]
Algérie (Aïn-Oussera) (Laghout)	α -Pinène, Camphène, β -Pinène, <i>p</i> -Cymène, Terpinèn-4-ol, Spathuléol	6.2-40.4, 20.8, 13.2, 10.19, 15.9, 32.6	[48]
Iran (Kurdistan)	α -Pinène, β -Pinène	81.9, 7.4	[49]
Iran (Fars province)	α -Pinène, Camphène, β -Pinène, Myrcène	68.2 -57.9, 5.0- 8.7, 6.0-7.0, 15.3-14.3	[50]
Iran (Marvdasht)	α -Pinène, Myrcène, Limonène	55.0, 11.44, 10.08	[52]

D'après le tableau 17, l' α -pinène semble être un chimiotype de *P. atlantica*. Les différences qualitatives et quantitatives dans la composition des huiles peuvent être expliquées par plusieurs facteurs tels que le sexe des plantes [46], la période de la collecte [71], et à l'origine géographique [48], le temps de récolte, les conditions, ainsi que la méthode d'extraction.

I. 2. *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur.

I. 2. 1. La composition chimique des huiles essentielles de *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. :

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation des parties aériennes fraîches et sèches de (fleurs et tiges) de *F. vesceritensis*. Les analyses GC et GC-MS des huiles ont révélé la présence de quarante-quatre composés pour les fleurs fraîches (FF), cinquante composés pour les fleurs sèches (FS), trente-neuf composés pour les tiges fraîches (TF) et trente-sept composés pour les tiges sèches (TS). L'étude comparative a montré que le pourcentage total des composants volatiles des huiles essentielles étaient de 97,9% (FF), 88,6% (FS), 96,4% (TF) et 87,4% (TS), respectivement (tableau 18), la valeur la plus élevée de l'huile essentielle était obtenue pour les parties fraîches.

Tableau 18: Composition chimique des huiles essentielles de *F. vesceritensis* (FF, DF, FS, et DS).

Composants	IR	FF %	FS %	TF %	TS %	Méthodes d'identification
Heptane	700	0.3	-	-	-	MS, RI
2-Méthylheptane	766	-	-	-	0.9	MS, RI
acide Isovalérique	827	0.2	-	0.2	-	MS, RI
n-Héxanol	863	0.1	-	-	-	MS, RI
2-Ethoxyéthylacétate	903	0.1	-	-	-	MS, RI
α -Thujène	924	0.4	1.1	0.5	-	MS, RI
α -Pinène	932	32.0	16.1	11.5	17.4	MS, RI
Camphène	946	0.7	0.3	0.6	1.0	MS, RI
β -Pinène	974	-	1.9	8.1	8.9	MS, RI
Myrcène	988	0.2	1.1	0.2	-	MS, RI
δ -2-Carène	1001	-	0.9	-	-	MS, RI
δ -3-Carène	1008	0.1	0.4	-	-	MS, RI
α -Phellandrène	1002	8.5	24.3	-	-	MS, RI
3-Ethyl-4 méthylpentanol	1020	-	-	0.1	-	MS, RI
<i>p</i> -Cymène	1020	-	1.8	0.1	-	MS, RI
Limonène	1024	0.5	3.4	0.7	-	MS, RI
β -Phellandrène	1025	-	2.7	-	-	MS, RI
E- β -Ocimène	1044	-	2.4	-	-	MS, RI
γ -Terpinène	1054	-	1.8	0.4	-	MS, RI
<i>cis</i> -sabinène hydrate	1065	0.6	-	-	-	MS, RI
Fenchone	1083	0.6	-	0.2	0.8	MS, RI
Linalool	1095	0.4	-	0.3	-	MS, RI
α -Pinène oxide	1099	0.5	-	0.3	-	MS, RI
Isophorone	1118	-	-	-	1.3	MS, RI
<i>trans-p</i> -Mentha-2,8 diénol	1119	0.3	-	-	-	MS, RI

α -Campholénal	1122	-	-	0.2	0.2	MS, RI
<i>cis-p</i> -Mentha-2,8-dien-1ol	1133	-	-	-	0.7	MS, RI
<i>trans</i> -Pinocarvéol	1135	0.8	-	0.6	2.9	MS, RI
<i>cis</i> -Verbénol	1137	2.5	-	1.8	3.5	MS, RI
Camphor	1141	-	-	-	0.3	MS,RI
<i>p</i> -menthone	1148	-	0.6	-	-	MS,RI
Pinocarvone	1160	0.5	-	0.3	0.6	MS,RI
Terpinèn-4-ol	1174	0.3	0.2	0.2	-	MS,RI
α -Terpinéol	1186	0.1	0.2	0.2	-	MS,RI
Myrténol	1194	0.6	-	0.6	-	MS, RI
Myrténal	1195	0.2	-	0.2	2.9	MS, RI
<i>nor</i> -Davanone	1228	-	0.3	-	-	MS, RI
Fenchyl acétate	1229	10.4	0.9	7.3	8.8	MS, RI
Bornyl acetate	1283	1.1	0.2	0.8	1.1	MS, RI
<i>p</i> -Cymèn-7-ol	1289	0.2	-	0.2	0.3	MS, RI
2-Undecanone	1293	-	-	0.1	0.4	MS, RI
α -Cubebène	1345	0.1	-	0.1	0.9	MS, RI
α -Copaène	1377	0.2	0.2	0.4	0.4	MS, RI
Géranyl acétate	1379	-	-	-	0.3	MS, RI
β -Cubebène	1387	-	-	0.2	0.3	MS, RI
3-Dodécanone	1389	0.2	-	-	0.3	MS, RI
β -Elemène	1389	0.3	2.8	0.7	-	MS, RI
α -Funebrène	1402	-	-	0.3	-	MS, RI
β -caryophyllène	1417	0.2	0.3	2.3	-	MS, RI
β -Gurjunène	1431	0.9	0.5	1.4	2.4	MS, RI
Aristolène	1444	5.4	0.3	7.2	6.8	MS, RI
α -Acoradiène	1460	0.2	-	-	-	MS, RI
γ -Gurjunène	1475	-	-	0.2	-	MS, RI
γ -Muuroène	1478	2.8	0.4	3.9	0.4	MS, RI
α -Muuroène	1500	0.7	-	0.9	0.6	MS, RI
Elixène	1505	-	6.3	5.4	-	MS, RI
<i>trans</i> -Cycloisolongifol-5-ol	1513	-	-	0.2	-	MS, RI
Germacrène A	1508	-	0.2	0.5	0.4	MS, RI
γ -Cadinène	1514	2.7	0.8	2.0	1.0	MS, RI
α -Copaèn-11-ol	1539	0.5	-	1.1	0.5	MS, RI
Caryophyllényl alcohol	1570	-	0.1	0.4	1.1	MS, RI
Germacrène D-4-ol	1574	-	0.4	4.0	-	MS, RI
Spathuléol	1577	-	0.7	0.4	1.5	MS, RI
Caryophyllène oxide	1582	4.3	2.3	7.6	4.6	MS,RI
Globulol	1590	-	-	-	1.5	MS,RI
Viridiflorol	1592	-	-	0.2	0.1	MS,RI
Carotol	1594	13.9	10.7	18.8	10.8	MS,RI
Guaiol	1600	-	0.3	-	-	MS,RI
Alloaromadendrene epoxide	1639	1.1	-	-	-	MS, RI
Cubéol	1645	-	-	-	1.5	MS, RI
α -Cadinol	1652	2.2	0.5	2.5		MS, RI
α -Selina-11-en-4-ol	1658	-	0.5	-	-	MS, RI
otal (%)		97.9	88.6	96.4	87.4	

FF: fleurs fraîches, FS: fleurs sèches, TF: tiges fraîches, TS: tiges sèches.

IR: Indice de rétention comparé à la littérature [179].

Les composants majoritaires des huiles essentielles de *F. vesceritensis* sont l' α -pinène (FF 32%, FS 16.1%, TS 11.5%, TS 17.4%), le β -pinène (TF 8.1%, TS 8.90%), l' α -phellandrène (FF 8.5%, FS 24.3%), le fenchylacétate (FF 10.4%, TF 7.3%, TS 8.8%), l'elixène (FS 6.3%, TF 5.4%), l'aristolène (FF 5.4%, TF 7.2%, TS 6.8%), le caryophyllène oxide (TF 7.6%) et le carotol (FF 13.9%, FS 6.7%, TF 18.8%, TS 10.8%).

Les huiles essentielles analysées dans cette étude ont montré des composants différents en qualité et en quantité, par rapport à l'huile essentielle des feuilles de l'espèce algérienne *F. vesceritensis* récoltée du Sud-Est Algérien (Mai 2010), qui a été caractérisée principalement par : 9, 9-tétradecadiyne (24.72%), germacrène -D (24.51%), farnesène (8.57%) et α -bisabolène (8.57%) [140]. Cela peut être dû à la phase de croissance, la localité et le temps de collection.

Il est important de mentionner que c'est la première fois pour le genre *Ferula* que l' α -phellandrène, le fénchyl acétate, l'elixène, l'aristolène et le carotol ont été trouvés comme composants majoritaires.

En accord avec la littérature, les huiles essentielles étudiées sont constituées d'un pourcentage important de monoterpènes bicycliques (α -pinène et β -pinène). L' α -pinène et le β -pinène ont été trouvés comme composants majeurs dans les huiles essentielles de *F. gummosa* Boiss. des fruits (18.3%, 50.1%) [118], *F. szovitsiana* D.C (8.0%, 6.7%)[194], *F. badrakema* (10.9%, 45.8 %) [110], *F. communis* L, subsp. *glauca*, récolté en Mars (centre d'Italie) (0.3-24.2%, 0.1-14.7%). [116], *F. lycia* Boiss. (59.9%, 19.0%) [195], *F. gummosa* Boiss. de Kashan, Iran (58.8%, 5.7%) [120], *F. jaesekheana* Vatke (30%, 16.2%) [194], *F. stenocarpa* Boiss. & Hausskn (48.8%, 30.1%) [130], et *F. assafoetida* (21.30 %, 47.10%) [144], respectivement. Cependant l' α -pinène a été détecté, sans la présence de β -pinène, comme composant principal dans les huiles essentielles de *F. foliosa* *F. lutea*, *F. communis* de l'Algérie, *F. flabelliloba* et *F. ovina* (35.10% , 25.8% , 20.9%, 10.0%, 8.2%, respectivement) [196-198, 115, 128]. Il est à noter que le caryophyllène oxide (13.90%) était également présent principalement dans l'huile essentielle de *Ferula communis* L. subsp. *glauca*, récolté en Mars du centre d'Italie [116].

On peut considérer que l' α -pinène et le β -pinène sont des chémotypes des huiles essentielles du genre *Ferula*. En revanche, les variations dans la composition d'huiles essentielles isolées à partir des fleurs fraîches et fleurs séchées d'une part et de tiges fraîches et tiges sèches, d'autre part, peut être expliquée par la biotransformation de monoterpènes [193]. Cette biotransformation des terpènes souvent procède en plusieurs voies métaboliques conduisant à un mélange de produits. L'auto-oxydation spontanée des monoterpènes qui sont des composés relativement instables peut influencer sur la composition des huiles essentielles isolées de la plante fraîche et sèche. Par ailleurs, c'est la première fois que l' α -phellandrène, le fenchylacétate, l'elixène, l'aristolène et le cartol sont trouvés comme composants majoritaires dans les huiles essentielles du genre *Ferula*.

CHAPITRE II

*ACTIVITÉS BIOLOGIQUES : Antioxydante,
Anticholinestérase et Antibactérienne*

II. 1. Activités antibactérienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. et *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur.

II. 1.1. Activité antibactérienne de *Pistacia atlantica*

Les huiles essentielles extraites des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* sont riches en α -pinène (PAFe 18.41%, PAFI 30%) qui a déjà été signalé comme agent antibactérien [199]. Ce monoterpène exerce son activité antimicrobienne sur les micro-organismes par la perturbation l'intégrité de la membrane des bactéries intégrité [199].

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* par la méthode de diffusion sur disque. Les huiles testées ont inhibé à la fois la croissance des bactéries à Gram (+) et Gram (-). L'activité la plus élevée se reflète contre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus* et *E. coli* avec des diamètres de zones d'inhibition de 32 mm, 30 mm, 29 mm, 28 mm et 28 mm, respectivement (tableau 19).

Tableau 19. Activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles et de fleurs de *P. atlantica* Desf. (Zones d'inhibition, mm)

Microorganismes	Zone d'inhibition (mm)			
	Antibiotiques (10 μ g /mL)		Huiles essentielles (128 μ g /mL)	
	Ampi ^a	Genta ^a	PAFe	PAFI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^b	18	22	28	32
<i>Escherichia coli</i> ^c	-	-	22	28
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 ^b	30	-	30	30
<i>Staphylococcus aureus</i> ^c	-	13	24	28
<i>Pseudomonas aerugina</i> ATCC 27853 ^b	-	-	18	25
<i>Pseudomonas aerugina</i> ^c	-	12	18	23
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^c	14	21	22	24
<i>Streptococcus enterococcus</i> ^c	-	-	20	25
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^c	-	-	23	30
<i>Proteus vulgaris</i> ^c	19	20	22	25
<i>Salmonella typhimurium</i> ^c	-	-	28	29

PAFe: *P. atlantica* feuilles, PAFl: *P. atlantica* fleurs, ^a Control: Ampicilline et Gentamicine, ^b provenant de l'institut Pasteur (Alger), ^c cliniquement isolées du laboratoire de bactériologie (CHU Benbadis Constantine, Algérie).

Les valeurs de CMI ont varié entre 16 et 80 µg/mL (tableau 20). Ces résultats sont en accord avec les études antérieures sur l'activité antibactérienne des extraits et des huiles essentielles de *P. atlantica* [84-200]. Ces résultats appuient l'utilisation traditionnelle de *P. atlantica* comme remède de diverses infections [202]. En outre, les huiles essentielles des feuilles et de fleurs de *P. atlantica* ont montré des valeurs remarquables de CMI contre *Salmonella typhimurium* (PAFe 40 µg/mL et PAFl 32 µg/mL). Ainsi, les huiles essentielles que nous avons étudiées peuvent être utilisées contre les infections à *Salmonella*.

Tableau 20. Concentration minimale inhibitrice CMI (µg/mL) des huiles essentielles de *P. atlantica* Desf.

Microorganismes	CMI ^a (µg /mL)			
	Antibiotiques (µg /mL)		Huiles essentielles	
	Ampi ^a	Genta ^a	PAFe	PAFl
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^b	10	10	32	16
<i>Escherichia coli</i> ^c	-	-	80	40
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 3300 ^b	5	-	16	16
<i>Staphylococcus aureus</i> ^c	-	15	32	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 ^b	-	-	40	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^c	-	5	80	40
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^c	10	5	80	60
<i>Streptococcus enterococcus</i> ^c	-	-	60	40
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^c	-	-	80	40
<i>Proteus vulgaris</i> ^c	10	10	60	32
<i>Salmonella typhimurium</i> ^c	-	-	40	32

PAFe: *P. atlantica* feuilles, PAFI: *P. atlantica* fleurs, ^a CMI : concentration minimale inhibitrice; ^b Control ; Ampicilline et Gentamicine, ^c Provenant de l'institut Pasteur (Alger), ^d cliniquement isolées du laboratoire de bactériologie (CHU Benbadis Constantine, Algérie).

II. 1.2. Activité antibactérienne de *Ferula vesceritensis*

Les analyses GC et GC-MS ont montré que les huiles essentielles extraites de différentes parties de *F. vesceritensis* sont riches en α -pinène et β -pinène, ces derniers sont déjà connus par leur effet antibactérien [198,199]. Le caractère hydrophile des parois cellulaires des bactéries à Gram-négatif bloque la pénétration des composants hydrophobes des huiles essentielles testées. Pour cette raison les bactéries à Gram-positifs semblent plus sensibles vis-à-vis des huiles essentielles de *F. vesceritensis* [115].

La meilleure activité a été observée contre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Morganella morganii*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec des zones d'inhibition de 30 mm, 30 mm, 27 mm, 25 mm, 24 mm et 24mm, respectivement (tableau 21).

Table 21: Activité antibactérienne des huiles essentielles de différents parties de *F. vesceritensis* Coss. & Dur. (zones d'inhibition, mm)

Microorganismes	Zone d'inhibition (mm)					
	Antibiotiques (10 μ g /mL)		Huiles essentielles (128 μ g /mL)			
	Ampi ^a	Genta ^a	FF	FS	TF	TS
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^b	18	22	25	27	28	24
<i>Escherichia coli</i> ^c	-	-	21	24	22	29
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 ^b	30	-	27	30	25	25
<i>Staphylococcus aureus</i> ^c	-	13	24	23	23	22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 ^b	-	-	18	23	27	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^c	-	12	18	20	22	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^c	14	21	24	20	14	16
<i>Morganella morganii</i> ^c	-	-	20	25	15	10
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^c	-	-	23	20	12.5	10

FF: fleurs fraîches, FS: fleurs sèches, TF: Tiges fraîches, TS: tiges sèches, ^a Control: Ampicilline et Gentamicine, ^b provenant de l'institut Pasteur (Alger), ^c cliniquement isolées du laboratoire de bactériologie (CHU Benbadis Constantine, Algérie).

Ainsi, nous avons évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *F. vesceritensis*, en utilisant la méthode de diffusion sur disque et de la concentration minimale inhibitrice CMI (tableau II. 22). Les huiles essentielles testées ont fortement inhibé la croissance de toutes les souches bactériennes à des CMI variant entre 16 µg/mL et 80 µg/mL. Les huiles essentielles extraites des fleurs et des tiges sèches ont montré la meilleure activité antibactérienne comparées avec les huiles essentielles extraites des fleurs et des tiges fraîches grâce aux pourcentages élevés d' α -pinène et de β -pinène (tableau 22).

Table 22: Concentration minimale inhibitrice CMI (µg/mL) des huiles essentielles de *F. vesceritensis* Coss. & Dur.

Microorganismes	CMI ^a (µg /mL)					
	Antibiotiques (µg /mL)		Huiles essentielles			
	Ampi ^b	Genta ^b	FF	FS	TF	TS
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^c	10	10	40	80	40	40
<i>Escherichia coli</i> ^d	-	-	40	80	40	40
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 ^c	5	-	80	16	40	16
<i>Staphylococcus aureus</i> ^d	-	15	80	16	40	16
<i>Pseudomonas aerugina</i> ATCC 27853 ^c	-	-	40	80	40	40
<i>Pseudomonas aerugina</i> ^d	-	5	40	80	40	40
<i>Klebsiella pneumonie</i> ^d	10	5	32	80	16	40
<i>Morganella morganii</i> ^d	-	-	40	80	40	40
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^d	-	-	40	80	16	16

FF: fleurs fraîches, FS: fleurs sèches, TF: Tiges fraîches, TS: tiges sèches, ^a CMI : concentration minimal inhibitrice ; ^b Control ; Ampicilline et Gentamicine, ^c Provenant de l'institut Pasteur (Alger), ^d cliniquement isolées du laboratoire de bactériologie (CHU Benbadis Constantine, Algérie).

En comparaison avec une étude antérieure sur l'huile essentielle extraite des feuilles de *F. vesceritensis* [12], notre étude concerne les huiles essentielles extraites des fleurs fraîches et sèches et des tiges fraîches et sèches de *Ferula* (composition chimique et activité antibactérienne). A travers nos résultats, nous avons constaté qu'il y a une relation entre la composition phytochimique des huiles essentielles étudiées et l'activité antibactérienne en raison de la richesse en α -pinène et β -pinène (marqueurs d'activité antibactérienne).

En résumé, l'activité antibactérienne de ces huiles a été testée en utilisant la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de neuf microorganismes: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* et *Morganella morganii*. La meilleure activité antibactérienne a été observée contre six souches: *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Morganella morganii*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Donc nous pouvons conclure que les huiles étudiées ont un effet antibactérien de large spectre contre la plupart des souches bactériennes étudiées. Pour cette raison, l'utilisation des huiles essentielles de *F. vesceritensis* peut être très importante en industrie pharmaceutique et cosmétique, on peut les utiliser comme substituts synthétiques (addition chimique hydrophobe) dans l'industrie alimentaire, où elles peuvent être considérées comme des agents de conservation naturelle des aliments.

II. 2. Activité antioxydante des huiles essentielles de *Pistacia atlantica*

L'activité antioxydante des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* (PAFe, PAFl) a été évaluée *in vitro* en utilisant les méthodes suivantes: le β -carotène- acide linoléique, l'ABTS^{•+}, le DPPH, le CUPRAC et le métal chélate. Les résultats trouvés sont résumés dans les tableaux 23 à 29 et les figures 17 à 21.

II. 2.1. Activité antioxydante des huiles essentielles de *P. atlantica* (PAFe et PAFl) déterminée par la méthode du DPPH

Les résultats obtenus du test de mesure de l'absorbance du radical libre DPPH nous a permis de tracer les graphes de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque huile essentielle (figure 17). Les deux huiles essentielles PAFe et PAFl montrent des tendances similaires à l'égard du radical DPPH•.

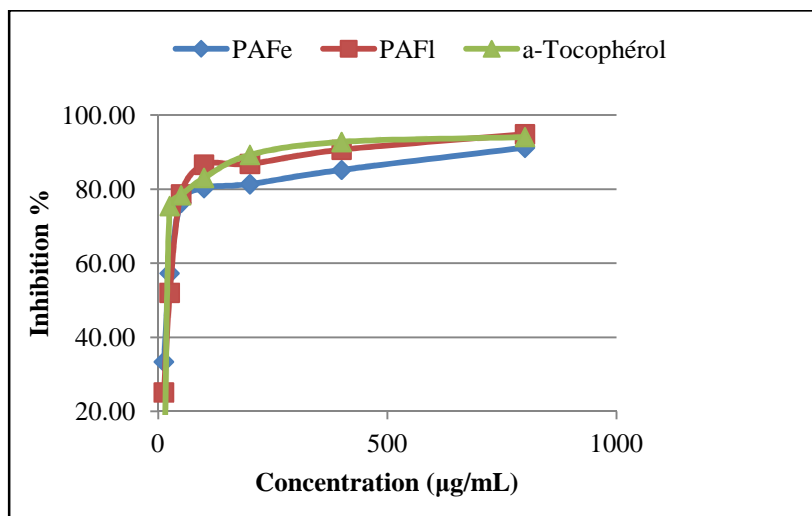


Figure 17 : Courbes représentant l'activité antiradicalaire des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* en utilisant le test du DPPH.

Les valeurs des CI₅₀ exprimées en µg/mL, calculées graphiquement à partir des droites de régression obtenues, représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de chaque huile, sont présentées dans le tableau 23.

Tableau 23: Pouvoir d'inhibition CI_{50} des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* utilisant le test du DPPH

DPPH'		CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Les huiles	PAFe	23.9 ± 0.3
	PAFl	28.5 ± 0.3
Standard	α -tocophérol	7.3 ± 0.1

Le tableau 23 montre que les huiles essentielles PAFe et PAFl possèdent approximativement les mêmes valeurs de la CI_{50} , PAFe= 23.9 ± 0.3 , PAFl= 28.5 ± 0.3 $\mu\text{g/mL}$. L'huile essentielle extraite des feuilles de *P. atlantica* est plus active que l'huile essentielle extraite des fleurs, cependant elle est 3 fois moins active que le standard (α -tocophérol).

II. 2.2. Activité antioxydante des huiles essentielles de *P. atlantica* (PAFe et PAFl) déterminée par la méthode d'ABTS^{•+}

Les résultats obtenus du test de mesure d'ABTS^{•+} nous ont permis de tracer les graphes de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque huile essentielle. La figure 18 montre que les courbes des huiles essentielles de PAFe et PAFl sont proches de la courbe de l' α -tocophérol à l'égard du radical d'ABTS^{•+}.

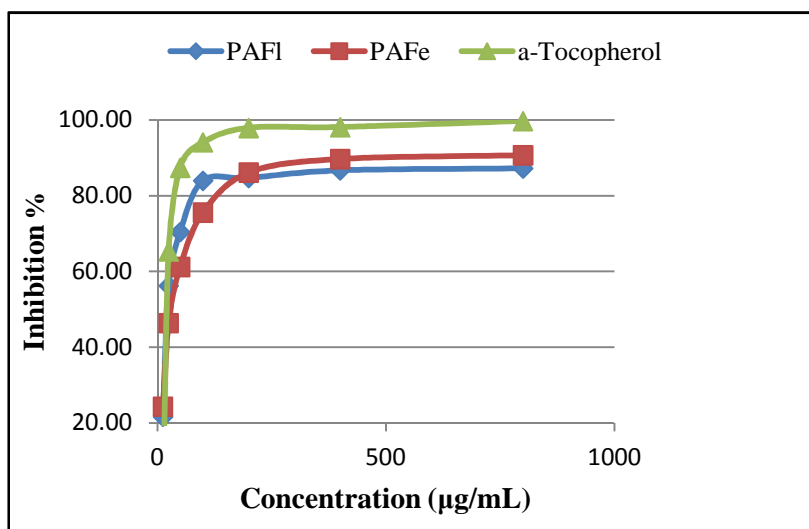


Figure 18 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* en utilisant le test d'ABTS^{•+}.

Le tableau 24 présente les valeurs du pouvoir antioxydant (CI_{50}) des deux huiles ainsi que le standard α -tocophérol, calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés.

Tableau 24: Pouvoir d'inhibition CI_{50} des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* utilisant le test d'ABTS^{•+}.

ABTS ^{•+}		CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Huiles	PAFe	4.7 \pm 0.20
	PAFl	6.5 \pm 0.54
Standards	α -tocophérol	4.3 \pm 0.10

Du tableau 24, on trouve que la $CI_{50} = 4.7 \pm 0.20 \mu\text{g/mL}$ de l'huile essentielle de PAFe est proche de la $CI_{50} = 4.3 \pm 0.10 \mu\text{g/mL}$ de l' α -tocophérol, cependant l'huile essentielle de PAFl ($CI_{50} = 6.5 \pm 0.54 \mu\text{g/mL}$) est seulement 1 fois et demi moins active que l' α -tocophérol.

II. 2.3. Activité antioxydante des huiles essentielles de *P. atlantica* (PAFe et PAFl) déterminée par la méthode du β -carotène- acide linoléique

Les résultats obtenus du test de mesure de l'absorbance du β -carotène- acide linoléique nous ont permis de tracer les graphes de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque huile essentielle. La figure 19 montre que la courbe du pourcentage d'inhibition d'huile essentielle extraite des feuilles de *P. atlantica* est la plus proche de la courbe du standard (α -tocophérol).

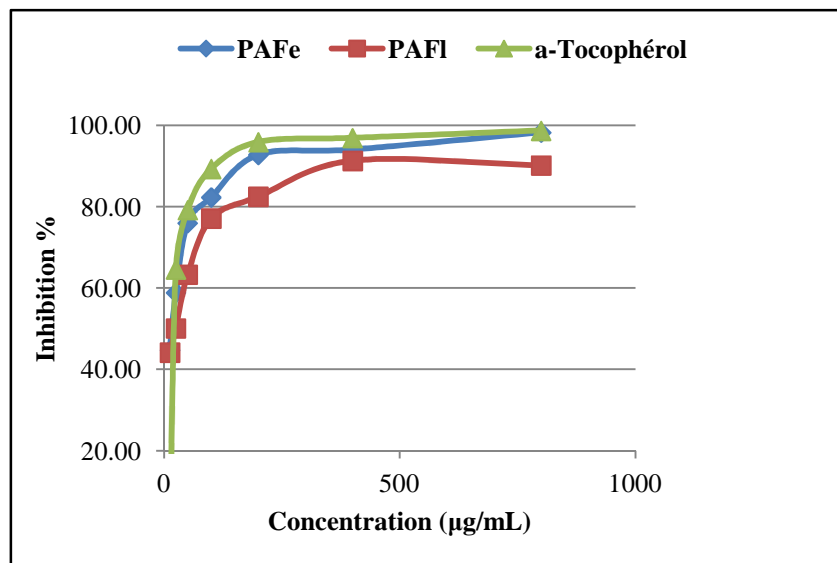


Figure 19 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* en utilisant le test du β -carotène- acide linoléique.

Les valeurs des CI_{50} sont calculées graphiquement à partir des droites de régression et exprimées en $\mu\text{g/mL}$, représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de chaque huile essentielle testée, ces valeurs sont présentées dans le tableau 25

Tableau 25: Pouvoir d'inhibition (CI_{50}) des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* utilisant le test de β -carotène- acide linoléique.

β -carotène- acide linoléique		CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Huiles	PAFe	17.0 ± 0.34
	PAFI	19.1 ± 1.69
Standard	α -Tocopherol	2.1 ± 0.08

Du tableau 25 on trouve que l'huile essentielle de PAFe a montré une bonne activité antioxydante ($CI_{50} = 4.7 \pm 0.20 \mu\text{g/mL}$) qui est très proche de celle de PAFI ($CI_{50} = 6.5 \pm 0.54 \mu\text{g/mL}$), ces deux huiles sont 10 fois moins actives que l' α -tocophérol: $CI_{50} = 2.1 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$.

II. 2.4. Activité antioxydante des huiles essentielles de *P. atlantica* (PAFe et PAFl) déterminée par la méthode du CUPRAC :

Tableau 26: Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* utilisant le test du CUPRAC :

Absorbance CUPRAC					
Echantillons		100 µg	200 µg	400 µg	800 µg
Huiles	PAFe	0.12±0.01	0.19±0.02	1.19±0.23	2.51±0.03
	PAFl	0.13±0.00	0.16±0.01	0.43±0.19	1.81±0.19
Standard	BHA	0.1±0.0	3.5±0.0	3.7±0.0	3.8±0.01
	αTocopherol	0.1±0.0	1.9±0.1	2.2±0.1	2.9±0.01

Le Tableau 26 résume les résultats de réduction cuprique (CUPRAC) par les huiles essentielles de *P. atlantica*, les valeurs d'absorbance de PAFe et PAFl à 100 et 200 µg/mL étaient proches, cependant à la concentration de 800 µg/mL, on constate que l'huile de PAFe présente une absorbance plus élevée ($A = 2,51 \pm 0,03$) que l'huile PAFl ($A = 1,81 \pm 0,19$) et proche des standards α -tocophérol ($A = 2,9 \pm 0,01$) et le BHA ($A = 3,8 \pm 0,01$) à la même concentration. L'ensemble des valeurs d'absorbance obtenues est reporté dans la figure 20.

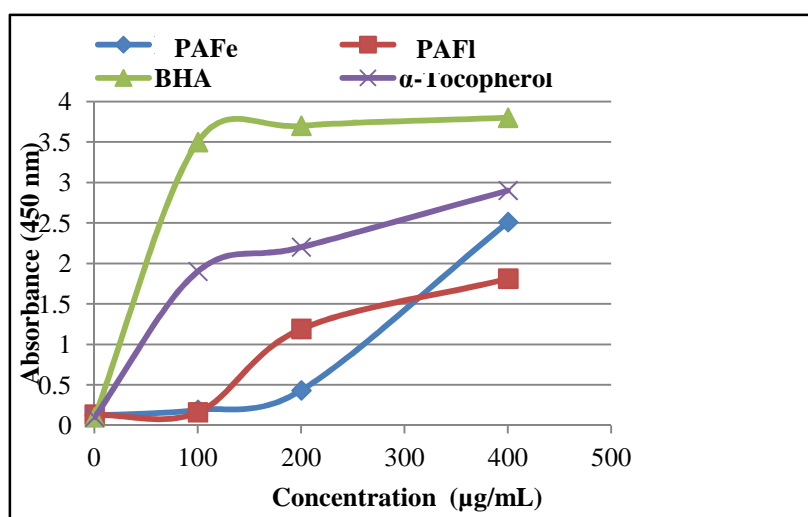


Figure 20 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* en utilisant le test du CUPRAC.

II. 2. 5. Activité antioxydante des huiles essentielles de *P. atlantica* (PAFe et PAFI) déterminée par la méthode de chélation des ions ferreux :

Tableau 27: Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* en utilisant le test de chélation des ions ferreux

% Inhibitrice du Métal Chélate					
Echantillons		100 µg	200 µg	400 µg	800 µg
Huiles	PAFe	9.43±0.12	12.03±0.10	24.13±0.02	39.03±0.1
	PAFI	7.23±0.12	10.15±0.02	19.76±0.35	29.30±0.5
Standard	EDTA	92.5±1.4	94.7±0.6	95.2±0.1	96.3±0.1

Le tableau 27 montre l'activité de chélation des ions ferreux (I= % d'inhibition) par les huiles essentielles PAFe et PAFI. Le pouvoir réducteur de ces huiles essentielles est basé sur la transformation du Fe^{3+} en Fe^{2+} . Ce dernier est faible pour les deux huiles, bien que le pourcentage de réduction de PAFe (I= 39,03 ± 0,1 %) soit supérieur à celui de PAFI (I=29,30 ± 0,5 %), à toutes les concentrations mais, cette huile est deux fois et demi moins active que le standard EDTA.

L'ensemble des valeurs d'absorbance obtenues est reporté dans la figure 21

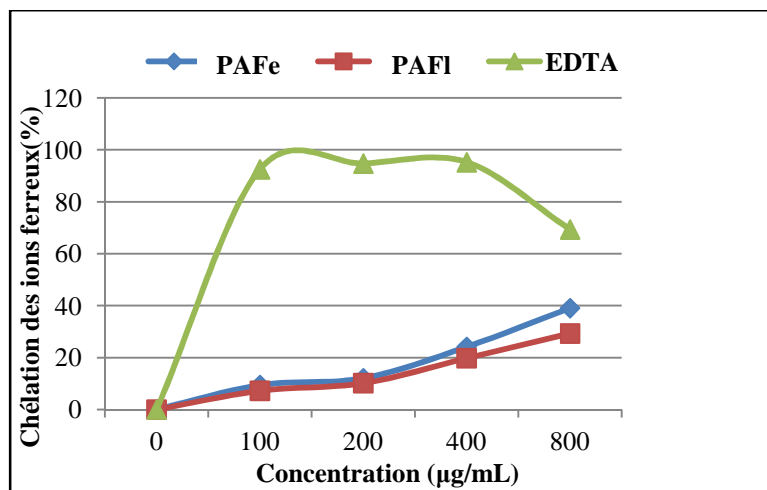


Figure 21 : Courbes représentant l'activité antioxydante des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* en utilisant le test de chélation des ions ferreux

Ces résultats nous conduisent à étudier la relation entre la composition chimique des huiles essentielles étudiées et leur activité antioxydante. Plusieurs études sur les activités antioxydantes des huiles essentielles ont montré que l' α -pinène, le germacrène-B [203], et le limonène [204] possèdent un pouvoir antioxydant important, ce qui est confirmé par nos résultats et pourrait expliquer les variations des valeurs d'inhibition dans les différentes méthodes (tableaux II. 5- II. 9). Nous avons trouvé que les huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* sont riches en α -pinène (PAFe:18.41%, PAFI: 30%), en limonène (PAFe: 5.90%, PAFI: 8.94%) et en germacrène-B (PAFe: 6.17%).

II. 3. Activité anticholinestérase des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* :

L'activité anticholinestérase des huiles essentielles des feuilles et des de *P. atlantica* a été réalisée par l'utilisation des enzymes cholinestérase AChE et BChE, les résultats de l'activité anticholinestérase des huiles essentielles de PAFe et PAFI (tableaux 28 et 29) ont été comparés à ceux de la galantamine (utilisée comme un médicament pour le traitement de la maladie d'Alzheimer).

Tableau 28: Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des Feuilles et des fleurs de *P. atlantica* en utilisant l'enzyme acétyl cholinestérase AChE

AChE (% I)					
Echantillons		62.5 µg	125 µg	250 µg	500 µg
Huiles	PAFe	-	-	23.5±1.5	44.0±0.3
	PAFI	-	-	12.7±0.6	37.1±1.6
Standard	Galantamine	75.9 ±1.6	79.2 ±0.4	82.7± 0.7	95.9±0.1

Tableau 29: Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des Feuilles et des fleurs de *P. atlantica* en utilisant l'enzyme butyl cholinestérase BChE

BChE (% I)					
Echantillons		62.5 µg	125 µg	250 µg	500 µg
Huiles	PAFe	-	16.8±0.1	29.9±0.3	46.1±0.3
	PAFI	-	-	18.5±0.3	39.2±0.2
Standard	Galantamine	53.5 ±0.3	72.1± 0.5	95.6±0.4	98.7± 1.4

Il ressort des tableaux 28 et 29 que les huiles essentielles de PAFe et PAFI présentent une activité anticholinestérase faible à modérée, et on constate que les pourcentages d'inhibition des deux enzymes cholinestérases sont proches.

L'huile essentielle PAFe est 2 fois moins active que la galantamine avec un pourcentage d'inhibition de 44.0±0.3% pour AChE et 46.1±0.3% pour BChE, En outre l'huile

essentielle PAFI est 2 fois et demi moins active que la galantamine, le pourcentage d'inhibition est de $37.1 \pm 1.6\%$ pour AChE et $39.2 \pm 0.2\%$ pour BChE à 500 $\mu\text{g/mL}$. Il est important de mentionner que certains monoterpènes tels que l' α -pinène, l' α -terpinène et le limonène sont des inhibiteurs puissants de l'AChE et BChE [205,206]. Les huiles essentielles étudiées contiennent de bonnes quantités d' α -pinène (PAFe: 18.41%, PAFI: 30%), d' α -terpinène (PAFe: 17.32%) et de limonène (PAFe: 5.90%, PAFI: 8.94%).

L'évaluation de l'activité anticholinestérase des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* Desf. a été réalisée par l'utilisation des deux enzymes acétylcholinestérase et butylcholinestérase. Les deux huiles essentielles ont présenté une activité inhibitrice modérée de l'AChE et de BChE, en comparaison avec la galantamine. Les résultats présentés dans cette étude sont les premières informations sur cette activité. Cependant des études plus profondes devraient être faites.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Gaussen, H., Leroy, J.F., Ozenda, P. (1982). Précis de Botanique. 2- Les végétaux supérieurs, Ed. Masson, 2^{ème} édition, 579.
2. Lindley, J. (1830). An introduction to the natural system of botany. Longman, Rees, Orme, brown and green, London, England.
3. Guignard, J.L., Dupont, F. (2004). Botanique: Systématique moléculaire, 13^{ème} édition. Paris: Masson.
4. Arbonnier, M. (2002). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Pont-sur-Yonne (France): CIRAD/MNHN, 574.
5. Kokwaro, J. O. (1986). Anacardiaceae. In: Polhill, R. M. (Editor), 1986. Flora of tropical east Africa. Rotterdam (Netherlands), A. A. Balkema, 59.
6. Guyot, M. (1992). Systématique des Angiospermes. Lomé (Togo): Presses Editogo.
7. Mabberley, D.J. (1987). The Plant Book (A portable dictionary of the higher plants). Cambridge: University Press.
8. Bailey, L.H. (1949). Manual of cultivated plants most commonly grown in the continental United States and Canada. New York, NY (EUA). MacMillan. Rev. ed. completely restudied, 1116.
9. Mitchel, A. (1986). Tous les arbres de nos forêts, édition Bordas, 319.
10. Baudière, A., Monange, Y., Gauquelin, Th. (2002). Le monde des plantes; intermédiaire des botanistes, Toulouse, N° 477, 2-5.
11. Quezel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I, centre nationale de la recherche scientifique, Paris , 611.
12. Benabid, A. (2000). Flore et écosystème du Maroc. Ibis Press, Paris, pp. 130-221.
13. Tingshuang, Y. I., Jun, W., Avi, G. G., Dan, E. P. (2008). Phylogenetics and reticulate-evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). American Journal of Botany. 95, 241-251.
14. Chief, R. (1982). Les plantes médicinales. Ed. Solor, pp. 2276-2277.
15. Mouhajir, F., Hudson, J. B., Rejdali, M., Towers, G.H.N. (2001). Multiple antiviral activities of endemic medicinal plants used by Berber peoples of Morocco. Pharmaceutical Biology. 39, 364-374

16. Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P., Boskous, D. (1998). Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. *Food Research International Journal*. 31, 351-354.
17. Pascual-Villalobos, M.J., Robledo, A. (1998). Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. *Industrial Crops and Products*. 8, 183-194.
18. Giner-Larza, E.M., Manez, S., Giner-Pons, R.M., Recio, M.C., Rios, J.L. (2000). On the anti-inflammatory, and anti-phospholipase A2 activity of extracts from lanostane-rich species. *Journal of Ethnopharmacology*. 73, 61-69.
19. Dedoussis, G.V.Z., Kaliora, A.C., Psarras, S., Chiou, A., Mylona, A., Papadopoulos, N.G., Andrikopoulos, N.K. (2004). Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*. 174, 293-303.
20. Baytop, T. (1984). Therapy with medicinal plants in turkey (past and present). Vol. 3255, 1st ed. Istanbul: Publications of the Istanbul university, 305.
21. Tuzlaci, E., Aymaz, P.E. (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV: Gonen (Bahkesir). *Fitoterapia*. 72, 323-343.
22. Davidson, D.F.D. (1948). Report on the gum mastic industry in Chios. *Bulletin of the Imperial Institute*. 46, 184-91.
23. Topçu., G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*. 103, 816-822
24. Giner-Larza, E.M., Manez, S., Giner-Pons, R.M., Recio, M.C., Prieto, J.M., Cerda-Nicolas, M., Rios, J.L. (2002). Anti-inflammatory triterpenes from *Pistacia terebinthus* galls. *Planta Medica*. 68, 311-315.
25. Zhao, X., Sun, H., Hou, A., Zhao, Q., Wei, T., Xin, W. (2005). Antioxidant properties of two gallotannins isolated from the leaves of *Pistacia*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1725, 103-110.
26. Fennane, M., Ibn Tattou, M., Ouyahya, A., El Oualidi, J. (2007). Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires. Vol : 2 Eds : Institut Scientifique. Rabat, 636.
27. Benhssaini, H., Belkhodja, M. (2004). Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. *La feuille et l'aiguille*. 54, 1-2.
28. Kafkas, S., Kaska, N., Perl-Treves, R., Gucluturk, H., Karaca, S., Cetiner, M. S. (2001). Monoecious *P. atlantica* trees in the Yunt Mountains of Manisa province of Turkey.

- 11^{ème} colloque du GREMPA sur le pistachier et l'amandier Zaragoza. Cahiers options Méditerranéennes. 56, 416.
- 29** Belhadj, S. (2001). Les pistacheraies algériennes.: Etat actuel et dégradation. IIème Colloque du GREMPA sur le pistachier et l'amandier. Zaragoza: CIHE.4M-IAMZ, 107-109.
- 30.** Benabid, A., Fennane, M. (1994). Connaissances sur la végétation du Maroc : Phytogéographie, phytosociologie et séries de végétation. Lazaroa, 14.
- 31.** Daneshrad, A., Ayanehchi, Y. (1980). Chemical studies of the oil *Pistacia nuts* growing wild in Iran. Journal of the American Oil Chemists' Society. 57, 248-249.
- 32.** Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed : EDAS. 217.
- 33.** Monaco, P., Previtera, L., Mangoni, L. (1982). Terpenes in *Pistacia* plants: A possible defence role for monoterpenes against gall-forming aphids. Phytochemistry. 21, 2408-2410.
- 34.** Ansari, S.H., Ali, M., Quadry, J.S. (1993). Tree new tetracyclic triterpenoids from *Pistacia integerrima* galls. Pharmazie. 49, 356-357.
- 35.** Caputo, R., Mangoni, L., Monaco, P., Palumbo, G. (1975). Triterpenes of galls of *Pistacia terebinthus*: Galls produced by *Pemphigus utricularius*. Phytochemistry. 14, 809-811.
- 36.** Caputo, R., Mangoni, L., Monaco, P., Palumbo, G., Aynehchim, Y., Bagheri, M. (1978). Triterpenes from bled resin of *Pistacia vera*. Phytochemistry. 17, 815-817.
- 37.** Kawashty, S. A., Mosharrata, S.A.M., El-Gibali, M., Saleh, N.A.M. (2000). The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. Biochemical Systematics and Ecology. 28, 915-917.
- 38.** Shi, Q., Zuo, C. (1992). Chemical components of the leaves of *Pistacia chinensis* Bge. Zhongguo Zhong Yao Za Zh. 17, 422-446.
- 39.** Kusmenoglu. S., Baser, K.H.C., Özek, T. (1995). Constituents of the essential oil from the hulls of *Pistacia vera* L. Journal of Essential Oil Research. 7, 44-442.
- 40.** Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reiew. 12, 564-582.

41. Association Française de Normalisation. (1986). Huiles essentielles, AFNOR, Paris. NFT 75-006.
42. Franz, C.M. (2010). Essential oil research: Past, present and future. *Flavour and Fragrance Journal*. 25, 112-113.
43. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 446-475.
44. Delazar, A., Reid R.G. Sarker, S.D. (2004). GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *Mutica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 40, 24-27.
45. Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, J.F., Akssira, M., Belgarrab, A., Mellouki, F. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica*. *Journal of Essential Oil Research*. 17, 52-54.
46. Tzakou, O., Bazos, I., Yannitsaros, A. (2007). Volatile metabolites of *Pistacia atlantica* Desf. from Greece. *Flavour and Fragrance Journal*. 22, 358-362.
47. Mecherara-Idjeri, S., Hassani, A., Castola, V., Casanova, J. (2008). Composition of leaf, fruit and gall essential oils of Algerian *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research*. 20, 215-219.
48. Gourine, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., Stocker, P., Gaydou, E. M. (2010). Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products*. 31, 203-208.
49. Farshid, S., Shafaghat, A., Sahebalzamani, H., Alizadeh, M. M. (2011). α -Pinene from *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *Kurdica* (Zohary) Rech. F. *Der Chemica Sinica*. 2, 1-3.
50. Rowshan, V., Bahmanzadegan, A., Tarakemeh, A. (2013). Volatile compounds of *Pistacia atlantica* Desf. galls and leaves by Combi-PAL system technique. *Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*. 3, 796-798.
51. Rahimi, A. R., Hadyan, J., Azizi, M., Abdosi, V., Larijani, K. (2013). Comparison of chemical compounds found in the gum essential oil of male and female *Pistacia atlantica* subsp. *Kurdica*. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*. 3, 174-178.
52. Habibi, M. B., Najafi, R., Farimani, H., Tavakoli, J., Madayeni, S. (2014). GC-MS analyses and antimicrobial activity of the essential oil of trunk exudates of *Pistacia atlantica* var. *mutica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 50, 376-378.

53. Alma, M.H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F. T., Yilmaz, N. (2004). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish Pistachio (*Pistacia vera* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52, 3911-3914,
54. Aslan, I., Oezbek, H., Kordali, S., Calmasur, Oe., Cakir, A. (2004). Toxicity of essential oil vapours obtained from *Pistacia* spp. to the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Plant Diseases and Protection. 111, 400-407
55. Tsakou, A., Georgopoulou, K., Melliou, E., Magiatis, P., Tsitsa, E. (2007). Composition and enantiomeric analysis of the essential oil of the fruits and the leaves of *Pistacia vera* from Greece. Molecules. 12, 1233-1239.
56. Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M., Jamoussi, B. (2012). Herbicidal potential of essential oils from three mediterranean trees on different weeds. Current Bioactive Compounds. 8, 3-12
57. Hashemi-Moghaddam, H., Mohammad hosseini M., Salar M. (2014). Chemical composition of the essential oils from the hulls of *Pistacia vera* L. by using magnetic nanoparticle-assisted microwave (MW) distillation: comparison with routine MW and conventional hydrodistillation. Analytical Methods. 6, 2572-2579
58. Usai, M., Pintore, G., Chessa, M., Tirillini, B. (2006). Essential oil composition of different aerial parts of *Pistacia terebinthus* L. growing wild in Sardinia. Journal of Essential Oil Research. 18, 383-385.
59. Ozcan, M., Tzakou, O., Couladis, M. (2009). Essential oil composition of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L.) fruits growing wild in Turkey. Food Chemistry. 114, 282-285.
60. Orhan, I. E., Senol, F. S., Gulpinar, A. R., Sekeroglu, N., Kartal, M., Sener, B. (2012). Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty and essential oil analyses. Food Chemistry. 130, 882-888.
61. Kivcak, B., Akay, S., Demirci, B., Baser, K. (2004). Chemical Composition of Essential oils from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* from Turkey. Pharmaceutical Biology. 42, 360-366

62. Duru, M.E., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmandar, M., Izumi, S., Hirata, T. (2003). Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species *Fitoterapia*. 74, 170-176.
63. Couladis, M., Ozcan, M., Tzakou, O., Akgul, A. (2003). Comparative essential oil composition of various parts of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L) growing wild in Turkey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83, 136-138.
64. Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. N., Yannovits-Argiriadis, N. (1999). Chemical composition of the essential oil of Chios turpentine Papageorgiou, *Journal of Essential Oil Research*. 11, 367-368.
65. Fernandez, A. Camacho, A., Fernandez, C., Altarejos, J. (2000). Composition of the essential oils from galls and aerial parts of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Essential Oil Research*. 12, 19-23.
66. Congiu, R., Falconieri, D., Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S. (2002). Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂,” *Flavour and Fragrance Journal*. 17, 239-244.
67. Zrira, S., Elamrani, A., Benjlali, B. (2003). Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco a seasonal variation. *Flavour and Fragrance Journal*. 18, 475-480,
68. Douissa, F. B., Hayder, N., Chekir-Ghedira, L. et al.. (2005). New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia. *Flavour and Fragrance Journal*. 20, 410-414.
69. Benyoussef, E.H. Charchari, S., Nacer-Bey, N., Yahiaoui, N., Chakou A., Bellatreche, M. (2005). The essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*. 17, 642-644.
70. Dob, T., Dahmane, D., Chelghoum, C. (2006). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*. 18, 335-338.
71. Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. Angioni, A. (2007). Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7093-7098.

72. Mecherara-Idjeri, S., Hassani, A., Castola, V., Casanova, J. (2008). Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria part I: leaf oil. *Journal of Essential Oil Research*, 20, 32-38.
73. Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*. 107, 1120-1130.
74. Mecherara-Idjeri, S., Hassani, A., Castola, V., Casanova, J. (2008). Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria: part II: fruit oil. *Journal of Essential Oil Research*, 20, 104-107.
75. Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathelet, J. P., Elbachiri, A. (2009). Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Records of Natural Products*. 3, 90-95.
76. Derwich, E., Manar, A., Benziane, Z., Boukir, A. (2010). GC/MS analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil isolated from leaf of *Pistacia lentiscus* growing in Morocco. *World Applied Sciences Journal*. 8, 1267-1276.
77. Bachrouch, O., Msaada, K. Aidi Wannas, W. Talou, T., Ksouri, R. Salem, N. Abderraba M. Marzouk B. (2013). Variations in composition and antioxidant activity of Tunisian *Pistacia lentiscus* L. leaf essential oil. *Plant Biosystems*. DOI: 10.1080/11263504.2013.809027
78. Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus*. *Journal of Fundamental and Applied Science*. 6, 79-93.
- 79 Negro, C., De Bellis, L., Miceli, A. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* essential oil from Southern Italy (Apulia). *Journal of Essential Oil Research* 27, 23-29
80. Hayder, N., Ammar, R. B., Abdelwahed, A., Kilani, S., Mahmoud, A. (2005). Antibacterial and antimutagenic activity of extracts and essential oil from Tunisian *Pistacia lentiscus*. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 87, 567-573.
81. Koutsoudaki, C., Krsek, M., Rodger, A. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7681-7685.

- 82.** Ramezani, M., Khaje-Karamoddin, M., Karimi-Fard, V. (2004). Chemical composition and anti-Helicobacter pylori activity of the essential oil of *Pistacia vera*. *Pharmaceutical Biology*. 42, 488-490.
- 83.** Ghalem, B. R., Mohamed, B. (2009). Essential oil from gum of *Pistacia atlantica* Desf.: screening of antimicrobial activity. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 3, 13-15.
- 84.** Benabderrahmane, M., Benali, M., Aouissat, H., Jordán Bueso, M.J. (2009). Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*. 7, 304-308.
- 85.** Moulos, P., Papadodima, O., Chatziioannou, A., Loutrari, H., Roussos, C., Kolisis, F. N. (2009). A transcriptomic computational analysis of mastic oil-treated Lewis lung carcinomas reveals molecular mechanisms targeting tumor cell growth and survival. *BMC Medical Genomics*. 2, 1-15.
- 86.** Magkouta, S., Stathopoulos, G. T., Psallidas, I. Papapetropoulos, A., Kolisis, F.N., Roussos, C., Loutrari, H. (2009). Protective effects of mastic oil from *Pistacia lentiscus* variation chia against experimental growth of lewis lung carcinoma. *Nutrition and Cancer*. 61, 640-648.
- 87.** Loutrari, H., Magkouta, S., Pyriochou, A. Koika, V., Kolisis, F.N., Papapetropoulos, A., Roussos, C. (2006). Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. *chia* inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutrition and Cancer*. 55, 86-93.
- 88.** Coste, H., Flahault, C.H. (1998). Flore Description et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Tombe II (Librairie scientifique et technique), Paris.
- 89.** Dupont, F., Guignard, J. L. (2012). Botanique, les familles de plantes, Elsevier Masson. A. S, Paris.
- 90.** Watson, L., Dallwitz, M.J. (1991). The families of angiosperm: Automated descriptions, with interactive identification, and information retrieval. *Australian System Botany*. 4, 681-695.
- 91.** Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants, Columbia university press, New York.

92. Cronquist, A. (1988). The evolution and classification of flowering plants, the New York. Botanical Garden, New York.
93. Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. (Tec & Doc, Lavoisier.
94. Heywood, V. H. (1996). Les plantes à fleurs, 306 familles de la flore mondiale, Nathan, Paris.
95. Pimenov, M.G., Leonov, M.V. (1993). The genera of the Umbelliferae: a nomenclator. (Royal Botanical Garden, Kew).
96. Heywood, V.H. (1971). The biology and chemistry of the Umbelliferae. (Academic Press, London.
- 97 Lee, C., Chiang, L., Cheng, L., Liaw, C. Abd El-Razek, M. H. Chang F. & Wu, Y. (2009). Influenza a H₁N₁ antiviral and cytotoxic agents from *Ferula assa-foetida*. Journal of Natural Products, 72, 1568-1572.
98. Rubiolo, P., Matteodo, M., Riccio, G., Ballero, M., Christen, P., Fleury-Souverain, S., Veuthey, J. L., Bicchi, C. J. (2006). Analytical discrimination of poisonous and non poisonous chemotypes of giant fennel (*Ferula communis* L.) through their biologically active and volatile fractions. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54, 7556-7563.
99. Miski, M., Ulubelen, A., Mabry, T.J. (1983). Six sesquiterpene alcohol esters from *Ferula elaeochytris*. Phytochemistry. 22, 2231-2233.
100. Abd El-Razek, M.H., Ohta, S., Ahmed, A.A., Hirata, T. (2001). Sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula assa-foetida*. Phytochemistry. 58, 1289-1295.
101. Oughlissi-Dehak, K., Lawton, P., Michalet, S., Bayet, C., Darbour, N., Hadj-Mohammed, M., Badjah-Hadj-Ahmed, Y., Dijoux-Franca, M. G., Guilet, D. (2008). Sesquiterpenes from aerial parts of *Ferula vesceritensis*. Phytochemistry. 69, 1933-1938.
102. Motai, T., Daikonya, A. and Kitanaka, S. (2004). Sesquiterpene coumarins from *Ferula fukanensis* and nitric oxide production inhibitory effects. Journal of Natural Products. 67, 432-436.
103. Zellagui, A., Gherraf, N., Hegazy, M. E. F., Akkal, S., Rhouati, S., Dendougui, H., Ahmed, A. A. (2012). Phytochemical investigation and antimicrobial activity of crude extract of the roots of *Ferula vesceritensis*. Chemistry of Natural Compounds. 48, 891-892.

