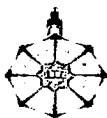


UNIVERSITE ABOU BAKER BELKAID



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



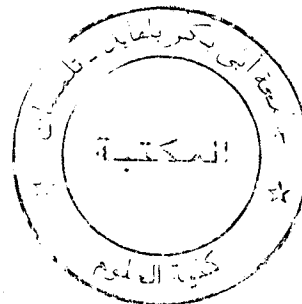
MEMOIRE
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER
Option : CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUEE

Inscrit Sous le N° :
Date le: 29/10/2009
Code: 3771

Thème :

CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DE
Zizyphus lotus L.

Présenté par
M^{lle} : FEKIH Nadia



Devant le jury :

Mr. TABTI BOUFELDJA	Professeur à UABB	Président
Mr. BENABADJI NOURI	Professeur à UABB	Examineur
Mr. BENSALIM OKKACHA	Professeur à UABB	Examineur
Mme MERIAH SALIMA	Maître de Conférences à UABB	Examinatrice
Mr. ALLALI HOCINE	Maître de Conférences à UABB	Promoteur

Année Universitaire: 2008-2009



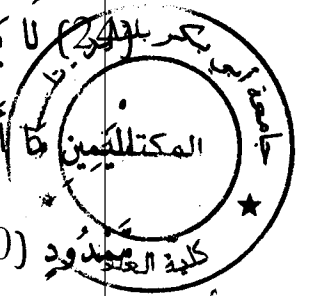
قال الله تعالى:

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"وَالسَّابِقُونَ السَّابِقُونَ (10) أُولَئِكَ الْمُقَرَّبُونَ (11) فِي جَنَّاتِ النَّعِيمِ (12) ثَلَّةٌ مِنَ
الْأُولَى (13) وَقَلِيلٌ مِنَ الْآخِرِينَ (14) عَلَى سُرُرٍ مَوْضُوعَةٍ (15) مُكْنِنَةٍ عَلَيْهَا
مُتَقَابِلِينَ (16) يَطُوفُ عَلَيْهِمْ وِلْدَانٌ مُخَلَّدُونَ (17) يَأْكُوبِ وَأَبَارِقُ وَكَأْسٍ مِنْ مَعِينٍ
(18) لَا يُصَدَّعُونَ عَنْهَا وَلَا يُنزَفُونَ (19) وَفَاكِهَةٍ مِمَّا يَتَخَيَّرُونَ (20) وَلَحْمِ طَيْرٍ مِمَّا
يَشْتَهُونَ (21) وَحُورٍ عِينٍ (22) كَأَمْثَالِ اللُّؤْلُؤِ الْمَكْنُونِ (23) جِزَاءَ بِمَا كَانُوا يَعْمَلُونَ
لَا يَسْمَعُونَ فِيهَا لَغْوًا وَلَا تَأْثِيمًا (25) إِلَّا قِيلًا سَلَامًا سَلَامًا (26) وَأَصْحَابُ
الْيَمِينِ (27) فِي سِدْرٍ مَخْضُودٍ (28) وَطَلْحٍ مَنضُودٍ (29) وَظِلِّ
مَشْهُودٍ (30) وَمَاءٍ مَسْكُوبٍ (31) وَفَاكِهَةٍ كَثِيرَةٍ (32)"

صدق الله العظيم

سورة الواقعة من الآية 10 إلى الآية 32



Remerciements

Je remercie Dieu d'avoir donné à l'homme la faculté de raisonner et d'exploiter les variétés de l'univers.

Ce travail a été effectué au laboratoire de Chimie Organique, Substances naturelles et Analyse (COSNA) de la Faculté des Sciences, Département de Chimie, de l'Université de Tlemcen sous la direction de Monsieur **H. ALLALI**, maître de conférences à l'université de Tlemcen, à qui j'adresse ma profonde gratitude pour ses encouragements ainsi que pour l'aide précieuse, pour le temps, la patience et les conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer. Aussi il a su être disponible tout le long de ce travail, et j'ai eu l'honneur et le plaisir d'avoir côtoyer un enseignant d'une telle qualité.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur **B. TABTI** à l'université de Tlemcen pour toute l'aide qu'il m'a apporté durant mes études universitaires et je le remercie d'avoir bien voulu présider ce jury.

J'exprime ma reconnaissance à Monsieur **N. BENABADJI**, Professeur à l'université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail tout au long de sa préparation.

Mes chaleureux remerciements vont également à Monsieur le Professeur **O. BENSALID** pour ses précieux conseils et l'enrichissement scientifique dont j'ai bénéficié et je le remercie d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse aussi mes remerciements les plus sincères à Madame **S. MERIAH** pour l'aide précieuse, les conseils fructueux et les encouragements tout au long de mon travail, et pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes vifs remerciements vont aussi à Monsieur **J. KAJIMA MULENGI**, Professeur à l'université de Tlemcen et directeur du laboratoire COSNA, pour ces conseils fructueux.

Mes remerciements vont également à monsieur **C. BENAMMAR**, chargé de cours à l'université de Tlemcen pour son aide.

Je remercie Monsieur **A. DIB** et Monsieur **R. CHADLI** pour l'aide précieuse, les conseils fructueux et les encouragements tout au long de mon travail.

Je remercie, Monsieur **B. BENGUELLA**, Madame **BENYAROU** et Madame **N. MERAD** pour leur aide.

Je tiens également à remercier Monsieur **D. BENDI ABDELLAH**, pour l'aide qu'il m'a apportée dans la réalisation des analyses IR.



Je tiens à remercier Madame **M. BELARBI**, pour l'aide qu'elle m'a apportée dans la réalisation des dosages des métabolites primaires.

Je remercie Monsieur **N. DJABOU**, pour l'aide qu'il m'a apportée dans la réalisation des analyses des huiles essentielles par CPG et CPG/SM.

Je remercie **RACHID, IMEN**, et toute l'équipe de biologie.

Mes sincères remerciements vont également à Monsieur **N. BENHAMMOU** et monsieur **B. KHALDI**.

Mes remerciements vont à tous les membres de ma famille pour le soutien moral constant et la patience qu'ils m'ont témoignée tout au long de ce travail.

Enfin je remercie à tous ceux que j'ai croisés, à tous mes amis et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents qui n'ont jamais douté de moi et qui m'ont aidé et encouragé tout au long de mes études, ainsi que pour leur patience, leur soutien moral et leur amour et surtout leur compréhension, et cela m'a beaucoup facilité la tâche, un grand merci **maman** et **papa**.

A mes frères : Mohamed, Abou Bekr et Djamel.

A ma sœur unique Nassima.

A mes grandes mères.

A mon fiancé Omar et sa famille.

A mes oncles et mes tantes.

A mes cousins et cousines surtout : Adil, Saleh, Toufik, Zakia, Asma, Fatima.....

A toute la famille FEKIH, KADROUCI et GHERDINE.

A tout les amis que j'ai rencontré durant mes études surtout: Batoul et son fils (Malik), Amel, Nawel, Fadéla, Karima, Kawther, Radouane, Reda



Sommaire

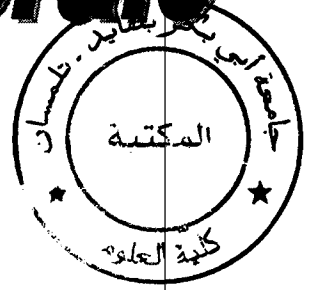
	Pages
Introduction générale	1
Références bibliographiques.....	3
Chapitre I : Utilisation des plantes médicinales	4
I.1. Introduction	4
I.2. Des chiffres de l'O.M.S sur la phytothérapie	4
I.3. Bref historique.....	4
I.4. Définition des plantes médicinales	5
I.5. La cueillette des plantes médicinales	5
I.6. Le séchage des plantes médicinales	5
I.7. La conservation des plantes	6
I.8. Préparation des plantes médicinales	6
I.9. Le pouvoir des plantes	6
I.10. Des plantes à utiliser avec précaution.....	6
I.11. Recherche de nouveaux médicaments	6
I.12. Conclusion	7
Références bibliographiques.....	8
Chapitre II : Principes actifs des plantes médicinales	9
II.1. Introduction	9
II.2. Métabolites primaires.....	14
II.3. Les métabolites secondaires.....	24
Références bibliographiques.....	26
Chapitre III : Etude Botanique de <i>Zizyphus lotus</i> L. (Rhamnacées)	27
III.1. Présentation des Rhamnacées	27
III.2. Présentation générale de la plante étudiée.....	28
Références bibliographiques.....	32
Chapitre IV : Etude bibliographique - <i>Zizyphus lotus</i> L. -	33
IV.1. Introduction.....	33
IV.2. La chimie de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	33
IV.3. Activité biologiques des extraits de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	38
Références bibliographiques.....	39
Chapitre V : Etude Chimique de <i>Zizyphus lotus</i> L.	40



V.1. Introduction.....	40
V.2. Origine et période de récolte	40
V.3. Examen phytochimique.....	41
V.4. Extractions sélectives.....	43
V. 5. Détermination des teneurs en éléments nutritionnels.....	54
V.6. Conclusion.....	60
Références Bibliographiques.....	61
Généralités.....	63
Chapitre VI : Partie expérimentale.....	64
VI.1. Examen phytochimique	64
IV.2. Extraction sélectives.....	64
IV.3. Détermination des teneurs en éléments nutritionnels.....	66
Conclusion générale.....	70



Introduction Générale



Introduction générale

La science des plantes médicinales est vieille comme le monde et semble avoir pris naissance en même temps que l'homme. Elle s'est développée parallèlement dans toutes les civilisations avant de se croiser, suivant le jeu des conquêtes et des voyages.

Avec la venue de la science médicale qui n'accordait aucun crédit aux vertus médicinales des plantes, les traditions se sont perdues, et ont été mal transmises. Il est donc difficile de discerner parmi toutes les histoires de bonnes femmes, les recettes de grands-mères et les traditions folkloriques les véritables usages des plantes médicinales. Nos grands-mères savaient mais ne comprenaient pas toujours, certaines de leurs connaissances furent mal transmises et d'autres étaient mauvaises [1].

Les plantes médicinales ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé des hommes [2]. A l'heure actuelle, les substances naturelles dans les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles représentent près de 60% des médicaments, dont nous disposons [3]. Les 40% restants ou médicaments de synthèse sont souvent nées de la modification chimique de molécules ou parties de molécules naturelles prises comme tête de séries [2].

La méthode globale de travail que nous avons adopté, est basée sur une action pluridisciplinaire, visant une valorisation d'une plante de la flore de la région de Tlemcen, utilisée en médecine traditionnelle permettant de relier conformément les éléments d'informations apportés par les ethnobotanistes, au travail des chimistes et des biologistes.

La plante que nous avons retenue est une dicotylédone. Il s'agit d'une Rhamnacée, *Zizyphus lotus* L., appelée localement Sedra. Le choix de celle-ci a été guidé par les indications d'usage traditionnel mais aussi par le fait que cette plante appartient à une famille botanique où nous trouvons des groupes chimiques ayant des activités biologiques variées.

Zizyphus lotus L. est un arbuste très épineux [4] préconisée, localement, pour les diabétiques [5]. Elle est employée, en médecine populaire, pour soigner le tube digestif, du foie et des affections respiratoires [4], et est connue pour ses activités : anti-inflammatoire, antiulcérogénique, analgésique, antibactérienne [6-8].

Pour notre part, nous souhaitons contribuer à la valorisation de *Zizyphus lotus* L. de la région de Tlemcen. Cette valorisation est envisagée selon plusieurs axes parmi lesquels la recherche des principes actifs, de nouvelles activités biologiques, une évaluation des taux des éléments nutritionnels, etc.

Ce mémoire est réalisé en six chapitres :

- Un premier chapitre consiste en une étude générale sur la phytothérapie et l'intérêt des plantes médicinales.
- Le deuxième chapitre consiste à l'étude des principes actifs des plantes médicinales.
- Le troisième et le quatrième chapitre consistent en une étude bibliographique sur la description botanique de *Zizyphus lotus* L., et les travaux dont elle a fait l'objet.
- Au cours du cinquième et du sixième chapitre nous visons l'exploitation générale de la plante et ceci *via* des tests phytochimiques basés sur des réactions simples de coloration et de précipitation spécifiques réalisés dans des tubes à essais. Ils permettent de caractériser les différentes familles de composés chimiques existantes dans la plante. Cette étape est suivie par l'extraction des alcaloïdes des racines et les huiles essentielles des fruits. Enfin, nous avons déterminé les teneurs des métabolites nutritionnels, par différentes méthodes de dosage, dans tous les organes de la plante étudiée.

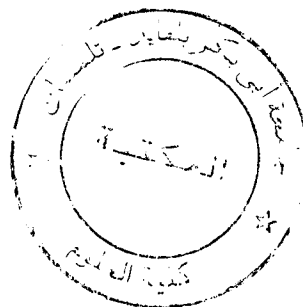
La contribution des laboratoires suivants a énormément aidé à la réalisation de ce modeste travail:

- Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyse (COSNA), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- Laboratoire de Spectrochimie et Pharmacologie Structurale (SCPS), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- Laboratoire de Chimie des Produits Naturels (CPN), Université de Corse, France.
- Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA), Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.



Références bibliographiques

- [1] M. Provost, Les plantes qui guérissent, Quebec, 1991, ISBN 2-89406-054-8, p.12.
- [2] J.G. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, Les plantes médicinales - De la plante au médicament, Observation du monde des plantes, 2000.
- [3] L. Girre, les plantes médicinales et les médicaments : L'origine de nos médicaments, Paris, 2006, ISBN 2-603-01377-7, p.10.
- [4] F. Baba Aissa, Encyclopédie des plantes utilisée. Flore d'Algérie et du Maghreb - Substance végétale, Edition EDAS, 2000, p.145.
- [5] H. Allali, H. Benmehdi, M.A. Dib, B. Tabti, S. Ghalem, N. Benabadji, Phytotherapy of diabetes in west Algeria, *Asian journal of chemistry*, 2008, 20 (4), 2701-2710.
- [6] W. Borgi, K. Ghedira, N. Chouchane, Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks, *Fitoterapia*, 2007, 78, 16-19.
- [7] W. Borgi, M.C. Recio, J.L. Rios, N. Chouchane, Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam., *South African journal of botany*, 2008, 74, 320-324.
- [8] W. Borgi, A. Bouraoui, N. Chouchane, Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extrats, *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 112(2), 228-231.



Chapitre I



Chapitre I : Utilisation des Plantes Médicinales

I.1. Introduction

La phytothérapie est une science des plantes médicinales [1], elle vient du mot grec « phytos » : plante et « Thérapie » : traitement, signifie traitement par les plantes [2]. L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu et revêt une importance sanitaire et économique croissante [3]. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan. Nous distinguons 2 types de phytothérapie [4] :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne, basée sur l'utilisation des plantes médicinales selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S), cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans les pays en voie de développement. C'est une médecine parallèle du fait l'absence d'études cliniques.
- Une pratique basée sur l'avancée scientifique et la recherche des principes actifs des plantes [5].

I.2. Des chiffres de l'O.M.S sur la phytothérapie [6]

En Afrique, jusqu'à 80% de la population utilise la médecine traditionnelle. Précisément dans certains pays d'Afrique, les plantes médicinales représentent la seule source de médicaments pour près de 90% de la population. Dans les pays asiatiques, cette médecine continue d'être largement utilisée.

En Chine, l'utilisation des remèdes traditionnels représente 40% de tous les soins de santé.

Pour certains pays de l'Amérique latine, il a été rapporté que 71% de la population de Chili et 40% de la population de Colombie ont utilisé la médecine traditionnelle.

I.3. Bref historique

L'utilisation des plantes médicinales est encore aujourd'hui la forme de médecine la plus répandue à travers le monde. Cependant, vers la fin du XIX^e siècle, elle a connu un rapide déclin en Occident avec l'avènement de la médecine scientifique et l'apparition des médicaments modernes (aspirine, antibiotiques, cortisone, etc.). Toutefois, depuis les années 1970, entre autre à cause des effets indésirables des médicaments de synthèse, les gens se tournent de nouveau vers les plantes médicinales.



Leur popularité grandissante a amené les scientifiques à entreprendre de nouvelles recherches. Par exemple, (O.M.S.) et la Communauté européenne ont créé des organismes visant à recenser les usages traditionnels des plantes médicinales, à les valider sur le plan scientifique et à mieux comprendre leurs mécanismes sous-jacents [7].

I.4. Définition des plantes médicinales

Une plante est dite médicinale lorsqu'au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses [8].

I.5. La cueillette des plantes médicinales

Les propriétés médicinales et les qualités culinaires des nombreuses herbes et autres végétaux proviennent des principes actifs et aromatiques qu'ils contiennent. Donc la récolte n'est opportune qu'au moment où les organes recherchés sont le plus richement pourvus de ces principes actifs et de ces arômes.

Il est toujours préférable de procéder à la récolte par un temps sec, et la cueillette sera au début de la matinée après le lever du soleil. Il faut choisir uniquement des plantes saines et éliminer les plantes fileries, tachées décolorées, mangées par les insectes ou poussant à proximité des champignons. Aussi, il ne faut jamais mélanger les plantes de différentes espèces pendant la cueillette et essayer d'étiqueter les récoltes en prenant grand soin de différencier chacune d'elles, en fonction de chaque espèce et en fonction du temps [9, 10].

I.6. Le séchage des plantes médicinales

En plein de soleil, les plantes médicinales récoltées perdent leurs principes actifs et huiles essentielles qui sont détruites par la chaleur et elles se décolorent par l'action de la lumière vive, c'est surtout vrai pour les fleurs qui sont, en général, les plus atteintes par l'action de la lumière. Le maximum de température admise pour la dessiccation des plantes contenant des huiles essentielles est 30°C. Pendant le séchage, nous devons :

- Séparer les plantes les unes des autres,
- Étaler les différentes parties des plantes sur des papiers très propres et sans odeur.
- Aussi, il faut tourner les plantes de temps en temps sur toutes leurs faces surtout les premiers jours de la dessiccation.

Les racines et les écorces doivent être lavées, et découpées en petits fragments avant le séchage. Il est préférable dans leur cas de les exposer au soleil pour quelques heures au début pour entamer leur dessiccation et nous pouvons terminer celle-ci dans un local avec les conditions précédentes [9].



I.7. La conservation des plantes

Avant le stockage des plantes, il faut bien vérifier qu'elles sont parfaitement séchées car la moindre trace d'humidité déclencherait des moisissures qui rendraient la drogue inutilisable. Les plantes sont suffisamment sèches lorsqu'elles se brisent ou se cassent avec un bruit. Les drogues sèches doivent être placées dans des récipients bien secs, ou dans des sacs en papier.

Elles ne doivent pas être conservées dans des boîtes ou des sacs en plastiques ordinaires, comme le polyéthylène. Des expériences ont démontré qu'ils entraînaient des modifications et que les végétaux qui y avaient séjourné n'avaient plus la même efficacité. De plus ces matières absorbent les huiles essentielles de la plante et peuvent ensuite les laisser volatiliser vers l'extérieur [9].

I.8. Préparation des plantes médicinales

La phytothérapie utilise les plantes ayant des propriétés médicinales. Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teintures, poudre, extrait. Les plantes médicinales peuvent être des espèces sauvages d'où la nécessité de l'identification précise des plantes employées.

L'identification précise des plantes représente une nécessité concrète, car elle est la base de l'utilisation sécuritaire des produits de santé naturels à base des plantes [3]. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur le conseil d'un spécialiste [5].

I.9. Le pouvoir des plantes

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Depuis le XVIII^e siècle, au cours de quel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent, nous considérons les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs [5].

I.10. Des plantes à utiliser avec précaution

Si les plantes sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires. Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être utilisées avec précaution [5].

I.11. Recherche de nouveaux médicaments

Depuis plusieurs décennies, l'industrie pharmaceutique se demande s'il est préférable d'élaborer de nouveaux médicaments par synthèse en laboratoire ou par analyse des constituants chimiques des plantes.



La majorité des médicaments commerciaux raffinés d'origine végétale proviennent d'une centaine d'espèce de plantes.

Dans l'ensemble, la synthèse des médicaments tend à supplanter la recherche de médicaments naturels, parce la recherche sur les plantes nécessite beaucoup de main-d'œuvre et que les essais réalisés, au hasard, sur les plantes ont un taux de rendement relativement faible [11].

I.12. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons présenté un résumé sur l'utilisation des plantes médicinales et leur importance dans la médecine traditionnelle. Pour savoir l'efficacité des plantes, il faut s'intéresser aux molécules responsables de leurs vertus thérapeutiques, c'est-à-dire les éléments actifs des plantes, ce que nous allons présenter, en détail, dans le chapitre suivant.



Références bibliographiques

- [1] M. Provost, Les plantes qui guérissent, Quebec, 1991, ISBN 2-89406-054-8, p.12.
- [2] E. Carillon, La phytothérapie face à l'évolution médicale, 2000.
- [3] Organisation mondiale de la santé, Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, 2000.
- [4] D. Lamnaouer, Plantes médicinales du Maroc : Usage et toxicité, 2000.
- [5] Larousse, Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins, 2001, ISBN 2-03-560252-1, p.12-22.
- [6] Organisation mondiale de la santé, Médecine traditionnelle, 2003.
- [7] D. Bonneval Patrice, L'herboristerie, manuel pratique de la santé parles, DésIris, 1999, p.72.
- [8] J. Bruneton, Pharmacognosie – Phytochimie - Plantes médicinales, 2ème Edition, Tec & Doc, Paris, 1999, ISBN 2-7430-0315-4, p.10.
- [9] Y. Hammouchi, La thérapeutique par les plantes les plus connue en Algérie, Palais du livre-Blida, 1999, p. 101-106.
- [10] J.J. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, Les plantes médicinales - De la plante au médicament, Observation du monde des plantes, 2000.
- [11] Ernest Small, Paul M. Catling, Les cultures médicinales canadiennes, Edition NRC, Research, 2000, p.12-19.



Chapitre II



Chapitre II : Principes Actifs des Plantes Médicinales

II.1. Introduction

Les plantes synthétisant des éléments du sol et de l'atmosphère absorbent par les racines et par les feuilles : l'eau, l'air, les matières minérales et inorganiques. Le processus de base est l'assimilation photosynthétique du gaz carbonique, appelé simplement photosynthèse. Les premiers produits de la photosynthèse sont des substances à base moléculaire appelées métabolites primaires. Ensuite sont produits les métabolismes secondaires [1].

II.2. Métabolites primaires

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base : lipides, protéines, carbohydrates. Les métabolites primaires sont produits en quantité élevée par les plantes [2]. Parmi les métabolites primaires nous avons :

2.1. Protéines

2.1.1. Définition

Les protéines furent découvertes par le chimiste hollandais Gerhard Mulder. Le terme protéine vient du grec « *protos* » qui signifie premier essentiel [3].

Les protéines sont des polymères formées à partir de 20 monomères différents. Ces monomères sont des α -amino acides qui s'unissent par des liaisons peptidiques pour donner des chaînes polypeptidiques linéaires [4].

2.1.2. Propriétés physico-chimiques

Les protéines sont des substances à masse moléculaires élevées qui par hydrolyse, libère des acides aminés. Elles absorbent la lumière UV à 278 nm.

2.1.3. Fonction et rôle biologique des protéines

Les protéines sont la source d'énergie principale des cellules. Celles des aliments sont fragmentées dans le tube digestif en acides aminés, absorbées dans le sang, puis dans les cellules qui s'en servent pour élaborer leurs propres protéines correspondant à 14 Kilo calories chez l'adulte.

Elles ont des fonctions diverses :

- Catalyse : de nombreuses enzymes sont des protéines.
- Transport : l'hémoglobine transporte l'oxygène des poumons aux organes.
- Communication : de nombreuses hormones, comme l'insuline, sont des protéines et peuvent transporter un message à travers tous l'organisme [3-5].



2.2. Glucides

2.2.1. Définition

Les glucides ou les sucres sont les biomolécules les plus répandues dans la terre, présents soit sous forme de monosaccharide, soit sous forme de polysaccharides [6, 7]. Les molécules de glucides existent sous deux formes : linéaire et cyclique. Dans le cas de la molécule cyclique le groupement carbonyle n'est plus visible.

