

M/547-86/02

7



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

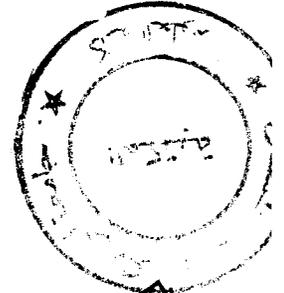
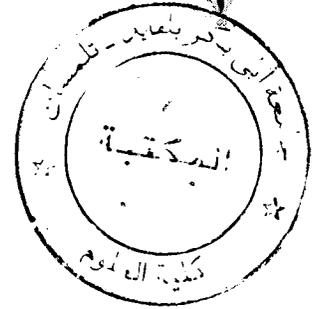
UNIVERSITÉ Abou Bekr BELKAID - TLEMCCEN

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles
et Analyses

- COSNA -



**"Etude Chimique et Biologique d'*Ampelodesma
mauritanicum* « Diss » "**

Mémoire présenté par :

CHOUIKHI Dalila

En vue de l'obtention du diplôme de :

Master de Chimie

Spécialité : Chimie Bio-Organique et Thérapeutique



Soutenu publiquement le 10 juin 2009 devant le jury composé de:

Pr. J. Kajima Mulengi	Président	UAB-Tlemcen
Pr. Ghalem S.	Examineur	UAB-Tlemcen
Pr. Bensaid O.	Examineur	UAB-Tlemcen
Dr. Arrar Z.	Examineur	UAB-Tlemcen
Dr. Atmani A.	Examineur	UAB-Tlemcen
Dr. Allali H.	Examineur	UAB-Tlemcen
Pr. Tabti B.	Encadreur	UAB-Tlemcen
Dr. Meriah S.	Co-encadreur	UAB-Tlemcen

Année universitaire: 2008-2009.





*À mes parents,
À ma grand-mère,
À toute ma famille et mes amis.*

Remerciements

Un mémoire n'est pas une fin en soi, mais c'est un moment particulier dans la vie d'un étudiant : il y aurait eu un avant qui ne sera plus, et il y aura un après à construire. Aussi, au moment de franchir cette limite, je ne peux pas ne pas penser à tous ceux qui, de près ou de loin, auront contribué à ce grand effort car, si l'épreuve est individuelle, ses implications sont sociales, académiques, familiales, et humaines tout simplement.

Mes premiers remerciements vont à mon directeur de mémoire le Professeur **B. TABTI** à qui j'adresse ma profonde gratitude de m'avoir fait confiance et d'avoir accepté de m'encadrer. Je le remercie pour la finesse de ses attitudes sur le plan aussi bien humain que scientifique, pour ses conseils éclairés et encouragements tout au long de ce travail malgré ses multiples occupations. Je le remercie surtout pour ses qualités humaines : sa gentillesse, sa cordialité et pour sa grande modestie.

J'exprime aussi mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à Madame **S. MERIAH** qui m'a proposé ce sujet. Je la remercie pour la qualité de son encadrement, si sérieux et si rigoureux. Elle a toujours trouvé comme promoteur le juste équilibre entre la liberté qu'elle m'a laissée dans ce travail d'une part, et un soutien total et sans faille dans les moments délicats, d'autre part.

C'était vraiment un très grand plaisir de travailler avec vous deux. Grâce à votre approche respectueuse de la personne, je me suis continuellement sentie à l'aise. Je vous en sais infiniment gré.

Je remercie vivement le Professeur **N. BENABADJI** qui m'a fait l'identification de la plante, et avec qui j'ai tant de fois eu de longues et enrichissantes discussions en botanique.

J'exprime aussi ma reconnaissance à Monsieur **J. KAJIMA MULENGI**, directeur du laboratoire COSNA, qui m'a fait l'honneur de présider le jury.

Je remercie très sincèrement les membres du jury pour avoir accepté de se pencher sur le travail décrit dans ce manuscrit.

Enfin, je tiens à clore ces remerciements avec celui pour lequel cette page est bien loin de suffire à exprimer toute ma reconnaissance. Monsieur **Ch. ZIANI-CHERIF**, un enseignant dont j'ai eu la chance de croiser le chemin et sans qui je ne serai peut être pas arrivée là aujourd'hui. Pédagogue exemplaire, je le remercie pour son art d'enseigner, un art qui m'a fait aimer la chimie. Je le remercie de m'avoir toujours assistée tout au long de mon cursus avec une disponibilité exceptionnelle, de m'avoir appris le sens de la perfection et de m'avoir transmis le goût de la recherche. Ses grandes qualités scientifiques, sa patience inébranlable et son esprit critique m'ont fait concevoir, progresser et percer. Les mots me semblent insuffisants pour exprimer toute l'estime et la reconnaissance que j'éprouve à son égard.

Sommaire :

Introduction générale.....	1
Références bibliographiques.....	3

1^{ère} partie : Recherche bibliographique

Chapitre (1) : Description botanique.

I- Présentation de la famille des Graminées (Poacées).....	4
I. 1- Genre et espèces.....	4
I. 2- Répartition géographique.....	4
I. 3- Description et caractéristiques générales de la famille.....	4
I. 4- Importance.....	4
I. 4. 1- Ecologique.....	5
I. 4. 2- Alimentaire.....	5
I. 4. 3- Fibres.....	5
I. 4. 4- Essences.....	5
I. 4. 5- Médicinale.....	5
I. 5- Toxicité des Poacées.....	6
II- Présentation générale de la plante.....	7
II. 1- Classification de la plante.....	7
II. 2- Origine du nom.....	7
II. 3- Noms vernaculaires.....	7
II. 4- Quelques synonymes.....	7
II. 5- Description botanique.....	8
II. 6- Répartition géographique.....	10
II. 7- Utilisations.....	10
Références bibliographiques.....	11

Chapitre (2) : Métabolites secondaires.

I- Métabolites primaires.....	16
II- Métabolites secondaires.....	16
II. 1- Les composés phénoliques.....	17
II.1.1- Les flavonoïdes.....	17
II.1.1.1- Structure générale.....	18
II.1.1.2- Propriétés biologiques.....	18
II.1.2- Les anthocyanes.....	18
II.1.2.1- Structure générale.....	19
II.1.2.2- Propriétés biologiques.....	19
II.1.3- Les tanins.....	19
II.1.3.1- Structure générale.....	20
II.1.3.2- Propriétés biologiques.....	21
II.1.4- Les coumarines.....	21
II.1.4.1- Structure générale.....	21

II.1.4-Les coumarines	21
II.1.4.1-Structure générale	21
II.1.4.2-Propriétés biologiques	21
II.2-Les alcaloïdes.....	22
II.2.1-Quelques structures.....	22
II.2.2-Propriétés Biologiques.....	22
II.3-Les terpénoïdes	23
II.3.1-Classification structures et quelques activités de quelques classes.....	23
II.3.1.1-Les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes	23
II.3.1.2-Diterpénoïdes	24
II.3.1.3-Triterpénoïdes et stéroïdes.....	24
Références bibliographiques.....	26

Chapitre (3) : Les huiles essentielles.

I- Définition des huiles essentielles	30
II- Procédés d'extraction	30
II.1- La distillation.....	30
II.1. 1- L'hydrodistillation	31
II.1. 2- Entraînement à la vapeur.....	31
II.2- L'expression à froid	32
II.3- L'enfleurage	32
II.4- Macération	33
II.5- Extraction par solvants volatils	33
III-Propriétés des huiles essentielles	34
III.1- Propriétés physiques générales.....	34
III.2- Propriétés chimiques générales	34
III.3- Propriétés thérapeutiques	34
IV- Composition	35
V- Utilisations.....	36
VI- Toxicité.....	36
Références bibliographiques.....	37

Chapitre (4) : Activités biologiques.

I. Activité hypoglycémiant	39
II. Activité antioxydante	40
III- Activité antimicrobienne	41
Références bibliographiques.....	42

2^{ème} partie : Partie expérimentale

Chapitre (1) : Travaux réalisés sur la plante.

I- Matériel végétal.....	46
II- Solvants, produits chimiques et méthodes d'analyses.....	46
II.1- Solvants et produits chimiques.....	46
II.2- Appareils utilisés.....	46
III- Monographie de la plante.....	47
III.1- Teneur en eau	47
III.2- Substances extractibles par l'eau.....	47
IV- Tests phytochimiques.....	48
IV.1- Recherche de composés polyphénoliques.....	48
IV.2- Recherche des Alcaloïdes.....	49
IV.3- Recherche des terpénoïdes	49
V- Extractions au Soxhlet.....	50
V.1- Principes.....	50
V.2 - Extraits aqueux pour l'activité hypoglycémiant	51
V.3 - Extraction dans des solvants à polarité croissante	53
VI- Les huiles essentielles.....	53
VI.1- Extraction des huiles essentielles	53
VI.2- Analyse de l'huile essentielle des feuilles	54
VII- Les activités biologiques	54
VII.1- Activité hypoglycémiant	54
VII.2- Activité antimicrobienne	54
VII.3- Activité antioxydante	56
Références bibliographiques.....	58
Chapitre (2) : Résultats et interprétation.....	59
Conclusion générale	70



Abréviations

- ADN : acide désoxyribonucléique.
- H.E : huiles essentielles.
- Rotavap : évaporateur rotatif.
- CCM : chromatographie sur couche mince.
- CPG : chromatographie en phase gazeuse.
- CPG/SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
- DCM : dichlorométhane.
- MeOH : méthanol.
- AcOH : acide acétique.
- ml : millilitre.
- µl : microlitre.
- °C : degré Celsius.
- mg : milligramme.
- g : gramme.
- Rf : facteur de rétention.
- t_R : temps de rétention.
- ATB : antibiotique.
- MH : Mueller-Hinton.
- DMSO : diméthyl formamide.
- P.a: *Pseudomonas aeruginosa*.
- E.coli : *Escherichia coli*.
- S.a : *Staphylococcus aureus*.
- DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl.

Introduction Générale



Gravés sur des parois rocheuses ou sur des poteries en terre cuite, les témoignages de l'intérêt de l'homme pour les plantes datent depuis la Préhistoire. Le règne végétal, lui fournissant en grande partie son alimentation, il fut son premier champ d'expérience. Peu à peu, il a appris à discerner les propriétés des plantes, leurs vertus et leur toxicité. Elles ont constitué sa principale source de remèdes contre les nombreuses maladies qui n'ont cessées de l'affecter depuis sa création [1]. L'extraordinaire richesse du vocabulaire populaire pour désigner les plantes nous en dit long sur les connaissances médicales de l'homme des champs des temps passés, qui voyait au bord du chemin, à l'ombre des haies, dans les bois et dans les prés, la pharmacie du bon Dieu qu'il avait sous la main [2]. Mais qu'est ce qui l'a guidé à employer une plante plutôt qu'une autre ? Le hasard ? La religion ? La superstition ? L'expérience certainement [1].

Aujourd'hui comme jadis, la médecine moderne dépend beaucoup des plantes [2]. Est-il nécessaire de rappeler que des « remèdes » aussi efficaces que la quinine, chef de file des antimalariques, la morphine, analgésique majeur, l'ergot de seigle aux vertus antimigraineuses ou le curare aux propriétés myorelaxantes sont d'origine végétale ! [2, 3]. Ainsi, sous leurs conditionnements hermétiques, gélules et comprimés contiennent souvent des extraits végétaux ou des produits d'hémisynthèse d'origine naturelle [2, 4]. Malgré les efforts des chimistes de synthèse pour trouver de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes [5].

Malheureusement, dans la majeure partie du monde la plupart des utilisateurs recourent aux plantes parce qu'ils n'ont pas accès à la médecine moderne. Pour atténuer le parti-pris, la défiance et l'ignorance à leur égard il faut leur donner des assises scientifiques. En effet, bien que leur utilisation pour se soigner soit vieille comme le monde, la rationalisation de leur action n'a véritablement trouvé sa dimension que très récemment [6].

Le problème majeur que pose la phytothérapie est que ses adeptes s'appuient, d'abord et avant tout, sur la « tradition ». Pourquoi pas ? Mais tradition ne vaut pas preuve. Au-delà de la tradition, le raisonnement s'appuie sur des propriétés pharmacologiques, mises en évidence *in vitro* et *in vivo*. [7].

Alors que la composition et la concentration des produits actifs d'une plante varient selon la saison, la partie employée et le lieu de cueillette, les techniques modernes permettent d'isoler les molécules chimiques des végétaux, de les doser rigoureusement et d'assurer une efficacité qui restera inchangée plusieurs années [2]. C'est dans cette problématique que se place ce présent travail.

En se basant sur les résultats d'une enquête ethnopharmacologique effectuée auprès de la population de la région de Tlemcen, et dans le but de la valorisation des plantes médicinales de l'Ouest algérien, nous nous sommes intéressés à l'étude d'une *Poaceae* à activité hypoglycémiante : *Ampelodesmos mauritanicus* (Poir.) T. Dur. & Schinz, connue sous le nom de « Diss ».

Dans cette étude ethnopharmacologique, on mentionne que le décocté des racines d'*Ampelodesmos mauritanicus* pris oralement par des personnes diabétiques, en cas de nécessité, diminuerait le taux de glycémie de 2.6 à 1.15 g/l [8]. Cette plante est aussi d'une grande valeur écologique, car grâce à son système racinaire, elle permet de lutter contre l'érosion dans les régions de steppes arides. Elle n'a cependant fait l'objet d'aucune étude antérieure de type chimique ou biologique.

Le présent travail est divisé en deux parties :

La première partie consiste en une recherche bibliographique, elle est subdivisée en quatre chapitres. Le premier chapitre consiste en une description de la famille de la plante, ainsi que de la plante elle-même. Le deuxième contient un bref rappel sur les principales classes des composés actifs des plantes. Ensuite un troisième chapitre sur les huiles essentielles. Et enfin un quatrième et dernier chapitre décrit quelques activités biologiques des plantes.

La seconde partie est la partie pratique, elle est subdivisée en deux chapitres. Le premier présente les travaux réalisés sur la plante, à savoir :

- ✓ La détermination des différentes classes de familles chimiques présentes dans la plante par criblage phytochimique.
- ✓ La réalisation des extractions en utilisant le Soxhlet dans des solvants à polarité croissante.
- ✓ La tentative d'isolation de composés purs, en réalisant une chromatographie sur colonne sur un des extraits de la plante.
- ✓ L'extraction des huiles essentielles des feuilles et des fleurs par hydrodistillation.
- ✓ La détermination de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles analysée par CPG et CPG/SM.
- ✓ L'évaluation des activités antimicrobienne et antioxydante des différents extraits et de l'huile essentielle des fleurs par comparaison à des produits de référence.

Et enfin, le second chapitre de cette deuxième partie discutera des résultats obtenus dans cette étude.

Références bibliographiques:

- [1] **Iserin, P., Masson, M. et Restellini, J.P.**
Encyclopédie des Plantes Médicinales: Identification, Préparations, Soins. Larousse - Bordas, Paris. 1997.
- [2] **Clément, R.P.**
Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1^{ère} partie). *Phytothérapie*. 2005 ; 4 : 171-175.
- [3] **Girre, L.**
Les plantes et les médicaments, l'origine végétale de nos médicaments. Editions Delachaux et Niestlé SA, Paris. 2001.
- [4] **Raynaud, J.**
Prescription en phytothérapie. Editions Lavoisier. 2005, p. 5-8.
- [5] **Newman, D.J., Cragg, G.M. et Snader, K.M.**
The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Prod. Rep.* 2000 ; 17 : 215-234.
- [6] **Bruneton, J.**
Pharmacognosie : Phytochimie et Plantes médicinales. 3^e éd. Éditions techniques et documentation et Éditions médicales internationales, Paris. 2001.
- [7] **Bruneton, J.**
Phytothérapie : les données de l'évaluation. Éditions Techniques et Documentation et Éditions Médicales Internationales, Paris. 2002.
- [8] **Allali, H. et al.**
Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*. 2008; 20 (4): 2701 - 2710.

1^{ère} partie :
Recherche
bibliographique



Chapitre (1) :

Description botanique



I- Présentation de la famille des Poacées (Graminées) :

C'est la famille du Blé [1], de l'Avoine [2], du Riz [3], du Maïs, des céréales en général [4] (à l'exception du Blé noir ou Sarrasin qui est une Polygonacée [5]). Cette famille, parmi toutes celles du règne végétal, occupe une place à part, non seulement par le nombre de ses espèces, mais encore par son ubiquité, sa répartition et son intérêt humain, historique comme économique [4].

I. 1- Genre et espèces : la famille des Poacées renferme environ 10.000 espèces, et entre 650 et 765 genres [6]. Elle se range après les *Astraceae*, *Orchidaceae* et *Fabaceae* par son nombre d'espèces [7].

I. 2- Répartition géographique: cosmopolite [8], depuis le désert jusqu'aux habitats d'eau douce ou marins, à toutes les altitudes à l'exception des plus extrêmes [4]. Les types de végétation dominés par les Poacées, comme les prairies et les plaines d'Amérique du nord, les pampas d'Amérique du sud, le veldt africain, les rizières et les steppes de l'Eurasie totalisent environ 24 % de la végétation du globe. Elles sont sans rivales parmi les angiospermes par la surface qu'elles occupent sur la terre [4, 9].

I. 3- Description et caractéristiques générales de la famille :

Les Poacées sont des plantes herbacées, annuelles ou vivaces [10-12] par un rhizome [12], souvent cespiteuses [9] et généralement de faible dimension [4]. **Le système racinaire :** il est formé de racines adventives [6], fibreuses produites par les nombreux nœuds de la base de la tige : généralement fasciculé il permet à la plante de se fixer solidement dans le sol bien que les racines ne pénètrent pas en profondeur [6, 13]. **Les tiges :** elles portent le nom de chaumes [4, 12], elles sont cylindriques, creuses, sauf au niveau des nœuds [9]. **Les feuilles** sont alternes sur deux rangs, distiques, limbe rubané [7, 12]. Ligule membraneuse ou poilue. Gaine fendue formée par le bas de la feuille entourant la tige. Elles sont insérées au niveau des nœuds [10]. **L'inflorescence :** une ou plusieurs fleurs réduites sont regroupées en une unité florale de base, l'épillet, situé au dessus de deux glumes [8, 14]. Les épillets, bisexués (unisexué : *Zea*), disposés de manière distique, forment des inflorescences en épis, en panicule ou en grappe [9]. **La fleur :** petite, achlamyde, trimère, isostémone, hypogyne, bisexuée, parfois unisexuée, entourée de deux glumelles (paléole supérieure et lemme inférieure) pouvant être munies d'une arête de dispersion [4, 6]. Périgone réduit représenté généralement par deux lodicules (trois chez les *Bambuseae*), dont la turgescence permet l'ouverture des glumelles [9]. Trois, parfois six étamines (*Festuca* : une ; *Anthoxanthum* : deux) ; anthères profondément sagittés ; déhiscence longitudinale. Ovaire supère, uniloculaire ; deux (- trois) styles ; deux (- trois) stigmates généralement plumeux ; ovule solitaire, anatrope [9]. **Le fruit** est un grain ou caryopse, c'est-à-dire fruit sec [10], indéhiscent, dont le péricarpe dur est adhérent au tégument interne de l'ovule, le tégument externe de l'ovule disparaissant pendant la maturation. Graine à petit embryon et albumen amylicé [9]. Paléole plus courte que le lemme

I. 4- Importance : Le Prix Nobel de la Paix attribué en 1970 pour la première fois à un scientifique, l'agronome Norman Ernest Borlaug pour ses travaux sur la sélection de

nouvelles races de blé à haut rendement, traduit l'importance considérable des Poacées dans la vie des hommes de tous les temps [4, 15].

I. 4. 1- Ecologique : en ce qui concerne le métabolisme du carbone, les Poacées sont la famille qui, de loin, possède le plus d'espèces dites en C₄ [16, 17]. Ces espèces, qui différencient deux types de chloroplastes, fixent le CO₂, avec un rendement 4 à 5 fois supérieur à la moyenne [4, 18]. La plupart des céréales (Maïs, Sorgho, Mil...) et la canne à sucre appartiennent à ce type [4].

I. 4. 2- Alimentaire : La famille des Poacées compte dans ses rangs les prestigieuses céréales. *Zea mays* (maïs) : vitamine K [19], *Triticum aestivum* (blé ou froment) : vitamine E [9], *Saccharum officinarum* : canne à sucre : saccharose [20].

I. 4. 3- Fibres : *Stipa tenacissima* [21], *Bambusa* [22], *Ampelodesmos mauritanicus* [23].

I. 4. 4- Essences : *Cymbopogon nardus* (citronnelle) [24], *Cymbopogon citratus* (lemon-gras) [24], *vetiveria zizanioides* (vétiver) [25].

I. 4. 5- Médicinale :

Tableau (1) : propriétés médicinales de quelques Poaceae

Plante	Région	Partie utilisée	Voie d'administration	Activité
<i>Oryza sativa</i> L.	Chine	Paille sèche (décocté)	Orale	Hépatite [26]
	Inde	Graine (poudre)	Orale	Fièvre typhoïde [27]
	Iran, Mexique, Nicaragua	Graine	Orale	Diarrhée [28, 29, 30]
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Afghanistan	Fleurs	Orale	Contraception [31]
	Argentine	Fruits secs (décocté)	Orale	Infections urinaires et respiratoires [32]
	Chine, Inde	Fruits secs (décocté)	Orale	Diabète [33, 34]
	Italie	Graines séchées (infusé)	orale	Galactagogue [35]
		Graines (bouillie)	Compresses	Calme les douleurs articulaires et rhumatismales [36]
<i>Saccharum officinarum</i> L.	Brésil	Feuilles fraîches (extrait aqueux)	orale	Hypertension, induire la diurèse. [37]

I. 5- Toxicité des Poacées:

Les *Poaceae* constituant l'essentiel de l'alimentation des herbivores, en particulier des animaux de rente, elles suscitent une multitude de travaux, y compris dans le domaine toxicologique [38]

Elles peuvent être nocives par nature dans la mesure où elles synthétisent et accumulent des constituants toxiques : oxalates de certains *Cenchrus*, *Digitaria*, *Setaria* ou *Pennisetum* ; alcaloïdes des *Phalaris* [39] ; hétérosides cyanogènes du sorgho et de *Cynodon* spp. ; saponosides photosensibilisants secondaires, etc. Elles peuvent aussi devenir dangereuses à la suite d'une contamination par des endophytes [40] : c'est en particulier le cas des fétuques et des ivraies. Dans les deux cas, le problème concerne au premier chef éleveurs et vétérinaires [41-45].

Un cas qui concerne l'Homme, celui des ingestions accidentelles d'essence de citronnelle, *i.e* d'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de *Poaceae* appartenant au genre *Cymbopogon* : *C.nardus* L. ou *C. winterianus* Jowitt. Plusieurs cas ont été décrits chez des jeunes enfants. La symptomatologie est plutôt discrète (toux, haleine caractéristique) et, si un cas mortel est connu, il est probable que les conditions de la prise en charge de l'intoxiqué ont participé à précipiter l'issue fatale [46].