- 104.** Ahmed, A. A., Hegazy, M. E. F., Zellagui, A., Rhouati, S., Mohamed, T. A., Sayed, A. A Abdella Mohamed, A., Ohta, S., Hirata, T. (2007). Ferulsinaic acid, a sesquiterpene coumarin with a rare carbon skeleton from *Ferula* species. *Phytochemistry*. 68, 680-686.
- 105.** Iranshahi, M., Ghiadi, M., Sahebkar, A., Rahimi, A., Bassarello, C., Piacente, S. Pizza, C. (2009). Badrakemonin, a new eremophilane-type sesquiterpene from the roots of *Ferula badrakema*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 8, 275-279.
- 106.** Iranshahi, M., Hosseini, S.T., Sahebkar, A.H., Suleman Khan, S., Ahmad, V.U. (2010). Diversivittatin, a new phenylpropanoid derivative from the roots of *Ferula diversivittata*. *Chemistry of Natural Compounds*. 46, 192-194.
- 107.** Iranshahi, M., Hassanzadeh-Khayyat, M., Sahebkar, A., Famili, A. (2008). Chemical composition of the fruit oil of *Ferula flabelliloba*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 11, 143-147.
- 108.** Iranshahi, M., Kalategi, F., Sahebkar, A., Sardashti, A., Schneider, B. (2010). New sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula flabelliloba*. *Pharmaceutical Biology*. 48, 217-220.
- 109.** Filippini, M.H., Tomi, F., Casanova, J. (2000). Composition of the leaf oil of *Ferula arrigonii* Bocchieri. *Flavour and Fragrance Journal*. 15, 195-198.
- 110.** Asili, J., Sahebkar, A., Fazly Bazzaz, B.S., Sharifi, S., Iranshahi, M. (2009). Identification of essential oil components of *Ferula badrakema* fruits by GC-MS and ¹³C-NMR methods and evaluation of its antimicrobial activity. *Journal Essential Oil-Bearing Plants*. 12, 7-15.
- 111.** Ferrari, B., Tomi, F., Casanova, J. (2005). Composition and chemical variability of *Ferula communis* essential oil from Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*. 20, 180-185.
- 112.** Rubiolo, P., Matteodo, M., Riccio, G., Ballero, M., Christen, P., Fleury-Souverain, S., Veuthey, J.L., Bicchi, C. (2006). Analytical discrimination of poisonous and nonpoisonous chemotypes of giant fennel (*Ferula communis* L.) through their biologically active and volatile fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 7556-7563.
- 113.** Baser, K.H.C., Ozek, T., Demirci, B., Kurkcuolu, M., Aytac, Z., Duman, H. (2000). Composition of the essential oils of *Zosima absinthifolia* (Vent.) Link and *Ferula elaeochytris* Korovin from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*. 15, 371-372.

114. Shatar, S. (2005). Essential oil of *Ferula ferulaoides* from western Mongolia. *Chemistry of Natural Compounds*. 41, 607-608.
115. Rustaiyan, A., Monfared, A., Masoudi, S. (2001). The essential oil of *Ferula flabelliloba* Rech. F. et Aell. *Journal of Essential Oil Research*. 13, 403-404.
116. Maggi, F., Cecchini, C., Cresci, A., Coman, M.M., Tirillini, B., Sagratini, G., Papa, F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Ferula glauca* L. (*F. communis* L. subsp. *glauca*) growing in Marche (central Italy). *Fitoterapia*. 80, 68-72.
117. Sayyah, M., Kamalinejad, M., Hidage, R.B., Rustaiyan, A. (2001). Antiepileptic potential and composition of the fruit essential oil of *Ferula gummosa* Boiss. *Iranian Biomedical Journal*. 5, 15-16.
118. Ghasemi, Y., Faridi, P., Mehregan, I., Mohagheghzadeh, A. (2005). *Ferula gummosa* fruits: An aromatic antimicrobial agent. *Chemistry of Natural Compounds*. 41, 311-314.
119. Kouyakh, E.T., Naghavi, M.R., Alayhs, M. (2008). Study of the essential oil variation of *Ferula gummosa* samples from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*. 44, 124-126.
120. Ghannadi, A., Amree, S. (2002). Volatile oil constituents of *Ferula gummosa* Boiss. from Kashan, Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 14, 420-421.
121. Sadraei, H., Asghari, G.R., Hajhashemi, V., Kolagar, A., Ebrahimi, M. (2001). Spasmolytic activity of essential oil and various extracts of *Ferula gummosa* Boiss. on ileum contractions. *Phytomedicine*. 8, 370-376.
122. Rustaiyan, A., Monfared, A. (2002). Essential oils of the stem and root of *Ferula galbaniflua* boiss. et Buhse. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 14, 286-287.
123. Akhgar, M.R., Rustaiyan, A., Masoudi, S., Bigdeli, M. (2005). Essential oils of *Ferula microcolea* (Boiss.) Boiss. and *Ferula hirtella* Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 17, 237-238.
124. Garg, S.N., Misra, L.N., Agarwal, S.K. (1989). Essential oil from rhizomes of *Ferula jaeschkeana*. *Phytochemistry*. 28, 634-636.
125. Rustaiyan, A., Nadimi, M., Mazloomifar, H., Massudi, S. (2005). Composition of the essential oil of *Ferula macrocolea* (Boiss.) Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 17, 55-56.

126. Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. Food Chemistry. 100, 584-589.
127. Iranshahi, M., Hassanzadeh-Khayyat, M. (2008). Chemical Composition of the volatile oil from *Ferula ovina* (Boiss.) Boiss. - Rech. Fruits. Journal of Essential Oil-Bearing Plants. 11, 350-355.
128. Ghannadi, A., Sajjadi, S.E., Beigihasan, A. (2002). Composition of the essential oil of *Ferula ovina* (Boiss.) Boiss. Daru Journal of Pharmaceutical Science. 10, 165-167.
129. Rahmani, B., Shiraz, N.Z., Masnabadi, N., Masoudi, S., Monfared, A., Larijani, K., Rustaiyan, A. (2008). Volatile constituents of *Alococarpum erianthum* (DC) H. Riedl & Kuber., *Ferula ovina* (Boiss.) boiss. and *Pimpinella affinis* Ledeb. Three umbelliferae herbs growing wild in Iran. Journal of Essential Oil Research. 20, 232-235.
130. Rustaiyan, A., Assadian, F., Monfared, A., Masoudi, S., Yari, M. (2001). Composition of the volatile oil of *Ferula stenocarpa* Boiss. & Hausskn. Journal of Essential Oil Research. 13, 181-182.
131. Habibi, Z., Aghaie, H.R., Ghahremanzadeh, R., Masoudi, S., Rustaiyan, A. (2006). Composition of the essential oils of *Ferula szowitsiana* DC., *Artemisia squamata* L. and *Rhabdosciadium petiolare* Boiss. & Hausskn. Ex Boiss. three umbelliferae herbs growing wild in Iran. Journal of Essential Oil Research. 18, 503-505.
132. Dehghan, G., Solaimanian, R., Shahverdi, A.R., Amin, G., Abdollahi, M., Shafiee, A. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ferula szovitsiana* D.C. Flavour and Fragrance Journal. 22, 224-227.
133. Ozek, G., Ozek, T., Iscan, G., Baser, K.H.C., Duran, A., Hamzaoglu, E. (2008). Composition and antimicrobial activity of the oils of *Ferula szowitsiana* DC. from Turkey. Journal of Essential Oil Research. 20, 186-190.
134. Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F., Reza Pirmoradei, M. (2005). Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. Food Chemistry. 91, 639-644
135. Takeoka, G. (2001). Volatile constituents of asafoetida. In: Takeoda GR, Guntert M, Engel K, eds. Aroma active compounds in foods. Washington: American Chemical Society. 33-44.

136. Zhi-da, M., Qi-fi, M., Mizuno, M., Tanaka, T., Linuma, M. (1987). Polysulfanes in the volatile oil of *Ferula* species. *Planta Medica*. 53, 300-302.
137. Iranshahi, M., Hassanzadeh-Khayat, M., Bazzaz, B.S.F., Sabeti, Z., Enayati, F. (2008). High content of polysulphides in the volatile oil of *Ferula latisecta* rech. F. et Aell. fruits and antimicrobial activity of the oil. *Journal of Essential Oil Research*. 20, 183-185.
138. Javidnia, K., Miri, R., Kamalinejad, M., Edraki, N. (2005). Chemical composition of *Ferula persica* Wild. essential oil from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*. 20, 605-606.
139. Zhi-da, M., Qi-fi, M., Mizuno, M., Tanaka, T., Inuma, M. (1987). Polysulfanes in the volatile oil of *Ferula* species. *Planta Medica*. 53, 300-302.
140. Zellagui, A., Gherraf, N., Rouati, S. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ferula vesceritensis* leaves. *Organic and Medical Chemistry Letters*. 2, 31-34
141. Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 4364-4370.
142. Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J.M., Viano, J. (2003). Seasonal and phonological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 7115-7121.
143. Iranshahi, M., Sahebkar, A. (2010). Biological activities of essential oils from the genus *Ferula* (Apiaceae). *Asian Biomedicine*. 4, 835-847.
144. Kavooosi, G., Rowshan, V. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil obtained from *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin: Effect of collection time. *Food Chemistry*. 138, 2180-2187
145. Pavlovic, I., Petrovic, S., Radenkovic, M., Milenkovic, M., Couladis, M., Brankovic, S., Pavlovic Drobac, M., Niketic, M. (2012). Composition, antimicrobial, antiradical and spasmolytic activity of *Ferula heuffelii* Griseb. ex Heuffel (Apiaceae) essential oil. *Food Chemistry*. 130, 310-315
146. Eftekhari, F., Yousefzadi, M., Borhani, K. (2004). Antibacterial activity of the essential oil from *Ferula gummosa* seed. *Fitoterapia*. 75, 758-759.

147. Rahman, M. U., Gul, S. (2005). Antimicrobial activities of *Ferula assafoetida* oil. Part I. Inhibition of sexual reproduction stages of food borne molds. Journal of Chemical Society of Pakistan. 27, 423-428.
148. Divya, K., Ramalakshmi, K., Murthy, P. S., Jagan Mohan Rao, L. (2014). Volatile oils from *Ferula assa-foetida* varieties and their antimicrobial activity LWT. Food Science and Technology. 59, 774-779.
149. El-Thaher T.S., Matalka K. Z., Taha H. A., Badwan A. A.(2001) *Ferula harmonis* ‘zallouh’ and enhancing erectile function in rats: Efficacy and toxicity study. International Journal of Impotence Research. 13, 247-51.
150. Sanchez-Moreno, C. (2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology International. 8, 121-137.
151. Marc, Fr., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Erudit, M/S : Médecine sciences. 20, 458-463.
152. Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53, 1841-1856.
153. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., Pridham J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Research. 22, 375-383.
154. Burda, S., Oleszek, W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49, 2774-2779.
155. Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. Analyst. 127, 183-198.
156. Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comments on Toxicology. 9, 5-21.
157. Ricardo da Silva, J.M., Darmon, N., Fernandez, Y., Mitjavila, S. (1991). Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 39, 549-1552.
158. Benzie, I. F., Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239, 70-76.

- 159.** Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice- Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26, 1231-1237.
- 160.** Sharma Om, P., Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. 113, 1202.
- 161.** Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. 181, 1199-1200.
- 162.** Kouamé, J., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I. P., Simporé, J., Nikiéma, J. B. (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la Santé*. 32, 14.
- 163.** Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E. using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 7970-7981.
- 164.** Apak, R., Güçlü, K., Ozyurek, M., Celik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchim Acta*. 160, 413-419.
- 165.** Gulcin I. (2008). Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *Journal of Enzyme Inhibition Medicine Chemistry*. 23, 871-876.
- 166.** Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 4619-4626.
- 167.** Decker, E. A., Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38, 674-677.
- 168.** Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005). standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 4290-4302.

- 169.** Berchtold, N. C., Cotman, C. W. (1998). Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s. *Neurobiology of Aging*. 19, 173-189.
- 170.** Karadsheh, N., Kussie, P., Linthicum, D. S. (1991). Inhibition of acetylcholinesterase by caffeine, anabasine, methyl pyrrolidine and their derivatives. *Toxicology Letters*. 55, 335- 342.
- 171.** Smiley, J. F., Morrell, F., Mesulam, M. M. (1997). Cholinergic synapses in human cerebral cortex: an ultrastructural study in serial sections. *Experimental Neurology*. 144, 361-368.
- 172.** Barbelivien, A., Bertrand, N., Besret, L., Beley, A., MacKenzie. E. T., Dauphin, F. (1999). Neurochemical stimulation of the rat substantia innominata increases cerebral blood flow (but not glucose use) through the parallel activation of cholinergic and non-cholinergic pathways. *Brain Research*. 4,115-124.
- 173.** Lucas-Meunier E., Fossier P., Baux G., Amar M. (2003). Cholinergic modulation of the cortical neuronal network. *Pflugers Archiv*. 446, 17-29.
- 174.** Ellman, G. L., Courtney K. D., Andres V., Feather-Stone R. M. (1961). A new and rapid determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7, 88-95.
- 175.** Pepin, J. L., Delwaide, P. (1999). Actualités thérapeutiques dans la maladie d'Alzheimer. *Médecine et Hygiène*. 57,1546-1550.
- 176.** Loiseau-Marollean, M. L. (1968). *Bactériologie à l'usage des infirmiers*. 10ème édition. Ed. Groun et Roques, France, Paris.
- 177.** Clinical and Laboratory Standards Institute. (2007). *Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Tentative standard M 26-T*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- 178.** Lambert, R. J., Skandamis P. N., Coote P.J., Nychas G.J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91, 453-462.

- 179.** Adams R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th Ed., Allured, Publishing Co. Carol Stream, Illinois.
- 180.** McLafferty, F.W., Stauffer, D.B. (1991). The important peak index of the registry of massspectral data. John Wiley and Son, New York.
- 181.** Swigar, A. A., Silverstein, R.M. (1981). Monoterpenes-infrared, mass, proton-NMR, carbon-NMR spectra and Kovats Indices. Aldrich Chemical Company Inc., Madison.
- 182.** Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. Nature. 181, 1199-1200.
- 183.** Ozturk, M., Kolak, U., Topcu, G., Oksuz, S., Choudhary, M. I. (2011). Antioxidant and anticholinesterase active constituents from *Micromeria cilicica* by radical-scavenging activity-guided fractionation. Food Chemistry. 126, 31–38.
- 184.** Rice-Evans, C., Miller, N. J., Bowell, P. G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Research. 22, 375-383.
- 185.** Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. 26, 1231-1237.
- 186.** Miller, H. M. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. Journal American Oil Chemists' Society. 48, 91.
- 187.** Decker, E. A., Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 38, 674-677.
- 188.** Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E. using their cupricion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52, 7970-7981.

189. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres V., Feather-Stone R. M., (1961). A new and rapid determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*.7, 88-95.
190. Bauer, A.W., Kirby W.M., Sherris J.C., Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45, 493-496.
191. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2007). Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Tentative standard M 26-T. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
192. Ericsson, H. M., Sherris, J. C. (1971). Antimicrobial susceptibility testing-Report of an international collaborative study. *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica*, Sect. B. Supplement. 217, 1-90.
193. McGarvey, D.J., Croteau, R.(1995). Terpenoid metabolism. *Plant cell*, 7, 1015-1026.
194. Karim, A., Ashraf M., Bhatti, M.K. (1979). Studies on the essential oils of the.
195. Kose, E. D., Aktas, O., Deniz, I. G., Sarikurcu, C. (2010). Chemical composition,
196. Kir'yalov, N. P. (1947). Detection of dextrorotatory α -Pinène in the essential oil of *Ferula foliosa*, *Zhurnal Prikladnoi Khimii*. 20, 1304-1307.
197. Chibani, S., Berhail-Boudouda, H., Kabouche, A., Aburjai, T., Kabouche, Z. (2011). Analysis of the essential oil of *Ferula communis* L. from Constantine (Algeria), *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 1, 41-44.
198. Znati, M., Jabrane, A., Hajlaoui, H., Harzallah-Skhiri, F., Bouajila, J., Casanova, J., Ben Jannet, H. (2012). Chemical composition and *in vitro* evaluation of antimicrobial and anti-acetylcholinesterase properties of the flower oil of *Ferula lutea*, *Natural Product Communication*. 7, 947-950.
199. Knobloch, K., Pauli, P., Iberl, B., Weigand, H., Weis, N. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*. 1, 603-608.
200. Hosseini, F., Adlgostar, A., Sharifnia, F.(2013). Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* extracts on *Streptococcus mutans* biofilm. *International Research Journal of Biological Science* 2, 1-7.

- 201.** Benhammou, N., Bekkara, F. A., Panovska, T.K.(2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacologie. 2, 22-28.
- 202.** Bellakhdar, J.(1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle; Médecine arabe ancienne et savoir populaire. Ibis Press, Saint-Etienne. p. 764-766
- 203.** Wang, W., Wu, N., Zu, YG., Fu, YJ., (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. Food Chemistry. 108, 1019-1022.
- 204.** Maróstica, MR., Silva T., Franchi G. C., Nowill A., Pastore G. M., Hyslop, S.(2009). Antioxidant potential of aroma compounds obtained by limonene biotransformation of orange essential oil. Food Chemistry. 116, 8-12.
- 205.** Miyazawa, M., Watanabe, H., Kameoka, H. (1997). Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a *p*-menthane skeleton. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 45, 677-9.
- 206.** De Souza, A., Cardoso Lopes, E. M., da Silva, M. C., Cordeiro, I., Young, M. C. M., Sobral, M. E., Moreno, P. R. (2010). Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of essential oils of *Myrceugenia myrcioides* (Cambess.) O. Berg and *Eugenia riedeliana* O. Berg, *Myrtaceae*. Rev Brazilian Journal of Pharmacognosy 20 ,175-179.

*II-COUPPLAGE OXYDANT SÉLECTIF DES
AMINES PROPARGYLIQUES ET
DES ALCOOLS ALLYLIQUES*

CHAPITRE I

*APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES
DIFFÉRENTES MÉTHODES DE SYNTHÈSE
DES X-HÉTÉROCYCLES CATALYSÉE,*

PAR [RU]

I. Introduction

Les dérivées pipéridiniques hétérocycliques constituent un grand nombre de produits naturels, leur utilisation dans les applications pharmaceutiques et électroniques telles que les conducteurs, les capteurs et les diodes d'émission de lumière devient de plus en plus importante [1]. À cet égard, le développement de nouvelles stratégies efficaces pour la synthèse de ce type de composés hétérocycliques a fait l'objet de plusieurs études [2]. Cependant la formation de sous produits est également un problème qui doit être évité dans les procédés classiques en utilisant des réactifs stœchiométriques. La méthode la plus courante pour leur formation est basée sur la fermeture de cycles intramoléculaire. Cependant, dans la plupart des stratégies de fermeture intramoléculaire il est nécessaire de synthétiser et isoler ensuite le précurseur à chaîne ouverte [3-5]. A l'échelle industrielle les coûts environnementaux et économiques de l'étape d'isolement sont considérables. En revanche, une stratégie plus efficace utilise une alkylation suivie d'une cyclisation elle est catalysée par un métal de transition offrant une solution puissante pour synthétiser des hétérocycles dans des conditions réactionnelles douces et neutres en avec économie d'atomes et d'énergies [6- 9].

I.1. Méthodes de synthèse des X-hétérocycles catalysée, par le ruthénium

Dans cette partie bibliographique, on va citer quelques exemples de la synthèse des N-hétérocycles *via* la formation carbone-hétéroatome et également la liaison de cyclisation carbone-carbone catalysée par du ruthénium conduisant à N-hétérocycles. Il y a plusieurs méthodes de préparation des composés N-hétérocycliques, tels que la métathèse de fermeture de cycle diène, la métathèse de fermeture de cycle ényne, la réaction de l'alderène, la cyclopropanation des énynes avec les composés diazotés, la co-cyclotrimérisations d'alcyne avec des hétéroatomes des liaisons multiples, l'hydroamination d'aminoalcyne, la synthèse de pyridiazines des alcyne-1,4-diols et la synthèse de benzazoles par transfert d'hydrogène, catalysée par le ruthénium.

I. 1. 1. Métathèse des alcène N-hétérocycliques

La métathèse des oléfines est une réaction organique qui implique la redistribution de fragment alcyldène par scission d'une liaison double carbone-carbone dans les alcènes . La

deuxième génération de catalyseurs de Grubbs [Ru] présentait une excellente réactivité envers la synthèse d'un alcène N-hétérocyclique tétra substitué (schéma 1) [10].

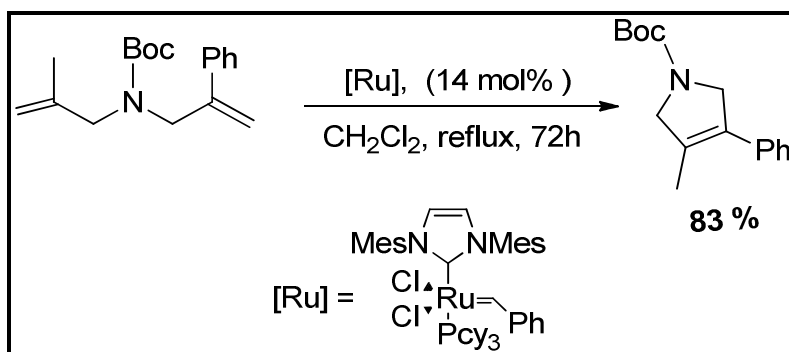


Schéma 1: métathèse de diène " Ring closing "

I. 1. 2. Le couplage intramoléculaire d'alcènes et d'alcynes

Les Ruthenocyclopentènes ont également été proposés comme produits intermédiaires dans la réaction de couplage intramoléculaire d'alcènes et d'alcynes (schéma 2) , la cycloisomérisation de géranyle (1) catalysée par $\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{CH}_3\text{CN})_3\text{PF}_6$ d'une manière sélective, avec un *ratio* de 8:1 donnant le produit 1,4-diène (2). La formation du produit (3) inverse complètement la sélectivité pour donner (4) avec un *ratio* de 17: 1.

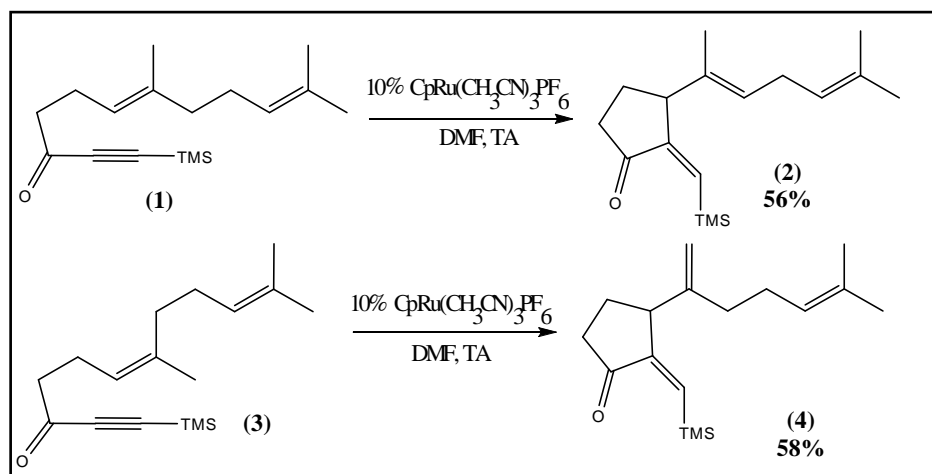


Schéma 2: Couplage intramoléculaire d'alcènes et d'alcynes

L'examen des intermédiaires proposés **(5)** et **(6)** voire schéma 3, fournit une explication possible de ce phénomène. Le substituant situé en position pseudo-équatoriale place une extrémité proximale d'hydrogène par rapport au centre métallique, dans une position qui permet le chevauchement nécessaire pour la β -élimination d'hydrogène [11].

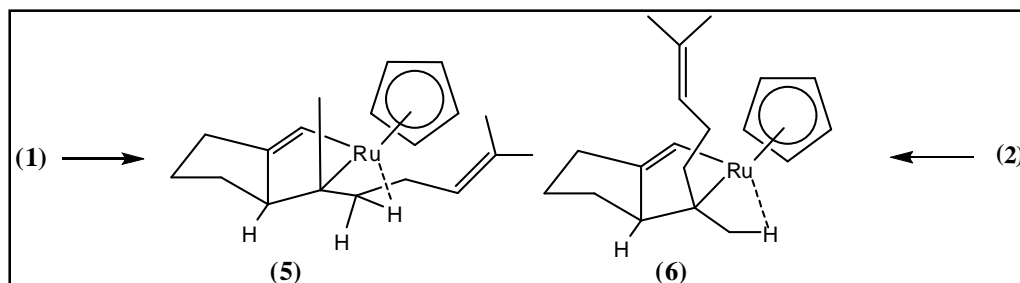


Schéma 3: Etape intermédiaire, β -élimination d'hydrogène

I. 1. 3. Couplage de diènes et d'énol esters

Le Schéma 4 montre la formation de la pyrrolidine bicyclique **(9)** avec un rendement de 60%, à partir de l'amine **(7)** et la cétone méthyle vinyle **(8)** qui est catalysée par $\text{CpRu}(\text{CH}_3\text{CN})_3\text{PF}_6$, en présence de 15% de tétrachlorure de titane comme co-catalyseur. Un ruthenacyclopentane a également été postulé comme un intermédiaire dans le couplage des diènes et des esters d'énol (Schéma 4), après coordination du diène [12].

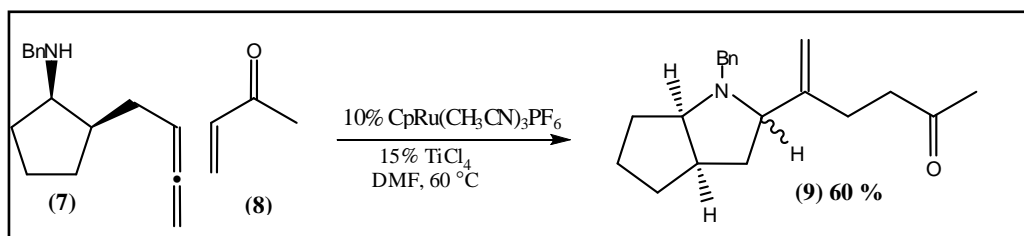


Schéma 4: Couplage de diènes et d'énol esters catalysé par [Ru]

I. 1. 4. Couplage intermoléculaire d'alcène et d'alcyne

Le couplage d'alcène **(10)** et d'alcyne triméthylsilyle **(11)**, dans l'acétone à la température ambiante, catalysé par 10% de $\text{CpRu}(\text{CH}_3\text{CN})_3\text{PF}_6$, donne le 1,4-diène **(12)** avec un rendement de 88%, sous forme d'un seul isomère (schéma 5) [13].

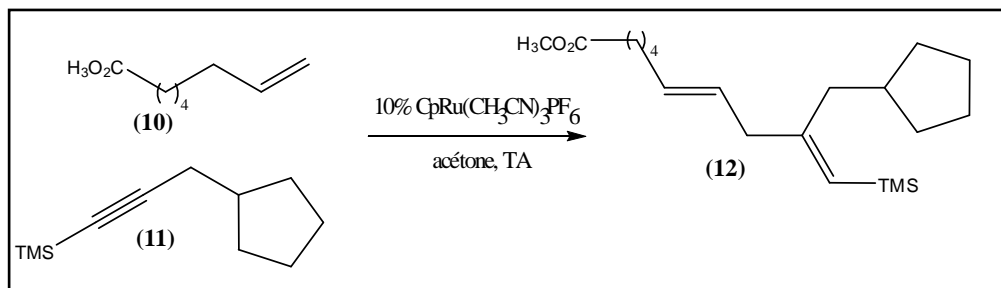


Schéma 5: couplage d'alcène et d'alcyne catalysé par [Ru]

I. 1. 5. Cyclopropanation d'énynes avec des composés diaziques

Dixneuf et ses co-auteurs ont rapporté une synthèse simple d'esters [3.1.0] bicyclofluoré hexane esters (15) par l'addition tandem de diazoalcène (14) et la bicyclization d'énynes fluorés (13) catalysée par le ruthénium dans des conditions très douces. Les 1,6-énynes réagissent avec 1,5 éq. de $\text{N}_2\text{CHSiMe}_3$ dans l'éther avec un rendement de 59% donnant la structure de [3.1.0] bicyclohexane, avec la configuration Z du groupement alcényle (schéma 6) [14].

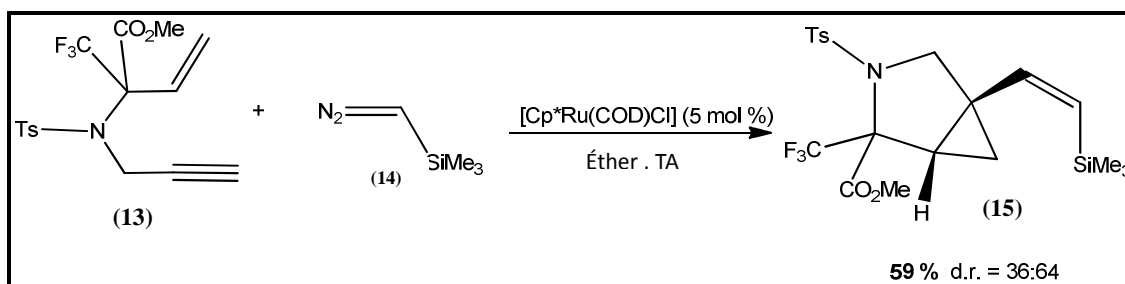


Schéma 6: Cyclopropanation d'énynes avec des composés diaziques catalysé par [Ru]

I. 1. 6. Réaction d'Alder-ène

Le catalyseur cationique [Ru] tolère l'utilisation des oléfines trisubstituées dans la réaction intramoléculaire du type ène, permettant la formation de cycles à six chaînons [11], l'ényne 1,7 (16) réagit avec le catalyseur $\text{CpRu}(\text{CH}_3\text{CN})_3\text{PF}_6$ dans l'acétone à température ambiante pendant 2 h, conduisant à la formation de composés hétérocycliques à six chaînons (17) (Schéma 7) [15-18]. Cette réaction se fait entre un alcène et un hydrogène allylique et une liaison multiple. Le produit est un alcène substitué et la double liaison est décalée à la position allylique.

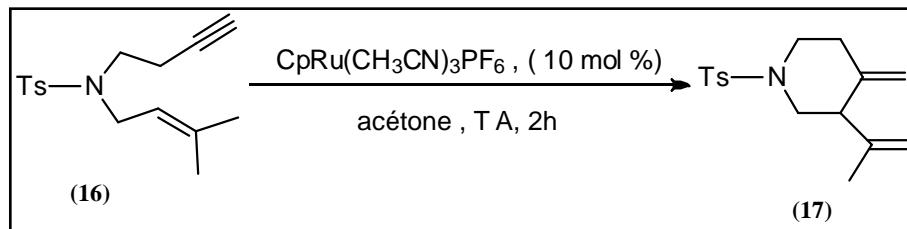


Schéma 7: Réaction d'Alder-ène

I. 1. 7. Couplage d'alcynes

Le 4-méthylènetétrahydrofurane (**18**) réagit avec l'alkynoate (**19**) offrant les 1,4-diènes (**20**) et (**21**) avec un rendement de 70% et un excellent contrôle de la régiosélectivité par rapport au partenaire alcène (**18**) voire schéma 8. Cette réaction montre également la préférence de formation de la liaison C-C, à la liaison R-carbone de l'alkynoate. La polarisation du ruthénocycle (**22**), a été postulée comme l'un des facteurs qui favorise la mise en place d'un groupement attracteur d'électrons à carbone du ruthénocycle [19].

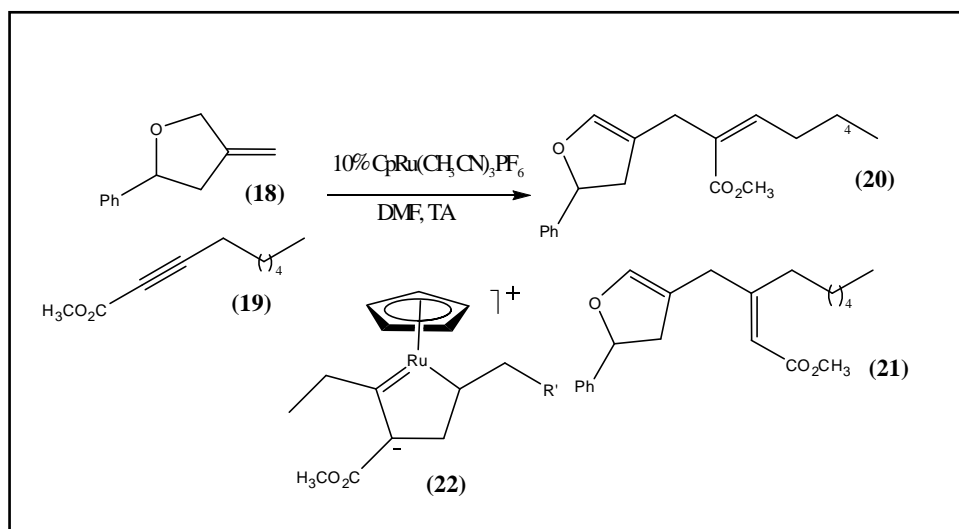


Schéma 8: Couplage oxydant d'alcynes

I. 1. 8. Cyclisation d'alcyne utilisant le [Ru] comme accepteur d'hydrogène

En 2009, Williams a utilisé les catalyseurs du ruthénium pour la cyclisation de pyridiazines [20]. Le schéma 9 montre que l'alcyne 1,4-diol (**23**) réagit avec l'hydrazine en présence du catalyseur ruthénium de styrène comme un accepteur approprié d'hydrogène pour donner le produit de pyridiazine (**24**). L'hydrazine a été ajoutée trois heures après le début de la réaction (schéma 9).

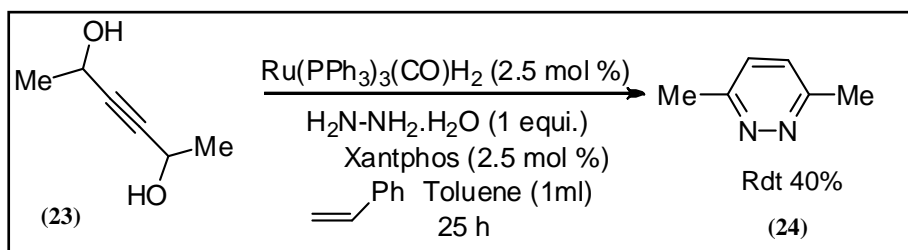


Schéma 9: Synthèse de pyridiazines d'alcyne 1,4-diols.

Le pouvoir du ruthénium comme précatalyseur est reconnu pour l'activation de simples hydrocarbures insaturés [21,22], et pour les transformations sélectives avec économie d'atomes [23].

Le couplage carbone-carbone des bandes $\text{C}\equiv\text{C}$ et $\text{C}=\text{C}$ dans le centre de ruthénium (II) a été déjà rapporté pour conduire sélectivement les dérivés linéaire [24,25]. Dixneuf et ces co-auteurs ont montré que la réaction des alcynes terminaux avec les alcools allyliques en présence du ruthénium (IV) et le ruthénium (II) comme catalyseurs précurseurs conduisant aux γ , δ -aldéhydes insaturés avec un rapport ramifié / linéaire de 4: 1 [26]. Une variété de nouvelles méthodes de formation de la liaison carbone-carbone implique l'activation des alcynes avec un précurseur de ruthénium [27,28], tel que le couplage avec des alcools allyliques [29-33], des alcènes [34, 35], des oléfines cycliques [36, 37], 1,6- et 1,7-ènynes insaturés qui peut être intramoléculairement réorganisé en dérivé cycloalcénique [38], ou en cyclopentenones [39, 40].

I. 1. 9. Synthèse de dérivés acétal O-hétérocycliques

Dérien et coll. ont développé le couplage régiosélectif carbone-carbone de prop-2-yn-1-ols avec les alcools allyliques en présence du ruthénium (II), $\text{RuCl}(\text{COD})(\text{C}_5\text{Me}_5)$ à 80°C , pendant 1 h pour donner le 2-allyloxy-5-méthylènetétrahydropyrane et de l'eau comme un sous produit (Schéma 10) [41].

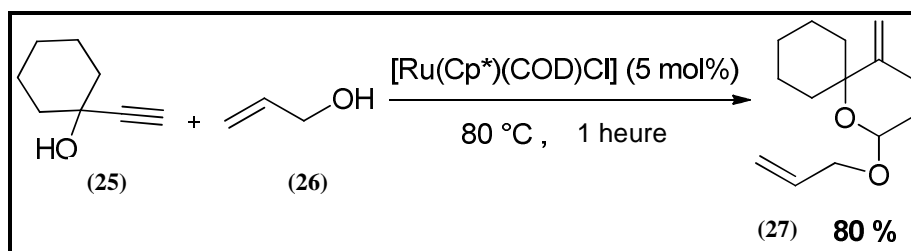


Schéma 10: Synthèse de dérivés acétal O-hétérocycliques

I. 2. Synthèse de pipéridines substituées

Les approches traditionnelles pour accéder aux pipéridines polyfonctionnalisées impliquent généralement les méthodes suivantes: l'alkylation, l'arylation de dérivés de pipéridone, hydrogénation de la pyridine ou cycloadditions substituées [42-46].

I. 2. 1. Synthèse de pipéridine 3,4-disubstituées

Les pipéridines 3,4-disubstituées sont des inhibiteurs de peptidases aspartique. La synthèse de la pipéridine (34) est représentée dans le schéma 11 [47], elle commence par la N-protection de la 4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (28) avec Boc_2O fournissant le dérivé (29) avec un rendement de 92 %. Ensuite la dihydroxylation asymétrique de Sharpless a donné le diol (30) avec un rendement de 95%, qui a été ensuite réduit avec du nickel de Raney pour donner (31) à un rendement de 84% (ee > 95%). Le groupement hydroxyle (31) a été alkylé avec du NaH et le 4-bromure de bromobenzyle (32) pour fournir la pipéridine protégée par le groupement Boc (33), avec un rendement de 77%. Enfin, l'élimination du groupement Boc avec du HCl-dioxane a donné la pipéridine désirée (34) qui peut être directement utilisée dans des réactions enzymatiques.

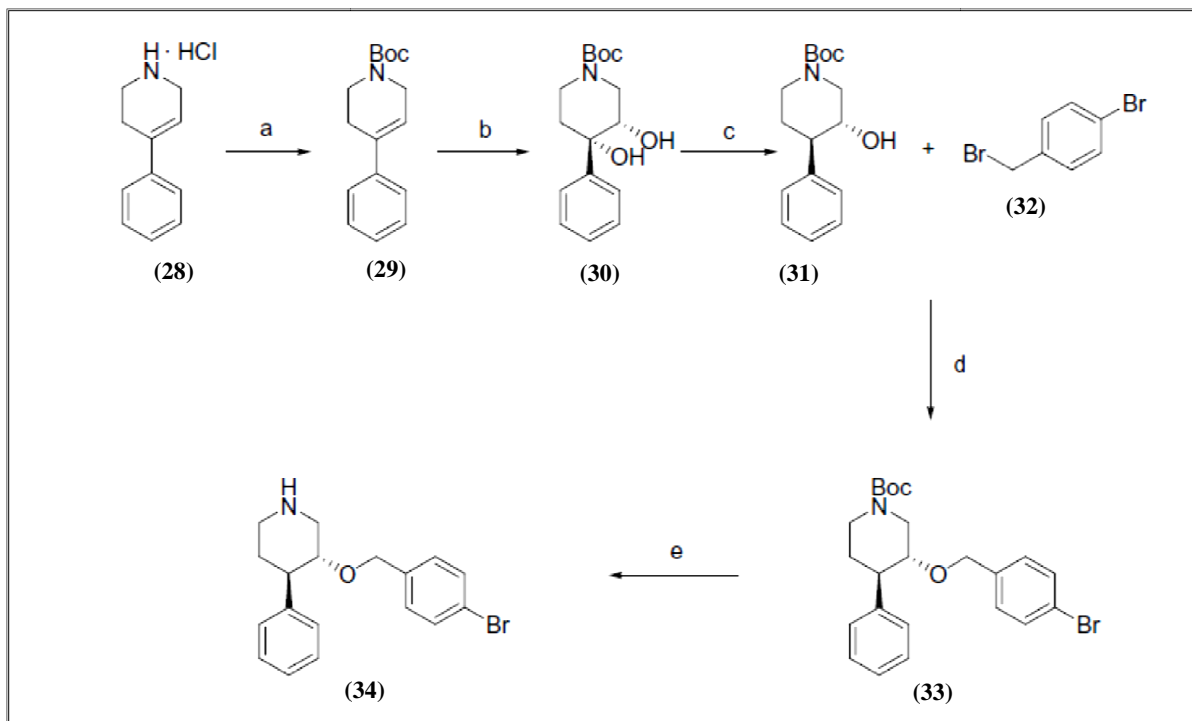


Schéma 11: Synthèse de pipéridine **(34)** inhibiteur de peptidases aspartique

Réactifs et conditions: (a) Boc_2O , TEA, DMAP, CH_3CN , 8 h, (b) AD-mix- α , $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{NH}_2$, $t\text{-BuOH}/\text{H}_2\text{O}$, 12 h, (c) Raney-Ni, EtOH, reflux, 2 h, (d) NaH, DMF, 12 h, (e) HCl/dioxane.

Les transformations en cascade à multi composants constituent de nouveaux protocoles pour la synthèse de pipéridines polysubstituées [48-50].

I. 2. 2. Terpénylations des amines par transfert d'hydrogène

Cette méthodologie a permis également la post-fonctionnalisation des amines cycliques à 2 ou 3 positions par des processus d'oxydoréductions catalysée par un métal de transition [51].

La pipéridine alkylée **(36)** a été mise à réagir avec le citronellal **(35)**, en présence des catalyseurs **(B, C, D)** et le CSA, en tant qu'additif à 150 °C pendant 16 h. Après refroidissement, l'acide formique est ajouté comme agent réducteur lors de la dernière étape. Dans ces conditions réactionnelles, les amines agissent à la fois comme des

nucléophiles à travers la formation intermédiaires d'énamine et comme donneurs d'hydrogène pour la génération d'espèces d'hydrure métallique permettant la réduction de l'espèce d'iminium (**37**) (schéma 12).

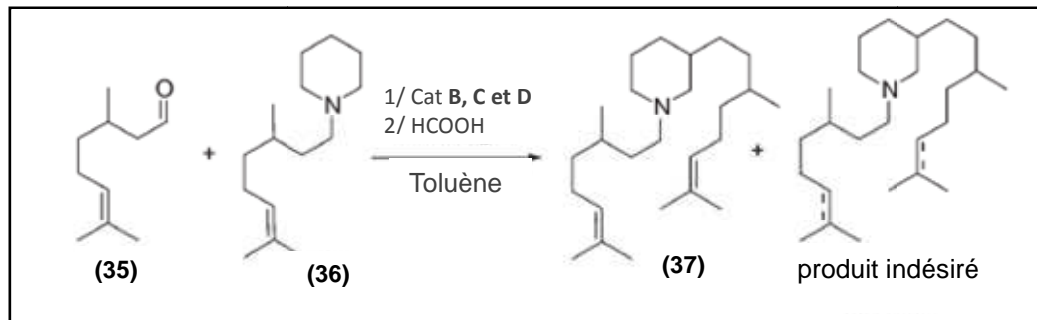


Schéma 12: Terpénylation de la pipéridine avec le citronéllal

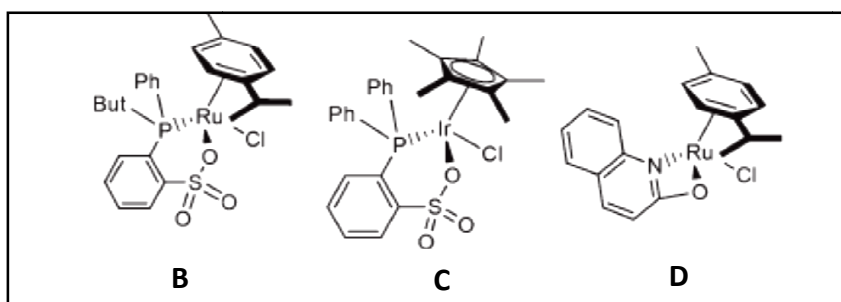


Schéma 13: Les catalyseurs utilisés pour la terpénylation

I. 2. 3. Préparation sélective de N-arylpipéridines *via* le transfert d'hydrogène en Tandem

Bruneau et ses co-auteurs rapportent la préparation et l'application catalytique dans les réactions de transfert d'hydrogène d'un nouveau catalyseur d'iridium, en effectuant l'oxydation par déshydrogénation d'alcools en aldéhydes ou cétones, et des amines cycliques en énamines, et aussi pour réduire les intermédiaires insaturés. En particulier, une procédure tandem écologique et économique d'atomes [52], impliquant plusieurs processus de transfert d'hydrogène, a été développée à partir de trois composants facilement accessibles: les anilines, les diols et le benzaldéhyde pour produire C (3) N-arylpipéridine fonctionnalisée (schéma 14) [53].

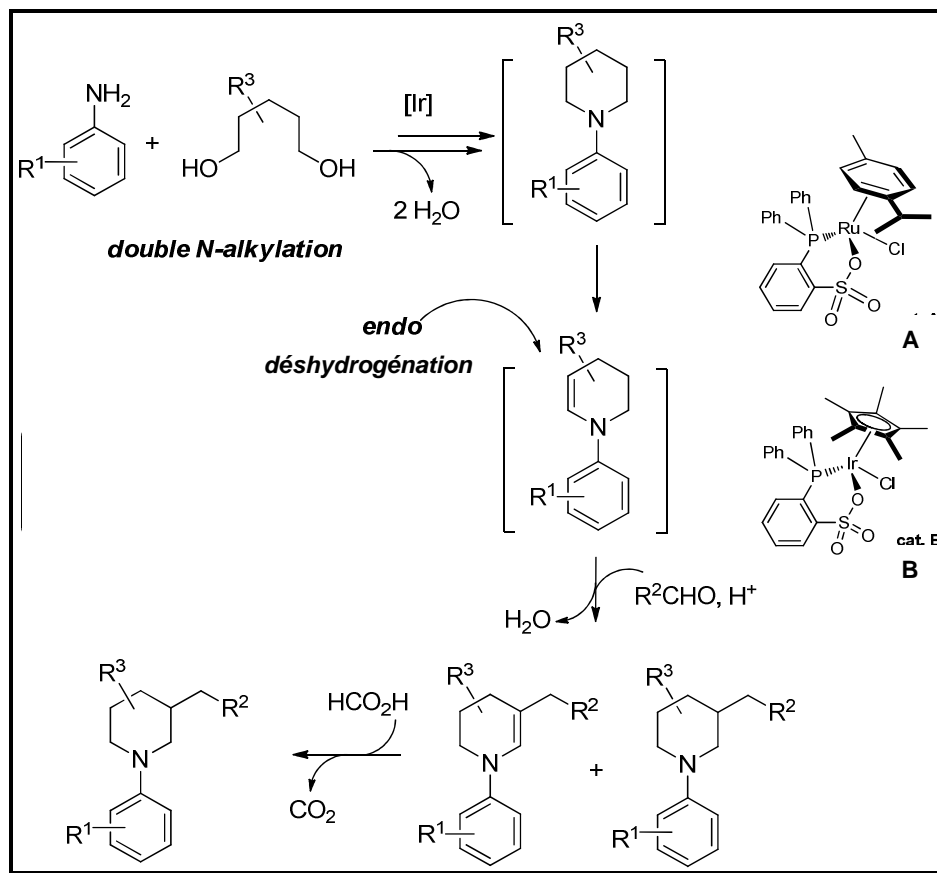


Schéma 14: Etapes clés du processus de transfert d'hydrogène en Tandem [53].

L'aniline (**38**) a été mise à réagir avec le pentan-1,5-diol (**39**), sans base, en présence d'un catalyseur, à $150\text{ }^\circ\text{C}$, pendant 16 h. Après refroidissement, le benzaldéhyde a été ajouté et le mélange réactionnel a été chauffé pendant 19 h supplémentaires à $150\text{ }^\circ\text{C}$. La formation prévue de la 3-benzyl-N-phénylpipéridine (**42**) a été observée, mais la N-benzylaniline (**40**) et la N-phénylpipéridine (**41**) ont également été détectées (schéma 15).

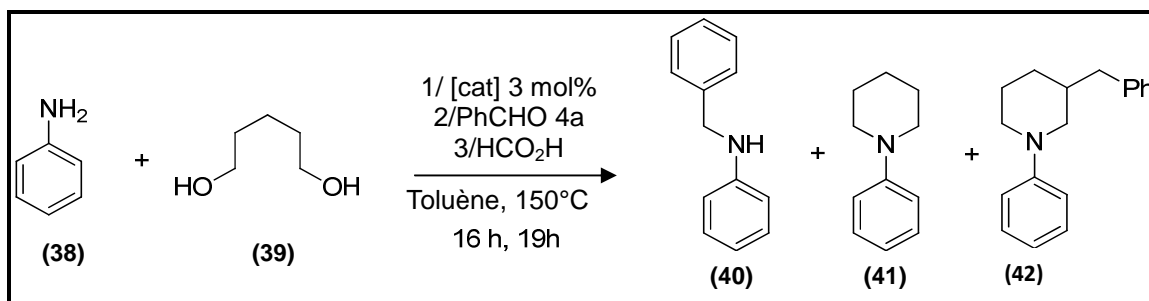


Schéma 15: N-,N-,C-trialkylation en Tandem de l'aniline (**38**)

I. 2. 4. N-Boc-pipéridines (ligand- β -sélectif C (sp³) H d'arylation)

Cette réaction, dont le mécanisme a été étudié en détail, implique une migration de Pd sur la chaîne alkyle par une séquence β -H élimination / rotation / insertion séquence. Par extension, nous avons envisagé que la β -arylation de 2-méthylpipéridines observé par Knochel et ces co-auteurs [54], ce qui implique probablement que le même mécanisme de migration de Pd pourrait être étendue à d'autres pipéridines, y compris celles ne possédant pas un substituant C-2, par un choix approprié du ligand. qui peut développer une telle β -arylation de ligand-contrôlée de Boc-pipéridines (schéma 16) [55,56].

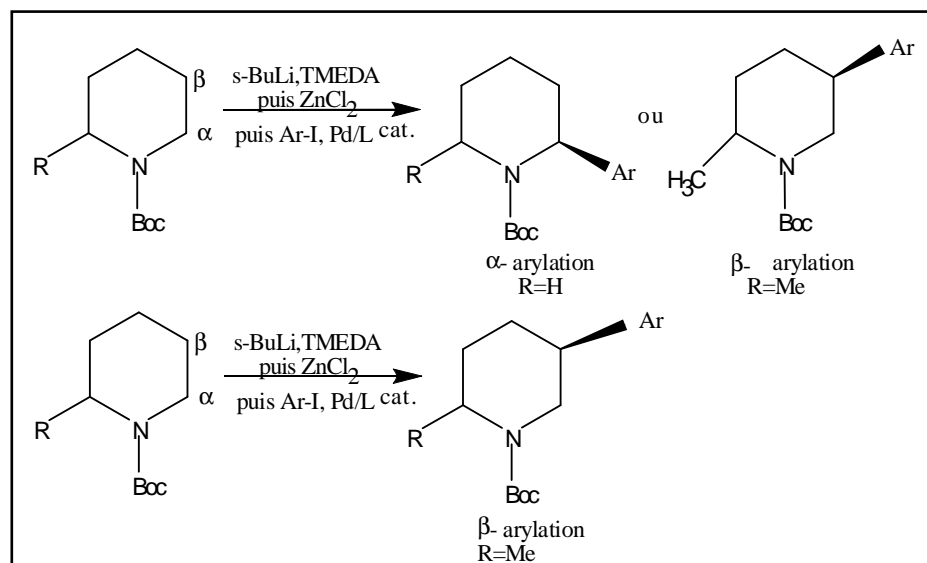


Schéma 16: Arylation de Boc-pipéridines contrôlée par le type de ligand

I. 2.5 Arylation directe d'énamides par une réaction décarboxylante/couplage

L'accès simple à des dérivés de 4-phénylpipéridine à travers un métal de transition, une réaction décarboxylante croisée à un couplage catalysé par le [Pd] des énamides simples a été réalisée [57,58]. En fonction du choix du groupement protecteur de l'azote, la synthèse sélective d'une mono- ou diarylation a été effectuée dans des conditions douces. Cette réactivité pourrait être appliquée à la synthèse d'une gamme de dérivés pipéridiniques diarylés à effet bioactifs (schéma 17).

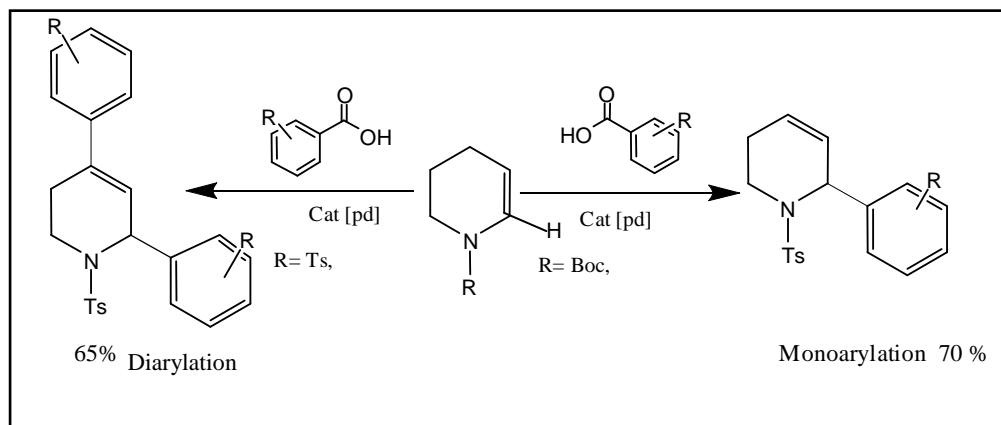


Schéma 17: Arylation directe d'énamides par une réaction décarboxylante/couplage

I. 2. 6 Synthèses régio et stéréosélectives de dérivés pipéridinique catalysée par [Ru]

Dérien et ses collaborateurs. ont mise au point un système catalytique efficace pour le couplage ène-yne des alcools allyliques d'amines propargyliques *via* la formation de ruthénacyclopentène en présence de ruthénium cationique (II) conduisant à la formation des dérivés de pipéridine précieux (schéma 18). Pour étudier la faisabilité de ce processus, la N-tosylpropargylamine (**43**) a été mise à réagir avec l'alcool crotylique (**44**) en présence de divers complexes du ruthénium (II). La nature du précatalyseur a été étudiée en utilisant le THF comme solvant. Le produit principal (**45**) a été formé en utilisant le $[\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{NCCCH}_3)_3]\text{PF}_6$ comme catalyseur [59].

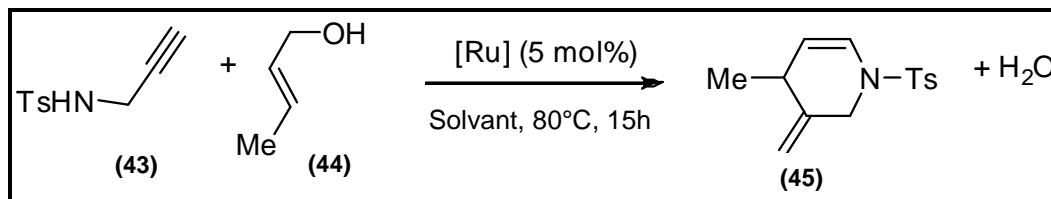
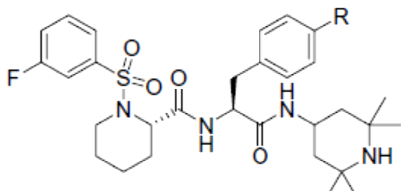
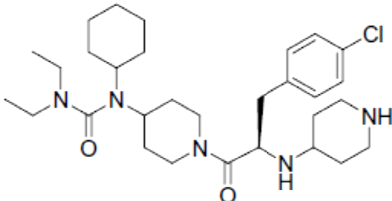
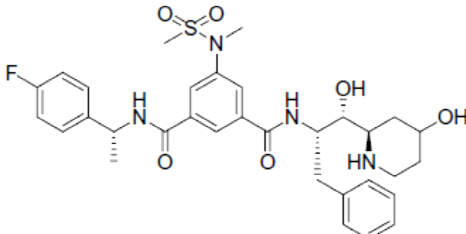
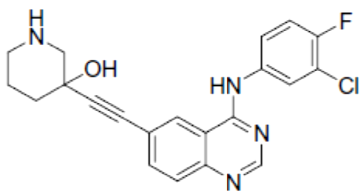


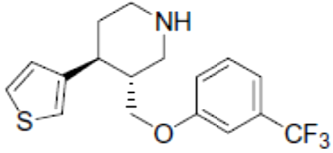
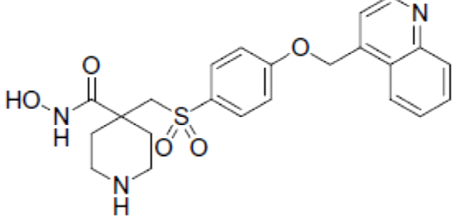
Schéma 18: Couplage C-C / condensation de l'amine (**43**) et l'alcool (**44**) catalysée par [Ru]

I. 3. Intérêts biologique des dérivés pipéridiniques

Une grande variété de stratégies de synthèse est utilisés pour la préparation de dérivés pipéridiniques substitués. En raison de la demande d'une sélectivité améliorée et d'une réduction des effets secondaires des médicaments potentiels dans la recherche pharmaceutique, la synthèse de composés biologiquement actifs de ce genre reste un défi majeur en chimie organique et en synthèse catalytique. Dans ce contexte, nous citons quelques dérivés pipéridiniques à potentiels biologiques (tableau 30).