Les glucides se trouvent :

- Chez les végétaux : la photosynthèse, à partir du gaz carbonique et de l'eau, le glucose. Ce dernier est stocké sous forme d'amidon ou est transformé en cellulose.

- Chez les animaux : la majeure partie est apportée par l'alimentation et est d'origine végétale [8].

2.2.2. Propriétés physico-chimique

Les glucides sont en général, très hydrophobes : leurs nombreux groupements hydroxyyles établissent des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau. De plus, les groupements aldéhydes ou cétone, qu'ils contiennent, leur confère un caractère réducteur (en milieu alcalin et à chaud, le glucose réduit Cu^{2+} de la liqueur de Fehling en Cu^+) [8].

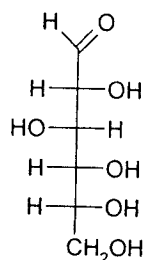
2.2.3. Classification des glucides

2.2.3.1. Les monosaccharides (oses simples) [6, 9]

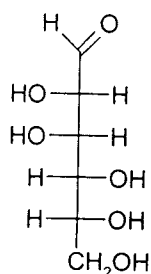
Les oses sont des molécules à chaîne carbonée non ramifiée, caractérisés par la présence d'une fonction carbonylée aldéhydrique (*aldoses*) ou cétonique (*cétose*), et dont tous les autres atomes de carbone portent des fonctions alcools.

- Dénomination

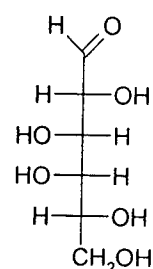
La dénomination générale repose sur le nombre d'atome de carbone de la molécule, et sur la nature de leur fonction carbonylée. La numérotation des atomes de carbone se fait en partant du carbone aldéhydrique chez les aldoses ou cétonique, chez les cétooses, de telle façon que le carbone cétonique ait l'indice le plus bas.



D-Glucose



D-Manose



D-Galactose

Figure 1 : Formules développées des oses les plus connus.

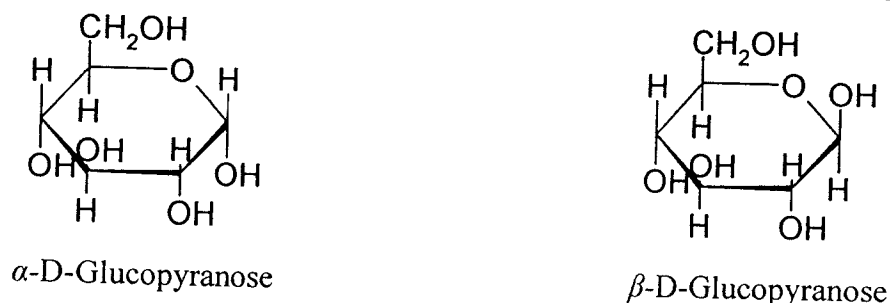


Figure 2 : Formules cycliques du D-Glucose.

2.2.3.2. Les osides [7]

Les osides résultants de la combinaison, par l'intermédiaire des liaisons dites osidiques, de plusieurs molécules d'oses (holosides), ou d'oses avec des composés non glucidiques (hétérosides) :

- Holosides : Le composé résulte de la combinaison d'oses. Selon le nombre d'unités constitutives nous distinguons les oligosides (moins de dix unités) et les polysaccharides (plus de dix unités).
- Hétérosides : Le composé résulte de l'établissement d'une liaison osidique entre un sucre et une molécule non osidique.

2.2.3.3. Les polyosides

Ces molécules sont formées par la réunion d'un nombre variable d'unités d'oses, nombre qui peut aller de quelques dizaines à quelques milliers.

L'amidon est la substance glucidique de réserve. Il se présente dans les cellules sous forme de grains qui sont composés de deux substances distinctes, l'amylose et l'amylopectine. L'amylose est une molécule constituée de l'enchaînement linéaire de molécules de glucose en liaison glycosidique α -(1→4). Le nombre d'unités est variable selon les espèces, et peut aller de 1000 à 4000.

L'amylopectine se distingue de l'amylose par la présence de ramifications placées toutes les 25 à 30 unités de glucose. Les branchements sont effectués par des liaisons (1→6) [6].

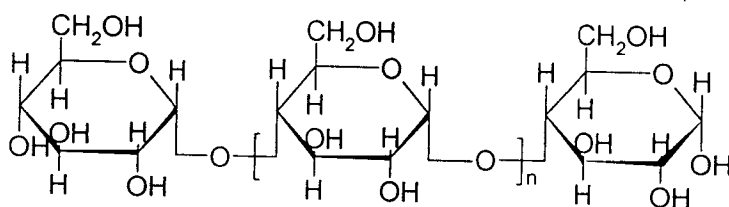


Figure 3 : Structure de l'amylose.



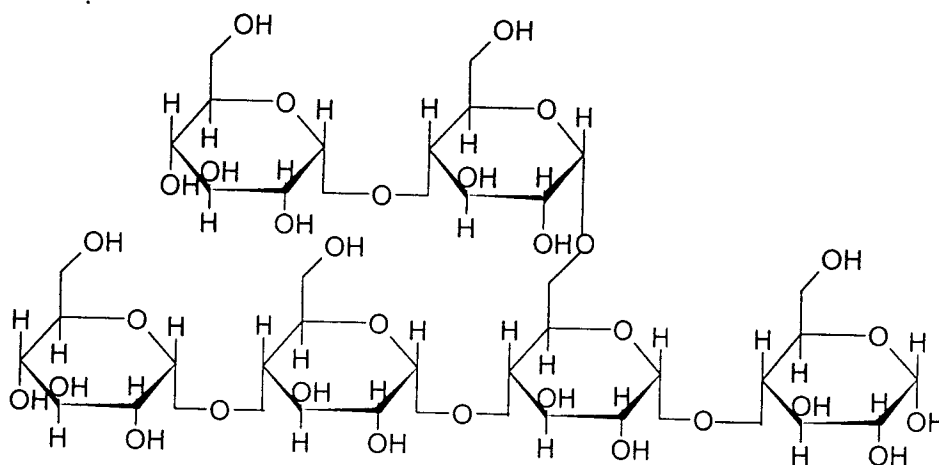


Figure 4 : Structure de l'amylopectine.

2.2.4. Importance biologique

Leurs rôles sont multiples:

- Au niveau extracellulaire, nous trouvons les glucides sous forme de fibres ou gel. Ils soutiennent et protègent les substances biologiques. Exemple : la cellulose de la paroi des cellules végétales.
- Au niveau intracellulaire : L'oxydation des glucides est l'une des voies essentielles de production d'énergie dans les cellules.

2.3. Lipides

2.3.1. Définition

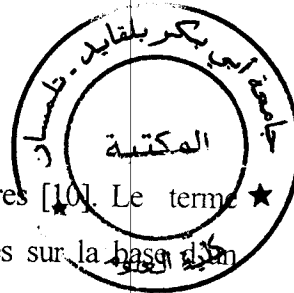
Les lipides forment une famille complexe de matériaux biomoléculaires [10]. Le terme lipide vient du mot grec «*lipos*» signifiant graisse, et regroupe des composés sur la base d'un caractère physique commun : insolubilité dans l'eau.

2.3.2. Propriétés physico-chimiques

Les lipides sont une famille de molécule très particulière. Ils sont amphiphiles, présentant un coté apolaire et un coté polaire. Ces particularités les mènes à constituer, en solution dans l'eau, des structures dans lesquelles le pôle hydrophobe est enfoui dans la structure alors que l'extrémité polaire s'expose au contact de l'eau à la surface. Ils sont insolubles dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques tels que l'acétone, le chloroforme, benzène [11].

2.3.3. Rôle biologique

Les fonctions biologiques des lipides sont très diverses. Les graisses et les huiles qu'ils renferment servent à stoker l'énergie. Les phospholipides et les glycolipides sont les principaux constituants des membranes biologiques. D'autres lipides ont une fonction hormonale, tels que les stéroïdes. Certains sont des pigments qui absorbent la lumière et peuvent être aussi des transporteurs de messages dans la cellule [6].



2.3. 4. Classification des lipides

Habituellement, nous distinguons les lipides simples, et les lipides complexes, notamment, les phospholipides et les glycolipides. Ils jouent un rôle fondamental dans les organismes vivants [9].

2.3.5. Quelques structures des lipides

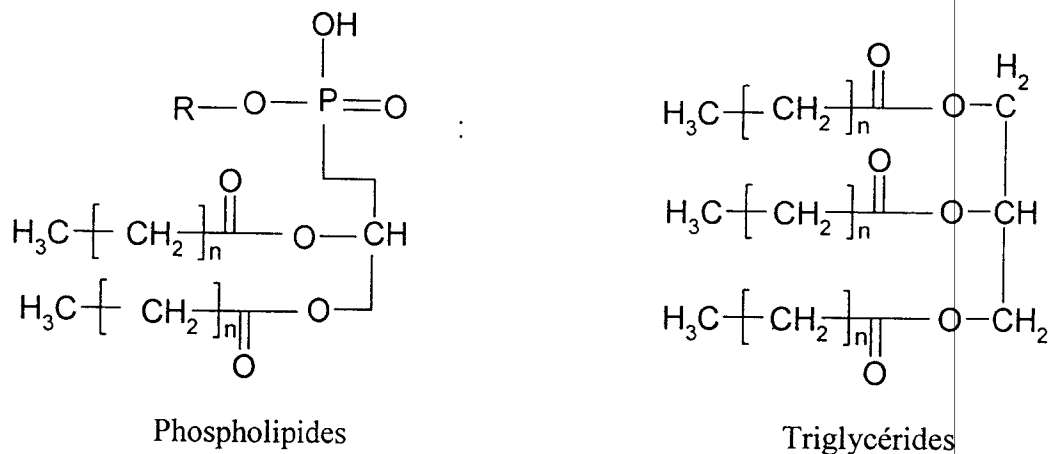


Figure 5 : Quelques structures des lipides.

2.3.6. Les acides gras

2.3.6.1. Généralité

Les acides gras sont les briques de base de nombreux lipides, dont les lipides énergétiques. Ce sont des acides carboxyliques à longues chaînes aliphatiques [8]. Ils existent rarement à l'état libre dans la cellule.

2.3.6.2. Classification des acides gras

La majorité des acides gras végétaux se répartissent en deux groupes : les acides gras saturés et leurs homologues insaturés [6].

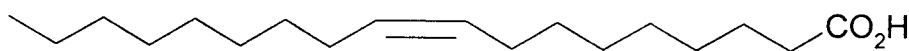
2.3.6.2.1. Les acides gras saturés

Les acides gras saturés sont constitués d'une chaîne hydrocarbonée ne comportant pas de doubles liaisons. Leur formule générale est $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$. Le plus souvent la chaîne possède un nombre pair de carbones.

Les plus fréquents sont l'acide palmitique à $\text{C}_{16:0}$ et l'acide stéarique à $\text{C}_{18:0}$.

2.3.6.2.2. Les acides gras insaturés

Les acides gras insaturés ont une ou plusieurs doubles liaisons. A l'état naturel, les insaturations sont en configuration cis.



Acide oléique

Figure 6 : Structure de l'acide oléique ($\text{C}_{18:1} \Delta^9$).

2.3.6.3. Nomenclature des acides gras

La nomenclature des acides gras comporte le nombre de carbones suivit du nombre de liaisons doubles puis les positions de celles-ci sont indiquées par le nombre mis en exposant après le signe Δ [3].

2.3.6.4. La composition des acides gras

La détermination de la composition des acides gras est aisée. Elle est réalisée à partir des esters méthyliques préparés par réaction d'estérification. Cette méthode est, de loin, la plus utilisée pour l'analyse des corps gras. Notons que la connaissance de la composition en acides gras n'est pas toujours suffisante pour affirmer la pureté de l'huile analysée : des essais complémentaires sont nécessaires, en particulier, des traceurs que constituent certains constituants de la fraction insaponifiable.

Les principaux constituants de l'insaponifiable sont les caroténoïdes, les stérols, les alcools terpéniques, les hydrocarbures etc. [9].

2.3.6.5. Propriétés des acides gras

A température ambiante, les acides gras sont sous forme liquide si leur chaîne carbonée compte moins de 10 atomes de carbones. Dans le cas contraire, ce sont des solides. Ils sont tous insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques ; ils forment aussi des sels : c'est la base de l'industrie des savons et détergents [9].

2.4. Minéraux

De nombreuses plantes médicinales sont très riches en minéraux, notamment, celles issues de l'agriculture biologique. Ces dernières tirent les minéraux du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme. Dans de nombreux cas, les minéraux contenus dans une plante, que celle-ci soit utilisée sous forme de salade comme le chou vert (*Brassica oleracea*), ou sous forme de complément nutritionnel, comme fucus (*Fucus vesiculosus*), participent activement à son activité thérapeutique dans l'organisme. Nous citons deux exemples très connus dans la littérature : le pissenlit (*Taraxacum officinale*) et la prêle (*Equisetum arvense*). Le premier est un puissant diurétique. Son effet est dû, essentiellement, à sa concentration élevée en potassium. Le second est efficace contre l'arthrite et contribue à réparer le tissu conjonctif grâce à sa forte teneur en silice [12].

II.3. Les métabolites secondaires

Le métabolisme secondaire est une exclusivité du monde végétal. Les produits qui en résultent ne paraissent pas essentielles à la vie de la plante. Ils sont fournis en très faible quantité.



Il existe plus de 20000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique. Ils appartiennent à des groupes chimiques variés souvent complexes et différents selon les espèces. Il y a trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes : les alcaloïdes, les terpènes et les substances phénoliques. Dans notre mémoire nous sommes intéressés, principalement, à l'étude des composés azotés et des huiles essentielles (H.E).

3.1. Les composés azotés (alcaloïdes)

3.1.1. Définition

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meiner au début du XIX^e siècle pour désigner les substances naturelles et organiques comme des bases [9]. Ce sont des substances naturelles provenant, essentiellement, des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique.

Depuis l'identification du premier alcaloïde, à savoir la morphine à partir de l'opium en 1806 [13], plus de 10000 alcaloïdes ont été isolés des plantes [14].

3.1.2. Sources des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes [15], mais nous les trouvons également chez quelques animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles [13, 16]. Ils sont exceptionnels chez les bactéries (Pycocyanine de *Pseudomonas aeruginosa*) et assez rares chez les champignons [9].

3.1.3. Nomenclature des alcaloïdes

Les noms des alcaloïdes se terminent tous par « ine ». Leurs noms triviaux dérivent de :

- Noms des chimistes qui les ont isolés comme la pelletiérine (de Pelletier),
- Plantes dont ils sont extraits comme la cocaïne de la coca, l'atropine de l'*Atropa belladonna*,
- Activité biologique qui les caractérisent comme l'émétine (un émétique, composé qui provoque les le vomissement).

La numérotation n'a pas de règles précises. La plus ancienne est donnée, souvent, en fonction des étapes de la biosynthèse de ces composés [17].

3.1.4. Classification des alcaloïdes

Nous estimons qu'il y a plus de 10000 alcaloïdes différents déjà isolés à partir des sources végétales, animales ou de micro-organismes [14].

La plus part du temps, ils sont produits par différentes voies biosynthétiques à partir des acides aminés tels que la lysine, la tyrosine et le tryptophane dont la structure carbonée reste intacte dans la structure finale de l'alcaloïde [13, 18, 19].



3.1.4.1. Les Alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre. Ils sont toxiques, et ont un large spectre d'activités biologiques. Ces composés ont tous un atome d'azote contenu dans un hétérocycle à l'exception de la colchicine isolé du colchique. Leur biosynthèse s'effectue à partir d'acide aminés et sont, dans les plantes, sous forme de sels de divers acides.

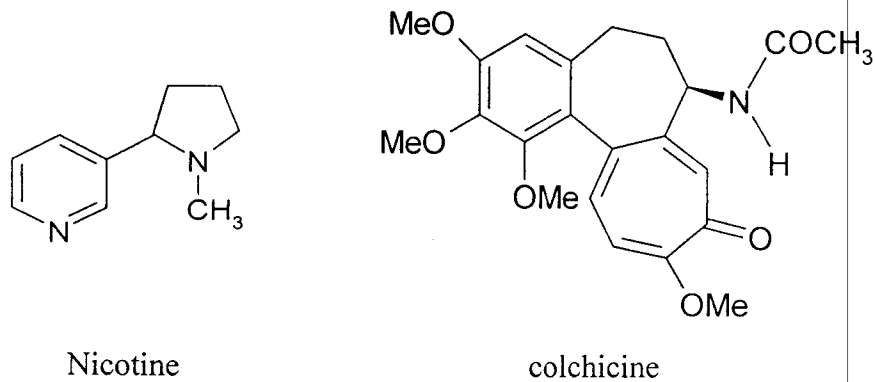


Figure 7 : Structures des alcaloïdes vrais.

3.1.4.2. Pseudo alcaloïdes

Ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

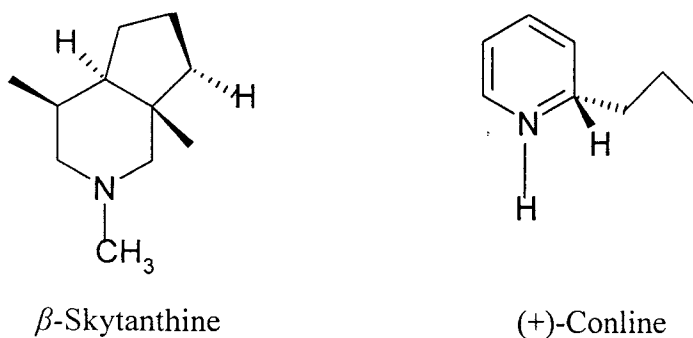


Figure 8 : Structures des pseudos alcaloïdes.

3.1.4.3. Proto alcaloïdes

Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Elles ont un caractère basique et sont élaborées *in vivo* à partir des acides aminés.

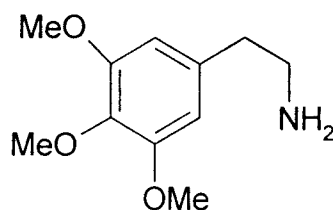


Figure 9 : Structures de la Mescaline.

3.1.5. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

- Les alcaloïdes ont des masses moléculaires variant de 100 à 900 g/mol. Ce sont le plus souvent des solides cristallisables, quelques-uns sont liquides à température ambiante (alcaloïdes généralement oxygénés). Ces composés sont rarement colorés, et sont toujours capables de dévier la lumière polarisée.

- Ils ont un caractère basique et donnent des sels avec les acides minéraux (chlorhydrate, sulfates, nitrates) ou organique (tartrates, sulfamates, etc.)

- Ils sont solubles dans les solvants organiques non polaire (benzène, éther diéthylique, chloroforme, etc.), solubles dans les alcools et insolubles ou peu solubles dans l'eau.

- La basicité des alcaloïdes est très variable. Elle est en fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote.

- Les alcaloïdes précipitent avec certains réactifs spécifiques.

3.1.6. Rôle des alcaloïdes pour le règne végétal

Le rôle des alcaloïdes dans les plantes est souvent inconnu et leur importance dans le métabolisme de la plante n'est pas très bien définie [19]. Une plante peut contenir plus de cent alcaloïdes différents, mais en général leur teneur ne représente pas plus de 10% du poids sec [9]. L'existence des plantes ne contenant pas d'alcaloïdes démontre que ces composés ne sont pas essentiels à leur reproduction. Pourtant, plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent un arsenal chimique de défense des plantes contre des herbivores et des micro-organismes [9, 13, 16, 19,20].

Les alcaloïdes protègent les plantes contre les dommages provoqués par la lumière UV. Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres fragments nécessaires au développement de la plante. Parfois, ils n'ont pas de rôle précis et sont simplement des sous produits du métabolisme végétal.

3.1.7. Détection et caractérisation des alcaloïdes

Actuellement, les méthodes de détection des alcaloïdes employées consistent, dans le cas le plus général, en des réactions de précipitation par des réactifs plus au moins spécifiques. Ces réactions sont fondées sur la capacité des alcaloïdes à se combiner avec des métaux : bismuth, mercure, tungstène, iode. Ils existent plusieurs types de réactifs. Les plus importants sont :

- Réactif de Mayer : une solution neutre de tétraiodomercurate de potassium donne avec les alcaloïdes un trouble accompagné d'un précipité blanc [9].
- Réactif de Wagner : une solution d'iodure de potassium iodé fournie avec les alcaloïdes un précipité brun.
- Réactif de Dragendorff : une solution de tétraiodobismuthate de potassium conduit à un précipité orange en présence des alcaloïdes [9].



3.1.8. Extraction des alcaloïdes

Les alcaloïdes existent, habituellement, dans la plante soit sous forme de sels d'alcaloïdes soit sous forme d'alcaloïdes bases. Leur extraction est basée sur la différence de leur solubilité en milieu acide et en milieu alcalin, d'une part, et dans les solvants organiques polaires et apolaires d'autre part. L'épuisement de la plante, séchée et pulvérisée, se fait à froid par macération ou percolation. Il existe trois types d'extraction. Ces dernières se font par :

- Les solvants organiques apolaires ;
- Les solvants organiques polaires ;
- L'eau acide [21, 22].

3.1.9. Structures et activités biologiques de quelques alcaloïdes

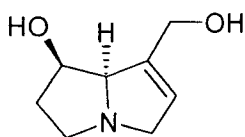
Les alcaloïdes constituent une classe de produits naturels présentant une grande diversité structurale. Leurs propriétés biologiques aussi variées que leurs structures, sont intéressantes. Plusieurs composés de nature alcaloïdique ont fait leurs preuves dans le traitement de différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain.

Nous présentons ci-dessous un bref descriptif des alcaloïdes les plus connus dans la littérature et les plus intéressants cliniquement.

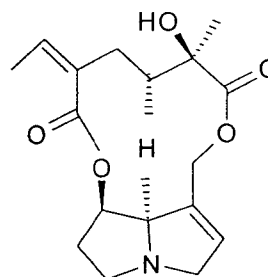
a. Alcaloïdes dérivés de l'ornithine

Dans ce groupe, les pyrrolizidines et les tropanes sont les plus importants. Les pyrrolizidines sont répandues dans la nature, et sont, souvent, présentes dans les plantes qui font partie des familles botaniques suivantes : *Asteracea*, *Boraginaceae*, *Fabaceae* et *Orchidaceae* [23, 24]. Très toxique, ces alcaloïdes ont déjà provoqué des empoisonnements de masse chez les humains et les animaux au milieu du siècle dernier [25].

Parmi les pyrrolizidines naturelles, la rétronécine et la senécionine isolées des espèces *Senecio* et *Heliotropium* sont les plus connues.



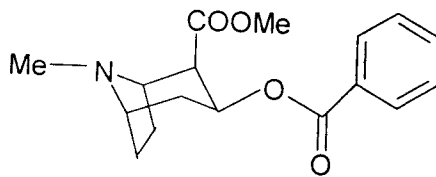
Rétronécine



Senécionine

Figure 10 : Structures du retronécine et senécionine.

La cocaïne, alcaloïde peu abondant, est présente dans les plantes de l'espèce *Erythroxylum*. La source la plus importante de ce composé est l'*Erythroxylum coca*, utilisée depuis l'antiquité comme anesthésique local. Elle a été beaucoup utilisée dans le domaine de l'odontologie. Actuellement et en raison de ses propriétés neurotoxiques, elle a été remplacée par d'autres drogues moins toxiques [18].

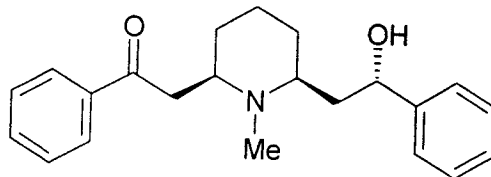


Cocaïne

Figure11 : Structures de la cocaïne

b. Alcaloïdes dérivés de la lysine

Dans ce groupe, nous trouvons les composés pipéridiniques et indolizidiniques. La lobéline, extraite de la *Lobelia inflata*, est utilisée dans les préparations pour lutter contre le tabagisme. L'extrait brut de la plante est utilisé dans le traitement de l'asthme et de la bronchite [24].



Lobéline.