Les arêtes barbues de certains représentants de la famille (Ex. : *Hordeum murinum* L.) peuvent provoquer des microtraumatismes, des inflammations oculaires (*Avena fatua* L. [47]), voire des pneumopathies. On se méfiera aussi des feuilles coupantes de l'herbe de la Pampa, « *Gynerium* » = *Cortaderia selloana* (Schutles & Schutles f.) Asch. & Graebner [38].

L'homme n'est pas le seul à être parfois incommodé par ces éléments agressifs : on connaît, entre autres, des exemples des cas de stomatites avec lésions gingivales ulcéreuses provoquées par les barbes de *Setaria* sp. Chez les chevaux [48]



II- Présentation générale de la plante :

II. 1- Classification de la plante [60]:

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Super division : *Spermatophyta* (plantes à graines)

Division : *Magnoliophyta* (plantes à fleurs)

Classe : *Liliopsida* (monocotylédones)

Sous classe : *Commelinidae*

Ordre : *Poales*

Famille: *Poaceae*

Genre : *Ampelodesmos* Link

Espèce : *Ampelodesmos mauritanicus* (Poir.) T. Dur. & Schinz

II. 2- Origine du nom :

Le nom *Ampelodesmos* est originaire de deux anciens mots grecs, *ampelos* ἄμπελος (vignes) [49-50] et *desmòs* δεσμη (attache) [49], ce qui fait allusion à l'ancienne utilisation par les fermiers de ses feuilles pour lier les vignes [6, 49-52].

Mauritanicus- a- um, veut dire originaire de l'Afrique du nord [49] (Maurétanie et non pas Mauritanie).

II. 3- Noms vernaculaires :

- France : *Ampelodesmos* de Mauritanie, Diss [53].
- Espagne : Càrritx, Carcera, Carrizo [54].
- Italie : Saracchi, Tagliamani[55], *Ampelodesma*, Disa [23], Agri, Acra [56].
- Angleterre: Mauritanian Grass [57], Vine reed [6], Mauritania Vine reed, Rope grass [52], Dis grass, Diss grass [50].
- En arabe: Dîs, Diss, Âdeles [50].

II. 4- Quelques synonymes :

- *Ampelodesmos bicolor* (Poir.) Kunth. [50]
- *Ampelodesmos tenax* (Vahl) Link. [50, 58]
- *Ampelodesmos effusus* Steud. [50]

II. 5- Description botanique :

C'est une plante vivace qui croît en touffes dans les lieux les plus arides, dans les fentes des rochers [59]. Grande panicule (50 cm de long) [58, 60], verdâtre ou panachée de violet et de rouge en mai-juin, devenant dorée et persistant sur la plante de juillet à octobre [61], étroite, interrompue, subunilatérale, penchée au sommet, très rameuse [60] ; rameaux pubescents et rudes, divisés presque dès la base [62].

Inflorescence : composée d'épillets [50].

Epillets : verts violacés [63], longs de 10-15 mm [51, 60], indépendants, à composition variable à 2, 5 fleurs fertiles hermaphrodites [50, 60, 63, 64] disposées sur un axe articulé couvert de poils [50]. Rachéole velue, se désarticulant au dessus des glumes et entre les fleurs [63]. 2 Glumes aigües, presque égales (inférieure : 7-10mm ; supérieure 9-12mm), bien plus courtes que les fleurs. Carénées, aristées, 3-5 nervures, persistantes, acuminées, mucronées. Glumelle inférieure bidentée au sommet, légèrement artisée, couverte dans sa moitié inférieure de poils blancs-soyeux, ciliée sur les bords, 5-7 nervée ; glumelle supérieure bicarénée ciliée [62].

Fleur : Lemme longue de 10-15mm, linéaire-lancéolée. Cornée, velue sur la moitié inférieure du dos ; 5 nervures. Brièvement bifide, à arête sinusale longue de 1-2mm. Paléole plus courte que le lemme. 3 étamines. Stigmates latéraux [50, 63].

Fruit : presque linéaire, cylindrique marqué d'un sillon longitudinal et couvert par les écailles.

Feuilles : (100cm x 7mm) d'un vert gai, allongées, raides, étroites, linéaires, canaliculées, acuminées-subulées, scabres à la face supérieure et aux bords ; ligule lancéolée (8-15mm), triangulaire, aiguë, membraneuse, ciliée [51, 62, 63].

Chaumes : dressés (300cm x 8mm), robustes, souche courte et fibreuse [62].



Figure (1) : photo d'*Ampelodesmos mauritanicus*.



Figure (2) : Fruits

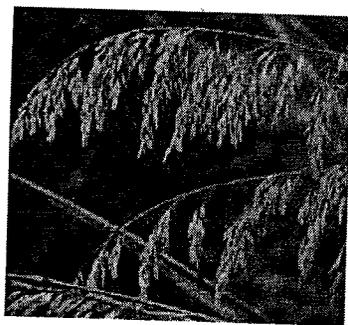


Figure (3) : Inflorescence

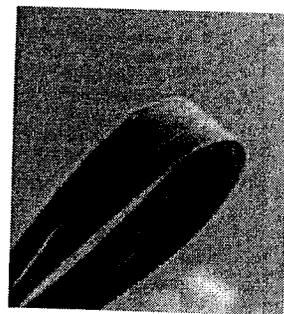


Figure (4) : Feuille



Figure (5) : représentation schématique
des différentes parties de la plante.

II. 6- Répartition géographique :

C'est une plante originaire du bassin méditerranéen mais qui a été introduite ailleurs et cultivée comme plante ornementale [50, 51, 60]. Très répandue dans l'Afrique-du-Nord [6], en Algérie [61, 66] (Région montagneuse boisée, forêt de pins d'Alep et hauts plateaux [66]), en Tunisie [50, 61] et au Maroc [6, 67]. On la trouve aussi dans les régions sèches de la Grèce [6, 63], à l'Espagne (Majorque, Minorque, Ibiza [68]), en Italie (Sardaigne, Sicile) [63] et en Turquie aussi [50, 68]. En France, on la trouve dans les départements des Alpes-Maritimes, du Var, [61] de la Corse-du-Sud [61, 63] et de l'Hérault [69]. Elle a été introduite aux Etats Unis en Californie [51, 52], et aussi en Angleterre où on la trouve à Kew dans The Royal Botanic Garden, et à Colchester dans le Beth Chatto's [6].

II. 7- Utilisations :

Les feuilles d'*Ampelodesmos mauritanicus* renferment 70 % de fibres textiles, elles ont été employées à fabriquer des tissus, du papier de très bonne qualité, des paniers, des balais, des cordages, des nattes dont on se servait pour lier les vignes [61, 70]. Elles servent aussi à couvrir les constructions légères et rapidement établies [61]. Les feuilles jeunes sont d'une grande ressource pour la nourriture des bestiaux quand les autres herbes sont desséchées [61, 70]. On en fait usage comme crin végétal ; elle possède l'avantage d'éloigner les insectes qui rongent les étoffes [70]. Des feuilles on tire une espèce d'huile appelée « *Azeite de juncos* » [71].

Références bibliographiques :

- [1] **Pierre, F.**
Le grain de blé. Composition et utilisation. Editions Quae. 2000, p. 1.
- [2] **Kulp, K. et Ponte, J.**
Handbook of Cereal Science and Technology. 2^e éd. Editions CRC Press. 2000, p. 128.
- [3] **Wayne, S., Robert, H. D. et Wayne, S. C.**
Rice: origin, history, technology, and production. Editions John Wiley and Sons. 2002, p. 29.
- [4] **Dupont, F. et Guignard, J. L.**
Botanique : systématique moléculaire. 14^e éd. Editions Elsevier Masson. 2007, p. 110.
- [5] **Forêt, R. et Mamecier, A.**
Dico de Bio. 2^e éd. Editions De Boeck Université. 2006, p. 126.
- [6] **Darke, R.**
The encyclopedia of grasses for livable landscapes. Editions Timber Press. 2007, p. 35-38.
- [7] **Judd, W., Campbell, Ch. et al.**
Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. Editions De Boeck Université. 2001, p.216.
- [8] **George, A. S., Orchard, A. E., Hewson, H. J. et Thompson H. S.**
Flora of Australia. Editions CSIRO Publishing. 1982, p. 1.
- [9] **Spichiger, R., Perret, M. et Figeat, M.**
Systematic botany of flowering plants: a new phylogenetic approach to angiosperms of the temperate and tropical regions. 14^e éd. Editions Science Publishers. 2004, p. 156-157.
- [10] **Hallworth, B. et Chinnappa, C.**
Plants of Kananaskis Country in the Rocky Mountains of Alberta. University of Alberta. 1997, p. 32.
- [11] **Steentoft, M.**
Flowering plants in West Africa. Editions Cambridge University Press. 1988, p. 321.
- [12] **Boullard, B.**
Plantes & champignons: dictionnaire. 14^e éd. Editions Estem. 1997, p. 645.
- [13] **Lapeyronie, A.**
Les productions fourragères méditerranéennes. Editions Maisonneuve & Larose. 1982, p. 90-91.
- [14] **Hitchcock, A. S.**
The Genera of Grasses of the United States - With Special Reference to the Economic Species. Editions Read Books, 2007.

- [15] **Hesser, L. F. et Carter, J.**
The man who fed the world: Nobel Peace Prize laureate Norman Borlaug and his battle to end world hunger: an authorized biography. Editions Leon Hesser. 2006, p. 125.
- [16] **Sage, R. F. et Monson, R. K.**
C4 plant biology. Editions Elsevier. 1999, p. 133.
- [17] **Rajan, S.**
Cell and Molecular Biology. Editions Anmol Publications PVT. LTD. 2003, p. 205.
- [18] **Cerling T. E. et Dearing, M. D.**
A history of atmospheric CO₂ and its effects on plants, animals, and ecosystems. Editions Springer. 2005, p. 204-207.
- [19] **Manolova, L.**
Natural Pharmacy. Editions Dorrance Publishing Co., Inc. 2004, p. 191.
- [20] **Haas, P.**
An Introduction to the Chemistry of Plant Products. Editions BiblioBazaar, LLC. 2008, p. 68.
- [21] **Wickens, G. E.**
Economic Botany: Principles And Practices. Editions Springer. 2004, p. 275.
- [22] **Sobral, H. S.**
Vegetable plants and their fibres as building materials: proceedings of the second international symposium. Editions Taylor & Francis. 1990, p. 47.
- [23] **Price, G.**
Cicerone Walking in Sicily: Short And Long Distance Walks. 2^e éd. Editions Cicerone Press Limited. 2006, p. 153.
- [24] **Eidson, D.**
Vibrational healing: revealing the essence of nature through aromatherapy's use of essential oils. Editions Frog Books. 2000, p. 100-140
- [25] **Maffei, M.**
Vetiveria: the genus Vetiveria. Editions CRC Press. 2002, p. 73.
- [26] **Tan, W. J, Hung, I. et Han, T.**
Chemical constituents of straw of *Oryza sativa*. *Chung Ts'ao Yao*. 1980 ; 11: 440-441.
- [27] **Singh, V. K. et Ali, Z. A.**
Folk medicines in primary health care: Common plants used for the treatment of fevers in India. *Fitoterapia*. 1994; 65(1): 68-74.
- [28] **Zagari, A.**
Medicinal Plants. 5^e éd. Editions Tehran University Publications. 1992.
- [29] **Heinrich, M., Rimpler, H. et Barrera, N. A.**
Indigenous phytotherapy of gastrointestinal disorders in a lowland Mixe community (Oaxaca, Mexico): Ethnopharmacologic evaluation. *J. Ethnopharmacol.* 1992; 36(1): 63-80.

- [30] **Coee, F. G. et Anderson, G. J.**
Ethnobotany of the Garifuna of Eastern Nicaragua. *Econ. Bot.* **1996**; 50(1): 71–107.
- [31] **Hunte, P., Safi, M., Macey, A. et Kerr, G. B.**
Indigenous methods of voluntary fertility regulation in Afghanistan. *Natl Demographic Guidance Survey of Settled Population Afghanistan*. **1975**; 4: 1.
- [32] **Perez, C. et Anesini, C.**
Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by Argentinean medicinal plants. *Fitoterapia*. **1994**; 65(2): 169–172.
- [33] **Park, J. H., Kim, B. K., Park, M. K. et al.**
Anti-diabetic activity of herbal drugs. *Korean J. Pharmacol.* **1997**; 28(2): 72–74.
- [34] **De Feo, V. et Senatore, F.**
Medicinal plants and phytotherapy in the Amafitan Coast, Salerno province, Campania, Southern Italy. *J. Ethnopharmacol.* **1993**; 39(1): 39–51.
- [35] **Bruckner, C.**
The use of plant galactagogues in middle Europe. *Gleditschia*. **1989**; 17(2): 189–201.
- [36] **Leporatti, M. L. et Pavesi, A.**
New or uncommon uses of several medicinal plants in some areas of central Italy. *J. Ethnopharmacol.* **1990**; 29(2): 213–223.
- [37] **Ribeiro, A., Fiuza de Melon R., de Baroz, F. et Troin, G.**
Acute antihypertensive effect in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of Sao Paulo. *J. Ethnopharmacol.* **1986**; 15(3) : 261–269.
- [38] **Bruneton, J.**
Plantes toxiques, Végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux. 3^e éd. Editions Tec & Doc, éditions médicales internationales. **2003**.
- [39] **Skerritt, J. H, Guihot, S. L, McDonald, S. E. et Culvenor, R. A.**
Development of Immunoassays for Tyramine and Tryptamine Toxins of *Phalaris aquatica* L. *J. Agric. Food Chem.* **2000** ; 48: 27-32.
- [40] **Cheeke, P.R.**
Endogenous Toxins and Mycotoxins in Forage Grasses and their Effects on Livestock. *J. Anim. Sci.* **1995**; 73: 909-918.
- [41] **Siegel M. R, Latch G. C. et Johnson M. C.**
Fungal Endophytes of Grasses, *Ann. Rev. Phytopathol.* **1987**; 25: 293-315.
- [42] **Powell, R. G. et Petroski, R. J.**
Alkaloid Toxins in Endophyte-infected Grasses. *Natural Toxins*. **1992**; 1: 163-170.
- [43] **Strickland, J. R, Olivier, J. W. et Cross, D. L.**
Fescue Toxicosis and its Impact on Animal Agriculture. *Vet. Hum. Toxicol.* **1993**; 35: 454-464.
- [44] **Blodgett, D. J.**
Fescue Toxicosis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* **2001**; 17: 567-577.
- [45] **Botha, C. J, Naudé, T. W., Moroe, M. L. et Rottinghaus, G. E.**
Gangrenous Ergotism in Cattle Grazing Fescue (*Festuca elatior* L.) in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* **2004**; 75: 45-48.

- [46] **Temple, W. A., Smith, N. A. et Beasley, M.**
Management of Oil of Citronella Poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* **1991**; 29: 257-262.
- [47] **Taylor, C. et Macnab, A. J.**
Pediatric Eye Injury Due to *Avena fatua* (Wild Oats). *Pediatr. Emerg. Care.* **2001**; 17: 358-360.
- [48] **Rebhun, W. C, Georgi M. A, Robbins, J. A. et al.**
Stomatitis in a Stable of Horses Caused by *Setaria lutescens*. *Equine Pract.* **1980**; 2(3): 37-39.
- [49] **Gledhill, D.**
The Names of Plants. 4^e éd. Editions Cambridge University Press. **2008**, p. 46.
- [50] **Umberto, Q.**
CRC world dictionary of grasses: common names, scientific names, eponyms, synonyms, and etymology. Editions CRC Press. **2006**, p. 2383.
- [51] **Jepson, W. L. et Hickman, J.C.**
The Jepson manual: higher plants of California. Editions University of California Press. **1993**, p. 1218.
- [52] **Darke, R.**
The color encyclopedia of ornamental grasses: sedges, rushes, restios, cat-tails, and selected bamboos. Editions Timber Press. **1999**, p. 135.
- [53] **Montmollin, B.**
Le Top 50 des plantes menacées des îles méditerranéennes: comment les sauver de l'extinction. Editions IUCN. **2005**, p. 100.
- [54] **Beckett, E.**
Wild flowers of Majorca, Minorca and Ibiza: with keys to the flora of the Balearic Islands. Editions CRC Press. **1988**, p. 187.
- [55] **Accademia economico-agraria dei georgofili.**
I Georgofili: atti della Accademia dei georgofili. The academy. **1868**, p. 191.
- [56] **Scherrera, A. M., Mottib. R. et Weckerlec, C.**
Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park (Campania, Southern Italy) . *J. Ethnopharmacol.* **2005**; 97: 129-143.
- [57] **Aronson, J. K.**
Meyler's Side Effects of Herbal Medicines. Editions Elsevier. **2008**, p. 189.
- [58] **Crampton, B.**
Grasses in California. Editions University of California Press. **1974**, p. 43.
- [59] **Duval, J.**
Catalogue explicatif et raisonné de l'Exposition permanente des produits de l'Algérie. Publié par Didot frères. Paris. **1855**, p. 196.
- [60] **Quezel, P. et Santa, S.**
Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition du centre national de la recherche scientifique, Paris. **1963**, p. 116.

- [61] **Husnot, P. T.**
Graminées: Description, figures et usages des graminées spontanées et cultivées de France, Belgique, îles Britanniques. Publié par Athis (Orne) T. Husnot, Suisse. 1899, p. 19.
- [62] **Grenier, C., Grenier, M. et Godron, D.**
Flore de France: ou description des plantes qui croissent naturellement en France et en Corse. Publié par J.B. Baillièrre. 1855, p. 479.
- [63] **Gaskell, T. et al.**
Flora Europaea, Vol. 5. Alismataceae to Orchidaceae. Editions Cambridge University Press. 1980, p. 252.
- [64] **Thompson, H. S.**
Flowering Plants of the Rivier: A Descriptive Account of 1800 of the More Interesting Species. Editions Read Books. 2008, p. 344.
- [65] **Gillet, C. C et Magne J. N.**
Nouvelle flore française: descriptions succinctes et rangées par tableaux dichotomiques des plantes qui croissent spontanément en France et de celles qu'on y cultive en grand. Publié par Garnier Frères. 1836, p. 145.
- [66] **Debeaux, J. O.**
Catalogue des plantes observées dans le territoire de Boghar (Algérie). Publié par L. Coderc, L., Degréteau, F. et Poujol, J. 1859, p. 121.
- [67] **Haggett, P.**
Encyclopedia of World Geography. 4^e éd. Edition Marshall Cavendish. 2001. p. 2224.
- [68] **Hadland Davis, P., Mill, R. R., Cullen, J., Tan, K. et Coode, M. J. E.**
Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Editions Edinburgh University Press. 1988, p. 253.
- [69] **Merzoud, M. et Habita, M. F.**
Elaboration de composite cimentaire à base de diss « *Ampelodesma Mauritanica* ». *Afrique Science*. 2008 ; 04(2) : 231-245.
- [70] **Barillé, A.**
Etude des fibres textiles. Publié par G. Silbermann. 1868, p. 17.
- [71] **Dozy, R.**
Supplement Aux Dictionnaires Arabes. Editions Gorgias Press LLC. 2006, p. 481.

Chapitre (2) : Métabolites secondaires



La croissance et le développement des plantes dépendent du bon fonctionnement des cellules qui les composent [1- 3]. La composition d'une cellule à un instant donné est un équilibre entre des composés résultant de réactions de synthèse et de réactions de dégradation. L'ensemble de ces réactions est appelé **métabolisme** (du grec : *metabolé*, changement) [6]. Historiquement, les composés résultant du métabolisme ont été séparés, selon l'importance de leurs fonctions dans les plantes, en métabolites primaires et secondaires [2, 6, 7].

I- Métabolites primaires :

Ou ce que l'on désigne par les « quatre grands » [1, 2]. Ce sont des composés cellulaires essentiels [5], communs à tous les êtres vivants [1], dont ils constituent l'essentiel du poids sec [2]. Ils servent à la subsistance et à la reproduction, non seulement de la plante elle-même, mais aussi des animaux qui s'en nourrissent [6, 7]. Ce sont les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques. [1, 2, 6, 7]

II- Métabolites secondaires :

Ce sont des composés qui n'ont aucun rôle dans les processus vitaux de base de la plante (croissance, développement) [4, 6, 8]. Ces molécules sont souvent produites en extrêmement faible quantité [5, 6]. Les métabolites primaires sont souvent indispensables à l'action des métabolites secondaires en intervenant dans les réactions enzymatiques [9].

Les voies métaboliques secondaires de la plupart des plantes produisent les mêmes squelettes moléculaires de base, mais ceux-ci sont « décorés » avec des groupements fonctionnels de façon hautement spécifique, de telle sorte que des composés précis ne peuvent se trouver que dans une ou quelques espèces de plantes [5].

Ces métabolites sont des produits médicinaux, des colorants, des matières premières pour les industries chimiques (gommes, résines, caoutchouc...) et comprennent aussi tout un ensemble de substances utilisées pour aromatiser les aliments et les boissons [6]. En raison de leur valeur, les chercheurs en chimie organique ou ceux qui s'intéressent aux substances naturelles, ont étudié les métabolites secondaires depuis des siècles [6]. Cependant, jusqu'à une époque récente, ces métabolites ont été considérés comme des produits de déchet du métabolisme chez les plantes [2, 6].

Durant ces trois dernières décennies, il a été montré que de nombreux métabolites secondaires jouaient un rôle écologique important [10, 11, 12]. Ils défendent les plantes contre les herbivores, en rendant les plantes peu appétibles, voire répulsives ou toxiques [2, 5, 6, 7, 12, 13]. Ils exercent aussi une action anti-nutritionnelle contre les herbivores et les plus nocifs se trouvent dans les dicotylédones [12]. Ils préservent aussi la plante contre les agents pathogènes et les infections microbiennes [2, 6, 5, 13, 14]. Certains, les phytoalexines, sont des substances antimicrobiennes produites uniquement après une blessure ou une attaque par les bactéries ou des champignons [2]. Ils interviennent aussi pour attirer les agents chargés de la pollinisation, ou de la dissémination (dispersion) des fruits [2, 6, 15]. Certains d'autres assurent une protection contre les radiations solaires [2].

Il y a trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes [2, 3].

II. 1- Les composés phénoliques:

Représentent plus de 8 000 espèces moléculaires connues [16], et bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles [17, 18]. Il existe plusieurs classes (tableau 1) [19].

Tableau (1) : Les principales classes de composés phénoliques [18- 20].