Tableau 30: Activités biologique de quelques dérivés pipéridiniques brevetés

La molécule brevetée	Activité biologique	Réf
	Antiparkinsonienne	[60]
	Antidiabétique	[61]
	Antalzheimer	[62]
	Anticancéreuse	[63]

 <p>The structure shows a piperidine ring with an NH group. It is substituted at the 2-position with a thienothiopyran ring system. At the 4-position, there is a trifluoromethyl group (-CF₃) attached to a benzene ring via an ether linkage.</p>	Contre la Migraine et l'épilepsie	[64]
 <p>The structure shows a piperidine ring with an NH group. It is substituted at the 2-position with a sulfonamide group (-SO₂NH₂). At the 4-position, there is a quinoline ring system attached via an ether linkage.</p>	Antiarthritique	[65]

CHAPITRE II
SYNTHÈSE DE NOUVEAUX DÉRIVÉS
PIPÉRIDINIQUES

II. Introduction :

Choisir la meilleure approche pour réaliser des réactions de couplage oxydant entre une amine propargylique et un alcool allylique avec succès n'est pas chose aisée. La multiplication des paramètres inhérents à la réaction ne facilite pas la compréhension globale et la prédiction de la réaction. La nature des systèmes catalytiques et des conditions employées sont en effet autant de paramètres que nous avons essayé d'apprécier dans ce chapitre.

II.1. Optimisation des conditions réactionnelles:

II 1. 1. Le choix du catalyseur :

La réaction initiale a été réalisée dans le THF en présence de 1 éq d'amine N-tosylpropargylique **2a** et un excès d'alcool cinnamique **1a** (schéma 19, tableau 31).

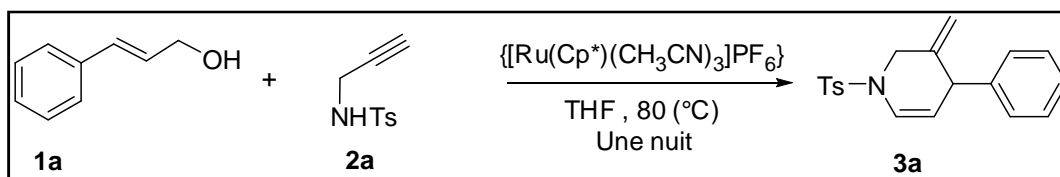


Schéma 19

Tableau 31: Effet du catalyseur dans la réaction de l'amine N-tosylpropargylique et alcool cinnamique

Entrée	[Ru] (5 mol %)	Symbole de Catalyseur	Rdt de produit isolé (3a) (%)
1	Cp*Ru(COD)Cl	A	-
2	Cp*Ru(CH ₃ CN) ₃ PF ₆	B	48
3	Cp*Ru(CH ₃ CN) ₃ BF ₄	C	11
4	(neopentyl-Cp*)Ru(CH ₃ CN) ₃ PF ₆	D	43
5	(^t Bu-Cp*)Ru(CH ₃ CN) ₃ PF ₆	E	29
6	(ⁱ Pr-Cp*)Ru(CH ₃ CN) ₃ PF ₆	F	24
7	(Cp)Ru(CH ₃ CN) ₃ PF ₆	G	19
8	(CF ₃ -Cp*)Ru(CH ₃ CN) ₃ PF ₆	H	8

Ordre d'addition: 1. THF, 2. l'amine N-tosylpropargylique, 3. l'alcool cinnamique 4. le

catalyseur.

Étonnamment, la réaction en présence d'un catalyseur neutre (A), n'a donné aucune conversion (entrée 1). D'autre part, le catalyseur analogue cationique (B) donne une conversion complète conduisant à l'énamide **3a** avec un rendement isolé de 48 % (entrée 2), ce qui attire notre attention sur l'effet d'anion inverse avec le catalyseur C contenant le tétrafluoro borate qui a donné un rendement de 11 % (entrée 3). L'influence du fragment cyclopentadiényle a été alors examinée. Notamment, le plus stériquement encombré [Cp* Ru] contenant des catalyseurs à base de néopentyle et de groupe t-Bu a donné de meilleurs résultats avec des rendements de 43% et 29%, respectivement (entrées 4 et 5).

II. 1. 2. Effet de la concentration de l'alcool :

En utilisant le $\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{CH}_3\text{CN})_3\text{PF}_6$ comme catalyseur, avec le THF comme solvant à 80°C nous avons étudié l'effet de la concentration de l'alcool cinnamique **2b** et de la N-tosylamine propargylique **2a** (schéma 20, tableau 32).

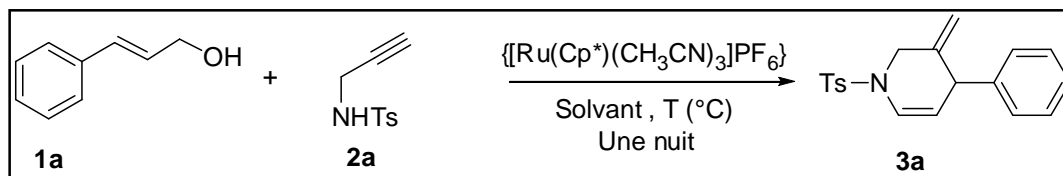


Schéma 20

Tableau 32: Effet de la concentration de l'alcool cinnamique

Entrée	(2a) x equiv.	(1a) y equiv.	Rdt (CPG) (3a) (%)
1	1	5	35
2	1	2.5	39
3	1	2	41
4	1	1.5	48
5	1	1	54
6	1	1.2	64

Ordre d'addition: 1. Amine N-tosylpropargylique, 2. THF, 3. l'alcool cinnamique, 4. Le

catalyseur.

L'augmentation de la quantité d'alcool **1a** a mis en évidence la formation indésirable d'éthers d'hémiaminal probablement résultant de l'attaque nucléophile de l'alcool sur l'énamine cyclique et la formation de l'aldéhyde résultant de l'isomérisation de l'alcool allylique **1a** (entrées 1 à 4). Le meilleur *ratio* de l'alcool est 1:1.2, avec un rendement de 64% (entrée 6).

II. 1. 3. Influence de la température :

L'effet de la température sur le rendement de la réaction (schéma 20) est résumé dans le tableau 33 .

Tableau 33: Influence de la température sur le rendement de la réaction

Entrée	T °C	Rdt (CPG) (3a) (%)
1	TA	00
2	80	35
3	100	72
4	110	70
5	115	69
6	125	58
7	130	47
8	150	41

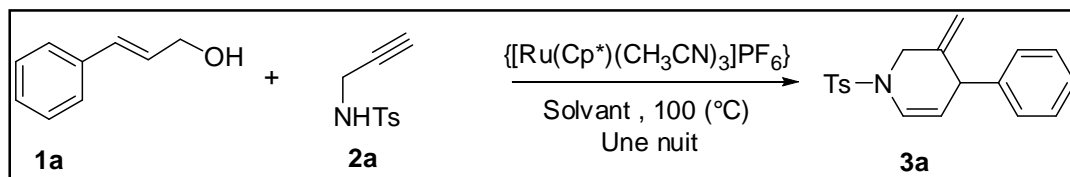
Ordre d'addition: 1. l'amine N-tosylpropargylique, 2. THF, 3. l'alcool cinnamique, 4. le catalyseur.

TA: température ambiante.

Il faut noter que la réaction ne peut pas se produire à la température ambiante. Malheureusement, elle n'a adonné aucune conversion (entrée 1) de. La température optimisée est comprise entre 100°C et 110°C donnant environ 70% (Rdt CPG) (entrées 3 et 4), Il est à noter qu'à des températures supérieures à 120°C, une quantité notable de *p*-toluène sulfonamide a été détectée, résultant de la propargylation de **2a**, ce qui justifie les rendements faibles (entrées 6-8).

II. 1. 4. Influence du Solvant :

Après avoir trouvé les conditions appropriées avec le catalyseur du ruthénium (entrée 2, tableau 31) et la température optimisée nous avons étudié l'influence de solvant (tableau 34).

**Schéma 21****Tableau 34:** Effet du solvant sur la réaction.

Entrée	Solvant	Rdt CPG (3a) (%)
1	CAN	-
2	1, 4-Dioxane	19
3	DEC	13
4	THF	71
5	MeTHF	25
6	Tol	00
7	BnOH	17
8	ClBn	26
9	MeOH	77
10	DCE	73
11	H ₂ O	39
12	TerBuOH	8
13	EtOH	58

Ordre d'addition: 1. L'amine N-tosylpropargylique, 2. Le solvant, 3. L'alcool cinnamique, 4. Le catalyseur.

Comme solvant de coordination, l'acétonitrile n'a donné aucune conversion de l'amine propargylique. Après un screening initial de solvants, le THF et la DCE ont été jugés appropriés pour la transformation qui a donné l'énamide **3a** avec des rendements de 71% et 73%, respectivement (entrées 2 et 4). Il faut noter que le rendement de la réaction dans le THF a été amélioré de 48% à 71%, en changeant l'ordre d'addition des substrats (entrée 2 du tableau 31 par rapport à l'entrée 4 du tableau 34). Ces résultats peuvent expliquer par une éventuelle réaction secondaire qui se produit lorsque la concentration d'amine dans la réaction est trop élevée, conduisant à la formation du dimère ou trimère d'amine propargylique **2a**.

II. 1. 5. Influence des additifs:

Les additifs n'ont montré aucun effet sur la réaction (tableau 35).

Entrée	Additif	Rdt CPG (3a) (%)
1	K ₂ CO ₃	0
2	CSA	7

II.1. 6. Influence de la protection de la fonction amine :

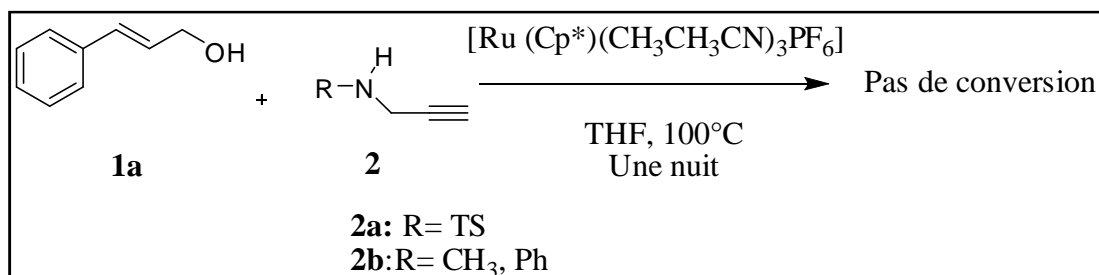


Schéma 22

Nous avons étudié l'influence de la protection de l'amine. Le groupement protecteur a été jugé essentiel. La réaction de l'amine N-méthylpropargylique **2b** n'a donné aucune conversion (schéma 22). La coordination possible d'atome d'azote au centre du ruthénium peut désactiver le catalyseur et expliquer cette absence de réactivité.

II. 1. 7. Influence du Nucléophile :

Pendant le screening de solvant, nous avons observé que les alcools ne donnent pas le composé attendu comme résultat de la réaction (entrée 9 du tableau 34) avec un rendement de 77% (Schéma 23), ce composé **4b** résulte de l'utilisation de MeOH comme solvant.

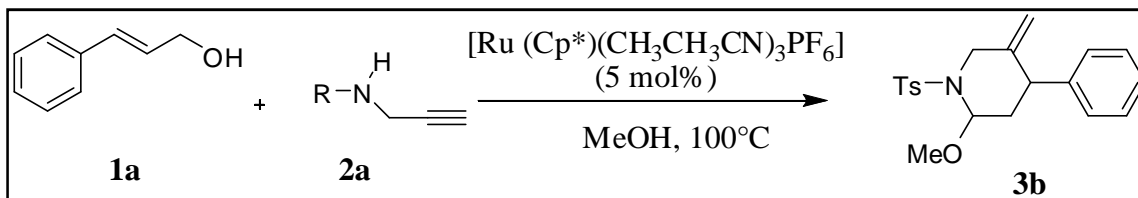


Schéma 23

Les amines synthétisés ont été jugés très sensibles, les analyses RMN réalisées dans CDCl₃ ont montré la déshydratation de **3b**. Des traces de chloroforme deutéré acide étaient suffisantes pour protoner le groupement alcoxy donnant l'énamide **3b**, par élimination de méthanol ou d'éthanol (Schéma 24). La caractérisation complète était possible en utilisant soit C₆D₆ ou CD₂Cl₂.

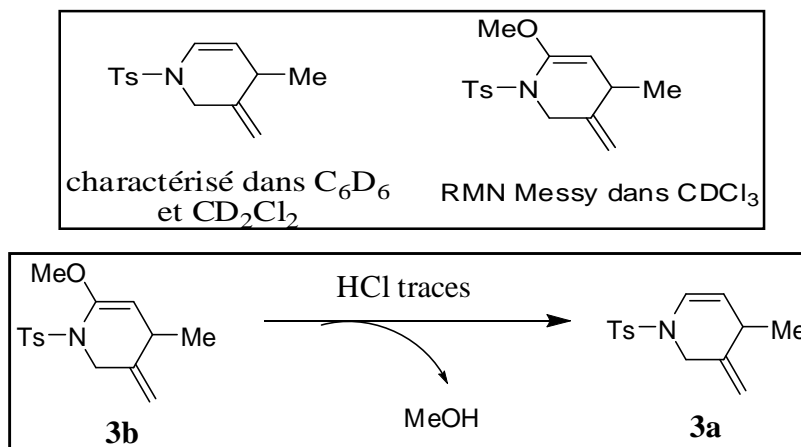


Schéma 24

Les conditions opératoires, pour lesquelles nous avons opté, correspondent à celles utilisées par Murugesan et ces collaborateurs [59]. Chaque paramètre modifié est signalé et concerne essentiellement les temps de réaction, la température utilisée, l'ordre d'addition et la concentration des substrats engagé dans la réaction. Ainsi, nous avons choisi un protocole qui a permis d'obtenir d'excellents rendements.

II. 2. Synthèse de nouveaux dérivés pyridiniques:

Enfin, avec les meilleures conditions de la réaction, l'utilisation de 8 mol% de catalyseur améliore la transformation de **3a** donnant une conversion presque complète avec un rendement isolé de 74%. La purification rapide sur une flash colonne chromatographique de gel de silice neutralisée a minimisé la dégradation des produits isolés.

II. 2.1-Utilisation de l'alcool cinnamique dans le THF :

L'amine N-tosylpropargylique, l'amine N-Boc-propargylique et le benzamide propargylique, avec l'alcool cinnamique ont été jugés appropriés pour permettre à la formation de produits cycliques **3a** avec des rendements de 70-87 % (schéma 25)

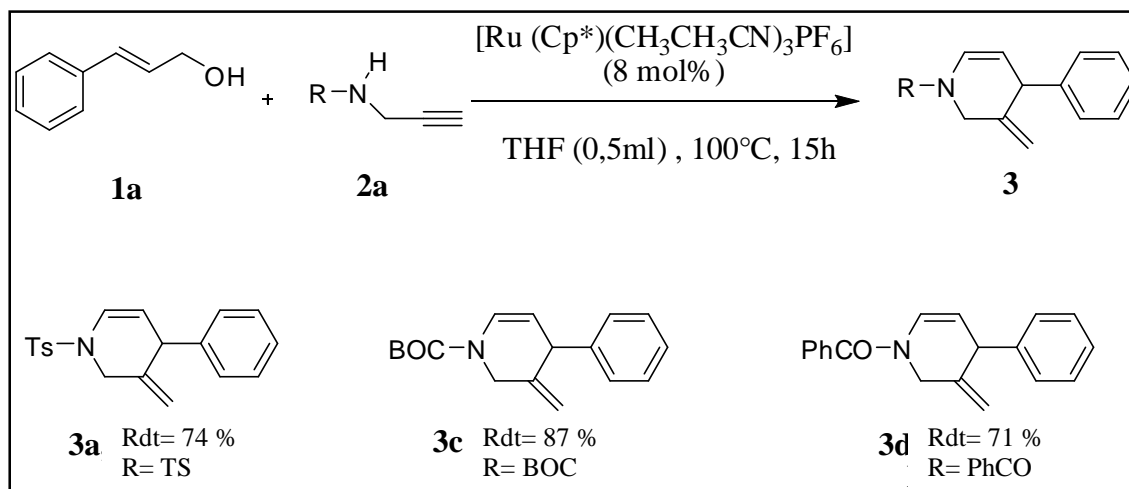


Schéma 25: Synthèse du composé **3** utilisant l'alcool cinnamique dans le THF

Détermination structurale du produit (**3a**):

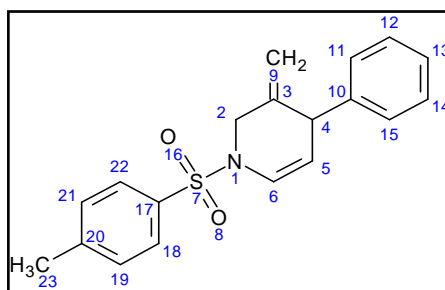


Figure 22: Structure du composé **3a**: 3-méthylène-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine

Le spectre RMN ^1H de composé **3a** (figure 23) permet d'observer:

- La présence de quatre signaux à $\delta_{\text{H}} = 6,87\text{-}7,74$ ppm (zone aromatique) d'intégrations: (2H, 2H, 3H et 2H) caractéristiques à deux cycles aromatiques.
- L'apparition d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 6,84$, ($J = 8,0$ Hz), correspondant à H_6 et un autre doublet de doublet à $\delta_{\text{H}} = 5,10$ ppm ($J = 4,4$ et $8,0$ Hz), correspondant à H_5 indique la présence d'une double liaison.
- L'apparition des deux singulets à $\delta_{\text{H}} = 4,61$ et $4,64$ ppm d'intégration 1H Chacun, correspondant respectivement aux protons $\text{H}_{9\text{a}}$ et $\text{H}_{9\text{b}}$ suggérant une liaison éthylénique terminale.
- Deux doublets ($J = 12,9$ Hz), intégrant chacun pour un proton apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 3,79$ et $3,95$ ppm correspondant respectivement aux protons $\text{H}_{2\text{a}}$ et $\text{H}_{2\text{b}}$.
- Un doublet à $\delta_{\text{H}} = 3,64$ ppm; ($J = 2,9$ Hz), d'intégration 1H correspondant à H_4 .
- Le méthyle du groupement tosylo résonne à $\delta_{\text{H}} = 1,97$ ppm.

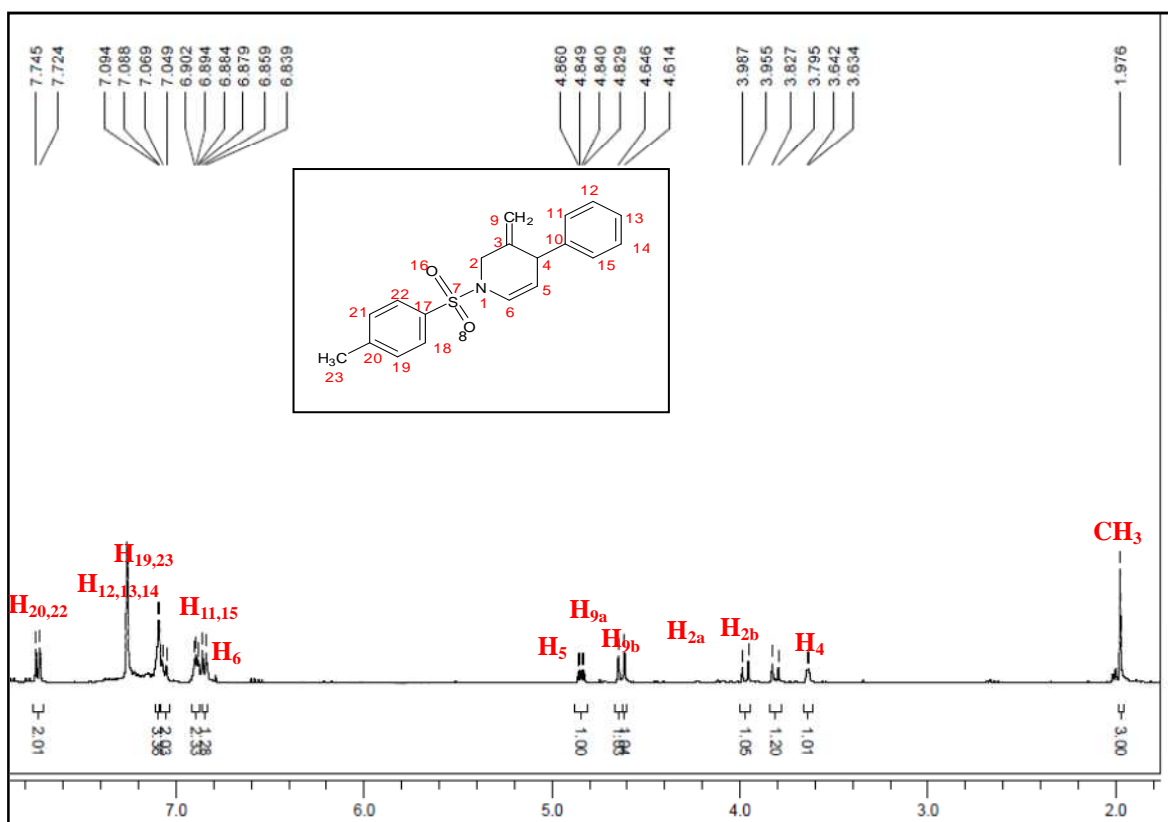


Figure 23: Spectre RMN ^1H du composé **3a**: (3-méthylène-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine) (400 MHz, CD_2Cl_2).

Le spectre RMN ^{13}C du composé **3a** (figure 24) permet d'observer:

- les déplacements de 19 carbones du composé **3a**.
- sur le spectre **DEPT-135**, l'apparition de deux pics de CH_2 ↓ à $\delta_{\text{C}} = 48,3$ et $113,7$ ppm correspondant aux carbones C_2 et C_9 respectivement, et un signal de CH_3 ↑ à $\delta_{\text{C}} = 21,0$ ppm, correspondant à C_{24} et trois signaux de CH ↑ à $\delta_{\text{C}} = 45,3, 109,9$ et $143,3$ ppm correspondant aux carbones C_4, C_5 et C_6 , respectivement.
- Quatre carbones quaternaires apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 142,6, 141,3, 135,7, 130,7$ ppm caractéristiques aux carbones $\text{C}_{10}, \text{C}_3, \text{C}_{21}$ et C_{18} respectivement.

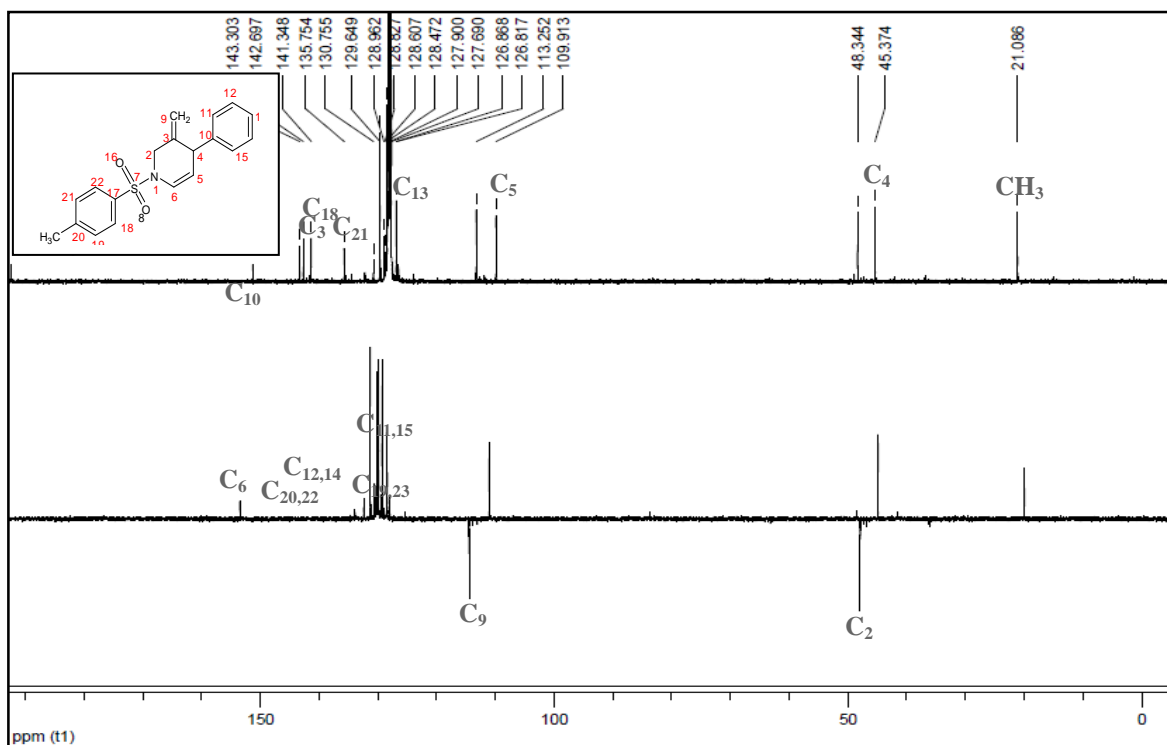


Figure 24: Spectre RMN ^{13}C du composé **3a**: (3-méthylène-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine) (100 MHz, CD_2Cl_2).

II. 2. 2. Utilisation des alcools 4-nitrocinnamique et isopropenylcarbinol dans le THF

L'alcool 4-nitrocinnamique **1a** réagit avec **2a** en donnant **3a** avec un rendement isolé de 65% (schéma 26).

En revanche, dans des conditions réactionnelles similaires, les alcools allyliques 2-substitués tels que l'alcool de méthallyle **1b** se sont avérés être moins réactifs et nécessitent une procédure modifiée avec un grand excès d'alcool allylique (5 éq.) et (1 éq.) des amines propargyliques **2a-c** pour la formation de l'énamide cyclique des produits **3b**, **3c**, **3d** avec des rendements de 84, 67, 61 % respectivement.

Ces résultats montrent que l'encombrement stérique des alcools allyliques a une forte incidence sur le rendement de la réaction, les alcools aliphatiques linéaires ont été trouvés plus réactifs et moins sensibles à des réactions secondaires dans de tels procédés, comme précédemment observé avec des structures similaires [59].

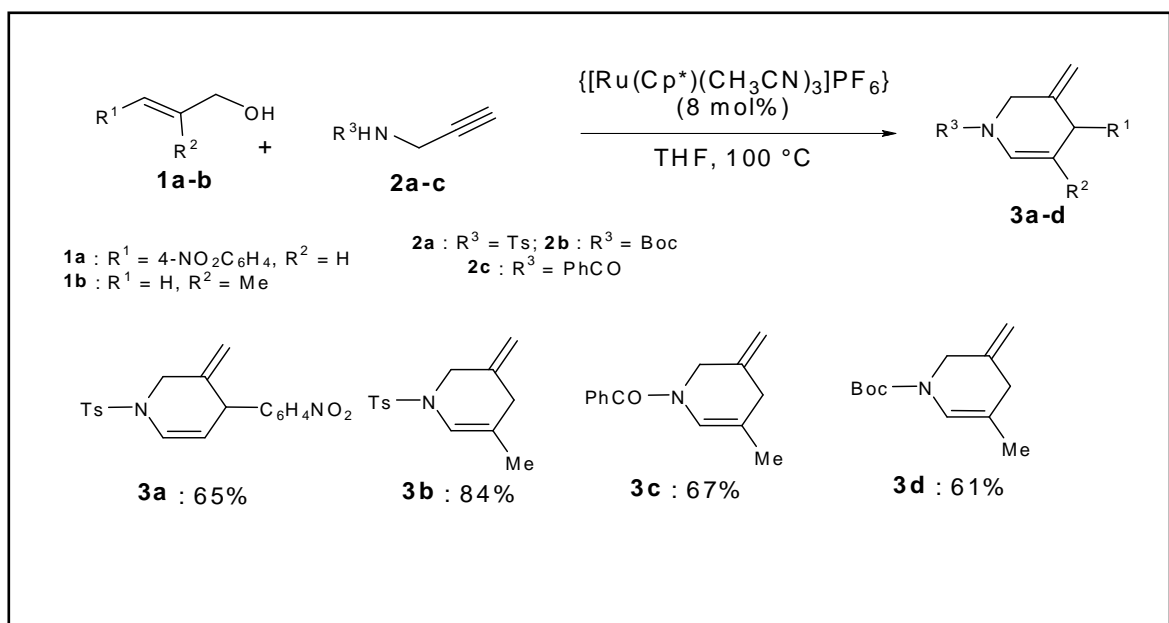


Schéma 26: Réaction de l'alcool 4-nitrocinnamique et l'isopropenylcarbinol dans le THF

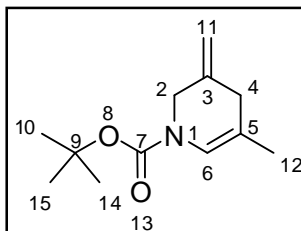
Détermination structurale du produit (3d):

Figure 25: Structure du composé **3d**: *Tert-butyl 5-méthyl-3-méthylène-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate*

- Le spectre RMN ^1H du composé **3a** (figure 26) permet d'observer:
- L'apparition d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 6,41$ ppm, ($J = 23,3$ Hz), attribuable à H_6 indique la présence d'une double liaison.
- Deux doublets apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 4,87$ et $3,8$ ppm avec une constante de couplage $J = 7,8$ Hz, intégrant chacun un proton correspondant respectivement aux protons $\text{H}_{\text{a-11}}$ et suggérant une liaison éthylénique terminale
- Un doublet résonant à $\delta_{\text{H}} = 3,63$ ppm avec un constant de couplage $J = 2$ Hz, d'intégration 2H, correspondant à H_2
- Un singulet à $\delta_{\text{H}} = 2,64$ ppm d'intégration 2H correspondant à H_4 .
- Un singulet intégrant 3H à $\delta_{\text{H}} = 1,59$ ppm, correspondant au méthyle de l'alcool de méthallyle
- Les protons du tertibutyle du groupement BOC résonnant à $\delta_{\text{H}} = 1.38$ ppm.

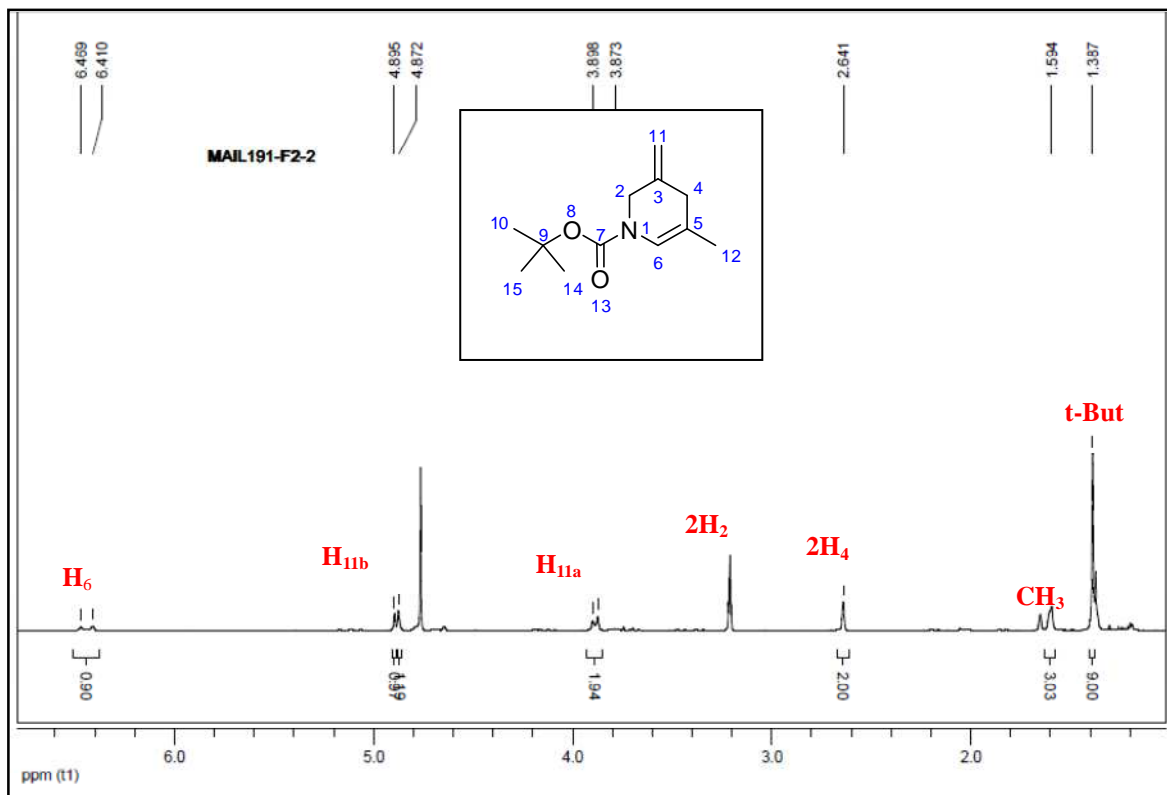


Figure 26: Spectre RMN ^1H du composé **3d**: *Tert-butyl 5-methyl-3-méthylène-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate* (400 MHz, CD_3OD)

Le spectre RMN ^{13}C du composé **3d** (**figure 27**) permet d'observer :

- Les déplacements de 12 carbones du composé **3a**.
- Sur le spectre **DEPT-135**, l'apparition de trois pics de CH_2 ↓ à $\delta_{\text{C}} = 36,0, 41,6$ et $111,6$ ppm correspondant aux carbones C_2, C_4 et C_{11} respectivement, et un signal de CH_3 ↑ à $\delta_{\text{C}} = 16,0$ ppm correspondant à C_{12} et au t-But correspondant aux carbones $\text{C}_{10}, \text{C}_{14}, \text{C}_{15}$ à $20,3$ ppm et un autre signal de CH ↑ à $\delta_{\text{C}} = 120,8$ ppm correspondant à C_6 .
- Quatre carbones quaternaires apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 140,5, 121,2, 82,0$ et $82,0$ ppm caractéristiques aux carbones $\text{C}_7, \text{C}_3, \text{C}_5$ et C_9 respectivement.

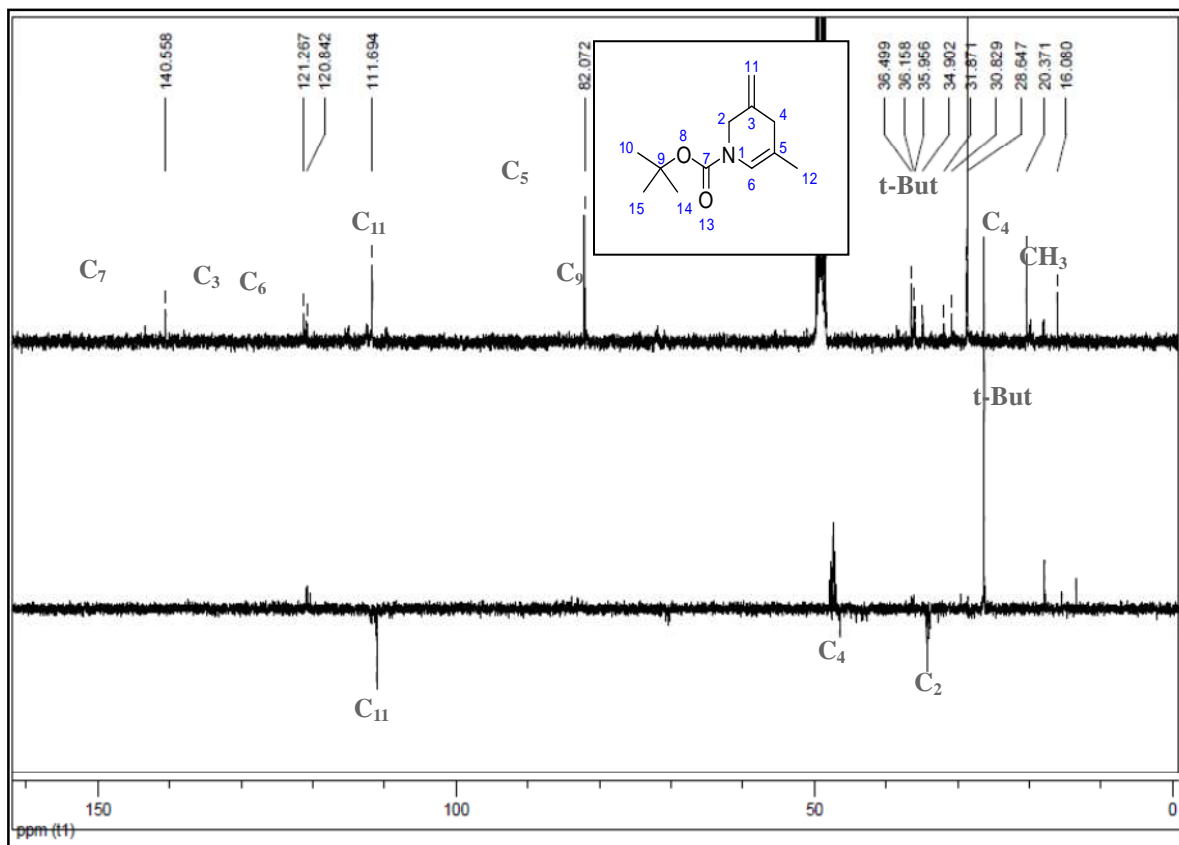


Figure 27: Spectre RMN ^{13}C du composé **3d**: *Tert-butyl 5-méthyl-3-méthylène-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate* (100 MHz, CD_3OD)

II. 2. 3. Utilisation de l'alcool cinnamique dans le méthanol :

Il faut noter que la réalisation de la réaction dans le méthanol, avec des amines propargyliques **1a** et **2b** en présence de l'alcool cinnamique **2b**, nous a permis d'obtenir les éthers hémiaminal les plus stables **4a** et **4b** avec un *ratio* de 9: 1 (rapport diastéréoisomérique) (schéma 27) [66,67].

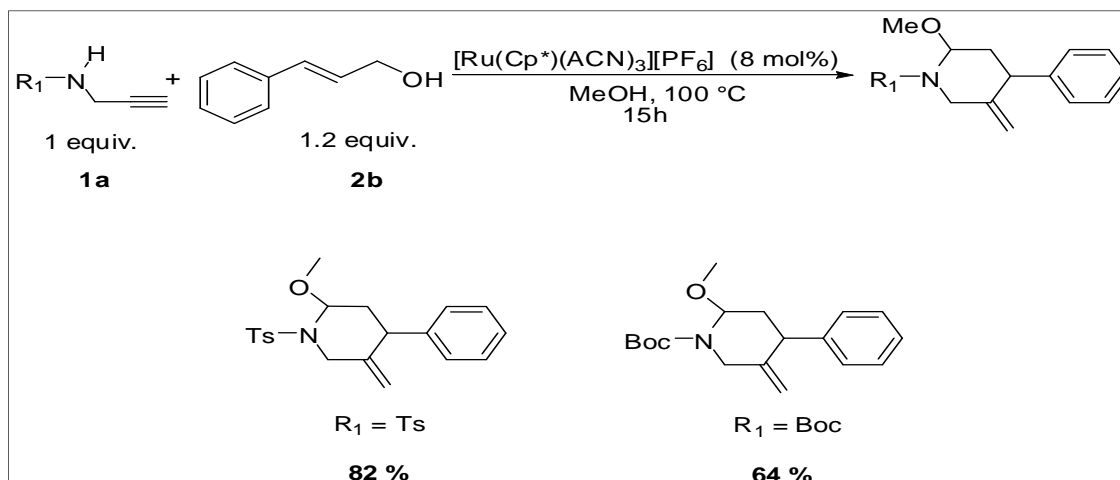


Schéma 27: Synthèse des éthers hémiaminal **4a** et **4b**.

***Détermination structurale du produit 4a**

L'utilisation de méthanol comme solvant de la réaction conduit à la formation de l'éther hémiaminal **4a** (schéma 27)

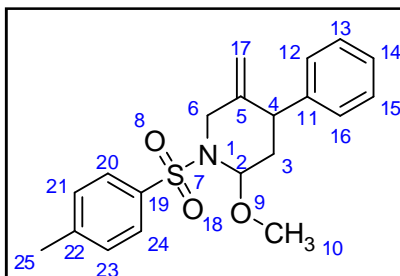


Figure 28: Structure du composé **4a** : 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-4a tosylpiperidine

Le spectre RMN ¹H du composé **4a** (**figure 29**) montre:

- la présence de trois signaux à $\delta_{\text{H}} = 6,77\text{-}7,75$ ppm (zone aromatique) d'intégrations: (2H, 3H et 4H), caractéristiques à deux cycles aromatiques.
- l'apparition des deux singulets à $\delta_{\text{H}} = 5,26$ et $4,95$ ppm d'intégration 1H chacun, correspondant respectivement aux protons H_{17a} et H_{17b} indique que le produit **4b** suggère une liaison éthylénique terminale.
- l'apparition d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 4,26$ (J = 14,3 Hz), correspondant à H₂ indique la disparition de la double liaison **figure (23 - 29)**.

- deux signaux intégrant chacun pour un proton à $\delta_H = 4,10$ et $3,82$ ppm, correspondant respectivement aux protons H_{6a} et H_{6b} .
- un multiplet apparaissant à $\delta_H = 3,70$ d'intégration 1H, correspondant à H_4 .
- l'apparition d'un singlet à $\delta_H = 3,23$ ppm caractéristique d'un groupement méthoxy OCH_3 vient du MeOH (protonation de la double liaison).
- le méthyle du groupement tosylo résonne à $\delta_H = 1,89$ ppm.
- l'apparition de deux signaux à $\delta_H = 1,84$ et $1,59$ ppm intégrant 1H chacun correspondant à H_{3a} et H_{3b} .

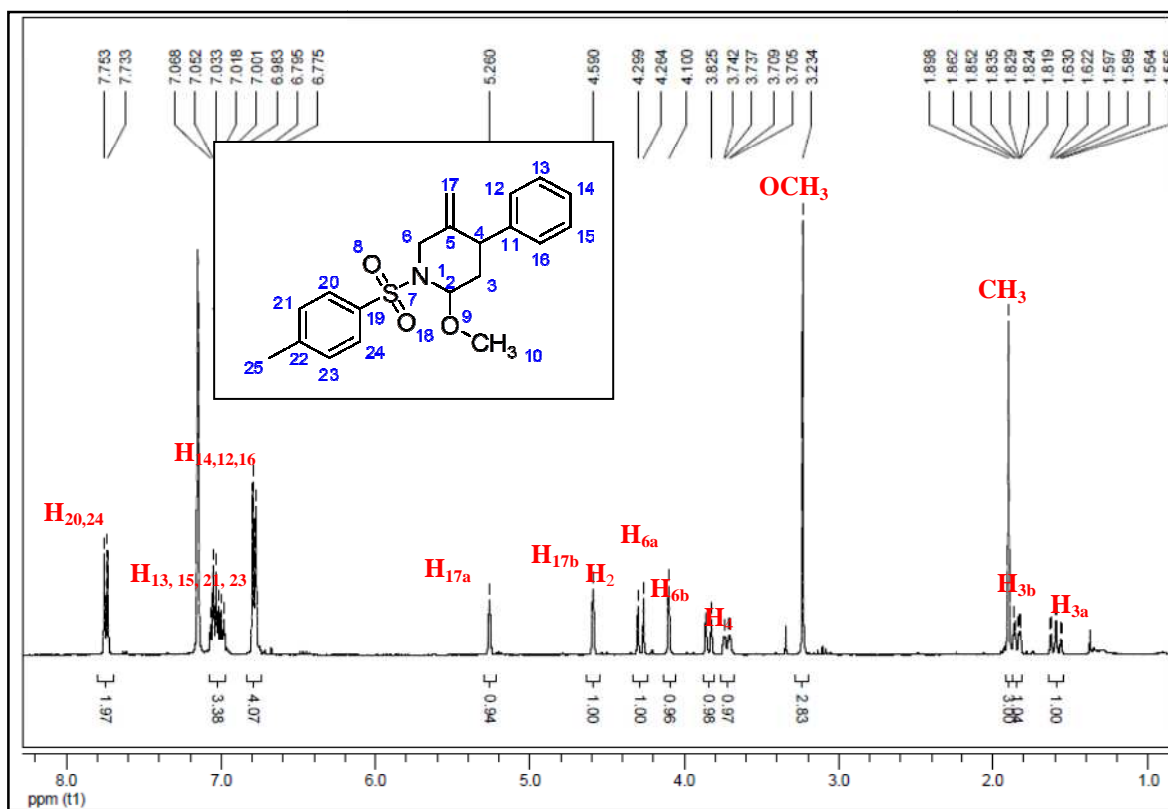


Figure 29: Spectre RMN 1H du composé **4a**: 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-4a tosylpiperidine (400 MHz, C_6D_6)

- Le spectre RMN ^{13}C du composé **4a** (figure 30) montre:
- les déplacements de 20 carbones du composé **3a**.
- sur le spectre **DEPT-135**, l'apparition de trois pics de CH_2 ↓ à $\delta_{\text{C}} = 36,77$; 47,59 et 111,86 ppm correspondant aux carbones C_3 , C_6 et C_{17} respectivement, et deux signaux de CH_3 ↑ à $\delta_{\text{C}} = 21,08$ et 55,07 ppm correspondant à CH_3 et OCH_3 , deux signaux de CH ↑ à $\delta_{\text{C}} = 42,08$ et 84,79 ppm correspondant à C_4 et C_2 respectivement.
- quatre carbones quaternaires apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 144,7$, 142,8, 141,2, 138,9 ppm caractéristiques aux carbones C_5 , C_{11} , C_{22} et C_{19} respectivement.

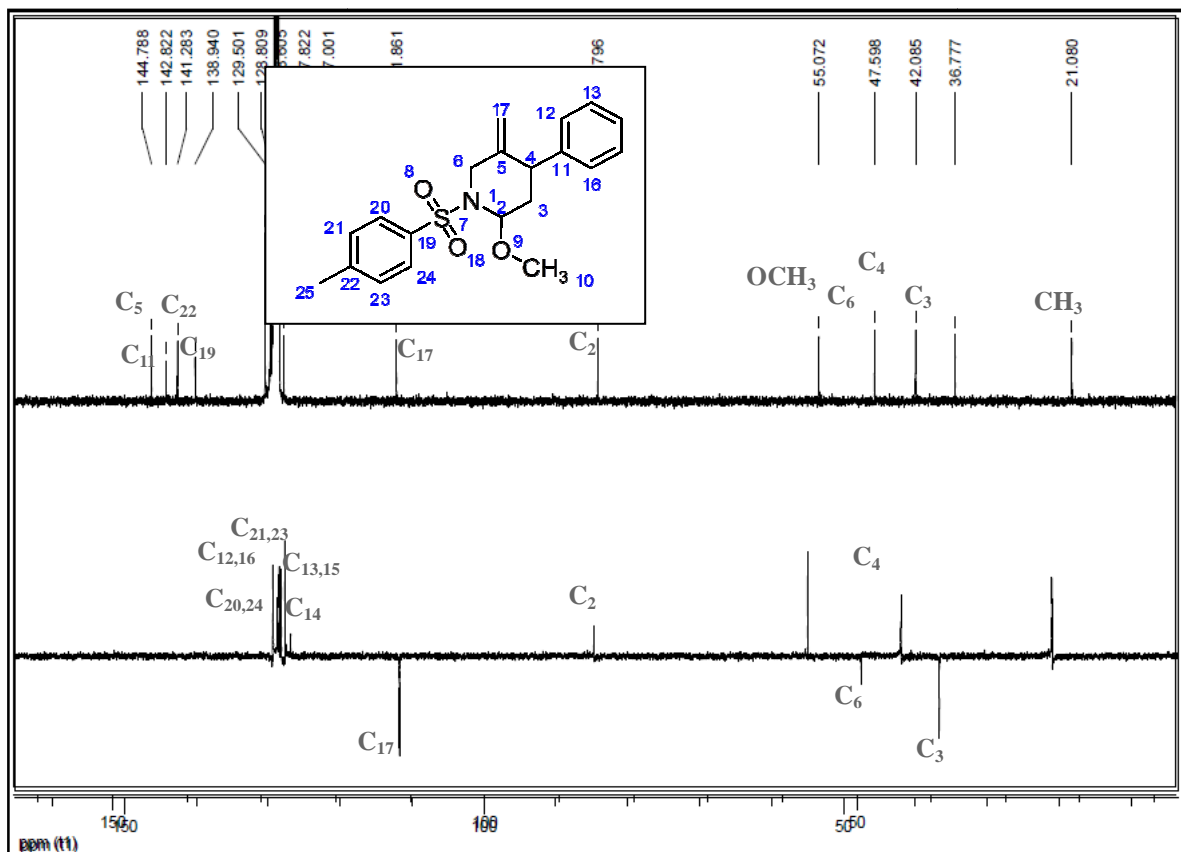


Figure 30: Spectre RMN ^{13}C du composé **4a**: 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-4a tosylpiperidine (100 MHz, C_6D_6)

II. 2. 4. Mécanisme de la réaction :

La formation de produit **3** peut être expliquée par le mécanisme réactionnel décrit dans le schéma 10. Après une élimination / addition non réductrice, les amides propargyliques **2** et les alcools allyliques **1** réagissent avec le fragment cationique $[\text{Cp}^*\text{Ru}]^+$ pour former deux intermédiaires clés en équilibre **I** et **II**, tandis que la présence de plusieurs amines nucléophiles telles que l'aniline propargylique **2d** inhibent la formation de ces intermédiaires clés proposés, probablement en raison de la coordination de l'atome d'azote au centre du ruthénium conduisant à des intermédiaires **III** (Schéma 28).

La coordination de l'atome d'oxygène sur le fragment cationique du ruthénium facilite l'introduction de l'alcool allylique dans **I**, d'où l'activité faible du $[\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{COD})\text{Cl}]$ neutre dans de telles transformations (entrée 1 tableau 31)[1].

La cyclisation oxydante dans **II** a conduit à la formation du ruthénium cyclopentène cationique **IV**. L'interaction stérique entre le groupement **R3** et le ligand **Cp*** réduit le taux de cyclisation qui peut expliquer la faible réactivité d'alcool de méthallyle **1c** dans ce processus [68].

Puis, l'intermédiaire **IV** subit une β -H élimination de l'ancien proton allylique, le catalyseur donne le ruthénium hydrido (**IV**) **V**. L'élimination réductrice de **V** redonne l'espèce $[\text{Cp}^*\text{Ru}]^+$ cationique active qui génère l'aminoaldéhyde intermédiaire **VI**, qui libère les énammides **3**, après une condensation intramoléculaire, suivie par une élimination de l'eau.

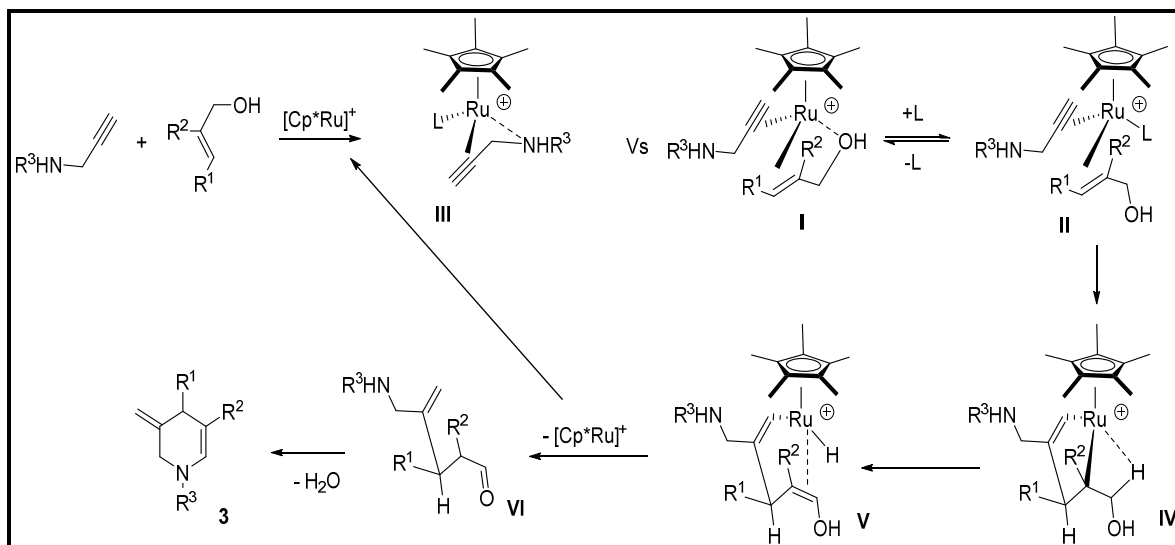


Schéma 28: Mécanisme réactionnel de la synthèse des produits **3**.

L'utilisation du méthanol comme solvant, en présence d'un excès d'alcool cinnamique **1a**, conduit à la formation du (3,3-diméthyl propyl) benzène **5**. Il est intéressant de noter que la formation complète de cet acétal est seulement possible lorsque $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{PF}_6\}$ avec une quantité catalytique de **2a** sont utilisés comme système catalytique pour cette séquence isomérisation-acétalisation (schéma 29). Le catalyseur du ruthénium généré favorise la formation d'acétal qui joue un rôle dans la transformation intermédiaire de **VI** à l'énamide **3**.

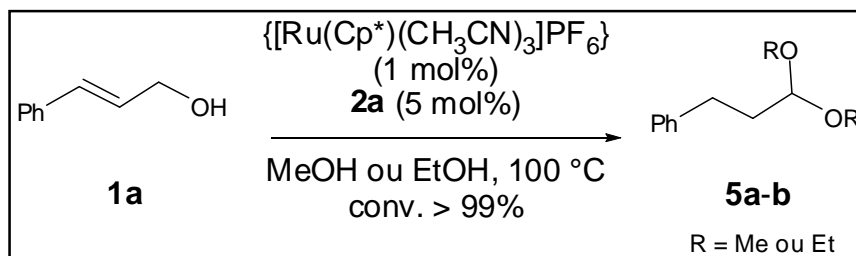


Schéma 29 : Formation d'acétal *via* les alcools d'allyliques

II. 2. 4. a. Résumé des résultats (schéma 30) :

Les résultats de nos travaux sont résumés dans le schéma 30 :

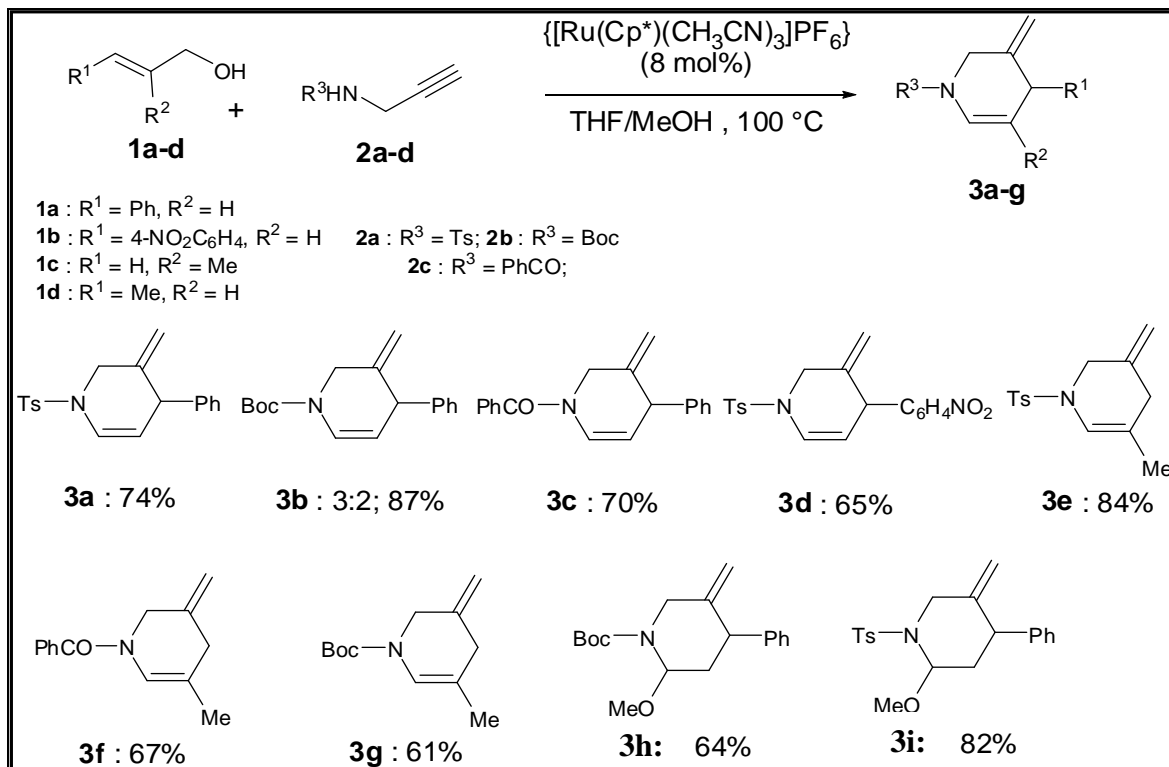


Schéma 30: Résumé des résultats.