Figure12 : Structures du lobéline.

c. Alcaloïdes dérivés de la tyrosine et de la phénylalanine

Les principales classes de ce groupe sont des composés monocycliques simples comme l'éphédrine, les isoquinoléines telles que la papavérine et berbérine, les benzyl tétrahydro isoquinoléines modifiées telle que la morphine.

L'éphédrine, isolée d'*Ephedra sinica*, est utilisée dans le traitement de l'asthme et également comme analgésique.

La berbérine, isolée de *Berberis vulgaris*, a des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes.

La morphine, isolé de la famille des Opiacées (*Papaver somniferum*), reste encore à ce jour un des analgésiques les plus efficaces utilisés en médecine [19].

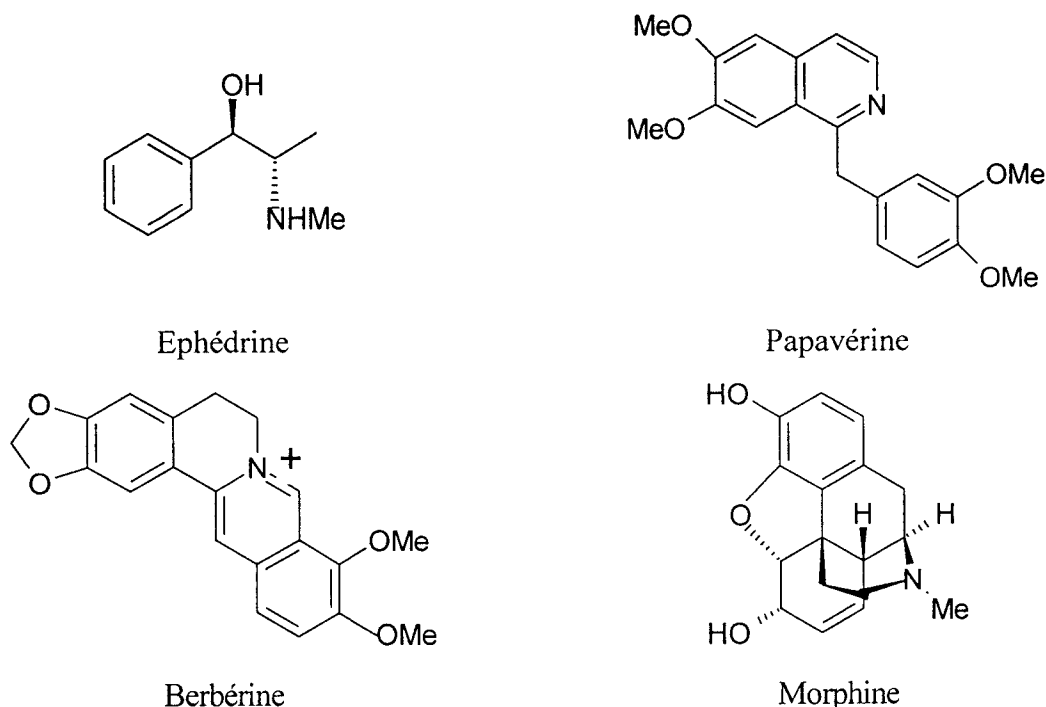


Figure 13 : Structures d'Ephédrine, Papavérine, Berbérine et Morphine.

3.2. Huiles essentielles (H.E)

3.2.1. Définition

Les huiles essentielles sont des produits de composition, généralement, assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont très utilisables : hydrodistillation et expression [9].

3.2.2. Répartition des H.E

Les H.E n'existent, quasiment, que chez les végétaux. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles dont beaucoup sont des Lamiales, des Astérales, des Rutales, mais aussi des Laurales.

Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, fruits et moins habituelle dans les écorces, les racines et les graines [9].

3.2.3. Propriétés physico-chimiques des H.E

Les H.E sont liquides à température ambiante. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est, en général, inférieure à celle de l'eau à l'exception des huiles essentielles de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et sont solubles dans les solvants organiques usuels, et insolubles dans l'eau [9].

3.2.4. Rôle des H.E pour le règne végétal

Nous ne savons pas exactement ce que représentent les H.E pour le règne végétal. Certains pensent qu'il s'agit d'hormones végétales. D'autres considèrent que les huiles sont des messagers



entre les insectes et les plantes. Les plantes les utilisent aussi pour se protéger contre les virus et toute sorte de parasites et de microbes [26].

3.2.5. Facteurs d'influence des H.E

De nombreux facteurs peuvent influencer sur la teneur en H.E d'une plante, et par conséquent, sa composition chimique. Nous citons les plus importants :

Origine botanique : La composition d'une H.E varie en fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'H.E d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique [27].

Origine géographique : Une même plante de différentes régions donne des H.E différentes [28].

Partie de la plante : La composition et le rendement d'une H.E varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extraite [29].

Conservation des plantes : Les plantes doivent être séchées à l'air et à l'ombre. En effet, des modifications chimiques, physiques et biochimiques dues à l'action de la lumière et de la température peuvent influencer sur la qualité d'huile [29].

3.2.6. Méthodes d'obtention des H.E

Il existe plusieurs méthodes pour l'extraction des H.E :

3.2.6.1. Par distillation

Deux méthodes sont décrites ci-dessous :

- La méthode de Moritz : il s'agit d'une hydrodistillation simple qui consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic remplis d'eau. L'ensemble est, ensuite, porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile se sépare par différence de densité.
- La méthode de Parnas-Wagner : dans la distillation à vapeur saturée, la matière végétale est placée sur une grille perforée au dessus de la base de l'alambic et n'est pas en contact avec l'eau. Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation [30].

3.2.6.2. Par enfleurage

C'est une méthode plus guère utilisée, car trop complexe sauf pour les fleurs principalement. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, nous remettons des fleurs fraîches, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les H.E sont séparés [30].



3.2.6.3. Extraction au CO₂ supercritique

Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression fait éclater les poches à essences, et entraîne les H.E qui seront, ensuite, récupérées [9].

3.2.7. Emplois des H.E

Les H.E sont très utilisées en cosmétique et en pharmacie [31]. Dans l'industrie, elles sont employées pour aromatiser les aliments et sont dotées d'un effet antiseptique, antimicrobien [32], antioxydant et antidiabétique [33].

3.2.8. Utilisation des H.E

Les H.E s'utilisent selon différentes voies. Nous pouvons les avaler, les respirer ou les utiliser en application directes sur la peau :

- *La voie orale* : Elle doit être utilisée uniquement sur conseils du médecin aromathérapeute. Nous conseillons de ne jamais prendre une huile pure dans la bouche sous peine de désagréments qui peuvent aller jusqu'à la brûlure. Aussi, il ne faut jamais prendre plus de trois gouttes [34, 35].
- *La voie respiratoire* : Les H.E sont, très vite, absorbées par toutes les petites cellules ciliaires qui tapissent notre arbre respiratoire depuis les fosses nasales jusqu'au bout de nos alvéoles pulmonaires.
- *La voie cutanée* : C'est la voie idéale car efficace et sans danger. Généralement, les huiles sont utilisées à des concentrations très diluées (trois gouttes dans une cuillerée à café). Nous pouvons les employer pour massage ou simplement en application selon la zone et l'affection à traiter. D'autres formes sont aussi possibles : pommades, bain, etc. [36].

3.2.9. Composition chimiques des H.E

Les H.E sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants. Ces derniers appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes de composés caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phényle propane d'autre part [9].



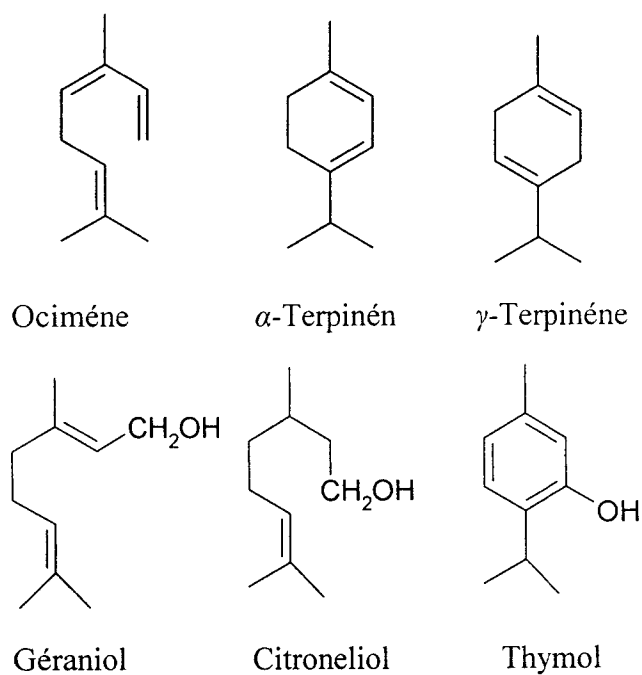


Figure 14 : Exemples de structures de monoterpènes acycliques rencontrés dans les H.E.

Références bibliographiques

- [1] Hamza Mounia, Contribution à l'étude chimique et biologique d'une plante médicinale : *Ruta chalepensis* L., Mémoire de magistère, Université Abou Bekr Belkaïd, 2007.
- [2] J. J. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, Les plantes médicinales : de la plante au médicament 2000.
- [3] L. Stryer, J.M. Berg, Biochimie, Flammarion, Médecine-Science, 5ème Edition, Paris, 2003, ISBN : 2-257-17116-0, p.85.
- [4] C. Bränden, J. Tooze, Introduction à la structure des protéines, Bruxelles, 1996, ISBN : 2-804-121097, p.112.
- [5] S. Weinman, Biochimie, Structure et fonction des protéines, Edition Dunod, 2005, p.43.
- [6] M. Guilloton, B. Quintard, Cours de biochimie, Edition Dunod, Paris, 2003, ISBN : 2 10 0071157, p.57-95.
- [7] P. Campbell, A.D. Smith, Biochimie illustrée, Edition Maloine, Paris, 2006, ISBN : 0443 062188, 222-230, P.92.
- [8] C. Mussard, Biochimie structurale et métabolique, 2^{ème} Edition, De Boeck, 2003, p.69-145.
- [9] J. Bruneton, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^{ème} édition, Tec & doc, 1999, p.625-910.
- [10] G. Hannen, Biochimie, Approche bioénergétique et médicale, 4ème Edition, Dunod, Paris, 2006, ISBN : 2 10 0496182, p.292.
- [11] S. Beaumont, Biochimie, Edition Dunod, Paris, 2005, ISBN 2 10 048977 1, p.53.
- [12] Larousse, Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparations, soins, Edition Larousse, 2001, ISBN 2-03-560252-1, p.16.
- [13] J. B. Harborne, B. Herbert, Photochemical dictionary: A hand book of bioactive compound from plants. Bristol: Taylor & Francis, 1999, p.219.
- [14] J. Beyer, H. Drummer, H. Mauver, Analysis of toxic alkaloids in body samples, Forensic science international, *Forensic Science International*, 2009, 185, 1-9.
- [15] K. Peter, C. Vollhardt, E. Schore, Traité de chimie organique, Edition De Boeck Université, 2004, ISBN 2804145360, p.1125.
- [16] J. Mann, R. S. Davidson, J.B. Hobbs, D.V. Banthorpe, J. B. Harborne, Natural Products, 1994, 7, 389.



- [17] M. François Chau, Bases fondamentales de la chimie organique hétérocycliques, Edition EDP Sciences, **2003**, p730-737.
- [18] P. M. Dewick, Medicinal natural product, Wiley, **2001**, p. 296.
- [19] S.V. Bhat, B. Nagasampagi, M. Sivakumar, Chemistry of natural products, Narosa, New Delhi, **2005**, 4, 237.
- [20] Mauro Neves Muniz, Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, Mémoire de Doctorat, Université Joseph Fourier – Grenoble, **2006**.
- [21] B. Charpentier, F. Hamon-Lorleach, A. Hariary, L. Ridoux, Guide du préparateur en pharmacie, Ed. Elsevier, **2008**, p.1107.
- [22] S. Allegret, P. Bouloc, Groupe France agricole, Le chanvre industriel: Production et utilisations, France Agricole, **2006**, ISBN 2855571308, p.65-67.
- [23] M. Roberts, M. Wink, Introduction, Alkaloids biochemistry ecology and medicinal application, **1998**, p. 414-431
- [24] M. Hartmann, L. Witte, Alkaloïdes: Chemical and biological perspectives Ed. S.W. Pelletier, **1995**, 3, 557.
- [25] A. Rizk, Naturally occurring pyrrolizidines alkaloïdes, Edition CRC Press, Boston, **1991**, p.12.
- [26] A. Holley, Eloge de l'odorat, Edition Odile Jacob, **1999**, p. 276.
- [27] F. Padrini, M. Leucheroni, La nature des huiles essentielles, Edition Dexechi, **1997**, p.124.
- [28] H. Viaud, Les huiles essentielles et leur distillation. Thérapeutique naturelle, **1993**, p.924
- [29] G. Roulier, Les huiles essentielles pour votre santé, Edition Dangles, **2000**, p.336.
- [30] P. Belaiche, Traité de la phytothérapie et l'aromathérapie, l'aromatogramme, Edition Maloine, Paris, **1979**, p.134-147.
- [31] k. Araus, E. Uquiche, J. Dell Vall, Matrix effects in supercritical CO₂ extraction of essential oils from plants material, *Food Engineering*, **2009**, 92, 438-447.
- [32] M. El Ajjouri, B. Satrani, M. Ghanmi, A. Aafi, A. Farah, M. Rahouti, F. Amarti, M. Aberchane, Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre, *Biotechnology and Agronomy*, **2008**, 12(4), 345-351.
- [33] F. Menichini, F. Conforti, D. Rigano, C. Formisano, F. Piozzi, F. Senatore, Phytochemical composition, anti-inflammatory and antitumour activities of four Teucrium essential oils from Greece, *Food Chemistry*, **2009**, 115, 679-686.
- [34] D. Scimeca. Les plantes du bonheur, Edition Alpen, **2006**, p.17.
- [35] R. Garreta, Des simples à l'essentiel: de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales, Presses Université, **2007**, p.308-312.

[36] D. Scimeca, M. Tétou, *Votre santé par les huiles essentielles : le guide pratique pour prévenir et guérir tous les maux quotidiennes, les huiles essentielles pour le corps et l'esprit, leur mode d'utilisation, les meilleures associations*, 2005, Edition Alpen, p.24-26.

Chapitre III



Chapitre III : Etude Botanique de *Zizyphus lotus* L. (Rhamnacées)

III.1. Présentation des Rhamnacées

1.1. Introduction

La famille des Rhamnacées est une famille des plantes dicotylédones qui comprend 900 espèces auprès de 58 genres.

Ce sont des arbres, des arbustes, des lianes ou des plantes herbacées [1, 2].

1.2. Distribution des Rhamnacées

Les Rhamnacées sont présentes dans le monde entier, mais plus particulièrement dans les régions tropicales et subtropicales.

1.3. Description botanique des Rhamnacées [3]

En botanique, la famille des Rhamnacées est décrite comme suit :

- Les feuilles : sont simples, pétiolées, alternes ou opposées. Elles sont nervurées, 3-5 nervures toutes dentelées.
- Les stipules : sont petites, caduques ou persistantes et parfois transformées en épines.
- Les fleurs : sont jaunes verdâtres, et sont rarement aux couleurs éclatantes.
- Les sépales : 4 ou 5, valvaires en boutons, triangulaires.
- Les pétales : 4 ou 5, rarement absentes, en général, plus petites que les sépales.
- Les graines : sont huileuses.

1.4. Usage des espèces de Rhamnacée

L'écorce, les feuilles et les fruits de plusieurs espèces des Rhamnacées ont été utilisés comme laxatifs, notamment *Cathartica* et *Frangula*. Diverses espèces de l'Ancien Monde *Rhamnus* fournissent le jaune et le vert des colorants, ainsi que des médicaments. Les bois d'*Alphitonia*, *Colubrina*, *Hovenia*, et *Zizyphus* espèce sont utilisés pour la construction des beaux meubles et des instruments de musique. De nombreuses espèces de *Zizyphus* donnent des fruits comestibles, parmi lesquelles, *Zizyphus Jujuba* et *Zizyphus Mauritiana* (jujubier indien) [3, 4].



III.2. Présentation générale de la plante étudiée

2.1. Description du genre *Zizyphus*

Le mot *Zizyphus* vient du grec *Zizyphos* mais le mot n'apparaît qu'au deuxième siècle, et qui viendrait du nom arabe *Zizouf*. Environ 100 espèces principalement dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie et des Amériques existent, tandis que quelques espèces vivent en Afrique et dans les régions tempérées [5].

2.2. Culture et sol

Les espèces de *Zizyphus* ont plusieurs caractéristiques physiologiques et morphologiques qui peuvent contribuer à leurs capacités à s'adapter aux environnements arides.

Le jujubier est peu exigeant. Cet arbrisseau a une croissance très lente et commence à porter des fruits vers l'âge de 4 ans. Ils peuvent continuer à paraître vers 20 à 25 ans [5].

2.3. Récoltes

Les fruits sont cueillis parfaitement murs en septembre-octobre. C'est la période au cours de laquelle ils se détachent facilement [5].

2.4. Description botanique [3]

- Les feuilles: sont alternes et pétiolées.
- Les stipules: sont généralement transformées en 1 ou 2 épines.
- Les fleurs : sont jaunes vertes et sont des bisexuelles.
- Les sépales : se présentent sous une forme ovale triangulaire.

2.5. Les membres du genre *Zizyphus*

Il existe environ 122 espèces de ce genre d'en voici seulement une centaine :

- *Zizyphus Mauritiana* Lam : c'est un arbuste à rameaux cotonneux et à feuilles tomenteuses dessous ; fruits très petits.
- *Zizyphus spina-christi* L. Willd. : C'est un arbuste, très épineux avec des rameaux flexibles, grêle disposé en zigzag [6], pouvant atteindre 6 m ; à feuilles ovales glauques et à petits fruits globuleux, plus ou moins ovoïdes (d'environ 15 mm), à pulpe charnue comestible.

Nous avons aussi :

Zizyphus Abyssinica, *Zizyphus Abyssinica sensu*, *Zizyphus Abyssinicus*, *Zizyphus Amole*, *Zizyphus Amphibiens*, *Zizyphus Angolito*, *Zizyphus Angustifolia*, *Zizyphus Angustifolius*, *Zizyphus Benoplia*, *Zizyphus Borneensis*, *Zizyphus Borneensis*, *Zizyphus Cambodiana*, *Zizyphus Cambodianus*, *Zizyphus Celata*, *Zizyphus Chloroxylon*, *Zizyphus Cinnamomum*, *Zizyphus Cotinifolia*, *Zizyphus Crebivenosa*, *Zizyphus Cyclocardia*, *Zizyphus Djamuensis*, *Zizyphus Djsmuensis*, *Zizyphus Elmeri*, *Zizyphus Fibrillosus*, *Zizyphus Floribunda*, *Zizyphus Fungii*, *Zizyphus Gardneri*, *Zizyphus Grewioides*, *Zizyphus Guaranitica*, *Zizyphus Guatemalensis*, *Zizyphus Hamur*, *Zizyphus Havilandii*, *Zizyphus Heteroneura*,

Zizyphus Hutchinsonii, *Zizyphus Hysudricus*, *Zizyphus Incurva*, *Zizyphus Inermis*, *Zizyphus Inoplia*, *Zizyphus Itacaiunensis*, *Zizyphus Javanensis*, *Zizyphus Joazeiro* (Joazeiro), *Zizyphus Jujuba* 'Lang', *Zizyphus Jujuba* 'Li' , *Zizyphus Jujuba* Mill. "Li-Zoa , *Zizyphus Jujuba* var. *Spinosa*, *Zizyphus Jujuba* var. *Stenocarpa*, *Zizyphus Jujube*, *Zizyphus Kunstleri*, *Zizyphus Laui*, *Zizyphus Lenticellata*, *Zizyphus Leucodermis*, *Zizyphus lotus* (Lotus Jujube), *Zizyphus Lotus Lotus*, *Zizyphus Lycioides*, *Zizyphus Melastomoides*, *Zizyphus Mexicana*, *Zizyphus Mistol* (Mistol), *Zizyphus mucronata*, *Zizyphus mucronata obliqua*, *Zizyphus mucronata subcordata*, *Mucronata Zizyphus Mucronata rhodesica*, *Zizyphus Muratianus*, *Zizyphus Nummularia* (Jujube), *Zizyphus Nummularis*, *Zizyphus Oblongifolia*, *Zizyphus Oblongifolius*, *Zizyphus Obtusifolia* (Graythorn), *Zizyphus Obtusifolia* (Hook. ex Torr. & Gray) Gray var. *Obtusifolia* (Hook. ex Torr. & G Z. *obtusifolia* var. *Canescens* (Gray Thorn), *Zizyphus. obtusifolia* var. *Lycioides* (Gray-Thorn), *Zizyphus obtusifolia* var . *Obtusifolia*, *Zizyphus oenoplia*, *Zizyphus oenopolia*, *Zizyphus oligantha*, *Zizyphus oppositifolia*, *Zizyphus palawanensis*, *Zizyphus. papuanus*, *Zizyphus parryi* (Parry's Jujube), *Zizyphus parryi* var. *Parryi*, *Zizyphus. pedunculata*, *Zizyphus platyphyllus*, *Zizyphus pubescens*, *Zizyphus pubescens glabra*, *Zizyphus quadrilocularis*, *Zizyphus reticulata* (Cacao Rojo), *Zizyphus rignonii* (Soana), *Zizyphus rivularis*, *Zizyphus. robertsoniana*, *Zizyphus. rotundifolia*, *Zizyphus roxburghiana*, *Zizyphus rugosa*, *Zizyphus Saeri*, *Zizyphus saharae*, *Zizyphus sarcomphalus* *Zizyphus sativa*, *Zizyphus sonorensis*, *Zizyphus spinosa* (Spiny Jujube), *Zizyphus strychnifolia*.

2.6. Classification botanique [4]

Zizyphus lotus L. appartient à la famille des Rhamnacées. La classification botanique de cet espèce est résumée ci-dessous (Tableau 1) :

Tableau 1: Taxonomie de *Zizyphus lotus* L.

Taxonomie	Description
Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous Classe	Dialypétales
Série	Disciflores
Sous série	Isosténones
Ordre	Celastrales
Famille	Rhamnacées
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i>

2.7. Description botanique de *Zizyphus lotus* L.

Le *Zizyphus lotus* L. appelé également jujubier des Lotophages ou jujubier de Berbérie pousse sur les rives sud de la méditerranée jusqu'en Afghanistan. Il est issu de la famille des Rhamnacées [7]. C'est un arbrisseau sous forme de buisson ne dépassant pas 2.5 m à rameaux flexueux, très épineux gris blanc poussant en zigzag [8].

Les feuilles sont petites courtes, et ovales plus au moins elliptiques de 1 à 2 cm de longeurs et de 7 mm de largeur [9]. Elles sont moins deux fois plus longues que larges, à marges fortement dentées. Elles sont lisses et brillantes sur les deux faces, et présentent trois nervures longitudinales saillantes partant du pétiole [7].

Les fleurs de *Zizyphus lotus* L. sont très visibles de couleurs jaunes avec des sépales ouvertes en étoiles, des petits pétales et un ovaire supère bisexuel et fleurissent en juin [7, 8].

Un fruit ovoïde-olong, ayant la forme et la grosseur d'une belle olive. D'abord vert puis jaune, il devient rouge foncé quand il est mûr, en octobre. Sa pulpe épaisse peut être d'un blanc verdâtre et d'une saveur à la fois douce et acidulée ou brun jaunâtre, un peu glutineuse, à saveur sucrée et fade [9].

2.8. Aire de répartition dans le monde et en Algérie

2.8.1. Dans le monde

L'aire de répartition du *Zizyphus lotus* L. s'étale sur tout le Nord du Maghreb [10]

2.8.2. En Algérie

Zizyphus lotus L. est très répandu dans les régions arides d'Algérie du Sud, Ann Ouessara et Maessad (willaya de Djelfa) à climat aride et Taghit wilaya de Bechar au climat saharien [11]

2.8.3. Appellations

En Français : jujubier, dindonnier ;

En Italien : ginggido;

En arabe : sedra, djerdjer, azar, n'beg.