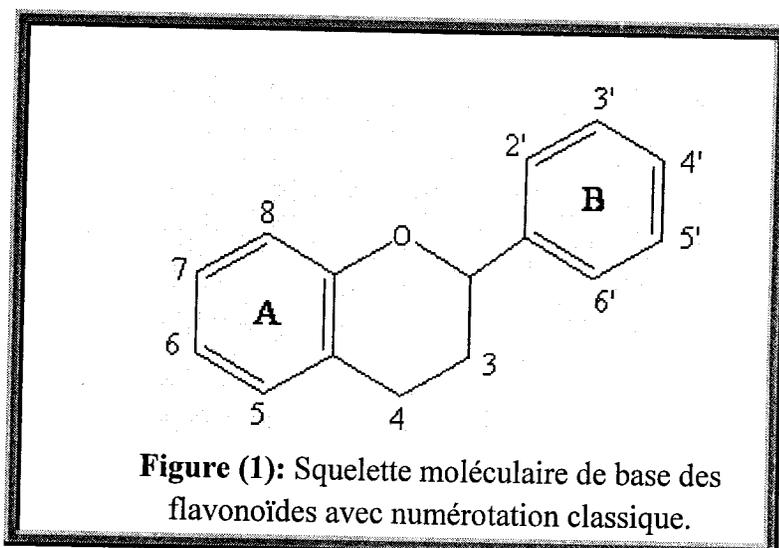
Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (Exemple)
C ₆	Phénols simples	Cathécol	
C ₆ - C ₁	Acide hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ - C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique, férulique	Pomme de terre, pomme.
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C ₆ - C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ - C ₂ - C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ - C ₃ - C ₆	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones 	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ - C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ - C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

II. 1. 1- Les flavonoïdes :

Ce sont des pigments quasi universels des végétaux, responsables de la coloration des fleurs des fruits et même des feuilles [21- 23], ils dérivent tous du 2-phénylchromone, et possèdent le même élément structurale de base C₆-C₃-C₆ (squelette de base a 15 atomes de carbone constitué de deux cycles en C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃) [6, 22].

À l'état naturel ils se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides ou flavonosides [21- 23]. Cette famille est divisée en plusieurs sous familles [24, 25]: flavanols (catéchine), flavonols (quercétine), flavones (lutéoline), flavanones (espéridine), anthocyanidols (malvidine), isoflavones (daidzéine et génistéine).

II. 1. 1. 1- Structure générale [19]:



I. 1. 1. 2- Propriétés biologiques :

Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse et de la fragilité capillaire [21-23] : l'hespéridine et la rutine, présents dans plusieurs plantes, dont le sarrasin, *Fagopyrum esculentum* et le citronnier, *Citrus limon*. [24] Les isoflavones qu'on retrouve dans le soja, *Glycine max*, et dans le trèfle rouge *Trifolium pratense* sont efficaces contre les troubles liés à la ménopause [24]. Par ses flavonoïdes, le soja permet aussi de réduire le taux du mauvais cholestérol [27].

Un flavonole : la quercétine, qu'on trouve dans plusieurs plantes médicinales comme le ginkgo *Ginkgo biloba*, diminue le risque cardiovasculaire et le risque des cancers (propriété antioxydante) [27].

Des flavonoïdes plus lipophiles peuvent également perturber les membranes microbiennes [28]. La catéchine, la forme la plus réduite de l'unité C₃ dans des composés de flavonoïdes, se trouve dans le thé vert d'Olong et exerce une activité antimicrobienne [29] contre *Vibrio choléra* [30], *Streptococcus* mutant [31,32], *Shigella* [33], d'autres bactéries et micro-organismes.

D'autres propriétés ont été mises en évidence : diurétiques, antispasmodiques, anti-inflammatoires [22].

II. 1. 2- Les anthocyanes :

Présents dans la nature uniquement sous forme d'hétérosides [21, 23], leur gamme de couleur va du rouge au pourpre et au bleu [2, 21, 22]. Comme la plupart des flavonoïdes, ils agissent comme signaux visuels pour attirer les pollinisateurs, oiseaux et abeilles [2, 3, 6].

II.1.2.1- Structure générale [19]:

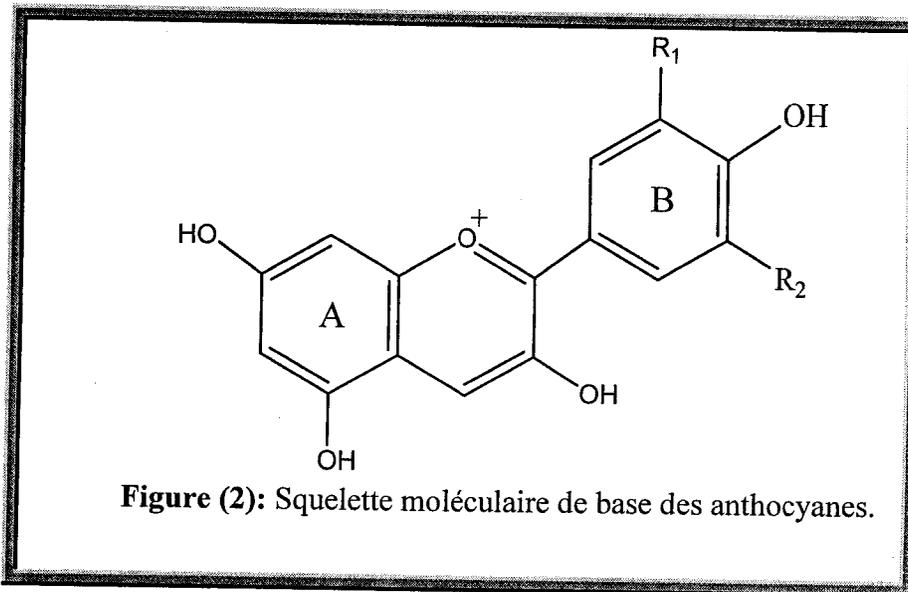


Figure (2): Squelette moléculaire de base des anthocyanes.

Tableau (2) : Quelques anthocyanes.

R ₁ , R ₂	Anthocyanidine	Couleur	Plante
R ₁ =R ₂ = H	Pélagonidine	Orange - rouge	Pélagonium rouge
R ₁ =OH, R ₂ = H	Cyanidine	Rouge	Pomme rouge
R ₁ = OCH ₃ , R ₂ =H	Pétunidine	Violette	Pétunia violet

II.1.2.2- Propriétés biologiques :

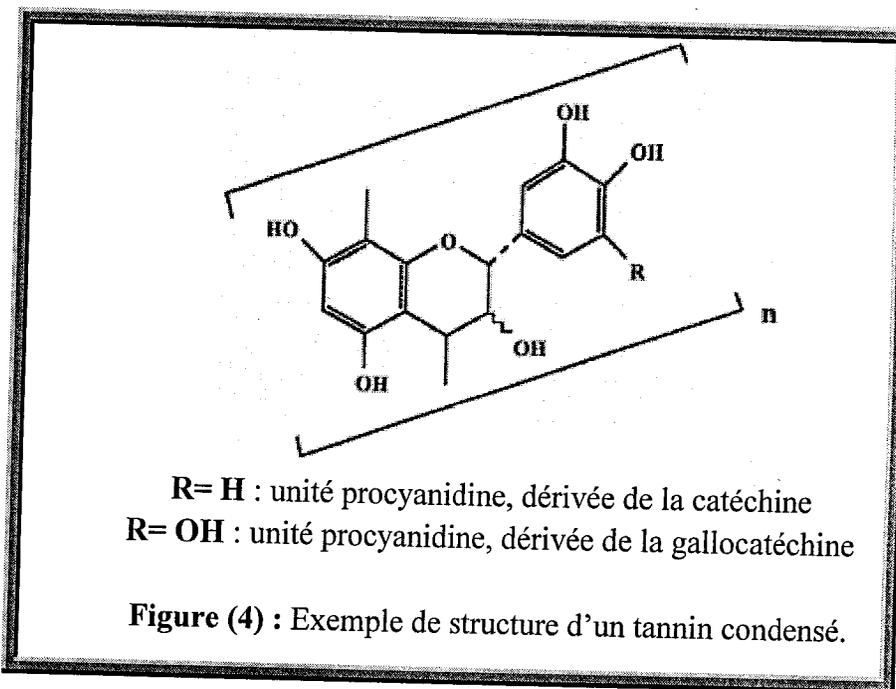
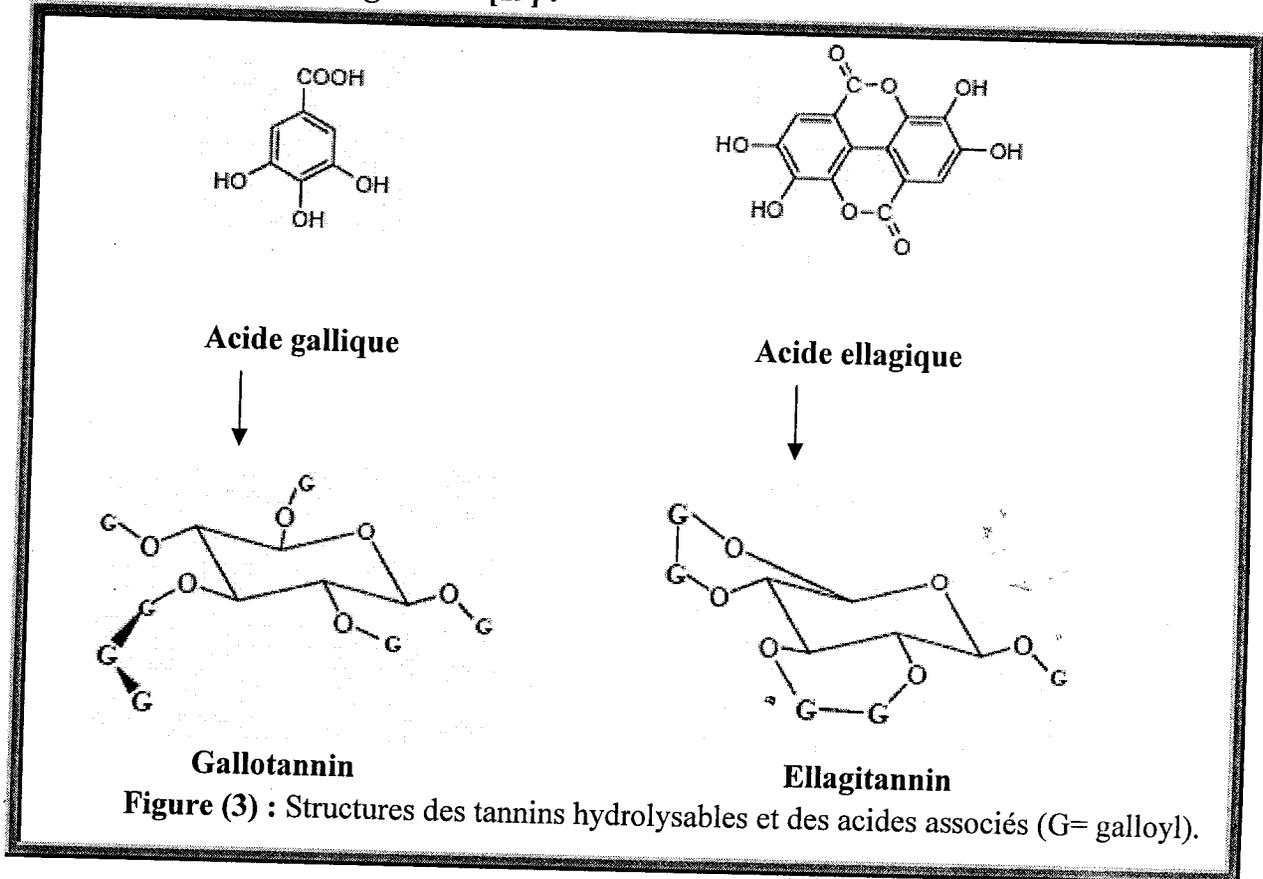
Ces composés ont des propriétés pharmacologiques très proches de celles des flavonoïdes vu leurs structures très semblables [21, 23]. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux [4, 6, 24]. La mûre sauvage *Rubus fruticosus* [24], la vigne rouge *Vitis vinifera* en contiennent des quantités appréciables [1, 22, 23].

II.1.3- Les tanins : (on écrit aussi tannins [34]).

Ce sont des polymères phénoliques complexes solubles dans l'eau qui ont certaines propriétés spécifiques telles que le pouvoir de précipiter les protéines du derme [2, 35, 36], propriété utilisée pour le tannage des peaux, c'est-à-dire pour les rendre imputrescible [2, 22, 23, 34, 37]. On distingue deux types de tanins, les tanins **hydrolysables** (esters d'un sucre (ou polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique) et les tanins **condensés** (polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols) [21-23].

Ils agissent sur les protéines salivaires en les précipitant. Ce sont des astringents [37]. Ils donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail [24, 37].

II.1.3.1- Structure générale [19] :



II.1.3.2- Propriétés biologiques :

La plupart de leurs propriétés sont liées à leur pouvoir de précipiter les molécules protéiques [21, 22]. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections [24]. Les plantes riches en tannins sont utilisées pour rendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses [22- 24], pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée [21, 24], et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure [24].

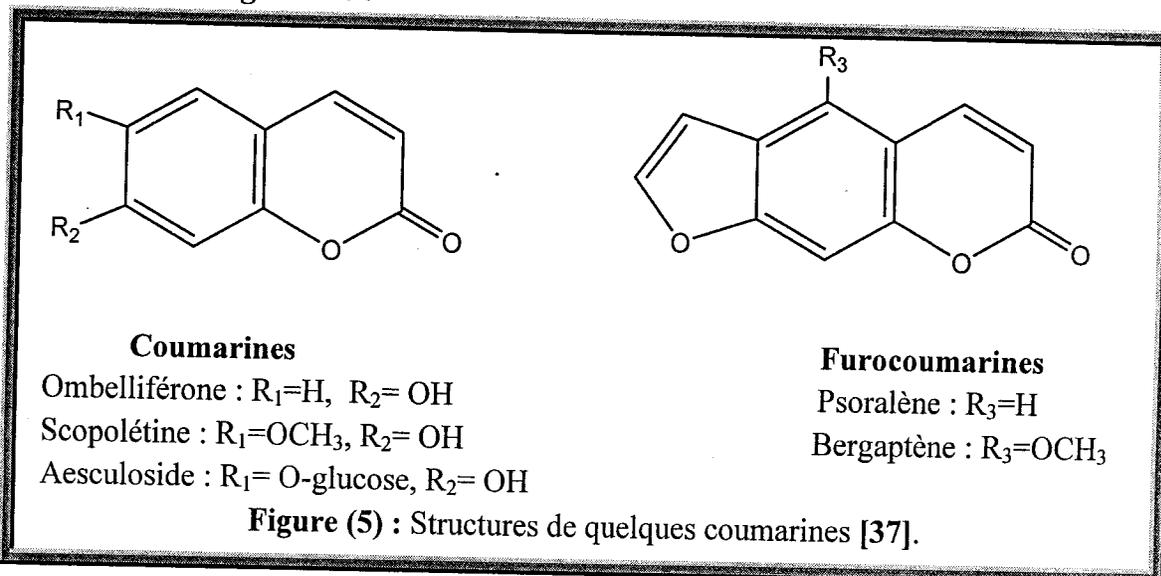
On leur reconnaît d'autres propriétés : contre-poisons en cas d'intoxications par les alcaloïdes [22], inhibiteurs enzymatiques [23], piègeurs de radicaux libres [22], et aussi des activités antimicrobiennes [38]. Les écorces de chêne *Quercus robur* et d'acacia *Acacia catechu* sont riches en tanins [24].

II.1.4-Les coumarines :

Parmi les composés aromatiques hétérosidiques présents dans les plantes, les coumarines dispensent une odeur agréable de foin fraîchement coupé [37]. Ce sont des 1-benzopyran-2-ones. On distingue deux types [21] :

Les coumarines simples substituées en C₆-C₇ soit par les hydroxyles ou leur forme méthoxylés [21]. Les coumarines complexes, telles que les furocoumarines (Coumarines auxquelles est accolé un cycle furane en position C₆, C₇ [37]) et les pyranocoumarines [21].

II.1.4.1-Structure générale :



II.1.4.2-Propriétés biologiques :

Les coumarines du mélilot *Melilotus officinalis* et du marronnier d'Inde *Aesculus hippocastanum* contribuent à fluidifier le sang alors que les furocoumarines comme le bergaptène, contenu dans le céleri *Apium graveolens*, soignent les affections cutanées et que la Khelline de khella *Ammi visnaga* est un puissant vasodilatateur coronarien [24].

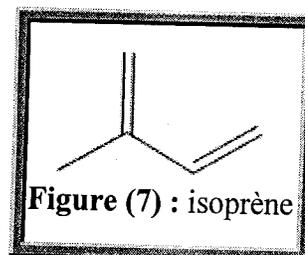
On leur reconnaît d'autres propriétés : anti-œdémateuses, cytotoxiques, immunostimulantes, hypoglycémiantes. [21]

II.2-Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes ont des structures très diverses [24, 39]; ce sont des composés azotés

II.3-Les terpénoïdes :

Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités d'isoprène [21, 44- 46], les liaisons étant le plus souvent de type tête à queue [47]. La formation de structures cycliques, l'addition de fonctions comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules, peuvent rendre leurs structures complexes [6].



II.3.1-Classification, structures et activités de quelques classes :

II.3.1.1-Les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes (n=2 et n=3):

Volatils, ils sont les principaux composants des huiles essentielles [2]. On distingue les formes linéaires, monocycliques et polycycliques (bicycliques pour les monoterpénoïdes) [44- 47].

Propriétés et quelques structures :

Quelques monoterpénoïdes aident à prévenir certains cancers [48]. Le R-(+)-limonène présent dans l'huile essentielle de l'écorce du citron *Citrus limon* et dans d'autre plantes, possède une activité anticancéreuse, il inhibe non seulement l'initiation du cancer des poumons et du sein [49] mais il peut aussi mener à une régression dans le cancer du sein (chez les rats) [48, 50]. Un autre monoterpénoïdes : le camphre extrait du camphrier *Cinnamomum camphora* stimule les appareils vasculaires et nerveux [51], administré par voie hypodermique il est utilisé pour combattre le collapsus et l'atonie du myocarde [52]. L'eucalyptol présent dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est un puissant antiseptique et expectorant utilisé notamment dans les infections broncho-pulmonaires [52, 53].

Les sesquiterpénoïdes possèdent aussi diverses propriétés : antipaludique [54] (l'artémisinine, lactone sesquiterpénique isolée de l'armoise annuelle *Artemisia annua*), anticancéreuse [55] (acides achimiliques A, B et C isolés de l'achillée millefeuille *Achillea millefolium*), antinéoplasique, antimicrobienne, antivirale, et anti-inflammatoire [56].

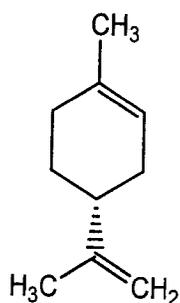


Figure (8) : R-(+)-limonène

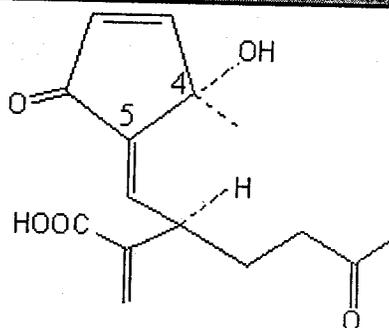


Figure (9) : acide achimilique

II.3.1.2-Diterpénoïdes (n=4):

Composés terpéniques à 20 carbones. On retrouve parmi les dérivés de diterpènes, les résidus terpéniques du tocophérol (vitamine E) et de la phylloquinone (vitamine K1) [2].

Structure et activité:

Le Taxol, un diterpénoïde extrait de l'écorce de l'if du Pacifique *Taxus brevifolia* a un grand intérêt en raison de ses propriétés anticancéreuses [57] (cancers de l'ovaire et du sein).

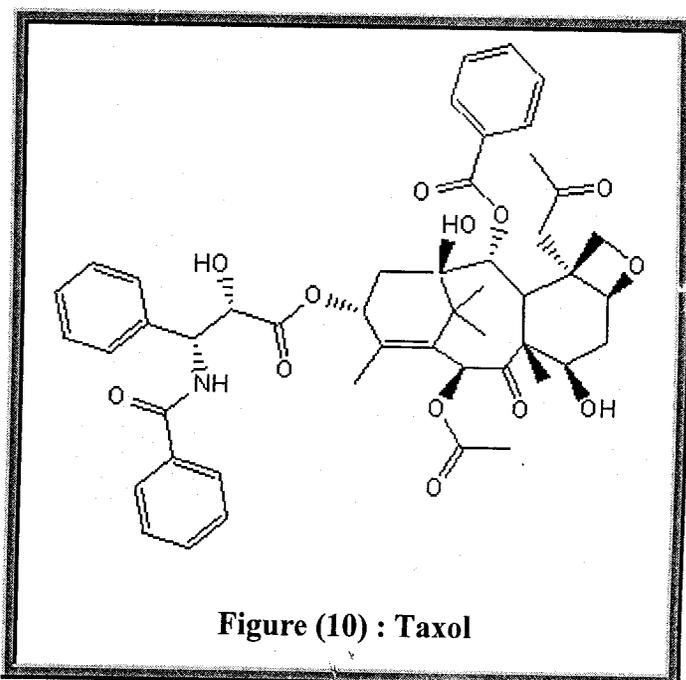


Figure (10) : Taxol

II.3.1.3-Triterpénoïdes et stéroïdes (n=6) :

Les triterpénoïdes sont des molécules pentacycliques. Les stéroïdes sont tétracycliques [47, 58]. Bien qu'ayant des structures différentes, elles ont beaucoup de propriétés en commun [58]. Beaucoup de triterpénoïdes sont des précurseurs de stéroïdes. Le cholestérol est le stéroïde le plus connu, c'est un stérol, son équivalent dans le règne végétal est le phytostérol [6].

Les saponosides sont des triterpènes glycosylés. Ils peuvent être : des stéroïdes glycosylés, des stéroïdes ou alcaloïdes glycosylés ou bien des hétérosides triterpéniques. Ils peuvent aussi se trouver sous forme d'aglycone appelés sapogénines [6, 52]. La combinaison d'un triterpène hydrophobe et d'un glucide hydrophile confère aux saponosides des propriétés tensioactives [52, 58].

Les hétérosides cardiotoniques, ont la même structure que les saponosides stéroïdiques, mais diffèrent des autres par la présence d'un cycle lactone lié sur le C₁₇ et de glucides rares [2, 6].

Structures et activités :

La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent, ont un effet sur l'activité hormonale. Les racines de l'igname sauvage *Dioscorea villosa* contient des saponines stéroïdes (la diosgénine) à partir desquels on synthétise la pilule contraceptive [24, 59].