II. 3. Hydroboration:

Etant donné que les produits **3** et **4** portent un groupement de méthylène, nous avons étudié la post-fonctionnalisation de ces produits dans l'hydroboration-oxydation pour accéder aux dérivés 3-hydroxyméthypipéridines. L'utilisation de thexylborane avec **3a** ne donne pas le produit prévu [69]. Pour cela, l'exécution d'une réaction similaire avec BH_3 :DMS a rendu possible la formation du composé attendu avec une quantité notable de produits secondaires provenant de la réaction de l'espèce *endo* cyclique insaturé. Enfin, le remplacement de **3a** par son dérivé éther hémiaminal correspondant à **4a**, a conduit à la formation de **6a**, dans un mélange de stéréoisomères de 75: 19: 6, avec un rendement isolé de 76% (schéma 31).

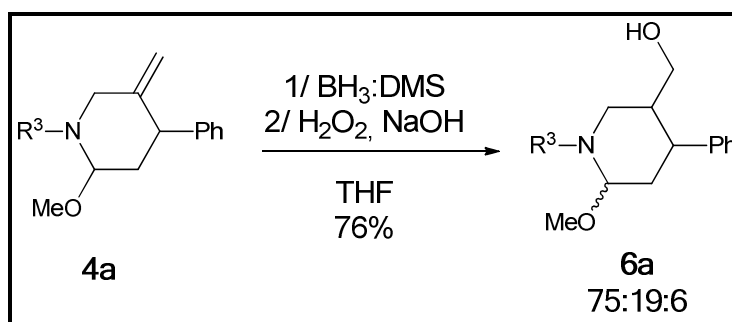


Schéma 31: Hydroboration-Oxydation de **4a**.

Récemment, il a été rapporté que la présence de la liaison C-Me dans les produits hétérocycliques telles que les alcaloïdes, est bénéfique «effet de méthyle magique» où l'ajout d'un groupement méthyle à l'endroit approprié pourrait améliorer les activités biologiques des produits pharmaceutiques de plus que 100 fois [70]. Le groupement méthylène dans les produits **3** pourrait donc être sélectivement réduit en un groupement méthyle en gardant intacte l'insaturation *endo* cyclique pour une post-fonctionnalisation supplémentaire. L'hydrogénation sélective des diènes en alcènes en présence de $[\text{Cp}^*\text{Ru}]$, comme catalyseur de base, a été rapportée par Drießen-Hölscher [71].

Détermination structurale du produit (**6a**)

L'hydroboration pourrait sélectivement réduire le groupement méthylène du produit **4a** en un groupement méthyle **6a** (figure 31).

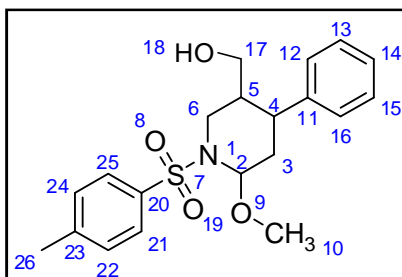


Figure 31: Structure de composé **6a** (*6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl*) méthanol

Le spectre RMN ^1H du composé **6a** (**figure 32**) permet d'observer :

- la présence de trois signaux à $\delta_{\text{H}} = 6,77\text{-}7,75$ ppm (zone aromatique) d'intégration 2H, 3H et 4H, caractéristique à deux cycles aromatiques.
- l'apparition d'un singulet à $\delta_{\text{H}} = 5,34$ ppm d'intégration 1H correspondant à H_{18}
- l'apparition d'un doublet à $\delta_{\text{H}} = 4,05$ ppm ($J = 13$ Hz), correspondant à H_2 indique la disparition de la double liaison en comparant les **spectres 1 à 6**.
- deux signaux intégrant chacun pour un proton apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 3,49$ et $3,44$ ppm correspondant respectivement aux protons $\text{H}_{17\text{a}}$ et $\text{H}_{17\text{b}}$.
- un multiplet résonant à $\delta_{\text{H}} = 3,25$ ppm d'intégration 1H correspondant à H_4 .
- l'apparition d'un autre multiplet à $\delta_{\text{H}} = 3,22$ ppm correspondant à H_6 .
- l'apparition d'un singulet à $\delta_{\text{H}} = 2,95$ ppm d'intégration 3H est caractéristique au groupement méthoxyle OCH_3 .
- le méthyle du groupement tosyle résonne à $\delta_{\text{H}} = 1,87$ ppm.
- un singlet apparaissant à $\delta_{\text{H}} = 1,92$ ppm d'intégration 1H correspondant à H_5 .
- l'apparition de deux signaux à $\delta_{\text{H}} = 1,78$ et $1,68$ ppm intégrant 1H chacun correspondant à $\text{H}_{3\text{a}}$ et $\text{H}_{3\text{b}}$.

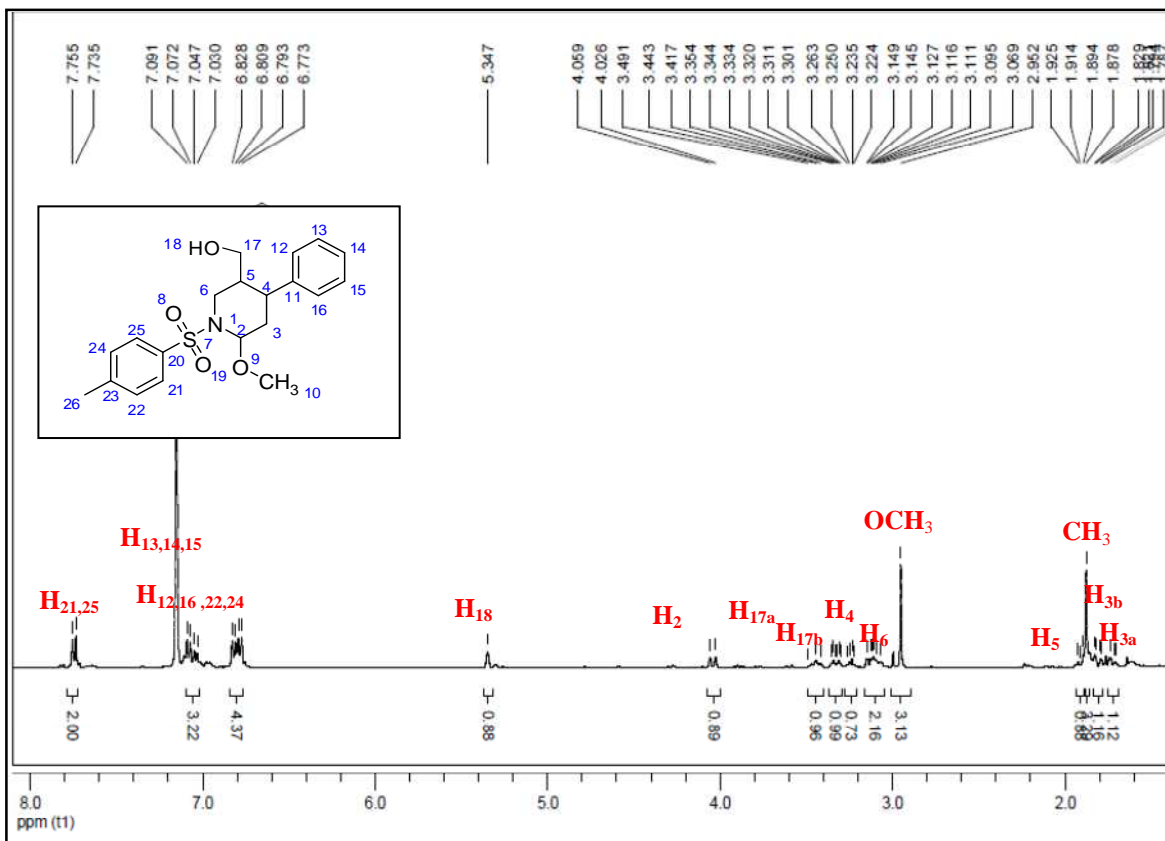


Figure 32: Spectre RMN ^1H du composé **6a** : (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl) méthanol (400 MHz, C_6D_6)

Le spectre RMN ^{13}C du composé **3a** (figure 33) permet d'observer :

- les déplacements de 20 carbones du composé **3a**.
- sur le spectre **DEPT-135**, l'apparition de trois pics de CH_2 ↓ à $\delta_{\text{C}} = 36,4, 41,4$ et $57,4$ ppm correspondant aux C_3, C_6 et C_{17} respectivement, et deux signaux de CH_3 ↑ à $\delta_{\text{C}} = 21,0$ et $55,3$ ppm correspondant à CH_3 ↑ et OCH_3 , deux signaux de CH ↑ à $\delta_{\text{C}} = 29,6$ et $42,0$ et $84,9$ ppm correspondant à C_4, C_5 et C_2 respectivement.
- trois carbones quaternaires apparaissant à $\delta_{\text{C}} = 142,7, 142,5, 138,7$, ppm caractéristiques aux carbones $\text{C}_{11}, \text{C}_{23}, \text{C}_{22}$ et C_{20} respectivement.

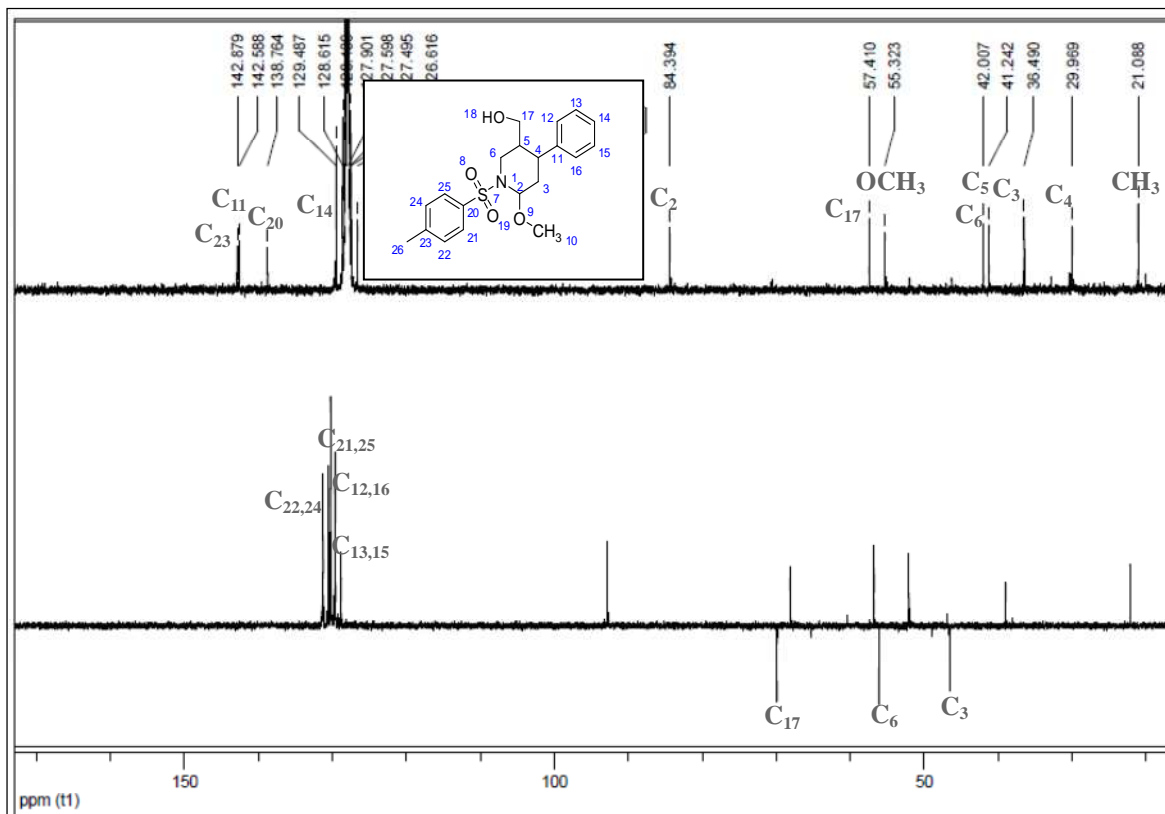


Figure 33: Spectre RMN ^{13}C du composé **6a**: (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl) méthanol (400 MHz, C_6D_6)

II. 4. Hydrogénation catalytique :

Comme a été présenté, l'objectif de notre travail est d'obtenir de nouvelles molécules bioactifs à partir des amine propargyliques et des alcool allyliques, La plus-value recherchée se décline précisément par une hydrogénation catalytique des dérivés pyridiniques utilisant $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3] \text{PF}_6\}$ comme catalyseur pour avoir des structures similaires à des dérivés 4-phenylpiperidines dont certaines activités biologiques sont connues.

II. 4. 1. Hydrogénation du produit 3a :

Au cours de cette étude, il n'a été observé que l'utilisation de ligands organophosphorés tels que la tri hydroxypropylphosphine favorise l'hydrogénation totale du diène en alcane correspondant. Nous avons étudié la semi-hydrogénation de **3a** utilisant $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3] \text{PF}_6\}$ comme précatalyseur pour le couplage en tandem/ hydrogénation transformation (schéma 32) [72].

Les tentatives d'hydrogénation de **3a**, sans additifs, ont montré que la semi-hydrogénation est possible à 120°C, sous 45 bars, avec isomérisation latérale de l'*exo*-insaturation qui a eu lieu pour donner le diène conjugué (tableau 36, entrée 1).

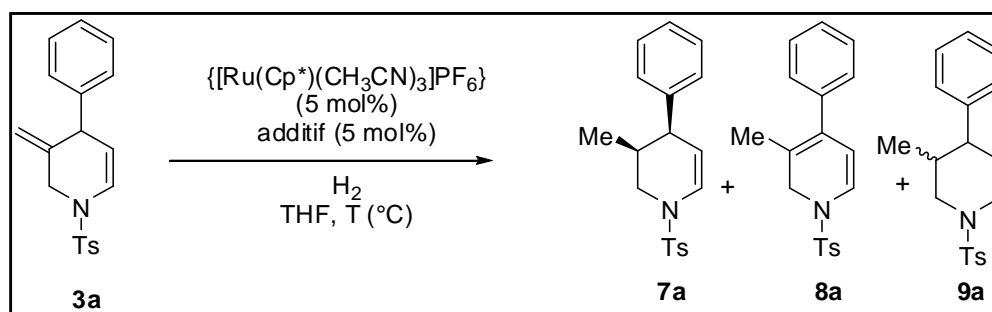


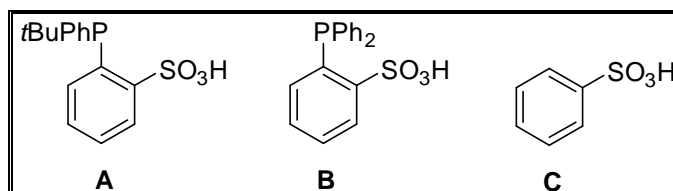
Schéma 32: Semi-hydrogénation de **3a** utilisant $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3] \text{PF}_6\}$ comme précatalyseur.

Tableau 36 : Semi-hydrogenation de l'énamide **3a**^a

Entrée	P(bar)	T(°C)	Additif (mol%)	conv, ^b (Rdt) ^b	7/8/9 ratio ^c	7a cis/trans ratio ^d
1	45	120	-	75	55/35/10	70/30
2	45	120	A (5%)	99(75)	100/0/0	70/30
3	45	120	B (5%)	99(70)	80/0/20	80/20
4	35	110	A (5%)	99	100/0/0	70/30
5	25	120	A (5%)	97	95/5/0	65/35
6	60	90	A (5%)	80	100/0/0	75/25
7	65	110	A (5%)	99	100/0/0	75/25
8	65	110	B (5%)	99	90/1/9	80/20
9	50	110	C (5%)	93	84/2/14	80/20

^a Toutes les réactions ont été effectuées dans un réacteur de 20 ml en utilisant le THF pendant 15 heures avec **3a** / [Ru] / additif à un rapport molaire de 1 / 0,05 / 0,05. ^b Numéro entre parenthèses: c'est le rendement du produit isolé après purification de **7a**. ratio^c de 7/8/9 ont été déterminés par CPG. rapport ^d cis/trans a été déterminé par CPG et RMN¹H.

Récemment, Fehr et ses collaborateurs chez Firmenich ont montré le rôle bénéfique de l'acide de Brønsted en tant qu'additif pour empêcher l'isomérisation au cours de l'hydrogénation des diènes dans la synthèse de santalol [73]. Ainsi, une série de dérivés d'acide sulfonique a été évaluée pour cette transformation (schéma 33). Il est intéressant de constater que l'utilisation d'acides phosphine-sulfonique (5mol%), tels que **A** et **B** conduit à une conversion complète en évitant l'isomérisation latérale, donnant **7a** avec un rendement isolé de 70-75% avec un ratio cis:trans de 70:30-80:20 respectivement (entrées 2 et 3). L'additif **B** a donné la meilleure diastéréosélectivité (entrées 3 et 8)

**Schéma 33** : Additifs utilisés pendant l'hydrogénation.

Cependant, dans ce cas une quantité notable de produits entièrement réduits **9a** a été également observée ce qui prouve que **A** conduit à la meilleure chimiosélectivité. La structure de stéréoisomère majoritaire a été déterminé sans équivoque par analyses RMN où les hauts champs des protons éthyléniques sont apparus comme un ensemble de deux doublets de doublet à 4,77 et 4,68 ppm, avec des constantes de couplage de 5,0 et 2,3 Hz de proton allylique correspondant aux isomères *cis* et *trans*, respectivement (schéma 34).

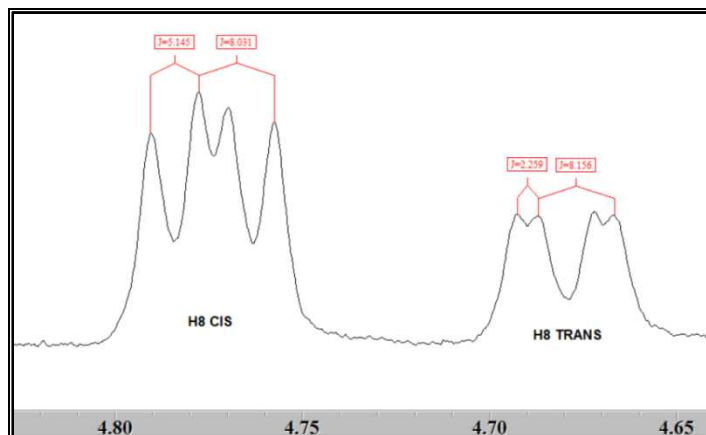


Schéma 34: Signaux des protons éthyléniques des deux diastéréoisomères de l'énamide **7a**.

Détermination structurale du produit **7a**

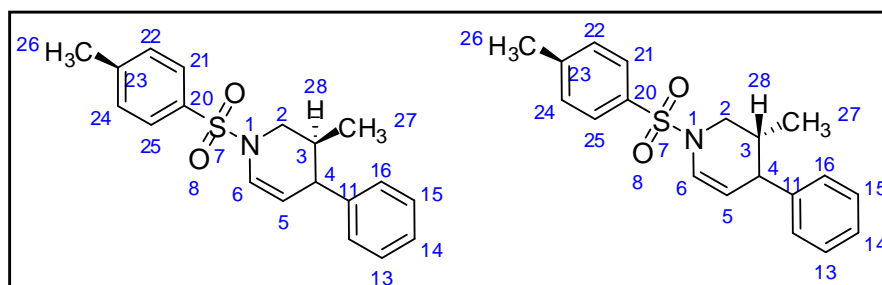


Figure 34: Structure du produit **7a** (3R,4S)-3-méthyl-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine

- Le spectre RMN ^1H de composé **3a** (**figure 35**) permet d'observer :
- la présence de trois signaux à $\delta_{\text{H}} = 6,77\text{-}7,75$ ppm (zone aromatique) d'intégration 2H, 3H et 4H caractéristique à deux cycles aromatique.

- l'apparition d'un doublet et d'un doublet de doublet le premier à $\delta_H = 6,60$ ppm, ($J = 6,9$ Hz), le deuxième à $\delta_H = 4,77$ ppm, ($J = 5,0$ et $8,2$ Hz) d'intégration 1H correspondant à H_6 et H_5 respectivement.
- l'apparition d'un doublet de doublet à $\delta_H = 3,93$ ppm $J = 13$ Hz, correspondant à H_4
- deux signaux intégrant chacun pour un proton à $\delta_H = 2,80$ et $2,86$ ppm correspondant respectivement aux protons H_{2a} et H_{2b} .
- le méthyle du groupement tosylé résonnant à $\delta_H = 1,88$ ppm.
- un multiplet à $\delta_H = 1,76$ ppm d'intégration 1H correspondant à H_{3a} .
- l'apparition d'un doublet à $\delta_H = 0,29$ ppm, ($J = 6,7$ Hz), d'intégration 3H correspondant à $3H_9$.

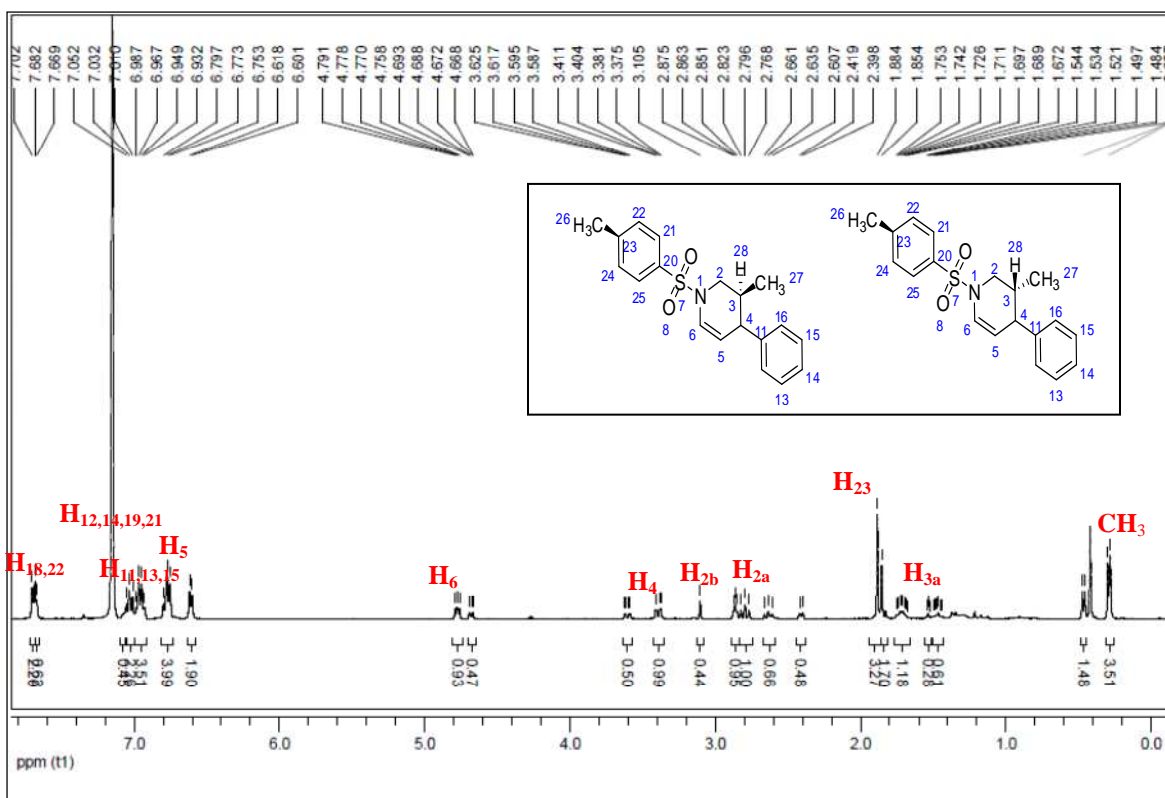


Figure 35 : Spectre RMN 1H du composé **7a**: (3R, 4S)-3-méthyl-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (400 MHz, C_6D_6)

Le spectre RMN ^{13}C du composé **3a** (figure 36) permet d'observer:

- les déplacements de 19 carbones.
- sur le spectre **DEPT-135** l'apparition d'un seul pic de CH_2 ↓ à $\delta_{\text{C}} = 46,5$ ppm correspondant à C_2 , deux signaux de CH_3 ↑ à $\delta_{\text{C}} = 15,3$ et $21,0$ ppm correspondant à C_{23} et trois signaux de CH ↑ à $\delta_{\text{C}} = 42,3; 109,9$ et $135,8$ ppm correspondant aux C_4 , C_5 et C_6 respectivement.
- quatre carbones quaternaires à $\delta_{\text{C}} = 144,2, 143,2, 140,8, 31,0$ ppm caractéristiques aux carbones $\text{C}_{10}, \text{C}_{20}, \text{C}_{17}$ et C_3 respectivement.

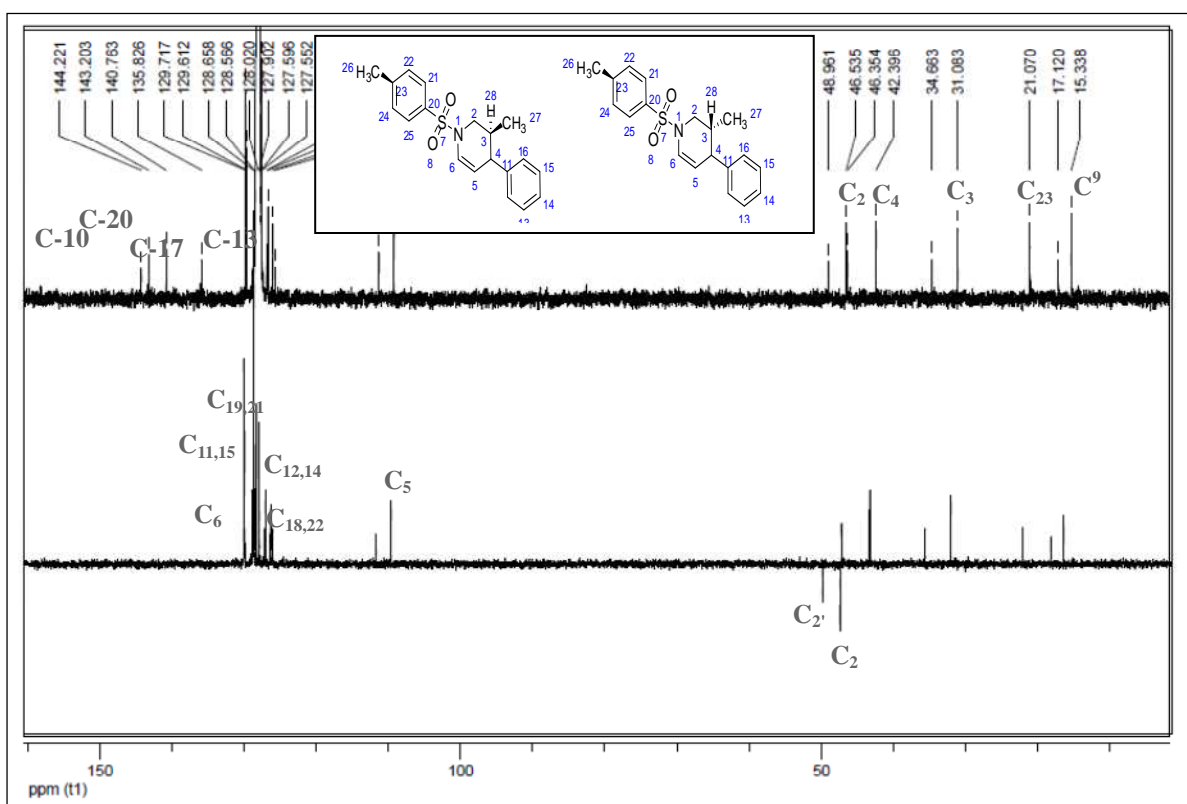


Figure 36: Spectre RMN ^{13}C du composé **7a**: (3R, 4S)-3-méthyl-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine (100 MHz, C_6D_6)

Une confirmation supplémentaire a été obtenue par cristallisation sélective de l'isomère *cis* **7a** voire (figure 37) [74]. Il est intéressant de noter qu'aucune dégradation ne s'est produite lors de la purification de l'énamide **7a** démontrant sa stabilité par rapport à l'homodienne **3a**. La réalisation des réactions à $110\text{-}120^\circ\text{C}$, en présence de $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{PF}_6\}$ et **A**, a montré que, sous une pression faible de H_2 , des conversions complètes ont été observées,

une légère diminution de ratio *cis*: *trans* de **7a** ont également été remarquées (entrées 4 et 7), par rapport aux entrées 2 et 5. La conversion a été affectée par la température de réaction et un rendement de 80% a été atteint à 90°C sous 60 bars d'hydrogène moléculaire (entrée 6).

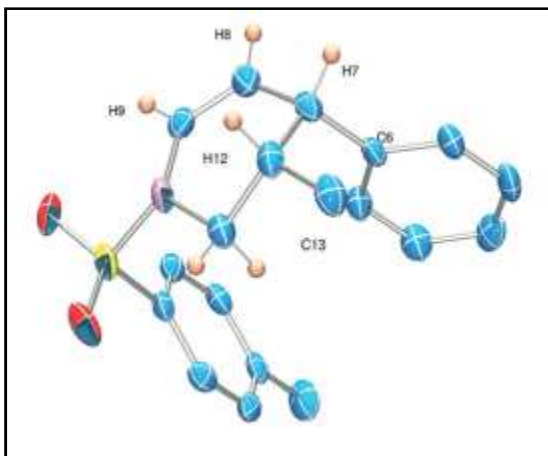


Figure 37: Structure aux rayons X de la semi-réduction *cis*-cyclique d'énamide **7a**

A ce stade, nous nous sommes demandés si les diastéréosélectivités obtenues, en présence de **A** et **B** ont été dues à la phosphine ou d'acidité de l'additif.

L'utilisation de l'acide benzène sulfonique **C**, comme additif a mis en évidence une diastéréosélectivité similaire conduisant à un ratio de 80:20 *cis:trans* mais avec une conversion incomplète, ce qui suggère qu'avec ces deux ligands de phosphine aucune liaison au centre métallique de l'atome de phosphore ne semble se produire au cours de l'hydrogénation dans le THF comme solvant (entrée 9).

Bien qu'un mécanisme détaillé de l'hydrogénation d'alcène catalysée par du ruthénium [75] ne soit pas encore établie, l'hydrogénation d'alcène peut se faire par insertion de l'alcène coordonnée consécutif suivi d'une élimination réductrice sur l'espèce cationique hydrido / hydrogène $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{H}_2]^+$ [76-77]. Un processus ionique impliquant une protonation par l'acide $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\eta^2\text{-H}_2)]^+$ suivie d'une réduction neutre $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{H}]$ ne peut pas être totalement exclu [78].

Il convient de noter que lorsque les réactions ont été réalisées en présence de complexes de ruthénium-arène (**II**) avec des ligands similaires, une réduction complète des homodienes a été observée de manière sélective suggérant que le ligand Cp^* est resté intact dans ces conditions réactionnelles [85].

Le plus important, c'est l'influence des additifs acides pour induire les procédés d'isomérisation et pour augmenter l'efficacité de la réaction. Récemment, Grotjahn et ses collaborateurs ont montré que l'espèce ruthénium cationique (**II**) portant des ligands bifonctionnels joue un rôle important dans l'isomérisation grâce à l'intervention éventuelle d'espèces allyliques de ruthénium où l'azote basique de l'imidazole facilite la formation de l'espèce η^3 -allylique via une déprotonation réversible [79].

En revanche, la nécessité d'additifs acides **A** et **B** pourrait empêcher la formation de ces espèces allyliques *via* le précédent mécanisme d'addition de protonation/oxydation. D'autre part, Nozaki a montré que pendant l'hydroformylation d'alcènes, l'espèce $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{H}]$ catalyse efficacement l'isomérisation par une insertion réversible [80]. Par conséquent, les additifs acides peuvent également jouer un rôle sur l'activité catalytique et empêcher l'isomérisation par régénération de $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{H}_2]^+$ à partir de l'espèce neutre $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{H}]$ et l'espèce dinucléaire ($\mu\text{-H}$) du ruthénium monocationique (**II**) [81-83].

II. 4. 2. Hydrogénation (tandem)

Sur la base de ces résultats, nous avons étudié la possibilité d'effectuer le processus en tandem avec l'additif **B** qui a donné les meilleures diastéréosélectivités. Après plusieurs tentatives, nous avons constaté que l'additif acide doit être ajouté uniquement à la deuxième étape afin de permettre le couplage d'amide propargylique **2a** avec l'alcool cinnamique **1a**. L'ajout d'une quantité faible de l'acide sulfonique **B** est important et pour éviter la dégradation partielle du catalyseur au cours de couplage initial. L'optimisation de conditions réactionnelles a conduit à **7a** avec un rendement isolé de 52% et un ratio de 75/25 diastéréoisomérique (schéma 35).

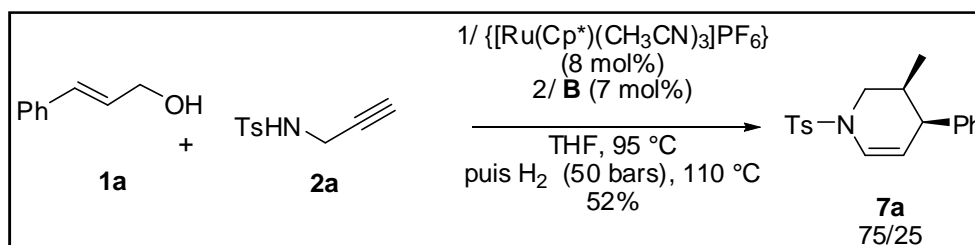


Schéma 35: Couplage/Hydrogénation en Tandem

II. 4. 3. Conclusion :

Nous avons montré que le couplage oxydant sélectif entre les alcools allyliques et les amines propargyliques peut être étendu à des dérivés d'alcools cinnamiques et d'alcools allyliques substitués en position 2. Cette méthodologie permet l'accès aux énamides 3,4- et 3,5- disubstitués comme échafaudages précieux pour la synthèse des dérivés de 3-méthylpipéridines à travers l'hydrogénation sélective d'alcène pré-catalysée par [Ru(Cp*)].

- ce couplage régiosélectif utilise le catalyseur Cp*Ru(CH₃CN)₃PF₆ entre l'amine propargylique N-protégée et les alcools allyliques conduisant à la formation de 12 nouveaux dérivés pyridiniques, chaînons composés hétérocycliques azotés.
- nous avons observé l'influence cruciale des conditions réactionnelles et du solvant. Ces travaux nous ont permis d'obtenir des divers énamides, en utilisant un solvant alcool.
- les réactions d'hydroboration et d'hydrogénation des composés synthétisés ont permis d'obtenir des dérivés ayant des structures proches de celles de dérivés pipéridiniques connus par leurs intérêts biologiques tel que le paroxétine et le femoxétine qui sont des médicaments antidépresseur, antipsychotiques [84].

CHAPITRE III
PARTIE EXPERIMENTALE

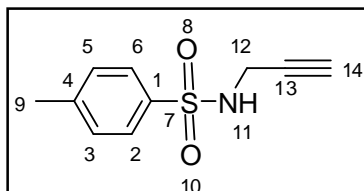
III. 1. Généralités :

Toutes les réactions ont été effectuées sous une atmosphère inerte selon la technique standard de Schlenk sauf mention contraire. Le THF a été purifié par un système de purification de solvant muni d'une série de colonnes de filtres activés. L'acide p-toluène sulfonique a été acquis auprès de sources commerciales et utilisé tel que reçu. Les ligands **A** et **B** ont été préparés selon les protocoles de la littérature [86].

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (^1H RMN) ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker 400 MHz et les spectres de résonance magnétique du carbone (^{13}C RMN) ont été effectués à 100 MHz. Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués en parties par million par rapport aux signaux de solvants résiduels (CD_2Cl_2 5,32 et 53,84, 128,02 et 7,15 C_6D_6 , CD_3OD 5,84 et 49,05). Les constantes de couplage sont rapportées en Hertz. Les abréviations du RMN ^1H sont les suivantes: singulet (s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q), pentuplet (p), singulet large (sl), doublet de doubles (dd), doublet de triplet (dt), et un multiplet (m). Tous les réactifs ont été pesés et traités à l'air ou sous atmosphère inerte d'argon à la température ambiante pour empêcher l'oxydation. Les spectres HRMS ont été enregistrés sur un Waters Q-ToF 2 avec une source ESI.

III. 2. Préparation des produits de départ 1a, 1b & 1c :

III. 2.1.-4-methyl-N-(prop-4-nyl)benzenesulfonamide (1a) [2]:

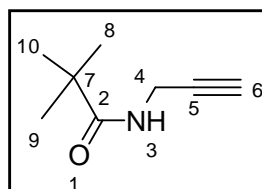


Le composé **1a** été préparé selon la littérature [87]. Le chlorure de tosylo (5,24 g, 27 mmol) a été lentement ajouté sous forme d'une solution dans 10 ml de THF sec à une solution de l'amine propargylique (1,7 ml, 25 mmol) et diisopropylethylamine (4,8 ml, 27 mmol) dans 25 ml de THF sec à température ambiante par l'intermédiaire de canules et laissé agiter pendant une nuit. Le jour suivant, le mélange réactionnel a été extrait une fois avec

du NH_4Cl saturé et une fois avec de la saumure. L'extrait organique a été concentré et séché avec du MgSO_4 . Une chromatographie sur colonne (20% d'AcOEt dans du pentane) a abouti à au tosylé amide pur sous la forme d'une poudre blanche (82%).

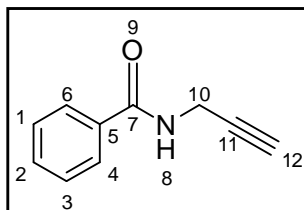
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,81 à 7,77 (d, $J=8,4\text{Hz}$, $2\text{H}_{2,6}$), 7,36 à 7,32 (d, $J=8\text{Hz}$, $2\text{H}_{3,5}$), 3,87 à 3,83 (dd, $J=8,4$ et $2,4\text{Hz}$, 2H_{12}), 2,46 (s, 3H_9), 2.14 à 2.12 (t, $J=5\text{Hz}$, 1H_{14}),
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm 143,82 (C_1) 136,50 (C_4) 129,67 ($\text{C}_{3,5}$) 127,37 ($\text{C}_{2,6}$) 77,93 (C_{13}) 77,23 (C_{14}) 32,82 (C_{12}) 21,52 (C_9). HRMS la masse théorique pour $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$ 209,3 expérimentale 209.

III. 2. 2-Tert-ButylProp-2-ynylcarbamate (**1b**). [3]



Le composé **1b** a été préparé selon la littérature [88]. A une solution d'amine propargylique (803 mg, 14,6 mmol) dans du CH_2Cl_2 (15 ml) à 0°C , on a ajouté une solution de dicarbonate de di-tert-butyle (2,67 g, 15,3 mmol) dans du CH_2Cl_2 (20 mL) via une ampoule à brome, en 25 minutes. Le bain de glace a été retiré, et on a agité la solution résultante à température ambiante pendant 30 min. Le solvant est éliminé sous vide et le résidu brut a été chromatographié sur colonne de gel de silice (AcOEt/Pentane, 10/90) pour donner le composé **1b** (2,23 g, <90% de rendement) sous forme de solide blanc.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ ppm 6,76 (s, 1H_3), 3,91 (d, $J = 2,2$ Hz, 2H_4), 2,22 (t, $J = 2,3$ Hz, 1H_6), 1,45 (s, $9\text{H}_{\text{t-But}}$), ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ ppm 155,21 (C_2), 80,06 (C_5), 77,21 (C_6), 71,21 (C_7), 30,05 (C_4), 28,33 ($\text{C}_{\text{t-But}}$), HRMS la masse théorique pour $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}$ 139,2 expérimentale 139.1.

III. 2. 3-N-(prop-2-ynyl)benzamide (1c) [4]:

Le composé **1c** a été préparé selon la littérature [89]. A une solution de 1 ml d'amine propargylique, dans du CH₂Cl₂ (15 ml) à 0°C, on a ajouté une solution de 35 mg de DMAP et 1 ml de CH₂Cl₂, 1 g dans 20 ml de PhCOCl dans une ampoule à brome pendant 25 minutes à 0°C. Le bain de glace a été retiré, et on a agité la solution résultante à température ambiante pendant 3h.

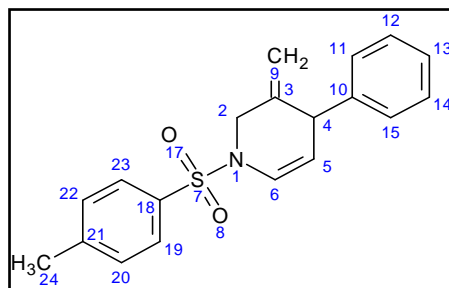
Le solvant est éliminé sous vide et le résidu brut a été chromatographié sur colonne de gel de silice (AcOEt/Pentane, 30/70) pour donner le composé **1c** dans le titre (1,06 g de <91% de rendement) sous forme de solide blanc.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm 7,79 (d, *J* = 7,0Hz, 2H_{2,6}), 7,48 à 7,53 (m, 1H₄), 7,40 à 7,46 (m, 2H_{3,5}), 6,35 à 6,50 (sl, 1H), 4,25 (dd, *J* = 2,5Hz, 5,1Hz, 2H₁₀), 2,28 (t, *J* = 2,5Hz, 1 H₁₂). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm 167,08 (C₇), 133,73 (C₁), 131,76 (C₄), 128,60 (C_{3,5}), 127,0 (C_{2,6}), 79,46 (C₁₁) 71,85 (C₁₂) 29,76 (C₁₀) la masse théorique pour C₁₀H₉NO 159,2 expérimentale 159,1.

III. 3. Procédure générale pour la synthèse des énamides :

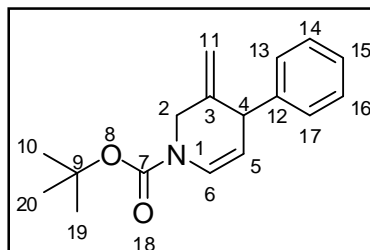
Dans un tube séché sous pression sous une atmosphère inerte, l'amine propargylique **2** (0,239 mmol, 1 éq), le substrat d'alcool allylique **1** (1,2 éq) ont été dissous dans le THF ou du méthanol (0,5 à 1 mL) suivi par l'addition de {[Ru(Cp*)(CH₃CN)₃]PF₆} (5% en moles (MeOH) ou 8% en moles (THF)). La solution résultante a été agitée à 100°C pendant 15h. La réaction a été contrôlée en utilisant des techniques CPG, GC-MS et CCM. Après concentration sous vide, le mélange brut a été purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice activée séchée.

III.3.1) 3-méthylène-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine 3a :



L'amine N-tosyl propargylique **2a** (50 mg, 0,239 mmol) et d'alcool cinnamique **1a** (0,288 mmol, 1,2 éq) dans du THF (0,5 ml). sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant éther de pétrole / Et₂O (80:20) a donné le composé **3a** sous forme d'huile jaune, 58 mg (74%). RMN ¹H (400 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm 7,69 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H_{19,23}), 7,36 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H_{20,22}), 7.20 à 7.15 (m, 3H_{12,13,14}), 6,98 à 6,95 (m, 2H_{11,15}), 6,84 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H₆), 5,10 (dd, *J* = 4,4, 8,0 Hz, 1H₅), 4,90 (sl, 1H_{9a}), 4,81 (sl, 1H_{9b}), 3,96 (d, *J* = 12,9 Hz, 1H_{2a}), 3,93 (d, *J* = 12,9 Hz, 1H_{2b}), 3,67 (d, *J* = 12,9 Hz, 1H₄), 1,97 (s, 3H₂₄), RMN ¹³C (100 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm 144,6 (C₆), 142,8 (C₁₀), 141,4 (C₃), 134,8 (C₂₁), 130,1 (C₁₈), 128,6 (C_{20,24}), 128,2 (C_{12,14}), 127,7 (C_{19,23}), 127,0 (C_{11,15}), 126,5 (C₁₃), 113,7 (C₉), 110,7 (C₅), 48,3 (C₂), 45,4 (C₁₀), 21,7 (C₂₄) m/z théorique pour C₁₉H₁₉NO₂NaS [M⁺Na]⁺ 348,10342 expérimentale 348,1035

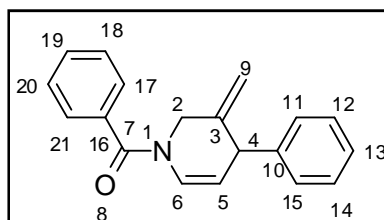
III.3.2) Tert-butyl 3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1 (2H) -carboxylate 3b :



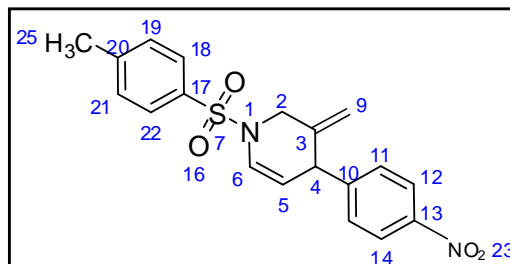
L'amine N-Boc propargylique **2b** (50 mg, 0,322 mmol) avec l'alcool cinnamique **1a** (1,2 éq, 0,376 mmol) dans du THF (0,7 ml). sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme

éluant éther de pétrole / Et₂O (70/30) a donné le composé **3b** sous forme d'huile incolore d'un mélange d'isomères dans un rapport de 3: 2 en raison du groupe protecteur Boc (76 mg, 87%) RMN ¹H (400 MHz, CD₂Cl₂) δ pm 7,32 à 7,22 (m, 5H₁₃₋₁₇), 7,09 à 6,97 (2sl, 1H₆), 5,06 à 4,88 (m, 3H₅), 4.20 à 4.11 (m, 1H_{11b}), 4,08 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H_{11a}), 3,86 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H₂), 1,50 (bs, 9H_{t-But}). RMN ¹³C (100 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm 152,5 (I1, C = O) 152,1 (I2, C = O), 148,0, 147,8, 143,6 (C₁₂), 143,5 (C₃), 128,7 (C_{14,16}), 128,3 (C_{13,17}), 126,9 (C₆), 125,1 (C₁₅), 112,6 (I1, = CH₂), 112,5 (I2, = CH₂), 106,4, 106,1, 81,25 (C₉), 47,4 (C₄), 46,3, 45,8, 45,7, 28,4 (C_{t-But}). GC-MS: m/z (%): 271 (M⁺, 1%), 215, 200, 170, 142. C₁₇H₂₁NO₂.

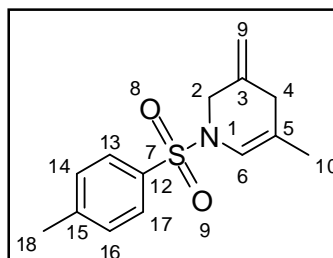
III.3.3)- (3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1 (2H) -yl) (phényl) méthanone 3c :



On fait réagir l'amine N-(prop-2-ynyl)benzamide **2c** (50 mg, 0,314 mmol) avec l'alcool cinnamique **1a** (1,2 éq, 0,41 mmol) dans le THF (0,6 ml). sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant le EP / Et₂O (70/30) a donné le composé **3c** huile incolore, 61 mg (70%). RMN ¹H (400 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm 7,52 à 7,43 (m, 5H₁₇₋₂₁), 7,35 à 7,23 (m, 5H₁₁₋₁₅), 6,73 à 6,70 (m, 1H₆), 5.16 à 5.14 (m, 1H₅), 5,00 à 4,93 (m, 2H₉), 4,48 (d, *J* = 13,4 Hz, 1H₄), 4.18 à 4.16 (m, 1H_{2a}), 4,11 (d, *J* = 13,4 Hz, 1H_{2b}). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ ppm 171,0 (C₇), 144,0 (C₁₀), 143,7 (C₃), 135,9 (C₁₉), 131,9 (C₁₃), 129,8 (C_{18,20}), 129,6 (C_{12,14}), 129,2 (C_{11,15}), 129,1 (C_{17,20}), 128,8 (C₆), 127,9 (C₁₃), 114,0 (C₅), 111,3 (C₉), 47,3 (C₂), 47,0 (C₄). m/z théorique. pour C₁₉H₁₇NONa [M+Na]⁺ 298,12078, expérimentale 298,1207.

III.3.4) 3-méthylène-4-(4-nitrophényl)-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine 3d :

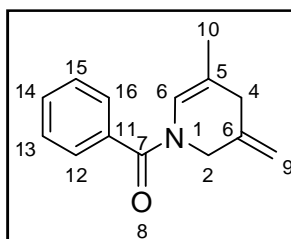
On mélange l'amine N-tosyl propargylique **2a** (50 mg, 0,239 mmol) avec le 4-nitrocinnamique alcool **1a** (1,2 éq, 0,286 mmol) dans le THF (0,5 ml), sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant l'éther de pétrole / Et₂O (50:50) a donné le composé **3d** sous forme d'huile incolore, 57 mg (65%). RMN ¹H (400 MHz, C₆D₆) δ ppm 7,65 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H_{12,14}), 7,58 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H_{18,22}), 6,90, (dd, *J* = 1,6, 8,1 Hz, 2H_{11,15}), 6,72 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H_{19,21}), 6,42 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H₆), 4,49(s, 1H_{9a}), 4,47 (dd, *J* = 4,4, 8,1 Hz, 1H₅), 4,30 (sl, 1H_{9b}), 3,80 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H₄), 3,50 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H_{a2}), 3,30 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H_{2b}), 1,88 (s, 3H₂₅), RMN ¹³C (100 MHz, C₆D₆) δ ppm 149,3 (C₁₀), 147,1 (C₁₃), 143,8 (C₃), 140,0 (C₂₀), 135,4 (C₆), 129,7 (C₁₇), 128,6 (C_{19,21}), 128,1 (C_{18,22}), 127,6 (C_{11,15}), 123,4 (C_{12,14}), 114,0 (C₅), 107,9 (C₉), 47,9 (C₂), 44,7 (C₄), 21,0 (C₂₅), m/z théorique pour C₁₉H₁₈N₂O₄NaS [M+Na]⁺ 393,0885, expérimentale 393,0884

III.3.5) 5-méthyl-3-méthylène-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine 3e

On mélange l'amine N-tosyl propargylique **2a** (50 mg, 0,239 mmol) avec le 2-méthylprop-2-én-1-ol **1c** (5 éq, 1,19 mmol) dans le THF (1 mL), sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant le système DCM / éther de pétrole / Et₂O (80:10:10) comme éluant a donné le composé **3e** comme huile incolore (53 mg, 84%), RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7,64 (d, *J* = 8,1

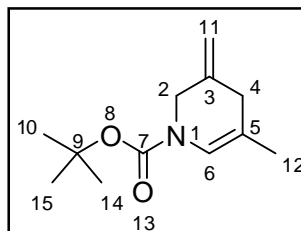
Hz, 2H_{13,17}), 7,35 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H_{14,16}), 6,40 (sl, 1H₆), 4,82 (s, 1H_{a9}), 4,81 (s, 1 H_{b9}), 3,83 (s, 2H₂), 2,56 (s, 2H₄), 2,41 (s, 9H₁₈), 1,67 (s, 3H₁₀), RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ ppm 145,2 (C₃), 138,5 (C₁₅), 136,2 (C₁₂), 130,6 (C₆), 128,5 (C_{14,16}), 120,8 (C_{13,17}), 119,8 (C₅), 112,5 (C₉), 50,5 (C₂), 35,6 (C₄), 21,4 (C₁₈), 20,3 (C₁₀), m/z théorique pour C₁₄H₁₇NO₂NaS [M+Na]⁺ 286,0877, expérimentale 286,0876.

III.3.6) (5-méthyl-3-méthylène-3,4-dihydropyridin-1(2H)-yl)(phenyl mehanone 3f :



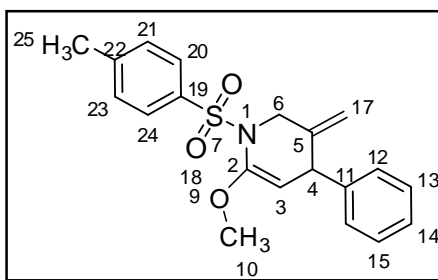
On mélange l'amine N- (prop-2-ynyl) benzamide (50 mg, 0,314 mmol) avec le 2-méthylprop-2-én-1-ol (5 éq, 1,57 mol) dans le THF (1 mL), sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant le système DCM / éther de pétrole / Et₂O (80:10:10) comme éluant a donné le composé **3f** comme une huile incolore 40,94 mg (61,22%). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7,49 à 7,45 (t, $J = 15,71$ Hz, 5H₁₂₋₁₆), 6,23 (s, 1H₆), 5,12 à 5,8 (d, $J = 17,73$ Hz, 2 H₉), 4,28 (s, 1H_{2a}), 2,86 (s, 1H_{2b}) 1,87 à 1,74 (m, 2H₄), 1,63 (s, 3H₁₀) RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) 170,66 (C₇), 139,94 (C₃), 131,74 (C₁₁), 129,69 (C₁₄), 129,12 (C_{13,15}), 128,53 (C_{12,16}), 123,01 (C₆), 118,45 (C₅), 112,72 (C₉), 48,32 (C₂), 36,49 (C₄), 20,25 (C₁₀), m/z théorique pour C₁₄H₁₅NONaS [M+Na]⁺ 236,01811, expérimentale 236,01723.

III.3.7) Tert-butyl 5-methyl-3-méthylène-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate 3g :

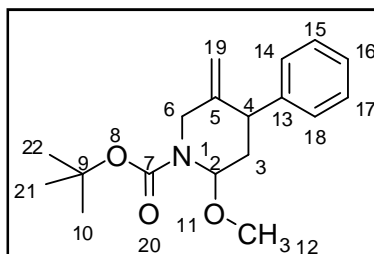


On fait réagir l'amine N-Boc propargylique (50 mg, 0,322 mmol) avec le 2-méthylprop-2-én-1-ol (5 éq, 1,19 mol) dans le THF (1 ml), sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant DCM / EP / Et₂O (80:10:10) comme éluant a donné le composé **3g** comme huile incolore 45.30 mg (67,32%). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 6,56 à 6,51 (d, *J* = 23,37Hz, 1 H₆), 4,99 à 4,97 (d, *J* = 7,82Hz, 2H₁₁), 3,63 (d, *J* = 2Hz, 2H₂), 2,74 (s, 2H₄), 1,69 (s, 3H₁₂), 1,48 (s, 9H_{t-But}). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ ppm 144,55 (C₇), 121,26 (C₃) 120,84 (C₆), 111,69 (C₁₁), 82,07 (C₅) 36,15 (C₉), 36,00 (C₂), 34,92 (C₄), 20,37 (C_{t-But}), 16,08 (C₁₂). m/z théorique pour C₁₂H₁₉NO₂NaS [M+Na]⁺ 232.091, expérimentale 232.0871.