Figure 15 : *Zizyphus lotus* L.

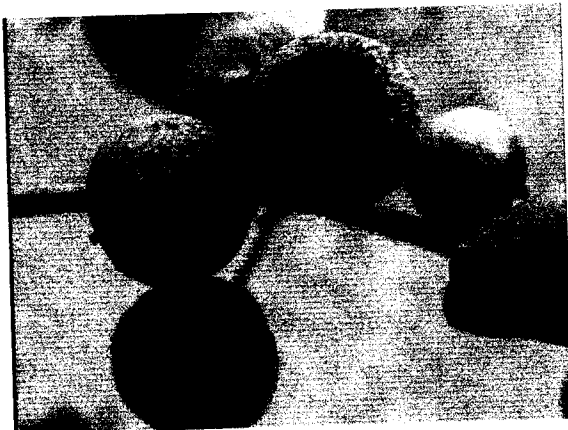


Figure 16 : Fruits de *Zizyphus lotus* L.



Figure 17 : Epine de *Zizyphus lotus* L.



Figure 18 : Fleur de *Zizyphus lotus* L.

2.9. Différentes utilisations de *Zizyphus lotus* L.:

Zizyphus lotus L. est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme sédatif, analgésique, tonique et anti-inflammatoire [8, 11, 12].

Le décocté des racines est utilisé par les personnes diabétiques pour diminuer le taux de glucose dans le sang [13, 14]. Il est, également, utilisé pour soigner le tube digestif et le foie [7].

Les feuilles de *Zizyphus lotus* L. sont utilisées contre les piqûres des vipères au Sahara [15], et les fruits sont préconisés dans le traitement de la gorge et les affections respiratoires [7, 16].



Références bibliographiques

- [1] L. Waston, M.J. Dallwitz, The families of flowering plants, 1992.
- [2] W. Punt, A. Marks, P. Hoen, Rhamnaceae, *Review of palaeobotany and palynology*, 2003, 123, 57-66.
- [3] Chen Yi-ling et Chou pan-Kai, Rhamnacea, 1982.
- [4] C. Catoire, Z. Henri, C. Bouet, Dossier et article édité par fruits oubliés jujubes et jujubier, 1999.
- [5] J. Bonnet, Larousse des arbres - Dictionnaire des arbres et des arbustes, 2001, p.512.
- [6] C. Lemoine, Les fleurs méditerranéennes, Editions Jean-Paul Gisserot, 2005, p.14.
- [7] F. Baba Aissa, Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d'Algérie et du Maghreb - Substance végétale, Edition EDAS, 2000, p.145.
- [8] R. Claudine, Le nom de l'arbre : le grenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l'arbousier. Actes sud le Majan, 1^{er} édition France, 2007, p.45-62.
- [9] E. Bayer, Butter. K, Guide de la flore méditerranéenne, 2000, p.280.
- [10] P. Quezel, S. Santa, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Edition du centre national de la recherche scientifique, Edition CNRS, Paris, 1963, p.616-620.
- [11] S. Mounni, Etude de la fraction glucidique des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L., et *Zizyphus lotus* L., Mémoire de Magistère en Agronomie, Université de Batna, 2008.
- [12] K. Ghedira, R. Chemli, C. Caron, J. Nuzillard, M. Zeches, Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*, *Phytochemistry*, 1994, 38, 767-772.
- [13] M. Lahlou, M. El Mahi, J. Hammouchi, Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* L. Desf, *Annales pharmaceutiques françaises*, 2002, 60, 410-414.
- [14] H. Allali, H. Benmehdi, M.A. Dib, B. Tabti, S. Ghalem, N. Benabadji, Phytotherapy of diabetes in west Algeria, *Asian Journal of Chemistry*, 2008, 20 (4), 2701-2710.
- [15] A. Benchalah, H. Bouziane, M. Maka, Fleur du Sahara, arbres et arbustes, voyage au cœur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili, *Phytothérapie*, 2004, 6, 191-197.
- [16] W. Borgi, A. Bouraoui, N. Chouchane, Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* L. extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 112, 228-231.

Chapitre IV



Chapitre IV : Etude Bibliographique

- *Zizyphus lotus* L. -

IV.1. Introduction

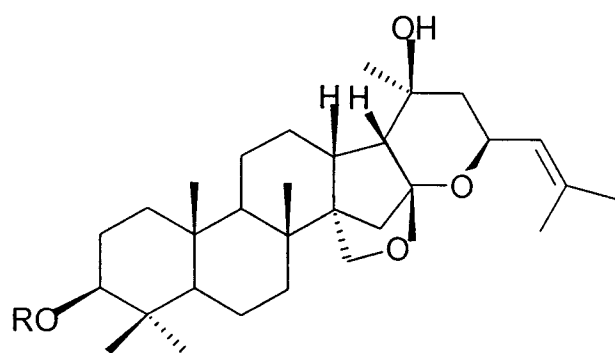
Les travaux des ethnopharmacologues ont mis en relief l'utilisation des plantes médicinales pour l'extraction des principes actifs par l'industrie pharmaceutique. La rationalité industrielle trouve dans cette démarche une base d'innovation pour la mise au point de médicaments nouveaux qui peut être une source de gain de temps dans les processus de recherche et développement.

Plusieurs études chimiques et pharmacologiques récentes font l'objet de *Zizyphus lotus* L. L'étude de cette plante a concerné les différentes parties de la plante (feuilles, racines, fruits). Certains travaux ont conduit à l'identification de quelques molécules, et d'autres ont concerné la détermination des activités biologiques.

IV.2. La chimie de *Zizyphus lotus* L.

2.1. Les saponosides

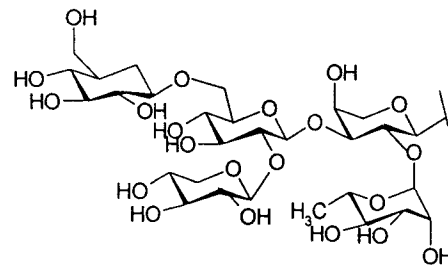
L'analyse par chromatographie de partage centrifuge (CPC) des racines de *Zizyphus lotus* L., a révélé la présence de quatre saponosides : Jujuboside A (1), Jujuboside C (2), Lotoside I (3), Lotoside II (4) [1]. Les structures de ces composés sont représentées ci-dessous :



Structure de base

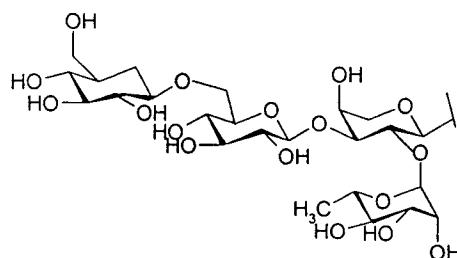
R=H, Jujubogenine

R=



Jujuboside A (1)

R=



Jujuboside C (2)



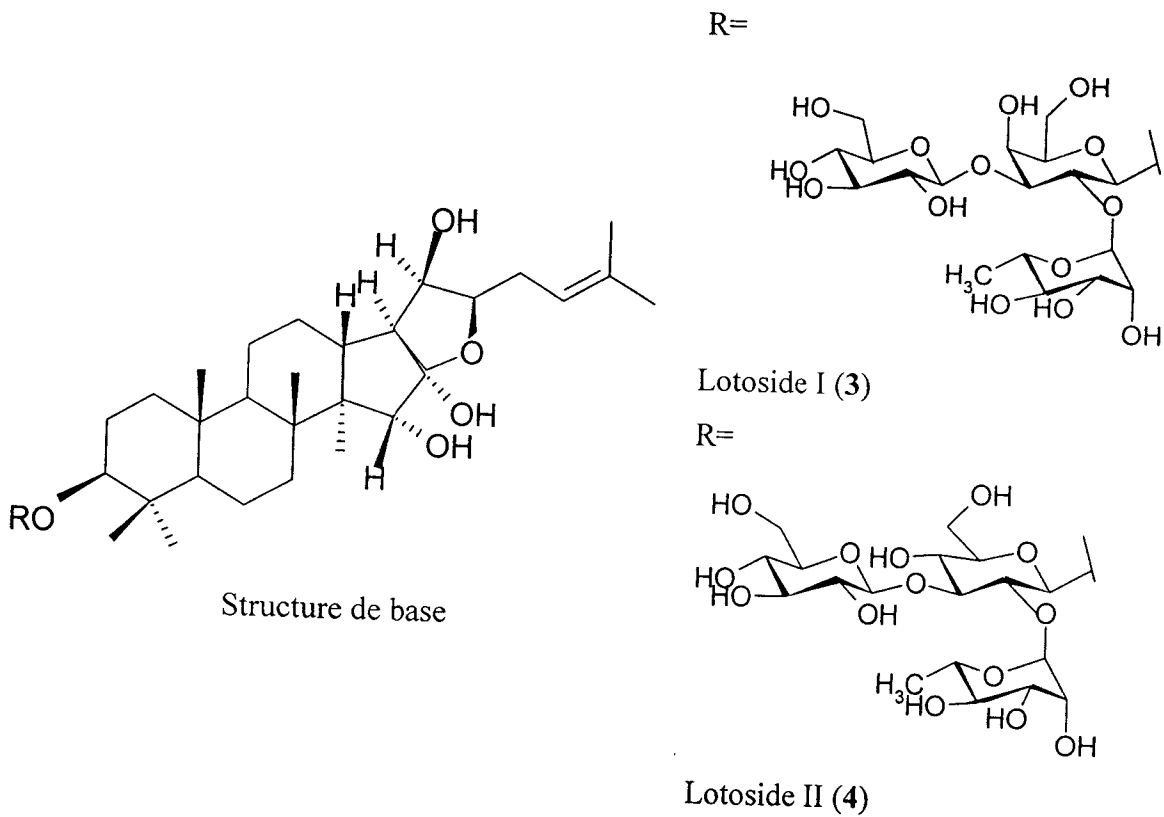
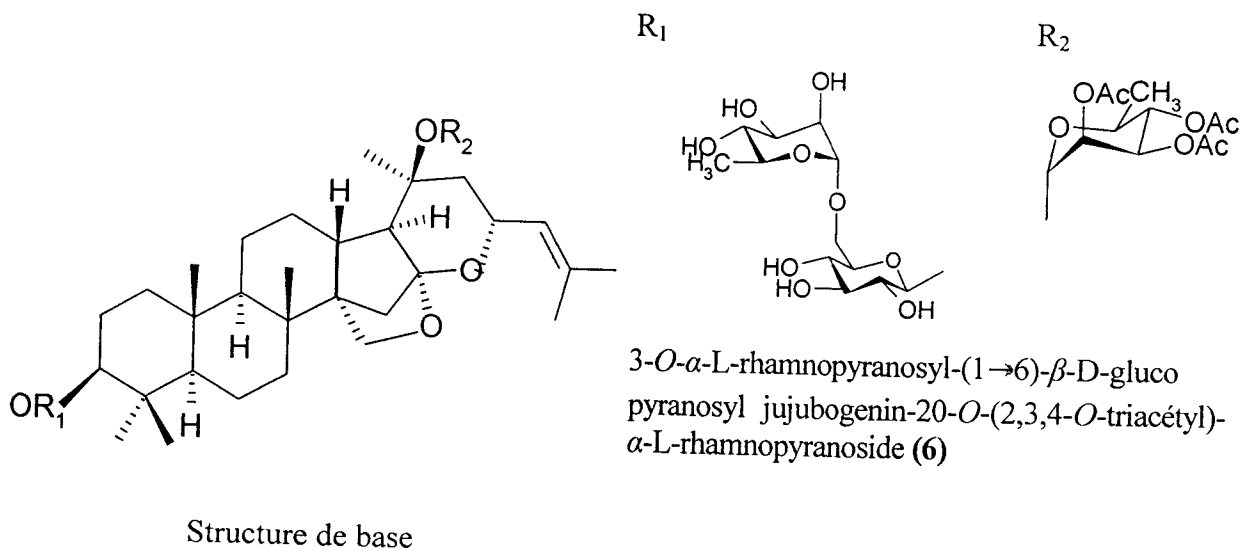


Figure 19 : Les Saponosides identifiés dans les racines de *Zizyphus lotus* L.

De plus, Maciuck et Coll. [2] ont pu, en employant la CPC, isolé cinq autres saponosides des feuilles de *Zizyphus lotus* L. les structures de ces derniers notés 5, 6, 7, 8 et 9 sont regroupées dans le tableau 2 ci-dessous :

$R_1=R_2=H$, Jujuboside B (5)



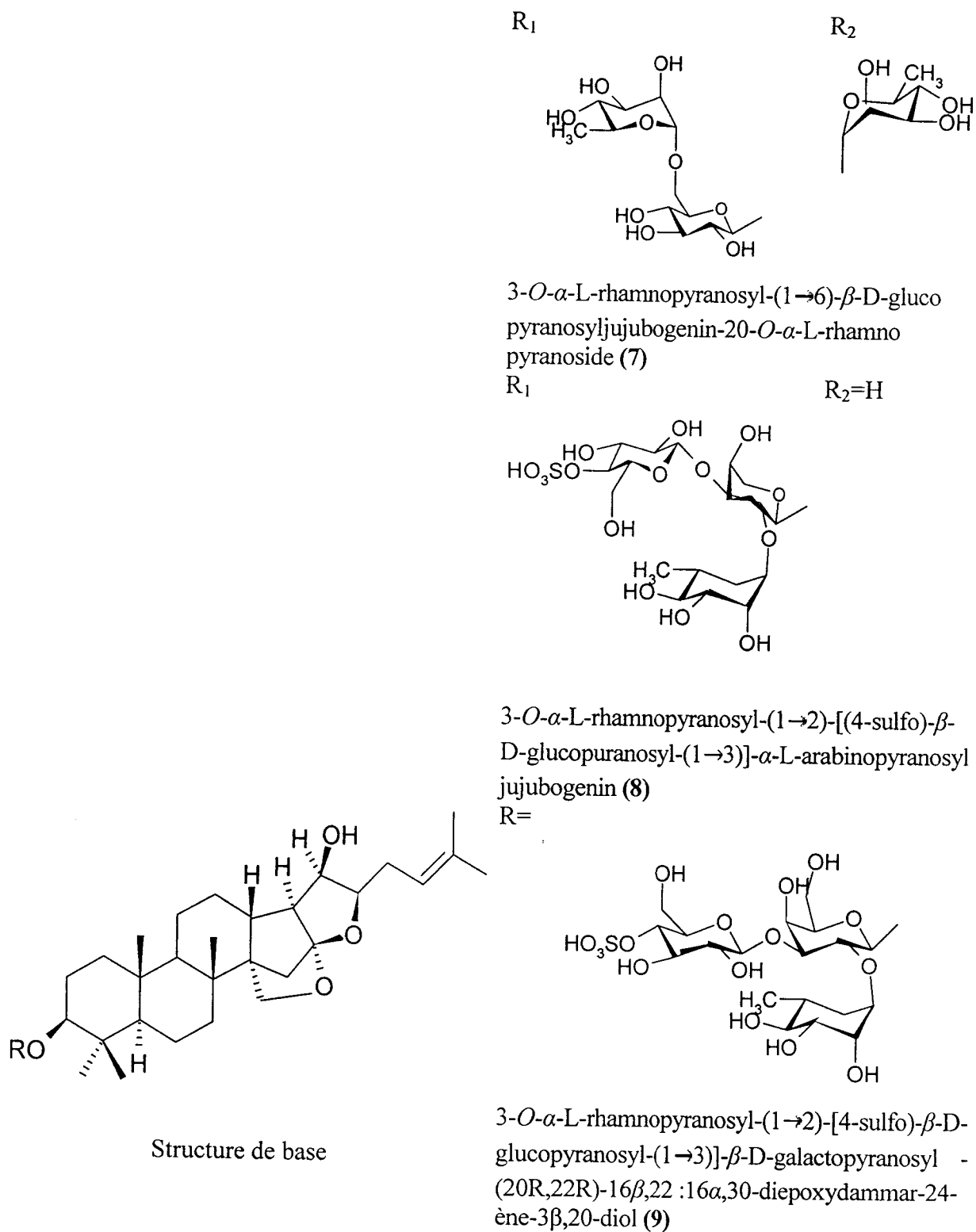
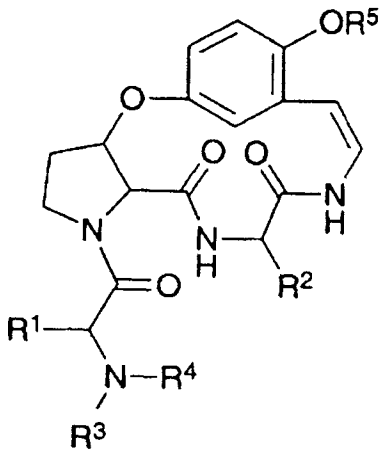


Figure 20 : Saponosides identifiés dans les feuilles de *Zizyphus lotus* L.



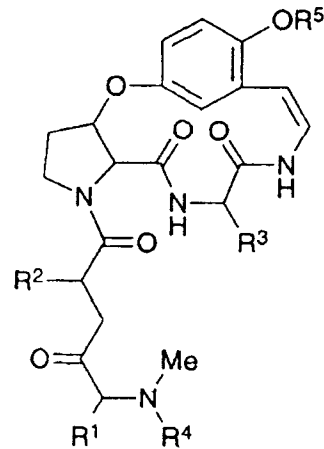
2.2. Alcaloïdes

L'étude des alcaloïdes de *Zizyphus lotus* L. a permis d'identifier plusieurs molécules d'alcaloïdes dont les plus importantes sont représentées ci-dessous [3-8]:



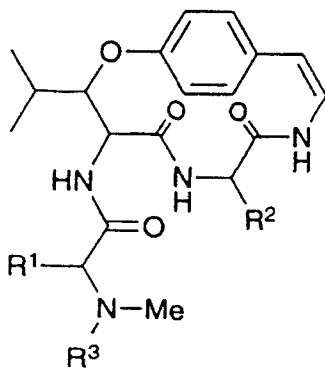
Lotusine-F

R1 : $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 R2 : $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$
 R3 : H
 R4 : CH_3
 R5 : H



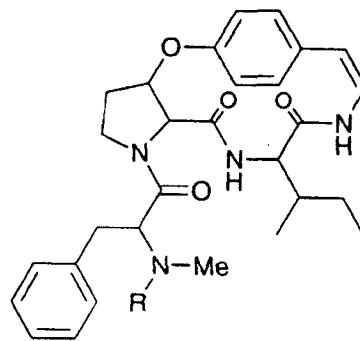
Lotusine-E

R1 : $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
 R2 : $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 R3 : $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$
 R4 : CH_3
 R5 : H



Lotusanine-A

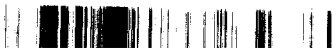
R1 : $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 R2 : $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$
 R3 : CH_3
 Sanjoinine-F
 R1 : $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 R2 : $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
 R3 : CH_3

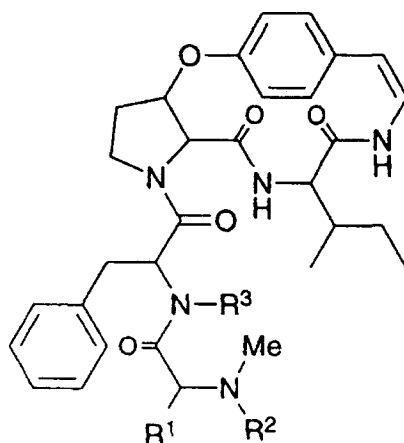


Lotusine-D (= Kdesmethyl-lotusine-A)

R = H
 Lotusine-A
 R = Me

Figure 21 : Alcaloïdes identifiés dans les racines de *Zizyphus lotus* L.





Lotusine-C

R : CH(CH₃)₂

R₁ : H

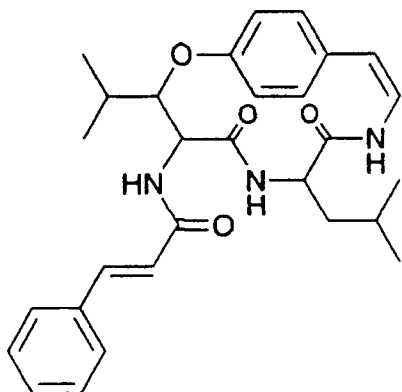
R₂ : CH₃

Lotusine-B

R : CH₂CH(CH₃)₂

R₁ : CH₃

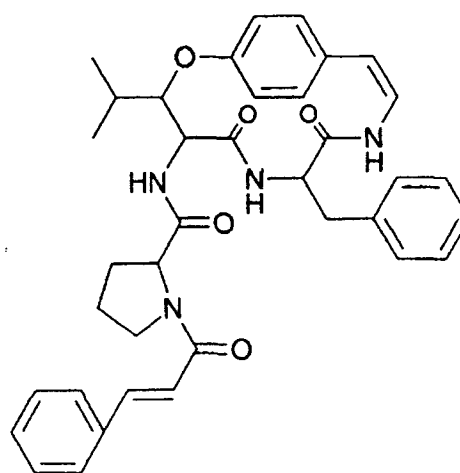
R₂ : H



Sanjoinenine

Sanjoinine-F, Lotusine-(A, B, C, D, E, F),

Sanjoinenine, Lotusanine-A et B



Lotusanine-B

Figure 22: Alcaloïdes identifiés dans d'autres parties de *Zizyphus lotus* L.



IV.3. Activité biologiques des extraits de *Zizyphus lotus* L.

3.1. Activité anti-inflammatoire et analgésique

L'intérêt de l'activité anti-inflammatoire a été porté sur les fonctions des saponosides et des oligomeres flavonoïques totaux (OFT) des racines.

Les résultats des travaux de l'équipe de Borgi W. [9] ont montré que les saponosides et OFT des racines de *Zizyphus lotus* L. avaient des actions inhibitrices maximales respectives de l'ordre de 88.28% et 75.19%, trois heures après l'injection de l'agent anti-inflammatoire. De plus, cette même équipe a prouvé que d'autres extraits des racines (aqueux, chloroformique, acétate d'éthyle et méthanolique) et l'extrait des saponosides des feuilles possédaient des activités anti-inflammatoire et analgésique [10, 11].

3.2. Activité antifongique

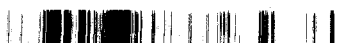
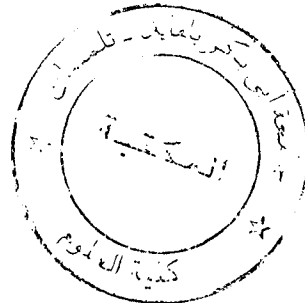
Les extraits obtenus par épuisements successifs à l'éther de pétrole, au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et au méthanol se sont avérés très actifs *in vitro* vis-à-vis de neufs souches de champignons pathogènes [12].

3.3. Activité antibactérienne

Ghedira et Coll. [13] ont prouvés que le mélange des alcaloïdes possède une activité antibactérienne.

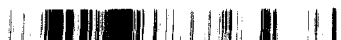
3.4. Activité anti-ulcérogéniques

Borgi et Coll. [14] ont montré que les extraits aqueux des racines, des feuilles et des fruits possèdent une activité anti-ulcérogénique.



