

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR- ANNABA UNIVERSITY  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –ANNABA



جامعة باجي مختار – عنابة -

FACULTE DES SCIENCES

Année 2007

DEPARTEMENT DE CHIMIE

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER

Option

*Synthèse Organique et Biocatalyse*

*Etude Ethnobotanique et Chimique d'une  
Plante Médicinale Xanthium strumarium*

Par :

Abdeslem BEKKOUCHE

Devant Le Jury :

<b>PRESIDENT :</b>	<b>Abbes BOUKHARI</b>	<b>M.C</b>	<b>U. ANNABA</b>
<b>EXAMINATEUR:</b>	<b>Messaoud LIACHA</b>	<b>Pr</b>	<b>U. ANNABA</b>
<b>EXAMINATEUR:</b>	<b>Abdelouaheb DJILANI</b>	<b>M.C</b>	<b>U. ANNABA</b>
<b>EXAMINATEUR:</b>	<b>Mohamed Redah OUAHRANI</b>	<b>M.C</b>	<b>U. OUARGLA</b>
<b>RAPPORTEUR:</b>	<b>Belgacem LEGSEIR</b>	<b>Pr</b>	<b>U. ANNABA</b>

# REMERCIEMENT

J'exprime mes remerciement à Monsieur le professeur **Belgacem Legseir**, mon directeur de mémoire pour m'avoir dirigé orienté durant la préparation de ce travail.

Je présente mes remerciements du profond de mon cœur à Monsieur le docteur **Abdelouaheb Djilani** pour ses encouragements et les bons conseils qu'il m'a témoigné tout au long de ce travail.

Je suis très honorée que **Mr: Abbes Boukhari**, Maitre de conférence à l'université d'Annaba, ait accepté de présider ce jury.

Tant qu'on peut je remercie et chaleureusement **Mr: Messaoud Liacha**, Professeur à l'université d'Annaba qui m'a fait l'honneur d'accepter examiner ce mémoire.

J'exprime mes gratitudes respectueuses à Mr: **Abdelouaheb. Djilani** qui a accepté de faire partie de mon jury.

Je remercie très chaleureusement Mr: **Mohamed Redah Ouahrani** Maitre de conférence à l'université de Ouargla d'avoir accepter d'examiner ce mémoire

J'exprime mes remerciements les plus sincères à M. **Ahcen, Lahcen, Mouloud, Brahim, Hocine, Youcef**, pour leurs encouragements et leurs aides pendant la préparation de ce mémoire.

Merci infiniment à tous mes amis ainsi que mes collègues

# RESUME

Dans cette recherche nous nous sommes intéressés à la valorisation chimique d'une plante médicinale *Xanthium strumarium* afin de déterminer son métabolite secondaire, l'étude chimique des extraits de cette plante a montré qu'elle est riche en composés phénoliques.

L'étude chromatographique de l'extrait chloroformique des feuilles et de l'extrait de n-butanol des graines nous a permis d'isoler respectivement un sesquiterpène lactonique et le **7- Hydroxy -4,8 dihydrobenzol [1,4]thiazine-3,5-dione-(2-O-caffeoyl)-β-D-glycopyranoside**.

L'identification des produits isolés est assurée par les méthodes d'analyse spectroscopique: IR, GC-MS et RMN<sup>1</sup> H, et par comparaison avec les données rapportées dans la littérature.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle extraite des feuilles montre que cette huile contient 11 composés.

Le test antibactérien de différents extraits des différentes parties de la plante *Xanthium strumarium* a révélé une activité antibactérienne prononcée excepté les tiges qui sont avérées inactives.

# Summary

In this study we are interested in the chemical valorisation of medicinal plant *Xanthium strumarium* in order to determine its secondary metabolite.

The chemistry study of plant extracts has shown that this plant is rich in phenolic compounds.

Two compounds which were isolated from leaf chloroformic extract and seed n-butanoic extract are identified, they respectively: sesquiterpene lactone and **7-Hydroxy-4,8-dihydrobenzo[1,4]thiazine-3,5-dione-(2-O-caffeoyl)- $\beta$ -D-glycopyranoside**.

The identification of isolated products is carried out with spectroscopic analysis methods IR, GCMS and RMN<sup>1</sup>H, and with comparison with data information.

Analysis of essential oil obtained from leaves by CG gives 11 compounds.

The antibacterial test of various extracts of different *Xanthium strumarium* parts has shown a positive activity except stems.

# المخلص

من خلال دراستنا لهذا الموضوع ركزنا اهتمامنا على تثمين نبتة طبية Xanthium Strumarium كيميائيا, بهدف تحديد أبيضها الثانوي حيث أن الدراسة الكيميائية لهذه النبتة أظهرت أن هذه الأخيرة غنية بالمركبات الفينولية .

كما سمحت لنا الدراسة الكروماتوغرافية على المستخلصات الكلوروفورمية لأوراق النبتة و مستخلصات الهيبتنول للبذور بعزل مركب sesquiterpène lactonique و ال:

7- Hydroxy-4,8 dihydrobenzol [1,4]thiazine-3,5-dione-(2-O-caffeoyl)-β-D-glycopyranoside.

علما أن المركبات المتحصل عليها تم تحديد صيغها بواسطة الطرق الطيفية: تحت الحمراء, طيف الكتلة للكروماتوغرافيا الغازية, طيف الرنين المغناطيسي للبروتون, إضافة إلى مقارنتها مع النتائج و المعلومات الواردة في الأبحاث العلمية السابقة

تحليل الزيت الأساسي المستخلص من الأوراق بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية اظهر 11 مركب. الاختبار الحيوي المضاد للبكتيريا للمستخلصات المدروسة لمختلف أقسام النبتة كشفت فعالية موجبة ما عدا الأغصان التي بدت غير فعالة حيويا .



# SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	01
Références	02
<b>Chapitre I : ETUDE ETHNO BOTANIQUE ET PHYTOCHIMIQUE DU GENRE XANTHIUM</b>	
1- La famille des astéracées :	04
1-1. Présentation	04
1-2. Intérêt commercial et pharmacologique	04
2 – Le genre xanthium et l'espèce xanthium strumarium L	04
2–1. Description du genre xanthium	04
2-2. Répartition géographique de l'espèce appartenant au genre	05
2-3. Propriétés pharmacologique des xanthium	05
2-4. Chimie des Xanthium	06
3- Etude Ethnobotanique de la plante xanthium strumarium	07
3-1-Nom de la plante	07
3-2. Description de la plante	07
3-3. Situation botanique de l'espèce xanthium strumarium	10
3-4. Origine	10
3-5. Histoire naturelle	10
3-6. Principe actif et emploi	11
3-7. Utilisation en médecine traditionnelle	11
3-8. Travaux chimique antérieurs portant sur l'espèce xanthium strumarium	12
3-9. Toxicité de la plante	15
3-9-1. Toxicité chez l'animal	15
3-9-2. Toxicité chez l'homme	16
3-9-3. Partie toxique de la plante	16
3-9-4-Principe actifs responsables de la toxicité	16
Références bibliographiques	17
<b>CHAPITRE II : LES FLAVONOIDES ET LES HUILES ESSENTIELLES</b>	
I -Les Flavonoides	21
I-1-Structure des flavonoides	21
1-2-les différents classes des flavonoides	21
1-3-Biosynthèse des flavonoïdes	24
1-4-La Synthèse des flavonoïde	26
1-5-Les principaux substituants de squelette flavonique	27
1-5-1-L'hydroxylation	27
1-5-2-La Méthylation	28
a-la O-méthylation	28
b-La C-méthylation	28

<b>1-5-3-La glycosylation</b>	28
a-La C-glycosylation	29
b-La O glycosylation	29
<b>1-6-Les méthodes de purification et de séparation</b>	29
1-6-1-La chromatographie liquide sur colonne	30
1-6-2-La chromatographie préparative sur papier	30
1-6-3-La chromatographie préparative sur couche mince	30
<b>1-7-Les méthodes d'analyse des flavonoïdes</b>	30
1-7-1-Fluorescence sous lumière UV	30
1-7-2-Le Rf (Retardation factor)	31
1-7-3-Spectrophotométrie UV-visible	31
a- <u>Addition de NaOH</u>	32
b- <u>Addition de NaOAc</u>	32
c- <u>Addition de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>+ NaOAc</u>	32
d- <u>Addition de AlCl<sub>3</sub>+HCl</u>	33
<b>1-7-4--RMN1H et spectrométrie de masse</b>	34
<b>1-8-Intérêts biologique et médicinale des flavonoides</b>	35
<b>Références bibliographiques</b>	37
<b>II- Les huiles essentielles</b>	40
<b>II-1- Définition</b>	40
<b>II-2- Répartition botanique</b>	40
<b>II-3-Localisation</b>	40
<b>II-4-Teneur</b>	40
<b>II-5- fonctions</b>	40
<b>II-6- PROPRIETES PHYSIQUES</b>	41
<b>II-7- COMPOSITION CHIMIQUE</b>	41
<b>II-7-1. composés terpéniques</b>	41
<b>II-7-2. composés aromatiques dérivées du phénylpropane</b>	41
<b>II-8- LE CHEMOTYPE (familles biochimiques)</b>	43
<b>II-9-Propriétés physiologique</b>	45
<b>II-9-1-La propriété antiseptique</b>	45
<b>II-9-2-La propriété de défloculation</b>	45
<b>II-9-3-La propriété de diurèse</b>	45
<b>II-10- L'EXTRACTION</b>	45
<b>II-10-1-Entraînement à la vapeur d'eau</b>	46
Hydrodistillation	46
<b>II-10-2- Expression à froid</b>	46
<b>II-10-3-Extraction au CO<sub>2</sub> «extraction par des gaz supercritiques »</b>	46
<b>II-10-4-En fleurage</b>	46
<b>II-11- Emploi des huiles essentielles</b>	48
<b>II-11-1. En pharmacie</b>	48
<b>II-11-2-Dans l'industrie</b>	48
<b>II-12-quelques domaine d'application des huiles essentielles</b>	49
<b>II-13- ATTENTION AUX HUILES ESSENTIELLES</b>	49
<b>Bibliographie</b>	50

## CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

<b>I-MATERIEL ET METHODES</b>	52
<b>I-1-Matériel végétal</b>	52
<b>I-2-Tests préliminaires de la composition chimique</b>	52
<b>a- Alcaloïdes</b>	52
<b>b- Flavonoides</b>	52
<b>c- Tanins</b>	52
<b>d- Saponosides</b>	53
<b>e - Cardénolides cardiotoniques</b>	53
<b>f- Stérols et terpènes</b>	53
<b>I-3-Méthode d'extraction</b>	54
<b>I-4-Séparation chromatographique et Identification de produit isolé</b>	57
<b>I-4-1-Séparation chromatographique de l'extrait chloroforme du feuille</b>	57
<b>I-4-1-1- Chromatographie sur colonne</b>	57
<b>I-4-1-2-Identification de produit isolé</b>	59
<b>a- <i>produit A</i></b>	59
<b>I-4-2- Identification de composés isolés de l'extrait n-Butanol du graines du <i>xanthium strumarium</i></b>	61
<b>I-4-3- Extraction des huiles essentielles de la plante</b>	64
<b>I-4-3-1- L'HYDRODISTILLATION</b>	64
<b>I-4-3-1-2- Méthode d'analyse</b>	64
<b>II- GENERALITES SUR LES BACTERIES</b>	65
<b>III-Test antibactériens des extraits : éther de pétrole, chloroforme, éthanol des tiges, du <i>Xanthium strumarium</i></b>	67
<b>IV- Test antibactérienne de l'extrait chloroformique des feuilles et n-butanol des graines du <i>Xanthium strumarium</i></b>	71
<b>V- Conclusion générale</b>	72
<b>Références bibliographiques</b>	73

## Les abréviations

NS : Nouvelle-écosse

PE : Ile de prince edouard

NB : Nouveau Brunswick

QC : Québec

ON : Ontario

MB : Manitoba

SK : Saskatchewan

AB : Alberta

BC : Colombie Brutanique

CHCl<sub>3</sub> : Chloroforme

AcOET : Acétate d'éthyle

n-Bu : n-Butanol

ED : éther diéthylique

IR : Infra rouge

RMN : Résonance magnétique nucléaire

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse

UV : Ultra Violet

GC : Chromatographie en phase gazeuse

*E.Coli* : *Escherichia coli*

*Staph ep* : *Staphylococcus epidermidus*

*Strept* : *Streptocoque*

*Ps.a* : *Pseudomonase aeriginosa*

## INTRODUCTION

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on trouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles.

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement des principes actifs datant du XIX<sup>ème</sup> siècle, en améliorant la connaissance des structures, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type.

Les hommes préhistorique utilisaient déjà les propriétés de quelque composés a base de plante, les égyptiens, les romains, et les phéniciens employaient un certain nombre de colorant : l'indigo, l'alizarine et le légendaire rouge de thyr. les deux premiers étaient extraits des plantes, et le troisième était obtenu en très faible quantité à partir d'un coquillage d'une espèce peu répandue[1].

Le genre *xanthium* de la famille des astéracées comprend des espèces très toxiques parmi les quelles figure *Xanthium strumarium*. Cette plante qui préfère les régions vasières et les champs agricoles, elle pousse abondement en Algérie dans les régions côtières.

D'après la littérature, l'investigation de la plante en question a permis d'identifier, entre autres, un glycoside appelé carboxyatractylosides qui constitue le poison principal de cette espèce [2].

Ces données bibliographiques et la particularité de cette plante ainsi que sa disponibilité nous ont encouragé à entreprendre ce travail qui se divise en trois parties principales :

- Une étude bibliographique sur la plante: (description botanique, aire géographique, écologie et biologie, répercussion économique, principe actifs et emplois...).
- Une étude bibliographique sur les flavonoides (structure, classification, et intérêt biologique et médicinal des flavonoides), et les huiles essentielles.

- Une étude phytochimique de l'espèce *Xanthium strumarium* : Extraction des flavonoïdes, séparation, purification et détermination structurale, obtention des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau (appareil de Clavenger), et test antimicrobien de l'extrait (éther de pétrole, chloroforme, éthanol) des tiges, et l'extrait chloroformique des feuilles et n-butanol des graines.

**Référence:**

[1]- Allinger. Chimie organique: structure des molécules: édition universitaire 1984. Page.7.

[2]- <http://www.biologie-univ-humberg.de/b-online/dict/deungef.htm>

# **CHAPITRE I**

## **ETUDE ETHNOBOTANIQUE**

**ET**

## **PHYTOCHIMIQUE**

## **DU GENRE XANTHIUM**

## **1- La famille des astéracées :**

### **1-1. Présentation :**

Les asteracées (famille des composés), répartition cosmopolite est la plus importante des angiospermes, la plus distribuées, et la plus large, elle contient environ 13 tribus [1], 1600 genres et 25000 espèces [2].

En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces [3].

Une des propriétés typique de la famille des composés et sa richesse, en composés naturels divers, on y trouve en effet, des terpénoïdes divers, des flavones, des flavonols et des alcaloïdes [4].

Dés 1964, Hagnaur démontra que l'étude taxonomique de cette famille est basée sur ses caractères phytochimiques [5].

Une étude faite sur des espèces de cette famille a montré qu'elle est largement utilisée en médecine traditionnelle et phytothérapie [6].

### **1-2. Intérêt commercial et pharmacologique :**

Si plusieurs molécules isolées ses dernières années de divers astéracées montrent des potentialités pharmacologique intéressantes, deux seulement sont actuellement produites industriellement, l'artémisinine (quighason) et la silymarine. L'artémisimine, extraite de *Artémisia annua* L, est une lactone sesquiterpénique employée, ainsi que ses dérivés hémisynthétique dans le traitement de certaines forme de paludisme [7].

Autre asteracées sont utilisées par l'industrie pharmaceutique pour l'obtention de forme galénique simple ( arnica, artichauts, piloselle, etc...)

## **2 – Le genre xanthium et l'espèce *Xanthium strumarium* :**

### **2-1. Description du genre *Xanthium* :**

Plantes annuelles herbacées, feuilles pétiolées, alternes, entièrement lobées ou dentées ,axillaires. Capitules petits solitaires ou glomérulés, les mâles situés à l'extrémités des branches, fleurs verdâtres capitules monoïques, homogames et discoïdes.

Capitules femelles biflore à involucre formé de bractées couronne, fermé ou presque, couvert d'aiguillons généralement crochu, à fleurs sans corolle, à akènes comprimés lisses, situés dans l'involucre persistant et sans aigrette se terminant par deux becs marqués.

Capitules mâles pluri multiflores, à involucres courts dont les bractées sont libres et sur 1-3 rangs, réceptacle paléacé et a fleurs tubuleuses 5-dentés.

## 2-2. Répartition géographique de l'espèce appartenant au genre :

Assez communs dans une grande partie de l'Europe, en Asie occidentale, Afrique du nord, naturalisé en Amérique du nord.

### *Xanthium Strumarium*

*Xanthium strumarium* var *quanadense*

*Xanthium strumarium* var *glabafum*

Lampourde glouteron, glouteron, gratia, lampourde cocklebur, heartleaf cocklebur, rough cocklebur, common cocklebur (US)

Repartitions: NS PE NB QC ON MB SK AB BC

Indigène: annuel, champ, cultivés, rivages, vasières fossés et terrains perturbés, toxique pour le bétail.

### *Xanthium Spinosum L*

Lampourde épineuses, petite bardane

Spiny cocklebur, Bathurst- bur, cocklebur, spiny bur weed

Répartitions : NB ON (SK) BC

Introduit, indigène d'Amérique du sud

Annuel, sols mésique à mouilleuse, champs, cultivés, rivages [8,9,10].

## 2-3. Propriétés pharmacologique des *Xanthium* :

Le genre *Xanthium* est très utilisé en pharmacopée traditionnelle dans de nombreuses régions, et les propriétés pharmacologiques de certaines espèces ont été démontrés dans des études scientifiques.

Les propriétés pharmacologiques pour laquelle contenir ces espèces décrites dans ce tableau.

**Tableaux 1:** Propriétés pharmacologique de quelque espèce appartenant au genre *Xanthium*:

Plante	Propriétés	Référence
<i>Xanthium spinosum</i>	Diurétique, sudorifique, dépuratif	[11]
<i>Xanthium riparium</i>	Anti-inflammatoire	[12]
<i>Xanthium pensylvanicum</i>	Antibactérienne	[13]
<i>Xanthium saccheratum</i>	Anti-diarrhéique	
<i>Xanthium italicum</i>	Anti-fébrifuge	
<i>Xanthium Strumarium/</i>	Hypoglycémique	[14]
	Antitussive	[15]
	Antibactérienne	[16]
	Antifongique	[17]
	Antimalaria	
	Cytotoxique	[13]

#### 2-4. Chimie des *Xanthium*:

Le genre *Xanthium* (famille du composés) est représentée par un nombre d'espèces relativement limitées distribuée presque dans toutes parties du monde.

La chimie de ce genre est caractérisée par la présence énorme du lactone sesquiterpénique [18,19] ,on trouve par exemple:les xanthanolides, xanthatin [20,21], les époxy xanthatin [22],xanthinosin [20,21,22].

L'occurrence de glycoside du certaines espèces de ce genre a été rapporté [23,24], ces composés inhibent une translocation méthocondrie ADP/ATP [25], et produisent des effets néphrotoxiques [26].

Les acides poly phénoliques on trouve: 1,5-di-O-caffeoylquinicacide et 1,3,5-tri-O-caffeoylquinicacide.

Les hétérosides sulfatés et les diterpènes glycosides on trouve : l'atractyloside et carboxy atractyloside.

Les huiles essentielles pour ce genre ne sont pas négligeable et plusieurs espèces contiennent une quantité énorme des huiles essentielles, par exemple l'espèce *Xanthium pungens* contienne une 0,15% de 100g du poids sec dont le limonène est majoritaire de pourcentage de 40,2 [27].