III.3.8)2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-4a tosylpiperidine 3h



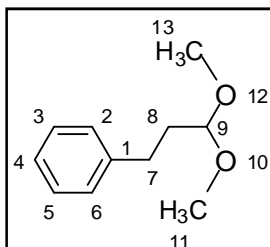
On mélange l'amine N-tosyl propargylique **2a** (50 mg, 0,239 mmol) avec l'alcool cinnamique 1a (1,2 éq, 0,288 mmol) dans le MeOH (0,5 ml), sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant le système EP/ Et₂O (70/30) a donné le composé **4a** sous forme d'huile jaune d'un mélange de diastéréoisomères 93/7 (70 mg, 82%). RMN ¹H (400 MHz, C₆D₆) δ ppm 7,74 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H_{20,24}), 7,06 à 6,98 (m, 3H_{12,14,16}), 6,79 à 6,77 (m, 4H_{21,23,13,15}), 5,26 (t, *J* = 0,5 Hz, 1H_{17a}), 4,59 (sl, 1H_{17b}), 4,27 (d, *J* = 14,3 Hz, 1H₂), 4,10 (sl, 1H_{6a}), 3,84 (d, *J* = 14,3 Hz, 1H_{6b}), 3,74 à 3,70 (m, 1H₄), 3,23 (s, 3H₁₀), 1,89 (s, 3H₂₅), 1,84 (ddd, *J* = 2,0, 4,1, 13,2 Hz, 1H_{3a}), 1,59 (dt, *J* = 3,2, 13,1 Hz, 1H_{3b}), RMN ¹³C (100 MHz, C₆D₆) δ ppm 144,8 (C₅), 142,8 (C₁₁), 141,3 (C₂₂), 138,9 (C₁₉), 129,5 (C_{21,23}), 128,8 (C_{13,15}), 128,6 (C_{12,16}), 127,8 (C_{20,24}), 127,0 (C₁₄), 111,8 (C₁₇), 84,8 (C₂), 55,0 (OCH₃), 47,6 (C₆), 42,0 (C₄), 36,7 (C₃), 21,0 (C₂₅). m/z théorique pour C₂₀H₂₃NO₃NaS [M+Na]⁺ 380,12964, expérimentale 380,1289.

III.3.9) tert-butyle 2-méthoxy-5-méthylène-4-phénylpipéridine-1-carboxylate 3i :

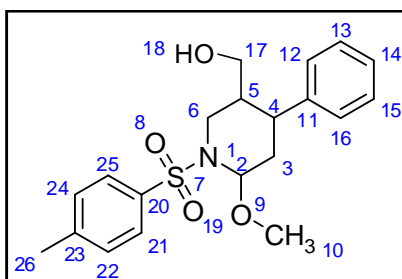
On fait réagir l'amine N-Boc propargylique **2b** (50 mg, 0,322 mmol) avec l'alcool cinnamique **1a** (1,2 éq, 0,387 mmol) dans le MeOH (0,6 ml), sont traités selon le protocole général précédemment décrit. Une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant l'éther de pétrole / Et₂O (70/30) a donné le composé **4b** huile incolore, 62 mg (64%), sous forme de deux isomères en raison du groupe protecteur BOC (63/37 ratio) dans un rapport de diastéréoisomère 90/10. RMN ¹H (400 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm 7.11-7.07 (t, *J*=12.63Hz, 2H_{15,17}), 7.06-7.04(d, *J*=6.73Hz, 1H₁₆), 7.00-6.89(d, *J*= 6.61Hz, 2H_{14,18}) 4.83(s, 1H_{a19}), 4.28-4.25(m, 1H_{b19}) 3.85-3.73(m, 1H₂), 3.24 (s, 1H_{a6}), 3.12 (s, 1H_{b6}), 3.10 (s, 3H₁₂), 2.63-2.59 (m, *J*=15.85Hz, 1H₄), 2.05-2.00 (m, 1H_{a3}), 1.92-1.88 (m, 1H_{b3}), 1.42 (s, 9H_{t-But}) RMN ¹³C (100 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm 155,0 (C₇), 146,9 (C₅), 141,9 (C₁₃), 128,6 (C_{15,17}), 127,0 (C_{14,18}), 126,8 (C₁₆), 103,7 (C₁₉), 82,0 (C₂), 79,6 (C₉), 54,8 (C₁₂), 37,8 (C₄), 34,5 (C₆), 31,28 (C₃), 28,4 (C_{t-But}), m/z théorique pour C₁₈H₂₅NO₃NaS ([M+Na]⁺ 326,1732, expérimentale 326,1728.

III. 4. Procédure générale pour la synthèse des acétals 5 :

Dans un tube de pression séché sous une atmosphère inerte, l'amine propargylique **2a** (5% en moles) et {[Ru(Cp*)(CH₃CN)₃] PF₆} (1% en moles) ont été dissous dans le méthanol ou l'éthanol (1 ml) suivi par l'ajout d'alcool cinnamique **1a** (1,0 éq). La solution résultante a été agitée à 100°C pendant une nuit. Après concentration sous vide, le mélange brut a été purifié par chromatographie sur une colonne rapide pour donner l'acétal 5 comme produit.

III. 4.1-(3,3-diméthoxypropyle) benzène 5a [90] :

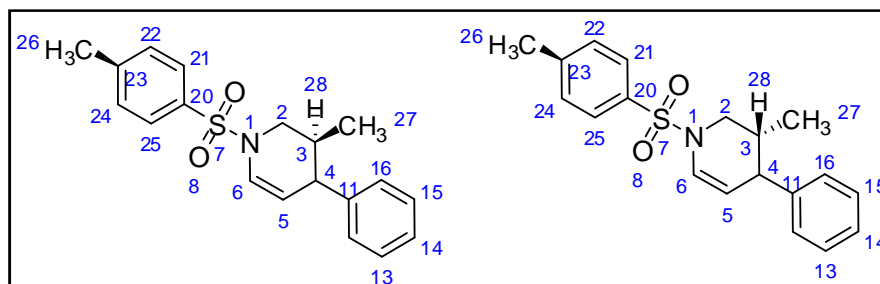
On mélange l'alcool cinnamique **1a** (50 mg, 0,239 mmol) et de MeOH (1 mL). Une filtration sur gel de silice en utilisant EP / Et₂O (80:20) comme éluant a donné le composé **5a** avec un rendement de 90%. RMN ¹H (400 MHz, C₆D₆) δ ppm 7,12 à 6,98 (m, 5H₂₋₆), 4,18 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H₉), 3,15 (s, 6H_{11,13}), 2,48 (t, *J* = 8,15 Hz, 2H₇), 1,74 -1,69 (m, 2H₈).

III. 5. (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl) methanol 6a :

Le borane dimethyl sulfide (BH₃: DMS), (C = 1 M, 0,3 ml) a été ajoutée lentement à une solution contenant du 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-tosylpiperidine **4a** (30 mg, 0,08 mmol) dans le THF (0,5 ml) à 0 °C, le mélange résultant a été agité pendant 2 heures. H₂O₂ (30%, 0,08 ml) et NaOH (3 N, 0,08 ml) ont été séquentiellement ajoutés sous agitation pendant 3 h à température ambiante. Une extraction avec du H₂O et du CH₂Cl₂ x 3 suivie d'un séchage sur du sulfate de sodium, après une concentration on obtient une huile brute qui a été en outre purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant éther de pétrole / Et₂O (80:20) pour donner le composé **6a** sous forme d'huile jaune (24 mg, 76%) dans un rapport stéréoisomère de 75: 19: 6 (seul le composé majeur est décrit), RMN ¹H (400 MHz, C₆D₆) δ ppm 7,74 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H_{21,25}), 7,10 à 7,1 (m, 3H_{14,22,24}), 6,82 à 6,77 (m, 4H_{12,13,15,16}), 5,34 (t, *J* = 0,4 Hz, 1H₁₈), 4,04 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H₂), 3,44 (t, *J* = 10,5 Hz, 1H_{a17}), 3,33 (td, *J* = 4,0, 13,0 Hz, 1H_{b17}), 03.28 à 03.20 (m, 1H₄), 3,14 à 3,16 (m, 2H₆), 2,95 (s, 3H₁₀), 1,92 à 1,82 (m, 1H₅), 1,87 (s, 3H₂₆), 1,79 à 1,68

(m, 2H₃), RMN ¹³C (100 MHz, C₆D₆), δ ppm 142,8 (C₁₁), 142,5 (C₂₃), 138,7 (C₂₀), 128,1 (C_{22,24}), 127,2 (C_{12,16,21,25}), 126,2 (C_{15,13}), 126,1(C₁₄),84,3 (C₂), 56,0 (C₁₇), 53,9 (C₁₀), 41,2 (C₆), 36,4 (C₅), 35,1 (C₃), 28,6 (C₄), 19,7 (C₂₆), m/z théorique pour C₂₀H₂₅NO₄NaS [M+Na]⁺ 398,14020, expérimentale 398,1403.

III. 6. Mode opératoire général pour la semi-hydrogénation de **3a**: (3R, 4S)-3-méthyl-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (**7a**) :



Dans un réacteur de 20 ml, contenant du 3-méthylène-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **3a** (30 mg, 0,09 mmol), du THF (2 ml) a été ajouté, suivi par l'addition de { Ru(Cp*)(CH₃CN)₃] PF₆} et l'additif (5% en moles). L'autoclave a été scellé, et a été évacué et rempli avec de l'argon trois fois rapidement, puis s'est terminée avec le vide. L'hydrogène moléculaire est introduit dans le réacteur à la pression indiquée. Ensuite, le mélange a été agité à la température mentionnée. Après 15 heures, on refroidit l'autoclave jusqu'à la température ambiante et l'hydrogène a ensuite été soigneusement libérée, la conversion a été déterminée par CPG, GC-MS et RMN ¹H du brut. Une chromatographie sur gel de silice en utilisant comme éluant le système EP / Et₂O (80:20) a donné le composé **7a** sous forme d'huile jaune, 22,5 mg (75%), (seulement le composé cis est décrit) RMN ¹H (400 MHz, C₆D₆) δ ppm 7,68 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H_{18,22}), 7,06 à 6,92 (m, 4H_{12,14,19,21}), 6,79 à 6,75 (m, 3H_{11,13,15}), 6,60 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H₆), 4,77 (dd, *J* = 5,0 , 8,2 Hz, 1H₅), 3,39 (dd, *J* = 1,7, 10,9 Hz, 1H₄), 2,86 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H_{2a}), 2,80 (t, *J* = 10,9 Hz, 1H_{2b}), 1,88 (s, 3H₂₃), 1,76 à 1,68 (m, 1H_{a3}), 0,29 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H₉). RMN ¹³C (100 MHz, C₆D₆) δ ppm 144,2 (C₁₀), 143,2 (C₂₀),140,8 (C₁₇), 134,9 (C₆), 129,6 (C_{19,21}), 128,0 (C_{11,15}), 127,6 (C_{18,22}), 126,9 (C_{12,14}), 125,6 (C₁₃), 109,1(C₅), 46,7 (C₂), 42,9 (C₄), 31,1(C₃), 21,0 (C₂₃), 15,3 (C₉). m/z théorique pour C₁₉H₂₁NO₂SNaS [M+Na]⁺ 350,11907, expérimentale 350,119.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- 1.a)- Joule, J. A., Mills, K. (2000). Heterocyclic chemistry, 4th edition. Blackwell Science, Oxford.
- b)- Katritzky, A. R.; Ramsden, C. A.; Joule, J. A.; Zhdankin, V. V. (2010). Handbook of Heterocyclic Chemistry, 3rd Edition, Elsevier
2. Watson, P. S., Jiang, B., Scott, B. (2000). Diastereoselective synthesis of 2,4-disubstituted piperidines: Scaffolds for drug discovery. *Organic Letters*. 2, 3679-3681
3. Parsons, P. J., Penkett, C. S., Shell, A. J. (1996). Tandem reactions in organic synthesis: Novel strategies for natural product elaboration and the development of new synthetic methodology. *Chemical Reviews*. 96, 195-206.
4. Hopf, H., Wolff, J. (2001). Thermal pericyclic tandem reactions. *European Journal of Organic Chemistry*. 4009-4030.
5. Trost, B. M., Frontier, A. J. (2000). Atom economical syntheses of oxygen heterocycles via tandem palladium-catalyzed reactions. *Journal of the American Chemical Society*. 122, 11727-11728.
- [6] Neuschuetz, K., Velker, J., Neier, R. (1998). Tandem reactions combining Diels-Alder reactions with sigmatropic rearrangement processes and their use in synthesis. *Synthesis*. 227- 255.
7. Markandu, J., Dondas, H. A., Frederickson, M., Grigg, R. (1997). X=Y-ZH systems as potential 1,3-dipoles Tandem nucleophilic substitution-1,3 dipolar cycloaddition reactions of oximes with epoxides and dipolarophiles. *Tetrahedron*. 53, 13165-13176.
8. Trost, B. M. (2002). On inventing reactions for atom economy. *Account of Chemical Research*. 35, 695-705.
9. Trost, B. M., Toste, F. D., Pinkerton, A. B. (2001). Non-metathesis ruthenium-catalyzed C-C bond formation. *Chemical Reviews*. 101, 2067-2096.
10. Briot, A., Bujard, M., Gouverneur, V., Nolan, S. P., Mioskowski, C. (2000). Improvement in olefin metathesis using a new generation of ruthenium catalyst bearing an imidazolylidene ligand: Synthesis of heterocycles. *Organic Letters* 2, 1517-1519.

11. Trost, B. M., Toste, F. D. (2000). Ruthenium-catalyzed cycloisomerizations of 1,6- and 1,7-enynes. *Journal of the American Chemical Society*. 122, 714-715.
12. Fujiwhara, M., Nishikawa, T., Hori, Y. (1999). Ruthenium-catalyzed regioselective codimerization of enol acrylates with 2-substituted-1,3-butadienes. *Organic Letters* 1, 1635-1637.
13. Trost, B. M., Machacek, M., Schnaderbeck, M. J. (2000). A regioselective Ru-catalyzed alkene-alkyne coupling. *Organic Letters*. 2, 1761-1764.
14. Eckert, M., Monnier, F., Shchetnikov, G. T., Titanyuk, I. D., Osipov, S. N., Toupet, L., Dérien, S., Dixneuf, P. H. (2005). Tandem catalytic carbene addition/bicyclization of enynes. One-step synthesis of fluorinated bicyclic amino esters by ruthenium catalysis. *Organic Letters*. 7, 3741-3743.
15. Furstner, A. (2000). Olefin metathesis and beyond a list of abbreviations can be found at the end of this article. *Angewandte Chemie International Edition in English*. 39, 3012-3043.
16. Phillips, A. J., Abell, A. (1999). Ring closing metathesis of nitrogen-containing compounds: applications to heterocycles, alkaloids and peptidomimetics. *Aldrichimica Acta*. 32, 75-89.
17. Grubbs R. H., Chang, S. (1988). Recent advances in olefin metathesis and its applications in organic synthesis. *Tetrahedron*. 54, 4413-4450.
18. Armstrong, S. K. (1998). Ring closing diene metathesis in organic synthesis. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 371-388.
19. Trost, B. M., Toste, F. D. (1999). A new Ru catalyst for alkene-alkyne coupling. *Tetrahedron Letters*. 40, 7739-7743.
20. Simon, J. P., Paul, A. S., James, E. T., Michael, K. W., Williams, J. M. J. (2009). Synthesis of furans, pyrroles and pyridazines by a ruthenium-catalysed isomerisation of alkyne diols and in situ cyclisation. *Tetrahedron*. 65, 8981-8986.
21. Murahashi, S. I., Sasao, S., Saito, E., Naota, T. (1992). Ruthenium-catalyzed hydration of nitriles and transformation of δ -keto nitriles to ene-lactams. *Journal of Organic Chemistry*. 57, 2521- 2523.

22. Murahashi, S. I., Sasao, S., Saito, E., Naota, T. (1993). Ruthenium-catalyzed hydration of nitriles and transformation of δ -ketonitriles to ene-lactams: Total synthesis of (-)-pumiliotoxin C. *Tetrahedron*. 49, 8805- 8826.
23. Trost, B. M. (1995). Atom economy- a challenge for organic synthesis: homogeneous catalysis leads the way. *Angewandte Chemie International Edition in English*. 34, 259-281.
24. Trost, B. M., Indolese, A. F., Muller, T. J. J., Treptow, B. (1995). A Ru catalyzed addition of alkenes to alkynes. *Journal of the American Chemical Society*. 117, 615-623.
25. Trost, B. M., Pinkerton, A. B. (2000). Stereoselective formation of Z-vinyl bromides utilizing a ruthenium catalyzed three component coupling. *Angewandte Chemie International Edition*. 39, 360-362.
26. Derien, S., Jan, D., Dixneuf, P. H. (1996). Ruthenium-catalysed coupling of allyl alcohol with alkynes: a new route to γ - δ -unsaturated acetals and aldehydes. *Tetrahedron*. 52, 5511-5524.
27. Trost, B. M. (1996). Molecular gymnastics of alkynes orchestrated by ruthenium complexes. *Chemische Berichte*. 129, 1313-1322.
28. Butenschon, H. (1994). Construction of carbon frameworks with the help of ruthenium complexes: 1,5-cyclooctadiene as reactant in transition metal catalyzed reactions. *Angewandte Chemie International Edition in English*. 33, 636-638.
29. Trost, B. M., Kulawiec, R. J. (1992). Mechanism of the ruthenium-catalyzed reconstitutive condensation of allylic alcohols and terminal alkynes. *Journal of the American Chemical Society*. 114, 5579-5584.
30. Trost, B. M., Flygare, J. A. (1994). A practical synthesis of rosefuran. Furans from acetylenes and allyl alcohols. *Journal of Organic Chemistry*. 59, 1078-1082.
31. Trost, B. M., Flygare, J. A. (1992). A novel ruthenium-catalyzed tandem cyclization-reconstitutive addition of propargyl alcohols with allyl alcohols. *Journal of the American Chemical Society*. 114, 5476-5477.
32. Trost, B. M., Martinez, J. A., Kulawiec, R. J., Indolese, A. F. (1993). Ruthenium-catalyzed addition of allyl alcohols and acetylenes. A simple synthesis of γ,δ -unsaturated ketones. *Journal of the American Chemical Society*. 115, 10402-10403.

33. Derien, S., Dixneuf, P. H. (1994). Ruthenium-catalyzed synthesis of unsaturated acetals and aldehydes *via* C-C bond coupling of alkynes with allyl alcohol. *Chemical Society, Chemical Communications*. 2551-2552.
34. Mitsudo, T. A., Zhang, S.-W., Nagao, M., Watanabe, Y. (1991). Ruthenium complex-catalysed highly selective codimerisation of acetylenes and alkenes. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 598-599.
35. Yi, C. S., Torres-Lubian, J. R., Liu, N., Rheingold, A. L., Guzei, I. A. (1998). Selective linear coupling reaction of acetylene and acrylonitrile catalyzed by the well-defined metallacyclopentadiene complex $C_5Me_5(PPh_3)(Cl)RuCH=CHCH=CH$. *Organo-metallics*. 17, 1257-1259.
36. Ivin, K. (1998) Some recent applications of olefin metathesis in organic synthesis. *Journal of Molecular Catalysis A*. 133, 1-16
37. Zhuo, C. X., Zheng, C., You, S. -L. (2014). Transition-metal-catalyzed asymmetriallylic dearomatization reactions. *Account of Chemical Research*. 47, 2558-2573.
38. Chatani, N., Morimoto, T., Muto, T., Murai, S. (1994). Highly selective skeletal reorganization of 1,6-enyne and 1,7-enyne to 1-vinylcycloalkenes catalyzed by $[RuCl_2(CO)_3]_2$. *Journal of the American Chemical Society*. 116, 6049- 6050.
39. Morimoto, T., Chatani, N., Fukumoto, Y., Murai, S. (1997). $Ru_3(CO)(12)$ -catalyzed cyclocarbonylation of 1,6-enynes to bicyclo [3.3.0] octenones. *Journal of Organic Chemistry*. 62, 3762-3765.
40. Chatani, N., Kataoka, K., Murai, S., Seki, Y., Furukawa, N. (1998). Construction of novel polycyclic ring systems by transition-metal-catalyzed cycloisomerization of ene-enynes. Interception of a carbenoid intermediate in skeletal reorganization of enynes. *Journal of the American Chemical Society*. 120, 9104-9105.
41. Dérien, S.; Gomez, V.; Dixneuf, P. H. (1997). Ruthenium catalysed formation of 2-alkoxy-5-methylenetetrahydropyran. *Chemical Communications*. 1405-1406.
42. Källstrom, S. and Leino, R. (2008). Synthesis of pharmaceutically active compounds containing a disubstituted piperidine framework. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 16, 601-635.

43. Amat, M., Lozano, O., Escolano, C., Molins E., Bosch, J. (2007). Enantioselective synthesis of 3,3-disubstituted piperidine derivatives by enolate dialkylation of phenylglycinol-derived oxazolopiperidone lactams. *Journal of Organic Chemistry*. 72, 4431-4439.
44. Czibula, L., Nemes, A., Sebök, F., Szántay, C., Mák, M. (2004). A Convenient Synthesis of (-)-Paroxetine. *European Journal of Organic Chemistry*. 3336-3339.
45. Harrison, T., Owens, A. J., Williams, B. J., Swain, C. J., Baker, R., Huson, P. H., Sadowski, S., Cascieri, M. A. (1995). Piperidine-ether based HNK(1) antagonists Investigation of the effect of N-substitution. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 5, 209-212.
46. Li, Y., Xue, Z., Ye, W., Liu, J., Yao, J., Wang, C. (2014). One-pot multicomponent synthesis of highly functionalized piperidines from substituted β -nitrostyrenes, Meldrum's acid, aromatic aldehydes, and ammonium acetate. *ACS Combinatorial Science*. 16, 113-119.
47. Bursavich, M. G., West, C. W., Rich, D. H. (2001). From peptides to non-peptide peptidomimetics: Design and synthesis of new piperidine inhibitors of aspartic peptidases. *Organic Letters*. 3, 2317-2320.
48. Seidel, D. (2014). The redox-A³ reaction. *Organic Chemistry Froniers*. 1, 426-429.
49. Zhang, C., Kanta De, C., Mal, R., Seidel, D. (2008). α -Amination of nitrogen heterocycles: ring-fused amins. *Journal of the American Chemical Society*. 130, 416-417.
50. Shen, W., Kang, Y., Wilde R. G., Seidel, D. (2014). Redox-Neutral α,β -Difunctionalization of cyclic amines. *Angewandte Chemie International Edition*. 53, 5179-5182.
51. Sahli, Z., Sundararaju, B., Achard, M., Bruneau, C. (2013). Selective carbon-carbon bond formation: terpenylations of amines involving hydrogen transfers. *Green Chemistry*. 15, 775-779.
52. Fogg, D. E., dos Santos, E. N. (2004). Tandem catalysis : a taxonomy and illustrative review. *Coordination Chemistry Reviews*. 248, 2365-2379.
53. Yuan, K., Jiang, F., Sahli, Z., Achard, M., Roisnel, T., C Bruneau. (2012). Iridium-catalyzed oxidant-free dehydrogenative C-H bondfunctionalization: selective preparation of

n-arylpiperidines through tandem hydrogen transfers. *Angewandte Chemie International Edition*. 51, 8876-8880.

54. Mayer, P., Knochel, P. (2011). Highly diastereoselective arylations of substituted piperidines. *Journal of the American Chemical Society*. 133, 4774-4777,

55. Mitchell, E. A., Peschiulli, A., Lefevre, N., Meerpoel, L., Maes, B. U. W. (2012). *Chemistry a European Journal*. 18, 10092-10142.

56. Millet, A., Larini, P., Clot, E., Baudoin, O. (2013). Ligand-controlled β -selective C(sp³)-H arylation of N-Boc-piperidines. *Chemical Science*. 4, 2241-2247.

57. Gigant, N., Chausset-Boissarie, L., Gillaizeau, I. (2013). Direct site-selective arylation of enamides via a decarboxylative cross-coupling reaction. *Organic Letters*. 15, 816-819.

58. Despiiau, C. F., Dominey, A. P., Harrowven D. C., Linclau, B. (2014). Total synthesis of (\pm)-paroxetine by diastereoconvergent Cobalt-catalysed arylation. *European Journal of Organic Chemistry*. 4335-4341.

59. Murugesan, S., Jiang, F., Achard, M., Bruneau, C., Dérien, S. (2012). Regio- and stereoselective syntheses of piperidine derivatives via ruthenium-catalyzed coupling of propargylic amides and allylic alcohols. *Chemical Communications*. 48, 6589-6591.

60. Kosley, R. W., Baron, B., Jimonet, P., Jurcak, J. G., Shimshock, S. J., Zhao, X.-Y., Sher, R., Mueller, P. J., Beall, J., Barrague, M., Guiles, J. W. (2006) Arylsulfonylpiperidine derivatives and their preparation, pharmaceutical compositions, FKBP binding compositions, and pharmaceutical use for treatment of conditions associated with neuronal degeneration. WO2006/012256.

61. Braun, A., Cornet, B., Courtemanche, G., Crespín, O., Fett, E., Pascal, C. (2006). Derives d'amino- piperidine, leur preparation et leur application en thérapeutique . WO 2006/021656.

62. Coburn, C. A., Stachel, S. J., Vacca, J. P. (2004). Preparation of phenylcarbowamide derivatives as β -secretase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. WO 2004/043916.

63. Kath, J. C., Tom, N. J., Liu, Z., Cox, E. D., Bhattacharya, S. K., Morris, J. (2000). Substituted bicyclic derivatives useful as anticancer agents. WO 2000/44728.

64. Jakobsen, P., Sonnewald, U. (1991). Substituted piperidine compounds and their use. WO 91/09032.

65. Xue, C.-B.; Decicco, C. P., Wexler, R. R. (1999). Substituted aryl hydroxamic acids as metalloproteinase inhibitors. WO 99/58528.
66. Clark, R. C., Pfeiffer S. S., D. Boger, L. (2006). Diastereoselective Diels-Alder reactions of N-sulfonyl-1-aza-1,3-butadienes with optically active enol ethers: an asymmetric variant of the 1-azadiene Diels-Alder reaction. *Journal of the American Chemical Society*. 128, 2587-2593.
67. a)- Trost, B. M., Surivet J. -P., Toste, F. D. (2004). Ruthenium-Catalyzed Enyne Cycloisomerizations. Effect of Allylic Silyl Ether on Regioselectivity. *Journal of American Chemical Society*. 126, 15592-15602.
- b)- Dérien, S., Ropartz, L., Le Paih J., Dixneuf, P. H. (1999). Synthesis of 2-alkoxy-5-methylenetetrahydropyrans: A regioselective ruthenium-catalyzed C-C coupling reaction of prop-2-yn-1-ols with allyl alcohol. *Journal of Organic Chemistry*. 64, 3524-3531.
68. a)- Zweifel, G., Brown, H. C. (1963). Hydroboration. XVI. The hydroboration of olefins, acetylenes and dienes with tetrylborane. *Journal of the American Chemical Society*. 85, 2066-2072.
- b)- Karaki, F., Kabasawa, Y., Yanagimoto, T., Firman, U. N., Urano, Y., Nagano, T., Otani, Y., Ohwada, T. (2012). Visible-light-triggered release of nitric oxide from N-pyramidal nitrosamines. *Chemistry a European Journal*. 18, 1127-1141.
69. Schönherr, H., Cernak, T. (2013). Profound methyl effects in drug discovery and a call for new C-H methylation reactions. *Angewandte Chemie Intern. Ed.* 52, 12256-12267.
70. a)- Drießen-Hölscher, B., Heinen, J. (1998). Selective two-phase-hydrogenation of sorbic acid with novel water soluble ruthenium complexes. *Journal of Organometallic Chemistry*. 570, 141-146.
- b)-Steines, S., Drießen-Hölscher, B., Englert, U. (2000). Stereoselective catalytic hydrogenation of sorbic acid and sorbic alcohol with new Cp*Ru complexes. *Chemical Communications*. 217-218.
71. a)- Fehr, C., Magpantay, I., Vuagnoux, M., Dupau, P. (2011). The synthesis of (Z)-trisubstituted allylic alcohols by the selective 1,4-hydrogenation of dienol esters: improved synthesis of (-)- β -santalol. *Chemistry a European Journal*. 17, 1257-1260.
- b)- Dupau, P. (2012). Ruthenium- catalyzed selective hydrogenation for flavor and fragrance applications. *Topics in Organometallic Chemistry*. 42, 47-64.

72. CCDC 1014288 contient les données cristallographiques supplémentaires.
73. a)- Lindsay, A. J., McDermott, G., Wilkinson, G. (1988). Hydrogenation of alkenes by diruthenium(II) tetraacetate. *Polyhedron*. 7, 1239-1242.
- c)- Dharmasena, U. L., Foucault, H. M., dos Santos, E. N., Fogg D. E., Nolan, S. P. (2005). N-Heterocyclic carbenes as activating ligands in hydrogenation and isomerization of unactivated olefins. *Organometallics*. 24, 1056.
- d)- Bagh, B., Stephan, D. W. (2014). Half sandwich ruthenium (II) hydrides: Hydrogenation of terminal, internal, cyclic and functionalized olefins. *Dalton Transactions*. 43, 15638-15645.
74. Chinn, M. S., Heinekey, D. M. (1990). Dihydrogen complexes of ruthenium. II, Kinetic and thermodynamic considerations affecting product distribution. *Journal of the American Chemical Society*. 112, 5166-5175.
75. a)- Akbayeva, D. N., Gonsalvi, L., Oberhauser, W., Peruzzini, M., Vizza, F., Brüggeller, P., Romerosa, A., Sava, G., Bergamo, A. (2003). Synthesis, catalytic properties and biological activity of new water soluble ruthenium cyclopentadienyl PTA complexes $[(C_5R_5)RuCl(PTA)_2]$ (R = H, Me; PTA = 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane). *Chemical Communications*. 264-265.
- b)- Frost, B. J., Mebi, C. A. (2004). Aqueous organometallic chemistry: synthesis, structure, and reactivity of the water-soluble metal hydride, $CpRu(PTA)_2H$. *Organometallics*. 23, 5317-5323.
76. a)- Bullock, R. M. (2004). Catalytic ionic hydrogenations. *Chemistry a European Journal*. 10, 2366-2374.
- b)- Ghosh, P. P., Fagan, J., Marshall, W. J., Hauptman, E., Bullock, R. M. (2009). Synthesis of ruthenium carbonyl complexes with phosphine or substituted Cp ligands, and their activity in the catalytic deoxygenation of 1,2-propanediol. *Inorganic Chemistry*. 48, 6490-6500.
77. a)- Grotjahn, D. B., Larsen, C. R., Gustafson, J. L., Nair R., Sharma, A. (2007). Extensive isomerization of alkenes using a bifunctional catalyst: An alkene zipper. *Journal of the American Chemical Society*. 129, 9592-9593.
- b)- Larsen, C. R., Grotjahn, D. B. (2012). Stereoselective alkene isomerization over one position. *Journal of the American Chemical Society*. 134, 10357-10360.

- 78.** Takahashi, K., Yamashita, M., Tanaka Y., Nozaki, K. (2012). Ruthenium /C₅Me₅/ bisphos-phine- or bisphosphite-based catalysts for normal-selective hydroformylation. *Angewandte Chemie International Edition*. 51, 4383-4387.
- 79.** Wilczewski, T. (1989). Cyclopentadienyl-ruthenium and -osmium complexes: Formation and properties of ion-pairs containing the dihydride (η -cyclopentadienyl)bis (triphenyl -phosphine)-ruthenium (IV) cation. *Journal of Organometallic Chemistry*. 361, 219-229.
- 80 a)-** Kranenburg, M., Kamer, P. C. J., P. van Leeuwen W. N. M., Chaudret, B. (1997). Diphosphines with large natural bite angles lead to the formation of non-classical cis-(diphosphine)₂Ru(H)(H₂)⁺ complexes. *Chemical Communications*. 373.
- b)- Ayllon, J. A., Sayers, S. F., Sabo-Etienne, S., Donnadieu, B. Chaudret, B., Clot, E. (1999). Proton transfer in aminocyclopentadienyl ruthenium hydride complexes. *Organometallics*. 18, 3981-3990.
- c)- Gründemann, S., Ulrich, S., Limbach, H. -H., Golubev, N. S., Denisov, G. S., Epstein, L. M., Sabo-Etienne S., Chaudret, B. (1999). Solvent-assisted reversible proton transfer within an intermolecular dihydrogen bond and characterization of an unstable dihydrogen complex. *Inorganic Chemistry*. 38, 2550-2551.
- d)- Belkova, N. V., Besora, M., Epstein, L. M., Lledos, A., Maseras, F., Shubina, E. S. (2003). Influence of media and homoconjugate pairing on transition metal hydride protonation. An IR and DFT study on proton transfer to CpRuH(CO)(PCy₃). *Journal of the American Chemical Society*. 125, 7715-7725.
- e)- Jalón, F. A., Manzano, B. R., Caballero, A., Carrión, M. C., Santos, L., Espino, G., Moreno, M. (2005). Facile Ru-H₂ heterolytic activation and intramolecular proton transfer assisted by basic N-centers in the ligands. *Journal of the American Chemical Society*. 127, 15364-15365.
- f)- Levina, V. A., Filippov, O. A., Gutsul, E. I., Belkova, N. V., Epstein, L. M., Lledos A., Shubina, E. S. (2010). Neutral transition metal hydrides as acids in hydrogen bonding and proton transfer: media polarity and specific solvation effects. *Journal of the American Chemical Society*. 132, 11234-11246.
- g)- Silantsev, G. A., Filippov, O. A., Tolstoy, P. M., Belkova N. V., Epstein, L. M. (2013). Hydrogen bonding and proton transfer to ruthenium hydride complex CpRuH (dppe): Metal and hydride dichotomy. *Inorganic Chemistry*. 52, 1787-1797.

- 81.** a)- Ovchinnikov, M. V., LeBlanc, E., Guzei I. A., Angelici, R. J. (2001). Hydrofunctionalization of alkenes promoted by diruthenium complexes $[\{(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_3)(2\text{-}(\text{SiMe}_2)_2)\text{Ru-2}(\text{CO})(3)(\eta^2\text{-CH}_2=\text{CH-R})(\mu\text{-H})\}]^{(+)}$ featuring a kinetically inert proton on a metal-metal bond. *Journal of the American Chemical Society*. 123, 11494-11495.
- b)- Suzuki, H., Kakigano, T., Tada, K. -I., Igarashi, M., Matsubara, K., Inagaki, A., Oshima M. Takao, T. (2005). Synthesis, structures, and reactions of coordinatively unsaturated trinuclear ruthenium polyhydrido complexes, $[\{\text{Ru}(\text{C}_5\text{Me}_5)\}_3(\mu\text{-H})_6](\text{Y})$ ($\text{Y} = \text{BF}_4, \text{CF}_3\text{SO}_3, 1/2(\text{SO}_4), \text{C}_6\text{H}_5\text{CO}_2, \text{CH}_3\text{CO}_2, \text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4, \text{PF}_6$) and $[\{\text{Ru}(\text{C}_5\text{Me}_5)\}_3(\mu\text{-H})_3(\mu^3\text{-H})_2]$. *Bulletin of Chemical Society of Japan*. 78, 67-87.
- 82.** a)- Janssen, P. A. J., van de Westeringh, C., Jageneau, A. H. M., Demoen, P. J. A., Hermans, B. K. F., van Daele, G. H. P., Schellekens, K. H. L., van der Eycken C. A. M., Niemegeers, C. J. E. (1959). Chemistry and pharmacology of CNS depressants related to 4-(4-hydroxy-4-phenylpiperidino) butyrophenone. Part I. Synthesis and screening data in mice. *Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. 1, 281-297.
- b)- Tam, S. W., Cook, L. (1984). Sigma opiates and certain antipsychotic drugs mutually inhibit (+)-[3H] SKF 10,047 and [3H] haloperidol binding in guinea pig brain membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81, 5618-5621.
- 83.** a)- Weng, W., Shen, Z., Jordan, R. F. (2007). Copolymerization of ethylene and vinyl fluoride by (phosphine-sulfonate) $\text{Pd}(\text{Me})(\text{py})$ catalysts. *Journal of the American Chemical Society*. 129, 15450-15451.
- b)- Sundararaju, B., Tang, Z., Achard, M., Sharma, G. V. M., Bruneau, C. (2010). Ruthenium-catalyzed cascade N- and C(3)-dialkylation of cyclic amines with alcohols involving hydrogen autotransfer processes. *Advanced Synthesis and Catalysis*. 352, 3141-3146.
- 84.** Kay, M. B., Hongfeng, C., Peter, S., Lingfeng, Y. (2002). *Journal of the American Chemical Society*. 124, 15186.
- 85.** Travis, T. D., Xiaodong Z., John, R. C. (2005). *Journal of Medicinal Chemistry*. 48, 224.
- 86.** Botta, M., Corelli, F., Petricci E., Seri, C. (2002). New solid-supported reagents (SSRs) for selective acylation of amines. *Heterocycles*. 56, 369-377.

87. Suzuki, T., Oriyama, T. (1999). Novel reactions of ethylene acetals with silyl substituted nucleophiles. A mild and efficient procedure for synthesis of homoallyl alkyl ethers and unsymmetrical dialkyl ethers. *Synthetic Communications*. 29, 1263-1269.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le présent travail a été consacré, dans un premier lieu à l'étude de la composition chimique et des activités biologiques des huiles essentielles des deux espèces sahariennes: *Pistacia atlantica* Desf. et *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. recueillies aux environs de Ghardaïa.

En ce qui concerne la composition chimiques des huiles essentielles extraites des feuilles et des fleurs de *Pistacia atlantica*, les analyses GC et GC-MS ont montré la présence de l' α -pinène (PAFe 18.41%, PAFI 30%), le limonène (PAFe 5,90%, PAFI 8,94%) et le spathulenol (PAFe 10.67%) comme constituants majoritaires en plus de certains autres composés majeurs comme l' α -phellandrène (PAFe 8.93%, PAFI 11.09%), le β -phellandrène (PAFe 5.49%, PAFI 13.45%), l' α -terpinène (PAFe 17.32%), le β -élémente (PAFe 7.50%), le γ -gurjunène (PAFe 0.06%), le germacrène-B (PAFI 6.17%) qui sont rapportés ici en tant que composants majoritaires pour la première fois dans les huiles essentielles du genre *Pistacia*.

Les huiles testées ont inhibé à la fois la croissance des bactéries à Gram (+) et Gram (-). L'activité la plus élevée se reflète contre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus* et *E. coli* à des CMI variant entre 16 et 80 μ g/mL.

Le potentiel antiradicalaire des huiles essentielles de *P. atlantica* a été déterminé en utilisant le β -carotène- acide linoléique, le DPPH, l'ABTS⁺, le métal chélate et le test du CUPRAC. Les résultats ont montré que les huiles essentielles testées possèdent une excellente activité antioxydante avec des CI 50 proches de celles des standards utilisés.

L'évaluation de l'activité anticholinestérase des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *P. atlantica* Desf. a été réalisée par l'utilisation des deux enzymes acétylcholinestérase et butylcholinestérase. Les deux huiles essentielles ont présenté une activité inhibitrice modérée de l'AChE et de BChE, en comparaison avec la galantamine. Les résultats présentés dans cette étude sont les premières informations sur cette activité. Cependant des études plus profondes devraient être faites.

Pour les huiles essentielles extraites de *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur., les analyses GC et GC-MS ont révélé la présence de 42 composés pour FF, 37 composés pour FS, 48 composés pour TF et 36 composants pour TS.

Les composants majoritaires des huiles essentielles de *F. vesceritensis* sont l' α -pinène (FF 32%, FS 16.1%, FS 11.5%, TS 17.4%), le β -pinène (TF 8.1%, TS 8.90%), l' α -phellandrène (FF 8.5%, FS 24.3%), le fenchylacétate (FF 10.4%, TF 7.3%, TS 8.8%), l'elixène (FS 6.3%, TF 5.4%), l'aristolène (FF 5.4%, TF 7.2%, TS 6.8%), le caryophyllène oxide (TF 7.6%) et le carotol (FF 13.9%, FS 6.7%, TF 18.8%, TS 10.8%).

Il est important de mentionner que c'est la première fois pour le genre *Ferula* que l' α -phellandrène, le fenchylacétate, l'elixène, l'aristolène et le carotol ont été trouvés comme composants majoritaires.

En résumé, l'activité antibactérienne de ces huiles a été testée en utilisant la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de 9 microorganismes: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* et *Morganella morganii*. La meilleure activité antibactérienne a été observée contre six souches: *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Morganella morganii*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Donc nous pouvons conclure que les huiles étudiées ont un effet antibactérien de large spectre contre la plupart des souches bactériennes étudiées.

Dans la seconde partie du présent travail, nous avons apporté notre contribution au développement de la synthèse de nouveaux dérivés pipéridiniques catalysée par le [Ru], après avoir optimisé les conditions réactionnelles nous avons obtenu les molécules ciblées avec de bons rendements en produits isolés et des conditions relativement douces en éliminant seulement de l'eau. En deuxième étape notre système catalytique nous a permis de montrer qu'il est possible de réaliser des réactions d'hydrogénation de haute sélectivité en tandem, nous avons pu synthétiser 12 nouveaux dérivés pipéridiniques en utilisant une méthode aisée, et montré que le couplage oxydant sélectif entre les alcools allyliques et les amines propargyliques peut être étendu à des dérivés d'alcool cinnamique et d'alcools allyliques substitués en position 2. Cette méthodologie permet l'accès à des dérivés ayant des structures proches de celles de dérivés pipéridiniques connus par leurs intérêts biologiques.

ANNEXE

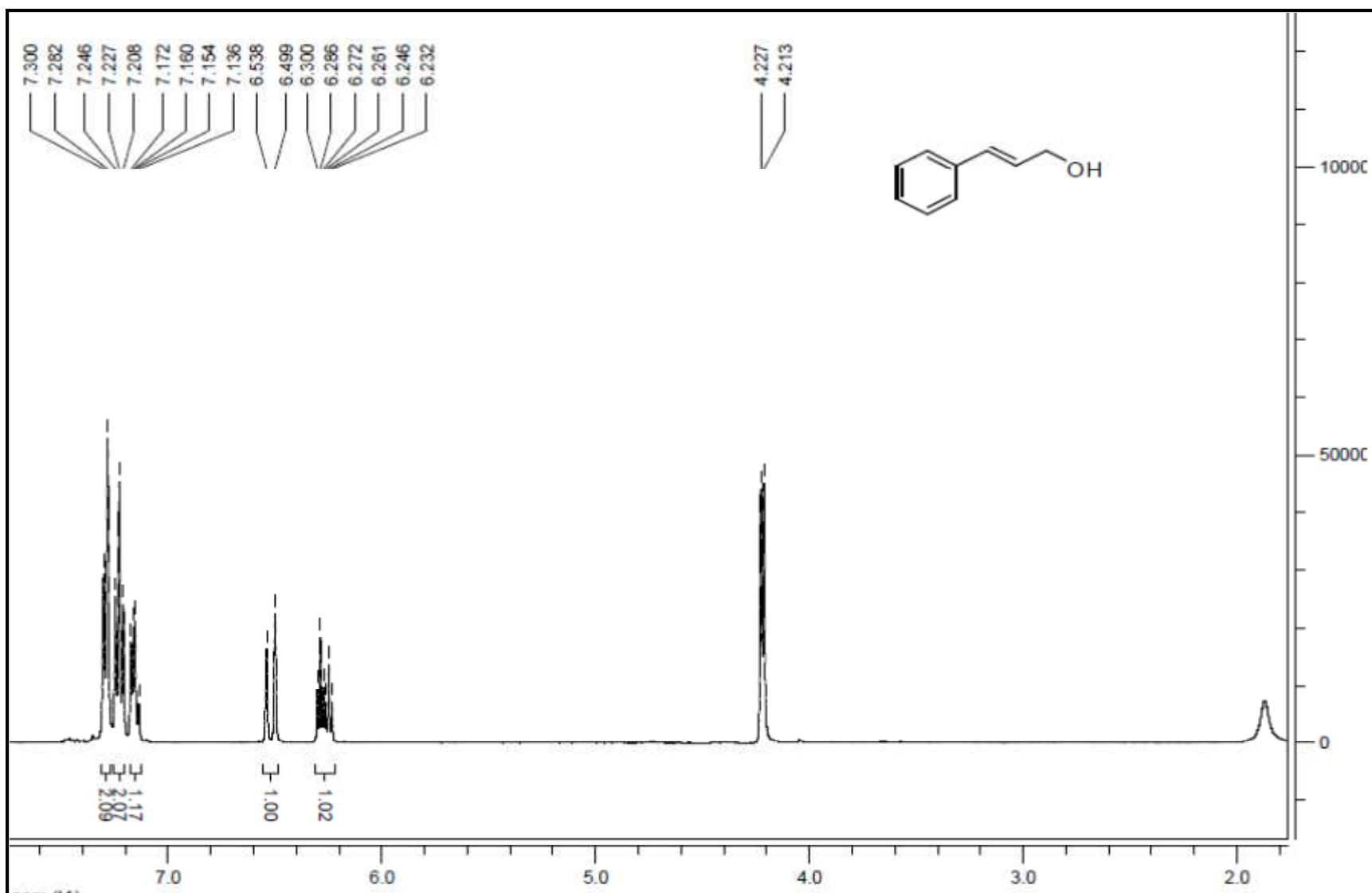


Figure A1: Spectre RMN ^1H de l'alcool cinnamique (400 MHz, CDCl_3).

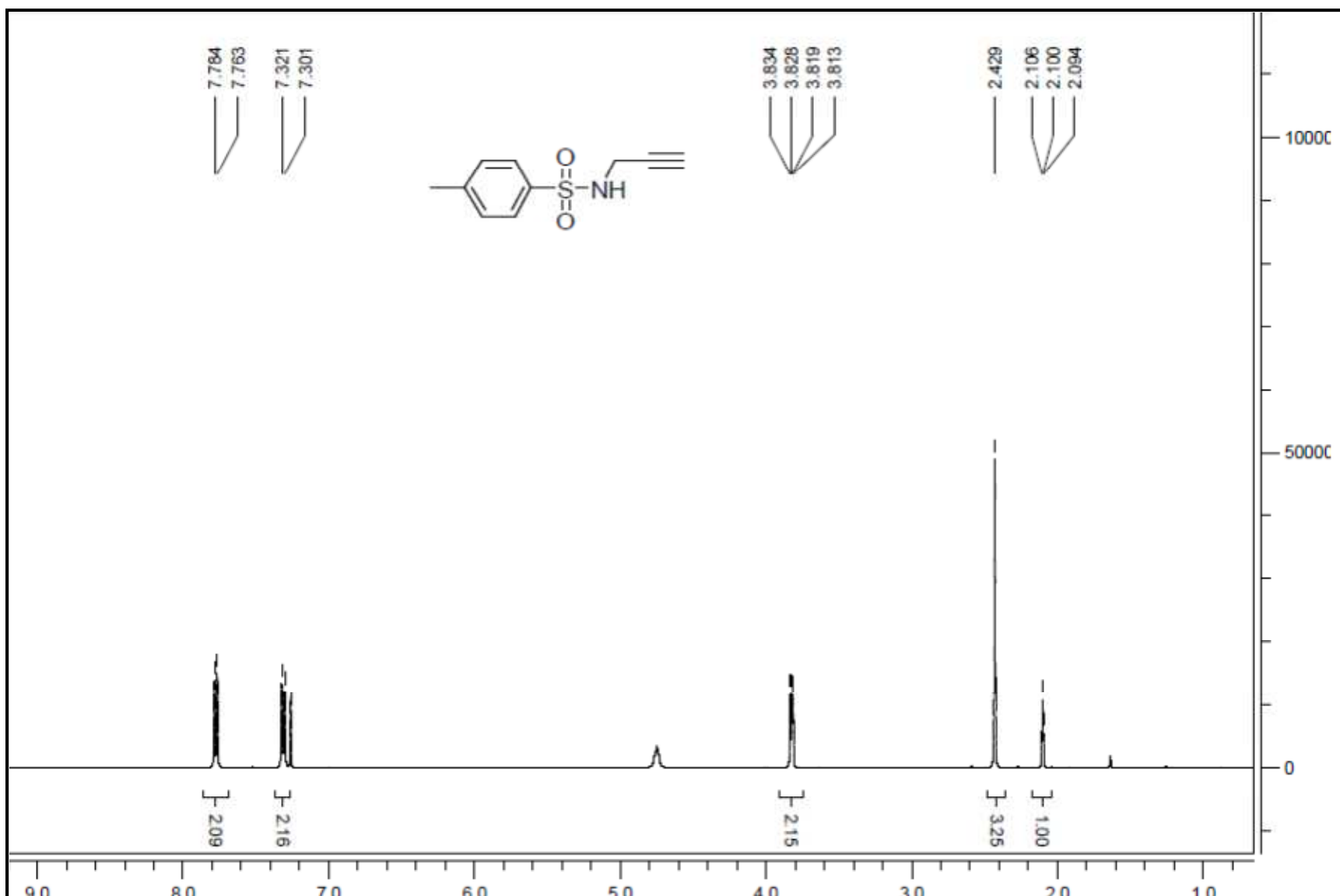


Figure A2 : spectre RMN ^1H du composé 1a: *4-methyl-N-(prop-4-nyl)benzenesulfonamide* (400 MHz, CDCl_3).

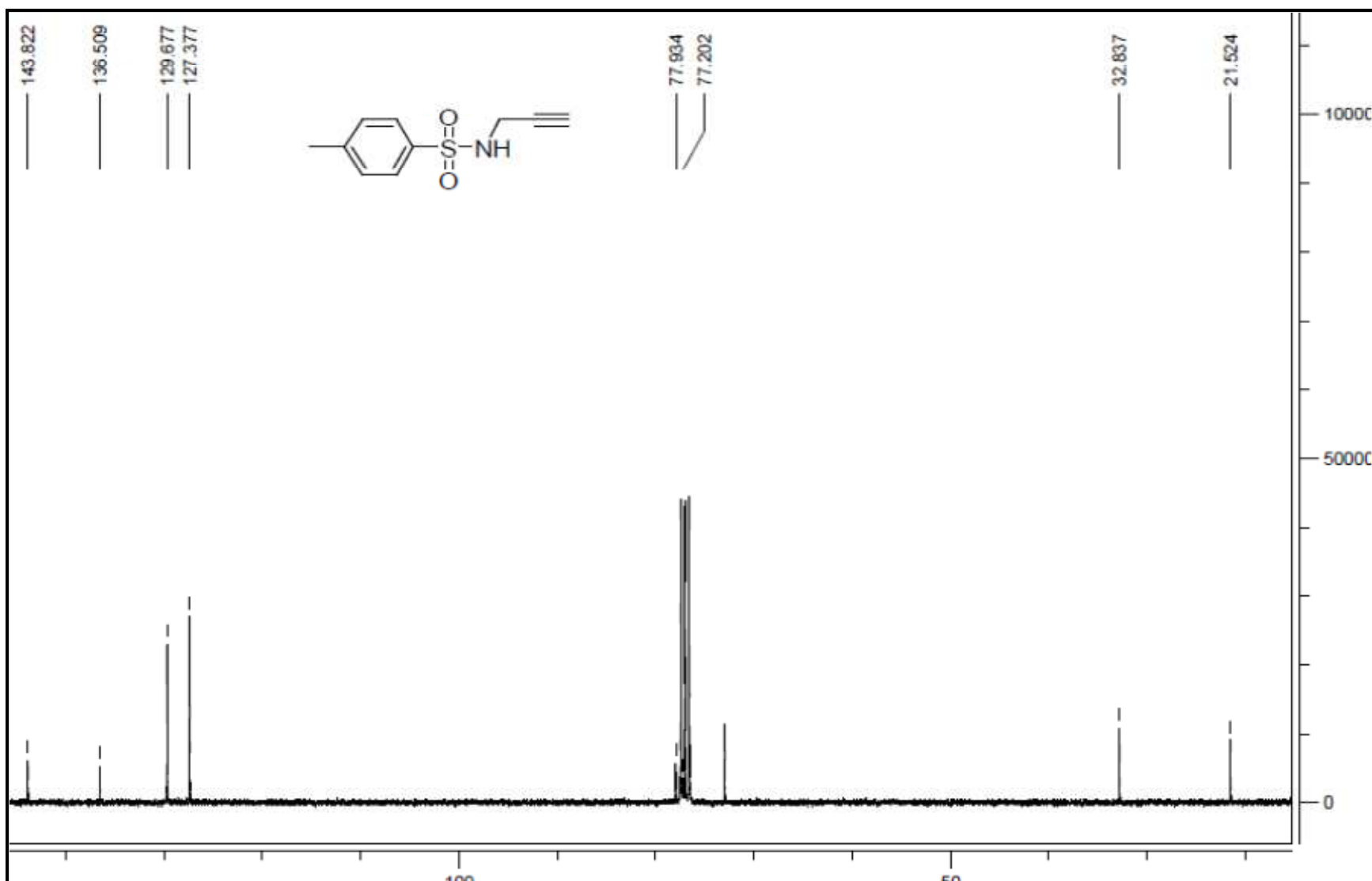


Figure A3: Spectre RMN ^{13}C du composé 1a: 4-methyl-N-(prop-4-nyl)benzenesulfonamide (100 MHz, CDCl₃).

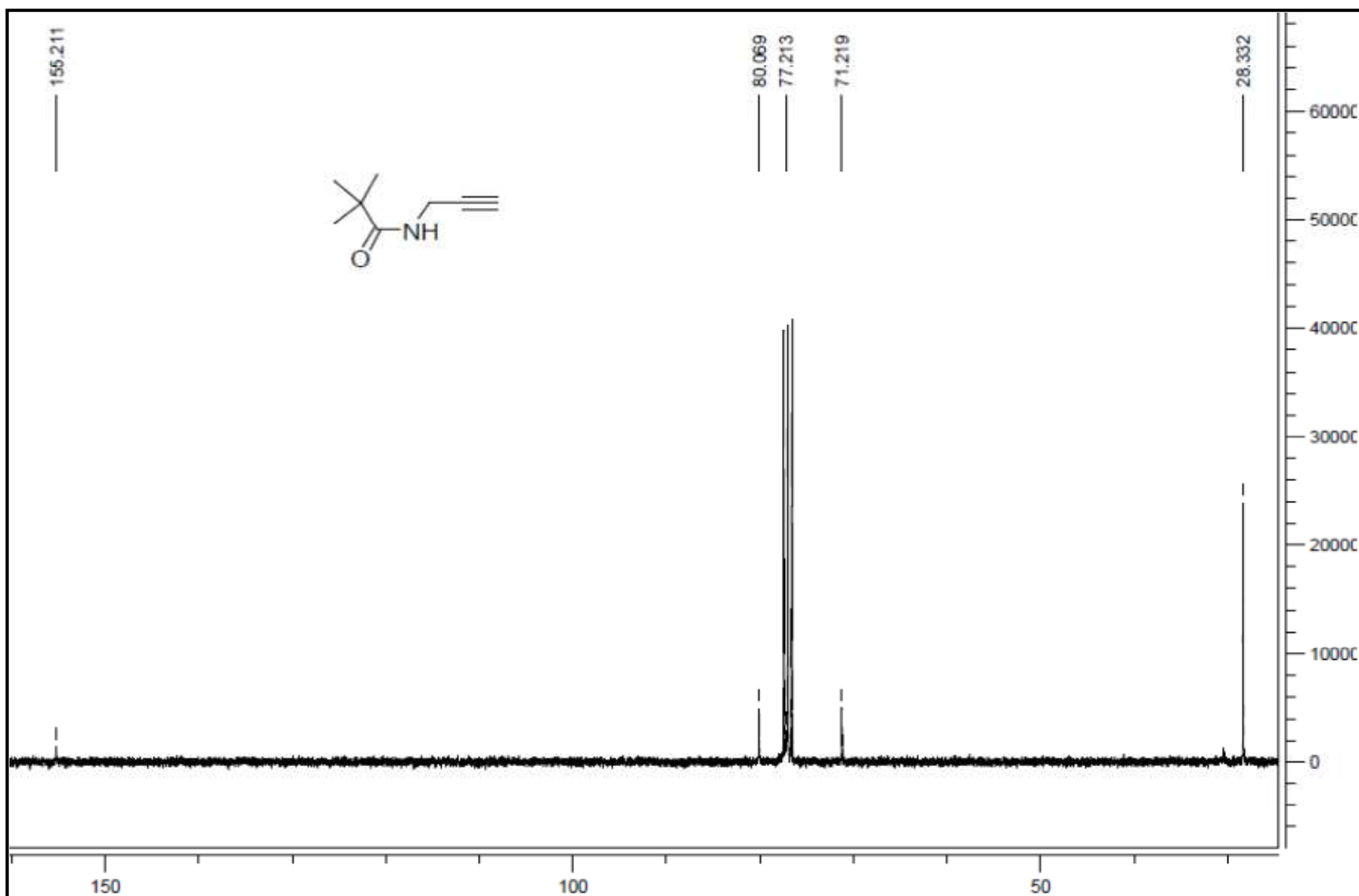


Figure A4: Spectre RMN ^{13}C du composé 1b: *Tert-Butyl Prop-2-ynylcarbamate* (100 MHz, CDCl_3).