Références Bibliographiques

- [1] J. Renaut, K. Ghedira, P. Thepenier, C. Lavaud, M. Zeches-Hanrot, L. Le Man-Oliver, Dammarane saponins from *Zizyphus lotus*, *Journal of Phytochemistry*, **1997**, 44 (7), 1321-1327.
- [2] A. Maciuck, C. Lavaud, P. Thepenier, M.J. Jaqcquier, K. Ghedira, M. Zeches-Hanrot, Four new dammarane saponins from *Zizyphus lotus*, *Journal of Natural products*, **2004**, 67(10), 1639-1643.
- [3] K. Ghedira, R. Chemli, B. Richard, J.M. Nuzillard, M. Zeches-Hanrot, , Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*, *Journal of Phytochemistry*, **1993**, 32 (6).
- [4] K. Ghedira, R. Chemli, C. Caron, J.M. Nuzillard, M. Zeches Hanrot, L. Le Man-Oliver, Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*, *Journal of Phytochemistry*, **1995**, 38 (3), 767-772.
- [5] G. Le Crouéour, P. Thepenier, B. Richard, C. Petermann, K. Ghedira, M. Zeches-Hanrot, Lotusine G : a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*, *Fitoterapia*, **2002**, 73, 63-68.
- [6] B. H. Han, M. H. Park and Y. N. Han, *Phytochemistry*, **1990**, 29, 3315.
- [7] M. Abu-Zarga, S. Sabri, A. Al-Aboudi, M. Saleh Ajaz, N. Sultana and Atta-ur-Rahman, *J. Natural Product.*, **1995**, 58, 504.
- [8] Dimitris C. Gournelis, Gregory G. Laskaris and Robert Verpoorte, Cyclopeptide alkaloids, *Natural Product Reports*, **1995**, 75-82.
- [9] W. Borgi, N. Chouchane, Activité anti-inflammatoire des saponosides et des flavonoïdes des écorces des racines de *Zizyphus lotus* (L.), *Revue des Régions Arides*, **2007**, p.289-286.
- [10] W. Borgi, K. Ghedira, N. Chouchane, Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks, *Fitoterapia*, **2007**, 78, 16-19.
- [11] W. Borgi, M.C. Recio, J.L. Rios, N. Chouchane, Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam, *South African journal of botany*, **2008**, 74, 320-324.
- [12] M. Lahlou, M. El Mahi, J. Hamamouchi, Evaluation of antifungal and mollusicidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* (L.) Desf, *Annales pharmaceutiques françaises*, **2002**, 60 (6), 410-414.
- [13] K. Ghedira, R. Chemli, C. Caron, J.M. Nuzillard, M. Zeches Hanrot, Poster communication, International colloquy: Pharmacopée Arabo- musulman, hier et aujourd'hui, Rabat, Marocco, **1995**.
- [14] W. Borgi, A. Bouraoui, N. Chouchane, Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extrats, *Journal of Ethnopharmacology*, **2007**, 112 (2), 228-231.



Chapitre V



Chapitre V : Etude Chimique de *Zizyphus lotus* L.

V.1. Introduction

Zizyphus lotus L. appartient à la famille des Rhamnacées. Elle est commune en Afrique du Nord et dans le Sahara septentrional, plus rare au Sahara central et occidental [1,2]. C'est une espèce méditerranéenne [3]. Elle est réputée en médecine traditionnelle algérienne [4-8]. Son identification botanique est réalisée par Pr Benabadji Nouri du Département de biologie, Université Aboubekr Belkaïd -Tlemcen.

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à l'étude chimique de *Zizyphus lotus* L. Cet intérêt est motivé par ses vertus thérapeutiques connues chez les herboristes, les tradipraticiens et les personnes âgées. En effet, les enquêtes ethnopharmacologiques révèlent son emploi dans la thérapeutique traditionnelle, seul ou mélangé à d'autres plantes, pour soigner le tube digestif, le foie et les affections respiratoires [6]. Elle est aussi préconisée pour les diabétiques [9].

Notre étude débute par un examen phytochimique des différentes parties de *Zizyphus lotus* L. Cet examen permet de déceler, qualitativement, les différentes familles des composés qui s'y trouvent. Cette étape est suivie de plusieurs extractions sélectives, de purification et de caractérisation par les méthodes d'analyse usuelles (IRTF, RMN ¹H, CPG/SM et CLHP etc.). Ces techniques permettent l'identification de molécules nouvelles et/ou de molécules déjà citées dans la littérature dotées d'activités biologiques intéressantes. De plus, nous avons évalué les teneurs des éléments nutritionnels contenus dans *Zizyphus lotus* L. par diverses méthodes de dosages et ce dans une tentative de sa valorisation.

V.2. Origine et période de récolte

2.1. Cueillette et période de cueillette

Zizyphus lotus L. provient de la wilaya de Tlemcen située à l'ouest algérien entre 35°05' et 35°25' de latitudes nord et entre 0°15' et 2°15' de longitude ouest. Elle est collectée en octobre 2007 et en septembre 2008 dans la zone de Nedroma distante de 77 km de Tlemcen.

Tableau 2 : Etude bioclimatique de la station d'étude.

	Longitude	Latitude	Altitude	Climat
Nedroma	1° 73'	35° 0'	650 m	Semi-aride



2.2. Préparation des échantillons

Les différentes parties de *Zizyphus lotus* L. (racines, tiges, feuilles, noyaux, pulpes) sont séparément étalées et séchées, spontanément, à l'air libre, à l'abri de la lumière et de la chaleur. Elles sont, ensuite, broyées et conservées dans des flacons en verre.

V.3. Examen phytochimique

De nos jours, la découverte de ressources naturelles du monde végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques. Ces composés chimiques sont déterminés par une étude phytochimique qui consiste à caractériser les différentes catégories de molécules existantes dans les plantes. Ces dernières peuvent servir, non seulement, à obtenir des principes actifs utilisés comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matériaux économiques.

Pour cela, nous avons soumis toutes les parties de *zizyphus lotus* L. aux tests phytochimiques. Au cours de ces tests, trois solvants de polarité croissante (Et₂O, MeOH et H₂O) sont utilisés. Les résultats obtenus pour les différents organes de la plante sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 3 : Epuisement à l'éther diéthylique.

Famille de composés	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Alcaloïdes bases	-	-	-	-	-
Emodols	-	-	-	-	-
Huile volatile	-	-	+	+++	+
Acides gras	+	+++	+++	++	++

Tableau 4 : Epuisement au Méthanol.

Famille de composés	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Alcaloïdes	++	++	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	++	++	++
Tanins	++	++	++	+++	++
Composés Réducteurs	++	++	+	+++	+++
Stérols	+	+	+	+	+
Anthracénosides	-	-	-	-	-
Coumarines	-	-	-	-	-



Tableau 5 : Epuisement à H₂O.

Famille de composés	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Amidon	-	-	-	-	-
Saponoside	+++	+++	+++	-	-
Tanins	+	+++	+++	++	+
Alcaloïdes	++	++	-	-	-
Polyuronides	-	-	-	-	-

+++ : Test très positif ; ++ Test moyennement positif ; + : test faiblement positif ; - : test négatif

A partir des résultats du screening phytochimique, nous pouvons conclure que :

- Les alcaloïdes sont présents dans les racines et les tiges et sont très faiblement présents dans les feuilles, pulpes et noyaux.
- Les flavonoïdes et les tanins sont caractérisés dans toutes les parties de la plante avec une dominance importante dans les tiges et les racines.
- Des tests positifs à liqueur de Fehling prouvent l'existence des composés réducteurs, en quantité variable, dans toutes les parties de la plante.
- Les saponosides sont présents fortement dans les racines, les tiges et les feuilles et sont, par contre, totalement absents dans les pulpes et les noyaux.
- Les huiles volatiles (H.E) se trouvent dans les pulpes et les noyaux.
- Enfin, les tests prouvent, sans ambiguïté, l'absence totale des anthracénosides, des coumarines, des emodols, et de l'amidon dans toutes les parties étudiées de *Zizyphus lotus* L.

Ce criblage phytochimique, nous permet donc de confirmer la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins et des saponosides avec des quantités importantes dans les racines et les feuilles. Ces résultats confirment aussi l'absence des saponosides dans les fruits, ce qui est en accord avec les résultats de W. Borgi et Coll. [10].

Ces familles de composés peuvent être à l'origine de la découverte d'agents thérapeutiques. Dans cette optique, la mise en œuvre des techniques d'extraction, purification, séparation devra permettre la mise au point de nouveaux principes actifs.

V.4. Extractions sélectives

4.1. Introduction

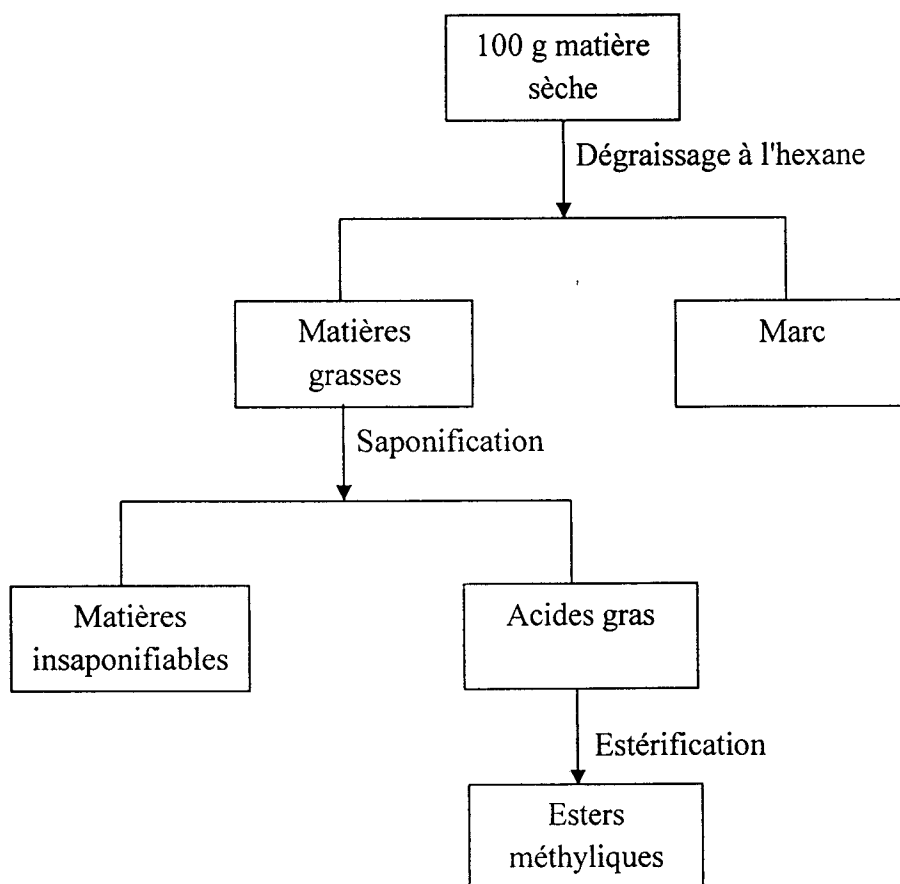
Après la mise en évidence des différentes familles de composés dans les différentes parties de *Zizyphus lotus* L. (racines, tiges, feuilles, noyaux, pulpes), nous nous sommes intéressés, en un premier temps, aux fractions des acides gras et insaponifiables contenues dans les racines. Ces

derniers, non étudiés dans le cas de notre plante, peuvent avoir des activités biologiques intéressantes. Nous avons ciblé, ensuite, l'extraction des composés azotés des racines et les H.E des fruits.

4.2. Extraction des acides gras et insaponifiables

Dans le cas général, le matériel végétal renferme, souvent, des quantités appréciables de graisses, mais aussi des cires, des pigments et d'autres substances lipophiles. Ces dernières peuvent perturber le processus extractif. Pour surmonter ces difficultés, nous avons procédé à un dégraissage préalable de la matière végétale en utilisant des solvants apolaires tels que l'hexane, l'éther de pétrole etc. [11].

Lors du dégraissage, nous avons utilisé deux méthodes l'une continue, par l'emploi d'un montage soxhlet, et l'autre discontinue consistant à faire tremper la matière végétale dans l'hexane à ébullition. Les matières grasses obtenues sont, ensuite, soumis à certains nombre de transformations chimiques (saponification, estérification) conduisant à l'isolation des insaponifiables, des acides gras et leurs esters correspondants selon l'organigramme 1 représenté ci-dessous :



Organigramme 1 : Dégraissage du matériel végétal et préparation des esters méthyliques.

Les résultats du dégraissage sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Dégraissage des racines.

Méthodes d'extraction	Aspect	Rendement (%)
Continue	Huile jaunâtre	0.35
Discontinue	Huile jaunâtre	0.13

Ces résultats montrent que les racines de *Zizyphus lotus* L. contiennent une quantité faible en matière grasse. Nous notons que le procédé continu est plus long que l'extraction discontinue, mais il a l'avantage d'être plus complète.

Après saponification de la matière grasse, nous avons extrait les insaponifiables avec de l'Et₂O. Les acides gras sont, ensuite, régénérés à partir de la phase aqueuse par simple acidification. Afin de pouvoir les analyser par les méthodes chromatographiques (CPG, CPG/SM etc.), les acides sont transformés en esters méthyliques correspondants. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7 : Résultats des acides gras, esters méthyliques et insaponifiables.

Extraits	Masse (g)	Rendement (%)	Aspect physique
Acides Gras	0.43	30.71	Pate jaune
Insaponifiables	0.26	18.75	Solide jaune
Esters méthyliques	0.39	83.74	Pate marron

La formation des esters méthyliques est confirmée par IRTF. En effet, le spectre sur la figure 24 montre, en plus des bandes correspondantes aux vibrations d'élongation et de déformation angulaire des liaisons C-H (ν (cm⁻¹) : 2924.38, 2853.44, 1462.76, 1375.99, 721.98), une bande d'absorption C=O intense située vers 1742.19 cm⁻¹ et trois bandes d'élongation du groupe C-O vers 1171.62, 1196.71 et 1259.59 cm⁻¹.



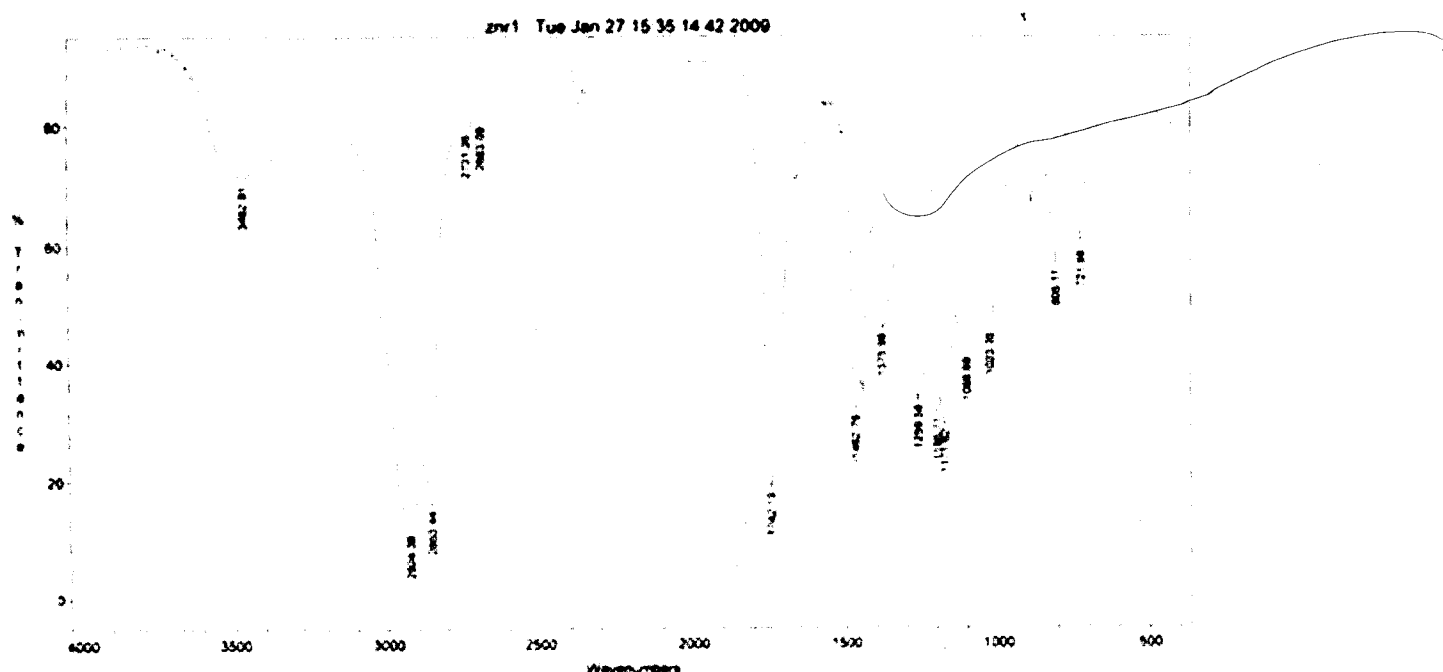


Figure 23 : Spectre IR des esters méthyliques.

Les analyses par CPG/SM des acides gras, des insaponifiables et des esters méthyliques sont en cours en réalisations.

4.3. Extractions sélectives

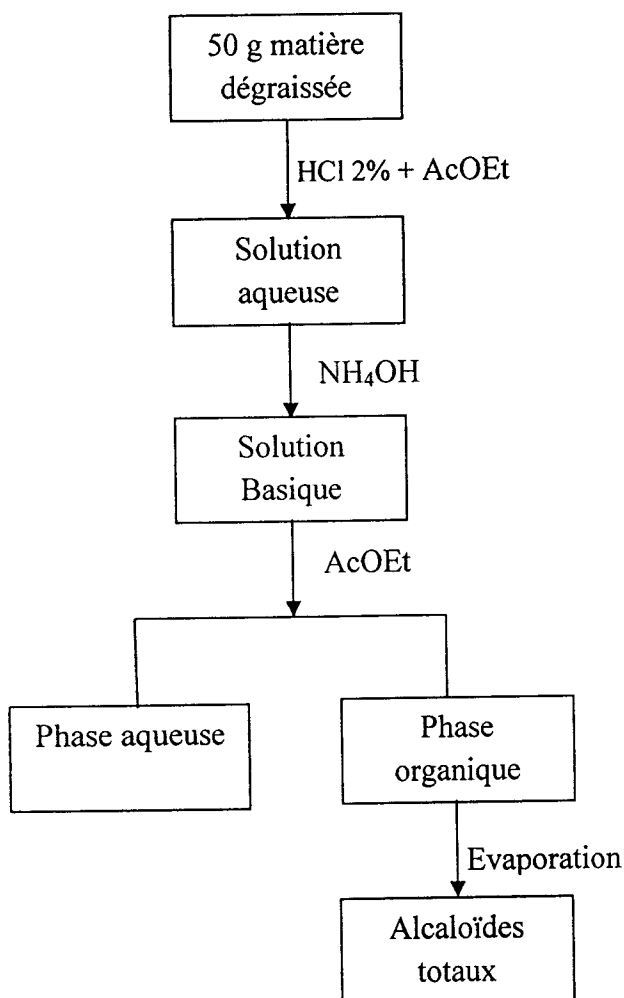
D'après le screening phytochimique, nous avons constaté la présence des alcaloïdes dans les différents organes (racines, tiges, feuilles, noyaux, pulpes) de *Zizyphus lotus* L. Ceci nous a incités à entreprendre des extractions sélectives afin d'isoler quelques uns et les soumettre à des tests d'activité biologique.

L'extraction des alcaloïdes totaux est fondée, en général, sur deux points :

- Habituellement, ils existent dans la plante à l'état de sels ;
- Leur basicité : c'est-à-dire sur la solubilité différentielle des bases et des sels dans l'eau d'une part, et dans les solvants organiques d'autre part [12].

Pour ce qui nous concerne, nous avons suivi un protocole d'extraction décrit dans la littérature [12-17].





Organigrammes 2 : Extraction et isolation des alcaloïdes totaux des racines de *Zizyphus lotus* L.

Les résultats des extractions des alcaloïdes totaux des racines sont résumés ci-dessous :

Tableau 8 : Alcaloïdes totaux des racines.

Résultats	Alcaloïdes totaux
Masse (g)	0.59
Rendement (%)	1.18
Aspect	Solide jaune

L'obtention de l'extrait d'alcaloïdes totaux est confirmée par le test positif de Mayer ; qui conduit à la formation d'un précipité blanc. Une première tentative de purification de cet extrait dans le CHCl_3 fourni, après filtration, un solide brun. Ce dernier donne un précipité verdâtre avec une solution de FeCl_3 , révélant sa nature tannique.

Tableau 9 : Résultats de la recristallisation.

Résultats	Fraction tannique
Masse (g)	0.23
Rendement (%)	38.98
Aspect	Solide brun

Le rendement de cette opération est estimé à 33.98%. En effet, à partir de 590 mg de l'extrait brut, 230 mg de tanins sont récupérés.

L'analyse de cette fraction tannique par CCM montre la présence de trois composés :

Tableau 10 : Résultats des CCM de la fraction tannique.

Extrait	Eluant	Taches	R _f
		1	Ne migre pas
Fraction tannique	AcOEt/MeOH	2	0.30
	(5/4)	3	0.46

Ce résultat est confirmé par analyse CLHP. En effet, cette dernière, réalisée dans les conditions modifiées de la référence [18], fournit un chromatogramme représenté par trois pics dont l'un est majoritaire.

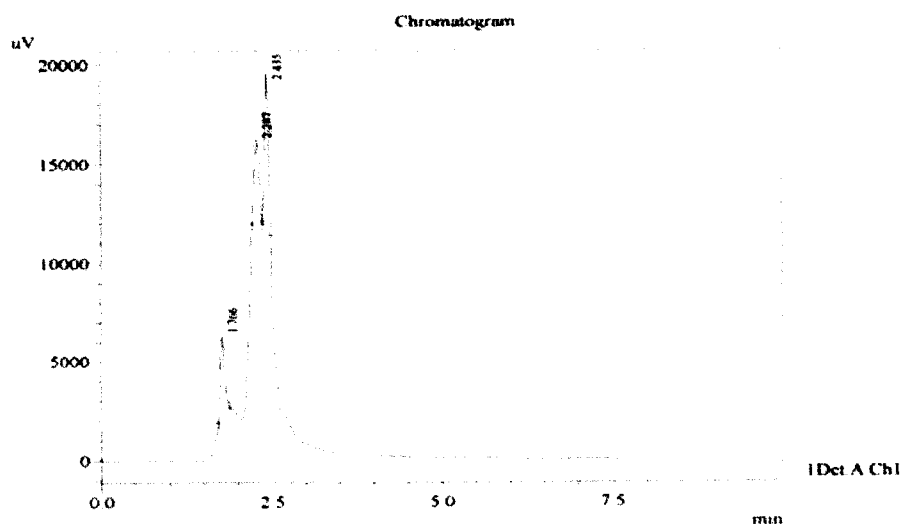


Figure 24 : CLHP de la fraction tannique.

Tableau 11 : Analyse CLHP des tanins.

N° pic	Temps de rétention	Surface	Hauteur	% Aire	% Hauteur
1	1.766	18062	4126	25.885	25.387
2	2.287	21925	4209	31.421	25.898
3	2.435	29791	7918	42.694	48.715
Total		69777	16253	100.000	100.000

Les conditions de la CLHP employées sont :

- Colonne : ZORBAX SB-C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm).
- Détecteur : UV-visible
- Phase mobile : 80% CH₃OH ; 20% CH₃CN
- Débit : 1ml/min
- λ max : 280 nm
- Pression : 56 bars
- T : 20°C
- Volume injecté : 20 µl

Nous avons conservé l'extrait tannique pour des analyses poussées et, éventuellement, pour les tests biologiques.

Après évaporation du filtrat chloroformique, nous avons récupéré un solide jaunâtre, donnant un test positif avec le réactif de Mayer, représentant la fraction alcaloïdique.

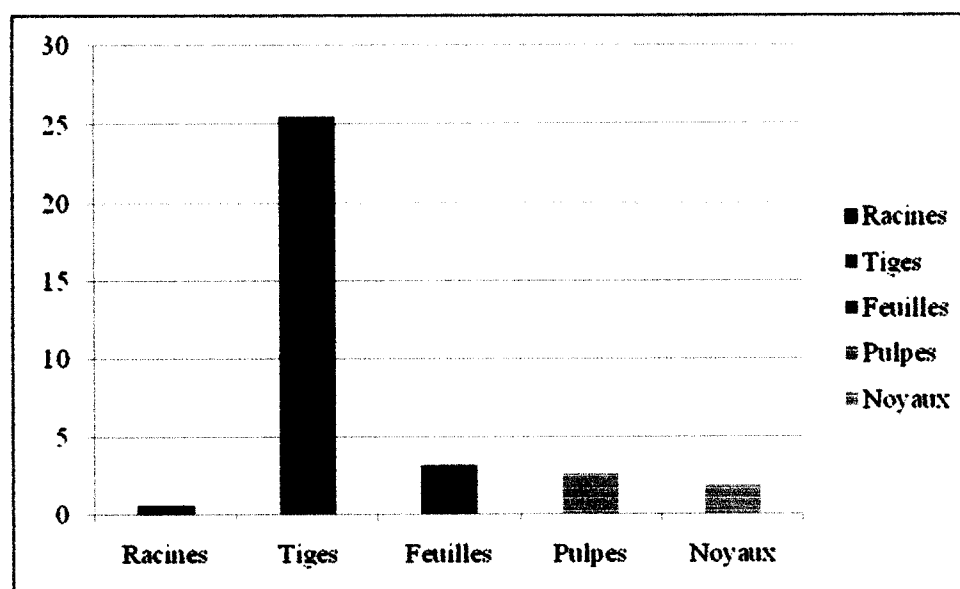
Tableau 12 : Alcaloïdes des racines *Zizyphus lotus* L.