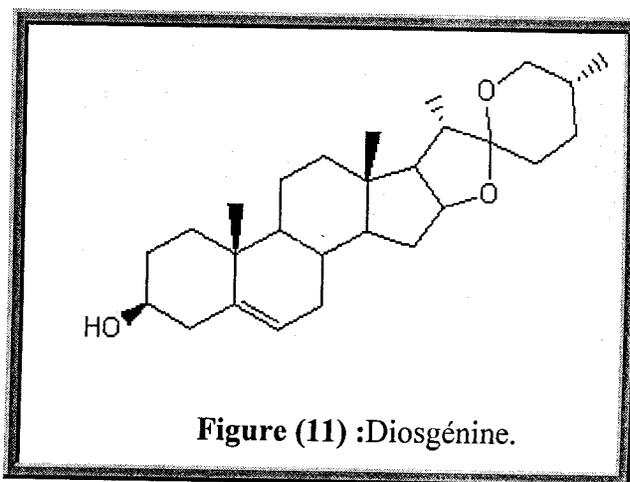


Figure (11) :Diosgénine.

Les saponines triterpénoïdes, contenus dans la réglisse *Glycyrrhiza glabra* (acide glycyrrhétinique) et la primevère *Primula veris*, ont une activité hormonale moindre. Elles sont souvent expectorantes et facilitent l'absorption des aliments [24].

Les saponosides ont diverses propriétés, irritants cellulaires sur différents organes, diurétiques, hémolytiques, protecteurs veineux, anti-inflammatoires [52].

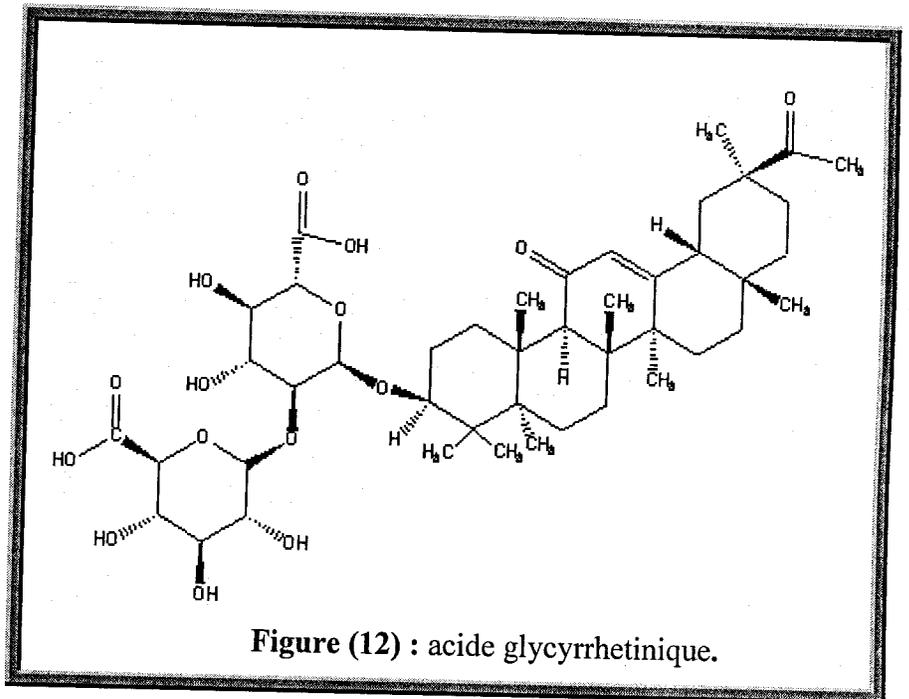


Figure (12) : acide glycyrrhétinique.

Utilisés en médecine, les glycosides cardiotoniques peuvent ralentir ou stimuler les battements du cœur. Les digitales, laineuse *Digitalis lanata* et pourprée *Digitalis purpurea* sont les principales sources des glycosides cardiotoniques les plus actifs, la digitoxine et la digoxine [2, 24]

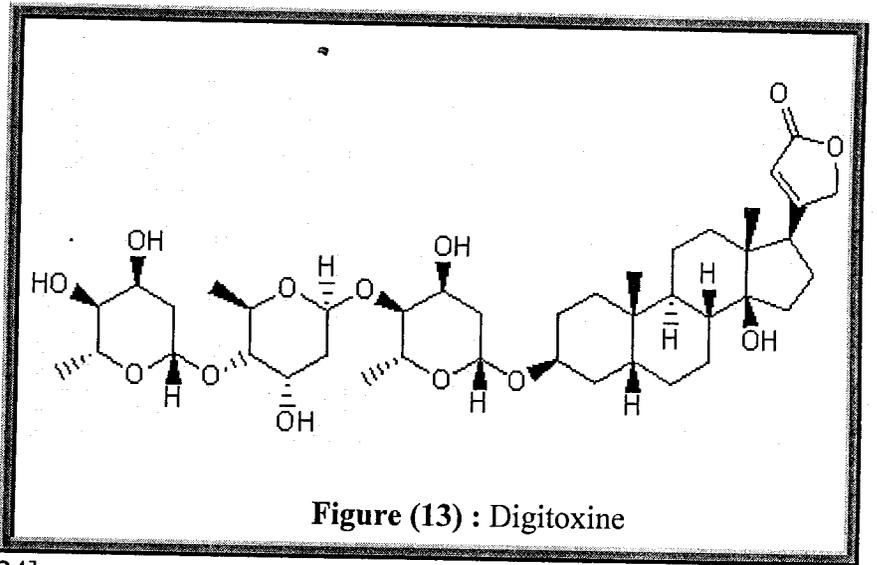


Figure (13) : Digitoxine

Références bibliographiques :

- [1] **Clayden, J., Greeves, N., Warren, S. et Wothers, P.**
Chimie organique. Editions Oxford University Press. 2001.
- [2] **Raven, P. H., Evert, R. F. et Eichhorn, S. E.**
Biologie végétale. Editions De Boeck Université. 2003.
- [3] **Judd, S. et Campbell, Ch. et al.**
Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. Editions De Boeck Université. 2001.
- [4] **Riedacker, A.**
Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides: séminaire, Paris-Nancy, 20 mars-6 avril 1990. Editions John Libbey Eurotext. 1996
- [5] **Primrose, S., Twyman, R. et al.**
Principes de génie génétique. Editions De Boeck Université. 2004.
- [6] **Hopkins, G. et Evrard, Ch. M.**
Physiologie végétale. Editions De Boeck Université. 2003.
- [7] **Small, E. et Catling, M.**
Les cultures médicinales canadiennes. Editions NRC Research Press. 2000.
- [8] **Conn, E. E.**
The biochemistry of plants. A comprehension treatise. Vol. 7. Secondary Plant Product. Editions Academic Press, Inc. 1981.
- [9] **Girre, L.**
Les plantes et les médicaments, l'origine végétale de nos médicaments. Editions Delachaux et Niestlé SA, Paris. 2001.
- [10] **Harborne, J. B.**
Plant Phenolics. Methods in Plant Biochemistry. Editions Academic Press, Londres. 1989.
- [11] **Henry, J. R.**
Plant diversity and evolution: genotypic and phenotypic variation in higher plants. Editions CABL. 2005.
- [12] **Jarrige, R. et Ruckebusch, Y.**
Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion. Editions Quae. 1995.
- [13] **Levin, D. A.**
The chemical defenses of plantes to pathogens and herbivores. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1976; 7 : 121-159.
- [14] **King, J.**
Reaching for the sun: how plants work. Editions Cambridge University Press. 1997.
- [15] **Cronquist, A.**
On the taxonomic significance of secondary metabolites in angiosperms. *Plant. Syst. Evol.*, suppl. 1977; 1:179-189.

- [16] **Besançon, P. et Ferro-Luzzi, A.**
Alimentation méditerranéenne et santé: actualités et perspectives. Editions John Libbey Eurotext. 2000.
- [17] **Vermerris, W. et Nicholson, R.**
Phenolic compound biochemistry. Edition Springer. 2006.
- [18] **Macheix, J. J., Fleuriet, A. et Billot, J.**
Fruit phenolics, Editions CRS Press, Boca Raton. 1990.
- [19] **Marcheix, J. J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, Ch.**
Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Editions PPUR presses polytechniques. 2005.
- [20] **Ribéreau-Gayon, P.**
Plant Phenolics. Editions Oliver et Boyd, Edinburgh. 1972.
- [21] **Bruneton, J.**
Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^eéd. Editions Tec & Doc, éditions médicales internationales. 2001.
- [22] **Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M. et Orecchioni, A. M.**
Le préparateur en pharmacie, dossier 2, Botanique- Pharmacognosie- Phytothérapie- Homéopathie. Editions Tec & Doc, éditions médicales internationales. 2001.
- [23] **Catier, O. et Roux, D.**
CAHIERS DU PREPARATEUR EN PHARMACIE, Botanique- Pharmacognosie- Phytothérapie. Editions Wolters Kluwer. 2007.
- [24] **Iserin, P., Masson, M. et Restellini, J. P.**
Encyclopédie des Plantes Médicinales: Identification, Préparations, Soins. Larousse -Bordas, Paris. 1997.
- [25] **Harborne, J. B.**
Plant Phenolics. In : Secondary Plant Products. Encyclopedia of Plant Physiology. Vol 8, Bell EA , Charlwood BV. Editions Springer-Verlag, Berlin. 1980, p. 329-402.
- [26] **Harborne, J. B.**
The flavonoids-Advances in Research since 1980. Editions Chapman and Hall, New York. 1988.
- [27] **Causse, C.**
Le Secret de Santé des Antioxydants: plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants. Alpen. Editions s.a.m. 2005.
- [28] **Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T. et Inuma, M.**
Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol.* 1996; 50: 27-34.
- [29] **Toda, M., Okubo, S., Ohnishi, R. et Shimamura, T.**
Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea. *Jpn. J. Bacteriol.* 1989; 5: 561-566.



- [30] **Borris, R. P.**
Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *J. Ethnopharmacol.* **1996**; **51**: 29–38.
- [31] **Batista, O., Duarte, A., Nascimento, J. et Simones, M. F.**
Structure and antimicrobial activity of diterpenes from the roots of *Plectranthus hereroensis*. *J. Nat. Prod.* **1994**; **57**: 858–861.
- [32] **Tsuchiya, H., Sato, M. et al.**
Inhibition of the growth of cariogenic bacteria in vitro by plant flavanones. *Experientia.* **1994**; **50**: 846–849.
- [33] **Vijaya, K., Ananthan, R. et Nalini, R.**
Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60 (*Camellia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella*. sppa cell culture study. *J. Ethnopharmacol.* **1995**; **49** : 115–118.
- [34] **Boullard, B.**
Plantes & champignons: dictionnaire. Editions Estem. **1997**, p. 793.
- [35] **Haslam, E.**
Vegetable tannins, In : T. Swain, J.B. Harborne, C.F. Sumere and C.F. Van (eds). *Biochemistry of plants phenolies*. New York, USA. **1981**, p. 475-523.
- [36] **Seigler, D. S.**
Plant secondary metabolism. Editions Springer. **1998**.
- [37] **Chau, M. F.**
Chimie organique hétérocyclique : structures fondamentales, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Editions EPD Sciences. **2003**.
- [38] **Scalbert, A.**
Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry.* **1991**; **30**: 3875–3883.
- [39] **Cordell, G. A.**
The Alkaloids: Chemistry and Biology. Editions Academic Press. **2008**, p. 430.
- [40] **Roberts, M. F. et Wink, M.**
Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications. Editions Springer. **1998**.
- [41] **Leveque, D. et Jehl, F.**
Molecular pharmacokinetics of catharanthus (*vinca*) alkaloids, *J. Clin Pharmacol.* **2007**; **47**: 579–588.
- [42] **Ngan, V. K., Bellman, K. et al.**
Mechanism of mitotic block and inhibition of cell proliferation by the semisynthetic Vinca alkaloids vinorelbine and its newer derivative vinflunine. *Mol. Pharmacol.* **2001**; **60** : 225–232.
- [43] **Faure, S.**
Les antiparkinsoniens anticholinergiques. *Actualités Pharmaceutiques.* **2008** ;**47** (473) : 41-43.
- [44] **Connoly, J. D. et Hill, R. A.**
Dictionary of terpenoids. Editions CRC Press. **1991**.

- [45] **Harrewijn, P. et al.**
Natural terpenoids as messengers: a multidisciplinary study of their production, biological functions, and practical applications. Editions Springer. 2001.
- [46] **Sell, C.**
Fragrant introduction to terpenoid chemistry. Editions Royal Society of Chemistry. 2003.
- [47] **Garrett, R. H., Grisham, Ch. et Lubochinsky, B.**
Biochimie. Editions De Boeck Université. 2000.
- [48] **Crowell, P. L.**
Prevention and Therapy of Cancer by Dietary Monoterpenes. *Journal of Nutrition*. 1999; 129: 775-778.
- [49] **Duke, J. A., Bogenschutz-Godwin, M. J. et Ducellier, J.**
CRC Handbook of Medicinal Spices. Editions CRC Press. 2002, p.96.
- [50] **Tsuda, H., Ohshima, Y. et al.**
Cancer prevention by natural compounds. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2004; 19(4): 245-63.
- [51] **Vasey, R. H. et Karayannopoulos, S. J.**
Camphorated oil. *British Medical Journal*. 1972 ; 1 : 112.
- [52] **Charpentier, B., Hamon-Lorleac'h, F., Harlay, A. et Ridoux, L.**
Guide du préparateur en pharmacie. Editions Elsevier Masson. 2008.
- [53] **Bastedo, M. A.**
Materia Medica: Pharmacology: Therapeutics: Prescription Writing. Editions Read Books. 2008.
- [54] **Abdin, M. Z., Israr, M., Rehman, R. U. et Jain, S. K.**
Artemisinin, a novel antimalarial drug: biochemical and molecular approaches for enhanced production. *Planta Med.* 2003; 69: 289-299.
- [55] **Tozyo, T., Yoshimura, Y., Sakurai, K. et al.**
Novel antitumor sesquiterpenoids in *Achillea millefolium*. *Chem. Pharm. Bull.* 1994; 42(5): 1096-100.
- [56] **Schnaubelt, K.**
Medical aromatherapy: healing with essential oils. Editions Frog Books. 1999.
- [57] **Wanin, M. C., Taylor, H. L., Wall, M. E., Coggon, P. et McPhail, A. T.**
Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem. Soc.* 1971; 93: 2325-2327.
- [58] **Wynn, S. G. et Fougère, B.**
Veterinary herbal medicine. Editions Elsevier Health Sciences. 2006.

Chapitre (3) :

Les huiles essentielles



Composées majoritairement de monoterpénoïdes et de sesquiterpénoïdes, les huiles essentielles sont aussi considérées comme des métabolites secondaires des plantes [1].

L'utilisation médicinale des huiles essentielles (ou aromathérapie) bénéficie d'une longue histoire dans les civilisations antiques: l'Égypte, la Chine, l'Inde, la Grèce et Rome [1, 2]. C'est seulement au XX^{ème} siècle, en France, qu'une aromathérapie moderne scientifique aux indications thérapeutiques précises prend naissance, grâce au chimiste lyonnais René Maurice Gattefosse [3, 4] qui, s'étant brûlé la main alors qu'il était en train de travailler dans un laboratoire de parfumerie, l'a immédiatement plongée dans de l'essence de lavande diluée dans de l'huile végétale [5, 6]. La brûlure a guéri rapidement sans laisser de cicatrice, le conduisant à étudier avec quelques scientifiques de son époque les propriétés thérapeutiques des huiles essentielles [5, 6].

C'est d'ailleurs à lui qu'on doit l'invention du mot "Aromathérapie" [7, 8]. La création de ce néologisme date de la parution de son ouvrage *Aromathérapie - Les Huiles essentielles - hormones végétales*, en 1937. [8]

I- Définition des huiles essentielles : (Pharmacopée française VIII^e édition).

« Ce sont des produits de compositions chimiques complexes renfermant des principes actifs volatils et contenus dans les végétaux. Toutes les parties de la plante peuvent contenir des huiles essentielles dans des vésicules spécialisées. » [9]

II- Procédés d'extraction :

L'extraction des huiles essentielles s'adresse aux diverses parties des plantes : fleurs, feuilles, écorces, racines qui se trouvent à l'état frais ou sec [10]. On obtient les huiles essentielles par plusieurs procédés: la distillation, l'expression, l'enfleurage, la macération et l'extraction par solvants. [11-13]

II. 1- La distillation :

La distillation est l'une des techniques d'extraction des huiles essentielles les plus anciennes et les plus répandues [13, 14]. Plus de 80% des huiles essentielles produites sont extraites par distillation [15]. Il existe 2 procédés fondamentaux d'extraction des huiles essentielles par distillation:

II. 1. 1- L'hydrodistillation :

Ou distillation à l'eau, dans l'hydrodistillation la substance contenant l'espèce volatile à extraire est mélangée à de l'eau et l'ensemble est porté à ébullition [14, 16]. La phase gazeuse contenant l'espèce volatile et la vapeur d'eau, arrive en haut de la colonne, passe dans le réfrigérant et se condense, le distillat obtenu comporte alors deux phases liquides, que l'on peut séparer par décantation [17].

L'avantage de cette technique c'est qu'elle permet d'éliminer les autres constituants végétaux ; notamment la cellulose, les protéines, les triglycérides, les pigments et les sucres. Le chauffage prolongé en présence d'eau peut, par contre, provoquer un certain nombre de réactions parasites indésirables parmi les constituants de l'huile [18].

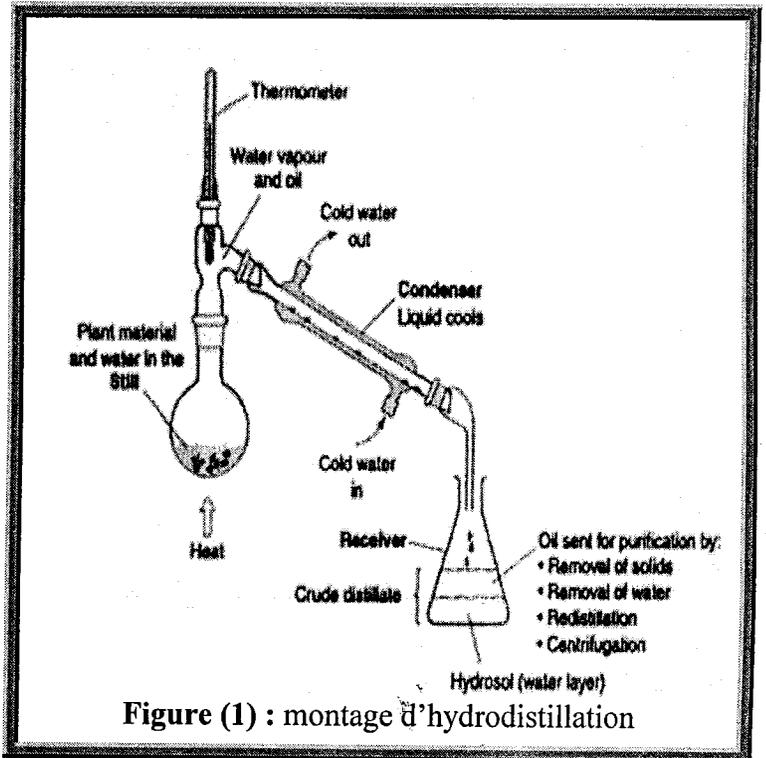


Figure (1) : montage d'hydrodistillation

II. 1. 2- Entraînement à la vapeur:

Ou distillation à la vapeur humide, dans ce procédé amélioré un grillage sépare la matière première à traiter de l'eau portée à ébullition au fond du réacteur [14]. La vapeur d'eau en traversant le matériau emporte avec elle l'essence recherchée [7].

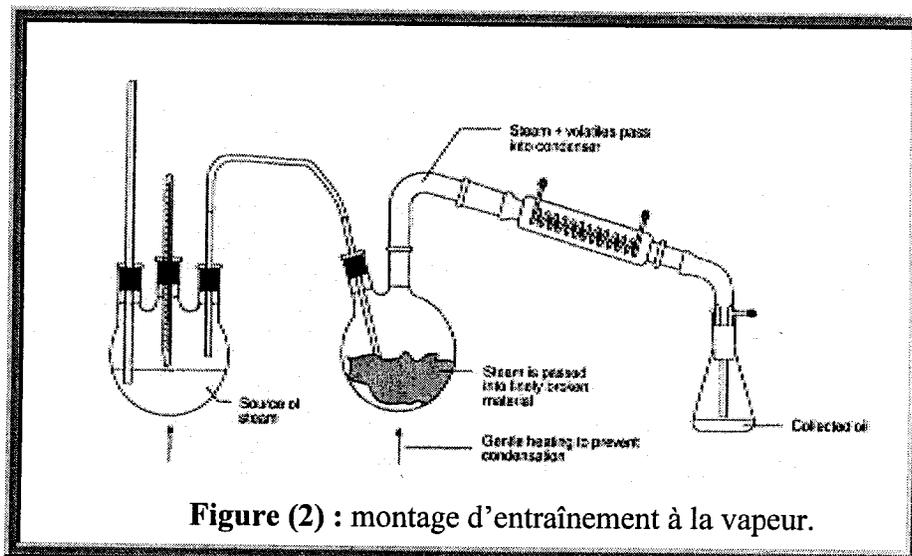
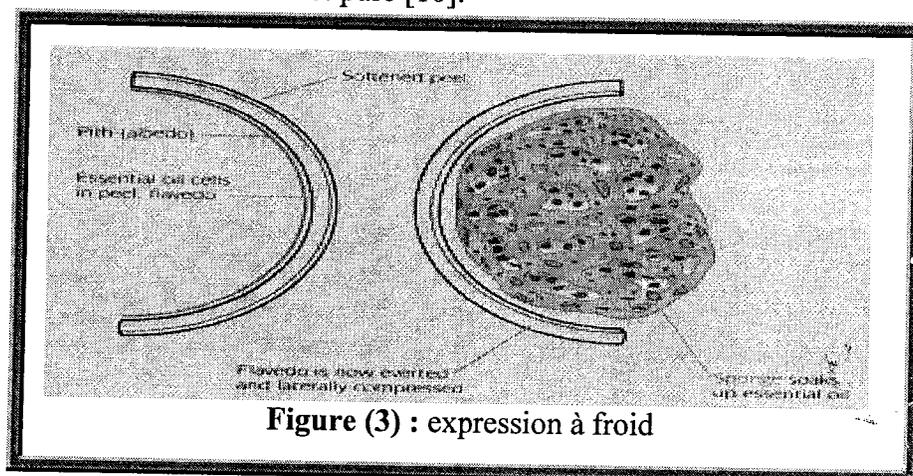


Figure (2) : montage d'entraînement à la vapeur.