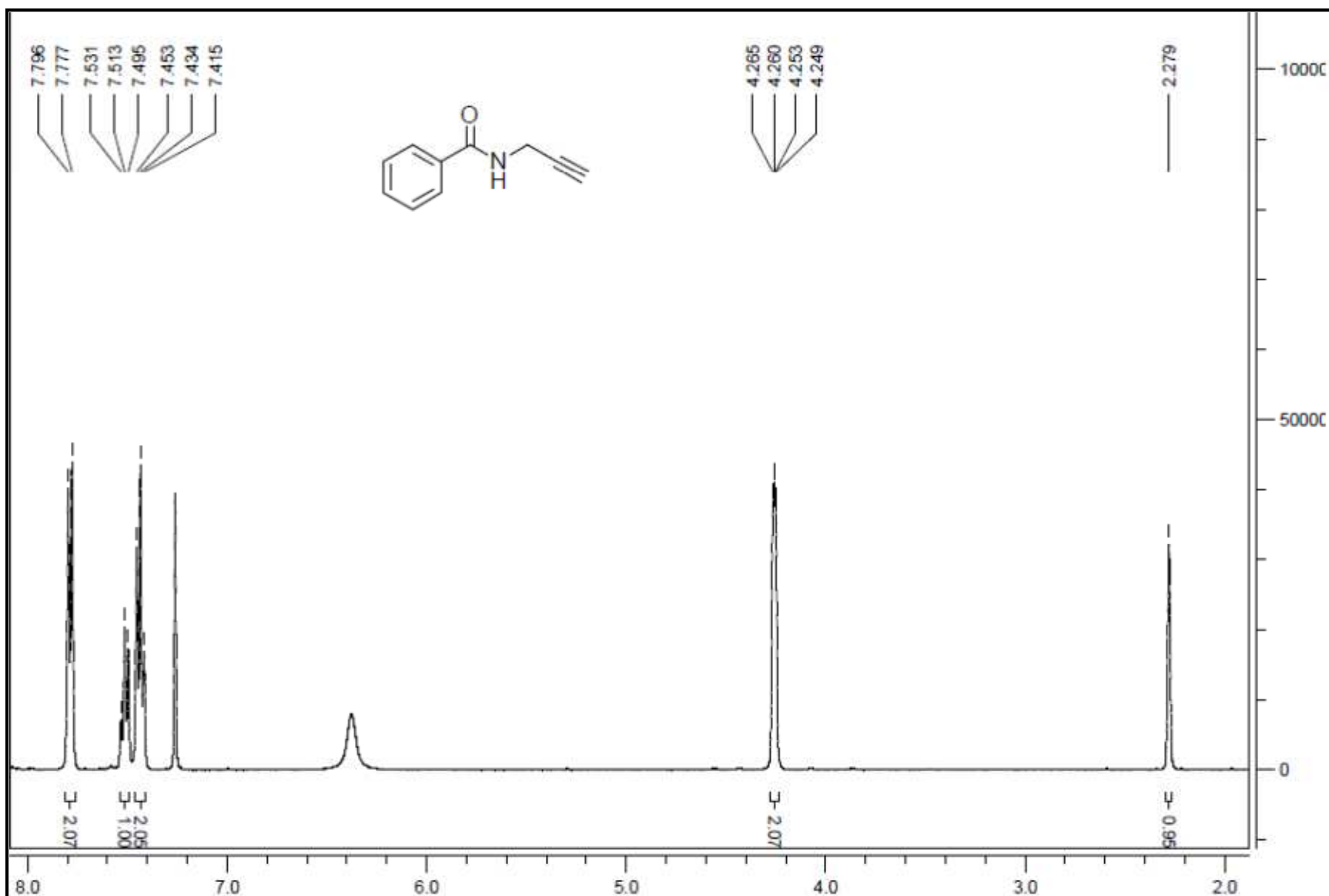


Figure A5: Spectre RMN ^1H du composé 1C: *N*-(prop-2-ynyl)benzamide (400 MHz, CDCl_3).

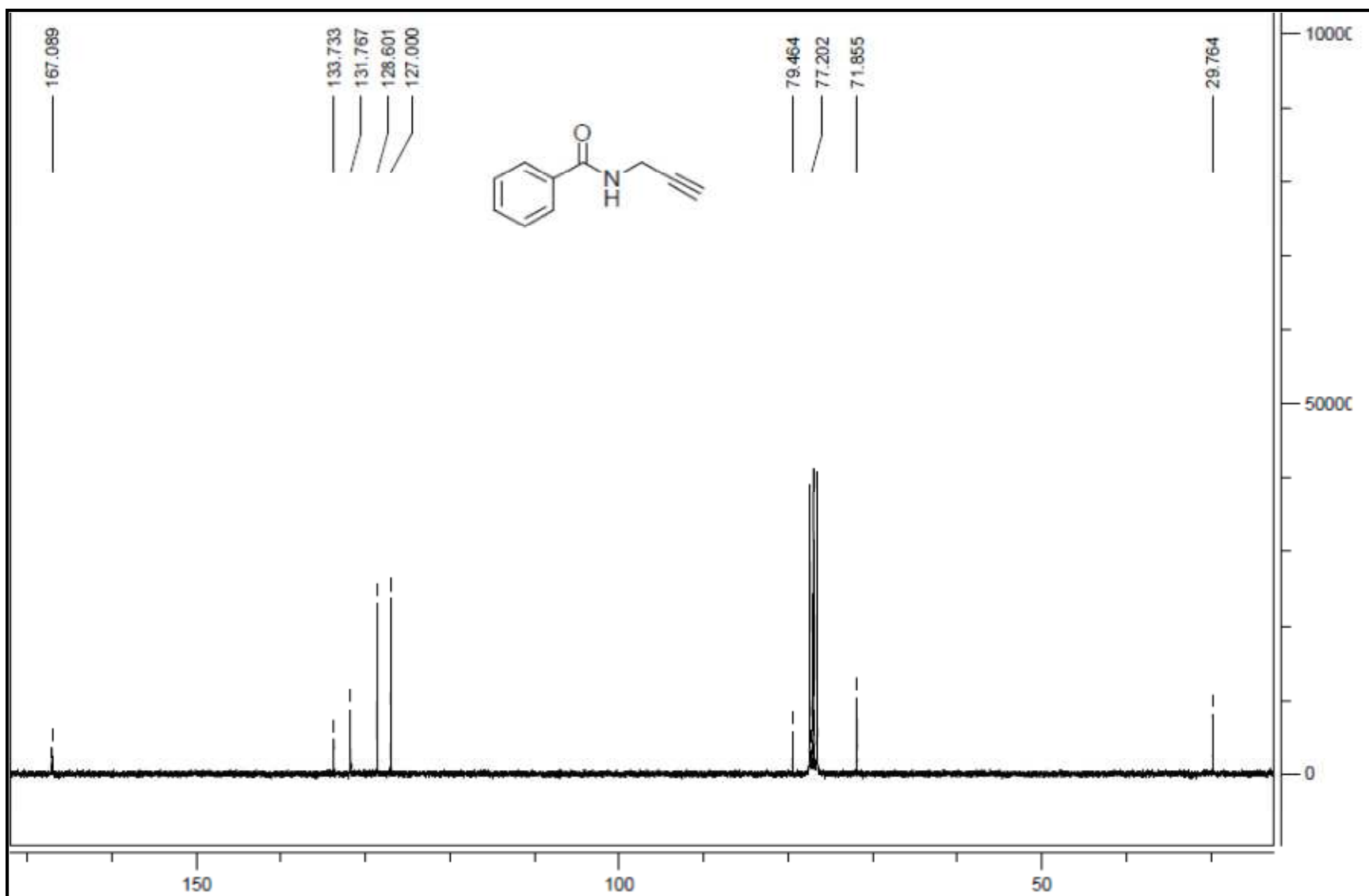


Figure A6: Spectre RMN ^{13}C du composé 1c: *N*-(prop-2-ynyl)benzamide (100 MHz, CDCl_3).

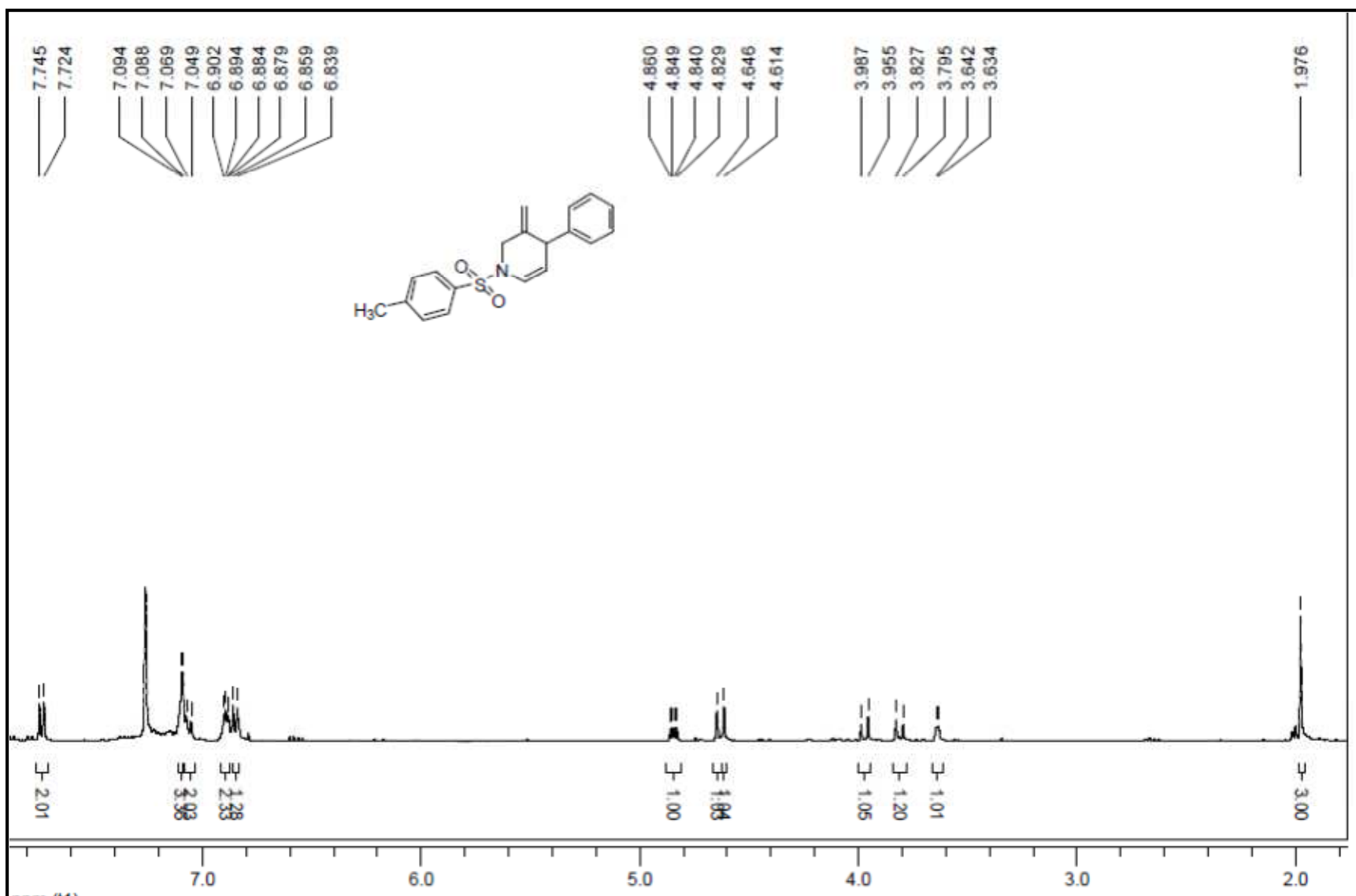


Figure A7: Spectre RMN ¹H du composé 3a: 3-methylene-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (400 MHz, CD₂Cl₂).

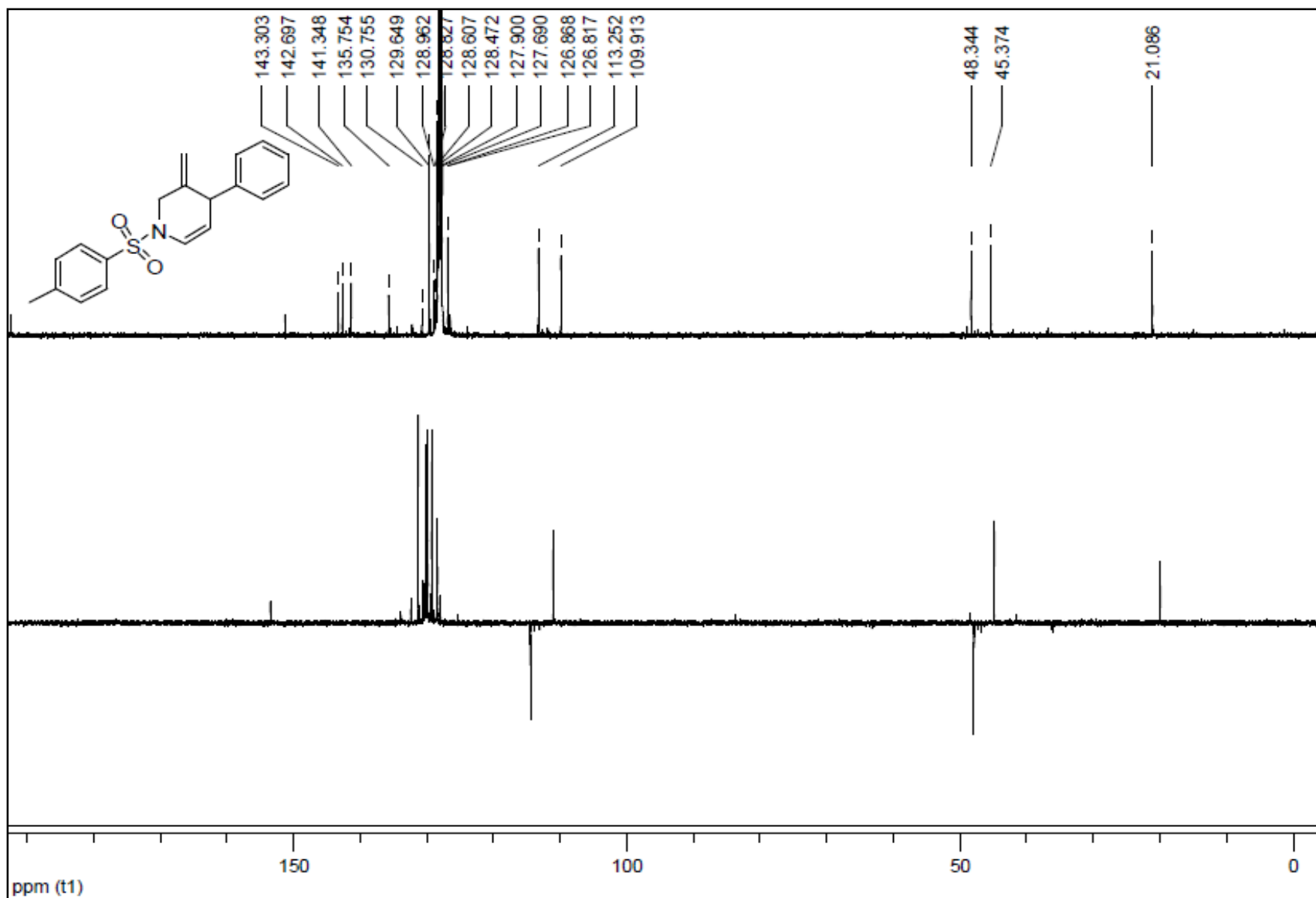


Figure A8: Spectre RMN ^{13}C du composé 3a: 3-methylene-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (100 MHz, CD_2Cl_2).

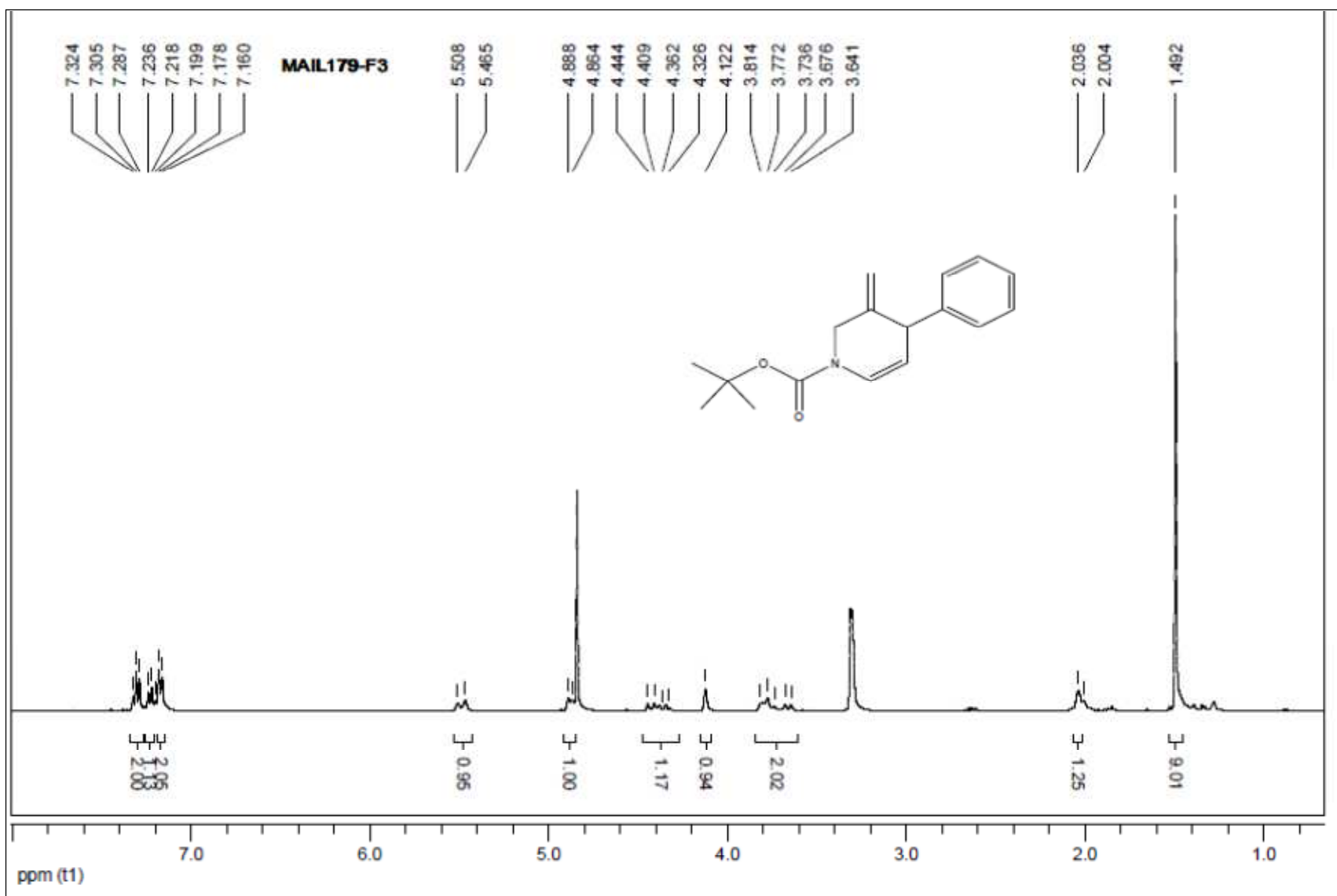


Figure A9: Spectre RMN ^1H du composé 3b: *tert*-butyl 3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate (400 MHz, CD_2Cl_2).

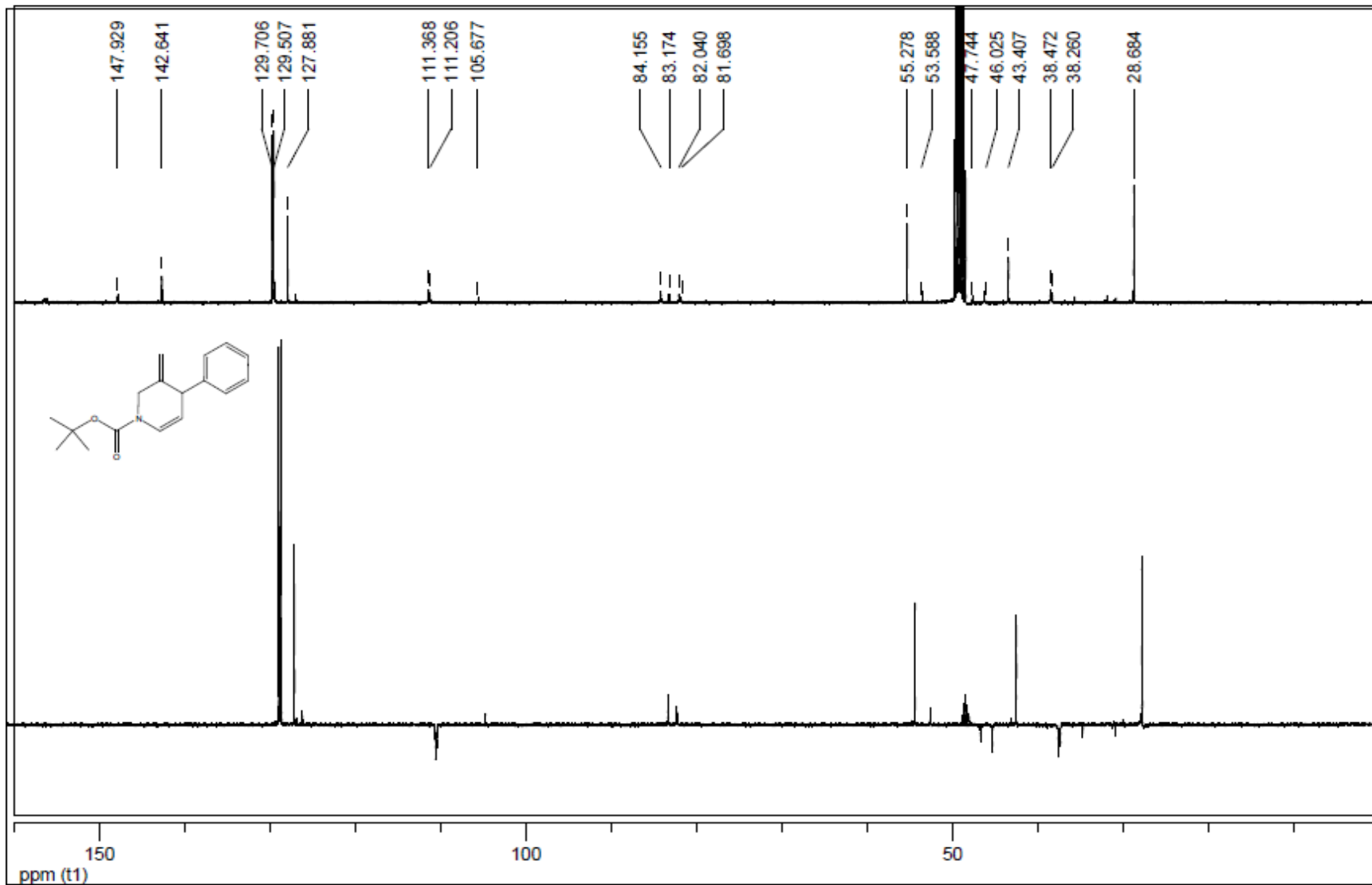


Figure A10: Spectre RMN ¹³C du composé 3b: *tert*-butyl 3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate (100 MHz, CD₂Cl₂).

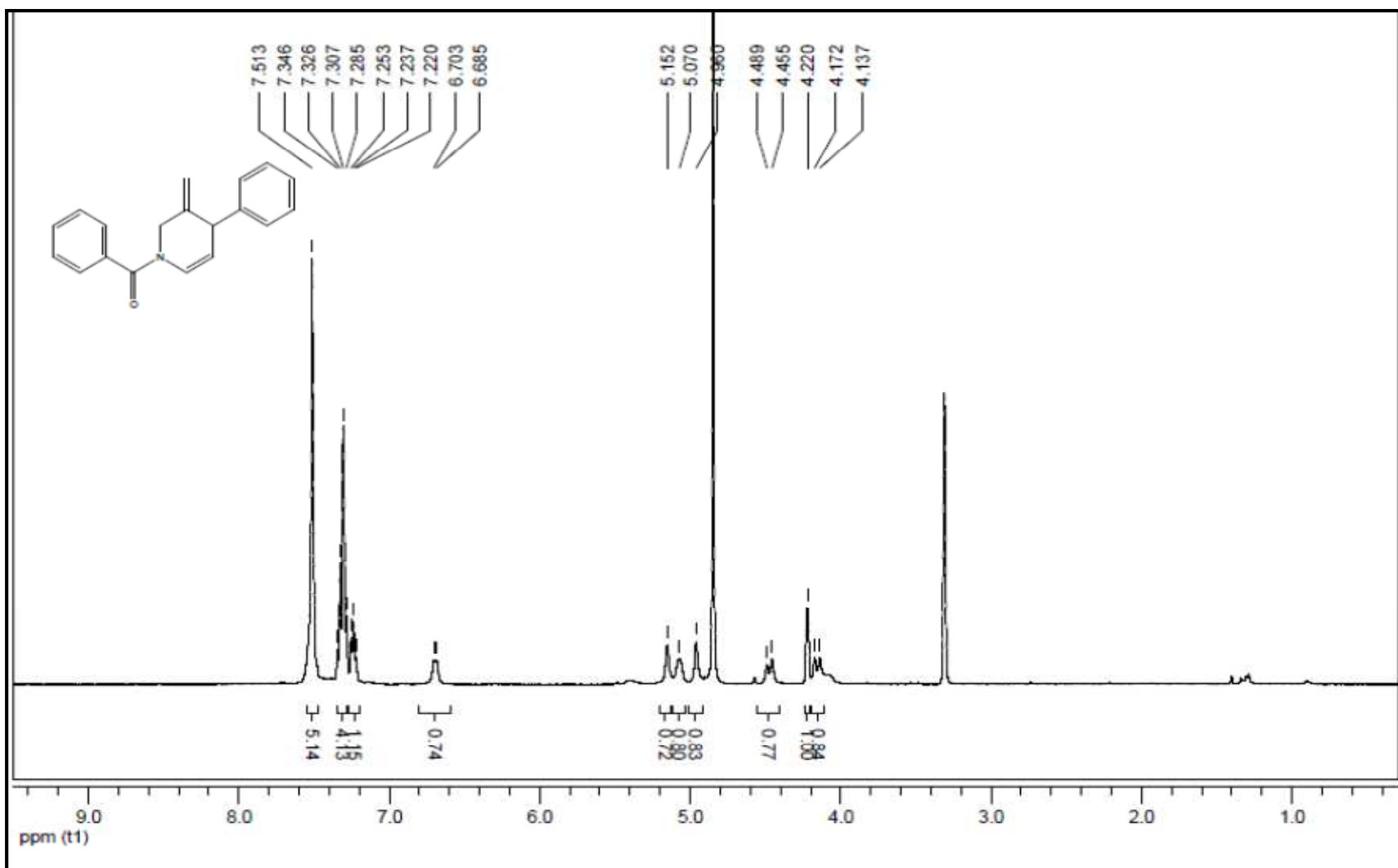


Figure A11: Spectre RMN ^1H du composé 3c: (3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1 (2H) -yl) (phényl) méthanone (400 MHz, CD_2Cl_2).

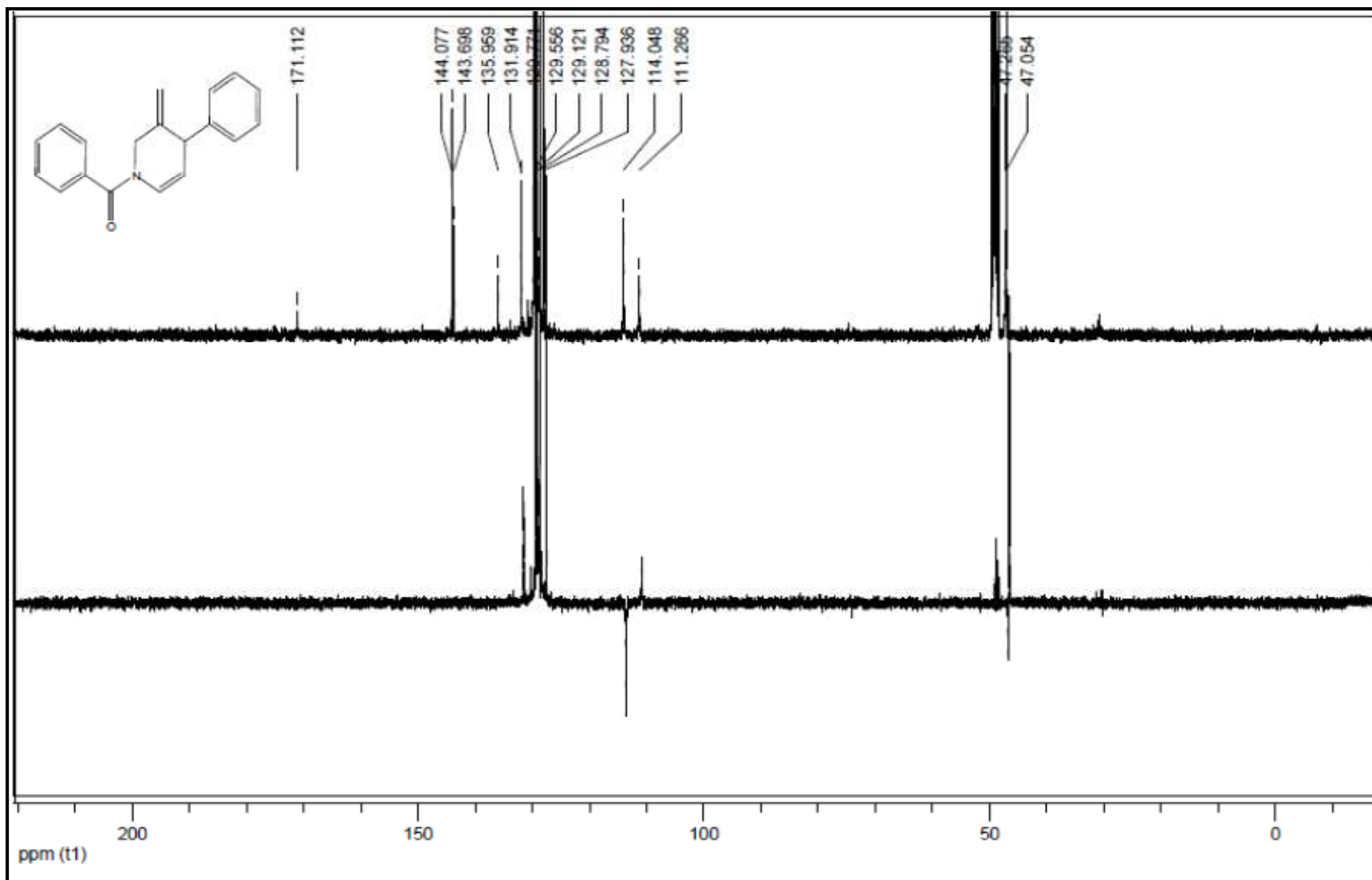


Figure A12: Spectre RMN ^{13}C du composé 3c: (3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1 (2H) -yl) (phényl) méthanone (100 MHz, CD_2Cl_2).

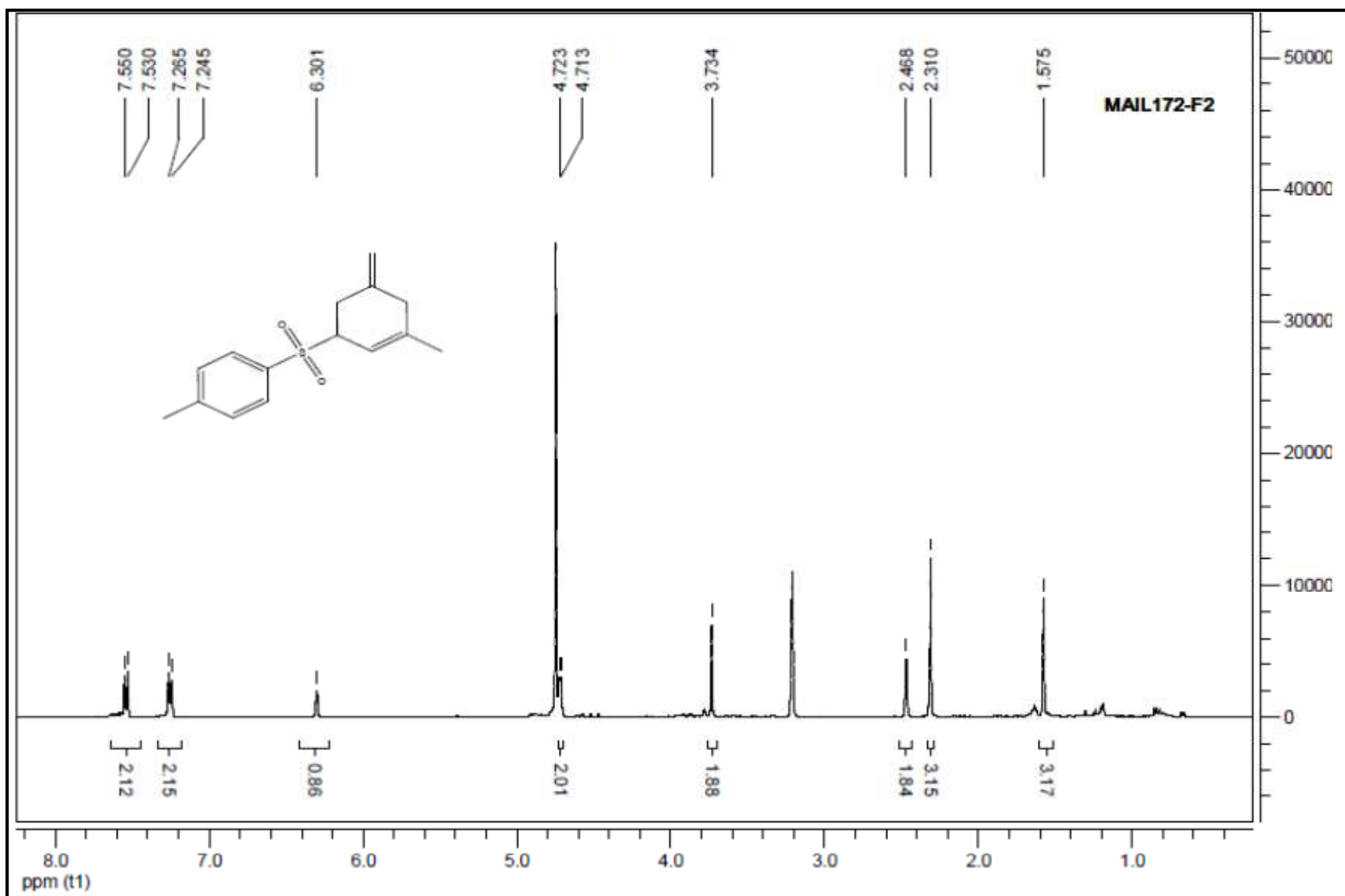


Figure A13: Spectre RMN ^1H du composé 3e: 5-méthyl-3-méthylène-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine (400 MHz, CD_3OD).

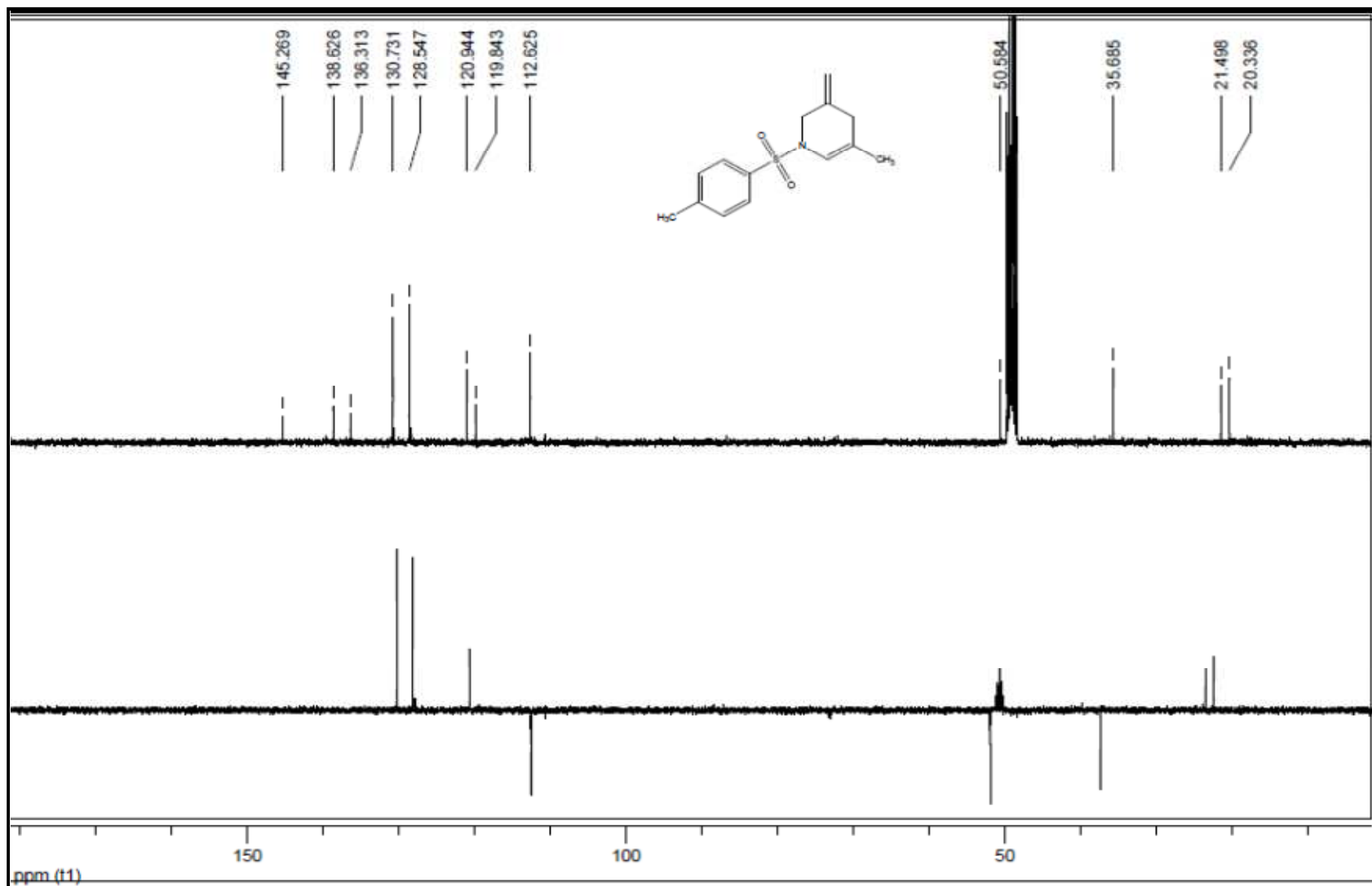


Figure A14: Spectre RMN ^{13}C du composé 3e: 5-méthyl-3-méthylène-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine (100 MHz, CD_3OD).

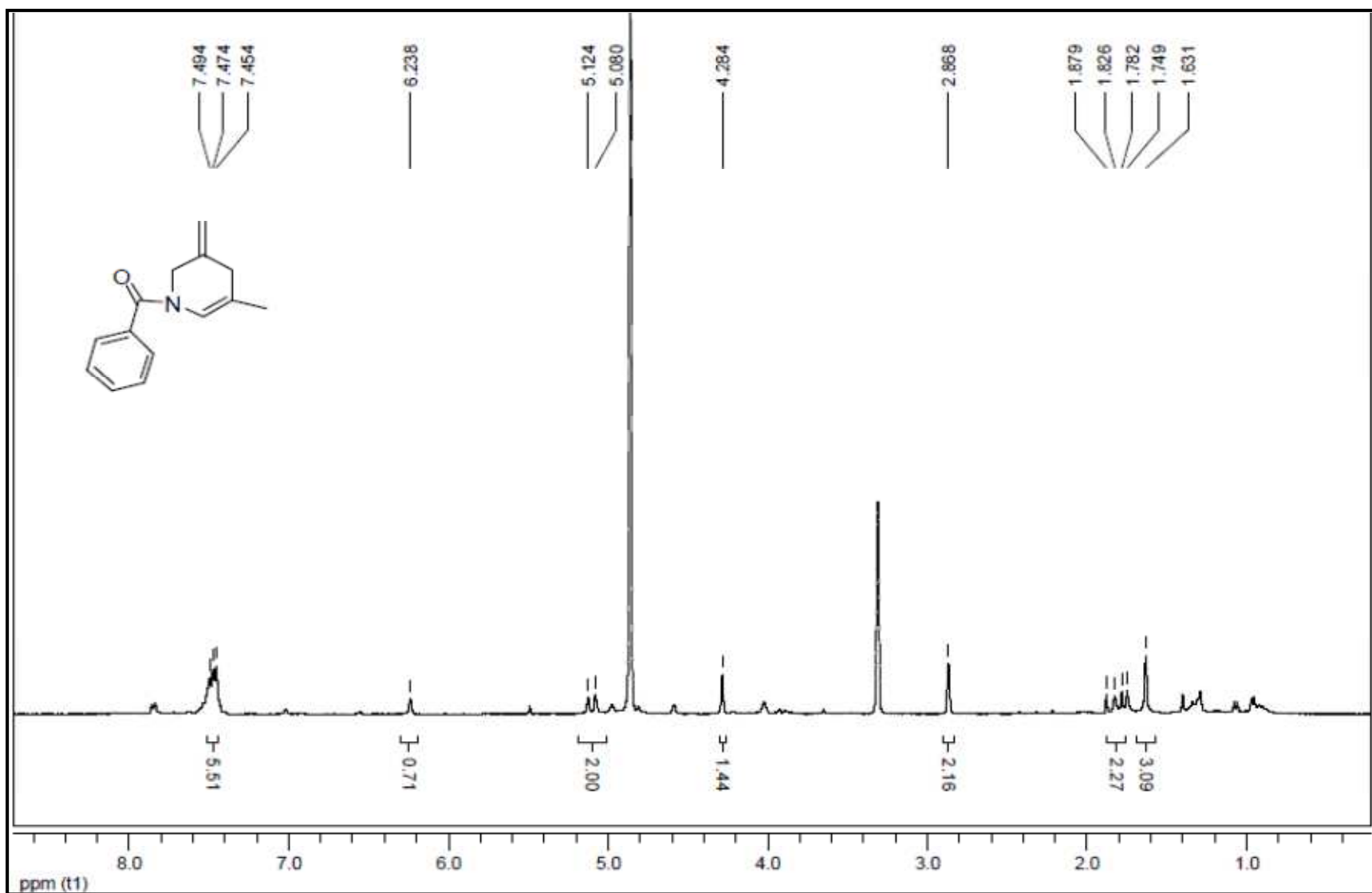


Figure A15: Spectre RMN ^1H du composé 3f: (5-methyl-3-methylene-3,4-dihydropyridin-1(2H)-yl)(phenyl)methanone (400MHz, CD_3OD).

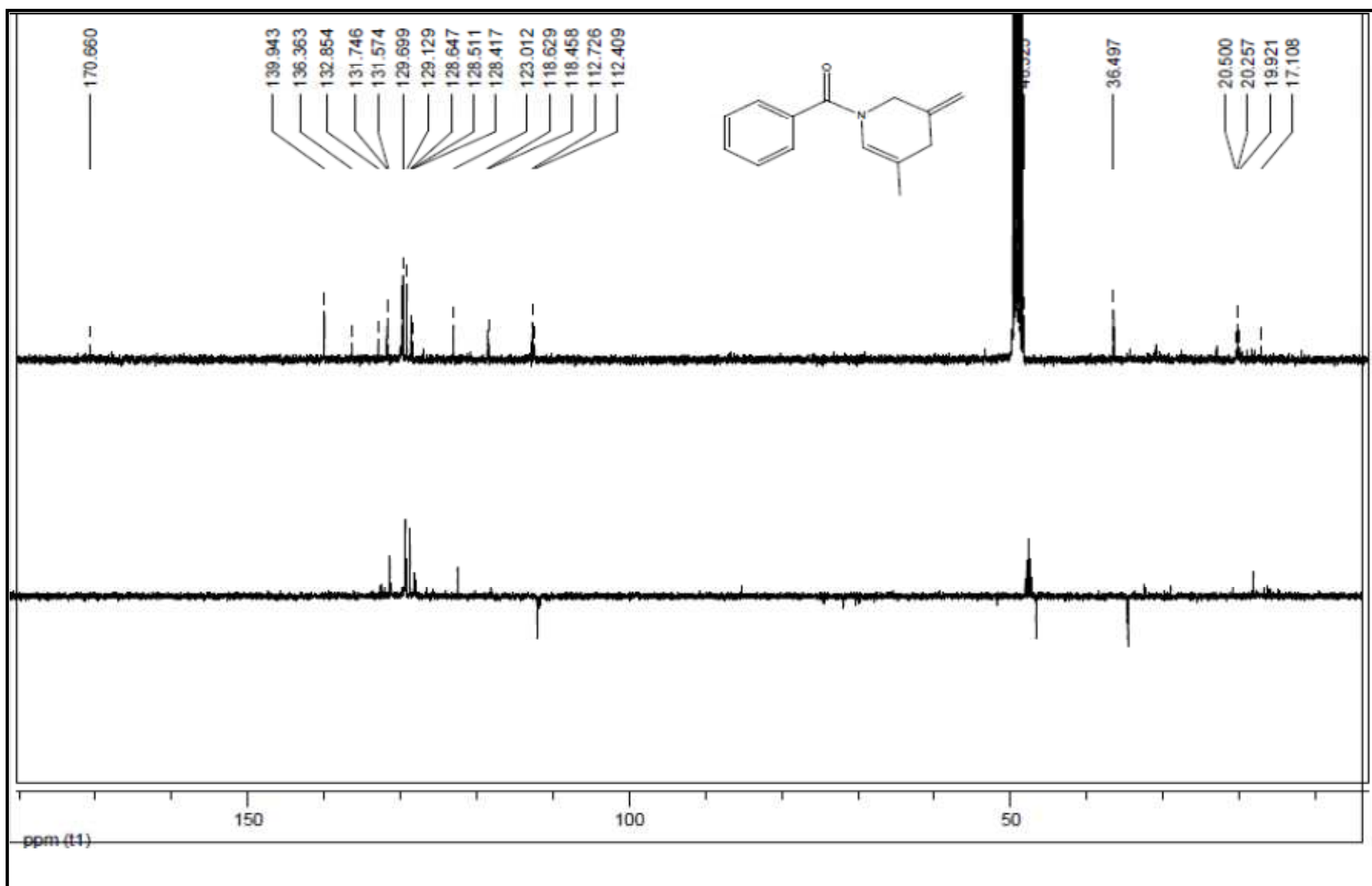


Figure A16: Spectre RMN ^{13}C du composé 3f: (5-methyl-3-methylene-3,4-dihydropyridin-1(2H)-yl)(phenyl)methanone (100MHz, CD_3OD).

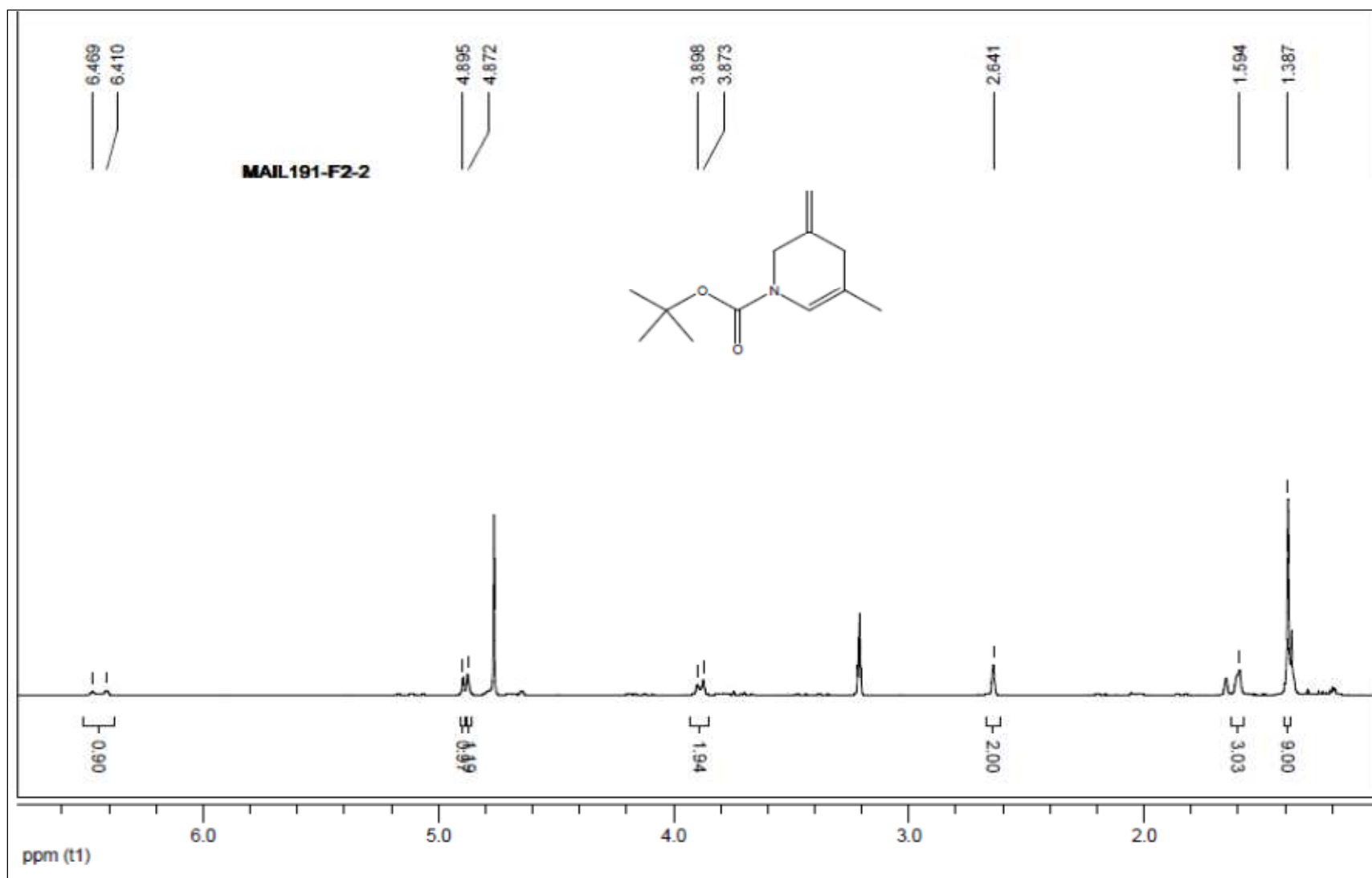


Figure A17: Spectre RMN ^1H du composé 3g: *Tert-butyl 5-methyl-3-méthylène-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate* (400 MHz, CD_3OD).

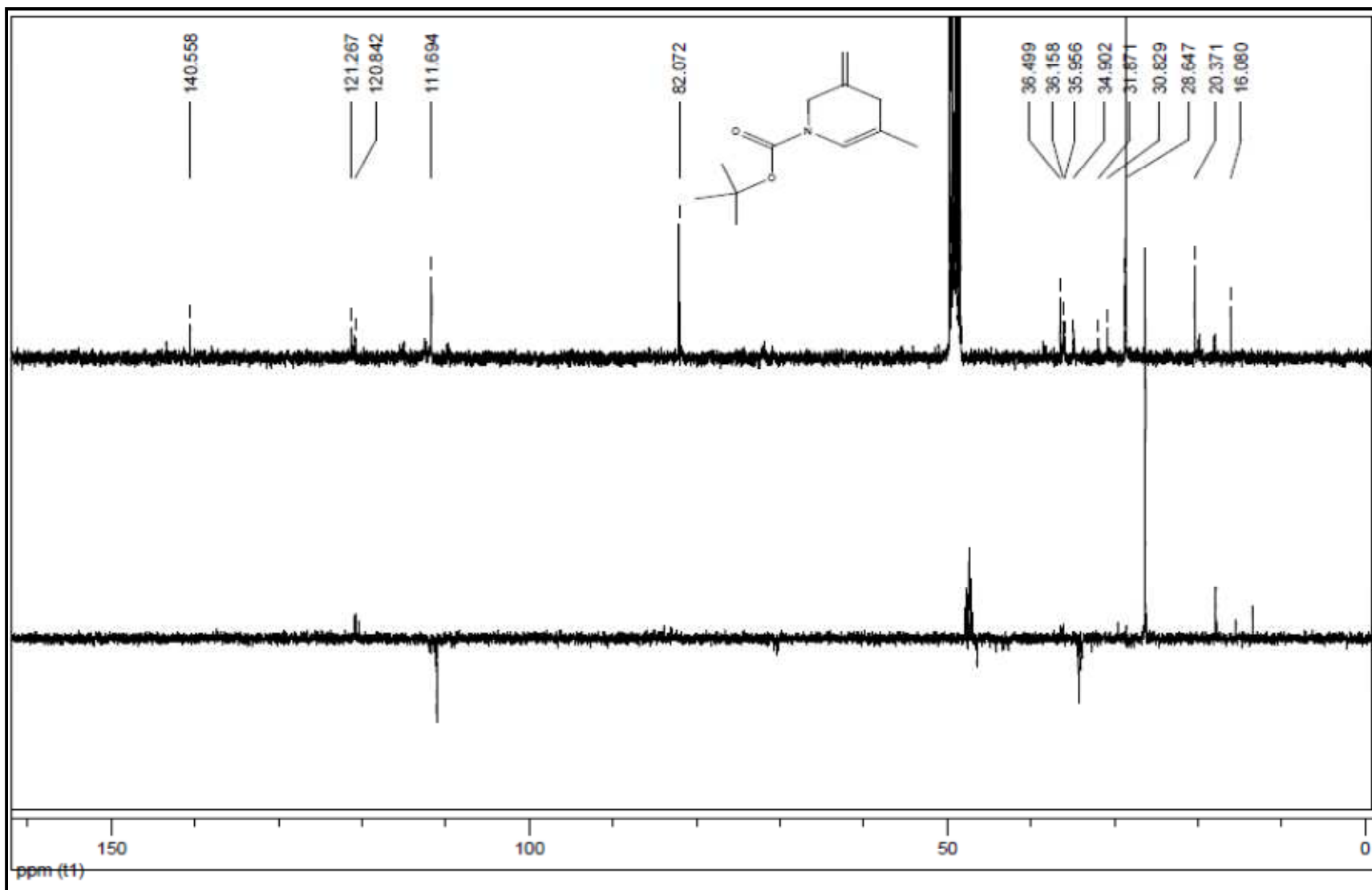


Figure A18: Spectre RMN ^{13}C du composé 3g: *Tert-butyl 5-methyl-3-méthylène-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate* (100 MHz, CD_3OD).