L'espèce *Xanthium strumarium* contient aussi les huiles essentielles dans les feuilles et des huiles fixes sur les graines, concernant l'huile essentielle, les feuilles de la plante contiennent 35% de d-limonène et 25% de d-carveol [28], et que ce huile possède une activité antifongique puissante [17]

### 3- Etude Ethnobotanique de la plante *Xanthium strumarium*:

#### 3-1-Nom de la plante

**A- Nom scientifique:** *Xanthium strumarium* [3]

**B- Nom arabe:**

**B- 1- Nom spontané :** الشاكة

**B- 2- Nom vernaculaire:** (schabita ) شبيطة

**B- 3- Nom commun**

Lampourde, lampourde aux écrouelles, lampourde antiscrofuleux, lampourde glouteron, herbe aux écrouelles, petite bardane, nommés par les anglophones «Rough cocklebur» [29]

**C- Nom latin:** son nom *Xanthium* vient du latin et du grec «Xanthos» ou il désigne déjà le genre, mais aussi la couleur jaune blond faisant référence a ces propriétés tinctoriales qui était surtout autrefois employés pour teindre les cheveux en blond, et son nom commun lampourde vient du latin «Lapa» qui désigne la bardane un nom commun datant du 16<sup>ème</sup> siècle d'origine provençale «Lapardo» en oxidant « lampardo» [29]

#### 3-2. Description de la plante:

Plante herbacée de 0,20 à 1,20 m, à feuilles vertes, triangulaires (10 à 15 cm), dentées, la base peut être en forme de cœur, couvertes de poils rudes, grisâtres en dessous([figure1](#)).

**Inflorescence:** verdâtres de deux sortes : au sommet des tiges capitules globuleuses de fleurs tubuleuses, sur les rameaux latéraux groupes de deux fleurs sans corolle dans un involucre à bractées crochues [31], Les fleurs sont petites, vertes et un peu évidentes ([figure 2](#)), Les plantules possèdent des cotylédones longues et grêles ([figure 3](#)).

**Fruit :** est une capsule ovale, brune est ligneuse, qui est recouverte par des épines, et terminée par deux becs forts et recourbés, chaque capsule renferme normalement deux graines ([figure4](#))

**Racine:** pivotante , solide, et branchue, et quelque peu boisée [29]

**Tiges :** élevées, solides, rigides, ont une odeur forte, beaucoup branchues [29]



**Figure 1:** *Xanthium strumarium*



**Figure 4:** Fruit (capsule) et graine



**Figure 3:** Plantule âgée de 3 semaines



**Figure 2:** Fleurs mâle et femelle

### **Biologie et écologie:**

Les plantules de lampourde gloutron lèvent habituellement en mai ou juin, lorsque la température s'élève à plus de 15°C. la levée peut se poursuivre tout l'été si les conditions d'humidité sont favorables. Les plantes peuvent tolérer des inondations fréquentes et des conditions salines. La floraison est déclenchée par la longueur du jour et commence à la mi-août en Ontario. Les premières capsules sont souvent mûres au début de septembre. De nouvelles fleurs et de nouvelles capsules continuent de se former jusqu'à la première gelée.

Les graines provenant des capsules vertes non encore à maturité continueront de mûrir si les plantes sont coupées et laissées dans le champ. La production des graines est proportionnelle à la taille de la plante et varie de plusieurs centaines à plusieurs milliers par plante. Les capsules épineuses se dispersent en s'accrochant à la fourrure des animaux, aux vêtements et à d'autres matières. Elles sont aussi facilement dispersées par l'eau, car elles contiennent des espaces d'air qui leur permettent de flotter pendant une période allant jusqu'à 30 jours.

Normalement, dans l'année qui suit la levée, une seule des deux graines à l'intérieur de chaque capsule réussit à germer. La seconde graine risque ainsi d'infester à nouveau le champ les années suivantes. Les graines de lampourde gloutron ne survivent généralement pas plus de 5 ans.

La levée des plantules à partir des capsules gisant au sol est faible, étant donné que les épines empêchent un bon contact entre le sol et la graine et font obstacle à l'absorption d'eau. Les plantes lèvent plus facilement lorsque les capsules sont enfouies par le travail du sol ou même simplement pressées dans le sol sous le poids de la machinerie. Les plantules peuvent lever même si les graines sont enfouies jusqu'à 15 cm dans le sol. Les peuplements de lampourde gloutron diminuent en l'absence de travail du sol et lorsque le soya revient tout au plus aux trois ans dans la rotation. [29]

### **Répercussions économiques:**

La lampourde gloutron est considérée comme l'une des mauvaises herbes exerçant la concurrence la plus forte dans le soya. Le seuil de nuisibilité économique de la lampourde gloutron qui lèvent en même temps que la culture est d'environ 3 à 5 plantes par 10 mètres de rang, suivant le coût de l'herbicide et la valeur de la culture. En plus des pertes de rendement directement attribuables à la concurrence, les infestations par la lampourde gloutron réduisent la qualité de la graine de soya du fait de la plus grande quantité de matières étrangères et de la teneur accrue en humidité des graines. Les tiges épaisses et ligneuses ralentissent le travail de la moissonneuse-batteuse et diminuent l'efficacité de la récolte.

La lampourde glouteron exerce une concurrence moins vive dans le maïs que dans le soja, mais peut quand même causer des pertes de rendement importantes.

La lampourde glouteron peut être particulièrement nuisible dans les élevages, d'abord parce que les jeunes plants (et non les plantes adultes) sont toxiques pour les laines des bêtes. La lampourde glouteron est une proche parente de l'herbe à poux. Comme cette dernière, elle peut, après un contact avec le pollen ou les feuilles, provoquer des réactions allergiques chez les personnes sensibles [29].

### 3-3. Situation botanique de l'espèce *Xanthium strumarium* :

L'espèce *Xanthium strumarium* fait partie de la famille des astéracées, sa composition dans cette famille est indiquée dans le tableau 1 qui résume la classification [30].

Règne	→	Végétale
Embranchement	→	Tracheobionata – plantes vasculaires
Superdivision	→	Spermatophyta - plantes à graines
Division	→	Magnoliophyta - plantes fleuries
Classe	→	Magnoliopsida-dicotyledones
Sous Classe	→	Asteridae
Ordre	→	Asterals
Famille	→	Asteraceae
Genre	→	<i>Xanthium</i>
Espèces	→	<i>Xanthium Strumarium</i>

### 3-4. Origine :

Assez commun dans une grande partie de l'Europe, en Asie occidentale, Afrique du nord, naturalisé en Amérique du nord, mais plusieurs espèces sont originaires d'Amérique ou d'Asie [29].

### 3-5. Histoire naturelle :

#### Range :

*Xanthium strumarium* est distribuée mondialement en (5) degrés nord à 33 degrés vers le sud mais est très commun dans les zones modérées [8], c'est une mauvaise herbe qui se trouve en Australie, Inde, Afrique, et l'Amérique mais probablement d'origine Américaine [32,8],

**Habitat :**

*Xanthium strumarium* est souvent trouvée dans les régions ouvertes, régions en particulier inondation, avec bonne humidité du sol [15], mais elle est trouvée dans une large variété d'habitat, elle est fréquente dans les bords de la route, banques ferroviaires [33], et sur les champs agricoles.

*Xanthium strumarium* grandit sur une grande gamme de sols (sables ou argiles lourds) et sols riche en humidité [9].

**3-6. Principe actif et emploi :**

La lampourde peut être nocive pour le bétail quand ses jeunes poussent ses fruits se trouvent mêlés au fourrage [35]. De fait il y existe un hétéroside sulfurés qui n'est autre qu'un carboxy atractyloside – deux carboxyles ou bien d'un seul dans l'atractyloside du chardon à glu, dont on a démontré l'activité hypoglycémiant [36] et la toxicité dix fois plus grande que celle de l'atractyloside [37].

Les feuilles et les akènes sont toxique pour le bétail, contient du xanthostrumatoside, elle était autrefois prescrite pour traiter la scrofule et les dartres.

On a attribué aux acides poly-phénoliques, les manifestations cholérétiques et antibactériennes de la plante [38].

Dans la lampourde on a signalé aussi la présence d'alcaloïde stimulant le centre respiratoire [40] et une activité antileucodermique [40].

Une autre espèce *Xanthium spinosum* L, qui contient des lactones sesquiterpénique étroitement apparentées à la *Xanthium* [41], est utilisée en Argentine pour ses effets diurétiques, sudorifiques, "dépuratifs" [11].

A noter aussi les propriétés anti-inflammatoire de *Xanthium riparium lasche* [12].

Dans la pharmacopée européenne, *Xanthium strumarium* entre dans la composition de médicament broncho-dilatateur prescrit pour traiter certaines maladies respiratoires de l'asthme [29].

Dans la pharmacopée traditionnelle chinoise, *Xanthium fructus* ou *Xanthium sibiricum* est prescrit associé à d'autres plantes pour traiter les douleurs rhumatismales, les céphalées, et les crises de sinusites, en usage externe prescrit pour traiter dermatoses [29].

**3-7. Utilisation en médecine traditionnelle :**

Le genre *Xanthium* constitue un énorme réservoir de molécules naturelles potentiellement actives contre les virus, les bactéries et cellules cancéreuses.

Différente espèce de *Xanthium* sont utilisées en médecine traditionnelle et leur activités a été confirmée dans le traitement de plusieurs affections.

*Xanthium strumarium* a été utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter leucoderme, fièvre, scrofule et cancer [42].

Les investigations biochimiques précédentes ont produit l'isolation des plusieurs composants qui ont des effets biologiques comme anti-cancer et l'activité hypoglycémiant [42,36].

En Chine les fruits du *Xanthium strumarium* sont utilisés en médecine traditionnelle pour traiter sinusites urticaires et l'arthrite [43].

En Cuba la plante *xanthium strumarium* est utilisée avec d'autre plante pour traiter plusieurs maladies, selon la médecine traditionnelle du Cuba par exemple, la mixture herbale du plante [44] :

*Xanthium strumarium* avec *Ocimum tenuiflorum*(PA), *Stachytarpheta jamaicensis*(PA), pour traiter insuffisance rénale.