Résultats	Alcaloïdes
Masse (g)	0.33
Rendement (%)	55.93
Aspect	Solide jaune

Afin de caractériser les différents composés constituant la fraction alcaloïdique, nous avons réalisé un fractionnement sur colonne de gel de silice. Plusieurs mélanges éluants sont testés, notamment, CHCl₃/Acétone (5/1), CHCl₃/Acétone/MeOH (5/1/0.1), CHCl₃/Acétone/Et₂NH (5/4/1) et CHCl₃/MeOH (9/1) [19].

C'est le mélange éluant AcOEt/CHCl₃ (5/1.5) qui offre la meilleure séparation. Après optimisation des conditions opératoires, cinq fractions désignées par ZLR1, ZLR2, ZLR3, ZLR4, ZLR5 sont obtenues ; ZLRi représente la fraction de *Zizyphus* (Z) *lotus* (L) racines (R) numéro i.





Histogramme 4 : Teneur des protéines.

L'application de la méthode Kjeldhal montre que la plus grande quantité de protéines est concentrée dans les tiges. Elle révèle, aussi, que les protéines sont très peu présentes dans les feuilles, pulpes, noyaux et racines.

5.5. Teneur en sucres totaux

L'évaluation de la teneur en sucres libres est effectuée par la méthode de Dubois [28,29]. Cette dernière consiste à rompre les liaisons glucosidiques et déshydrater les sucres résultants en présence de l'acide sulfurique concentré. Cette réaction est suivie d'une condensation avec le phénol. Ces opérations conduisent à des complexes colorés en jaune orange dont la formation est suivie par spectrophotomètre UV-visible en mesurant la densité optique à $\lambda = 490$ nm.

Afin de pouvoir estimer la teneur en sucres dans les parties étudiées de *Zizyphus lotus* L., nous avons tracé une courbe d'étalonnage en mesurant la densité optique, à la même longueur d'onde, de plusieurs solutions de glucose à différentes concentrations 10, 25, 40, 60, 80.

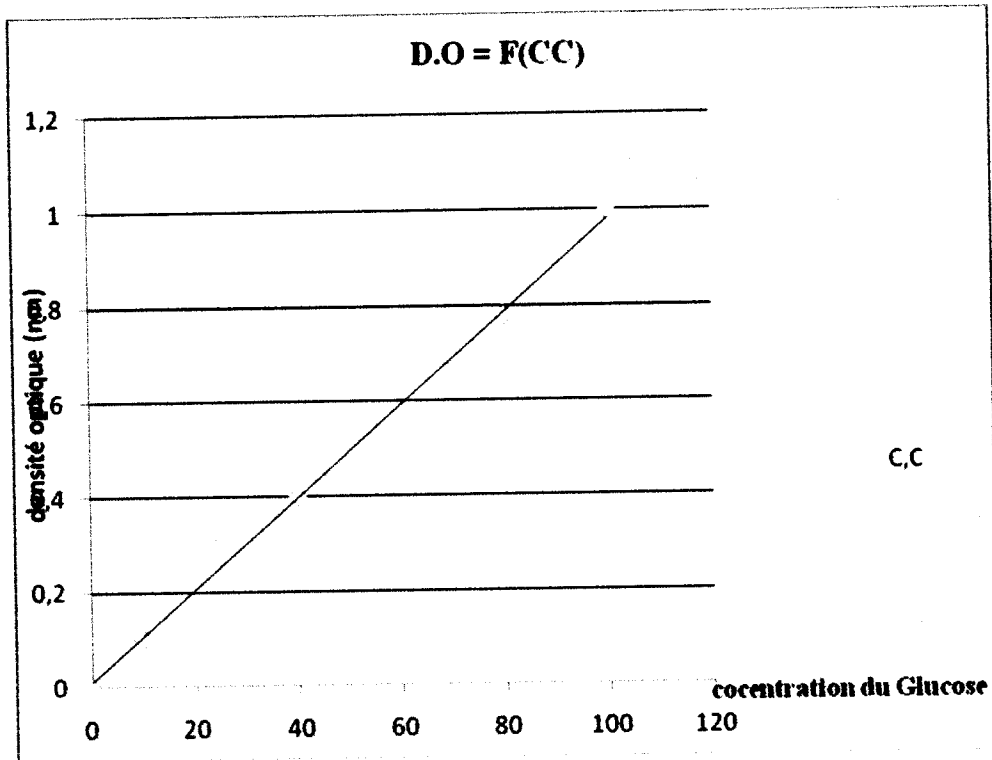
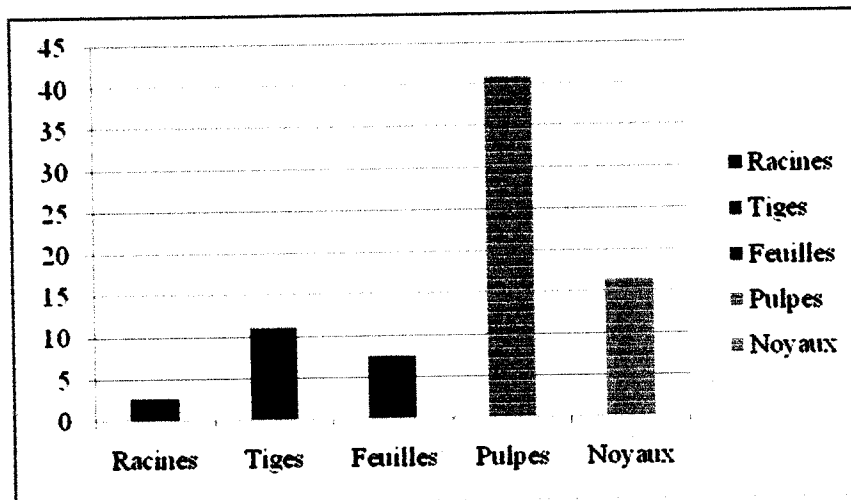


Figure 27 : Courbe d'étalonnage.

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 22 : Teneur en sucres.

	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Teneur en sucres (%)	2.5	11	7.5	41	16.56



Histogramme 5 : Teneur en sucres.

Ces valeurs traduisent la richesse des pulpes de *Zizyphus lotus* L. en sucres (41%). De plus, nous notons leur présence, en quantité moyenne, dans les tiges et les noyaux.

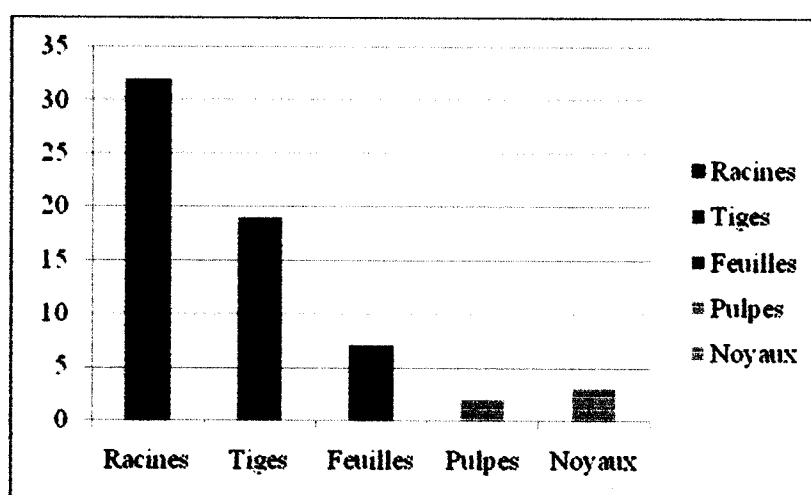


5.6. Détermination de la teneur en fibres alimentaires

La mesure de la teneur en fibres alimentaires se fait par solubilisation des composés constituant les fibres non cellulose, respectivement, dans des solutions diluées d'acide sulfurique et d'hydroxyde de potassium. Cette opération est effectuée dans un fibrotest. Le tableau 23 ci-dessous représente les résultats des teneurs en fibres alimentaires des différents organes de *Zizyphus lotus* L.

Tableau 23 : Teneur en fibres alimentaires.

	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Teneur en fibres alimentaires (%)	32	19	7	2	3



Histogramme 6 : Taux des fibres alimentaires.

Nous concluons, d'après ces résultats, que les racines et les tiges possèdent une teneur en fibres plus importante par rapport aux feuilles, aux pulpes, et bien évidemment, aux noyaux.

V.6. Conclusion

A l'issue de cette étude, nous avons initié un certain nombre d'axes de recherche sur *Zizyphus lotus* L. Il s'agit de l'étude des acides gras, des insaponifiables, des tanins et des alcaloïdes contenus dans les racines et de l'H.E des fruits. Des résultats prometteurs sont obtenus. Ils permettront, sans aucun doute, de contribuer à la connaissance chimique de la plante étudiée.

De plus, nous avons établi la composition en ressources nutritionnelles dans les différentes parties de *Zizyphus lotus* L., en utilisant des méthodes spécifiques de dosage.

Enfin, une étude plus approfondie, en employant les techniques de la chimie, permettra de mettre en relief la richesse de cette plante en sels minéraux, protéines, lipides etc.

Références Bibliographiques

- [1] P. Quezel, S. Santa, Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Edition CNRS, Tome II, **1963**, p.616-620.
- [2] P. Quezel, Analyses of the flora Mediterranean and Saharan Africa, *Ann. Missouri Bot. Garden*, **1978**, 479-535.
- [3] J.M. Gehu, M. Kaabeche, Phytosociological observations on northeastern Algeria, *Phytocoenologia*, **1994**, 24, 369-382.
- [4] A. Beloued, Plantes médicinales d'Algérie, Office des Publications Universitaires (OPU), **2001**.
- [5] H. Hussain, R. S. Tobji, Antibacterial screening of some Libyan medicinal plants, *Fitoterapia*, **1997**, 68 (5), 467-470.
- [6] F. Baba Aissa, Encyclopédie des plantes utiles, Edition EDAS, **2000**, p.145.
- [7] C. Lemoine, Les fleurs méditerranéennes, Editions Jean-Paul Gisserot, **2005**, p. 14.
- [8] P. Ozenda, Flore du Sahara, 2^e édition complétée. Paris : Centre national de la recherche scientifique (CNRS), **1977**.
- [9] H. Allali, H. Benmehdi, M.A. Dib, B. Tabti, S. Ghalem, N. Benabadji, Phytotherapy of diabetes in west Algeria, *Asian journal of chemistry*, **2008**, 20 (4), 2701-2710.
- [10] W. Borgi, A. Bouraoui, N. Chouchane, Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts, *Ethnopharmacology*, **2007**, 112 (2), 228-231.
- [11] H. Benmahdi, Valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la Coloquinte, mémoire de Magister, Université Abou bekr belkaïd - Tlemcen, Juin **2000**.
- [12] J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition, Tec & doc, **1999**, p. 625-910.
- [13] J-H. Renault, K. Ghédira, P. Thépenier, C. Lavaud, M. Zèches-Hanrot, L. Le Men-Olivier, Dammarane saponins from *Zizyphus lotus*, *Phytochemistry*, **1997**, 44 (7), 1321-1327.
- [14] K. Ghédira, R. Chemli, C. Caron, J-M. Nuzillard, M. Zèches, L. Le Men-Olivier, Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*, *Phytochemistry*, **1995**, 38 (3), 767-772.
- [15] K. Ghedira, R. Chemli, B. Richard, J-M. Nuzillard, M. Zeches, L. Le Men-Olivier, Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*, *Phytochemistry*, **1993**, 32 (6), 1591-1594.
- [16] G. Le Crouéour, P. Thépenier, B. Richard, C. Petermann, K. Ghédira, M. Zèches-Hanrot, Lotusine G: a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*, *Fitoterapia*, **2002**, 73, 63-68.

- [17] D.C. Gournelis, G.G. Laskaris, R. Verpoorte, Cyclopeptide alkaloids, *Natural Product Reports*, **1995**, 75-82.
- [18] M.A. Harish Nayaka, U.V. Sathisha, M.P. Manohar, KB Chandrashekar, S.M. Dharmesh, Cytoprotective and antioxidant activity studies of jiggery Sugar, *Food Chem.*, **2009**, 115, 113-118.
- [19] K. Randerath, Chromatographie sur couches minces, 2^{ème} édition revue et augmentée, Gauthier-Villars, Paris, **1971**, p.111-117.
- [20] J.J. Fouché, A. Marquet, A. Hambuckers, Les plantes médicinales - De la plante au médicament, Observation du monde des plantes, **2000**.
- [21] A. Etournaud, Chimie des denrées alimentaires, Sciences alimentaires, **1999**.
- [22] C.L. Audigie, G. Dupont, Principes des méthodes d'analyses biochimiques, **1982**, p.566.
- [23] J.S. Jawanda, J.S. Bal, The ber highly paying and rich in value, *Indian Hort*, **1978**, 23, 19-21.
- [24] P. Danthu, B. Hane, M. Touré, P. Sagna, M. Sagna, S. Ba, M.A. De Troyer, P. Soloviev, *Tropicultura*, **2001**, 19(1), 43-47.
- [25] Mc Bride, S. Pynenburg, J. Carroll, Programme consultative sur la pature technique d'élevage, **1996**.
- [26] J. Kjeldhal, A new method for the determination of nitrogen in organic matter, *Analytical Chemistry*, **1883**, 2, 366.
- [27] A. Douglas, M. Donald, F. James-Holler, C. Buess-Harman, J. Dauchat-Weymeers, F. Dumont, Chimie analytique, De Boeck Université, **1997**, ISBN 2804 121 143, p.254-256.
- [28] M. Dubois, Y. Gilli, J.K. Hamilton, P. Robers, F. Smith, Colometric method for determination of sugar and related substance, *Analytical Chemistry*, **1956**, 28, 350-356.
- [29] Q. Zhang, L. Pengzhan, H. Zhang, antioxidant activities of sulphated polysaccharide fractions from *Porphyrahaintainsis*, *Journal of physiology*, 2003, 15, 305-310.



Chapitre VI



Chapitre VI : Partie Expérimentale - Généralités -

Les solvants organiques ont été employés sans purification supplémentaire.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur plaque Merck 60F 254, 0.25 mm d'épaisseur, prête à l'emploi. La révélation a été effectuée selon les cas à la lumière ultraviolette (UV) à 254 nm et 365 nm ou à la vapeur d'iode. *Les purifications* par chromatographie sur colonne (CC) ont été effectuées sur gel de silice Merck 60F 254 de granulométrie 0.063-0.2 mm. Les dimensions des colonnes utilisées ainsi que le choix des éluants ont été choisis sur la base des caractéristiques des composés à séparer.

Les dosages des sucres ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre HEVIOS Gamma de marque Thermo Spectronic UV-Visible. L'absorbance est à valeur singulière de longueur d'onde. La cuve utilisée est en verre.

Les dosages des protéines ont été réalisés à l'aide d'un minéralisateur Büchi digestion unit K-435, et d'un distillateur Büchi K-314 au niveau du Laboratoire de Produits Naturels de l'Université de Tlemcen.

Les dosages des fibres ont été réalisés à l'aide d'un fibroteset de marque Valp Scientifica au niveau du Laboratoire de Produits Naturels de l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Les spectres infrarouges (IR) ont été enregistrés sur un appareil Genesis FTIR, mono faisceau (Matteson) au niveau du centre de mesure du Laboratoire COSNA de l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen. Les valeurs des bandes d'absorption les plus caractéristiques sont données en cm^{-1} .

Les analyses CLHP ont été enregistrés sur un appareil de marque Shimadzu au niveau du Laboratoire SCPS de l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Les chromatogrammes CPG ont été enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer (Waltham, MA, USA) Autosystem XL équipé d'un système de détection FID, d'un injecteur diviseur et deux colonnes capillaires (60m x 0.22 mm d.i. ; épaisseur du film 0.25 μm) respectivement apolaire (Rtx-1, Polydiméthyl siloxane) et polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol). Les échantillons ont été injectés dans le mode de fente (1:50), employant l'hélium comme gaz vecteur (1ml/min) ; volume d'injection, 0.2 μl .

Les chromatogrammes CPG/SM ont été réalisés avec un détecteur de masse Perkin-Elmer Turbo (Quadripôle), couplé à un Perkin-Elmer Auto système XL, équipé d'une colonne capillaire Rtx-wax ; la température de la source d'ions, 150°C ; énergie d'ionisation, 70 eV. L'ionisation électronique (EI) a été obtenue sur l'intervalle des masses 35-350 Da. Ces analyses ont été effectuées au niveau du Laboratoire CPN de l'Université de Corse - France.

Le spectre de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton (^1H) (300 MHz) a été enregistré sur un appareil Bruker AC 300. La référence interne est le tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués en ppm. Les constantes de couplage J sont exprimées en Hz. Ces analyses ont été effectuées au niveau du Laboratoire de Chimie des Polymères, université Es-Sénia, Oran.



Chapitre VI : Partie expérimentale

VI.1. Examen phytochimique

L'examen phytochimique est l'ensemble de tests simples qui permettent la caractérisation des constituants chimiques dans les différentes parties étudiées de *Zizyphus lotus* L. Ces réactions chimiques, aisément réalisables dans des tubes à essai, constituent la première étape dans la recherche de molécules d'origine naturelles dotées de diverses activités thérapeutiques.

Les tests phytochimiques sont basés sur :

- Essais de solubilité, notamment dans l'eau, méthanol et l'éther diéthylique ;
- Réactions de colorations et de précipitations aisément réalisables dans des tubes à essai ;
- Examen en lumière ultraviolette.

Au cours de ces tests, trois solvants de polarité croissante (Et₂O, MeOH et H₂O) sont employés. Les modes opératoires d'extractions, préparation des réactifs, caractérisation sont déjà décrits dans des mémoires de magisters et de doctorats (COSNA):

- 1) BENMEHDI Houcine, Valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la Coloquinte, mémoire de Magister, Université Abou bekr belkaïd - Tlemcen, Juin 2000.
- 2) BABA AHMED Abderrezak, Séparations et caractérisations de principes actifs d'*Aristida pungens* L., mémoire de Magister, Université Aboubekr Belkaïd – Tlemcen, Juin 2005.
- 3) DJABOU Nassim, *Sambucus nigra* L., une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine, mémoire de Magister, Université Aboubekr Belkaïd – Tlemcen, Octobre 2006.
- 4) BENDIABDELLAH Amel, Les polyphénols dans les racines d'*Arbutus unedo* L., mémoire de Magistère, Université Aboubekr Belkaïd – Tlemcen, Mai 2007.
- 5) BOUHADJERA Kaltoum, Etudes chimiques et biologiques de deux plantes médicinales : *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L., thèse de Doctorat d'Etat, Université Aboubekr Belkaïd – Tlemcen, Septembre 2005.

VI.2. Extraction sélectives

2.1. Dégraissage du matériel végétal

a. Extraction en continue

Extraire 100 g des racines broyées avec de l'hexane, en utilisant un appareil soxhlet. Après évaporation du solvant, le résidu obtenu constitue la fraction de la matière grasse.



b. Extraction en discontinue

Dans un ballon de 500 ml surmonté d'un réfrigérant, mettre 100 g de racines broyées en présence de 150 ml d'hexane. Porter l'ensemble à reflux pendant 10 h. Filtrer le marc, ensuite évaporer le solvant. Le résidu obtenu représente la matière grasse.

2.2. Séparation des acides gras

Dans un ballon de 250 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, introduire 1.4 g du résidu gras obtenu après dégraissage du matériel végétal, 15 ml d'EtOH, 15 ml d'eau et 3 g de NaOH en pastilles. Porter l'ensemble à reflux pendant 45 min. Traiter la solution résultante avec 15 ml d'Et₂O. Décanter puis acidifier la phase aqueuse avec du HCl concentré. Extraire, ensuite, avec 2x20 ml d'Et₂O puis sécher sur CaSO₄. Un résidu d'acide gras est obtenu après concentration de la phase organique.

2.3. Estérification des acides gras

Dans un ballon de 250 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, dissoudre 0.43 g d'acide gras dans 15 ml de MeOH anhydre. Ajouter, gouttes à gouttes, 1 ml d'H₂SO₄ concentré. Porter l'ensemble à reflux pendant 2 h. Après évaporation du MeOH, couler le mélange réactionnel sur 50 ml d'eau glacée dans une ampoule à décanter. Extraire la phase aqueuse, avec du CHCl₃. Sécher sur CaSO₄, puis évaporer le solvant. Un résidu d'esters méthyliques est obtenu.

2.4. Extraction des Alcaloïdes en milieu acide

Dans un ballon de 500 ml surmonté d'un réfrigérant, macérer 50 g de racines préalablement dégraissées dans un mélange de 250 ml de HCl 2% et 110 ml de l'AcOEt à température ambiante pendant 16 h. Après filtration, ajouter une solution NH₄OH jusqu'à pH basique (pH > 7).

La phase aqueuse basique résultante est, ensuite, extraite plusieurs fois avec l'AcOEt. L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à ce que la phase aqueuse ne contienne plus d'alcaloïdes. Ceci peut être vérifié, aisément, par un résultat négatif avec le réactif de Mayer testé sur la phase aqueuse.

Sécher la phase organique sur CaSO₄ puis évaporer le solvant à l'aide du rotavapor à une température inférieure à 40°C.

2.5. Extraction des racines par des solvants à polarité croissante

Dans un ballon de 500 ml surmonté d'un appareil soxhlet, extraire 20 g de racines finement broyées, préalablement dégraissée, en utilisant 150 ml d'AcOEt, pendant 6 heures. Après plusieurs siphonages et épuisement total de la drogue par le solvant, reprendre le marc respectivement avec à chaque fois 150 ml de MeOH et d'H₂O dans les mêmes conditions. Le rendement de l'extraction R est exprimé par l'expression suivante :

$$R = (m/m_0) \times 100$$

m : masse (g) de l'extrait brut obtenu après évaporation du solvant.

m₀ : masse (g) de la matière végétale sèche.

2.6. Extraction des H.E

Nous avons utilisé la méthode de Moritz ou méthode d'hydrodistillation pour extraire l'H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L. La méthode d'extraction est décrite ci-dessous :

Dans un ballon de 2 l, mettre 250 g de fruits finement broyées dans l'eau distillée. Adapter un montage d'hydrodistillation complet. Chauffer l'ensemble pendant 5 heures. Récupérer les vapeurs refroidies dans une ampoule à décanter. Séparer l'huile essentielle obtenue, puis peser.

Dans notre cas la teneur de l'H.E est faible. Elle est récupérée, après saturation de la phase aqueuse avec du sel puis extraction avec de l'Et₂O. Les H.E ainsi obtenues sont directement analysées.

VI.3. Détermination des teneurs en éléments nutritionnels

3.1. Détermination de la teneur en eau

Sécher les vases de tare à l'étuve pendant 30 min à 100°C avec couvercles inclinés. Laisser refroidir dans un dessiccateur pendant 30 min puis peser les vases avec couvercles. Mettre 2 g d'échantillon (feuilles, racines etc.) finement broyé dans chaque vase. Placer les vases de tares avec l'échantillon, préalablement peser, dans l'étuve pendant 3h à 105°C avec couvercles inclinés. Mettre rapidement les couvercles, laisser refroidir au dessiccateur durant 15 à 20 min et peser. Remettre les vases à couvercles inclinés dans l'étuve pendant 1h puis peser comme précédemment. Arrêter le séchage lorsque la différence entre deux pesées est inférieure à 0.02 g sinon continuer jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Expression des résultats

La teneur en eau (%) dans la matière végétale est calculée par la formule suivante :

$$\%H_2O = (m_3 - m_1) / (m_2 - m_1) \times 100$$

m₁ : masse de vase de tare (g).

m₂ : masse de la prise d'essai avant le séchage (g) + m₁.

m₃ : masse de la prise d'essai après séchage (g) + m₁.