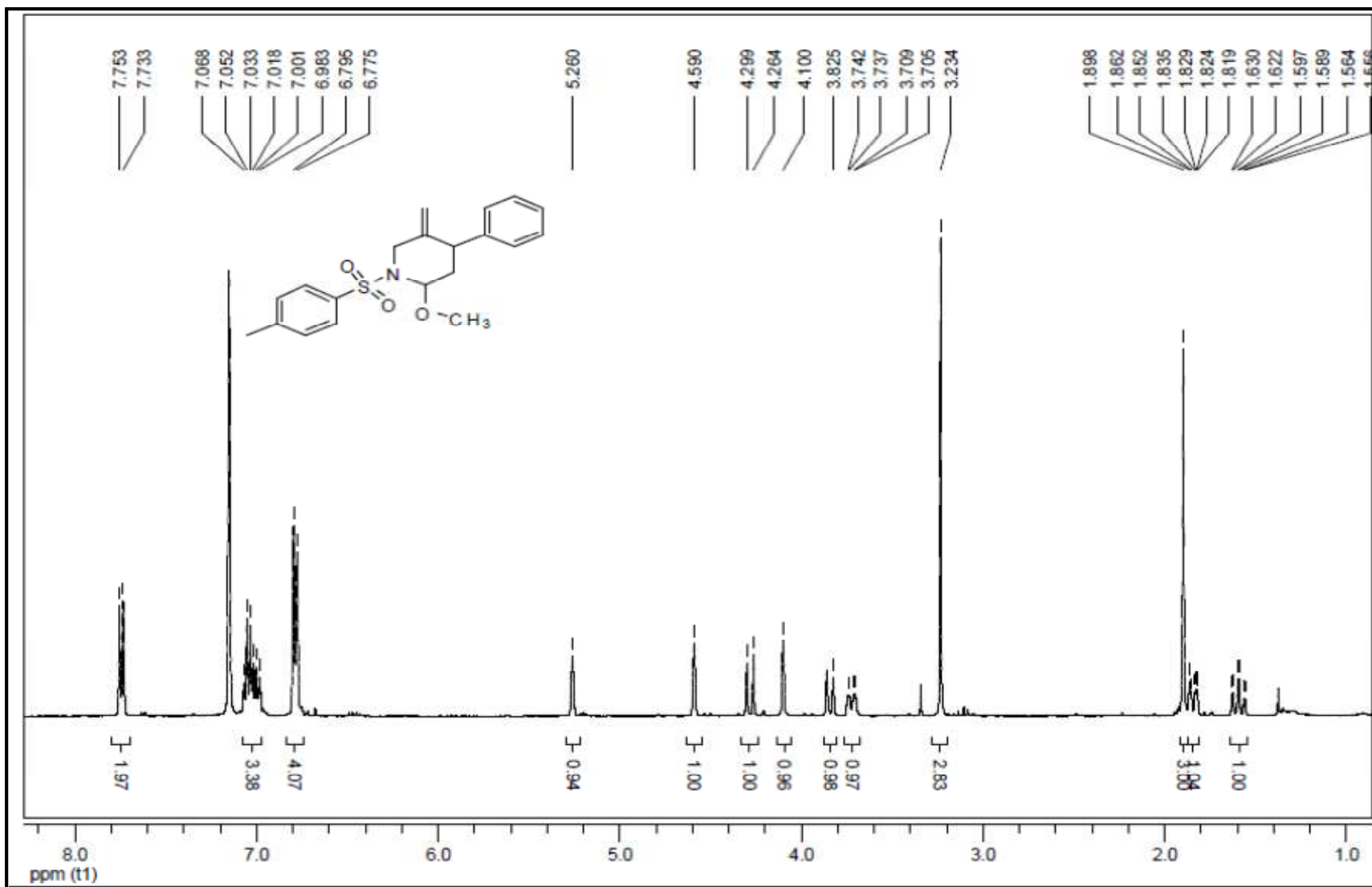


Figure A19: Spectre RMN ^1H du composé 3h: 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-4a tosylpiperidine (400 MHz, C_6D_6)

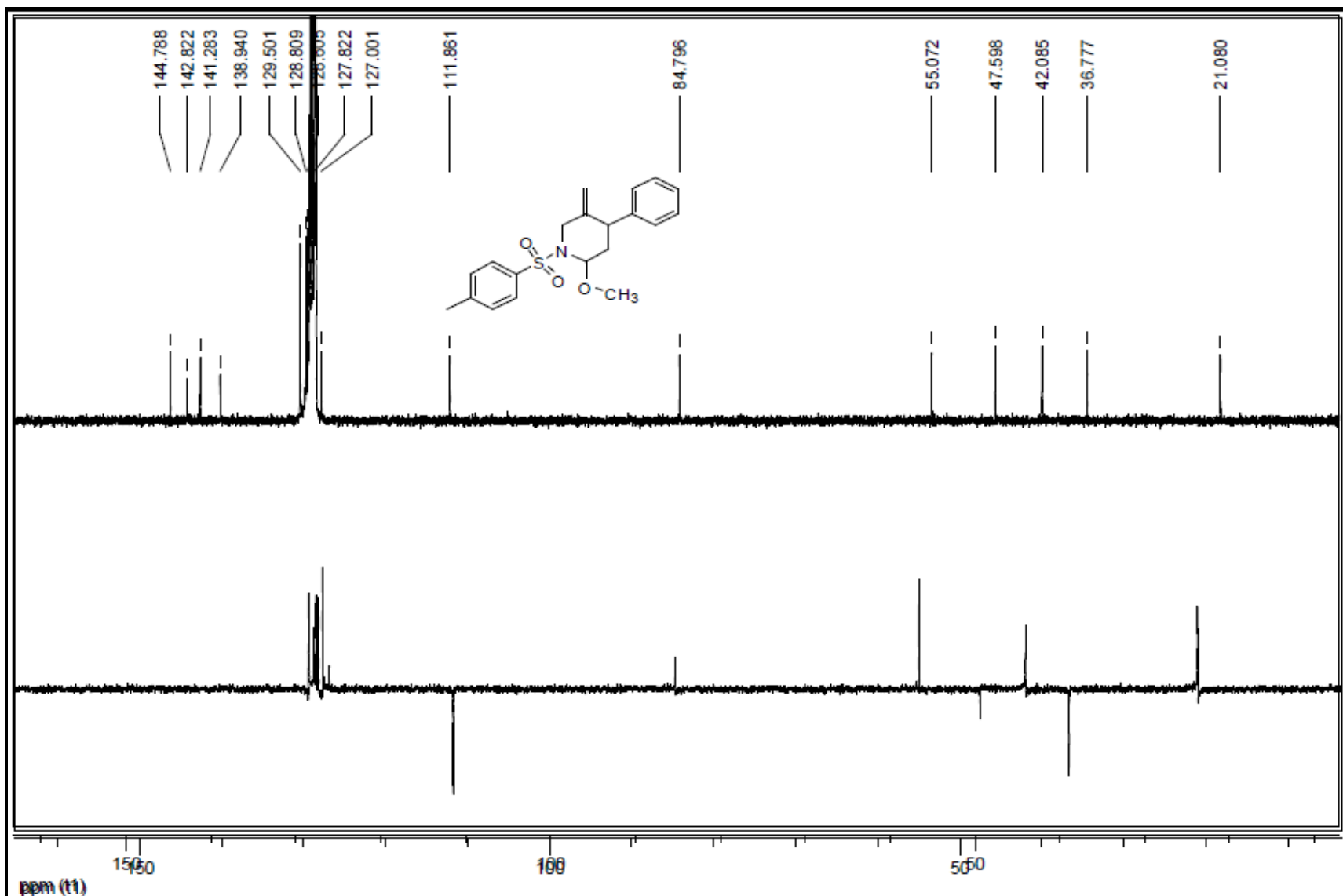


Figure A20: Spectre RMN ^{13}C du composé 3h: 2-méthoxy-5-méthylène-4-phényl-1-4a tosylpiperidine (100 MHz, C_6D_6)

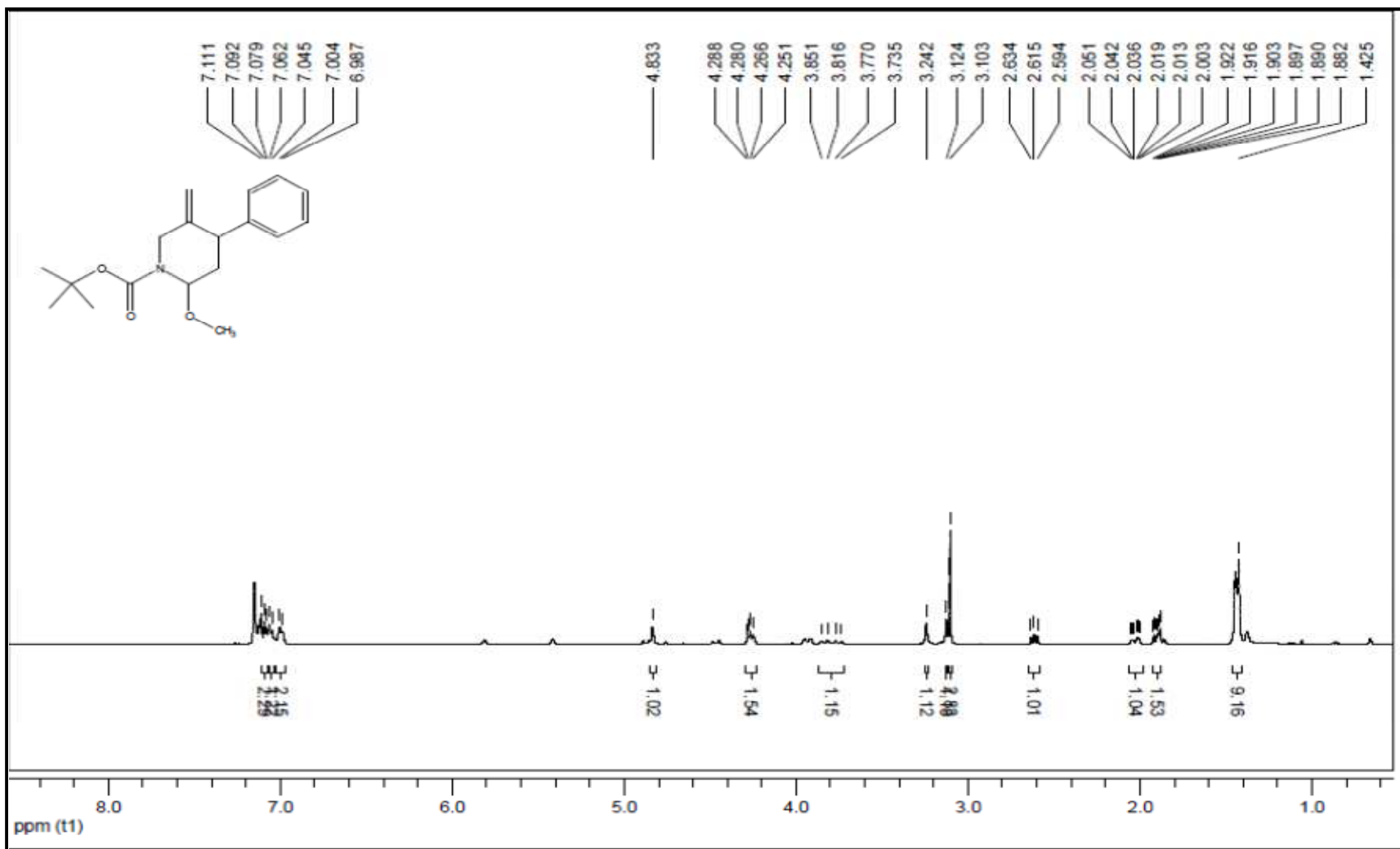


Figure A21: Spectre RMN ^1H du composé 3i: *Tert-butyl 3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1 (2H) -carboxylate* (400 MHz, CD_2Cl_2)

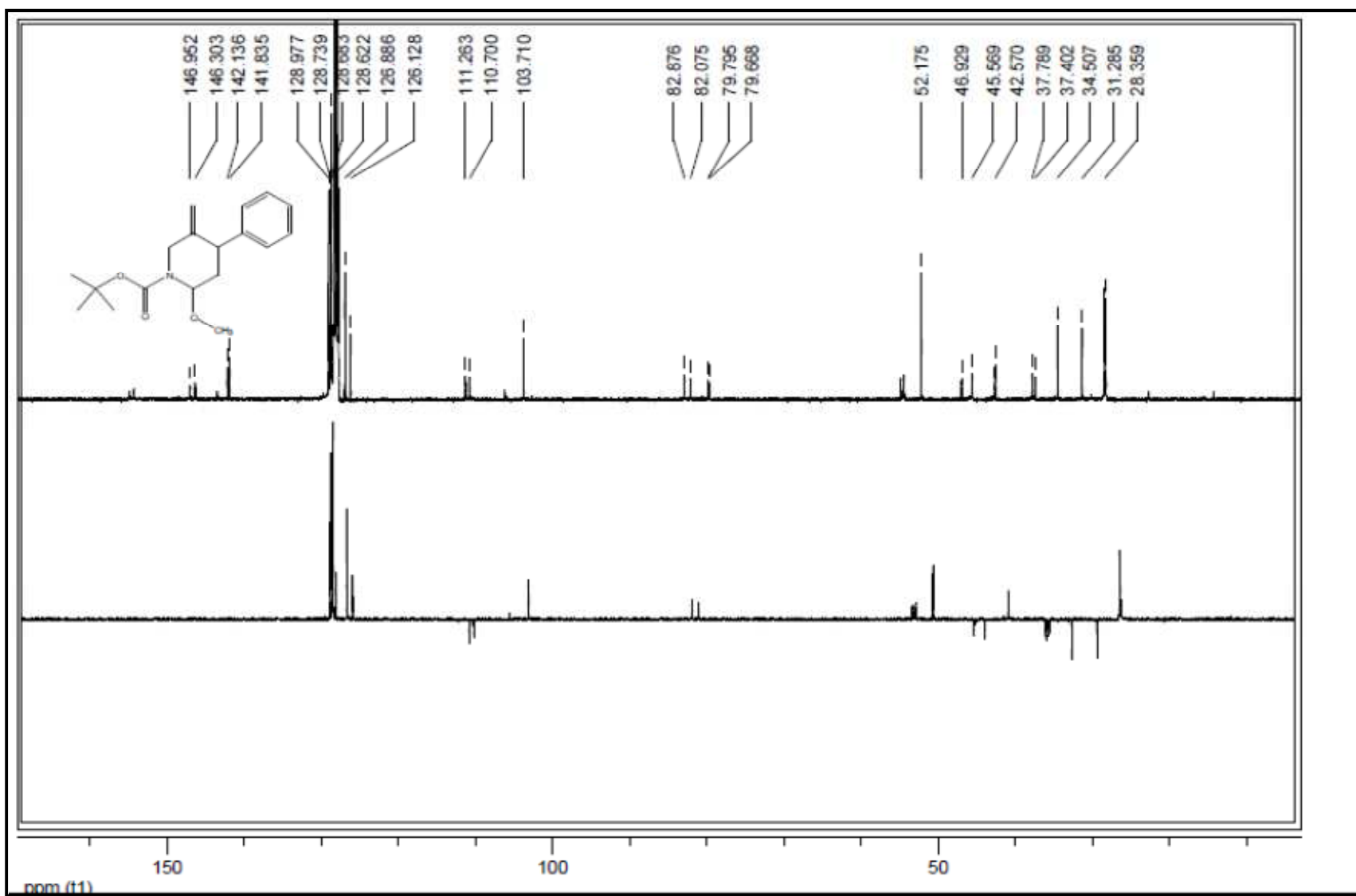


Figure A22: Spectre RMN ^{13}C du composé 3i: *Tert-butyl 3-méthylène-4-phényl-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate* (100 MHz, CD_2Cl_2)

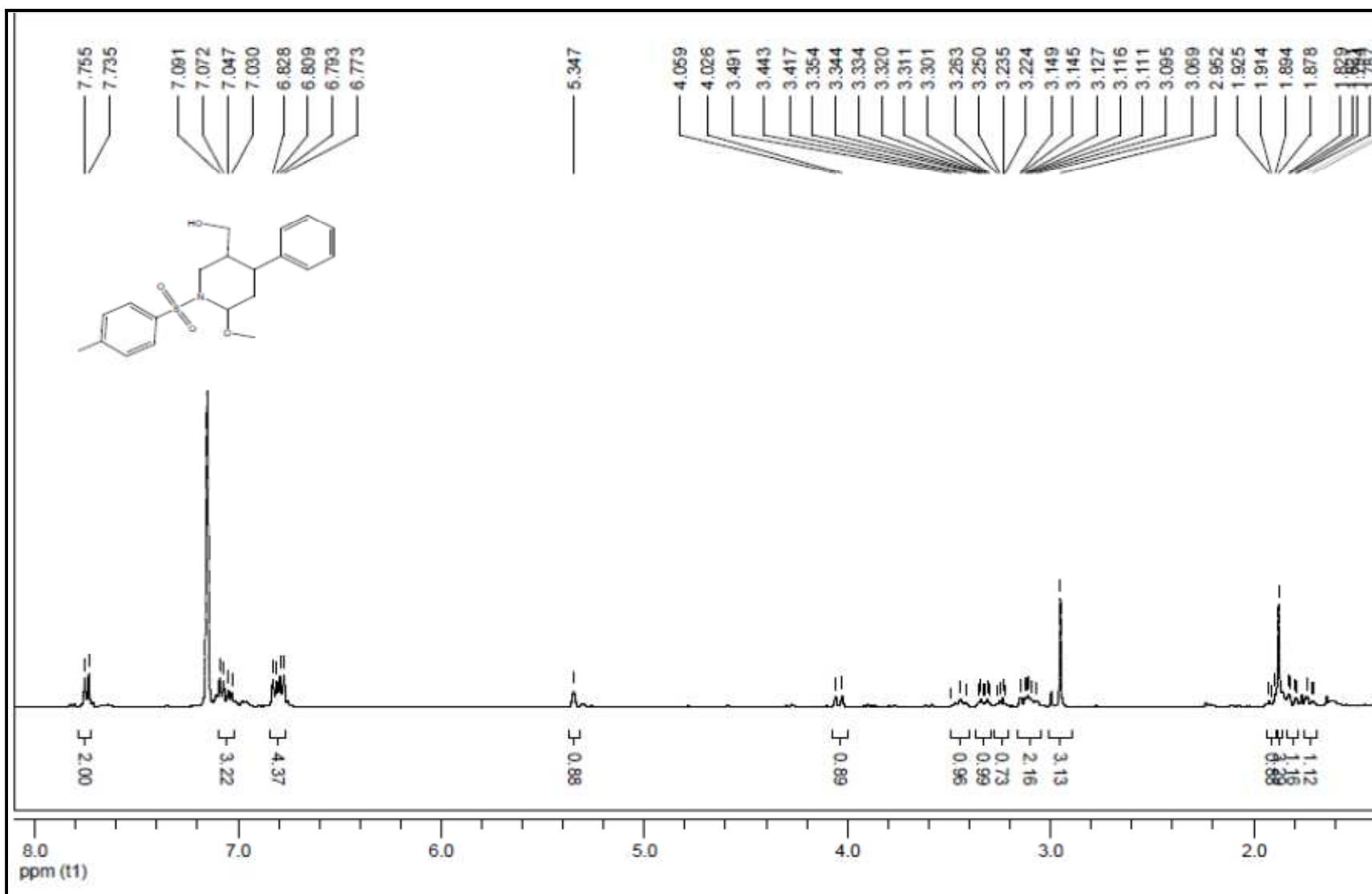


Figure A23: Spectre RMN ¹H du composé 6a: (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl) methanol (400 MHz, CD₂Cl₂)

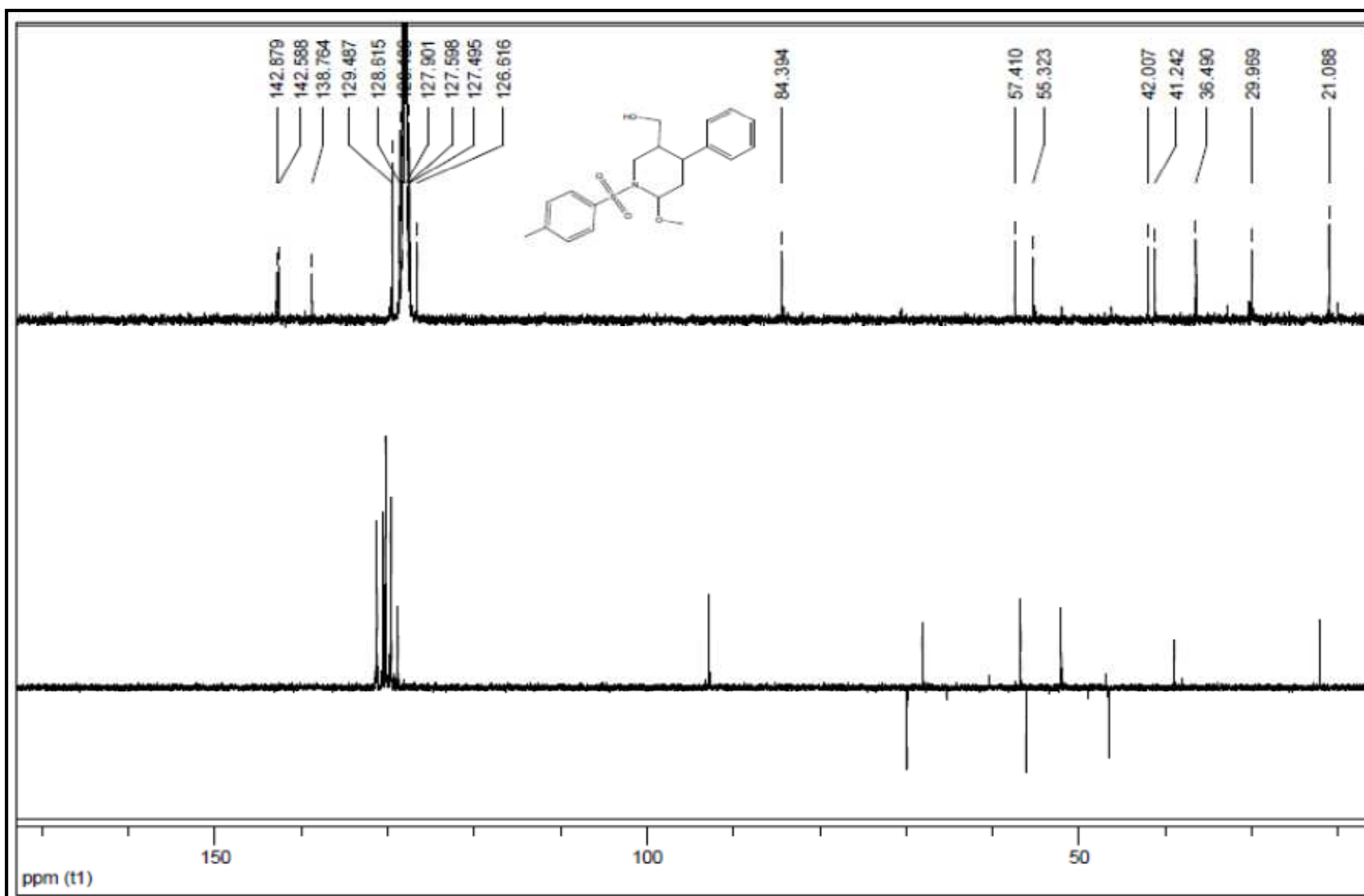


Figure A24: Spectre RMN ^{13}C du composé 6a: (6-méthoxy-4-phényl-1-tosylpiperidin-3-yl) methanol (100 MHz, CD_2Cl_2)

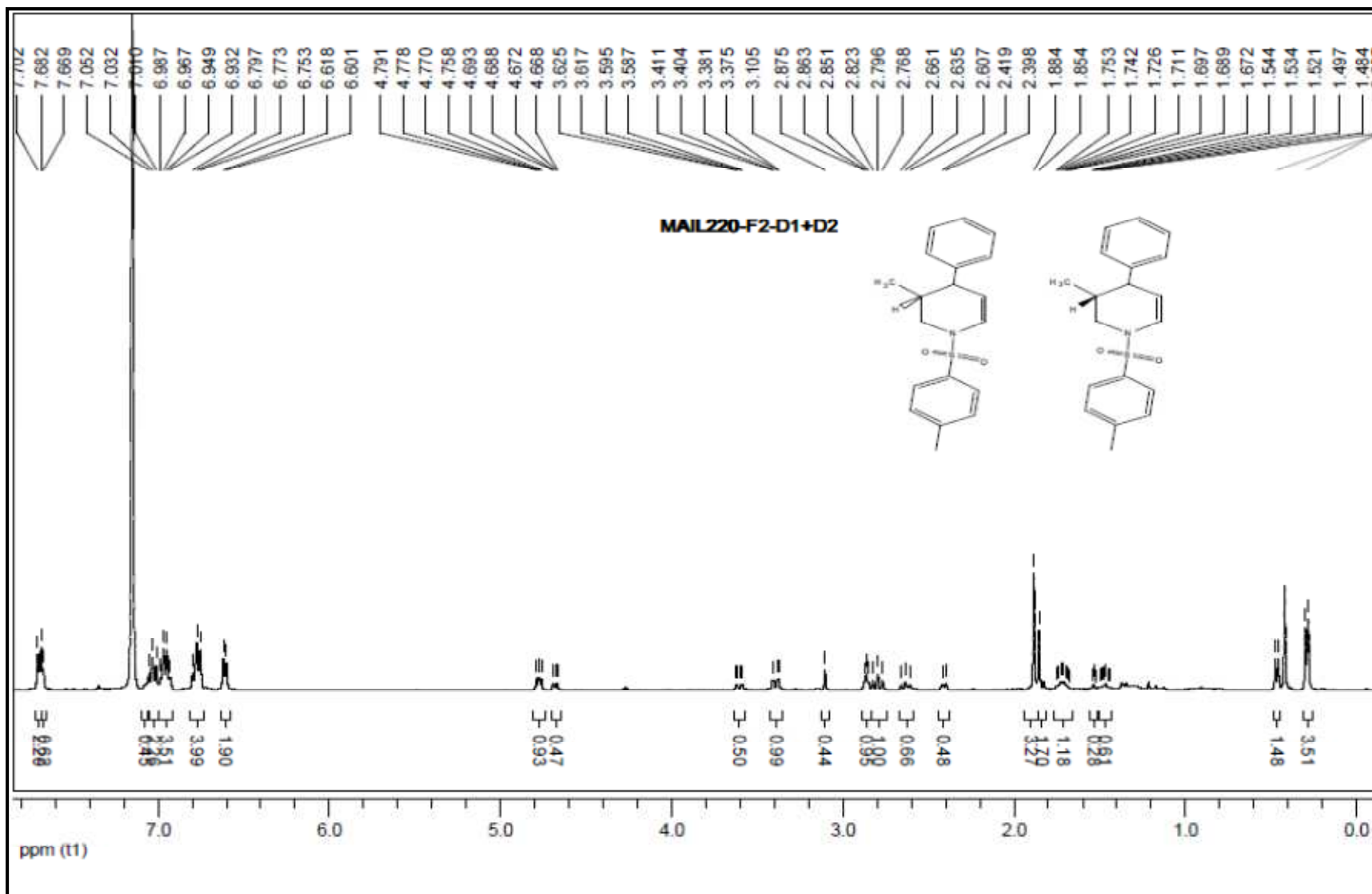


Figure A25: Spectre RMN ¹H du composé 7a: (3R,4S)-3-méthyl-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine (400 MHz, CD₂Cl₂).

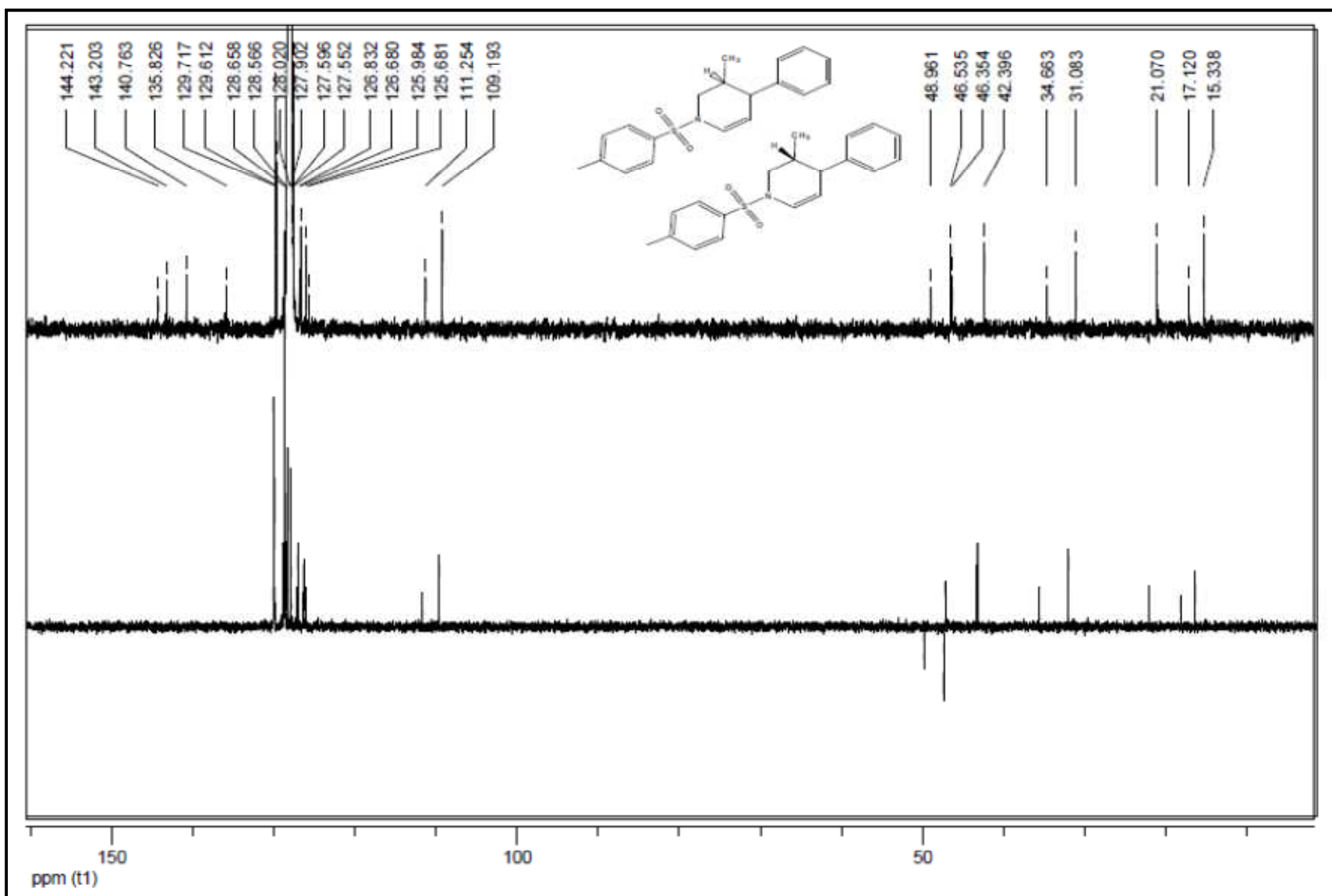


Figure A26: Spectre RMN ^{13}C du composé **7a**: *(3R,4S)*-3-méthyl-4-phényl-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydropyridine (100 MHz, CD_2Cl_2).

PUBLICATIONS

PAPER

CrossMark
click for updatesCite this: *Catal. Sci. Technol.*, 2015, 5, 1650Received 6th October 2014,
Accepted 3rd December 2014

DOI: 10.1039/c4cy01303d

www.rsc.org/catalysis

**[Cp*Ru]-catalyzed selective coupling/
hydrogenation†**I. Labeled,^b A. Labeled,^b Y. Sun,^a F. Jiang,^a M. Achard,^{*a} S. Dérien,^a Z. Kabouche^b
and C. Bruneau^a

Access to 3,4- and 3,5-disubstituted piperidine derivatives has been achieved through [Cp*Ru]-catalyzed intermolecular coupling of allylic alcohols and propargylic amides. Tandem transformation was also possible via chemoselective [Cp*Ru]-catalyzed hydrogenation of the resulting homodienes.

Introduction

In regard to their applications in agrochemicals and pharmaceuticals, functionalized piperidine derivatives represent an important class of alkaloids and new methodologies for the preparation of substituted piperidine derivatives have attracted the attention of many researchers.^{1,2} Traditional approaches for accessing polyfunctionalized piperidines usually involve alkylation, arylation of piperidone derivatives, hydrogenation of substituted pyridines or cycloadditions.^{3–6} Multicomponent cascade transformations constitute new straightforward protocols for the syntheses of polysubstituted piperidines.⁶ Recently, direct functionalization of piperidines has emerged as an excellent alternative to the aforementioned methodologies. Among the latter, neutral redox processes involving the formation of transient azomethine ylides from aldehydes and amines have been efficiently used for the preparation of 2- and 2,3-(di)substituted piperidines.^{2f,7} The preparation of cyclic enamines or enamides containing reactive carbons at the α and β positions towards nucleophiles and electrophiles, respectively, constitutes another important approach for the preparation of 2,3-disubstituted piperidines.⁸ On the other hand, the use of transition metal complexes has gained increasing importance due to their ability to construct valuable N-heterocycles. Hydrogen borrowing or hydrogen autotransfer processes have been efficiently applied to the preparation of piperidine derivatives from primary amines and 1,5-pentanediois.^{2a,b,e,9} This methodology also allows post-functionalization of cyclic amines at the 2- or 3-position through metal-catalyzed redox processes.¹⁰

Cross Dehydrogenative Coupling (CDC) involving the formation of electrophilic iminium ions *via* oxidative processes has found broad application in α -functionalization of amines.¹¹ Metal-catalyzed C–H functionalization of cyclic enamide derivatives proved to be a powerful tool to synthesize substituted piperidines.¹² Direct functionalization of saturated piperidines represents another interesting approach for either α - or β -substituted piperidines.¹³ Among the polysubstituted piperidines, 4-phenylpiperidine derivatives such as paroxetine, femoxetine, piconadol, pethidine, terikalant, haloperidol and related structures have found broad applications as they possess antidepressant, antipsychotic and other related biological properties (Fig. 1).^{4b,14–18} However, straightforward access to 4-phenylpiperidine derivatives through transition metal catalysis remains scarce.¹⁹

Recently, we reported that [Cp*Ru]-based catalysts can be judiciously employed in regioselective oxidative coupling between propargylic amines and aliphatic allylic alcohols to offer straightforward access to dehydropiperidine derivatives.²⁰ Taking advantage of this methodology by substrate scope broadening, we now disclose that $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{PF}_6\}$ catalyzed the chemoselective semi-hydrogenation of the resulting homodienes allowing the development of tandem transformation.

Results and discussion

Various cyclic enamides **3f–3j** were previously prepared from the corresponding linear aliphatic allylic alcohols with propargylic amides **2** through ruthenium-catalyzed

^a UMR6226 CNRS, Institut des Sciences Chimiques de Rennes, Université de Rennes 1, OMC: Organometallics: Materials and Catalysis, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France. E-mail: mathieu.achard@univ-rennes1.fr; Fax: +33 223236939

^b University of Constantine 1, Department of Chemistry, Laboratory of Therapeutic Substances Obtention (LOST), Chaabet Ersas Campus, 25000 Constantine, Algeria. E-mail: zkabouche@yahoo.com; Fax: +213 31811100

† CCDC 1014288. For crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c4cy01303d

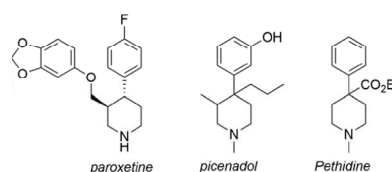
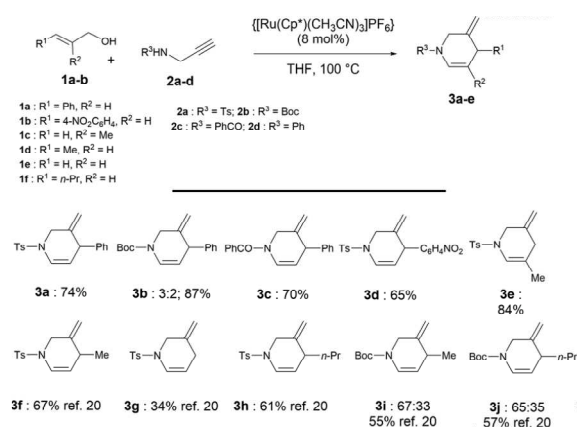


Fig. 1 Representative examples of 4-phenylpiperidines.

coupling.²⁰ However, during the coupling of cinnamyl alcohol **1a** and propargylic sulphonamide **2a** in the presence of a catalytic amount of $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{PF}_6\}$, results demonstrate the crucial importance of the substituents on the allylic alcohol in the reaction efficiency and side isomerization (Scheme 1).

Our previously reported procedure involving the slow addition of the protected propargylic amines **2a** and **2b** was found to be unsuitable highlighting the faster isomerization of **1a** to 3-phenylpropanal than the expected coupling (3f–3j, Scheme 1).²⁰ Therefore, after initial screening of solvents, THF and DCE were found to be suitable for the transformation. Temperature exerted a strong influence on conversion and the formation of **3a** was not observed with reaction temperature below 60 °C (Table 1, entry 7). Increasing the amount of alcohol **1a** highlighted the side formation of undesired hemiaminal ethers presumably resulting from the nucleophilic attack of the alcohol on the cyclic enamide and



Scheme 1 Access to the 3,4- and 3,5-disubstituted enamides **3**.

Table 1 Synthesis of 3-methylidene-4-phenyl disubstituted enamide **3a**^a

Entry	Ratio 1/2	T (°C)	Conversion ^b
1	5/1	80	35
2	2.5/1	80	39
3	2/1	80	41
4	1.5/1	80	48
5	1/1	80	54
6	1/2	80	42
7	1.2/1	60	0
8	1.2/1	100	72
9	1.2/1	125	58
10 ^c	1.2/1	100	95(74)

^a All reactions were carried out in THF for 15 h under an inert atmosphere of argon with **2a**/[Ru] in a 1/0.05 molar ratio. ^b Conversion determined by GC. The number in parentheses is the isolated yield after purification. ^c Reactions were carried out in THF for 15 h under an inert atmosphere of argon with **2a**/[Ru] in a 1/0.08 molar ratio.

the side formation of an aldehyde arising from the isomerisation of the allylic alcohol **1a** (entries 1 to 4). The best ratio of the alcohol, 1.2:1, limited these side reactions. Performing the reaction in a sealed tube at 100 °C afforded up to 72% conversion (entry 8). It is noteworthy that at higher reaction temperatures, above 120 °C, a noticeable amount of *p*-toluene sulphonamide resulting from the depropargylation of **2a** was detected (entry 9). Finally, under the best reaction conditions, the use of higher catalyst loading improved the transformation affording an almost complete conversion and the formation of **3a** in 74% isolated yield after rapid purification by short column chromatography over neutralized silica gel to minimize degradation (entry 10). The importance of nitrogen protecting groups was next investigated with allylic alcohol **1a**. Under our optimized reaction conditions, no reaction took place in the presence of propargylic aniline **2d** presumably due to the stronger coordination of the nitrogen atom to the ruthenium center. To our delight, amide **2c**, sulphonamide **2a** and carbamate **2b** functionalities were found to be suitable leading to the formation of cyclic products **3a–3c** in the 70–87% yield range (Scheme 1). Similarly, 4-nitrocinnamyl alcohol **1b** reacted cleanly with **2a** affording **3d** in 65% isolated yield. In contrast, under similar reaction conditions, 2-substituted allylic alcohols such as methallyl alcohol **1c** were found to be less reactive and required a modified procedure involving a large excess of the methallyl alcohol **1c** (5 equiv.) to observe the formation of the cyclic enamide product **3e**. In these cases, the lower reactivity of the resulting cyclic enamide diminished side hemiaminal ether formation in THF yielding from **2a** the 3,5-disubstituted product **3e** in 84% (Scheme 1). Taken together these results demonstrated that the steric hindrance of the allylic alcohols has a strong impact on the reaction efficiency and linear aliphatic alcohols were found to be more reactive and less sensitive to side reactions in such processes (compounds **3f–3j** in Scheme 1). As previously observed with similar structures, it is noteworthy that performing the reaction in methanol with propargylic amines **2a** and **2b** in the presence of cinnamyl alcohol **1a** cleanly affords the more stable hemiaminal ethers **4a** and **4b** with a 9:1 diastereoisomeric ratio (Scheme 2).^{20,21}

Rationalization of these results was next undertaken. Upon non-reductive elimination/addition, the propargylic amides **2** and allylic alcohols **1** reacted with the cationic $[\text{Cp}^*\text{Ru}]^+$ fragment to form two key intermediates I and II in equilibrium, whereas the presence of a more nucleophilic amine such as propargylic aniline **2d** inhibited the formation



Scheme 2 Preparation of the hemiaminal ethers **4**.

of these proposed key intermediates presumably due to the coordination of the nitrogen atom to the ruthenium centre leading to intermediate **III** (Fig. 2). The coordination of the oxygen atom to the cationic ruthenium fragment thus facilitating the introduction of the allylic alcohol in **I** could also explain the lower activity of the neutral $[\text{Cp}^*\text{Ru}(\text{COD})\text{Cl}]$ in such transformations.²⁰ Oxidative cyclization of **II** gave the cationic ruthenacyclopentene **IV**. The steric interaction between the R^3 group and the Cp^* ligand which reduces the cyclization rate might account for the lower reactivity of methallyl alcohol **1c** during this process.²² Then, intermediate **IV** undergoes β -H elimination with the former allylic proton and the ruthenium affording the hydrido ruthenium(IV) **V**. Reductive elimination from **V** gives back the active cationic $[\text{Cp}^*\text{Ru}]^+$ moiety and generates the intermediate amino aldehyde **VI**, which releases the enamides **3** after intramolecular condensation with elimination of water.

Using methanol as solvent, the presence of an excess of cinnamyl alcohol **1a** led to the side formation of (3,3-dimethoxypropyl)benzene **5**. Interestingly, we found that the complete formation of this acetal was only possible when $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{PF}_6\}$, along with a catalytic amount of **2a**, was used as the catalytic system for this isomerisation-acetalisation sequence (Scheme 3). These last results tend to demonstrate that the generated electrophilic ruthenium species promotes acetal formation and could also play a role in the transformation of intermediate **VI** to enamides **3**.

Considering that the products **3** and **4** feature a methylene group, we next investigated the post-functionalization of these products in a hydroboration-oxidation sequence to access 3-hydroxymethylpiperidine derivatives. The use of hexylborane with **3a** did not afford the expected product.²³ To our delight, performing a similar reaction with $\text{BH}_3:\text{DMS}$ made possible the formation of the expected compound along with a noticeable amount of side products arising from the side reaction of the endocyclic unsaturation. Finally, replacing **3a** with its corresponding hemiaminal ether **4a** afforded **5a** in a 75:19:6 stereoisomeric mixture and 76% isolated yield (Scheme 4).

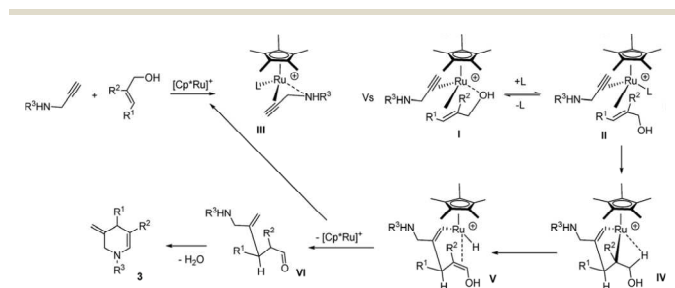
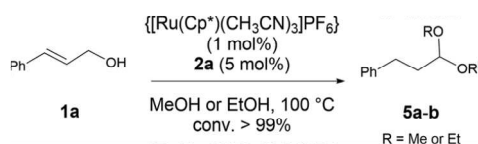
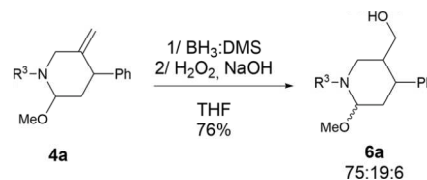


Fig. 2 Postulated mechanism accounting for products **3**.



Scheme 3 $[\text{Ru}]$ -catalyzed acetal formation from allylic alcohols.



Scheme 4 Hydroboration-oxidation of **4a**.

The beneficial presence of C–Me bonds in alkaloids and heterocycles recently highlighted as the “magic methyl effect” has attracted a lot of interest and can contribute to an increase in their biological activities.²⁴ The methylene moiety in products **3** could be therefore selectively reduced to a methyl group keeping intact the endocyclic unsaturation for further post-functionalization. Selective hydrogenation of dienes to alkenes in the presence of $[\text{Cp}^*\text{Ru}]$ -based catalysts has been reported by Driefsen-Hölscher.²⁵ In this study, it was observed that the use of organophosphorus ligands such as tris(hydroxypropyl)phosphane favoured complete hydrogenation of the diene to its corresponding alkane. We investigated the semi-hydrogenation of **3a** using $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{PF}_6\}$ as a precatalyst to further perform the tandem coupling/hydrogenation transformation.²⁶ An initial attempt to hydrogenate **3a** without additives demonstrated that semi-hydrogenation was possible at 120 °C under 45 bar H_2 but side isomerisation of the exo-unsaturation occurred to afford the conjugated diene (Table 2, entry 1).

Recently, Fehr and co-workers at Firmenich showed the beneficial role of Brønsted acids as an additive in preventing isomerisation during hydrogenation of dienes for the synthesis of santalol.²⁷ Thus, a set of sulfonic acid derivatives was evaluated for this transformation (Fig. 3). Gratifyingly, the use of phosphine-sulfonic acids (5 mol%) such as **A** and **B** led to complete conversion and suppressed the side isomerisation affording **7a** in up to 70–75% isolated yields and 70:30 to 80:20 *cis*:*trans* ratios, respectively (entries 2 and 3). The best diastereoselectivity was obtained with additive **B** (entries 3 and 8). However, in these cases a noticeable amount of the fully reduced product **9a** was also observed demonstrating that **A** led to the best chemoselectivity. Importantly, a lower or higher amount of the acidic additive reduced the catalytic activity. The structure of the major diastereoisomer was unequivocally determined by NMR analyses where the high-field ethylenic protons appeared as a set of two doublets of doublets at 4.77 and 4.68 ppm with 5.0 and 2.3 Hz coupling constants with the allylic proton corresponding to the *cis* and *trans* isomers, respectively (Fig. 4). Further confirmation was obtained by selective crystallization of the *cis* isomer **7a** (Fig. 4).²⁸ Interestingly, no degradation occurred during the purification of the enamide **7a** demonstrating its higher stability compared to the homodiene **3a**. Performing the reactions at 110–120 °C in the presence of $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{PF}_6\}$ and **A** showed that under lower H_2 pressure although full conversions were obtained, a slight decrease in the *cis*:*trans* ratio of **7a** was also noticed (entry 4 compared to 7 and entry 2 compared to 5). The conversion was affected by the

Table 2 [Ru(Cp*)]-catalyzed semi-hydrogenation of enamide 3a^a

Entry	P (bar)	T (°C)	Additive (mol%)	Conv. (yield) ^b	7/8/9 ratio ^c	7a <i>cis/trans</i> ratio ^d
1	45	120	None	75	55/35/10	70/30
2	45	120	A (5%)	99 (75)	100/0/0	70/30
3	45	120	B (5%)	99 (70)	80/0/20	80/20
4	35	110	A (5%)	99	100/0/0	70/30
5	25	120	A (5%)	97	95/5/0	65/35
6	60	90	A (5%)	80	100/0/0	75/25
7	65	110	A (5%)	99	100/0/0	75/25
8	65	110	B (5%)	99	90/1/9	80/20
9	50	110	C (5%)	93	84/2/14	80/20

^a All reactions were carried out in a 20 mL reactor using THF for 15 h with 3a/[Ru]/additive in a 1/0.05/0.05 molar ratio. ^b The number in parentheses is the isolated yield of 7a after purification. ^c The ratios of 7/8/9 were determined by GC. ^d The *cis/trans* ratio was determined by GC and ¹H NMR.

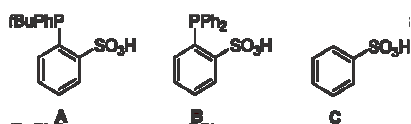
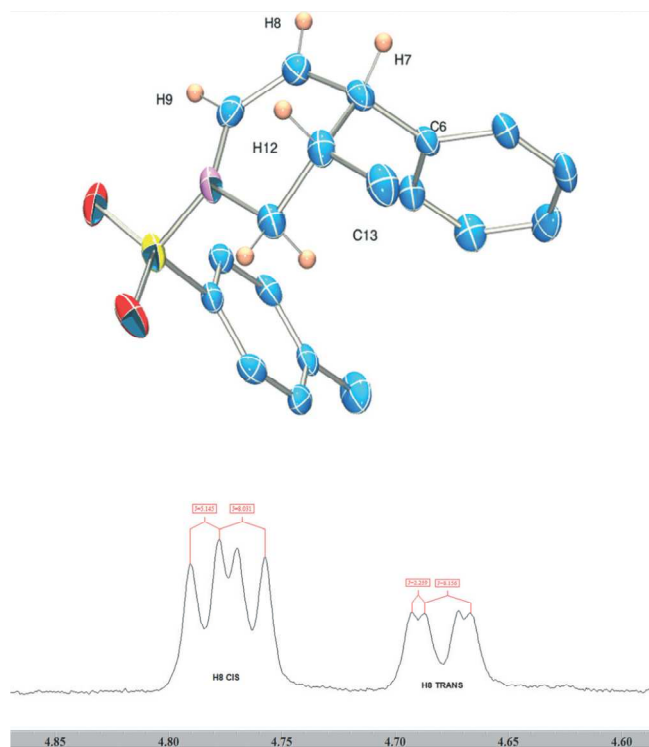


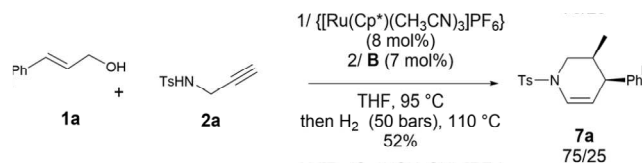
Fig. 3 Additives employed in hydrogenation.

reaction temperature and only 80% was reached at 90 °C under 60 bar molecular hydrogen (entry 6).

At this stage, we wondered if the diastereoselectivities obtained in the presence of A and B arose from the coordination of the phosphine or from simple steric or acidic effects of the additive. Therefore, the use of benzenesulfonic acid C as an additive highlighted a similar diastereoselectivity leading to an 80:20 *cis:trans* ratio but with incomplete conversion, suggesting that with these two phosphine ligands no binding to the metal center of the phosphorus atom seems to occur during the hydrogenation in THF as solvent (entry 9).

Although a detailed mechanism for the ruthenium-catalyzed alkene hydrogenation²⁹ is yet to be established, alkene hydrogenation could occur through consecutive insertion of the coordinated alkene followed by reductive elimination on the cationic hydrido/hydrogen species [Ru(Cp*)H₂]⁺.^{30,31} An ionic process involving protonation by the acidic [Ru(Cp*)(η²-H₂)]⁺ followed by reduction with side generated neutral [Ru(Cp*)H] cannot totally be excluded.³² It should be noted that when the reactions were carried out in the presence of arene ruthenium(II) complexes featuring similar ligands complete reduction of the homodienes was selectively obtained which tends to suggest that the Cp* ligand remains intact under these reaction conditions.²⁰ More important is the influence of the acidic additives on preventing the isomerization processes and on the reaction efficiency. Recently, Grotjahn and coworkers demonstrated that cationic ruthenium(II) species bearing bifunctional ligands play an important role in isomerization through the possible intervention of allylic ruthenium species where the basic nitrogen of the imidazole facilitates η³-allylic formation *via* reversible deprotonation.³³ In contrast, the acidic additives A and B could prevent the formation of such allylic species *via* the prior protonation/oxidative addition mechanism. On the other hand, Nozaki demonstrated that during hydroformylation of alkenes, the [Ru(Cp*)H] species

Fig. 4 X-ray structure of the semi-reduced *cis*-cyclic enamide 7a and representative ethylenic proton signals of the two diastereoisomers.



Scheme 5 Tandem coupling/hydrogenation.

efficiently catalysed the isomerization through reversible insertion.³⁴ Therefore acidic additives might also play a role in the catalytic activity and prevent isomerization by regenerating $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{H}_2]^+$ from neutral $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{H}]$ and dinuclear ($\mu\text{-H}$) monocationic ruthenium(II) species.^{32,35–37}

With these results in hand, we investigated the possibility to perform the tandem process with additive B which afforded better diastereoselectivities. After several attempts, we found that the acidic additive must be added only at the second stage to allow coupling of propargylic amide 2a with cinnamyl alcohol 1a. Importantly, a lower amount of sulfonic acid B was necessary demonstrating partial degradation of the catalyst during the initial coupling, requiring optimization of the reaction conditions to overcome this issue. Thus, initial optimization afforded 7a in 52% isolated yield and a 75/25 diastereoisomeric ratio (Scheme 5).

Conclusions

In conclusion, we demonstrated that the selective oxidative coupling of allylic alcohols and propargylic amines can be extended to cinnamyl alcohol derivatives and 2-substituted allylic alcohols. This methodology allows access to 3,4- and 3,5-disubstituted enamides as valuable scaffolds for the preparation of 3-methylpiperidine derivatives through selective $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)]$ -catalyzed alkene hydrogenation.

Experimental

General considerations

All reactions were carried out under an inert atmosphere with standard Schlenk techniques, unless otherwise mentioned. THF was purified by a solvent purification system equipped with a series of activated filter columns. Benzene sulfonic acid was purchased from commercial sources and used as received. Ligands A and B were prepared according to literature protocols.³⁸ Propargylic amines 2 were prepared according to reported procedures.³⁹ Compounds 3f–3j were already reported in Ref. 20. Proton magnetic resonance (^1H NMR) spectra were recorded on a Bruker 400 MHz spectrometer and carbon magnetic resonance (^{13}C NMR) spectra were measured at 100 MHz. Chemical shifts (δ) are reported in parts per million relative to residual solvent signals (CD_2Cl_2 : 5.32 and 53.84; C_6D_6 : 7.15 and 128.02; CD_3OD : 3.31 and 49.05). Coupling constants are reported in Hertz. ^1H NMR assignment abbreviations are the following: singlet (s), doublet (d), triplet (t), quartet (q), pentet (p), broad singlet (bs), doublet of doublets (dd), doublet of triplets (dt), and multiplet (m).

All reagents were weighed and handled in air and refilled with an inert atmosphere of argon at room temperature to prevent oxidation. HRMS were recorded on a Waters Q-ToF 2 with an ESI source.

General procedure for the preparation of the enamides 3–4

To a dried pressure tube under an inert atmosphere, propargylic amine 2 (0.239 mmol, 1 eq) and allylic alcohol substrate 1 (1.2 eq) were dissolved in THF or methanol (0.5 to 1 mL) followed by the addition of $\{[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{PF}_6\}$ (5 mol% (MeOH) or 8 mol% (THF)). The resulting solution was stirred at 100 °C for 15 h. Reaction completion was monitored using GC, GC-MS and TLC techniques. After concentration *in vacuo*, the crude mixture was purified by short column chromatography over dried deactivated silica gel.

3-Methylene-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine 3a. Prepared from *N*-tosyl propargylamine 2a (50 mg, 0.239 mmol) and cinnamyl alcohol 1a (0.288 mmol, 1.2 eq.) in THF (0.5 mL). Chromatography on silica gel using PE/Et₂O (80:20) as the eluent afforded compound 3a as a yellow oil, 58 mg (74%), ^1H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.69 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.36 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.20–7.15 (m, 3H), 6.98–6.95 (m, 2H), 6.84 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.10 (dd, J = 4.4, 8.0 Hz, 1H), 4.90 (bs, 1H), 4.81 (bs, 1H), 3.96 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 3.93 (bs, 1H), 3.67 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 2.45 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_2Cl_2) δ 144.6, 142.8, 141.4, 134.8, 130.1, 128.6, 128.2, 127.7, 127.0, 126.5, 113.7, 110.7, 48.3, 45.4, 21.7; HRMS calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{NaS} [\text{M} + \text{Na}]^+$ 348.10342, found 348.1035 (0 ppm).

tert-Butyl-3-methylene-4-phenyl-3,4-dihydropyridine-1(2H)-carboxylate 3b. Prepared from *N*-Boc propargylamine 2b (50 mg, 0.322 mmol) and cinnamyl alcohol 1a (1.2 eq., 0.376 mmol) in THF (0.7 mL). Chromatography on silica gel using PE/Et₂O (70:30) as the eluent afforded compound 3b as a colourless oil and a mixture of isomers in a 3:2 ratio due to the Boc protecting group, 76 mg (87%), ^1H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.32–7.22 (m, 5H), 7.09–6.97 (2bs, 1H), 5.06–4.88 (m, 3H), 4.20–4.11 (m, 1H), 4.08 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 3.86 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 1.50 (bs, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_2Cl_2) δ 152.5 (I1, C=O) 152.1 (I2, C=O), 148.0, 147.8, 143.6, 143.5, 128.7, 128.3, 126.9, 125.1, 112.6 (I1, =CH₂), 112.5 (I2, =CH₂), 106.4, 106.1, 81.25, 47.4, 46.3, 45.8, 45.7, 28.4; GC-MS m/z (%): 271 (M^+ , 1%), 215, 200, 170, 142.