En Inde la plante *Xanthium strumarium* est spécialement les parties sous terrains (racines) et les feuilles sont utilisées pour traiter le cancer et les tumeurs[45].

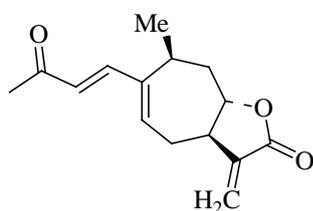
En Népal, les fruits de la plante *Xanthium strumarium* sont utilisés pour traiter conjonctivites [46].

Dans le plan économique on trouve que cette plante a une très grande utilisation par exemple :

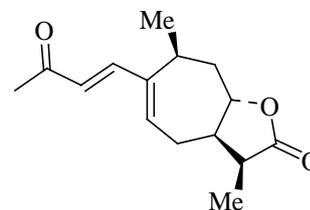
- Les feuilles sont une source de tanins aussi qu'une teinture jaune.
- Les graines ou l'huile de graine utilisée comme combustible de la lampe.

### 3-8. Travaux chimiques antérieurs portant sur l'espèce *Xanthium strumarium* :

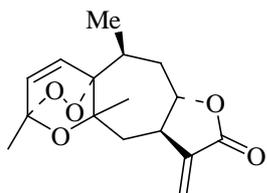
La liste suivante montre quelques principes actifs isolés de l'espèce *Xanthium strumarium*: [21], [22], [23], [47], [48], [49], [50], [51], [52], [53]



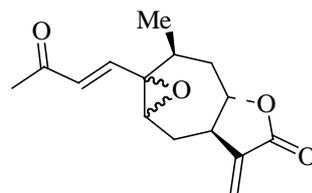
(1) Xanthatin,



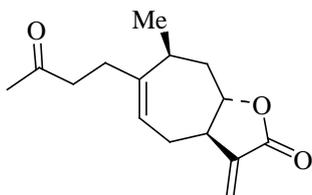
(2) 11 $\alpha$ -13- Dihydroxanthatin



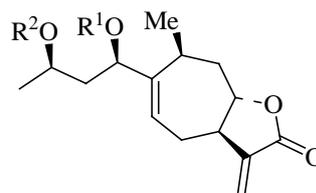
(3) 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoxyxanthatin-1 $\alpha$  4  $\alpha$  ,  
Endoperoxide



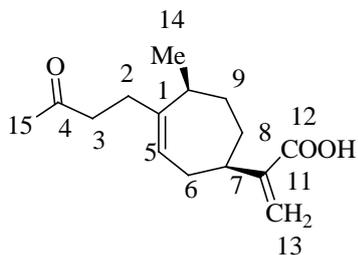
(4) 1  $\alpha$  ,5  $\alpha$  ,-epoxyxanthatin  
(5) 1 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoxyxanthatin



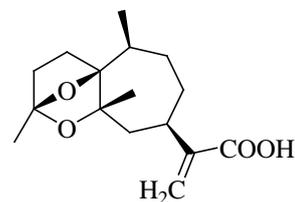
(6) Xanthinosin



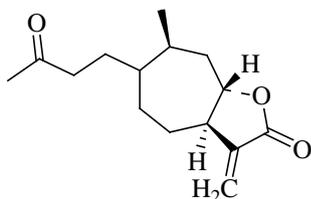
(7) R1=Ac,R2=H :4-epixanthanol  
(8) R1=H, R2=Ac :4-epiisoxanthanol



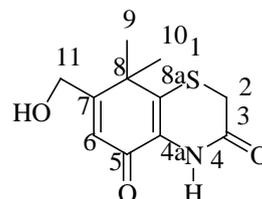
(9) 4- Oxo-bedfordia acide



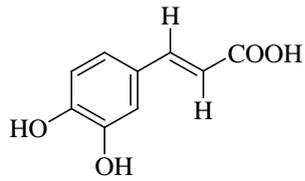
(10) 1 $\beta$ ,4 $\beta$ ,4  $\alpha$  ,5  $\alpha$  ,- diepoxyxanth-11(13) -en-12-oic



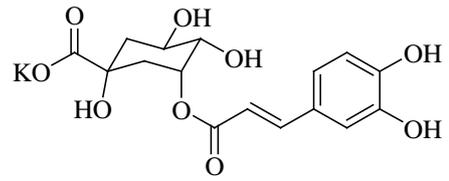
8-epi – Tomentosin  
Thiazine -1,5-dione



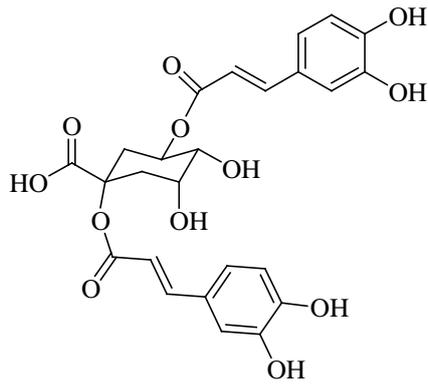
7-Hydroxymethyl – 4,8 Dihydrobenzofuran [1,4]



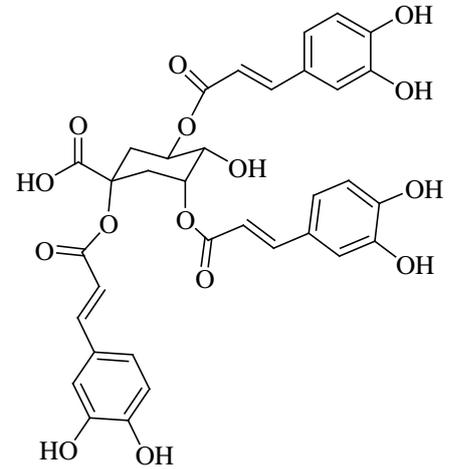
**Acide cafféique**



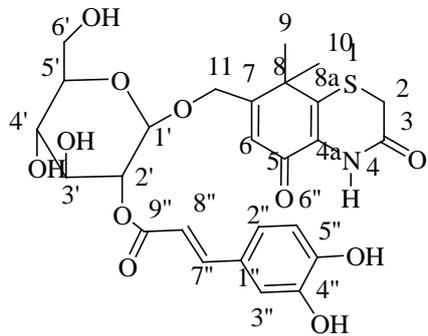
**Potassium 3-O-caffeoylquinic acid**



**1,5-Di-O-caffeoylquinic acid**



**1,3,5-Tri-O-caffeoylquinic acid**



**7-Hydroxymethyl - 8,8-dimethyl - 4,8-dihydrobenzothiazine - 3,5-dione - (2-O-caffeoyl) - beta-D-glucopyranoside**

**Tableaux 2** : composition des acides aminés libres dans le pollen de *Xanthium strumarium* : [54]

Acide aminé	<i>Xanthium strumarium</i>	
	A	B
Amino-n-acide byturic	+	0,080
Arginine	+	0,090
Acide aspartic	+	0,090
Cystine	+	0,080
Acide glutamic	-	0,030
Glycine	-	-
Histidine	-	-
Iso-leucine	-	-
Leucine	-	-
Methionine	+	0,500
Ornithine	-	-
Proline	+	0,240
Trypthofane	+	0,200
Tyrosine	-	-

A=Présence , B=Concentration en  $\mu$  mol/mg de poids séc., +=Présent, -=Absence

### 3-9. Toxicité de la plante :

#### 3-9-1. Toxicité chez l'animal :

Les Lampourdes sont toxique chez les porcs, les moutons ou les vaches, elles ne semblent pas l'être chez les oiseaux [55].

L'intoxication peut survenir après une germination massive des graines, les animaux ingèrent les feuilles cotylédonaire et deviennent faibles et déprimés, ils se couchent et sont incapables de se dresser et après une période convulsive meurent [56].

Des intoxications du même type ont été observés, en Argentine, aussi bien qu'au Brésil, avec une *Xanthium "cavanillesii"* dont le statut spécifique est incertain [57,58], on connaît également des cas d'intoxication par du foie contaminé par les fruits.

### **3-9-2. Toxicité chez l'homme :**

Cette plante peut produire le dermite du contact allergique dans les êtres humains [59] .

### **3-9-3. Partie toxique de la plante :**

Les parties de la plante concernée par la toxicité sont les graines, les feuilles, , et les cotylédones [60].

### **3-9-4-Principes actifs responsable de la toxicité**

La toxicité de la plante est dû généralement aux glycoside et le principe actif responsable de la toxicité est le carboxyatractylosides qui se trouve dans les graines et les cotylédones de la plante.

## Références bibliographiques:

- [1]-Engler,A.Syllabus der P Flanzenfamilien,II,**1964**,488-497.
- [2]-Peter,S. ,Marshell,J. B. ,Harborne,and Graham,S. ,Phytochemistry,**1987**,**26**,2493-2494.
- [3]-Quezel,P and Santa, S Nouvelle flore d'algerie et des régions désertique et méridionales,Tome II,**1963**,Edition CNRS,Paris.
- [4]- Harborne,J. B. and Swain,T. ,Perspective in Phytochemistry, **1963** Academic press London,New york.
- [5]- Hegnauer, R. ,Chemotaxonomie der pflanzen,vol III ,Birkhauser,Basel,**1964**.
- [6]- Jahodar, L. ,Klekakova,J. ,Journal of chemistry,**1999**,**93**,320-326.
- [7]- Van Agtmael,M. A. ,Eggelte, T. A. et Van Boxtel, C.T Artemisinin Drugs in the treatment of malaria : from medicinal herb to registered medication, trends pharmacol. Sci **1999**,**20**,199-205.
- [8]-Love, D. and P. Dansereau.. Biosystematic studies on *Xanthium*: taxonomic appraisal and ecological status. Candian J. Botany, **1959** **37**:173-208.
- [9]-Holm, L. G., P. Donald, J. V. Pancho, and J. P. Herberger. **1977**. The World's Worst Weeds: Distribution and Biology. The University Press of Hawaii, Honolulu, Hawaii. 609
- [10]-Weaver, S. E. and M. J. Lechowicz.. The biology of Canadian weeds. 56. *Xanthium strumarium* L. Canadian J. Plant Science,**1983**, **63** : 211-225.  
<http://res2.agr.gc.ca/ecorc/weeds/form96-f.htm>.  
Accéder le 18/11/2005.
- [11]-Amorin (J.L.)-Rev, Fac. Agron. univ. nacion. La plata, **1972**, **48**, 155-159
- [12]- Salo (D.P.) Pashchenko (M.M.), Pivnenko (G.P.), Matvienko (I.N.) et Avdonin(A. D. ).- Farm.Zh., **1973**, **28**, 68-70
- [13]- Roussakis, C. *et al.* Planta Med. **1994** **60**, 473.
- [14]- Shong, Z.Y. *et al.* Yaoxue Xuebao**1962**, **9**, 678.
- [15]- Wang, S.X. *et al.* Zhongcaoyao **1983** **14**, 1.
- [16]- Wang, Y.S. *et al.* Zhongyao Yaoli Yu Yingyong , **1983**, 509.
- [17]- Badam, L. *et al.* Ind. J, Med. Res. **1988** **87**, 379.
- [18]- Seaman, F.C. *Bot.Rev*, **1982** **48**, 121.
- [19]-Abdei –Mogib,M.Dawidar,A.M., Metwally,M.A. et Abou – EL zaheb,M. *Phytochemistry*,**1991** **30**, 3461.
- [20]- Marco,J. A., Sanz-Cerva, J. F. , Corral, J. ,Carda, M. ,Jakupovic, J. *Phytochemistry* **1993** **34**,1569-1576.
- [21]- Duel, P. G., Geissman T. A J. Am. Chem.. Sol . **1959**, **79** ,3778-3783.