II. 2- L'expression à froid :

Cette technique d'extraction est utilisée pour obtenir des essences d'agrumes contenues dans les zestes [19-21]. Autrefois, on frottait le fruit manuellement sur les parois garnies de picots d'une écuelle de bois. L'huile ainsi exprimée était recueillie à l'aide d'une éponge. Elle était ensuite soigneusement filtrée [13, 22, 23]. De nos jours, Le fruit entier est placé dans des tambours rotatifs munis de pointes en acier qui déchiquètent le péricarpe. L'huile essentielle est entraînée par de l'eau, le mélange est centrifugé et l'on recueille directement une huile essentielle extrêmement naturelle et pure [10].

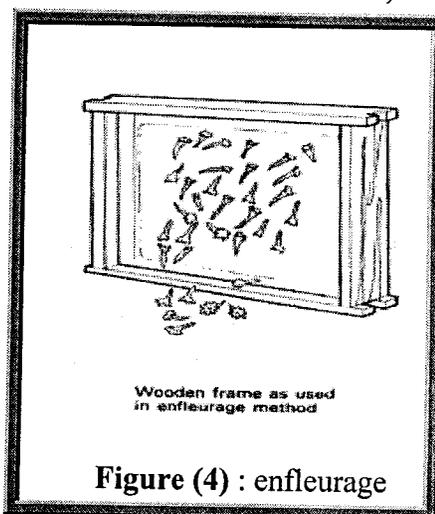


II. 3- L'enfleurage :

C'est une technique qui date du XVIII^{ème} siècle employé dans le sud de la France, elle repose sur la propriété que possèdent les corps gras d'absorber et de conserver les odeurs. On les place sur une couche de la graisse de porc ou de bœuf, puis on les empile ainsi couche sur couche, et on presse le tout pour faire passer l'odeur de la rose à la graisse [24, 25].

L'opération était répétée plusieurs dizaines de fois, durant deux ou trois mois, en renouvelant les roses à chaque fois, de façon à saturer la graisse. Il existe différents types d'enfleurages, à froid, à chaud ou à température ambiante. Néanmoins, le principe de tous ces enfleurages reste le même.

Une fois l'excipient gorgé de parfum, on filtrait les corps gras au travers de tissus, de lin tout d'abord puis de coton, et on obtenait une sorte de pommade parfumée [24, 25]. Avec le progrès des techniques de distillation et d'extraction, on décida de laver les pommades à l'alcool pur, celui-ci ayant la propriété de se charger de leur odeur. Après évaporation de l'alcool, on filtre le mélange pour obtenir une absolue de pommade. C'est une méthode utilisée surtout avec le jasmin, les tubéreuses, les jonquilles [13, 24, 25].



II. 4- Macération :

Les fleurs sont immergées environ 15 fois dans un bain d'huile ou de graisse chauffé à 60°C ou 70°C. La graisse chaude absorbe le parfum. La pommade obtenue est lessivée à l'alcool pour la purifier. On obtient ainsi l'extrait d'huile de fleur [4].

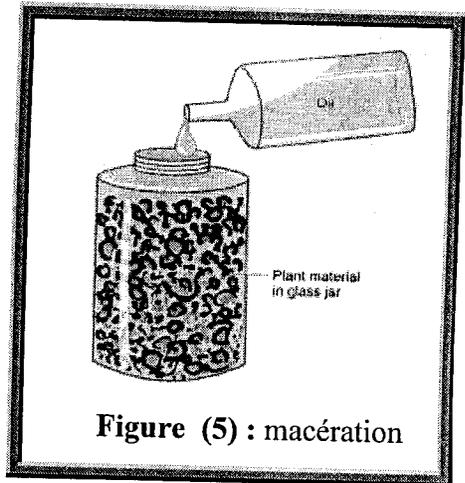


Figure (5) : macération

II. 5- Extraction par solvants volatils :

Les solvants sont généralement l'hexane, le cyclohexane ou le pentane. Le benzène n'est plus utilisé pour des raisons de toxicité de même que le toluène bien que ces solvants conduisent à un meilleur rendement [10]. Le CO₂ supercritique pourrait être le solvant de choix. En effet le dioxyde de carbone soumis à une forte pression devient liquide. Il agit alors comme solvant d'extraction. Une remise à la pression atmosphérique le fait passer à l'état de gaz qui s'élimine sans résidu et peut être recyclé. Le coût de l'opération limite cependant son utilisation [25]. Dans tous les cas, les plantes sont immergées totalement dans le solvant à froid sauf pour les graines, les lichens et les racines où l'extraction est réalisée à chaud dans les solvants classiques. Le temps de contact est d'environ 30 minutes, après quoi le solvant initial est soutiré et remplacé par une deuxième charge puis une troisième à leur tour soutirées. La plus grande partie du solvant est évaporée et recyclée. On recueille une solution concentrée distillée sous vide. Il reste une pâte, liquide à chaud appelée la « concrète » lorsqu'elle est issue des matières florales, ou le résinoïde brut lorsqu'elle provient des matières sèches [10, 25].

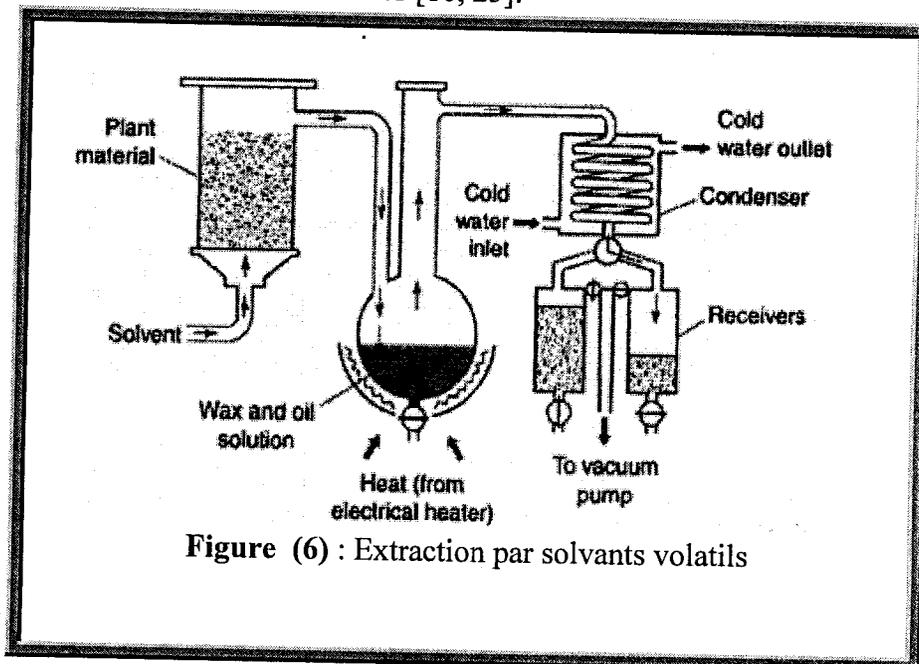


Figure (6) : Extraction par solvants volatils



III-Propriétés des huiles essentielles :

III. 1- Propriétés physiques générales [26, 27] : Les huiles essentielles forment un groupe relativement homogène quant à leurs propriétés physiques.

- Ce sont des liquides assez mobiles à quelques exceptions près : l'huile essentielle de santal est très visqueuse ; celles de rose et de gaïac sont parfois d'aspects butyreux ;
- La coloration varie de l'incolore au brun clair ; l'huile essentielle de matricaire est bleu-vert, de même que celle de patchouli ;
- La densité est en général inférieure à celle de l'eau (de 0,850 à 0,950) sauf pour les huiles essentielles de cannelle, girofle, saffras ; la plus dense étant l'huile essentielle de wintergreen ($d= 1,187$) ;
- Le point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C (entre 150 et 300°C).
- Les huiles essentielles sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires. La solubilité est plus ou moins grande dans les alcools à différents titres ; il y a une très légère solubilité dans l'eau, de 0,30 à 0.50%.

III. 2- Propriétés chimiques générales [26, 27] :

- Elles sont neutres au tournesol, mais acquièrent peu à peu une réaction acide ; elles s'oxydent à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps que leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente, leur solubilité diminue.
- Les huiles absorbent le chlore, le brome, l'iode avec dégagement de chaleur. Elles peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrates.
- Elles ont un indéniable pouvoir de pénétration percutané qui est objectivé par le fait qu'un individu qu'on frictionne à l'eucalyptol présente quelques instants après une haleine très odorante.

III. 3- Propriétés thérapeutiques [7, 27, 28]:

Les huiles essentielles possèdent diverses propriétés, on en cite quelques unes :

- **Antibactériennes :** De nombreuses huiles essentielles ont une action antibactérienne, toutefois les plus puissantes sont celles qui contiennent des phénols. Le ravensara ou les lavandes ont une action antibactérienne persistante mais plus subtile, elles permettent un usage plus délicat;
- **Antivirales :** Les H.E. stoppent la progression virale. Le mélange de certaines huiles appliquées en friction a une action "immunostimulante" remarquable sur les infections respiratoires profondes, associé en diffusion dans l'atmosphère à de la Lavande par exemple;
- **Anti-douleurs :** La douleur vive d'une migraine est anesthésiée par la Menthe poivrée en application locale. La douleur dentaire est éliminée par l'application de

Girofle sur la gencive. Le cyprès calmera les crampes musculaires et les rhumatismes. Le niaouli calmera les douleurs en engourdissant les nerfs;

- Respiratoires : En inhalation le niaouli aura un puissant effet expectorant sur les voies respiratoires. L'Eucalyptus en application cutanée généreuse est un immunostimulant et un mucolytique (expectorant) puissant;
- Circulatoires : Le cyprès, stimulant du système circulatoire, réchauffera les mains et les pieds. Le lemongrass favorise la circulation sanguine et l'élimination de l'acide lactique, il soulagera les douleurs musculaires et les pieds endoloris;
- Antifongiques : Les huiles essentielles ont un grand pouvoir antifongique aérien et cutané, comme le Citron;
- Digestives : La Menthe poivrée est l'huile essentielle des problèmes digestifs, elle est efficace pour calmer les coliques, la constipation, les brûlures d'estomac, l'indigestion et la flatulence.

IV- Composition :

Pour une même espèce, la composition varie en fonction du climat, de l'origine géographique, du mode de culture, de la saison, de la récolte, de l'altitude, de la composition du sol, du stade de maturité, de la partie de la plante utilisée, du chémotype et du matériel et des techniques employées pour la préparation [7, 27, 29].

Parmi les innombrables substances présentes dans les huiles essentielles, on rencontre [27, 29]:

- Des carbures terpéniques (surtout les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes) ;
- Des carbures saturés ;
- Des alcools (boméol, menthol) ;
- Des phénols (thymol, carvacrol, eugénol) ;
- Des aldéhydes (benzoïque, cinnamique, citral) ;
- Des cétones (camphre, thuyone) ;
- Des esters (acétate de linalyle, de giranyle) ;
- Des composés sulfurés.

V- Utilisations [30, 31]:

- Le parfumage de l'air que ce soit à des fins curatives, préventives, pour combattre certaines odeurs agressives ou par plaisir;
- Le parfumage du corps sous forme d'eau de toilette, d'eau de parfum ou de parfums;
- Les soins de la peau par le biais de la cosmétique végétale;
- L'aromatisation des plats cuisinés, des sauces, des gâteaux, du pain;
- L'aromathérapie ou thérapie par les huiles essentielles végétales qui se scinde en deux écoles :
 - ✓ L'aromathérapie médicale, dite de la tradition française, qui utilise l'absorption par voie orale des huiles essentielles : il est sage de la laisser aux professionnels de la santé, ceci pour des questions de dosage et de toxicité potentielle de certaines huiles,
 - ✓ L'aromathérapie grand public, dite de la tradition anglo-saxonne, qui utilise l'application externe des huiles essentielles par voie cutanée (huiles, bains, crèmes...) ou par voie atmosphérique (diffuseur, inhaleur...).

VI- Toxicité :

Certaines huiles essentielles sont mal supportées par la peau, soit qu'elles aient une action irritative directe comme peut l'avoir la cannelle, soit qu'elles soient facilement allergéniques comme celle des Astéracées, soit encore qu'elles soient dermatotoxiques (souvent phototoxiques) comme celle de la bergamote [32].

Les huiles essentielles sont irritantes et peuvent provoquer des vomissements, des douleurs abdominales et des diarrhées. Elles peuvent aussi être à l'origine d'une hépatotoxicité et d'une neurotoxicité avec somnolence, coma et convulsions. L'inhalation peut provoquer un œdème lésionnel. Toute ingestion d'huile essentielle doit être considérée comme potentiellement grave car même de petites quantités peuvent avoir des conséquences néfastes. Les enfants doivent être surveillés pendant 12h après l'ingestion [32].

Références bibliographiques :

- [1] **Keville, K. et Green, M.**
Aromatherapy: A Complete Guide to the Healing Art. Editions The Crossing Press. 1995.
- [2] **Lawless, J.**
The Encyclopedia of Essential Oils: The Complete Guide to the Use of Aromatic Oils in Aromatherapy, Herbalism, Health and Well Being. Editions Thorsons. 2002.
- [3] **Skaria, B. P.**
Aromatic Plants: Vol.01. Horticulture Science Series. Editions New India Publishing. 2007, p. 51.
- [4] **Martin, I.**
Aromatherapy for Massage Practitioners. Editions Lippincott Williams & Wilkins. 2006, p.5.
- [5] **Bull, R. et Keim, J.**
Daily Aromatherapy: Transforming the Seasons of Your Life with Essential Oils. Editions North Atlantic Books. 2008, p. 366.
- [6] **Webster, R.**
Flower and Tree Magic: Discover the Natural Enchantment Around You. Editions Llewellyn Worldwide. 2008, p. 65.
- [7] **Lis-Balchin, M.**
Aromatherapy science: a guide for health care professionals. Editions Pharmaceutical Press. 2006, p.1.
- [8] **Gattefossé, R. M.**
Aromathérapie; les huiles essentielles hormones végétales. Librairie des sciences, Girardot & cie. 1937.
- [9] Pharmacopée Française, 8th edition, Ministère de la Santé, Gouvernement Français, Paris. 1965.
- [10] **Revuz, J. et al.**
Traité EMC : cosmétologie et dermatologie esthétique. Editions Elsevier Masson. 2008.
- [11] **Dorland, W. E et Rogers, J. A.**
The Fragrance and Flavor Industry. Editions Wayne E. Dorland Publishing Company. 1977.
- [12] **Shreve, R. et Austin, G.**
Shreve's Chemical process industries. 2^e éd. Editions McGraw Hill Professional. 1984, p. 489.
- [13] **Arnould-Taylor, W. E.**
A Textbook of Holistic Aromatherapy: The Use of Essential Oils Treatments. 5^e éd. Editions Nelson Thornes. 1992, p. 25-28.
- [14] **Pitman, V.**
Aromatherapy: A Practical Approach. Editions Nelson Thornes. 2004, p. 106-121.
- [15] **Keville, K. et Green. M.**
Aromatherapy: A Complete Guide to the Healing Art. 2^e éd. Editions The Crossing Press. 2008.
- [16] **Reineccius, G. et Heath, B. H.**
Flavor chemistry and technology. 2^e éd. Editions CRC Press. 2006, p.33-72.



- [17] **Bagard, S. et Simon, N.**
Physique-Chimie Tle S Enseignement de spécialité: Tout-en-un. Editions Bréal. **2008**, p. 125-190.
- [18] **Mesplède, J.**
CAPES externe 2000-2005 Agrégation de physique 2000-2005: Problèmes de chimie avec solutions et annexes. Editions Bréal. **2005**, p. 35.
- [19] **Septimus Piesse, G. W.**
The Art of Perfumery. Editions Echo Library. **2007**, p. 8.
- [20] **Laszlo, P.**
Citrus: A History. Editions University of Chicago Press. **2008**, p. 125.
- [21] **Nicoli, S.**
Fragrance stability in three cosmetic applications. *Allured's Cosmet Toilet*. **1999**; 114 :59-63.
- [22] **Sagarin, E.**
The Science and Art of Perfumery. Editions Read Books. **2008**, p. 51.
- [23] **Pitmann, V.**
Aromatherapy: A Practical Approach. Editions Nelson Thornes. **2004**, p. 111-112.
- [24] **Joyaux, F. et Lévêque, G.**
La rose, une passion française (1778- 1914). Editions Complexe. **2001**, p. 174.
- [25] **Martinez, J. L.**
Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds. Editions CRC Press. **2007**.
- [26] **Rai, M. et Mares, D.**
Plant-derived antimycotics: current trends and future prospects. Editions Haworth Press. **2003**, p. 51-52.
- [27] **Duraffourd, Ch. et Lapraz, J. C.**
Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine. Editions Elsevier Masson. **2002**.
- [28] **Caillard, J.**
Les plantes, des usines chimiques en miniature. CRDP Midi-pyrénées. **2003**, p. 6
- [29] **Bowles, E. J.**
The chemistry of aromatherapeutic oils. 3^e éd. Editions Allen & Unwin. **2003**, p.34-35
- [30] **Boullard, B.**
La nature des arômes et parfums. Editions Estem. **1995**, p. 224.
- [31] **Barry, N. M., Turonnet, M. et Vindri, G.**
L'ABCdaire du parfum. Editions Flammarion. **1998**, p. 120.
- [32] **Jones, A. L. et Dargan, P.**
Toxicologie d'urgence. Editions Elsevier Masson. **2008**, p. 128.

Chapitre (4) :

Activités

biologiques



Que ce soit pour atténuer une symptomatologie ou pour se maintenir en bonne santé, la phytothérapie répond aux préoccupations du citoyen du XXI^e siècle. Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines.

I. Activité hypoglycémiante :

Le diabète est une maladie complexe tant par ses mécanismes physiopathologiques que par son déterminisme génétique ainsi que la genèse de ses complications [1].

Le diabète sucré est une maladie chronique provoquée par un trouble du métabolisme des glucides et caractérisée par un taux anormalement élevé de sucre dans le sang et les urines [2]. Elle affecte plus de 100 millions de personnes à travers le monde (6% de la population mondiale) [3]. Il existe deux types de diabète :

Le diabète insulino-dépendant (DID), « diabète de type 1 », qui est déterminé génétiquement et apparaît dès l'enfance. Le pancréas est dans l'incapacité de fabriquer suffisamment d'insuline. Il faut donc administrer cette hormone par piqûre. Le traitement est donc purement médical. La phytothérapie ne peut être qu'un appoint [4].

Le diabète non insulino-dépendant (DNID), encore appelé « diabète de type 2 » et plus anciennement « diabète gras ». Ce diabète est surtout lié au métabolisme des sucres ingérés, mais il existe une forte prédisposition familiale (hérédité). Il concerne surtout des sujets au-delà de 40 ans, qui sont en excès de poids (2/3 des cas) [4, 5]. La phytothérapie contribuera à réguler la glycémie et suffira seule dans le diabète gras à condition toujours qu'elle s'accompagne d'une perte de poids et d'une alimentation raisonnable où les quantités de sucre seront contrôlées et équilibrées [4].

Apports de la phytothérapie dans le traitement du diabète :

Longtemps avant l'élucidation des mécanismes physiopathologiques impliqués dans le diabète, le traitement traditionnel de cette maladie était particulièrement centré sur le traitement de ses symptômes externes, la soif et la polyurie. Comme traitement du diabète, les médecins grecs préconisaient alors à leurs patients un traitement de la soif intense [5].

Plusieurs enquêtes ethnopharmacologiques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles [6-12]. Les informations ethnobotaniques recueillies dans plusieurs régions du monde estiment que plus de 1 200 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et anti-hyperglycémiantes [7, 13].

Les investigations ethnopharmacologiques sont actuellement centrées sur la validation expérimentale des propriétés curatives, traditionnellement attribuées à ces remèdes. Dans 81% des cas, les indications traditionnelles de plantes antidiabétiques ont été expérimentalement



confirmées [13]. Certaines de ces plantes, dont l'activité pharmacologique a été confirmée sur des modèles animaux, ont également fait l'objet de plusieurs études cliniques [14].

Pour plusieurs plantes, les composés actifs responsables de l'activité pharmacologique ont été identifiés et isolés (Il s'agit le plus souvent des alcaloïdes, des glycosides, des hypoglycines, des polysaccharides, etc. [15]) et les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les effets thérapeutiques ont été partiellement ou complètement élucidés [16].

L'approche ethnopharmacologique est d'une grande importance dans ce domaine, elle pourrait conduire à la découverte de nouveaux médicaments pour le traitement pharmacologique du diabète [16].

L'exemple classique est celui de *Galega officinalis*, une plante largement utilisée dans le traitement du diabète en Europe médiévale. Les premières investigations ont révélé la présence de guanidines en forte concentration dans cette plante [16]. Plus tard, les propriétés hypoglycémiantes des guanidines ont été mises en évidence, ce qui a conduit à la découverte de la troisième génération des guanidines [5].

II. Activité antioxydante :

Élément indispensable à notre survie, à notre développement, à notre capacité d'adaptation ; l'oxygène est également à l'origine de toxicité, d'acidité, d'altération, de dégénérescence [17]. Son métabolisme cellulaire normal produit de manière continue de faibles quantités de dérivés réactifs de l'oxygène [18, 19]. L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit [radical superoxyde (O_2^-), radical hydroxyle (OH^\cdot), monoxyde d'azote (NO^\cdot)...], mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante [peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite ($ONOO^-$)] [20, 21].

Les radicaux libres composés, chimiquement instables sont porteurs d'électrons libres qui réagissent avec d'autres molécules, les déstabilisant à leur tour, et induisent ainsi une réaction en chaîne [22]. En raison de leur capacité à endommager presque tous les types de molécules dans l'organisme, les radicaux libres ont été impliqués dans un très grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques [7]. Ils provoquent notamment des dommages sur l'ADN, les protéines cellulaires essentielles et les lipides membranaires (peroxydation lipidique), pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire [22, 24].

Pour contenir ces dérivés réactifs de l'oxygène à un niveau physiologique, il existe toute une batterie d'antioxydants [19, 25].

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à la cible oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de cette cible [19, 26]. Ils ont la capacité de neutraliser les effets destructeurs de radicaux libres dans les tissus et protègent donc des maladies cardiovasculaires, du cancer, de l'athérosclérose et bien d'autres maladies [27].



Les antioxydants primaires : ils sont fabriqués par notre organisme [25]. Dans les conditions dites « physiologiques », il y a équilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes endogènes de défenses antioxydantes [28]. Ces mécanismes impliquent des facteurs spécifiques comme le glutathion (un puissant détoxifiant cellulaire), l'acide alpha-lipoïque, l'acide urique, la coenzyme Q10 [25]. Mais ce sont aussi des enzymes (superoxyde dismutase ou SOD, catalase, glutathion peroxydase ou Gpx) qui ont besoin d'être activées d'être mise en présence de minéraux issus des aliments : fer pour la catalase, zinc et cuivre pour la superoxyde dismutase, sélénium pour les glutathion peroxydases [25, 28].