(3-Methylene-4-phenyl-3,4-dihydropyridin-1(2H)-yl)(phenyl)methanone 3c. Prepared from *N*-(prop-2-ynyl)benzamide 2c (50 mg, 0.314 mmol) and cinnamyl alcohol 1a (1.2 eq., 0.41 mmol) in THF (0.6 mL). Chromatography on silica gel using PE/Et₂O (70:30) as the eluent afforded compound 3c as a colourless oil, 61 mg (70%), ^1H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.52–7.43 (m, 5H), 7.35–7.23 (m, 5H), 6.73–6.70 (m, 1H), 5.16–5.14 (m, 1H), 5.00–4.93 (m, 2H), 4.48 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 4.18–4.16 (m, 1H), 4.11 (d, J = 13.4 Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 171.0, 144.0, 143.7, 135.9, 131.9, 129.8, 129.6, 129.2, 129.1, 128.8, 127.9, 114.0, 111.3, 47.3, 47.0; HRMS calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NONa} [\text{M} + \text{Na}]^+$ 298.12078, found 298.1207 (0 ppm).

3-Methylene-4-(4-nitrophenyl)-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine 3d. Prepared from *N*-tosyl propargylamine 2a (50 mg, 0.239 mmol)

and 4-nitrocinnamyl alcohol **1a** (1.2 eq., 0.286 mmol) in THF (0.5 mL). Chromatography on silica gel using PE/Et₂O (50 : 50) as the eluent afforded compound **3d** as a colourless oil, 57 mg (65%), ¹H NMR (400 MHz, C₆D₆) δ 7.65 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.58 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.90 (dd, *J* = 1.6, 8.1 Hz, 1H), 6.72 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.42 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.49 (bs, 1H), 4.47 (dd, *J* = 4.4, 8.1 Hz, 1H), 4.30 (bs, 1H), 3.80 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 3.50 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 3.30 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 1.88 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, C₆D₆) δ 149.3, 147.1, 143.8, 140.0, 135.4, 129.7, 128.6, 128.1, 127.6, 123.4, 114.0, 107.9, 47.9, 44.7, 21.0; HRMS calcd. for C₁₉H₁₈N₂NaO₄S [M + Na]⁺ 393.0885, found 393.0884 (0 ppm).

5-Methyl-3-methylene-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine 3e. Prepared from *N*-tosyl propargylamine **2a** (50 mg, 0.239 mmol) and 2-methylprop-2-en-1-ol **1c** (5 eq., 1.19 mmol) in THF (1 mL). Chromatography on silica gel using DCM/PE/Et₂O (80 : 10 : 10) as the eluent afforded compound **3e** as a colourless oil, 53 mg (84%), ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.64 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.40 (bs, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 3.83 (s, 2H), 2.56 (s, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.67 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 145.2, 138.5, 136.2, 130.6, 128.5, 120.8, 119.8, 112.5, 50.5, 35.6, 21.4, 20.3; HRMS calcd. for C₁₄H₁₇NO₂NaS [M + Na]⁺ 286.0877, found 286.0876 (1 ppm).

2-Methoxy-5-methylene-4-phenyl-1-tosylpiperidine 4a. Prepared from *N*-tosyl propargylamine **2a** (50 mg, 0.239 mmol) and cinnamyl alcohol **1a** (1.2 eq., 0.288 mmol) in MeOH (0.5 mL). Chromatography on silica gel using PE/Et₂O (70 : 30) as the eluent afforded compound **4a** as a yellow oil in a 93/7 diastereoisomeric mixture, 70 mg (82%), ¹H NMR (400 MHz, C₆D₆) δ 7.74 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.06–6.98 (m, 3H), 6.79–6.77 (m, 4H), 5.26 (t, *J* = 0.5 Hz, 1H), 4.59 (bs, 1H), 4.27 (d, *J* = 14.3 Hz, 1H), 4.10 (bs, 1H), 3.84 (d, *J* = 14.3 Hz, 1H), 3.74–3.70 (m, 1H), 3.23 (s, 3H), 1.89 (s, 3H), 1.84 (ddd, *J* = 2.0, 4.1, 13.2 Hz, 1H), 1.59 (dt, *J* = 3.2, 13.1 Hz, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, C₆D₆) δ 134.8, 142.8, 141.3, 138.9, 129.5, 128.8, 128.6, 127.8, 127.0, 111.8, 84.8, 55.0, 47.6, 42.0, 36.7, 21.0; HRMS calcd. for C₂₀H₂₃NO₃NaS [M + Na]⁺ 380.12964, found 380.1289 (1 ppm).

tert-Butyl-2-methoxy-5-methylene-4-phenylpiperidine-1-carboxylate 4b. Prepared from *N*-Boc propargylamine **2b** (50 mg, 0.322 mmol) and cinnamyl alcohol **1a** (1.2 eq., 0.387 mmol) in MeOH (0.6 mL). Chromatography on silica gel using PE/Et₂O (70 : 30) as the eluent afforded compound **4b** as a colourless oil, 62 mg (64%), as two isomers due to the Boc protecting group (63/37 ratio) in a 90/10 diastereoisomeric ratio. ¹H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂) δ 7.32 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.24 (td, *J* = 7.2, 1.1 Hz, 1H), 7.19 (brd, *J* = 7.2 Hz, 2H), 5.55 (bs, 0.4 H), 5.44 (bs, 0.6H), 4.93–4.87 (m, 1H), 4.47 (d, *J* = 14.0 Hz, 0.6H), 4.35–4.32 (m, 0.4H), 4.13 (bs, 1H), 3.80 (dd, *J* = 14.0, 4.0 Hz, 1H), 3.74 (d, *J* = 14.0 Hz, 0.4H), 3.64 (d, *J* = 14.0 Hz, 0.6H), 3.30 (s, 2.6H), 3.28 (s, 0.4H), 1.48 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₂Cl₂) δ 155.0, 154.6, 147.2, 146.9, 142.9, 141.9, 129.0, 128.8, 128.7, 128.6, 127.0, 126.8, 110.8, 110.6, 82.9, 81.9, 80.5, 80.2, 54.9, 54.8, 46.8, 45.3, 43.0, 42.5, 37.8, 37.5, 28.5, 28.4; HRMS calcd. for C₁₈H₂₅NO₃NaS ([M + Na]⁺) 326.17321, found 326.1728 (0 ppm).

General procedure for the preparation of the acetals 5

To a dried pressure tube under an inert atmosphere, propargylic amine **2a** (5 mol%) and {[Ru(Cp*)(CH₃CN)₃]PF₆} (1 mol%) were dissolved in methanol or ethanol (1 mL) followed by the addition of cinnamyl alcohol **1a** (1.0 eq.). The resulting solution was stirred at 100 °C overnight. After concentration *in vacuo*, the crude mixture was purified by short column chromatography to afford the acetal **5** as the product.

(3,3-Dimethoxypropyl)benzene 5a (ref. 40). Prepared from cinnamyl alcohol **1a** (50 mg, 0.239 mmol) and MeOH (1 mL). Filtration on silica gel using PE/Et₂O (80 : 20) as the eluent afforded compound **5a** in 90% yield. ¹H NMR (400 MHz, C₆D₆) δ 7.12–6.98 (m, 5H), 4.18 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.15 (s, 6H), 2.48 (t, *J* = 8.15 Hz, 2H), 1.74–1.69 (m, 2H).

(6-Methoxy-4-phenyl-1-tosylpiperidin-3-yl)methanol 6a. BH₃ : DMS (*C* = 1 M, 0.3 mL) was slowly added to a solution containing 2-methoxy-5-methylene-4-phenyl-1-tosylpiperidine **4a** (30 mg, 0.08 mmol) in THF (0.5 mL) at 0 °C and the resulting mixture was stirred for 2 hours. H₂O₂ (30%, 0.08 mL) and NaOH (3 N, 0.08 mL) were sequentially added and stirring was maintained for 3 h at room temperature. Extraction with H₂O and CH₂Cl₂ × 3 followed by drying over sodium sulfate and concentration afforded a crude oil which was further purified by chromatography on silica gel using PE/Et₂O (80 : 20) as the eluent to afford compound **6a** as a yellow oil (24 mg, 76%) in a 75 : 19 : 6 stereoisomeric ratio (*only the major compound is described*), ¹H NMR (400 MHz, C₆D₆) δ 7.74 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.10–7.01 (m, 3H), 6.82–6.77 (m, 4H), 5.34 (t, *J* = 0.4 Hz, 1H), 4.04 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 3.44 (t, *J* = 10.5 Hz, 1H), 3.33 (td, *J* = 4.0, 13.0 Hz, 1H), 3.28–3.20 (m, 1H), 3.14–3.06 (m, 2H), 2.95 (s, 3H), 1.92–1.82 (m, 1H), 1.87 (s, 3H), 1.79–1.68 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, C₆D₆) δ 141.5, 141.2, 137.4, 128.1, 127.2, 126.2, 126.1, 125.2, 83.0, 56.0, 53.9, 40.6, 39.8, 35.1, 28.6, 19.7; HRMS calcd. for C₂₀H₂₅NO₄NaS [M + Na]⁺ 398.14020, found 398.1403 (0 ppm).

General procedure for the semi-hydrogenation of 3a

In a 20 mL reactor containing 3-methylene-4-phenyl-1-tosyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine **3a** (30 mg, 0.09 mmol), THF (2 mL) was added followed by the addition of {[Ru(Cp*)(CH₃CN)₃]PF₆} and the additive (5 mol%). The autoclave was sealed, and was fast evacuated and filled with argon three times then ended with vacuum. Molecular hydrogen was introduced into the reactor at the indicated pressure. Then, the mixture was stirred at the mentioned temperature. After 15 hours the autoclave was cooled down to room temperature and the hydrogen was then carefully released; the conversion was determined by GC, GC-MS and crude ¹H NMR. Chromatography on silica gel using PE/Et₂O (80 : 20) as the eluent afforded compound **7a** as a yellow oil, 22.5 mg (75%), (*only the cis compound is described*) ¹H NMR (400 MHz, C₆D₆) δ 7.68 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.06–6.92 (m, 4H), 6.79–6.75 (m, 3H), 6.60 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.77 (dd, *J* = 5.0, 8.2 Hz, 1H), 3.39 (dd, *J* = 1.7, 10.9 Hz, 1H), 2.86 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 2.80 (t, *J* = 10.9 Hz, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.76–1.68 (m, 1H), 0.29 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C

NMR (100 MHz, CD₂Cl₂) δ 144.5, 140.8, 134.9, 130.2, 129.7, 128.0, 127.6, 126.9, 125.6, 110.0, 46.7, 42.6, 30.1, 20.0, 14.3; HRMS calcd. for C₁₉H₂₁NO₂SNAs ([M + Na])⁺ 350.11907, found 350.119 (0 ppm).

Acknowledgements

The authors thank Dr. Vincent Dorcet for X-ray analysis and Dr. Sourisak Sinbandhit for 2D NMR-analyses. F. J. thanks the European Union (FP-7 integrated project Synflow, NMP-2009-3.2-1 no. 246461; <http://synflow.eu>) for a fellowship.

Notes and references

- 1 General references: (a) S. A. Lawrence, *Amines: Synthesis, Properties and Applications*, Cambridge University Press, 2004; (b) T. C. Nugent, *Chiral Amine Synthesis: Methods, Development and Applications*, Wiley-VCH Verlag, 2010.
- 2 (a) T. E. Müller, K. C. Hultsch, M. Yus, F. Foubelo and M. Tada, *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 3795; (b) R. Yamaguchi, K.-I. Fujita and M. Zhu, *Heterocycles*, 2010, **81**, 1093; (c) K. D. Hesp and M. Stradiotto, *ChemCatChem*, 2010, **2**, 1192; (d) J.-H. Xie, S.-F. Zhu and Q.-L. Zhou, *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 1713; (e) S. Bähn, S. Imm, L. Neubert, M. Zhang, H. Neumann and M. Beller, *ChemCatChem*, 2011, **3**, 1853; (f) D. Seidel, *Org. Chem. Front.*, 2014, **1**, 426; (g) C.-X. Zhuo, C. Zheng and S.-L. You, *Acc. Chem. Res.*, 2014, **47**, 2558.
- 3 Review: S. Källstrom and R. Leino, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**, 601.
- 4 Selected references: (a) M. Amat, O. Lozano, C. Escolano, E. Molins and J. Bosch, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 4431; (b) L. Czibula, A. Nemes, F. Sebök, C. Szántay and M. Mák, *Eur. J. Org. Chem.*, 2004, 3336.
- 5 T. Harrison, A. J. Owens, B. J. Williams, C. J. Swain, R. Baker, P. H. Huson, S. Sadowski and M. A. Cascieri, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1995, **5**, 209.
- 6 Y. Li, Z. Xue, W. Ye, J. Liu, J. Yao and C. Wang, *ACS Comb. Sci.*, 2014, **16**, 113 and references cited therein.
- 7 For an overview of redox neutral processes see: (a) C. Zhang, C. Kanta De, R. Mal and D. Seidel, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 416; (b) W. Shen, Y. Kang, R. G. Wilde and D. Seidel, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2014, **53**, 5179.
- 8 (a) F. Troxler, *Helv. Chim. Acta*, 1973, **56**, 374; (b) S. Duttwyler, S. Chen, C. Lu, B. Q. Mercado, R. G. Bergman and J. A. Ellman, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2014, **53**, 3877.
- 9 Y. Tsuji, K.-T. Huh, Y. Ohsugi and Y. Watanabe, *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 1365.
- 10 (a) I. Jovel, S. Prateptongkum, R. Jackstell, N. Vogl, C. Weckbecker and M. Beller, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 1956; (b) K. Yuan, F. Jiang, Z. Sahli, M. Achard, T. Roisnel and C. Bruneau, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2012, **51**, 8876; (c) Z. Sahli, B. Sundararaju, M. Achard and C. Bruneau, *Green Chem.*, 2013, **15**, 775.
- 11 C.-H. Li, *Acc. Chem. Res.*, 2009, **42**, 335.
- 12 N. Gigant, L. Chausset-Boissarie and I. Gillaizeau, *Chem. – Eur. J.*, 2014, **20**, 7548.
- 13 (a) E. A. Mitchell, A. Peschiulli, N. Lefevre, L. Meerpoel and B. U. W. Maes, *Chem. – Eur. J.*, 2012, **18**, 10092; (b) A. Millet, P. Larini, E. Clot and O. Baudoin, *Chem. Sci.*, 2013, **4**, 2241.
- 14 (a) C. F. Caley and S. Weber, *Ann. Pharmacother.*, 1993, **27**, 1212; (b) J. E. Kristiansen and J. Bondo Hansen, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2000, **14**, 209; (c) A. J. Wagstaff, S. M. Cheer, A. J. Matheson, D. Ormrod and K. L. Goa, *Drugs*, 2002, **62**, 655.
- 15 P. N. Reeby, C. Yiptong, J. Samsoun, F. Schulsinger and J. Fabricius, *Pharmacopsychiatry*, 1982, **15**, 164.
- 16 R. B. Carter and L. A. Dykstra, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1985, **234**, 299.
- 17 X. Gu, S. Izenwasser, D. Wade, A. Housman, G. Gulasey, J. B. Rhoden, C. D. Savoie, D. L. Mobley, S. A. Lomenzo and M. L. Trudell, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 8356.
- 18 (a) P. A. J. Janssen, C. van de Westeringh, A. H. M. Jageneau, P. J. A. Demoen, B. K. F. Hermans, G. H. P. van Daele, K. H. L. Schellekens, C. A. M. van der Eycken and C. J. E. Niemegeers, *J. Med. Pharm. Chem.*, 1959, **1**, 281; (b) S. W. Tam and L. Cook, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1984, **81**, 5618.
- 19 (a) N. Gigant, L. Chausset-Boissarie and I. Gillaizeau, *Org. Lett.*, 2013, **15**, 816; (b) C. F. Despiau, A. P. Dominey, D. C. Harrowven and B. Linclau, *Eur. J. Org. Chem.*, 2014, 4335.
- 20 S. Murugesan, F. Jiang, M. Achard, C. Bruneau and S. Dérien, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 6589.
- 21 R. C. Clark, S. S. Pfeiffer and D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 2587.
- 22 (a) B. M. Trost, J.-P. Surivet and F. D. Toste, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 15592; (b) S. Dérien, L. Ropartz, J. Le Pailh and P. H. Dixneuf, *J. Org. Chem.*, 1999, **64**, 3524.
- 23 (a) G. Zweifel and H. C. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, **85**, 2066; (b) F. Karaki, Y. Kabasawa, T. Yanagimoto, N. Umeda, Firman, Y. Urano, T. Nagano, Y. Otani and T. Ohwada, *Chem. – Eur. J.*, 2012, **18**, 1127.
- 24 H. Schönherr and T. Cernak, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2013, **52**, 12256.
- 25 (a) B. Drießen-Hölscher and J. Heinen, *J. Organomet. Chem.*, 1998, **570**, 141; (b) S. Steines, B. Drießen-Hölscher and U. Englert, *Chem. Commun.*, 2000, 217.
- 26 Review of tandem transformations: D. E. Fogg and E. N. dos Santos, *Coord. Chem. Rev.*, 2004, **248**, 2365.
- 27 (a) C. Fehr, I. Magpantay, M. Vuagnoux and P. Dupau, *Chem. – Eur. J.*, 2011, **17**, 1257; (b) P. Dupau, *Top. Organomet. Chem.*, 2012, **42**, 47.
- 28 CCDC 1014288 contains the supplementary crystallographic data for this paper.
- 29 For ruthenium-catalysed alkene hydrogenation see selected references: (a) A. J. Lindsay, G. McDermott and G. Wilkinson, *Polyhedron*, 1988, **7**, 1239; (b) C. S. Yi, D. W. Lee and Z. He, *Organometallics*, 2000, **19**, 2909; (c) U. L. Dharmasena, H. M. Foucault, E. N. dos Santos, D. E. Fogg and S. P. Nolan, *Organometallics*, 2005, **24**, 1056; (d) B. Bagh and D. W. Stephan, *Dalton Trans.*, 2014, **43**, 15638.

- 30 M. S. Chinn and M. Heinekey, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 5166.
- 31 For the effect of water media during hydrogenation of benzylidene acetone see: (a) D. N. Akbayeva, L. Gonsalvi, W. Oberhauser, M. Peruzzini, F. Vizza, P. Brüggeller, A. Romerosa, G. Sava and A. Bergamo, *Chem. Commun.*, 2003, 264; (b) B. J. Frost and C. A. Mebi, *Organometallics*, 2004, **23**, 5317.
- 32 (a) R. M. Bullock, *Chem. – Eur. J.*, 2004, **10**, 2366; (b) P. Ghosh, P. J. Fagan, W. J. Marshall, E. Hauptman and R. M. Bullock, *Inorg. Chem.*, 2009, **48**, 6490.
- 33 (a) D. B. Grotjahn, C. R. Larsen, J. L. Gustafson, R. Nair and A. Sharma, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 9592; (b) C. R. Larsen and D. B. Grotjahn, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 10357.
- 34 K. Takahashi, M. Yamashita, Y. Tanaka and K. Nozaki, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2012, **51**, 4383.
- 35 For the formation of ion pairs from sulfonic acids and [Cp'RuH(PPh₃)₂] see: T. Wilczewski, *J. Organomet. Chem.*, 1989, **361**, 219.
- 36 For the influence of protic media/additives with [Cp'RuH] and [RuH] species see selected references: (a) M. Kranenburg, P. C. J. Kamer, P. W. N. M. van Leeuwen and B. Chaudret, *Chem. Commun.*, 1997, 373; (b) J. A. Ayllon, S. F. Sayers, S. Sabo-Etienne, B. Donnadieu, B. Chaudret and E. Clot, *Organometallics*, 1999, **18**, 3981; (c) S. Gründermann, S. Ulrich, H.-H. Limbach, N. S. Golubev, G. S. Denisov, L. M. Epstein, S. Sabo-Etienne and B. Chaudret, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 2550; (d) N. V. Belkova, M. Besora, L. M. Epstein, A. Lledos, F. Maseras and E. S. Shubina, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 7715; (e) F. A. Jalón, B. R. Manzano, A. Caballero, M. C. Carrión, L. Santos, G. Espino and M. Moreno, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 15364; (f) V. A. Levina, O. A. Filippov, E. I. Gutsul, N. V. Belkova, L. M. Epstein, A. Lledos and E. S. Shubina, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 11234; (g) G. A. Silantyev, O. A. Filippov, P. M. Tolstoy, N. V. Belkova and L. M. Epstein, *Inorg. Chem.*, 2013, **52**, 1787.
- 37 (a) M. V. Ovchinnikov, E. LeBlanc, I. A. Guzei and R. J. Angelici, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 11494; (b) H. Suzuki, T. Kakigano, K. I. Tada, M. Igarashi, K. Matsubara, A. Inagaki, M. Oshima and T. Takao, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2005, **78**, 67.
- 38 (a) W. Weng, Z. Shen and R. F. Jordan, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 15450; (b) B. Sundararaju, Z. Tang, M. Achard, G. V. M. Sharma and C. Bruneau, *Adv. Synth. Catal.*, 2010, **352**, 3141.
- 39 (a) M. B. Kay, C. Hongfeng, S. Peter and Y. Lingfeng, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 15186; (b) T. D. Travis, Z. Xiaodong and R. C. John, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 224; (c) M. Botta, F. Corelli, E. Petricci and C. Seri, *Heterocycles*, 2002, **56**, 369.
- 40 T. Suzuki and T. Oriyama, *Synth. Commun.*, 1999, **29**, 1263.

Chemical Compositions and Antibacterial Activity of Four Essential Oils from *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. Against Clinical Isolated and Food-Borne Pathogens

**Ilhem Labeled-Zouad¹, Amira Labeled¹, Souheila Laggoune¹, Semra Zahia^{1,2},
Ahmed Kabouche¹ and Zahia Kabouche^{1*}**

¹University Mentouri Constantine, Department of Chemistry, Laboratory of Therapeutic
Substances, 25000 Constantine, Algeria

²CHUC-Benbadis, Service de Bactériologie, 25000 Constantine, Algeria

(Received October 18, 2013; Revised November 27, 2014; Accepted January 22, 2015)

Abstract: The aims of this study were to compare the chemical composition and antibacterial activity of four hydrodistilled oils of *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. Essential oils were obtained from the hydrodistillation of fresh flowers (FF), dry flowers (DF), fresh stems (FS) and dry stems (DS). The GC-MS analyses of the oils revealed the presence of forty two compounds for FF, thirty seven compounds for DF, forty eight compounds for FS and thirty six components for DS. The total yields of the volatile essential oils were respectively: 97.9% (FF), 88.6% (DF), 96.4% (FS) and 87.4% (DS) with the prevalence of α -pinene (FF 32%, DF 16.1%, FS 11.5%, DS 17.4%), β -pinene (FS 8.1%, DS 8.9%), α -phellandrene (FF 8.5%, DF 24.3%), fenchylacetate (FF 10.4%, FS 7.3%, DS 8.8%), elixene (DF 6.3%, FS 5.4%), aristolene (FF 5.4%, FS 7.2%, DS 6.8%), caryophyllene oxide (FS 7.6%) and carotol (FF 13.9%, DF 10.7% FS 18.8%, DS 10.8%). The essential oils were tested against 9 bacteria and showed a good antibacterial activity against almost food-borne pathogens and clinical isolated microorganisms at a concentration of 128 μ g/mL Minimum inhibitory concentration (MIC) values for all the bacteria were ranged between 16 μ g/mL and 80 μ g/mL.

Keywords: *Ferula vesceritensis*; Apiaceae; essential oil; hydrodistillation; antibacterial activity. © 2015 ACG Publications. All rights reserved.

1. Introduction

Essential oils and volatile constituents extracted from Aromatic plants are frequently used in folk medicine for prevention and treatment of different human diseases, such as bacterial and viral infections [1], as well as to prevent the growth of food borne bacteria specially Enterotoxins produced by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* which are responsible for toxicity of the intestinal tract causing nausea and diarrhea [2].

The genus *Ferula* (Apiaceae) is represented by more than 170 species distributed in Central Asia and the Mediterranean region [3]. The Algerian flora comprises 5 species of *Ferula* from which 2 are endemic [4,5], including the presently reported species *F. vesceritensis* Coss. & Dur. [6-9].

*Corresponding author: E-Mail: zahiakabouche@gmail.com; Phone:+21331811100 Fax:+ 21331811100

Monoterpenes, oxygenated monoterpenes, sesquiterpenes and oxygenated sesquiterpenes characterized the compositions of most reported *Ferula* essential oils which exhibited antimicrobial, antioxidant, antiepileptic, anticancer and ferulenol toxicity activities [9-24]. In continuation of our works on Apiaceae essential oils [25-28], we report here the GC and GC-MS analyses and the antibacterial activity of four essential oils of fresh and dry flowers and stems of the endemic species *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. "kelkha", traditionally used to treat fever and headache [8].

2. Materials and Methods

2.1. Plant materials

Fresh aerial parts of *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur [4,5] were collected from Ghardaia (Septentrional Algerian Sahara) in March 2011. The plant was authenticated by Pr. Gérard De Bélair, a voucher specimen was deposited at the herbarium of the Laboratory of Therapeutic Substances, University of Constantine 1, Algeria (LOST ZK Fv03/11).

2.2 Isolation of the essential oils

From the freshly collected plant, two parts of separated flowers and stems were dried at room temperature. The fresh flowers and stems (FF, FS) were hydrodistilled, for 3 h, in a Clevenger-type apparatus. Then, the dried flowers and stems (DF, DS) were also likely hydrodistilled, yielding yellow oils of FF (1.8%), DF (1.6%), FS (1.6%), DS (1.4 %) (w/w), which were dried over anhydrous Na₂SO₄ and conserved in sealed brown vials at 4-6 °C, prior to further analysis.

2.3. Gas chromatography GC-FID

The essential oils were analysed on a Shimadzu gas chromatograph Model GC2010, equipped with a DB-5 MS column (30m x 0.25mm; 0.25µm), programming from 50°C (5 min) to 300°C at 5°C/min, 5 min hold. Hydrogen was used as carrier gas (1.0 mL/min); injection in split mode (1:60); injector and detector temperatures were 250°C and 280°C respectively. The essential oil was diluted in hexane (1/30) for the analyses.

2.4. Gas chromatography-mass spectrometry GC-MS analyses

The essential oils were analysed on a Shimadzu gas chromatograph Model GC2010 coupled to a Shimadzu MS model QP2010, equipped with a DB5 MS column (30m X 0.25mm; 0.25µm), programming from 50°C (5 min) to 300°C at 5°C/min, 5 min hold. Helium was used as carrier gas (1.0 mL/min); injection in split mode (1:30); injector and detector temperatures were 250°C and 280°C respectively. The MS working in electron impact mode at 70 eV; electron multiplier, 2500 V; ion source Temperature, 180°C; mass spectra data were acquired in the scan mode in *m/z* range 33-450.

2.5. Identification of components

Retention indices of all the components were determined by Kovats method. The compounds assayed by GC were identified by comparing their retention indices with those of reference compounds in the literature and confirmed by comparison of their mass spectra with those of reference substances for major components of the oils [29-33].

2.6. Antibacterial activity testing

The antibacterial activity of the essential oils was evaluated against the tested organisms according to Clinical and Laboratory Standards Institute [34]. Freshly cultured bacterial suspensions in Mueller Hinton Broth were standardized to a cell density of 1.5x10⁸/mL (McFarland No. 0.5). The essential oils of *F. vesceritensis* were tested against nine of microorganisms (food spoilage and food-borne pathogens and clinical strains).

The bacterial pathogens including food spoilage bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and food-borne pathogens namely, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, the reference strains were obtained from the Pasteur Institute (Algiers) while *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*

pneumoniae, and *Morganella morganii* which were clinical isolated from the laboratory of bacteriology, Benbadis Hospital, Constantine, using conventional methods (clinical isolation) [34].

Susceptibility of the bacterial strains to the essential oils was investigated using the disk diffusion method. Empty sterilized discs were impregnated by essential oils which were diluted with 20 mL of DMSO used for antibacterial activity assays. The same volume (20 mL) of DMSO was used as control. The diameters of inhibition zones were measured and compared with those suggested by Clinical and Laboratory Standards Institute [34], (sensitive $P \geq 15$ mm). Ampicillin (10 µg/disc) was used as a positive reference standard to determine the sensitivity of each bacterial species tested. The inoculated plates were incubated at 37 °C for 24 h. Antimicrobial activity was evaluated by measuring the inhibition zone (IZ) in mm against the tested strains.

The experiments were repeated in triplicate and the results were expressed as average values.

2.7. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC)

All the nine tested bacteria were susceptible to the essential oils, hence the minimum inhibitory concentrations of the essential oils were determined using the agar dilution method and different concentrations of the essential oils were included in Mueller-Hinton agar plates. The minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the concentration at which no colony was observed after incubation [34].

3. Results and Discussion

3.1. Chemical composition of the essential oils

The essential oils of FF, DF, FS, DS were obtained by hydrodistillation, The GC and GC–MS analyses of the oils revealed the presence of forty-four compounds for FF, fifty compounds for DF, thirty-nine compounds for FS and thirty-seven compounds for DS. Comparative study showed that the amount of total volatiles of essential oils were 97.9% (FF), 88.6% (DF), 96.4% (FS) and 87.4% (DS), respectively (Table 1), the highest value of essential oil was obtained for the fresh parts of the plant.

The main components of the essential oils were α -pinene (FF 32%, DF 16.1%, FS 11.5%, DS 17.4%), β -pinene (FS 8.1%, DS 8.9%), α -phellandrene (FF 8.5%, DF 24.3%), fenchylacetate (FF 10.4%, FS 7.3%, DS 8.8%), elixene (DF 6.3%, FS 5.4%), aristolene (FF 5.4%, FS 7.2%, DS 6.8%), caryophyllene oxide (FS 7.6%) and carotol (FF 13.9%, DF 10.7% FS 18.8%, DS 10.8%). The essential oils analysed in this research showed important differences in their quality and quantity of the components, which are totally different from the essential oil of the leaves of the Algerian species *F. vesceritensis* collected in the South Eastern Algerian (May 2010), which was mainly characterized by 9, 9-tetradecadiyne (24.72%), germacrene -D (24.51%), farnesene (8.57%) and α -bisabolene (8.57%) [9]. This may be due to the difference of growth stage and locality and time of collection.

It's important to mention that's the first time for the genus *Ferula* that, α -phellandrene, fenchyl acetate, elixene, aristolene and carotol are found as main components. In agreement with the literature, the present oils are constituted with high levels of bicyclic monoterpenes (α -pinene and β -pinene). α -Pinene together with β -pinene have been found as major components in essential oils of *F. gummosa* Boiss. fruits (18.3%, 50.1%) [17]. *F. szovitsiana* D.C (8.0%, 6.7%) [13], *F. badrakema* (10.9%, 45.8%) [15], *F. communis* L. subsp. *glauca* growing in Marche (Central Italy) (0.3-24.2%, 0.1-14.7%) [19], *F. lycia* Boiss. (59.9%, 19.0%) [35], *F. gummosa* Boiss. from Kashan, Iran (58.8%, 5.7%) [37], *F. jaesekheana* Vatke (30%, 16.2%) [13], *F. stenocarpa* Boiss. & Hausskn (48.8%, 30.1%) [38] and *F. assafoetida* (21.30 %, 47.10%) [40], respectively. Even though, α -pinene, without the main presence of β -pinene, was detected in the essential oils of *F. foliosa* *F. lutea*, *F. communis* from Algeria, *F. flabelliloba* and *F. ovina* (35.10% , 25.8% , 20.9%, 10.0%, 8.2%, respectively) [14, 36, 39, 41, 10]. It's noteworthy that caryophyllene oxide (13.90%) was also mainly present in the essential of *Ferula communis* L. subsp. *glauca* growing in Marche Central Italy [19].

Table 1. Chemical composition of *F. vesceritensis* Coss. & Dur. oils from FF, DF, FS, and DS.

Compound ID	RIE ^a	RIL ^b	FF %	DF %	FS %	DS %
Heptane	700	700	0.3	-	-	-
2-Methylheptane	765	766	-	-	-	0.9
Isovaleric acid	836	827	0.2	-	0.2	-
n-Hexanol	871	863	0.1	-	-	-
2-Ethoxyethylacetate	904	903	0.1	-	-	-
α -Thujene	932	924	0.4	1.1	0.5	-
α -Pinene	940	932	32.0	16.1	11.5	17.4
Camphene	954	946	0.7	0.3	0.6	1.0
β -Pinene	979	974	-	1.9	8.1	8.9
Myrcene	991	988	0.2	1.1	0.2	-
δ -2-Carene	998	1001	-	0.9	-	-
δ -3-Carene	1007	1008	0.1	0.4	-	-
α -Phellandrene	1005	1002	8.5	24.3	-	-
3-Ethyl-4-methylpentanol	1022	1020	-	-	0.1	-
<i>p</i> -Cymene	1026	1020	-	1.8	0.1	-
Limonene	1029	1024	0.5	3.4	0.7	-
β -Phellandrene	1030	1025	-	2.7	-	-
E- β -Ocimene	1046	1044	-	2.4	-	-
γ -Terpinene	1062	1054	-	1.8	0.4	-
<i>cis</i> -sabinene hydrate	1070	1065	0.6	-	-	-
Fenchone	1087	1083	0.6	-	0.2	0.8
Linalool	1097	1095	0.4	-	0.3	-
α -pinene oxide	1098	1099	0.5	-	0.3	-
Isophorone	1121	1118	-	-	-	1.3
<i>trans-p</i> -Mentha-2,8-dienol	1125	1119	0.3	-	-	-
α -Campholenal	1126	1122	-	-	0.2	0.2
<i>cis-p</i> -Mentha-2,8-dien-1-ol	1138	1133	-	-	-	0.7
<i>trans</i> -Pinocarveol	1139	1135	0.8	-	0.6	2.9
<i>cis</i> -Verbenol	1140	1137	2.5	-	1.8	3.5
Camphor	1146	1141	-	-	-	0.3
<i>p</i> -menthone	1153	1148	-	0.6	-	-
Pinocarvone	1165	1160	0.5	-	0.3	0.6
Terpinen-4-ol	1178	1174	0.3	0.2	0.2	-
α -Terpineol	1192	1186	0.1	0.2	0.2	-
Myrtenol	1194	1194	0.6	-	0.6	-
Myrtenal	1196	1195	0.2	-	0.2	2.9
<i>nor</i> -Davanone	1227	1228	-	0.3	-	-
Fenchyl acetate	1232	1229	10.4	0.9	7.3	8.8
Bornyl acetate	1285	1283	1.1	0.2	0.8	1.1
<i>p</i> -Cymen-7-ol	1290	1289	0.2	-	0.2	0.3
2-Undecanone	1294	1293	-	-	0.1	0.4
α -Cubebene	1350	1345	0.1	-	0.1	0.9
α -Copaene	1374	1377	0.2	0.2	0.4	0.4
Geranyl acetate	1380	1379	-	-	-	0.3
β -Cubebene	1388	1387	-	-	0.2	0.3
3-Dodecanone	1389	1389	0.2	-	-	0.3
β -Elemene	1391	1389	0.3	2.8	0.7	-
α -Funebrene	1402	1402	-	-	0.3	-
<i>β-caryophyllene</i>	1419	1417	0.2	0.3	2.3	-
β -Gurjunene	1433	1431	0.9	0.5	1.4	2.4
Aristolene	1444	1444	5.4	0.3	7.2	6.8
α -Acoradiene	1464	1460	0.2	-	-	-
γ -Gurjunene	1477	1475	-	-	0.2	-
γ -Muurolene	1480	1478	2.8	0.4	3.9	0.4
α -Muurolene	1495	1500	0.7	-	0.9	0.6
Elixene	1504	1505	-	6.3	5.4	-
<i>trans</i> -Cycloisolongifol-5-ol	1505	1513	-	-	0.2	-
Germacrene A	1506	1508	-	0.2	0.5	0.4
γ -Cadinene	1510	1514	2.7	0.8	2.0	1.0
α -Copaen-11-ol	1534	1539	0.5	-	1.1	0.5
Caryophyllenyl alcohol	1570	1570	-	0.1	0.4	1.1
Germacrene D-4-ol	1575	1574	-	0.4	4.0	-
Spathulenol	1578	1577	-	0.7	0.4	1.5
Caryophyllene oxide	1583	1582	4.3	2.3	7.6	4.6
Globulol	1585	1590	-	-	-	1.5

Compound ID	RIE ^a	RIL ^b	FF %	DF %	FS %	DS %
Viridiflorol	1593	1592	-	-	0.2	0.1
Carotol	1595	1594	13.9	10.7	18.8	10.8
Guaiol	1598	1600	-	0.3	-	-
Alloaromadendrene epoxide	1641	1639	1.1	-	-	-
Cubenol	1646	1645	-	-	-	1.5
α -Cadinol	1654	1652	2.2	0.5	2.5	-
α -Selina-11-en-4-ol	1660	1658	-	0.5	-	-
Total (%)			97.9	88.6	96.4	87.4

FF: fresh flowers, DF: dry flowers, FS: fresh stems, DS: dry stems.

RIE^a Retention index calculated from relative retention times; RIL^b Literature Retention index [29-33].

2-Methylheptane [30], 3-Ethyl-4-methylpentanol [31], Aristolene [32], Elixene [33].

According to the literature, α -pinene and β -pinene are mainly found in the present essential oils confirming that these monoterpenes are chemotypes of *Ferula* essential oils. In contrast, variations in the compositions of essential oils isolated from fresh flowers and dry flowers on the one hand and from fresh stems and dry stems on the other hand may be explained on account of some important facts biotransformation of monoterpenes [42]. The volatility of monoterpenes causes problems during biotransformation, such as losses of both substrates and products. Biotransformation of terpenes often proceed along several metabolic pathways leading to a mixture of products. Monoterpenes are relatively unstable compounds. They can, for example, undergo spontaneous autoxidation.

3.2. Antibacterial activity

From the GC and GC-MS results it appears that the present *F. vesceritensis* essential oils are rich with α -pinene and β -pinene which have been already reported to possess strong antimicrobial activities [43]. These monoterpenes exert their antimicrobial activity on microorganisms through the disruption of bacteria membrane integrity [44]. The hydrophilic cell wall structure of Gram-negative bacteria, constituted essentially by a lipo-polysaccharide, blocks the penetration of hydrophobic components of oils and for this reason, Gram-positive bacteria are found to be more sensitive to the essential oils effect [45].

Thus, we've been interested to evaluate the antibacterial activity of the present essential oils by the use of the disc diffusion method and MIC values (Tables 2 and 3). The tested essential oils inhibited strongly the growth of all bacterial strains at MIC values ranging between 16 μ g/mL and 80 μ g/mL. Dry flowers and stems essential oils showed the best antibacterial activity comparing with fresh flowers and stems essential oils because of the high percentages of α -pinene together with β -pinene as main components (Table 3). The best activity was exhibited against *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Morganella morganii*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains with 30 mm, 29 mm, 27 mm, 25 mm, 24 mm, 24 mm and 24 mm inhibition zone diameters, respectively (Table 2).

Unlike the previous report on the essential oil of leaves of *F. vesceritensis* [9], the important key of the current study is that it includes an investigation on fresh and dry flowers and stems essential oils and their influence on chemical composition and also on the biological activity of this plant. In the present work, a relationship between the composition of the *Ferula* essential oils studied and antibacterial activity was observed because of the richness with α -pinene and β -pinene (markers of antibacterial effect).

In addition, it's the first time in *Ferula* oil that α -phellandrene, fenchylacetate, elixene, aristolene and cartol are found as major components. The antibacterial activity of these oils was tested by the use of the disc diffusion method against nine microorganism namely *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*. The best antibacterial activity was shown against six strains, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Morganella morganii*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. So we can conclude that the studied oils have a strong and broad spectrum antibacterial effect against bacterial strains. For this reason, the use of the essential oils of *F. vesceritensis* may be very important for pharmaceutical and cosmetic industries which can substitute synthetic additive (hydrophobic chemical addition) in the

food industry, where they can be considered as natural preservatives and can be used as an herbal medicine against food spoilage microorganisms.

Table 2. Antibacterial activity of different essential oils of *F. vesceritensis* Coss. & Dur. (inhibition zones, mm).

Microorganism	Inhibition zone (mm)					
	Antibiotics (10 µg/mL)		Essential oils (128 µg/mL)			
	Ampicillin ^a	Gentamicin ^a	FF	DF	FS	DS
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^b	18	22	25	27	28	24
<i>Escherichia coli</i> ^f	-	-	21	24	22	29
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 ^b	30	-	27	30	25	25
<i>Staphylococcus aureus</i> ^c	-	13	24	23	23	22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 ^b	-	-	18	23	27	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^c	-	12	18	20	22	26
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^c	14	21	24	20	14	16
<i>Morganella morganii</i> ^c	-	-	20	25	15	10
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^c	-	-	23	20	12.5	10

FF: fresh flowers, DF: dry flowers, FS: fresh stems, DS: dry stems; ^a Control; ^b Obtained from the Pasteur Institute (Algiers); ^c Clinical isolates from the laboratory of bacteriology (CHU Constantine, Algeria).

Table 3. Comparison of the MIC values (µg/mL) of different essential oils of *F. vesceritensis* Coss. & Dur.

Microorganism	MIC ^a (µg/mL)					
	Antibiotics (µg/mL)		Essential oils			
	Ampicillin ^b	Gentamicin ^b	FF	DF	FS	DS
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^c	10	10	40	80	40	40
<i>Escherichia coli</i> ^f	-	-	40	80	40	40
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 ^c	5	-	80	16	40	16
<i>Staphylococcus aureus</i> ^d	-	15	80	16	40	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 ^c	-	-	40	80	40	40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^d	-	5	40	80	40	40
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^d	10	5	32	80	16	40
<i>Morganella morganii</i> ^f	-	-	40	80	40	40
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^d	-	-	40	80	16	16

FF: fresh flowers, DF: dry flowers, FS: fresh stems, DS: dry stems, ^aMIC: minimum inhibitory concentration; ^bControl; ^cObtained from the Pasteur Institute (Algiers); ^dClinical isolates from the laboratory of bacteriology (CHU Constantine, Algeria)

Acknowledgments

The authors are grateful to ATRSS and to the MESRS-DGRSDT for the financial support.

References

- [1] A.E. Edris (2007). Pharmaceutical and therapeutical potentials of essential oils and their individual volatile constituents, *Phytother. Res.* **21**, 308-323.
- [2] J.P.F. D'Mello (2003). Food safety: Contaminants and toxins. Oxford: CABI Publications.
- [3] M.G. Pimenov and M.V. Leonov (1993). The General of the Umbelliferae. Kew: Royal Botanic Gardens.

- [4] P. Quezel and S. Santa (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des Régions Désertiques et Méridionales. Tome II, Editions CNRS, Paris.
- [5] P. Ozenda (1958). Flore du Sahara. Ed. CNRS, Paris.
- [6] A. Zellagui, N. Gherraf, M.E.F. Hegazy, S. Akkal, S. Rhouati, H. Dendougui and A.A. Ahmed (2012). Phytochemical investigation and antimicrobial activity of crude extract of the roots of *Ferula vesceritensis*, *Chem. Nat. Compd.* **48**, 891-892.
- [7] A.A. Ahmed, M.E.F. Hegazy, A. Zellagui, S. Rhouati, T.A. Mohamed, A.A. Sayed, A.A. Mohamed, S. Ohta and T. Hirata (2007). Ferulsinaic acid, a sesquiterpene coumarin with a rare carbon skeleton from *Ferula* species, *Phytochemistry*. **68**, 680-686.
- [8] K. Oughlissi-Dehak, P. Lawton, C.B. Michalet, S.N. Darbour, M. Hadj-Mahammed, A. Badjah-Hadj, M. G. Dijoux Franca and D. Guilet (2008). Sesquiterpenes from aerial parts of *Ferula vesceritensis*, *Phytochemistry*. **69**, 1933-1938.
- [9] A. Zellagui, N. Gherraf and S. Rouati (2012). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ferula vesceritensis* leaves, *Org. Med. Chem. Lett.* **2**, 31- 4
- [10] A. Ghannadi, S. E. Sajjadi and A. Beigihasan (2002). Composition of the essential oil of *Ferula ovina* (Boiss.) Boiss. from Iran, *Daru* **10**, 165-167.
- [11] M.I. Goryaev, F.S. Sharipova, L.K. Tikhonova and L. A. El'chibekova (1968). Components of essential oils. XXXI. Essential oil of *Ferula penninervis* (stalks), *Zhur. Prikl. Khim.* **41**, 2745-2750.
- [12] B. K. Kapahi, R. K.Thappa, S. G. Aggarwal and Y. K. Sarin (1985). Essential oil of *Ferula jaesekheana* Vatke, *PAFAI J.* **7**, 23-24.
- [13] A. Karim, M. Ashraf and M.K Bhatti (1979). Studies on the essential oils of the Pakistani species of the family Umbelliferae. Part XXVI. *Ferula oopoda* Boiss. Buhse (chir) oil from the seeds, stalks and roots, *Pak. J. Sci. & Indus. Res.* **22**, 198-201.
- [14] N. P. Kir'yalov (1947). Detection of dextrorotatory β -pinene in the essential oil of *Ferula foliosa*, *Zhur. Prikl. Khim.* **20**, 1304-1307.
- [15] J. Asili, A. Sahebkar, B. S. Fazly Bazzaz, S. Sharifi and M. Iranshahi (2009). Identification of essential oil components of *Ferula badrakema* fruits by GC-MS and ¹³C-NMR methods and evaluation of its antimicrobial activity, *J. Essent. Oil Bear. Plants.* **12**, 7-15.
- [16] G. Dehghan, R. Solaimanian, A. R. Shahverdi, G. Amin, M. Abdollahi and A. Shafiee (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ferula szovitsiana* D.C., *Flav. Fragr. J.* **22**, 224-227.
- [17] Y. Ghasemi, P. Faridi, I. Mehregan and A. Mohagheghzadeh (2005). *Ferula gummosa* fruits: an aromatic antimicrobial agent, *Chem. Nat. Compd.* **41**, 311-314.
- [18] Z. Habibi (2006). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Ferula latisecta* & *Mozaffariania insignis* from Iran, *Chem. Nat. Compd.* **42**, 689-692.
- [19] F. Maggi, C. Cecchini, A. M. Cresci, M. Coman, B. Tirillini, G. Sagratini and F. Papa (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Ferula communis* L. subsp. *glauca* growing in Marche (Central Italy), *Fitoterapia* **80**, 68-72.
- [20] M. Sayyah, M.R. Kamalinejad, B. Hidage and A. Rustaiyan (2001). Antiepileptic potential and composition of the fruit essential oil of *Ferula gummosa* Boiss., *Iranian Biomed. J.* **4**, 69-72.
- [21] E. Bouchouka, A. Djilani and A. Bekkouche (2012). Antibacterial and antioxidant activities of three endemic plants from Algerian Sahara, *Acta scient. Pol. Technol. Alimentaria.* **11**, 61-65.
- [22] A.M. Gamal-Eldeen and M.E.F. Hegazy (2010). A crystal lapiferin derived from *Ferula vesceritensis* induces apoptosis pathway in MCF-7 breast cancer cells, *Nat. Prod. Res.* **24** 246-257.
- [23] M. Lahouel, R. Zin, A. Zellagui, S. Rhouati, P. A. Carrupt and D. Morin (2007). Ferulenol specifically inhibits succinate ubiquinone reductase at the level of the ubiquinone cycle, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **355**, 252-257.
- [24] S. Chibani, C. Bensouici, A. Kabouche, T. Aburjai, R. Touzani and Z. Kabouche (2012). Analysis of the essential oil of aerial parts of *Ferula lutea* Poiret from Algeria, *J. Essent. Oil Bear. Plants.* **15**, 682-685.
- [25] I. Labeled, S. Chibani, Z. Semra, A. Kabouche, T. Aburjai, R. Touzani and Z. Kabouche (2012). Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Athamanta sicula* L. (Apiaceae) from Algeria, *E-J. Chem.* **9**, 796-800.
- [26] A. Labeled, I. Labeled, J. Safaei-Ghomi, A. Kabouche and Z. Kabouche (2011). GC/MS Analysis of *Oenanthe virgata* (Poiret) from Algeria, *J. Essent. Oil Bear. Plants.* **14**, 481-483.
- [27] P. Vérité, A. Nacer, Z. Kabouche and E. Seguin (2004). Composition of seeds and stems essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Benth and Hook, *Flav. Fragr. J.* **19**, 562-564.
- [28] H. Daroui-Mokaddem, A. Kabouche, M. Bouacha, B. Soumati, A. El-Azzouny, C. Bruneau and Z. Kabouche (2010). GC/MS analysis and antimicrobial activity of the essential oil of fresh leaves of *Eucalytus globulus* and leaves and stems of *Smyrniium olusatrum* from Constantine (Algeria), *Nat. Prod. Commun.* **5(10)**, 1669-1672.

- [29] R.P. Adams (2005). Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy. Allured publishing Co. Carol Stream, Illinois.
- [30] M.A. Dib, J. Paolini, M. Ben Dahoua, L. Varesib, H. Allalia, J.M. Desjobertb, T. Boufeldja and J. Costab (2010). Chemical composition of fatty acid and unsaponifiable fractions of leaves, stems and roots of *Arbutus unedo* and *in vitro* antimicrobial activity of unsaponifiable extracts, *Nat. Prod. Commun.* **5**, 1085-1090.
- [31] Y.X. Zeng, C.X. Zhao, Y.Z. Liang, H. Yang, H.Z. Fang, L.Z. Yi and Z.D. Zeng (2007). Comparative analysis of volatile components from *Clematis* species growing in China, *Anal. Chim. Acta.* **595**, 328-339.
- [32] C. Liu, J. Zhang, Z. Zhou, Z. Hua, H. Wan, Y. Xie, Z. Wang and L. Deng (2013). Analysis of volatile compounds and identification of characteristic aroma components of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. using GC-MS and GC-O, *Food. Nut. Sci.* **4**, 305-314.
- [33] Z.L. Cardeal, M.D. Gomes Da Silva and P.J. Marriott (2006). Comprehensive two-dimensional gas chromatography/ mass spectrometric analysis of pepper volatiles, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **20**, 2823-2836.
- [34] Clinical and Laboratory Standards Institute.(2007), Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Tentative standard M 26-T. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- [35] E.D. Kose, O. Aktas, I.G. Deniz and C. Sarikurkcü (2010). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of endemic *Ferula lycia* Boiss., *J. Med. Plants Res.* **4**, 1698-1703.
- [36] S. Chibani, H. Berhail-Boudouda, A. Kabouche, T. Aburjai, and Z. Kabouche (2011). Analysis of the essential oil of *Ferula communis* L. from Constantine (Algeria), *J. Med. & Arom. Plants.* **1**, 41-44.
- [37] A. Ghannadi and S. Amree (2002). Volatile oil constituents of *Ferula gummosa* Boiss. from Kashan, Iran, *J. Essent. Oil. Res.* **14**, 420-421.
- [38] A. Rustaiyan, F. Assadian, A. Monfared, S. Masoudi and M. Yari (2001). Composition of the volatile oil of *Ferula stenocarpa* Boiss. and Hausskn, *J. Essent. Oil. Res.* **13**, 181-182.
- [39] M. Znati, A. Jabrane, H. Hajlaoui, F. Harzallah-Skhiri, J. Bouajila, J. Casanova and H. Ben Jannet (2012). Chemical composition and *in vitro* evaluation of antimicrobial and anti-acetylcholinesterase properties of the flower oil of *Ferula lutea*, *Nat. Prod. Commun.* **7**, 947-950.
- [40] G. Kavooosi and V. Rowshan (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil obtained from *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin: Effect of collection time, *J. Food. Chem.* **138**, 2180-2187
- [41] A. Rustaiyan, A. Monfared and S. Masoudi (2001). The essential oil of *Ferula flabelliloba* Rech F et Aell, *J. Essent. Oil. Res.* **13**, 403-404.
- [42] D.J. McGarvey and R. Croteau (1995). Terpenoid metabolism, *Plant cell.* **7**, 1015-1026.
- [43] A. Sokmen, G. Vardar- Ünlü, M. Polissiou, D. Daferera, M. Sokmen and E. Donmez (2003). Antimicrobial activity of essential oils and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub Mor. (Asteraceae), *Phytother. Res.* **17**, 1005-1010.
- [44] K. Knobloch, P. Pauli, B. Iberl, H. Weigand and N. Weis (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components, *J. Essent. Oil. Res.* **1**, 603-608.
- [45] Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods review, *Int. J. Food Microbiol.* **94**, 223-253.

Abstract

In a first part we studied the chemical composition and biological activities of *Pistacia atlantica* Desf. and *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. The GC and GC-MS analyses showed that the essential oils of *P. atlantica* are rich in α -pinene, limonene and spatulenol, while β -phellandrene, α -terpinene, β -elemene, γ -gurjunene and germacrene-B were found as major components, for the first time for the essential oils of the genus *Pistacia*.

α -Pinene and β -pinene were predominant in the essential oils of *Ferula vesceritensis*; however the first time that α -phellandrene, fenchylacetate, elixene, l'aristolene and cartol were found as main components in the essential oils of the genus *Ferula*. The both essential oils of *P. atlantica*. and *F. vesceritensis* exhibited a good antibacterial activity against clinical isolated bacteria and food borne pathogens. The essential oils of *P. atlantica* possess an important antioxidant effect which were determined using β -carotene-linoleic acid, DPPH- and ABTS^{•+}-scavenging activities, metal chelating effect and CUPRAC assays. The essential oils showed a moderate anticholinestérase activity compared with galantamin for the inhibitory activity of principal enzymes of Alzheimer's disease AChE and BChE.

In a second part, we synthesized 12 new piperidine derivatives, which have been achieved through [Cp*Ru]-catalyzed intermolecular coupling of allylic alcohols and propargylic amides with water as the only side product, and demonstrated that the selective oxidative coupling cinnamyl alcohol derivatives and 2-substituted allylic alcohols. This methodology allows the access to 3,4- and 3,5-disubstituted enamides as valuable scaffolds for the preparation of 3-methylpiperidine derivatives through selective [Cp*Ru] catalyzed alkene hydrogenation.

Keywords: *Pistacia atlantica* Desf., *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur., antioxidant, anticholinesterase, antibacterial, oxidative coupling, enamides, hydrogenation, hydroboration, piperidines

Résumé

Dans une première partie, nous avons étudié la composition chimique et les activités biologiques des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. et *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. Les analyses GC et GC-MS ont montré que les huiles essentielles de *P. atlantica* sont riches en α -pinène, limonène et en spatulenol, cependant le β -phellandrène, l' α -terpinène, le β -élémyène, le γ -gurjunène et le germacrène-B sont rapportés ici en tant que composants majoritaires, pour la première fois, dans les huiles essentielles du genre *Pistacia*. Pour les huiles essentielles de *F. vesceritensis* l' α -pinène et le β -pinène dominent la composition chimique. Par ailleurs, c'est la première fois que l' α -phellandrène, le fenchylacétate, l'élémène, l'aristolène et le cartol sont trouvés comme composants majoritaires dans les huiles essentielles du genre *Ferula*. Les huiles essentielles extraites des deux plantes ont inhibé la croissance des micro-organismes cliniquement isolés et des agents pathogènes d'origine alimentaire. Les huiles essentielles de *P. atlantica* possèdent un pouvoir antioxydant important, ce dernier a été déterminé en utilisant le β -carotène-acide linoléique, le DPPH, l'ABTS^{•+}, le métal chélate et le test du CUPRAC. Les huiles essentielles de *P. atlantica* ont présenté une activité inhibitrice modérée de l'AChE et de BChE, en comparaison avec la galantamine. Les résultats présentés dans cette étude sont les premières informations sur l'activité anticholinestérase des huiles essentielles du genre *Pistacia*.

Dans une deuxième partie, nous avons synthétisé 12 nouveaux dérivés pipéridiniques, par couplage oxydant sélectif entre les alcools allyliques et les amines propargyliques. Cette réaction peut être étendue à des dérivés d'alcool cinnamique et d'alcools allyliques substitués en position 2. Cette méthodologie permet l'accès aux énammides 3,4- et 3,5-disubstitués qui peuvent être utilisés comme échafaudages précieux pour la synthèse des dérivés de 3-méthylpipéridines à travers l'hydrogénation sélective d'alcène pré-catalysée par [Ru(Cp*)].

Mot clés: *Pistacia atlantica* Desf., *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur., antioxydante, anticholinestérase, antibactérienne, couplage oxydant, énammides, pipéridines, hydroboration, hydrogénation.