- [22]- Omar, A. A., Elrashidy, E. M., Ghazy, N. A., Metwally, A. M., Ziesche, J., Bohlmann, F. *Phytochemistry*, **1984**, 23, 915-916.
- [23]- Cole, R. J., Stuart, B. P., Lansden, J. A., et Cox, R. H. *J. Agric Food Chem* **1980**, **28**, 1332.
- [24]- Maclead, J., Moeller, P. D. R. et Frantze, F. P. *J. Nat. Prod.* **1990**, **53**, 451
- [25]- Danieli, B., Bombardelli, E., Bouati, A. et Gabetta, B. *Phytochemistry* **1972**, **11**, 3501
- [26]- Krejci, M. E. et Koechel, D. A. *Toxicology*, **1992**, **72**, 299
- [27]- Ammar et al, *Journal of Islamic Academy of Sciences* **1992**, **52**, 79-80,
- [28]- Ahijja MM, Nigam SS : *Flav Ind*, **1970** 1:627.
- [29]- <http://www.plantencyclo.com/>  
Accéder le 15/11/2005
- [30]- <http://plants.usda.gov/java/profile?symbole=xast>  
Accéder le 26/04/2006
- [31]- Mc Millan, C., Chavez, P. L., Plettman, S. G., Mabry, T. J. *Biochem . syst .Ecol.* **1975**, **2**, 183-184.
- [32]- Munz, P. A., and D. D. Keck. *A California flora and supplement.* Univ. California , **1973**, Press, Berkeley, CA.
- [33]- Martin, R. J. and J. A. Carnahan. 1982. Distribution and importance of Noogoora and Bathurst burrs in eastern Australia. *Australian Weeds* **1982** ,**2**:27-32.
- [34]- Sen, D. N. *Ecological approaches to Indian weeds.* Geobios International, Jodhpur, India. **1981** 301 pp.
- [35]- Hardt (H) .-*Dtsche Ap .Ztg .*, **1972** , **112** , 921-932.
- [36]- Craig (J.C), Mole (M .L) , Billets (S .) et El-Ferally (F.) .-*phytochem.*, **1976**, **15**, 1178.
- [37]- Bombardelli (E.), Bonti (A .) et Gabetta (B) .-*phytochem* ., **1972**, **11**, 3501-3504.
- [38]- Paschenko (M .M .) et Pivnenko (G.P) .-*Farm .Zh .*, **1970**, **25**, 41-43
- [39]- Sylva (V.I .) et Lysenko (L.V.) –*Farm .Zh .*, **1971**, **26**, 71-73.
- [40]- Jain (S.R .) .-*Planta Med .*, **1968**, **16**, 467.
- [41]- Metwaly (A .M .), Khfagy (S.M .) et El –Naggar (S.F .) .-*pharmazie*, **1974**, **29**, 415-417.
- [42]- Saxena, V. K., , Mondal, S, *Phytochemistry* **1994**, **35**, 1080-1082.
- [43]- *Pharmacopoeia of P. R. China (English Edition).* Book I. Beijing: Chemical Industry Press; 200. P. 91
- [44]- Juan Hernandez Cano, Gabriel Volpato. Herbal mixture in the medicine of eastern Cuba. *Journal of Ethnopharmacology* **2004**: 1-24.
- [45]- Pandey B N , Sinha G N , Sharma P C, 1989. Some folklore medicines of Singhbhum (Bihar) *Sachitra Ayurved* **37**: 253-258.

- [46] -Manandhar N P. Ethnobotanical notes on certain medicinal plants used by tharus of dang – deokhuri district Nepal. *Int J Crude Drugs Res* **1985**, 23:153-159.
- [47]-Harada, A., Sakada, K., Ina, H. and Ina, K., Isolation and identification of xanthatin as an anti attaching repellent against Blue Mussel. *Agric. Biol. Chem.* 49(6), **1985**, 1887-1888.
- [48]-Bohlmann, F., Mahanta, P.K., Jakupovic, J., Rastogi, R., C., Natsu, A.A. *Phytochemistry* **1978**, **17**, 1165-1172.
- [49]-Ageta, I., Goto, S., Hetano, T., Nishibe, S., and Okuda, T., *Phytochemistry*, **1993**, **33**, 508.
- [50]-Morichita, H., Iwahachi, H., and Osaka, N., Kido, R., J., *chromatography.*, **1984**, 315, 253.
- [51]-Merfort, I., *Phytochemistry*, **1992**, **31**, 2111.
- [52]-Ying- Tsun Ma, Mu- Chi Huang, Freng- Lin et HSIU- FONG CHANG; thiazinedione from *Xanthium strumarium*, *Phytochemistry*, **1998**, 1083- 1085.
- [53]-Luping Qin, A new thiazinedione from *Xanthium strumarium* , *Fitoterapia* **2006**, **77**, 245- 24
- [54]-Stanley RG, Linskens HF: *Pollen Biology Biochemistry management*. Springer-verbag, Berlin. Heidelberg-New york **1974**.
- [55]-Goodwin, M. A., Mllinson, E.T. Brown, J. et al: toxicological Pathology of Cocklebur *Xanthium SPP.* for Broilers Chickens, *Avian dis.* **1992**, **36**, 444- 446.
- [56]-Martin, T., Stan, E. L. et Danison, L.: Cocklebur Roionni : in cettle. *J. Am. V et. Med. Assoc.* **1986**, 189;562 -563.
- [57]-Canpera, C, M., Odriozol, E. et cassaro, Q. P. Mortandad de Bovinos par consumo de abrojo grande *Xanthium cavanillesü* en redeos de cria de la provincia de Barenos Aires, *Vet . Arg.* **1993**, 10/59 1-596.
- [58]-Carmen. Mandz, M. d el, Dos. Santos, R.C. et Riet Correa, F. intoxication by *Xanthium cavanillesü* in cattle and sheep in southern Brazil, *Vet. Hum. Toxicol.* **1998**, **40**, 144-147.
- [59]-Mitchell, J. C., Rook, A.. *Botanical dermatology green glass LTD*, Vancouver, B. C., Canada. **1979**, 787PP.

# Chapitre II

## Les Flavonoïdes

Et

## Les Huiles Essentielles

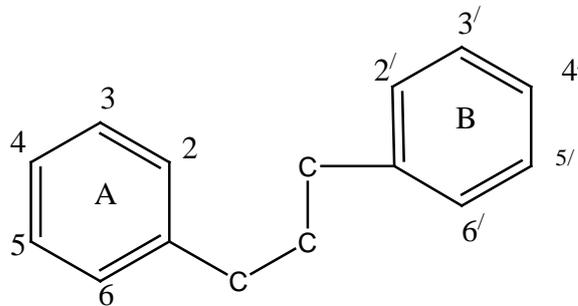
## I -Les Flavonoides:

Les flavonoides constituent un groupe important des substances très répandues dans la nature. Ils représentent un groupe principal des antioxydants et ils forment également une importante famille des colorants naturels où dominant le jaune (*flavones*), le rouge ou le bleu (*anthocyanes*). Ces trois couleurs de base peuvent être modifiées par d'autres pigments (chlorophylles, caroténoïdes...), par chélation avec certains métaux ou par des variations de pH [1].

### I-1-Structure des flavonoides:

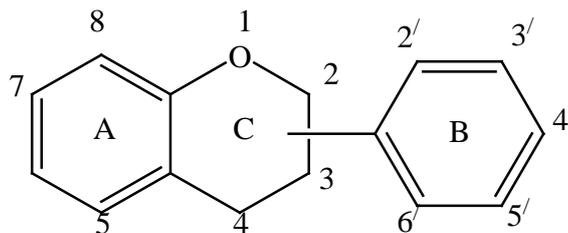
Les flavonoides possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone. Les études structurales ont montré que ces atomes sont réparties sur deux cycles en C6 (A et B) après condensation avec un OH phénolique de noyau A[2]

**Schéma 1** :squelette de base des flavonoides



La structure chimique des flavonoides repose sur un squelette C15 constitué par un noyau chromane et un noyau aromatique placé en position de 2, ou3 (Schéma 2).

**Schéma 2** : structure chimique générale des flavonoides



### 1-2-les différents classes des flavonoides

Les flavonoides se répartissent en onze familles des composés, parmi celles qui présentent le plus d'intérêt nous citerons

#### Les anthocyanidines

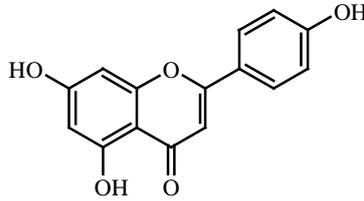
Le terme anthocyane a été initialement forgé pour désigner la substance responsable de la coloration: rouge, rose, mauve, pourpre, bleue, ou violette des fleurs et des fruits . Ce terme a été proposé par Mar quart en 1835.[3]

Ces pigments existent essentiellement sous forme d'hétérosides.