Les antioxydants secondaires : ils sont présents dans nos aliments. Ce sont : Certaines vitamines : A, C, E, mais aussi B2 (riboflavine) [25, 28]; des oligo-éléments : zinc, cuivre, sélénium, fer nécessaires pour activer des enzymes protectrices ; des composés des fruits et légumes : caroténoïdes, polyphénols, isocyanates (dans le chou et les crucifères) ; des composés des épices et aromates : terpènes [25].

Si les antioxydants (quels qu'ils soient et à n'importe quelle dose) ne sont pas la panacée ni l'élixir de longue vie, il reste probable qu'une meilleure connaissance des processus physiopathologiques associés à la production de radicaux libres oxygénés permettra une meilleure utilisation de ces substances [19].

III- Activité antimicrobienne :

Le contrôle des micro-organismes est essentiel à la prévention et au traitement des maladies. Depuis leur découverte au 20^{ème} siècle, les antimicrobiens (antibiotiques et médicaments apparentés) ont permis de réduire considérablement la menace de maladies infectieuses [29]. On considère comme substance antibiotique tout composé chimique dérivé d'un organisme vivant ou synthétisé par lui et capable, à faibles concentrations, d'inhiber les processus vitaux dans les microorganismes [30].

Antibiotiques d'origine végétale :

L'émergence de microorganismes pathogènes multirésistants, due à l'usage abusif et inapproprié des antibiotiques, pose actuellement un problème de santé publique particulièrement préoccupant. En effet, la résistance des bactéries aux antibiotiques rend quelque fois le traitement thérapeutique inefficace, et met le praticien dans des situations délicates, surtout lorsque la vie du malade est en cause. La solution de ce problème s'avère donc urgente et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens [31]. Le recours aux plantes médicinales aux propriétés antimicrobiennes constitue alors une des plus intéressantes pistes à explorer [32].

Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale [33]. Il est certain que la plupart des antibiotiques prescrits dérivent des microorganismes et que, un à trois



antibiotiques sont mis sur le marché chaque année [34], mais il est aussi évident que les agents antimicrobiens d'origine végétale ont leur place dans l'arsenal de médicaments prescrits par les cliniciens et à juste titre [35]. Chaque antibiotique a une durée de vie effective limitée au bout de laquelle les microorganismes développent des résistances, de plus, dans les pays en développement, ces produits ne sont pas toujours disponibles, ou, lorsqu'ils le sont, ils coûtent trop cher pour les populations, ainsi plus de 80 % de ces populations ont recours exclusif aux plantes pour se soigner [33,36].

Dans le monde prodigieux des Plantes à Fleurs, plus de 800 espèces produisent des inhibiteurs de croissance de divers microbes. Mais le nombre de végétaux aptes à synthétiser des antibiotiques comparables à ceux que l'on extrait de Bactéries ou de Champignons est infiniment moindre. Il s'agit surtout de composés soufrés, d'hétérosides, d'alkaloïdes, de lactones non saturées, d'acides gras ou de quinones et leurs dérivés (Tableau 1) [37].

Tableau (1) : Quelques plantes à activité antimicrobienne [37].

Plante	antibiotique	plante	antibiotique
<i>Allium sativum L.</i>	Allicine	<i>Datisca cannabina L.</i>	Datiscétine
<i>Anacardium occidentale L.</i>	Acide anacardique	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Rutine
<i>Anemone</i>	Anémone	<i>Juglans nigra</i>	Juglone
<i>Cassia reticulata</i>	Acide cassique	<i>Melilotus officinalis</i>	ptérigospermine
<i>Cheiranthus cheiri</i>	Cheiroline	<i>Crepis taraxacifolia</i>	Crépine



Références bibliographiques :

- [1] **The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.**
Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 25. (suppl. 1): S5-S15. **2002.**
- [2] **Morgan, W.**
Diabetes Mellitus: Its History, Chemistry, Anatomy, Pathology, Physiology, and Treatment. Editions BiblioBazaar, LLC. **2009.**
- [3] **ADA.**
Clinical practice recommendation. Screening for diabetes. *Diabetes care.* **1997**; 20 (1): 22-24.
- [4] **Scimeca, D. et Tétou, M.**
Votre santé par les plantes: Le guide phyto utile pour toute la famille. Alpen Editions s.a.m. **2005**, p. 51-52.
- [5] **Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A. et al.**
L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc, *Phytothérapie.* **2007**; 5 :194-203.
- [6] **Atta-Ur-Rahman, K.**
Medicinal plants with hypoglycemic activity. *J. Ethnopharmacol.* **1989**; 26: 1-55.
- [7] **Bailey, C.J. et Day, C.**
Traditional plant medicines as treatment for diabetes. *Diabetes Care.* **1989**; 12 : 553-564.
- [8] **Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A. et al.**
Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the southeast region of Morocco (Tafilalet). *J. Ethnopharmacol.* **2002**; 82(2-3): 97-103.
- [9] **Grover, J. K., Yadav, S. et Vats, V.**
Medicinal plants of India with anti-diabetic potentiel. *J. Ethnopharmacol.* **2002**; 81: 81-100.
- [10] **Ivorra, M. D., Paya, M. et Villar, A.**
A review of natural products and plants as potentiel antidiabetic drugs. *J. Ethnopharmacol.* **1989**; 27 : 243-75.
- [11] **Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H. et al.**
Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez- Boulemane). *J. Ethnopharmacol.* **2001**; 77(2-3): 175-82.
- [12] **Wang, H. X. et al.**
Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolimic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Sci.* **1999**; 65(25): 2663-77.

- [13] **Marles, R. J., Farnsworth, N. R.**
Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*. 1995; 2: 13-189.
- [14] **Ernst, E.**
Plants with hypoglycaemic activity in humans. *Phytomedicine*. 1997; 4(1): 73-8.
- [15] **Didier, J. et Micha, J. Cl.**
Bénin Programme de recherche et de liaison universitaires pour le développement. Paris Symposium Ouidah, Mamadou Sawadogo, Georges Thill, Symposium. Editions Presses universitaires de Namur. 1995.
- [16] **Oubré, A. Y., Carlson, T. J., King S. R., et al.**
From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia*. 1997; 40: 614-617.
- [17] **Koechlin-Ramonatxo, Ch.**
Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 2006; 20 (4): 165-177.
- [18] **Thannickal, V. J. et Fanburg, B. L.**
Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2000; 279: 1005-28.
- [19] **Leverve, X., Cosnes, J. et al.**
Traité de nutrition artificielle de l'adulte .Par Société francophone de nutrition entérale et parentérale. 2° éd. Editions Springer. 2002, p. 251-257.
- [20] **Oldham, K. M. et Bowen, P. E.**
Oxidative stress in critical care: is antioxidant supplementation beneficial ? *J. Am. Diet. Assoc.* 1998; 98: 1001-8.
- [21] **Novelli, G. P.**
Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol.* 1997; 48 : 517-27.
- [22] **Menvielle-Bourg, F.**
La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*. 2005; (3): 118-121.
- [23] **Gutteridge, J. M.**
Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun.* 1993; 19: 141-58.
- [24] **Pong, K.**
Oxidative stress in neurodegenerative diseases: Therapeutic implications for superoxide dismutase mimetics. *Expert Opinion in Biological Therapy*. 2003; 3 : 127-139.
- [25] **Céline, C.**
Les secrets de santé des antioxydants. Alpen Editions s.a.m. 2005, p. 95.



- [26] **Rebai, B. A. et al.**
Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (*Rhamnaceae*): A structure-activity relationship study, *Food Chemistry*. 2009; 116: 258–264.
- [27] **Bandyopadhyay, M., Chakraborty, R. et Raychaudhuri, U.**
A process for preparing a natural antioxidant enriched dairy product (Sandesh). *LWT–Food Science and Technology*. 2007; 40: 842–851.
- [28] **Vouldoukis, I., Conti, M., Krauss, P. et al.**
Supplementation with gliadin-combined plant superoxide dismutase extract promotes antioxidant defenses and protects against oxidative stress. *Phytother. Res.* 2004; 18 (12) : 957-62.
- [29] **Lansing, M. P., John, P. H. et al.**
Microbiologie. 2^e éd. Editions De Boeck Université. 2003.
- [30] **Courvalin, P., Drugeon, H., Flandrois, J. P. et Goldstein, F.**
Bactericide. Aspects théoriques et thérapeutiques. Editions Maloine, Paris. 1990, p. 110.
- [31] **Graham, L. P. et Paul, D.**
Chimie pharmaceutique. Editions De Boeck Université. 2002.
- [32] **Senhaji, O. et al.**
Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Médicale*. 2005 ; (15) : 220–229.
- [33] **Kirby, G.C.**
Medicinal plants and the control of parasites. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1996; 90: 605-609.
- [34] **Al-Bakri, A. G. et Afifi, F. U.**
Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extract by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. *Journal of Microbiological Methods*. 2007; 68 (1): 19-25.
- [35] **Cowan, M.M.**
Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12: 564-582.
- [36] **Hostettmann, K. et Marston, A.**
Twenty years of research into medicinal plants: results and perspectives. *Phytochem. Rev.* 2002; 1: 275-285.
- [37] **Bernard, B.**
Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Réalités & Croyances. Editions Estem. 2001.

2^{ème} partie :
Partie
expérimentale



Chapitre (1) :
Travaux
réalisés
sur la plante.



I- Matériel végétal :

- La plante a été récoltée de la région de Beni Boublène à Tlemcen.
- Celle ayant servi aux différentes extractions, ainsi qu'aux tests phytochimiques a été récoltée le 23/10/2008. Les différentes parties de la plante ont été séchées à l'ombre à température ambiante puis pulvérisées dans un micro-broyeur, de manière à ce que la surface de contact avec le solvant soit la plus grande possible. Les poudres obtenues ont servi aux différentes opérations.
- Celle ayant servi à l'extraction des huiles essentielles pour analyse a été récoltée le 14/02/2009.
- Celle ayant servi à l'extraction des huiles essentielles pour l'activité a été récoltée le 06/05/2009.
- Les différents organes de la plante ont été identifiés par Professeur N. Benabadji du Laboratoire d'Ecologie, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen.

II- Solvants, produits chimiques et méthodes d'analyses :

II. 1- Solvants et produits chimiques :

- Les réactifs utilisés lors des différents travaux sont commerciaux et utilisés sans purification supplémentaire.
- Le gel de silice utilisé pour la chromatographie sur colonne présente une granulométrie de 0.063-0.2 mm (70-230 mesh) Merck-gel de silice 60.
- Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur plaques de silice Kieselgel 60 F254 Art. 5719 Merck.
- Les produits sont révélés par extinction de fluorescence en lumière UV à 254 nm, fluorescence en lumière UV à 366 nm.
- Pour peser les masses des différents extraits une balance analytique a été utilisée.

II. 2- Appareils utilisés :

II. 2. 1- Spectrophotomètre UV-visible : Le spectre en lumière visible a été enregistré sur un spectrophotomètre Thermo Spectronic Heliosy (type Helios Gamma). L'échantillon est en solution dans le DMSO et est placé dans une cuve de trajet optique 1 cm.

II. 2. 2- Chromatographe en phase gazeuse :

L'appareil est de type Perkin-Elmer (Waltham, MA, USA) équipé d'un injecteur diviseur, de deux colonnes capillaires en silice fondue, polaire (Rtx-wax, polyethyleneglycol) et apolaire Rtx-1 (DB5, polydimethylsiloxane) et d'un détecteur à ionisation de flamme. Les conditions opératoires sont les suivantes: gaz vecteur: Hélium (1ml/min); température de l'injecteur et du détecteur : 280°C; programmation de température: de 60 à 230°C à 2°C/min; injection: mode split 1/50, le volume injecté est de 0.2 µL.

II. 2. 3- Couplage chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse :

Un chromatographe Perkin-Elmer Autosystem XL équipé d'une colonne capillaire en silice fondue Rtx.-Wax couplé à un spectromètre de masse Perkin-Elmer Turbo, muni d'un détecteur de type quadripôle. Les spectres de masse ont été acquis dans un intervalle de masse compris entre 35 et 350 Da.

Les conditions opératoires sont les suivantes : Gaz vecteur: Hélium (1ml/min) ; programmation de température : de 60 à 230 °C à 2°C/min ; température de l'injecteur et du détecteur: 280 °C ; injection: mode split (1:50) ; volume injecté : 0.2 µL ; mode ionisation : mode I.E positif 70ev.

III- Monographie de la plante [1-3]:

III. 1- Teneur en eau :

- **Principe :** on a utilisé la méthode pondérale qui consiste en la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.
Introduire 1 à 2g de poudre, dans les verres de montre préalablement tarés. Placer les verres contenant la poudre à l'étuve de 100°C pendant 24heures, puis peser de nouveau après refroidissement.
- **Calcul:** Masse drogue essai = masse avant étuve - tare
Masse eau = masse avant étuve – masse après étuve.
Nous avons effectué cinq prises d'essai et considéré la teneur moyenne.

$$\% \text{ Eau} = (\text{masse eau} \div \text{masse drogue essai}) \times 100$$

III. 2- Substances extractibles par l'eau :

- Réaliser une décoction dans un ballon d'un gramme de poudre (PE) avec 20 ml d'eau distillée pendant 15 min.
- Laisser refroidir 20 min et filtrer sur papier filtre. Peser une capsule vide (n), introduire le filtrat dans la capsule et évaporer à sec à l'étuve. Peser de nouveau la capsule (n').
- Les substances extractibles par l'eau sont évaluées par la formule :

$$(n' - n) \times 100 \div \text{PE}$$

IV- Tests phytochimiques [1-4]:

Ils mettent en œuvre des réactions en tube soit par précipitation soit par coloration.

IV. 1- Recherche de composés polyphénoliques :

- Réaliser une infusion à partir de 5g de poudre de drogue et 100 ml d'eau pendant 15 min.
- Filtrer et rincer à l'eau chaude de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

IV. 1. 1- Flavonoïdes :

- Introduire dans un tube à essai 5ml d'infusé à 5% et 5ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95° + eau distillée + HCl concentré à partie égale en volume) puis quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool isoamylique. C'est la réaction de la cyanidine.
- L'apparition au niveau de la couche surnageante d'alcool isoamylique d'une coloration,
 - rose orangée indique la présence de flavones.
 - rose violacée caractérise les flavanones.
 - rouge indique la présence de flavonols et de flavanonols.

IV. 1. 2- Les anthocyanes :

A 5ml d'infusé à 5% ajouter 5ml d' H_2SO_4 à 10% puis 5ml de NH_4OH dilué au demi. En présence d'anthocyanes la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu-violacé en milieu basique.

IV. 1. 3- Les leucoanthocyanes :

Effectuer la réaction de cyanidine sans ajouter de magnésium et chauffer pendant 15 min au bain-marie. Une réaction positive se caractérise par une teinte rouge cerise ou violacée.

IV. 1. 4- Tanins :

- Introduire dans un tube 5ml d'infusé à 5% et 1ml de solution aqueuse de $FeCl_3$ à 1%. Le développement d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre indique la présence de tanins.
- La différenciation des tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny. Pour cela, introduire dans un ballon 30 ml d'infusé à 5% et ajouter 15ml de Réactif de Stiasny (10ml de formol à 40% + 5ml d'HCl concentré). Chauffer au Bain-Marie à 90°C pendant 15 min. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.
- Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé, ajouter quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ à 1%, le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

IV. 1. 5- Coumarines :

- 5 ml d'extrait étheré obtenu après une macération de 24 heures sont évaporés à l'air libre, puis repris avec 2 ml d'eau chaude. La solution est partagée entre deux tubes à essai. La présence de coumarines est manifestée après ajout dans l'un des tubes de 0,5 ml de NH_4OH à 25 % et observation de la fluorescence sous UV 366 nm.
- Une fluorescence bleue intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

- **Remarque :** d'autres composés présentent également une fluorescence nette aux UV. Cette mise en évidence ne correspond donc qu'à une indication, et non une identification.

IV. 2- Recherche des Alcaloïdes :

- Elle est effectuée sur des réactions de précipitation avec les révélateurs généraux des alcaloïdes : le réactif de Mayer et le réactif de Dragendorff.
- Un extrait sulfurique est préparé à partir de 10g de drogue et 50ml d' H_2SO_4 dilué à 10%. Après une macération de 24h, le macéré est filtré et lavé à l'eau distillée de manière à obtenir 50ml de filtrat.
- Dans deux tubes à essai introduire 1ml de filtrat ensuite, ajouter au premier, 5 gouttes de réactif de Mayer et au second, 5 gouttes de réactif de Dragendorff.
- En présence d'alcaloïde il y a formation d'un précipité :
 - blanc-jaunâtre dans le premier tube
 - orange dans le deuxième tube

- Réactif de Mayer :

Dissoudre 1,358 g de $HgCl_2$ dans 60 ml d'eau. Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un trouble puis un précipité blanc.

- Réactif de Wagner :

Dissoudre 2 g de KI et 1,27 g de I_2 dans 75 ml d'eau. Ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

IV. 3- Recherche des terpénoïdes :

IV. 3. 1- Stérols, triterpènes : réaction de Liebermann-Burchard.

- Elle se fait sur une macération de 24h à 5% dans l'éther. L'extrait étheré est ensuite évaporé à sec et repris avec de l'anhydride acétique puis du chloroforme. Déposer au fond du tube contenant l'extrait de l'acide sulfurique.
- En cas de réaction positive il se forme un anneau rouge - brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides, la couche surnageante étant verte ou violette.

IV. 3. 2- Recherches des saponosides :

- Elle est effectuée selon la technique décrite dans la pharmacopée française (IX éd), se fondant sur la détermination de l'indice de mousse.
- Dans une fiole conique de 500 ml, on introduit 100 ml d'eau bouillante et 2 g de broyat de plante. L'ébullition est maintenue pendant 30 minutes. Le mélange est filtré, refroidi et ajusté à 100 ml. Dans une série de dix tubes à essai, sont introduits successivement 1, 2, 3, 4, ... 10 ml du décocté, tous les tubes sont complétés à 10 ml avec de l'eau distillée et agités vigoureusement pendant 15 secondes. Après un repos de 15 minutes, la hauteur de la mousse est mesurée.

- Si cette dernière est égale à 1 cm, la dilution de la substance dans ce tube correspond à l'indice de mousse recherché. Un indice supérieur à 100 est considéré comme une réaction positive témoignant d'une richesse de la plante en saponosides.

V- Extractions au Soxhlet :

V. 1- Principes:

V. 1. 1 - L'extracteur de Soxhlet [5] :

- Il permet le traitement de solides (matériel végétal) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal.
- Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair c'est-à-dire sans une proportion significative de soluté.

V. 1. 2- Méthodes chromatographiques utilisées:

V. 1. 2. 1- Chromatographie sur colonne [6]:

- Dans cette forme de chromatographie, la phase stationnaire est contenue dans une colonne. L'éluant qui peut-être sous la pression d'une pompe ou non, entre par une extrémité et sort par l'autre. Il peut-être un solvant unique ou un mélange de solvants. Sous l'action de l'éluant et des liaisons qu'elles établissent avec l'adsorbant, les molécules vont se déplacer différemment dans la colonne et prendre un certain retard les unes par rapport aux autres pendant la migration. Elles vont donc se présenter avec un certain retard en sortie de colonne. L'adsorption est la fixation des molécules dissoutes, par une phase stationnaire. Cette fixation est due à l'établissement de liaisons secondaires de surface (liaison dipôle-ion, ou dipôle-dipôle ou liaison de Van der Waals) entre l'adsorbant et la molécule adsorbée.
- L'élution peut se faire sous forme isocratique ou sous forme d'un gradient. En principe, la phase mobile est composée des mêmes solvants que ceux utilisés pour la CCM analytique. Toutefois, l'élution peut-être accélérée grâce à l'addition progressive de solvant de plus en plus polaire par rapport à la phase initiale. Les différentes fractions sont collectées dans des erlenmeyers ou dans des piluliers. Ces fractions sont ensuite analysées par CCM.

V. 1. 2. 2- Chromatographie sur couche mince (CCM) [6, 7]:

- La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène

d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction étant donné qu'elle indique approximativement le nombre de composants dans un mélange réactionnel.

- Une plaque de chromatographie sur couche mince (CCM) se compose d'un support en aluminium ou en verre, sur lequel est fixé une fine couche d'un milieu de sorption (silice, cellulose, alumine, polyamides...) comme phase stationnaire. On les place en position verticale ou légèrement inclinée dans une cuve en verre ; elle repose contre l'une des parois et est immergée d'environ 0,5 cm dans la phase mobile, qui est constituée d'un ou de plusieurs solvants, et dont les vapeurs auront préalablement saturé la cuve fermée. L'échantillon à étudier, déposé à l'état liquide par oppositions successives d'une micropipette en verre et éventuellement séché au sèche-cheveux sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque. Le comportement de chaque molécule sur la plaque dépend des interactions existant entre soluté, phase mobile et phase stationnaire.
- Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son R_f (rapport frontal) qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant) et qui peut donc être compris entre 0 et 1.

V. 2 - Extraits aqueux pour l'activité hypoglycémiant :

- L'extraction a été faite au Soxhlet. 3 x 40 g de poudre de la plante ont été extraits avec 3 x 200 ml d'eau distillée.
- A la fin des extractions nous avons filtré à l'aide d'un papier filtre pour enlever toute impureté. Aucun précipité n'a été remarqué.
- Les deux premiers extraits ont été séchés à l'étuve à 40 °C, pendant 24 heures, le solide résultant a été conservé dans des flacons propres et secs. Il servira à tester l'activité hypoglycémiant.
- Quant au troisième, il a subi une série d'extractions liquide - liquide, avec des solvants à polarité croissante (l'hexane puis le chloroforme) à l'aide d'une ampoule à décanter. Afin d'épuiser la phase aqueuse, l'extraction liquide - liquide est refaite trois fois pour chaque solvant (figure 1).
- Les deux phases organiques (hexanique et chloroformique) sont évaporées à l'aide d'un rotavap.
- La phase aqueuse récupérée, est séchée à l'étuve à 40 °C. le résidu résultant est traité avec 2 X 50 mL de méthanol. Ensuite on filtre et on récupère la partie soluble dans le méthanol, et on évapore le méthanol avec le rotavap.