3.2. Détermination de la teneur en cendres

Effectuer une pré-incinération des creusets en porcelaine à 300°C pendant 15 min. Après refroidissement, peser les creusets à vide. Mettre 2 g d'échantillon moulu dans les creusets. Introduire l'ensemble dans le four à moufle à une température de 600°C pendant 1h15min jusqu'à



transformation de la matière végétale en poudre blanche grisâtre. Refroidir, ensuite, dans un dessiccateur sous atmosphère raréfiée. Peser les creusets avec cendres.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$X\% = [(P_3 - P_1) / (P_2 - P_1)] \times 100$$

P_1 : poids de creusets vide.
 P_2 : poids de creuset + échantillon avant incinération.
 P_3 : poids de creuset + échantillon après incinération.
 $X\%$: pourcentage en cendres.

3.3. Dosage des lipides

Dans un ballon surmonté d'un appareil soxhlet, extraire 2 g de matière végétale finement broyée avec de l'hexane, pendant 6 heures. Après plusieurs siphonages et épuisement total de la drogue par le solvant, refroidir puis concentrer au rotavapor. Le résidu obtenu représente la fraction lipidique.

Expression des résultats

Le taux de la matière grasse est déterminé selon la méthode indirecte par la formule suivante :

$$R = (m/m_0) \times 100$$

m : masse (g) de l'extrait brut obtenu après évaporation du solvant.
 m_0 : masse (g) de la matière végétale sèche.

3.4. Dosage des protéines brutes

Ce dosage est réalisé par la méthode de Kjeldhal qui comprend trois étapes : la minéralisation, la distillation et la titration.

3.4.1 La minéralisation

Dans un matras de Kjeldhal, introduire 2 g de l'échantillon, 1 g de catalyseur (un mélange de 15 g de K_2SO_4 et 5 g de $CuSO_4$), 2 ml de H_2O_2 et 10 ml d' H_2SO_4 . Chauffer le matras jusqu'à disparition de la couleur noire et obtention d'une solution limpide, indication de la transformation de l'azote organique en azote minéral sous forme ammoniacal. Après le refroidissement, transvaser le contenu du matras dans une fiole puis compléter le volume jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée.

3.4.2. La distillation

Elle consiste à la libération de l'ammoniac par action de la soude retenu dans l'acide sulfurique selon le mode opératoire suivant :

Transvaser 10 ml du contenu de la fiole dans une éprouvette de l'unité de distillat. Ajouter, ensuite, 20 ml d'eau distillée et 30 ml de NaOH 35%. Recueillir le distillat dans 25 ml de H_2SO_4 0.1N en présence de quelques gouttes d'indicateur de Tachiro. Une couleur rose violette est obtenue.

3.4.3. La titration

ml d'H₂SO₄ 95%. Mettre les tubes dans l'étuve à 100°C pendant 5 min, puis conserver les 30 min à l'obscurité. Lire la densité optique à la longueur d'onde $\lambda = 490$ nm. Tracer, ensuite, la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats

La teneur en sucre dans l'échantillon est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage.

3.6. Dosage des fibres alimentaires

Sécher l'échantillon dans l'étuve à 105°C jusqu'à obtention d'un poids constant. Laisser refroidir dans un dessiccateur. Peser, exactement, 2 g de l'échantillon finement broyé. Ajouter 150 ml d'H₂SO₄ 1.25% et 3 à 5 gouttes de *n*-octanol (anti-mousse). Porter l'ensemble à ébullition pendant 30 min puis reliaer au vide pour vidanger l'H₂SO₄. Laver la solution résultante avec 3 x 30 ml d'eau distillée chaude (creusets remplis jusqu'au dessus). Remuer le contenu des creusets en se reliant chaque fois à l'air comprimé. Après vidange à l'eau distillée, ajouter 150 ml de KOH 1.25% et 3 à 5 gouttes de *n*-octanol. Bouillir pendant 30 min, filtrer puis laver avec 3 x 30 ml d'eau distillée chaude. Remuer comme précédemment. Performer un dernier lavage avec l'eau distillée froide pour refroidir les creusets, puis laver avec 3 x 25 ml d'acétone.

Retirer les creusets puis déterminer le poids sec après séchage dans l'étuve à 105°C pendant 1 h jusqu'à un poids constant. Refroidir dans un dessiccateur. Ce résidu est constitué de fibres brutes et de cendres. Pour éliminer ces derniers, placer les creusets dans un four à moufle à une température de 550°C pendant 3 h. Refroidir dans un dessiccateur et répéter l'opération plusieurs fois jusqu'à obtention d'un poids constant. La différence des pesées représente le taux des fibres alimentaires.

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés comme suit :

- F : pourcentage des fibres alimentaires.
- $$F\% = (M_2 - M_3) / M \times 100$$
- M₁ : le poids des creusets
M₂ : le poids des creusets + échantillon avant l'incinération.
M₃ : le poids des creusets + échantillon après l'incinération.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressées à l'étude d'une plante de la région de Tlemcen appelée localement Sedra (*Zizyphus lotus* L.). C'est une plante de la famille des Rhamnacées utile, en médecine populaire, pour soigner le tube digestif, le foie et les affections respiratoires. Elle est connue pour ses activités : anti-inflammatoire, anti-ulcérogénique, analgésique et antibactérienne.

Dans cette étude, nous avons tenté, par l'adoption d'une méthodologie scientifique, de valoriser davantage cette plante. En effet, plusieurs axes de recherche sont investis et des résultats intéressants sont obtenus. Ces derniers peuvent être résumés comme suit :

- Criblage phytochimique : plusieurs familles de composés chimiques sont détectées dans les racines et les feuilles de *Zizyphus lotus* L. telles que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et les saponosides avec des quantités importantes. Les résultats du screening permettent de souligner, aussi, la faible teneur en composés réducteurs, stérols, stéroïdes, et l'absence totale des coumarines, amidon et les anthracénosides dans les autres parties étudiées.

- Extractions : ces opérations conduisent à l'isolement de nombreux extraits, notamment, des acides gras, des insaponifiables, des tanins et des alcaloïdes à partir des racines et de l'H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L. Après plusieurs essais, des fractions pures d'alcaloïdes sont obtenues. L'application des méthodes d'analyse usuelles, nous a permis de faire une caractérisation partielle de tous les extraits préparés. Des analyses poussées (IRTF, RMN ¹H, CLHP, CPG et CPG/SM) permettront, sans aucun doute, de nous éclairer sur les structures moléculaires des produits étudiés. Concernant l'H.E des fruits, un pourcentage de caractérisation de 76.37% est atteint. Nous constatons qu'elle est constituée, essentiellement, d'acides (46.39%), d'esters (27.82%) et d'un aldéhyde, le dodécanal (1.06%). Parmi toutes les molécules identifiées, l'acide dodécanoïque (19.64%), *n*-dodécyl acétate (18.77%) et l'acide tétradécanoïque (10.28%) représentent les composés majoritaires.

- Valeur nutritionnelle : l'étude, des différentes parties de *Zizyphus lotus* L. soumises aux méthodes de dosages spécifiques, révèle la présence de plusieurs éléments nutritionnels. Parmi lesquels nous citons les lipides (noyaux, 27.0%), les sucres (pulpes, 41.0%), les protéines (tiges, 25.55%) et des fibres alimentaires (racines, 32.0%) en quantités significatives et variables selon la partie de la plante étudiée.

Enfin, ces résultats préliminaires sont prometteurs et seront poursuivis dans des travaux futurs dans l'optique d'une meilleure valorisation de *Zizyphus lotus* L. Des tests d'activité biologique seront aussi envisagés pour les extraits d'insaponifiables, tanins et alcaloïdes.



Les résultats du fractionnement sont regroupés ci-dessous :

Tableau 13 : Résultats de la chromatographie sur colonne de l'extrait brut d'alcaloïdes.

Aspect	Masse	Chromatographie sur colonne				
		Eluant	Fractions	Masse (mg)	R _f	Rdt (%)
Solide jaune	330 mg	AcOEt/CHCl ₃ (5/1.5)	ZLR1	10	0.71	3.03
			ZLR2	20	0.62	6.06
			ZLR3	40	0.45	12.1
			ZLR4	20	0.20	6.06
			ZLR5	130	0.11	39.40

Le rendement global de cette opération est estimé à 66.67%. En effet, à partir d'une masse brute de 330 mg d'extrait d'alcaloïde brut, 220 mg sont récupérés sous forme de cinq fractions de masses respectives 10, 20, 40, 20 et 130 mg. Pour vérifier leur pureté, nous avons procédé à des analyses CLHP. Seule la fraction ZLR2 est récupérée avec une pureté de 98.81% comme le montre le chromatogramme suivant obtenu dans les mêmes conditions modifiées citées plus haut [18] :

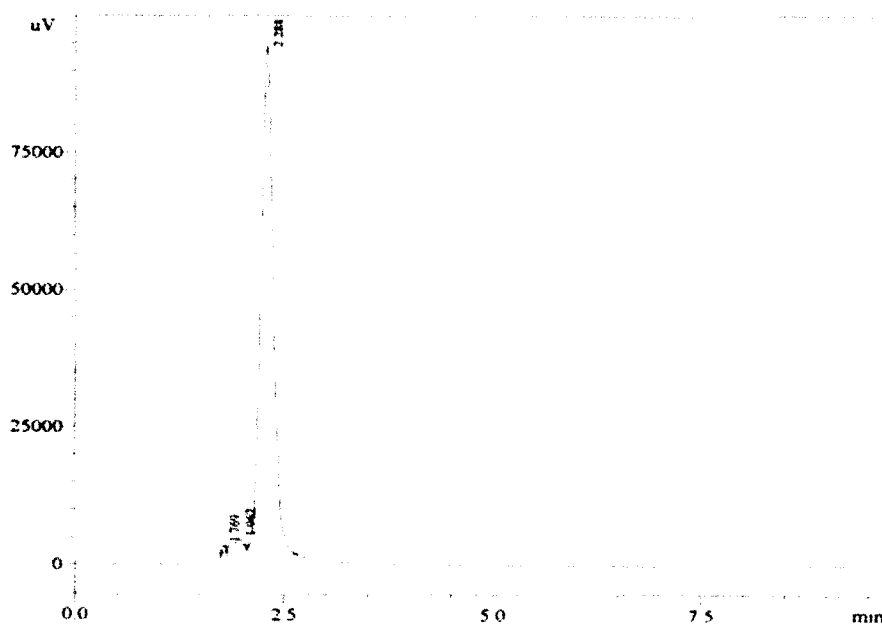
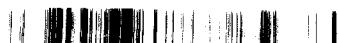


Figure 25 : CLHP de la fraction ZLR2.

Tableau 14 : Analyse CLHP de la fraction ZLR2.

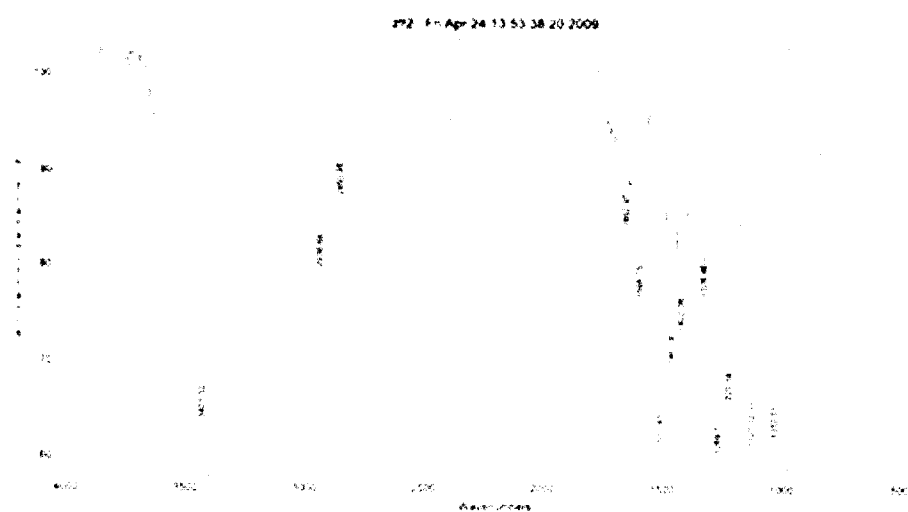
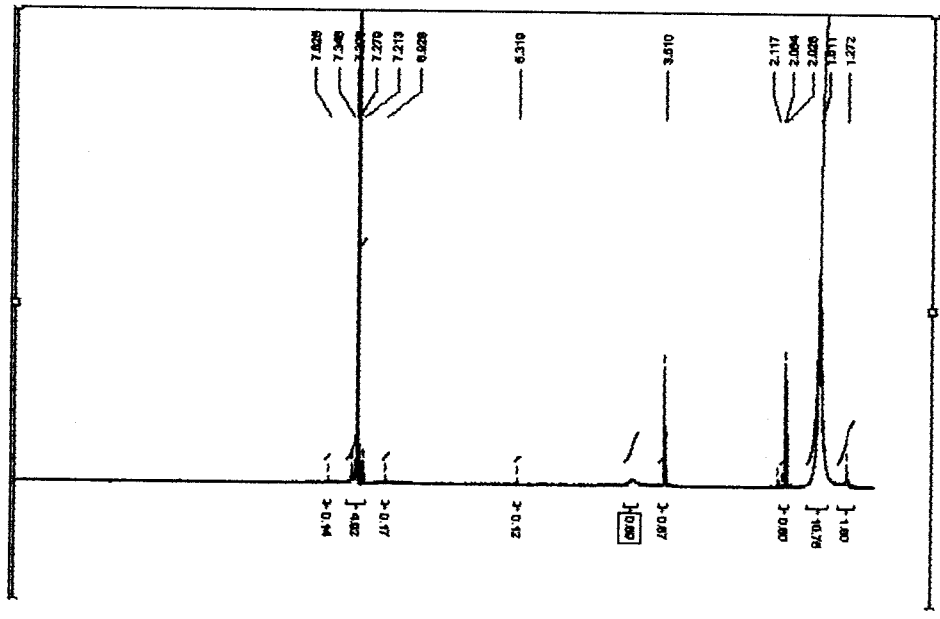
N° pic	Temps de rétention	Surface	Hauteur	% Aire	% Hauteur
1	1.769	1743	796	0.182	0.842
2	1.962	9629	1648	1.006	1.744
3	2.288	945336	92035	98.811	97.413
Total		956709	94479	100.000	100.000



Toutes les autres fractions, notamment ZLR1, ZLR3, ZLR4 et ZLR5 se sont révélées être des mélanges renfermant plusieurs alcaloïdes.

A ce stade de notre recherche, nous avons tenté de caractériser le composé que renferme la fraction ZLR2. Pour ce faire, nous l'avons soumise aux méthodes d'analyse usuelles à savoir IRTF, RMN ¹H etc. Les spectres et les données spectrales sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 15 : Caractéristiques spectrales de ZLR2.

Spectre	Caractéristiques
<p>IRTF :</p> 	<p>IR : ν max (cm⁻¹) (KBr) :</p> <p>3431.33(OH), 2936.68(CH₂), 2850.98(CH₃), 1595.75(NH-C=O), 1652.97(C=C), 1269.17 (C-O)</p>
<p>RMN ¹H (300MHz)</p> 	<p>RMN ¹H (CDCl₃)</p> <p>δ_{ppm} : 1,27(s), 1.61(s), 2.084 (t), 3.51 (s), 5.319(s), 6.92(s), 7.27 (d,d), 7.20(d,d), 7.62 (s)</p>

4.4. Extraction des racines par des solvants à polarité croissantes

Afin de pouvoir évaluer les activités biologiques des composés chimiques contenus dans les racines, nous avons procédé à diverses extractions en utilisant des solvants de polarité croissante comme AcOEt, MeOH et H₂O. Il en résulte trois fractions notées ZLR_{AcOEt}, ZLR_{MeOH} et ZLR_{H₂O}.

Tableau 16 : Extractions des racines par différents solvants.

Solvants	Fractions	Aspect	Rendement (%)
AcOEt	ZLR _{AcOEt}	Solide jaune	2
MeOH	ZLR _{MeOH}	Cristaux marrons	18
H ₂ O	ZLR _{H₂O}	Solide marron	12

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par W. Borgi et Coll. [10]. En effet, l'équipe Borgi mentionne des pourcentages estimés à 25.27%, 14.38% et 1.29% respectivement pour l'extrait méthanolique, aqueux et d'acétate d'éthyle.

Ces fractions sont conservées pour des tests biologiques futurs.

4.5. Extraction des H.E

En se basant sur les résultats de l'examen phytochimique, nous avons trouvé que les fruits, et plus spécialement les pulpes, de *Zizyphus lotus* L. contiennent une quantité importante d'H.E.

Ce résultat nous a incités à l'extraire et la caractériser par CPG et CPG/SM. Cette étude de l'H.E de *Zizyphus lotus* L. est aussi motivée par le peu de travaux cités dans la littérature sur sa composition et ses activités biologiques.

Pour ce faire, nous avons procédé à l'extraction des fruits dénoyautés (pulpes) par hydrodistillation. Un rendement très faible est obtenu par cette méthode. Cela peut s'expliquer par une mauvaise conservation des fruits ou encore par un montage d'hydrodistillation obsolète. Nous préconisons dans un travail futur l'utilisation d'un Clevenger.

Le peu d'huile est récupérée par extraction à l'éther diéthylique. Cette dernière est soumise à l'analyse CPG et CPG/SM (Voire annexe) dans les conditions suivantes :

- Les chromatogrammes CPG (voire figure 27) sont enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer (Waltham, MA, USA) Autosystem XL équipé d'un système de détection FID, d'un injecteur diviseur et deux colonnes capillaires (60m x 0.22 mm d.i. ; épaisseur du film 0.25 µm) respectivement apolaire (Rtx-1, Polydiméthyl siloxane) et polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol). Les échantillons ont été injectés dans le mode de fente (1:50), employant l'hélium comme gaz vecteur (1ml/min) ; volume d'injection, 0.2 µl.

l'intervalle des masses 35-350 Da.

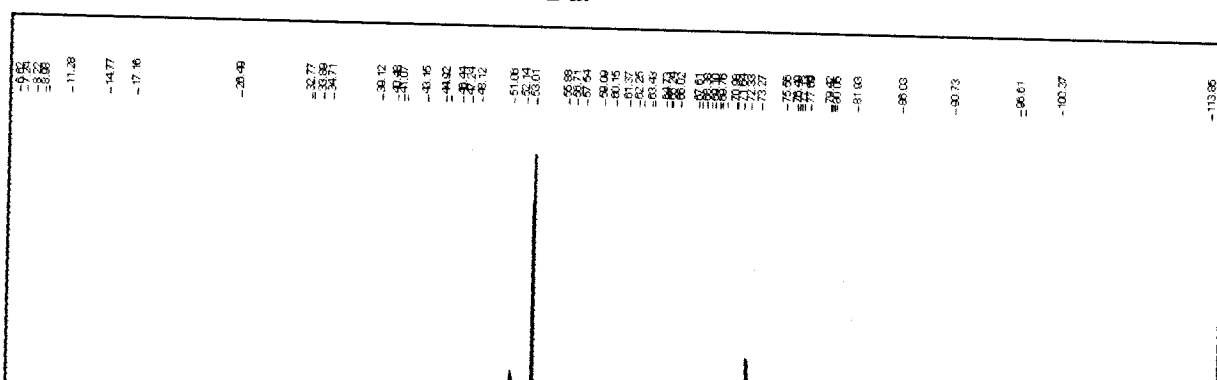


Tableau 17 : Composition chimique de l'H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L.

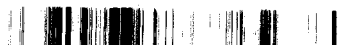
Pic	Tr (mn)	Aire	%	IR	Composés
1	8.98	65.82113	1.33	825	Acide iso valérique
2	9.33	33.22538	0.67	831	Acide 2-méthyl butanoïque
3	11.28	16.58007	0.33	882	Acide 2,2-diméthyl propanoïque
4	14.77	19.314	0.39	955	Acide hexanoïque
5	26.49	29.38372	0.59	1152	Acide octanoïque
6	32.77	39.194.74	0.79	1250	Acide nonaoïque
7	39.12	202.51530	4.08	1350	Acide décanoïque
8	40.48	17.47191	0.35	1379	Décanoate d'éthyle
9	41.07	52.56625	1.06	1387	Dodécanal
10	47.24	54.65894	1.1	1471	Di-ter-butyl p-crésol
11	51.06	974.48090	19.64	1550	Acide dodécanoïque
12	52.14	569.89819	1.41	1578	Dodécanoate d'éthyle
13	53.01	931.32461	18.77	1593	<i>n</i> -Dodécyl acétate
14	61.37	510.11562	10.28	1746	Acide tétradécanoïque
15	62.71	77.30873	1.56	1778	Tétradécanoate d'éthyle
16	68.38	17.96926	0.36	1894	Acide pentadécanoïque
17	70.98	333.10020	6.71	1946	Acide hexadécanoïque
18	69.10	64.42370	1.3	1910	Hexadécanoate de méthyle
19	72.33	237.30033	4.78	1919	Hexadécanoate d'éthyle
20	76.89	42.93291	0.87	2082	Acide oléique
Composés identifiés			76.37		

En réalité, la CPG montre plusieurs pics dont nous n'avons, malheureusement, pu identifier que 20 composés.

Ces identifications sont faites suite à une étude comparative des temps de rétention, du dépouillement des spectres de masse et aussi le recours aux sites bibliographiques contenant des banques de données informatisées comme <http://webbook.nist.gov/chemistry>.

Le pourcentage de caractérisation est estimé à 76.37%. Nous constatons que l'H.E est constituée surtout d'acides (46.39%), d'esters (27.82%) et d'un aldéhyde, le dodécanal (1.06%). Parmi toutes les molécules identifiées, l'acide dodécanoïque (19.64%), *n*-dodécyl acétate (18.77%) et l'acide tétradécanoïque (10.28%) représentent les composés majoritaires.

D'après cette composition, il est clair que l'H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L. contient beaucoup d'acides et d'esters. Ce résultat mérite nécessité confirmation par d'autres essais d'extractions.



Afin de pouvoir compléter cette caractérisation, nous envisageons aussi, dans un travail futur, exploiter les avantages qu'offre la Micro Extraction en Phase Solide (MEPS). Cette technique de préconcentration des composés volatiles à l'état de traces contenus dans les fruits, présente de nombreux avantages par rapport à l'hydrodistillation, parmi lesquels nous citons :

- Coût peu élevé,
- Rapidité d'analyse,
- Reproductibilité et sa fiabilité,
- De plus, elle ne nécessite pas de solvant et où la préparation de l'échantillon est très souvent limitée à son prélèvement.

V. 5. Détermination des teneurs en éléments nutritionnels

Il est à noter que toutes les plantes possèdent un métabolisme primaire et un autre secondaire (Voire Chapitre II). Le premier fournit, en quantités appréciables, les molécules de base telles que les acides nucléiques (ADN et ARN), les acides aminés, les carbohydrates, les lipides et protéines. Le second produit des molécules comme les alcaloïdes, les polyphénols etc. qui ne paraissent pas essentielles à la vie de la plante mais qui ont fait leurs preuves dans plusieurs domaines, notamment, en médecine, cosmétique etc. [12, 20].

Dans une optique de valorisation de *Zizyphus lotus L.*, nous nous sommes investis dans une étude fondée sur l'évaluation des teneurs en éléments nutritionnels résultants du métabolisme primaire. En effet, cette estimation des teneurs peut nous renseigner sur les qualités nutritionnelles de cette plante et, par conséquent, de son éventuelle exploitation à grande échelle. Les éléments concernés par cette étude sont l'eau, les cendres, les lipides, les protéines, les sucres et les fibres alimentaires.