## Les flavones

Ces molécules représentent 80% des flavonoïdes [4]. Elles sont incolores dans le visible, et absorbent dans l'ultra violet à 366nm pour donner fluorescence violette.

Exemple :



apigénine

Le noyau C des flavones est basique et forme un sel pyrylium avec l'acide hydrochlorique [3]

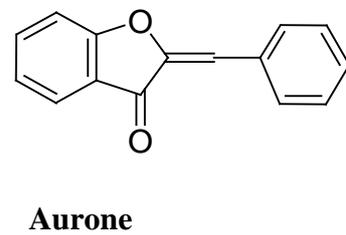
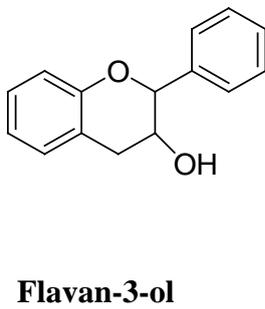
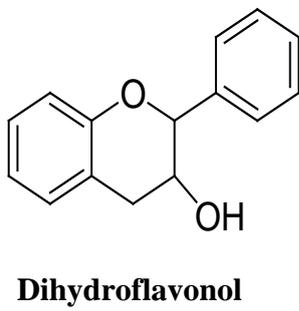
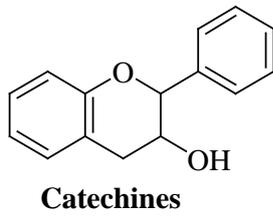
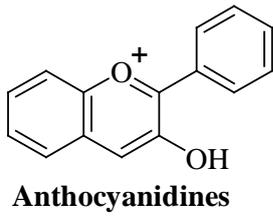
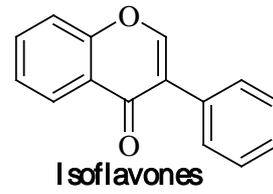
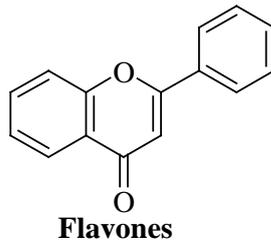
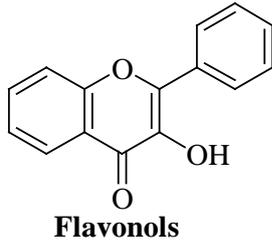
Tous les flavonoïdes peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central [5].

On peut remarquer ici que :

- Les *flavones* sont des 2-phénylchromones, incolores ;
- Les *isoflavones* sont des 3-phénylchromones, beaucoup moins répandues que les flavones ;
- Les *flavonols* sont des 3-hydroxyflavones. Ce sont des pigments végétaux que l'on trouve souvent sous forme de glycosides ;
- Les *flavanones* sont des 2,3-dihydroflavones ;
- Les *chalcones* sont des isomères des flavanones avec ouverture du noyau pyronique entre les positions 1 et 2 ;
- Les *anthocyanidols* sont des dérivés réduits des flavonols avec formation d'un oxonium ;
- Les *flavanes* ou catéchines sont également des produits de réduction, au moins formellement, des flavonols.

Les flavonoïdes les plus étudiés appartiennent aux groupes des flavones, des flavonols, en particulier, la quercétine et son hétéroside la rutine, mais aussi à ceux des flavanes, flavanones et chalcones.

Donc les différentes classes des flavonoïdes sont



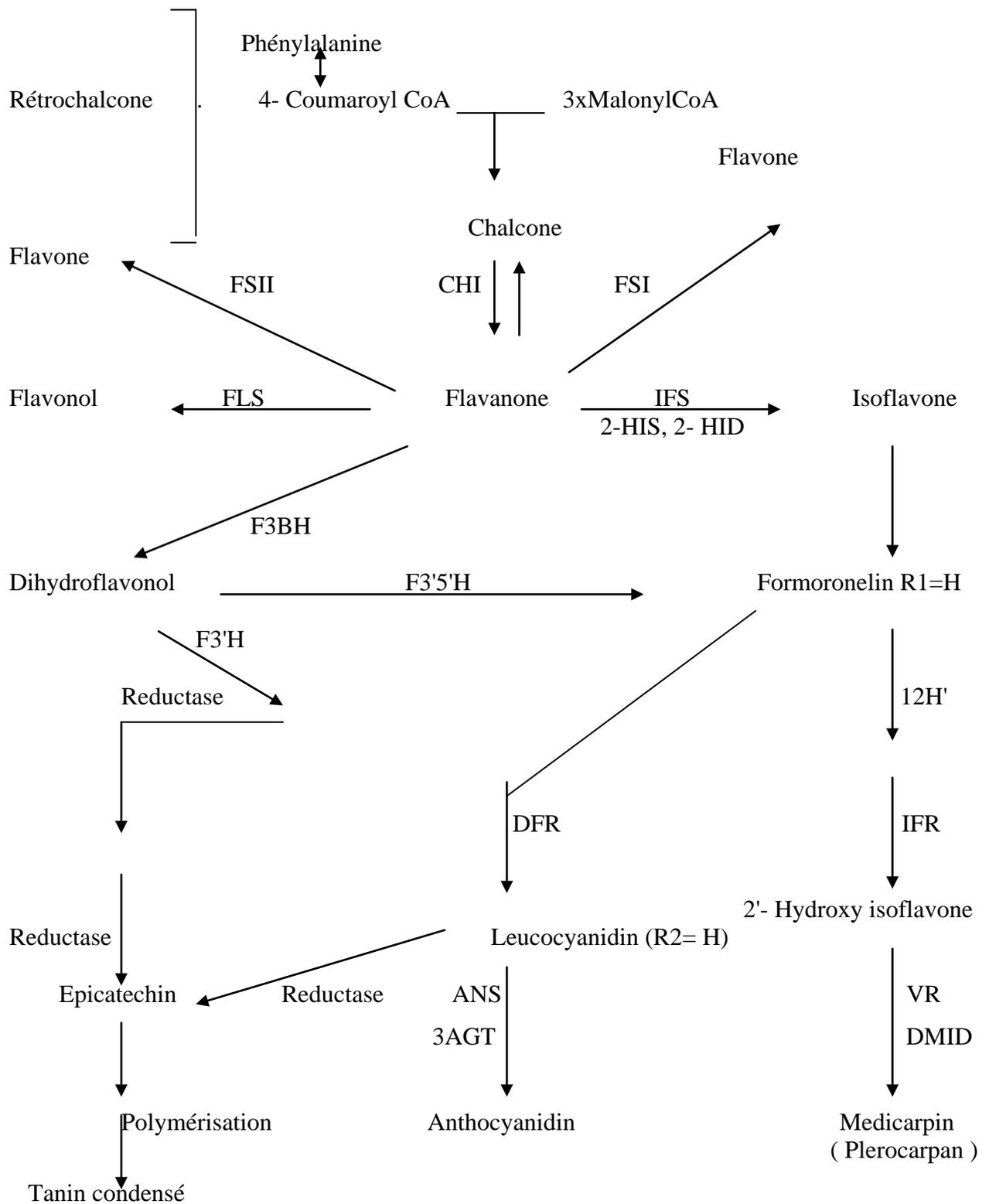
*Les différentes classes des flavonoïdes*

### 1-3-Biosynthèse des flavonoïdes:

Les composés de départ sont la malonyl – CoA et les dérivés CoA de l'acide cinnamique (cinnamoyl- CoA ). Ces derniers forment avec l' intervention de cinnamoyl- CoA ligase. C'est l'acétyl-CoA carboxylase qui prépare le malonyl-CoA où trois molécules de cette dernière et la cinnamoyl-CoA produisant avec l'intervention de la chalcone synthase la structure de base en C15 sous forme d'une chalcone [6]. Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes . elle est en équilibre avec les flavonoïdes . cet équilibre étant contrôlé par une enzyme la chalcone isomérase, cette dernière introduit une fermeture stéréospécifique du cycle ( addition *syn*. Sur la double liaison ) conduisant à seul (2S)- flavanone [7].

- L'oxydation des flavanones suivie de réarrangement, c'est-à-dire le déplacement d'un groupement aryle de C2 à C3 en présence d'enzyme isoflavone synthase conduit à la formation d'isoflavone; elle est considérée comme une réaction spécifique pour la biogenèse des isoflavonoïdes [8] où le composé 2- hydroxy isoflavone est considéré comme un intermédiaire[9]
- L'introduction de la double liaison entre C2 à C3 dans les flavanones conduit à la formation des flavones cette réaction est catalysée par deux types d'enzymes différentes : la flavone synthase I et la flavone synthase II (FSI et FSII) et qui permet aussi de donner la rétrochalcone.
- L'hydroxylation des flavanones en position 3 conduit aux dihydroflavonols, cette réaction est catalysée par l'enzyme flavanone 3-hydroxylase. Le dihydroflavonol est considéré un intermédiaire direct pour la synthèse des flavonols et des flavans-3,4-diol. C'est un intermédiaire biosynthétique dans la formation des proanthocyanidines, anthocyanidines et cathéchines (flavonols).
- Les flavonols sont formés par l'introduction d'une double liaison entre C2 et C3 dans les dihydroflavonols en présence d'enzyme flavonol synthase.
- Les flavonoïdes 3'-hydroxylase (F3'H) et 3' ,5'- hydroxylase (F3',5'H) catalysent, respectivement, l'hydroxylation sur le noyau B des positions 3' et 3' , 5'.
- La polymérisation des épicatechines conduit aux tanins condensés.

La figure 2 résume toutes ces étapes



**Figure 02 : Biosynthèse des Flavonoïdes**

Le tableau 2 rassemble les différentes enzymes mises en jeu dans la biosynthèse reportées dans la Figure 2.