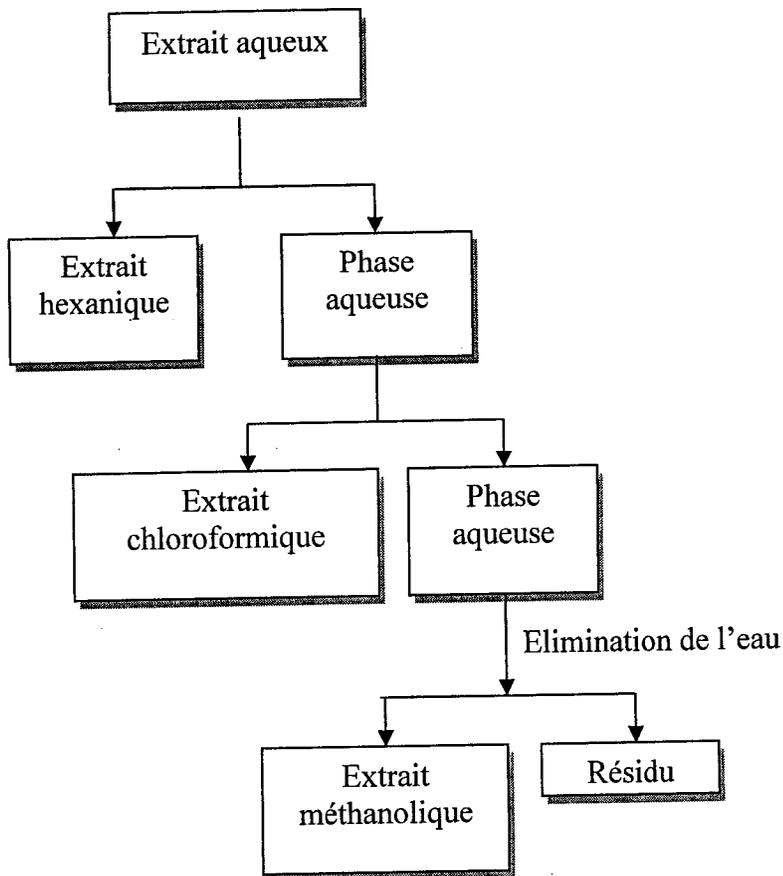


Figure (1): Schéma d'extraction liquide - liquide pour la phase aqueuse.

- Cet extrait méthanolique a subi une chromatographie sur colonne en utilisant la silice. L'éluant utilisé est composé de dichlorométhane, de méthanol, d'eau et d'acide acétique.
- On lave d'abord la silice avec du dichlorométhane. Les éluants utilisés sont : DCM 100 ml, DCM – MeOH (95– 5) 100 ml, DCM – MeOH (90– 10) 100 ml, DCM – MeOH (85–15) 100 ml, DCM – MeOH (80–20) 100 ml, DCM – MeOH (75–25) 100 ml, DCM–MeOH (70-30) 100 ml, DCM–MeOH (60-40) 100 ml, DCM–MeOH (40-60) 100 ml, DCM–MeOH (20-80) 100 ml, MeOH 100 ml, MeOH- H₂O (80–20) 100 ml, MeOH- H₂O (50-50) 100 ml, MeOH- H₂O (30-70) 100 ml, H₂O-AcOH (80–20) 100 ml.
- La masse a été récupérée presque en entier. Nous avons regroupé les fractions en fonction de leurs R_f après analyse par CCM. Nous avons obtenu 15 fractions. Ces différentes fractions seront testées pour vérifier si elles possèdent une activité hypoglycémiante.

V. 3 - Extraction dans des solvants à polarité croissante :

L'extraction a été faite au Soxhlet. 20 g de poudre de chaque partie de la plante (Grains, fleurs, feuilles, tiges, racines) ont été extraits successivement avec 200 ml de solvants à polarité croissante (Hexane, dichlorométhane, méthanol, eau) (figure 2). Après les différentes extractions on filtre, et on évapore le solvant. Les rendements moyens des extractions ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche. Les activités, antimicrobienne et antioxydante des différents extraits ont été testées.

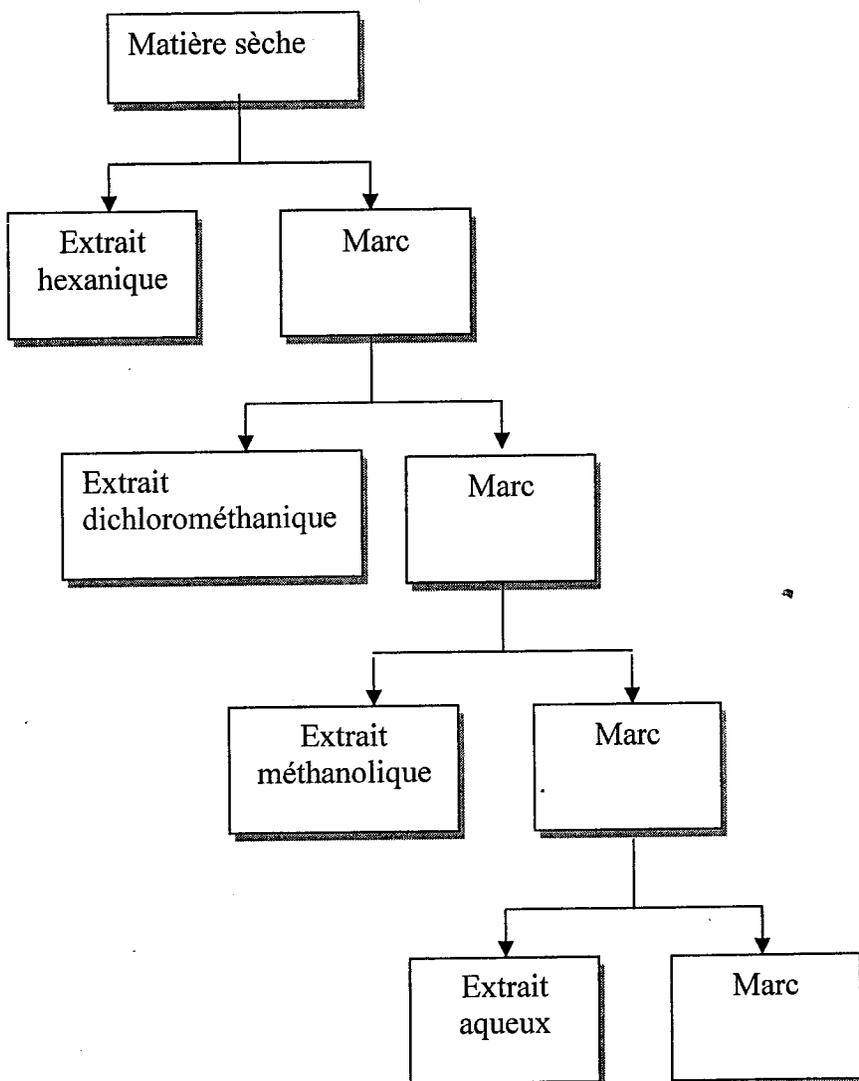


Figure (2) : Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante.

VI- Les huiles essentielles:

VI. 1- Extraction des huiles essentielles :

- Les huiles essentielles des feuilles et des fleurs d'*Ampelodesmos mauritanicus* ont été extraites par un montage d'hydrodistillation pendant une durée de 4heures.

Le Montage utilisé est constitué d'un ballon de deux litres contenant la matière végétale et l'eau, posé au-dessus d'une source de chaleur et surmonté d'une colonne à distillation. Cette dernière est reliée à son tour à un réfrigérant qui condense les vapeurs que

l'on recueille. Cette phase est séchée sur du sulfate de magnésium. L'extraction de l'huile a été faite à l'aide d'une ampoule à décanter en utilisant du pentane et de l'éther diéthylique. Les échantillons d'huiles essentielles sont conservés à -18°C. Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche.

- Masses de la matière végétale fraîche utilisée: Feuilles = 172 g ; Fleurs = 108 g.

VI. 2- Analyse de l'huile essentielle des feuilles :

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été utilisée en plus de la CPG classique pour l'analyse de la composition des huiles essentielles d'*Ampelodesmos Mauritanicus*. Elle permet d'obtenir à la fois les temps de rétention des constituants volatils de l'échantillon pour un programme donné et leurs spectres de masse.

Les systèmes modernes sont par ailleurs généralement pilotés par un logiciel, qui peut prendre en charge la comparaison automatique des spectres obtenus avec des bibliothèques de spectres contenant des informations sur des milliers de composés. La bibliothèque consultée pour les spectres de masse est « the NIST Chemistry WebBook » [8]. La coélution avec des témoins authentiques en CPG par comparaison de leurs indices de rétention (IR) sur les colonnes apolaires et polaires, déterminés par rapport aux indices de rétention d'une gamme étalon d'alcane; avec ceux des composés de référence peut permettre de confirmer une proposition de structure [9].

VII- Les activités biologiques :

VII. 1- Activité hypoglycémiant : cette activité n'a pas pu être testée, par manque de temps et aussi d'animaux de laboratoire.

VII. 2- Activité antimicrobienne :

Cette activité a été testée sur les différents extraits, ainsi que sur l'huile essentielle des fleurs.

VII. 2. 1- Provenance des germes :

Les souches pathogènes utilisées sont indiquées dans le tableau (1). Elles sont celles qui causent les maladies courantes (infections urinaires, broncho-pulmonaires, cutanées, digestives...) causées par les bactéries.

Tableau (1): Provenance des germes étudiés

Souches utilisées	Origine
Bactéries à GRAM (-) : • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P.a) • <i>Escherichia coli</i> (E.coli)	Souches pures fournies par l'Institut Pasteur de Paris (IPP)
Bactéries à GRAM (+) : • <i>Staphylococcus aureus</i> (S.a)	

VII. 2. 2- Choix des antibiotiques :

- On a évalué la sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes. Ceci en fonction de ceux utilisés au laboratoire de microbiologie à l'hôpital de Tlemcen, et aussi en fonction de leur disponibilité (tableau 2).

Tableau (2) : Les antibiotiques (ATB) utilisés.

Groupe microbien	ATB	Sigle
Bactéries	Gentamicine	GT
	Amoxilline	Amx

VII. 2. 3- Méthode utilisée :

- La méthode utilisée est celle de la diffusion des ATB sur gélose ou méthode des disques. Cette méthode se base sur la diffusion de l'extrait testé dans la gélose. Elle consiste à déposer sur la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé par la suspension de germes choisis, des disques de papiers filtre imprégnés d'extraits à tester [10] :
- Préparation de l'inoculum : On a préparé une culture de 24 heures à 37°C, de bactéries à tester sur gélose nutritive, après 24 heures d'incubation, On a pris 4 à 5 colonies et on les a mis dans 5 ml de bouillon nutritif ;
- On a mesuré la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à $\lambda = 625$ nm, La valeur affichée doit être comprise dans l'intervalle [0.08 – 0.1], ce qui correspondra à une concentration en bactéries de 10^8 U.F.C / ml;
- On a fait une dilution de 1/100 dans l'eau physiologique à 0.9%. Ce qui donnera une concentration en bactéries finale de 10^6 U.F.C / ml ;
- Ensemencement de la gélose Mueller-Hinton (MH) par inondation, l'excès du liquide est aspiré et la surface de la gélose est laissée sécher 15 à 20 minutes à $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- Préparation des disques : les disques sont préparés à partir du papier filtre (6 mm de diamètre). Ces derniers sont imprégnés des extraits à raison de 10 μl pour les différents extraits, ils sont ensuite séchés;
- A l'aide d'un distributeur de disques, on place sur la surface de la gélose Mueller – Hinton (MH) préalablement ensemencée, les différents disques d'ATB choisis. Les boites ont été laissées durant 20 minutes à température ambiante pour permettre une bonne diffusion de l'ATB. Elles ont été ensuite incubées à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 18 à 24 heures. La lecture a été faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque.

Remarque :

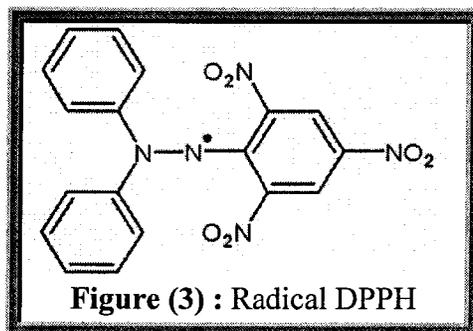
Les extraits hexaniques, dichlorométhaniques et méthanoliques sont solubilisés dans le DMSO, les extraits aqueux sont solubilisés dans l'eau (ces deux solvants ne possèdent pas d'activité antimicrobienne)

- Inactif : diamètre $d \leq 6$ mm ; Activité moyenne : $6 < d \leq 12$ mm ; Activité modérée : $12 < d \leq 20$ mm ; Bonne activité : $d > 20$ mm.

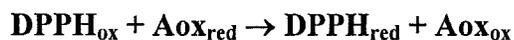
VII. 3- Activité antioxydante :

Principe :

- Les antioxydants radicalaires permettent l'interruption de la chaîne autocatalytique : $AH + R^{\bullet} \rightarrow A^{\bullet} + RH$. La molécule AH est antioxydante si le radical formé A^{\bullet} est plus stable.
- La stabilité du radical A^{\bullet} peut s'expliquer par sa conversion en composé non radicalaire: $A^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow A-A'$ ou $A^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow A-R$



- Pour détecter l'activité antiradicalaire *in vitro*, nous utilisons le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), un radical stable, violet en solution et présentant un maximum d'absorption caractéristique à 517 nm. Le protocole appliqué en routine repose sur la disparition de ce maximum lorsque le DPPH est réduit par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (la couleur vire au jaune) le DPPH se réduit en 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine. La disparition de la couleur violette aura lieu à 517 nm. [11]
- La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer les radicaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH.



Aox : antioxydant

Spectrophotométrie UV-visible [7]:

- L'absorption moléculaire dans le spectre ultraviolet et visible dépend de la structure de la molécule. L'absorption d'énergie est quantifiée et résulte du passage des électrons d'orbitales de l'état fondamental vers des orbitales d'un état excité d'énergie supérieure. La structure particulière d'une molécule est liée à une absorption plus ou moins importante à chaque longueur d'onde observable (UV de 200 à 400 nm ; visible de 400 à 800 nm), ce qui peut se traduire par l'établissement d'un spectre d'absorption.
- L'absorption dans le domaine du visible est courante et se traduit par une coloration de l'échantillon ; la spectrométrie UV se limite, elle, généralement aux systèmes conjugués. Cette sélectivité peut présenter un avantage : des groupes caractéristiques peuvent être reconnus dans des molécules de complexité très variable.

- La spectrophotométrie UV-visible permettra donc :
 - ✓ De reconnaître des groupements chimiques particuliers, surtout s'ils comportent des doubles liaisons, *a fortiori* conjuguées. L'interprétation d'un spectre ultraviolet est plus aisée que celle d'un spectre visible.
 - ✓ En mesurant, à une longueur d'onde précise (la longueur d'onde d'absorption maximale de la molécule ou du complexe qu'elle forme avec un réactif, λ_{max}), l'intensité de cette absorption (densité optique, DO) par rapport à un témoin de concentration connue, de déterminer la quantité de la molécule présente dans un échantillon.

Manipulation : Nous avons préparé une solution de DPPH dans le DMSO (5.5 mg / 25 ml). 1 ml (0.22 mg de DPPH) de cette solution est ajouté à 2 mg d'extrait préalablement solubilisé dans le DMSO, le mélange est complété à 5 ml par le DMSO. Le mélange est fortement agité. Ensuite, ce dernier est laissé incuber pendant 30 min dans l'obscurité à température ambiante. Après incubation, l'absorbance est mesurée à 517 nm (plusieurs mesures d'absorbance ont été faites afin d'avoir une valeur moyenne). Par ailleurs, un essai à blanc a été effectué, c'est-à-dire 1 ml de la solution de DPPH (5.5 mg/25 ml) est dilué 5 fois pour obtenir 5 ml, ensuite nous avons mesuré l'absorbance à 517 nm : c'est une solution de contrôle de DPPH. Le pourcentage du DPPH réduit est donné par la relation :

$$\% \text{ DPPH}_{\text{réduit}} = [(AC - AE)/AC] \times 100$$

AC : absorbance de contrôle ; AE : absorbance de l'extrait.

L'acide ascorbique et l'acide tannique sont utilisés comme composés de référence.

Remarques :

- Pouvoir antioxydant faible : % DPPH réduit < 50% ;
- Pouvoir antioxydant modéré : $50 \leq \% \text{ DPPH}_{\text{réduit}} \leq 70\%$;
- Pouvoir antioxydant fort : % DPPH réduit $\geq 70\%$.



Références :

- [1] **Makan Négué, D.**
Etude phytochimique d'une plante antipaludique utilisée au Mali : *spilanthès oleracea* Jacq. (*Asteraceae*). Thèse de doctorat en pharmacie. Dirigée par Diallo, D. Université de Bamako, Mali. 2003.
- [2] **Timbo, B.**
Etude phytochimique et Activités biologiques de *Trichilia emetica* Vahl. (*meliaceae*). Thèse de doctorat en pharmacie. Dirigée par Faye, B. Université de Bamako, Mali. 2003.
- [3] **Mogode Debete, J.**
Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl. (*Caesalpiniaceae*) utilisée dans le traitement des dermatoses au Tchad.). Thèse de doctorat en pharmacie. Dirigée par D. Diallo. Université de Bamako, Mali. 2005.
- [4] **Bruneton, J.**
Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^eéd. Editions Tec & Doc et Editions Médicales Internationales. 2001.
- [5] **Houghton, P. J. et Raman, A.**
Laboratory Hand book for Fractionation of Natural Extracts. 1^eéd. Editions Chapman et Hall Londres. 1998, p.29-31.
- [6] **LAGNIKA, L.**
Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat en pharmacie. Dirigée par Weniger, B. Université Louis Pasteur, Strasbourg. 2005.
- [7] **Hennebelle, T.**
Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants. Thèse de doctorat en Chimie Organique et macromoléculaire. Dirigée par Bailleul, F. Université des Sciences et Technologies de Lille. 2006.
- [8] <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
- [9] **Zakou, O. T. et Couladis, M.**
Essential oil of *Ruta chalepensis* L. from Greece. *J. Essent. Oil Res.* 2001; 13 : 258-259.
- [10] **Tentaoui-Elaraki, A., Errifi, A., Bendjillali, B. et Lallaoui, N.**
Antimicrobial activity of four chemically different essential oils. *Rivista Italiana EPPOS.* 1992 ; 6 : 20- 24.
- [11] **Maataoui, B. S., Hmyene. A. et al.**
Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*opuntia ficus-indica*). *Lebanese Science Journal.* 2006 ; 7(1) : 3-8.

Chapitre (2) :
Résultats
et
interprétation



I- Monographie de la plante:

I. 1- Teneur en eau :

Nous avons effectué cinq prises d'essai et considéré la teneur moyenne. Les résultats sont donnés dans le tableau (1)

Tableau (1) : teneur en eau des différentes parties de la plante.

	Fruits	Fleurs	Feuilles	Tiges	Racines
Taux d'humidité	7.55 %	10%	9.70%	8%	10 %

La teneur en eau des fleurs et des racines était supérieure à celles des autres parties, mais ça ne dépassait pas les 10%. Notre plante a été conservée sous de bonnes conditions (une teneur en eau supérieur à 10% peut dégrader les constituants de la plante).

I. 2- Substances extractibles par l'eau :

Tableau (2) : Pourcentages des substances extractibles par l'eau.

	Fruits	Fleurs	Feuilles	Tiges	Racines
Substances extractibles par H ₂ O	12 %	20.66%	14%	6%	9%

C'est dans les fleurs que le pourcentage des substances extractibles par l'eau était le plus élevé, plus de 1/5 (20.66%), viennent ensuite les feuilles avec un pourcentage de 14%.

II- Résultats des tests phytochimiques:

Tableau (3) : Résultats des tests phytochimiques

Famille		Résultat					
		Grains	Fleurs	Feuilles	Tiges	Racines	
Composés phénoliques	Flavonoïdes	+	+	+	-	-	
	Anthocyanes	+	+	-	-	-	
	Leucoanthocyanes	+	+	-	-	-	
	Tannins	Catéchiques	+	+	-	-	+
		Galliques	+	-	-	-	-
	Coumarines	+	-	-	-	+	
Alcaloïdes		+	+	+	+	+	
Terpénoïdes	Triterpènes et stérols	+	+	+	+	+	
	saponosides	+	+	-	-	-	



La partie la plus riche en métabolites secondaires était les grains, alors que les tiges sont les plus pauvres. Les composés les plus caractéristiques dans la plante sont les alcaloïdes et les triterpènes et stérols, ils sont présents dans toutes les parties.

Les grains et les fleurs sont riches en composés phénoliques. Nous notons des tests franchement positifs pour les tannins et les leucoanthocyanes dans ces parties. Les saponosides y étaient présents aussi. Pour les indices de mousse : concernant les grains la distance de 1cm a été relevée pour le 7^{ème} tube soit un indice de mousse égal à 142,85. En ce qui concerne les fleurs la distance de 1cm a été relevée pour le 8^{ème} tube soit un indice de mousse égal à 125. Dans les grains et les racines, la présence des coumarines a été constatée.

III- Extractions au Soxhlet :

III. 1 - Extraits aqueux pour l'activité hypoglycémiant :

Rendement des deux premiers extraits:

Rendement : 7.47%.

Apparence : solide marron.

3^{ème} extrait :

Tableau (4) : Rendement d'extractions liquide – liquide de l'extrait à l'eau des racines.

	Extrait hexanique	Extrait chloroformique	Résidu	Extrait méthanolique	Résidu final
Masse (g)	0.06	0.10	1.90	1.28	0.67
Rendement	0.17 %	0.28%	5.28%	3.55%	1.86%
aspect	Solide jaune	Pâteux, marron	Solide marron	Pâteux, marron	Solide marron

Résultats de la chromatographie sur colonne et la CCM :

On a recueilli 15 fractions, la masse de chaque fraction est donnée dans le tableau 5.

Tableau (5) : Fractions obtenues.

Fraction	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈
Masse (g)	0.01	0.01	0.03	0.05	0.11	0.05	0.06	0.10
Nbre de tâches	1	1	2	2	2	2	3	1
Rf	0.97	0.93	0.89 0.85	0.91 0.85	0.85 0.79	0.87 0.74	0.78 0.74	0.74

F ₉	F ₁₀	F ₁₁	F ₁₂	F ₁₃	F ₁₄	F ₁₅
0.07	0.19	0.07	0.14	0.09	0.16	0.06
2	2	1	2	3	2	2
0.74	0.71	0.65	0.61	0.57	0.45	0.29
0.69	0.67		0.56	0.45	0.29	0.13
				0.38		

La huitième fraction semble contenir un composé pur, il est aussi présent en F₇ et F₉.

La masse de l'extrait a été récupérée presque en entier.