5.1. Teneur en eau

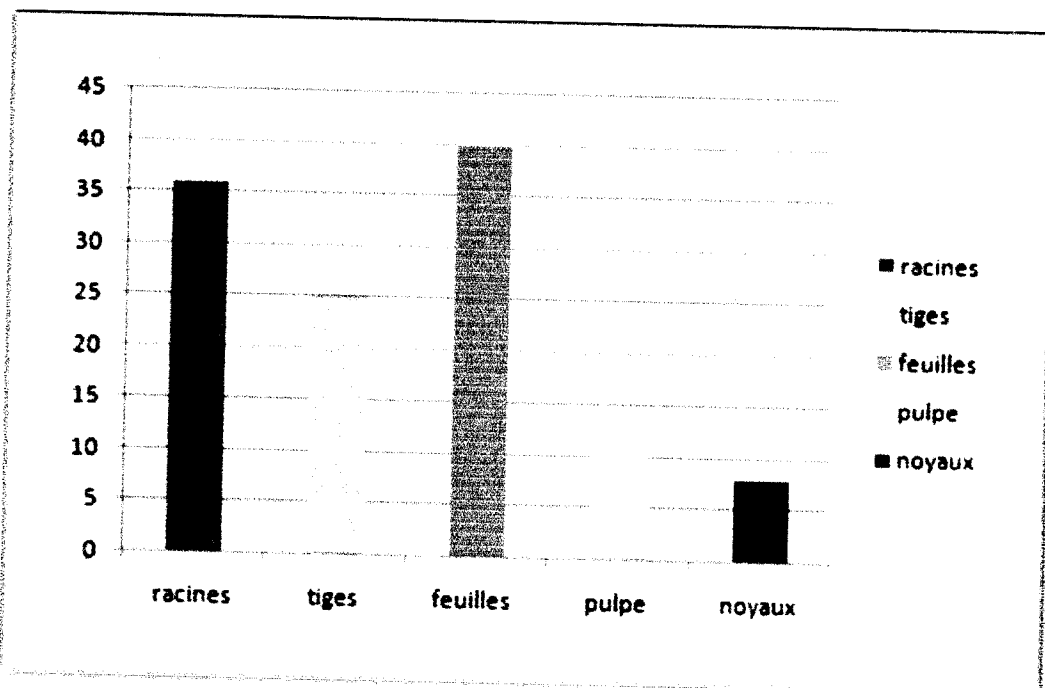
L'eau est essentielle pour tous les processus biologiques. Elle participe dans les phénomènes osmotiques et les échanges thermiques [21].

La technique qui permet la mesure de la teneur en eau est basée sur une dessiccation de la matière végétale (racines, tiges, feuilles, noyaux, pulpes). Cette opération est réalisée dans l'étuve à 105 °C et à pression normale jusqu'à l'obtention d'une masse constante. La différence entre les pesées avant et après dessiccation donne la teneur en eau. Nos résultats sont réunis dans le tableau 18 et représentés dans l'histogramme 1 :



Tableau 18 : Teneur en eau dans les différentes parties de *Zizyphus lotus* L.

	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Teneur en eau(%)	36	25	40	12	8



Histogramme 1 : Teneur en eau.

Ces résultats révèlent que les feuilles et les racines constituent les parties les plus riches en eau avec respectivement 40% et 36%. Cette teneur en eau varie de 8 à 25% pour les autres parties de la plante.

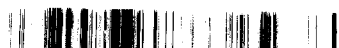
5.2. Teneur en cendres

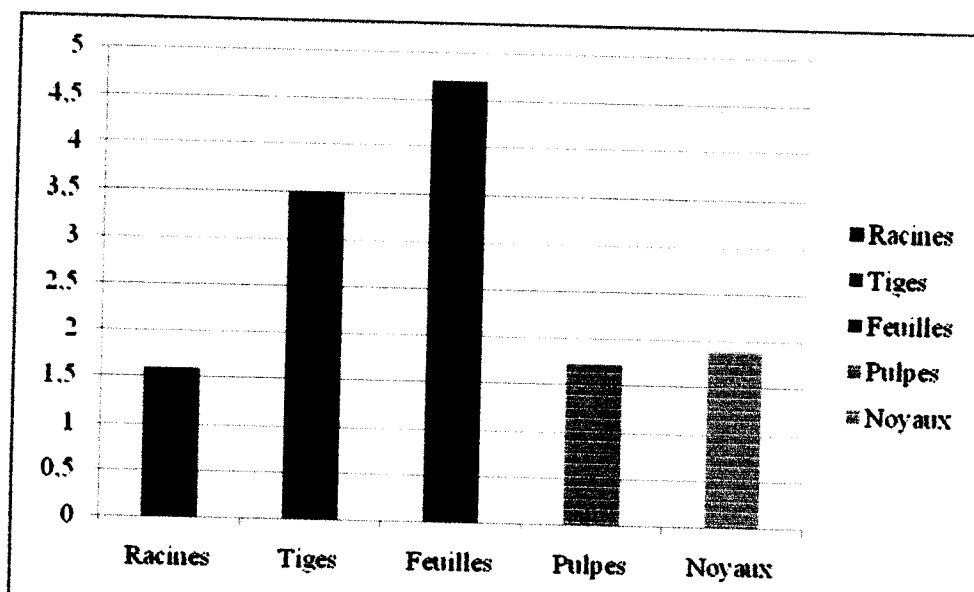
Les cendres résultent de la calcination de la matière végétale et contiennent tous les sels minéraux que renferme celle-ci. Ces éléments sont essentiels à l'organisme [21, 22].

Le principe de l'évaluation de la teneur en cendres consiste en une incinération de la matière végétale dans un four à moufle. Cette opération est menée dans des creusets en porcelaines à une température de 600°C. Elle est arrêtée dès l'apparition de la couleur grisâtre. Après refroidissement, le résidu devient blanc. Les résultats des pesées sont présentés dans le tableau 19 et sur l'histogramme 2.

Tableau 19 : Teneur en cendres.

	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Teneur en cendres (%)	1.6	3.50	4.71	1.13	1.90





Histogramme 2 : Teneur en cendres.

Ces résultats montrent que les feuilles et les tiges contiennent plus de sels minéraux que les autres parties étudiées. Notons aussi que les teneurs en sels minéraux obtenues sont plus élevées que celles estimées dans les pommes [23]. La composition des sels peut être connue par emploi de l'absorption atomique.

5.3. Teneur en lipides

Les lipides sont des esters d'acides gras et d'un alcool ou d'un polyol. Se sont des substances hydrophobes, solubles dans les solvants apolaires ou peu polaires [12].

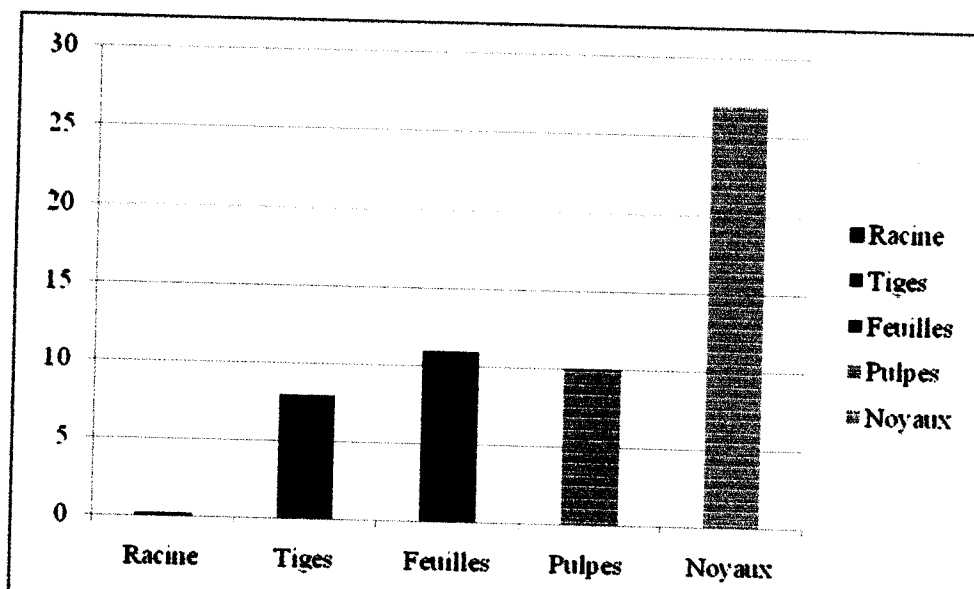
Généralement, la détermination de la teneur en lipides peut être réalisée suivant deux méthodes l'une directe et l'autre indirecte. La première consiste à peser le résidu directement après concentration du solvant dans un rotavapor. La seconde est basée sur la pesée de la cartouche contenant la matière végétale avant et après extraction et séchage.

Pour ce qui nous concerne, nous avons opté pour la méthode directe. Cette dernière est réalisée après extraction à l'hexane en utilisant le soxhlet. Les résultats sont représentés ci-dessous :

Tableau 20 : Teneur en lipides.

	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Teneur en lipides (%)	0.18	8	11	10	27





Histogramme 3 : Teneur des lipides.

D'après ces résultats, il est évident que les noyaux sont les plus riches en matières lipidiques (27%). Ce résultat nous réconforte parce que les noyaux contiennent une huile fixe, déjà exploitée par les industries pharmaceutiques et cosmétiques. Elle est aussi utilisée comme lubrifiant des moteurs soumis à haute pression [24].

De plus, ces résultats révèlent que les tiges, les feuilles et les pulpes sont moyennement riches en lipides et qu'ils sont, par contre, très peu présents dans les racines.

5.4. Teneur en protéines

Les protéines sont constituées d'un agencement d'acides aminés différents [25]. La détermination de leur teneur est effectuée par la méthode Kjeldhal [26, 27]. C'est la méthode de référence et de routine la plus utilisée dans ce cas. Cependant, elle présente un certain nombre d'inconvénients parmi lesquels nous citons :

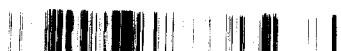
- Durée longue de l'opération,
- Emploi de réactifs toxiques et dangereux.

Cette méthode est basée sur la mesure de l'azote ammoniacal après minéralisation de la matière végétale. Elle se fait en trois étapes la minéralisation, la distillation et la titration.

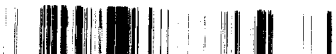
Les résultats des teneurs en protéines sont résumés dans le tableau 21 :

Tableau 21 : Teneur en protéines.

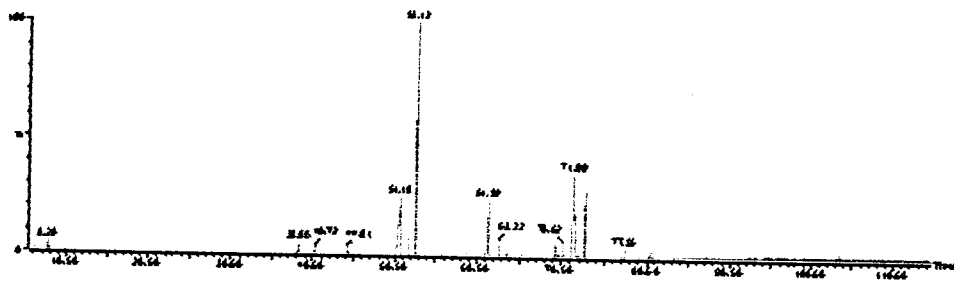
	Racines	Tiges	Feuilles	Pulpes	Noyaux
Teneur en protéines (%)	0.52	25.55	3.2	2.58	12.64



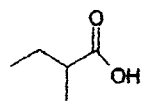
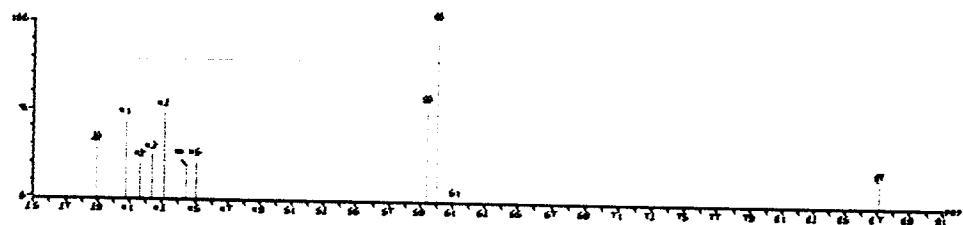
Annexes



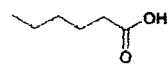
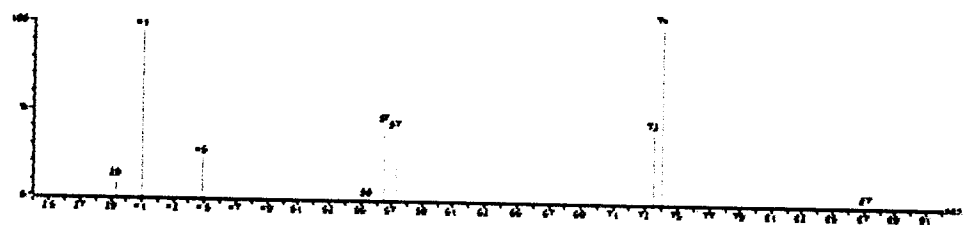
20.12.18



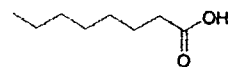
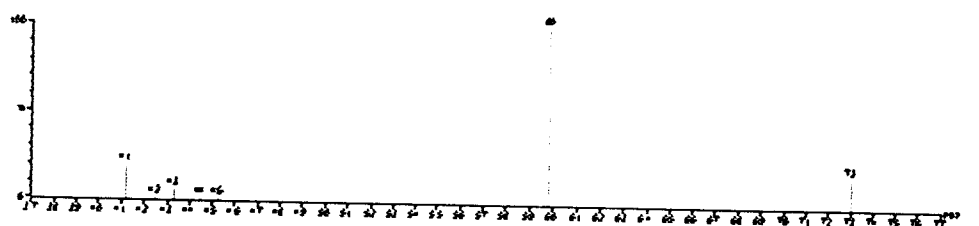
20.02.00



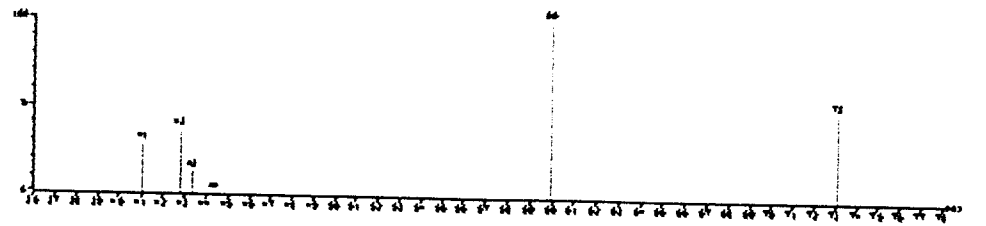
20.02.00

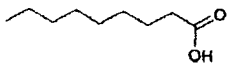


20.02.00

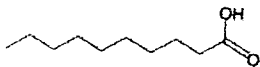
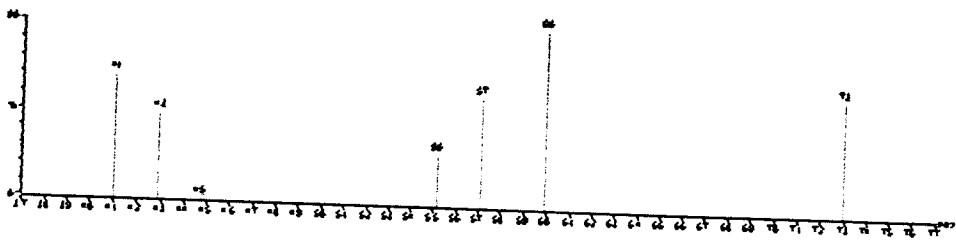


20.02.00

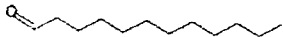
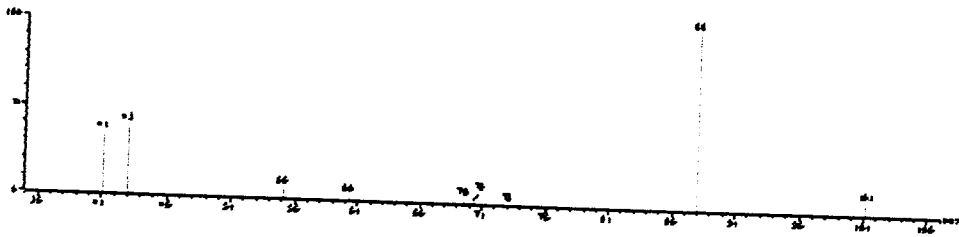
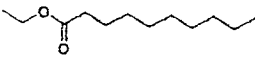
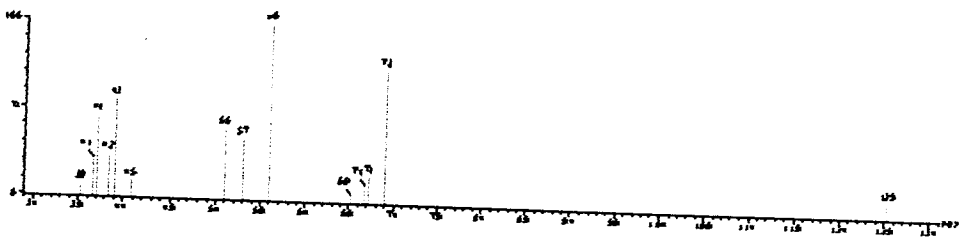




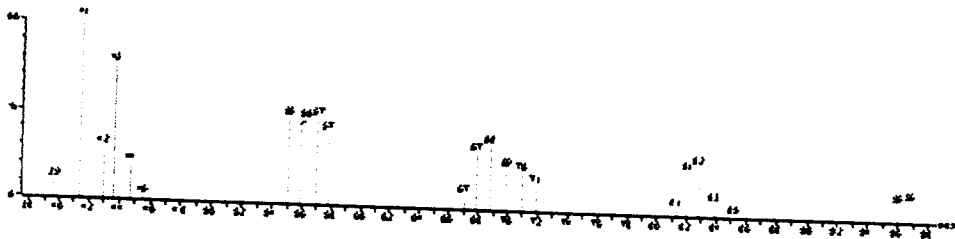
DJ-VJ-LJW

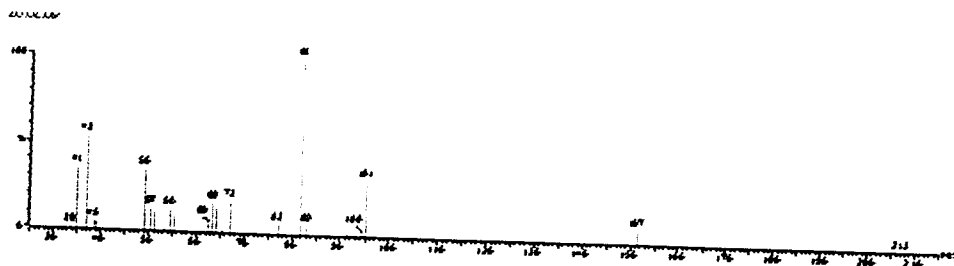
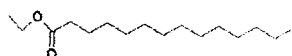
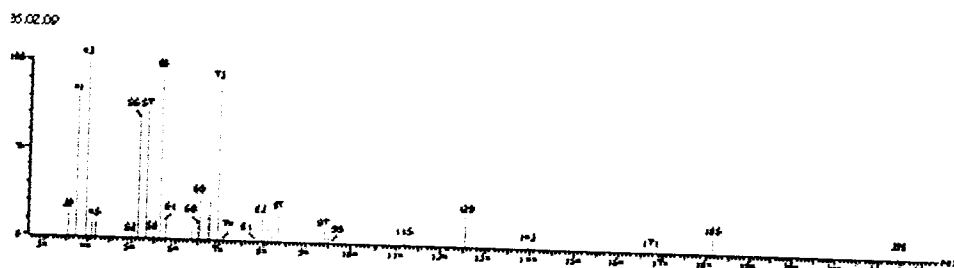
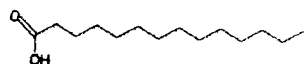
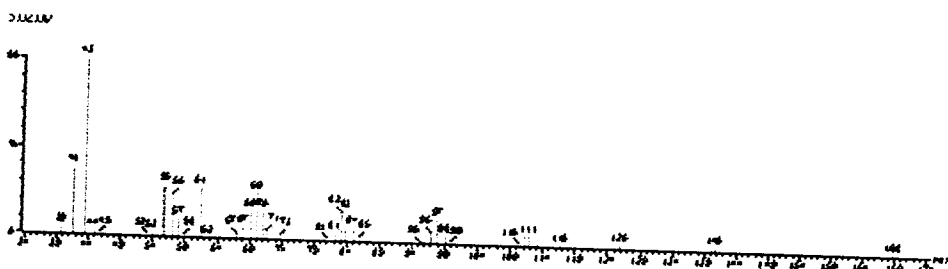
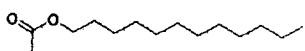
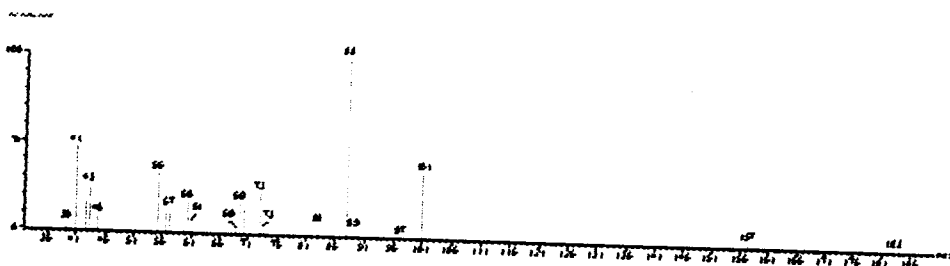
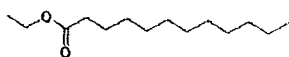
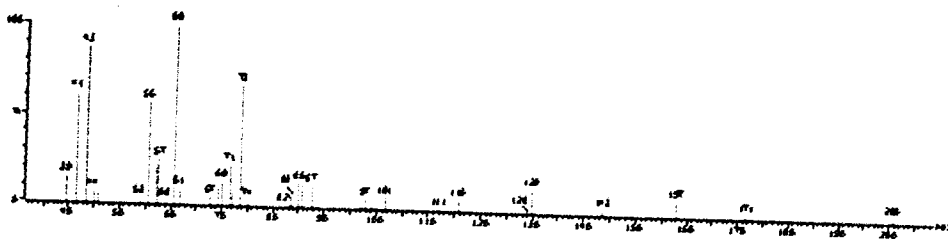
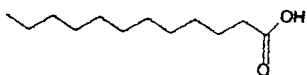


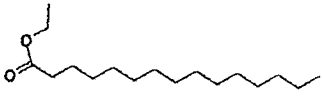
DJ-VJ-LJW



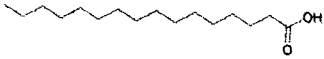
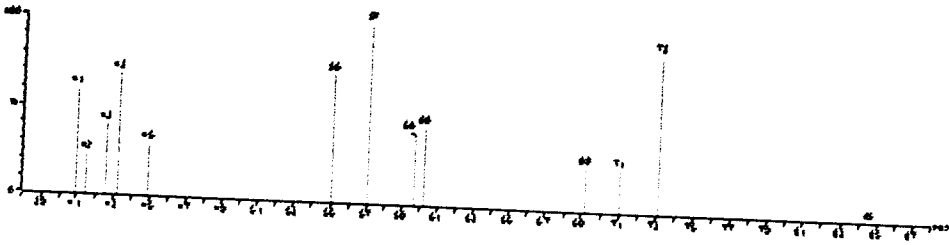
DJ-VJ-LJW



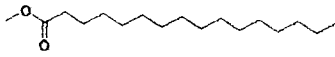
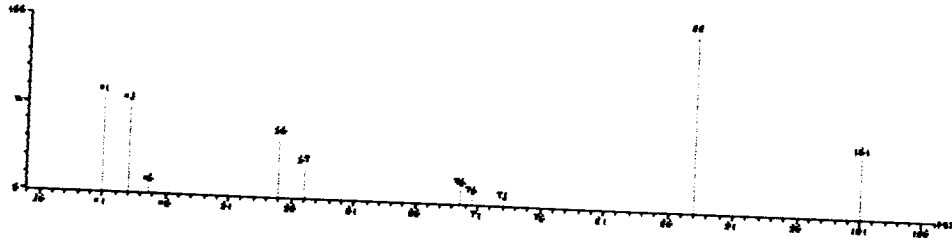




0.000000



0.000000



0.02.00