<b>Les abréviations</b>	<b>Les enzymes</b>	<b>Les Co-facteurs</b>
<b>CHS</b>	<b>Chalcone synthase</b>	<b>/</b>
<b>CHI</b>	<b>Chalcone isomerase</b>	<b>/</b>
<b>DFR</b>	<b>Dihydroflavonol- 4- reductase</b>	<b>NADPH</b>
<b>IFS</b>	<b>2- Hydroxyisoflavone synthase</b>	<b>NADPH</b>
<b>FLS</b>	<b>Flavonol synthase</b>	<b>2- oxoglutarate</b> <b>Fe+2 , ascorbate</b>
<b>ANS</b>	<b>Anthocyanin synthase</b>	<b>/</b>
<b>FSI</b>	<b>Flavone synthase I</b>	<b>2- oxoglutarate</b> <b>Fe+2 , ascorbate</b>
<b>FSII</b>	<b>Flavone synthase II</b>	<b>NADPH</b>
<b>F3'H</b>	<b>Flavonoide 3' – hydroxylase</b>	<b>/</b>
<b>F3'5'H</b>	<b>Flavonoide 3', 5' – hydroxylase</b>	<b>/</b>
<b>IFR</b>	<b>Isoflavone reductase</b>	<b>/</b>
<b>VR</b>	<b>Vestitone reductase</b>	<b>/</b>

**Tableau 2**

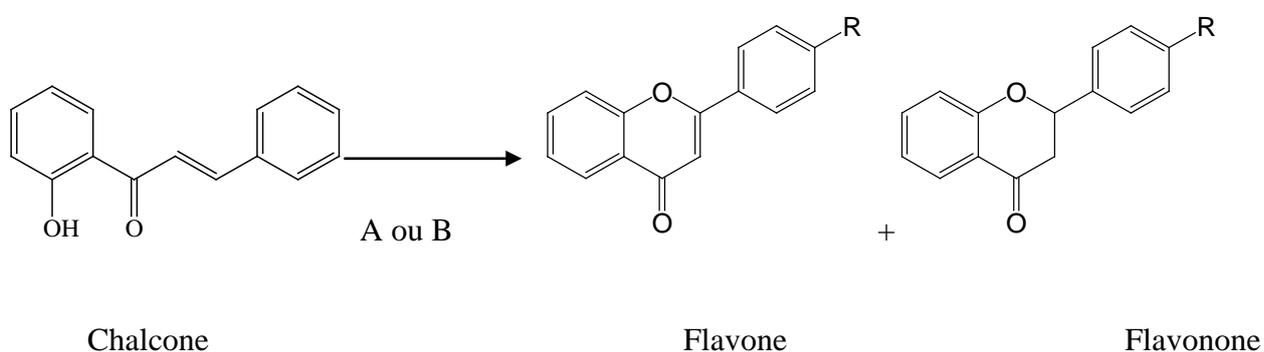
#### **1-4-La Synthèse des flavonoïde**

Les flavanones peuvent obtenir par dishydrogénation de la flavone, cette transformation nécessite différents catalyseurs comme le palladium ou l'oxyde de sodium, ce dernier est plus

efficace. La transformation d'une flavonone en une flavone est également utilisée dans la détermination des flavonones par l'oxydation de ces dernières, car un grand nombre de flavones naturelles sont disponibles à l'heure actuelle et peuvent être utilisées à titre de référence .

La condensation entre les composés ortho hydroxy acetophénones et les dérivés benzaldéhydes en présence de la solution hydroxyde de potassium ou de sodium donne la chalcone , la cyclisation de ce dernières donne la flavone suivant la méthode A et B (schéma 3 ). Cette réaction ne se base pas seulement sur les conditions du milieu et la température, mais aussi sur la nature et la position des substituants des composés qui interviennent dans la condensation [10]

Schéma 3: la méthode de préparation des flavonoides a partir de noya chalcone



Méthode A: PbcL2 , MeOH , Reflux 4jours

Méthode B: PbcL2 (0,1% mol ) , 1,4 benzoquinone, MeOH , Reflux 4jours

### 1-5-Les principaux substituants de squelette flavonique :

Les substitutions sont assis diversifiées , on y trouve notamment des hydroxylation, des méthyoxylation et des glycosylations .

#### 1-5-1-L'hydroxylation:

Le squelette flavonique est caractérisé par 3 hydroxyles , deux en position 5 et 7 qui sont placés avant la formation du noya A et un en position 4' du noya B [11]

la substitution de OH sur C<sub>3</sub> se fera pendant la formation de la chalcone . en revanche, la fixation d'une OH sur l'atome de carbone C<sub>3</sub> se fera après la cyclisation du noyau C la substitution de OH sur le noyau B dans la position 3', 4' et 5' se fera à partir d'une relation biogénétique [12] , en générale on trouve que :

90% des molécules sont hydroxylées en position 5 et 7

80% des molécules sont hydroxylées en position 3', 4' et 5'

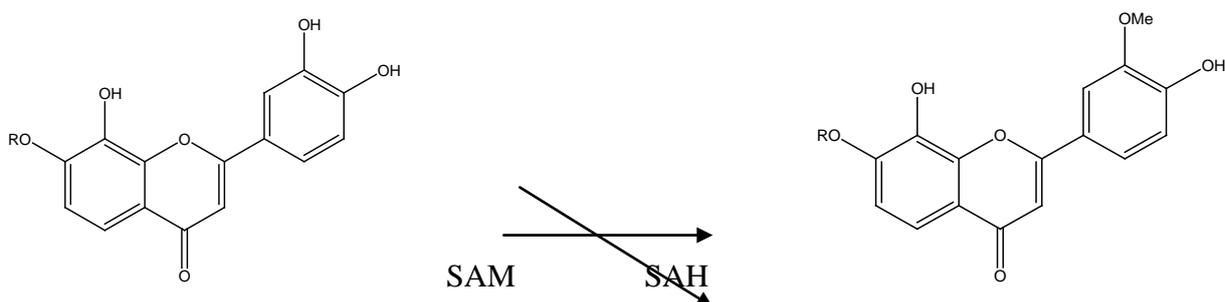
10% des molécules sont hydroxylées en position 2', par contre la position 6' est rarement hydroxylée.

## 1-5-2-La Méthylation

### a-la O-méthylation

la substitution des groupements méthyle viennent après celle du groupements hydroxyles et ceci en présence d'une enzyme ( O-Méthyl- transférase ) qui déplace le radical méthyle se trouvant dans le S- adenosyl méthionine sur l'aglycone , ainsi le méthyle en mèta se fixe avant la formation de la chalcone .

exemple: la transformation de la lutéoline en chrysoeriol (7-O-glycoside chrysoeriol)



**R:** glyucose

**SAM:** S- Adenozyl Méthionine

**SAH :** Adenozyl Homosysteine

### b-La C-méthylation:

La présence d'un groupement méthyle sur le squelette flavonique se fait l'établissement d'une liaison carbone-carbone.

Cette liaison est rencontrée en position C6, en position C8, et en position C6 et C8 au même temp.

### 1-5-3-La glycosylation:

Le squelette de base des flavonoides peut être substitué en plus des groupements hydroxyles, méthyle, méthoxyles, et par des groupements hétérosidiques. Ces groupements dits aussi glycosidiques peuvent sous forme d'un sucre ou de plusieurs sucres attachés entre eux ou réparties sur le squelette flavonique dans des positions spécifiques.

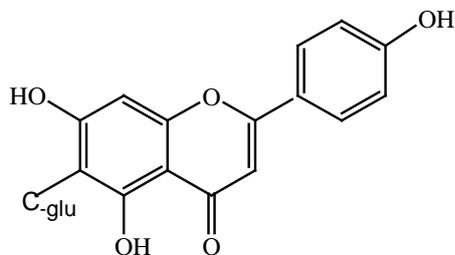
Il y a deux voies pour substituer la molécule du sucre sur le squelette d'aglycone.

### a-La C-glycosylation:

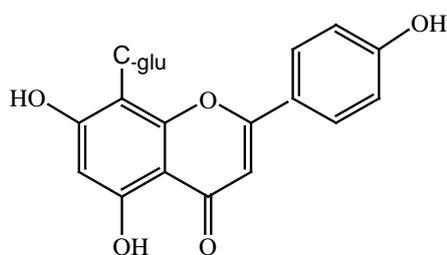
La C-glycosylation s'effectue par une jonction carbone-carbone entre l'aglycone et le sucre qui peut être un glucose, un galactose, un rhamnose, un xylose ou un arabinose.

Ce sont les positions 6 et 8 qui sont concernées par ce type de substitution [13].

Exemple:



Isovitexine

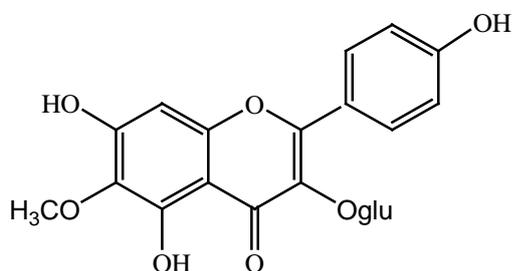


Vitexine

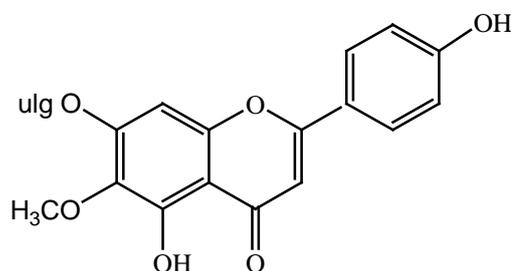
### b-La O glycosylation:-

La liaison sucre aglycone s'effectue en générale par un pont oxygène résultant de l'approche d'un hydroxyle phénolique et un hydroxyle osidique .

Exemple



O-glucosyl 6 – methoxykaempférol



7-O- glucosylthioidine

### 1-6-Les méthodes de purification et de séparation:

La séparation et la purification des différents flavonoïdes est fondé sur les technique chromatographiques habituelles (sur polyamide, sur cellulose, sur gel de Sephadex)

L'extrait n-butanolique représentant la phase polaire de l'extrait brut est constitué d'un nombre au départ inconnu de produits en générale phénolique.