III. 2 - Extraction dans des solvants à polarité croissante :

Tableau (6) : Masse, rendements des extractions dans les solvants à polarités croissantes :

Extrait	Aspect	Masse (g)	Rendement (%)
AM1G	Solide jaune	0.53	2.87%
AM2G	Solide vert	0.1	0.54%
AM3GA	Pâte marron	0.75	4.06%
AM3GB	Solide marron	0.15	0.81%
AM4G	Solide marron	0.63	3.41%
AM1F1	Solide jaune- verdâtre	0.62	3.44%
AM2F1	Solide vert	0.16	0.89%
AM3F1A	Pate verte	2.90	16.11%
AM3F1B	Solide jaune	0.24	1.33%
AM4F1	Solide marron	0.69	3.83%
AM1FA	Solide vert foncé	0.58	3.21%
AM1FB	Solide vert clair	0.08	0.44%
AM2F	Solide vert	0.23	1.27%
AM3F	Pâteux, vert	0.85	4.71%
AM4F	Solide marron	0.55	3.04%
AM1T	Solide jaune verdâtre	0.14	0.76%
AM2T	Solide marron	0.08	0.43%
AM3T	Pâteux marron	0.91	4.94%
AM4T	Solide marron	0.95	5.16%
AM1R	Solide jaune	0.59	3.27 %
AM2R	Solide marron	0.13	0.72 %
AM3R	Pâteux marron	1.35	7.5 %
AM4R	Solide marron	0.68	3.77%

Abréviations : AM : *Ampelodesmos mauritanicus* ; G : Grains ; F1 : Fleurs ; F : Feuilles ; T : Tiges ; R : Racines.

Indices : 1 = extrait hexanique ; 2 = extrait dichlorométhanique ; 3 = extrait méthanolique ; 4 = extrait aqueux ; A : partie soluble dans le solvant d'extraction ; B : partie non soluble dans le solvant d'extraction (ou précipité).

On a constaté la formation de trois précipités. Dans les deux extraits méthanolique des grains et des fleurs, et dans l'extrait hexanique des feuilles. Le rendement des extractions était indépendant de la polarité du solvant. Ils étaient compris entre 0.44 % et 16.11%.

IV- les huiles essentielles :

IV. 1- Rendements : feuilles : 0.06% ; fleurs : 0.04%

Les parties aériennes de la plante ne sont pas très riches en huiles essentielles.

IV. 2- Identification des huiles essentielles des feuilles :

On a recensé la présence de 38 composés dans l'huile essentielle des feuilles.

91,03% de la composition de l'huile a été élucidée, ce pourcentage correspond à deux composés.

L'analyse a montré la prédominance d'un composé avec un pourcentage de 89,68%, c'est le Di-n-octyl phthalate ($C_{24}H_{38}O_4$).

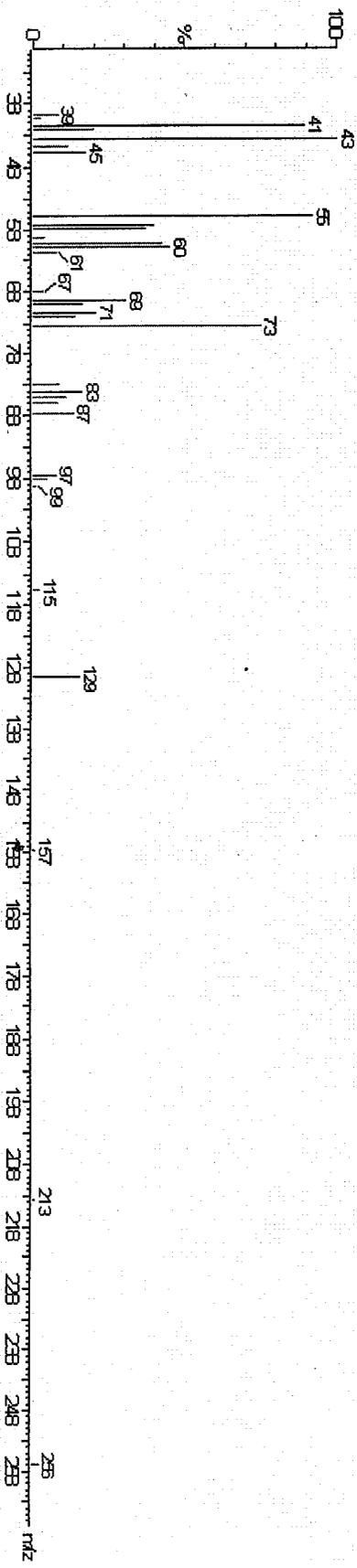
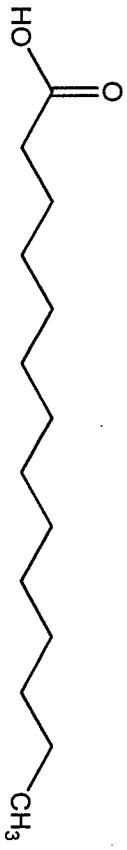
Le deuxième composé est l'acide hexadécanoïque (acide palmitique) son pourcentage est de 1.35%.

Tableau (7) : Résultats

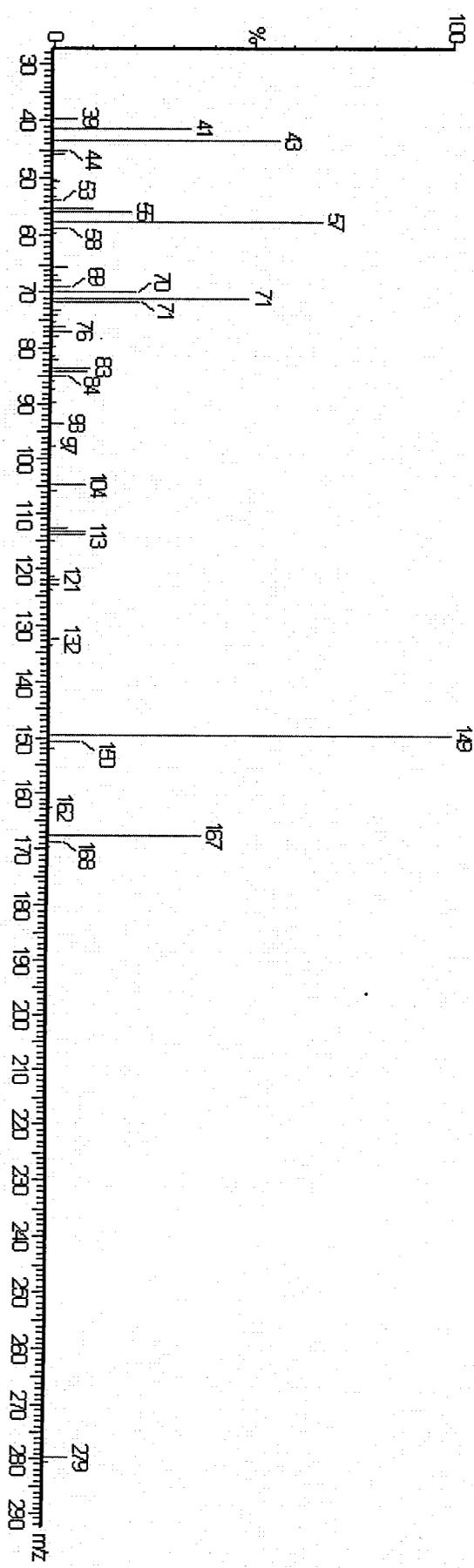
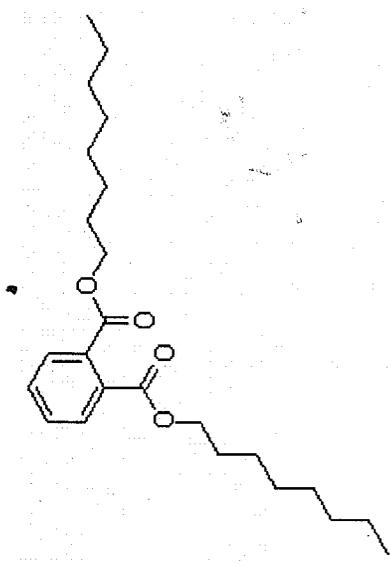
numéro	tr	Aire	pourcentage	Indice de rétention
1	97,95	11.453.158,64	89,68%	2.519,43
2	70,84	172.018,96	1,35%	1.947,46



- Acide hexadécanoïque :



• Di-n-octyl phthalate :



V. Activités biologiques :

V. 1- Activité antimicrobienne :

Le tableau (8) donne les concentrations des solutions dans l'activité antimicrobienne et les diamètres d'inhibition des extraits et de l'huile essentielle des fleurs. Les différentes concentrations ont été choisies en fonction de la solubilité de l'extrait dans le DMSO.

Tableau (8) : Antibiogramme : diamètre (mm) des zones d'inhibition des différentes souches.

Extrait	Concentration (mg/ml)	P.a	E.coli	S.a
AM1G	70.90	0	0	7
AM2G	13.40	19	0	0
AM3GA	162.95	0	10	13
AM3GB	1.2	6	6	6
AM4G	2.75	0	0	0
AM1FI	45.10	12	8	6
AM2FI	12.80	23	6	6
AM3FIA	49.58	12	21	18
AM3FIB	8.3	12	10	6
AM4FI	3.45	6	6	6
AM1FA	90.00	0	0	0
AM1FB	4.5	6	8.5	6
AM2G	11.30	14	0	7
AM3F	103.70	0	0	7
AM4F	3.15	0	0	0
AM1T	29.90	0	0	8
AM2T	19.50	12	0	0
AM3T	120.15	0	0	8
AM4T	3.00	0	0	0
AM1R	38.80	0	0	13
AM2R	9.70	10	0	7
AM3R	246.75	0	0	7
AM4R	4.05	0	0	0
AMHE	0.04	15	6	6
GT	100 µg /disque	n.d	38	37
AMX	25 µg /disque	n.d	0	29

n.d : non déterminé.

Les résultats les plus significatifs sont représentés sur des histogrammes 1, 2 et 3.

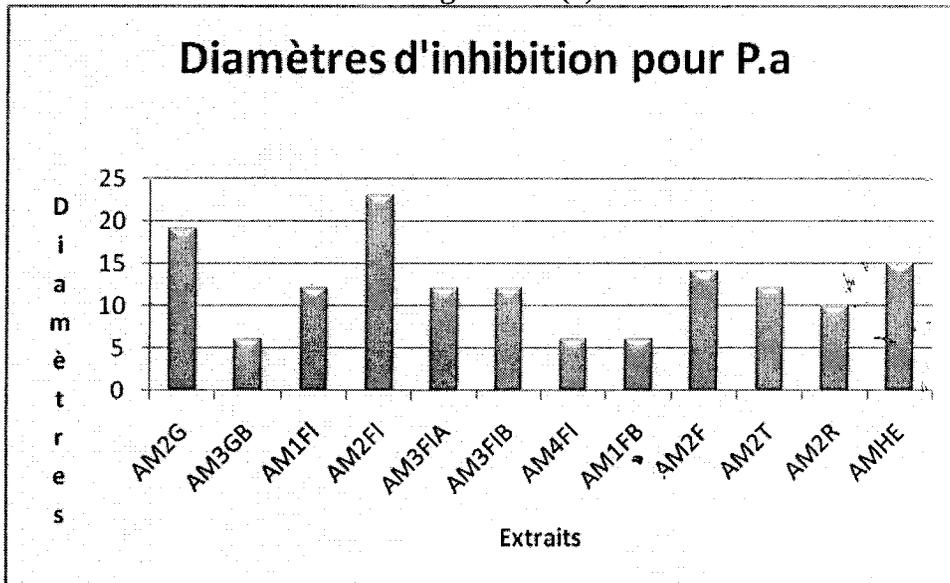
De bons résultats ont été obtenus avec *Pseudomonas aeruginosa* où l'extrait dichlorométhanique des fleurs a donné un diamètre d'inhibition de 23mm. La bactérie a été sensible aux extraits dichlorométhaniques des grains (avec un diamètre de 19 mm) et des feuilles (avec un diamètre de 14mm), ainsi qu'à l'huile essentielle des fleurs avec un diamètre de 15mm.



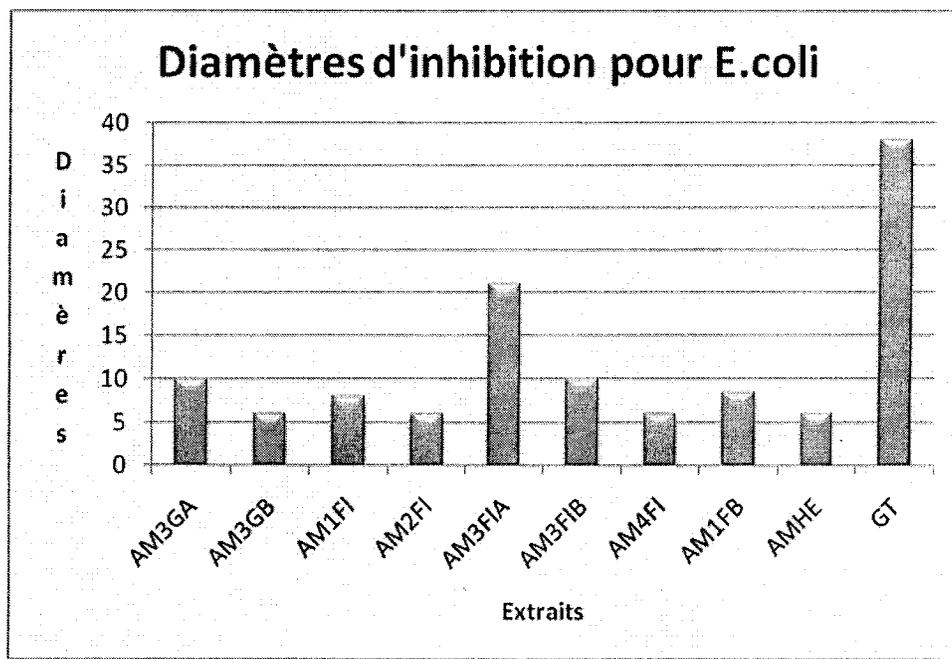
Escherichia coli a aussi été sensible à la partie soluble de l'extrait méthanolique des fleurs avec un diamètre de 21mm (bonne activité). Les autres activités étaient insignifiantes, avec des diamètres inférieurs ou égaux à 10mm.

Les extraits ont montré des activités modérées à moyennes vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Cette bactérie a aussi été sensible à la partie soluble de l'extrait méthanolique des fleurs avec un diamètre moindre qui est de 18mm. Une activité modérée avec un diamètre de 13mm a été constatée pour la partie soluble de l'extrait méthanolique des grains et aussi pour l'extrait hexanique des racines.

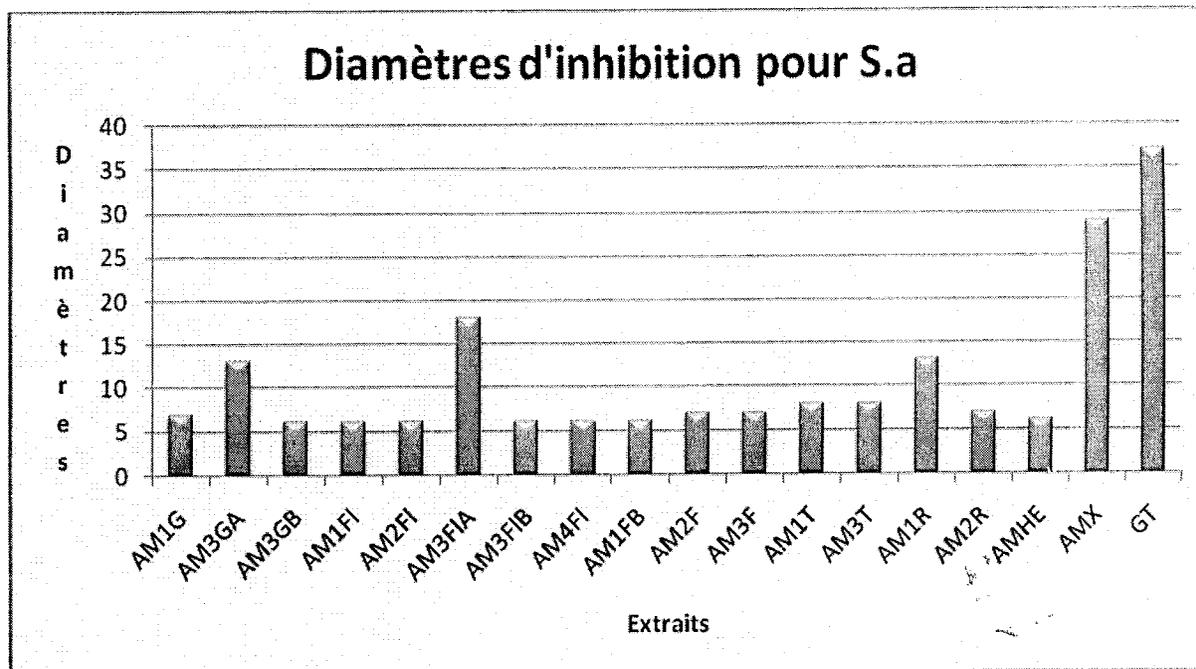
Histogramme (1)



Histogramme (2)



Histogramme (3)

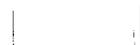


V. 2- Activité antioxydante :

Les activités antioxydantes des extraits et de l'huile essentielle étaient plutôt variables, sauf pour l'extrait aqueux des feuilles AM4F où l'activité était modérée (tableau 9) (histogramme 4).

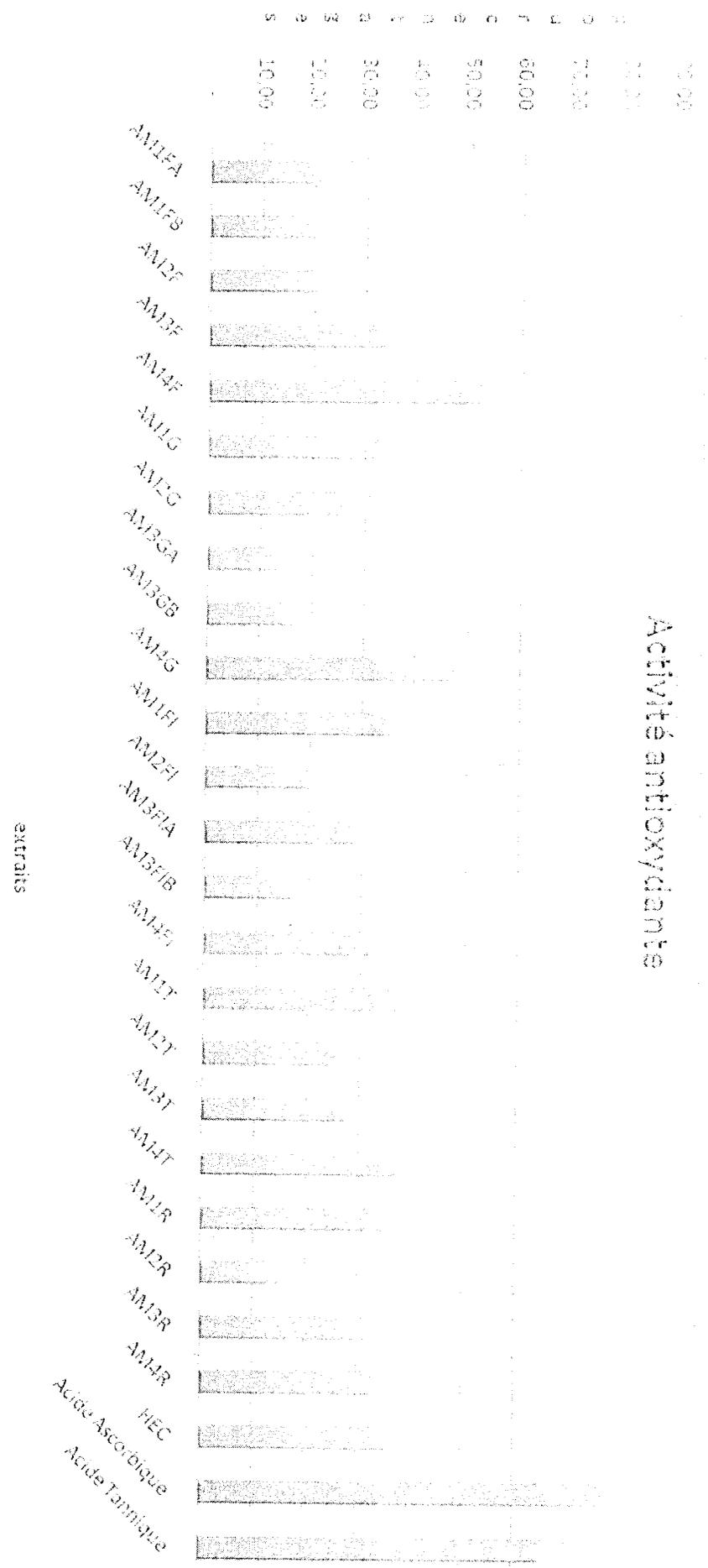
Tableau (9): Pourcentage de DPPH réduit.

Extraits	% DPPH réduit (%)
AM1G	33.37
AM2G	31.77
AM3G _A	13.36
AM3G _B	16.91
AM4G	47.29
AM1F1	35.91
AM2F1	20.86
AM3F1A	28.60
AM3F1B	18.24
AM4F1	31.53
AM1F _A	27.39
AM1F _B	21.08
AM2F	20.91
AM3F	34.61
AM4F	31.97
AM1T	37.61
AM2T	27.33
AM3T	28.04
AM4T	38.16
AM1R	36.96
AM2R	15.49
AM3R	31.39
AM4R	32.68
HEC	36.94
Acide Ascorbique	79.06
Acide Tannique	69.84



11/01/2010 10:00:00

Activité antioxydante



extraits



Conclusion générale



Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de l'Ouest Africain, nous sommes intéressés à l'étude d'une Poaceae *Ampelodesmos mauritanicus* (Lam.) L. Dur. & Schinz. C'est une plante utilisée en médecine traditionnelle pour ses activités hypoglycémiantes.

Ce travail se place dans une problématique de recherche pluridisciplinaire utilisant des techniques caractéristiques de la chimie organique, de la chimie analytique et aussi de la biologie.

On retiendra premièrement la présence de familles de composés chimiques dans les différentes parties de la plante notamment les alcaloïdes et les terpénoïdes.

La chromatographie sur colonne effectuée a conduit à l'isolation d'une fraction qui semble être un composé pur.

Nous avons aussi procédé à l'extraction par hydrodistillation, de l'huile essentielle des feuilles d'*Ampelodesmos mauritanicus*, l'identification de sa composition était faite en se basant sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et sur les données de la littérature. Il s'est révélé que l'huile essentielle contient un composé dont le pourcentage est de 39,2%.

Par ailleurs l'activité hypoglycémiant n'a pas pu être testée. L'étude de l'effet antimicrobien a montré une bonne activité de certains extraits. Quant au pouvoir antioxydant il était négligeable sauf pour un seul extrait.

En définitive, ce travail s'il fixe des résultats certains, il ouvre aussi des perspectives et des pistes de recherche telles que :

- La vérification de l'activité hypoglycémiant des racines d'*Ampelodesmos mauritanicus* : si cette activité est confirmée, on pourra tenter d'isoler le principe actif.
- L'analyse de la fraction obtenue par chromatographie sur colonne et vérification de sa pureté.
- L'étude de l'activité antimicrobienne sur d'autres bactéries et aussi l'activité antifongique des différents extraits.
- L'étude de l'effet de la concentration sur le pourcentage de DPPH réduit (activité antioxydante).