Le travail du phytochimiste consiste à l'obtention de chaque produit pur et seul, il faut pour cela utiliser des méthodes successives de chromatographie .Cette technique de séparation découverte en 1903 par un botaniste russe a de plusieurs types[14].Celles les plus couramment utilisées dans la séparation des flavonoïdes sont:

-la chromatographie liquide sur colonne

- la chromatographie préparative sur papier
- la chromatographie préparative sur couche mince

### 1-6-1-La chromatographie liquide sur colonne:

C'est une façon classique pour la séparation des composés flavoniques, elle est réalisée dans le cas des mélanges complexes. Le meilleur support utilisé dans cette technique est le polyamide SC6 pour la colonne, il existe d'autre support comme le gel de silice ou le cellulose mais grâce à la fonction carbonyl-amide du polyamide qui sert à faire des fortes liaisons hydrogènes avec les groupements hydroxyles des composés phénoliques en particulier les flavonoïdes[15].

### 1-6-2-La chromatographie préparative sur papier :

Cette méthode peut être utilisée directement sur l'extrait brut dans le cas où sa composition n'est pas assez riche. Dans le cas contraire, elle est en général utilisée sur les fractions issues de la colonne .

### 1-6-3-La chromatographie préparative sur couche mince:

C'est une technique très rapide, elle est utilisée aussi bien pour la séparation que pour la purification .

### 1-7-Les méthodes d'analyse des flavonoïdes:

Les techniques les plus couramment utilisées sont:

#### 1-7-1-Fluorescence sous lumière UV :

La fluorescence du produit soumis à la lumière UV (366 nm) joue un rôle très important pour l'identification structurale c'est l'étape primaire de l'analyse .

De par leur squelette, chaque classe de flavonoïdes est caractérisée par une ou deux couleurs qui donnent une idée sur la structure .Le tableau résume cette relation structure- fluorescence.[16]

Taches colorées	Type de flavonoïde
Violet noir	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavones avec 5-OH et 4'OH.</li> <li>• Flavonols avec 3-OH substitué et 5-OH, 4'OH.</li> <li>• Flavanones 5-OH.</li> <li>• Flavones ou flavonols avec 5-OH et 4'-OH absent ou substitué.</li> <li>• Isoflavones, dihydroflavonols.</li> <li>• Chalcone.</li> </ul>
Bleu clair fluorescent	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavone et flavanones sans 5-OH libre.</li> <li>• Flavonol à défaut d'un 5-OH libre mais avec un 3-OH substitué.</li> <li>• Flavanone ou flavanonol avec 3-OH.</li> </ul>
Jaune terne ou orange fluorescent	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonol avec 3-OH libre et avec ou sans 5-OH libre.</li> <li>• Isoflavone.</li> </ul>

**Tableau 6:** Relation structure – fluorescence des flavonoïdes

**1-7-2-Le R<sub>f</sub> (Retardation factor):**

La valeur du R<sub>f</sub> est définie comme suite

$$R_f = \frac{\text{Distance entre l'origine et la tache du produit}}{\text{Distance entre l'origine et le front du solvant}}$$

C'est une valeur spécifique au composé déterminé dans des conditions précises (température, nature de l'éluant, nature de l'adsorbant,...) [17]. Ainsi, le R<sub>f</sub> d'un composé peut révéler des renseignements utiles sur la structure de celui-ci.

Le tableau 5 explique l'influence de la substitution du squelette flavonique sur la valeur du R<sub>f</sub> [18].

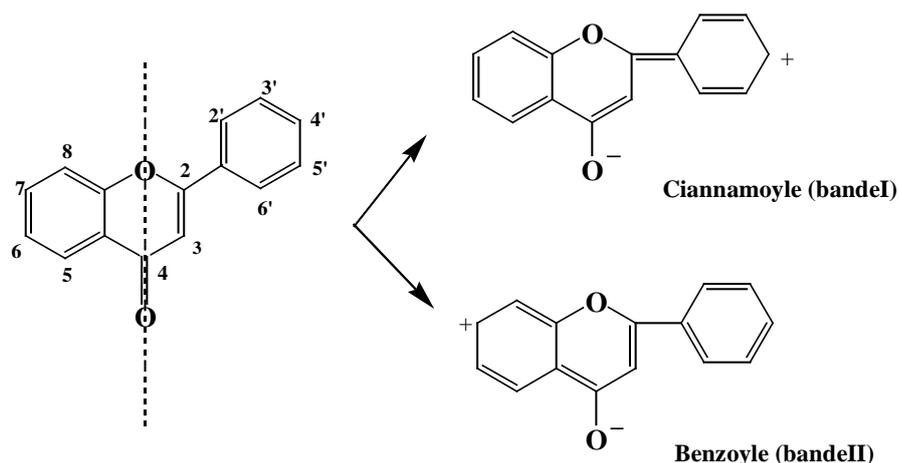
Structure flavonique	R <sub>f</sub>
Augmentation des groupements hydroxyles	R <sub>f</sub> diminue dans les solvants alcooliques et aqueux
Méthylation des hydroxyles	R <sub>f</sub> augmente dans le solvant alcoolique et diminue dans le solvant aqueux
Méthylation d'un OH en 5	R <sub>f</sub> diminue dans le solvant alcoolique
Glycosylation	R <sub>f</sub> diminue dans le solvant alcoolique et augmente dans le solvant aqueux
Hétérosides des flavonols avec 3-OH libre	R <sub>f</sub> nul dans l'eau.

**Tableau 5:** Influence de la substitution du squelette flavonique sur la valeur du R<sub>f</sub>.

**1-7-3-Spectrophotométrie UV-visible**

C'est la méthode la plus importante pour l'identification des flavonoïdes. Le principe de cette technique est basé sur le fait que chaque composé flavonique a un spectre d'absorption caractéristique dans le milieu méthanoïque, qui change après l'addition de différents réactifs (NaOH, AlCl<sub>3</sub>/HCl, NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) [17].

Les flavonoïdes présentent deux formes limites : la forme cinnamoyl à qui on attribue la bande (I) qui a un pic d'absorption dans le méthanol de (300-380 nm) et la forme benzoyl à qui on attribue la bande (II) qui absorbe dans le milieu méthanoïque à (240-280 nm) [19] (figure 3).



**Figure 3**

L'emploi de divers réactifs permet de localiser les substituants sur le squelette flavonique.

#### **a-Addition de NaOH**

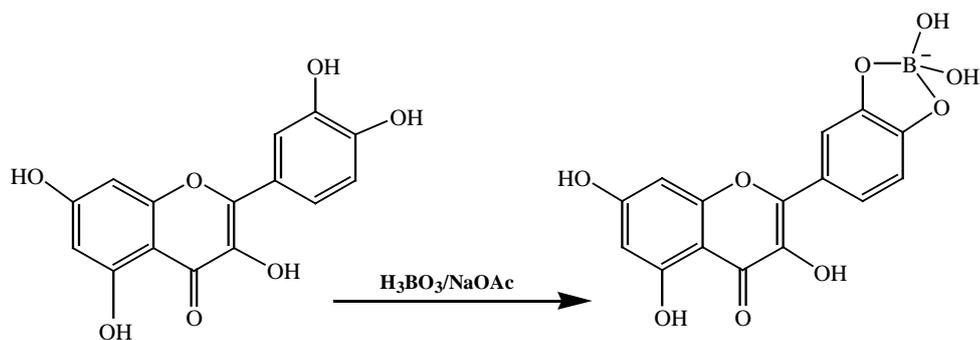
C'est une base forte qui peut ioniser tous les groupements hydroxyles du flavonoïde. C'est pourquoi il est difficile de relier les déplacements du spectre dus à l'addition de NaOH avec le flavonoïde hydroxylé. Cependant, l'effet de NaOH sur les flavones et les flavonols est de détecter les hydroxyles dans les positions 3 et / ou 4'.

#### **b-Addition de NaOAc**

L'acétate de sodium est une base faible par rapport à la soude, elle va donc ioniser les groupements hydroxyles acides C<sub>3</sub>, C<sub>7</sub> et C<sub>4</sub>'. C'est surtout un réactif spécifique pour détecter le groupement hydroxyle en C<sub>7</sub>.

#### **c-Addition de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>+ NaOAc**

La présence de l'acide borique avec l'acétate de sodium met en évidence des groupements ortho dihydroxyles sauf sur les carbones C<sub>5</sub> et C<sub>6</sub>. L'acide borique forme alors des complexes avec les hydroxyles phénoliques dans la position ortho (figure 4).



**Figure 4**

**d-Addition de  $\text{AlCl}_3+\text{HCl}$**

L'acide de Lewis forme avec les flavonoïdes contenant un groupement hydroxyle en  $\text{C}_5$  ou en  $\text{C}_3$  des complexes stables et des complexes instables avec des flavonoïdes possédant des groupements hydroxyles en position ortho. L'addition de l'acide chlorhydrique décompose le complexe formé avec les groupements hydroxyles en ortho, et n'a aucun effet sur les complexes formés avec les groupements OH en  $\text{C}_3$  ou en  $\text{C}_5$  (figure5). Le tableau 7 résume les principaux caractéristiques des spectres UV des flavones et flavonols [20].

Réactifs	Déplacements en nm		Interprétation
	Bande I	Bande II	
MeOH	310-350 330-360 350-308	250-280 250-280 250-280	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavones</li> <li>• Flavonols (substitué en 3)</li> <li>• Flavonols</li> </ul>
NaOH	(+) 45-65 -stable, intensité ne diminue pas. -intensité diminue. -Intensité diminue avec le temps, décomposition. -Apparition d'un pic entre 320-335 -Absence de pic entre 320-330.		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4'-OH</li> <li>• 3-OH, 4'-OR</li> <li>• 3, 4'-OH, 3, 3', 4'-OH</li> <li>• 7-OH</li> <li>• 7-OR</li> </ul>
NaOAc	(+) 5-20 Faible déplacement si on a 6 ou 8 oxygénations. Pas de déplacement ou très faible. Spectre se décompose avec le temps.		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 7-OH</li> <li>• 7-OR</li> <li>• 5, 6,7 ou 5, 7,8 ou 3,3',4' tri-OH</li> </ul>
NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	(+) 12-36 (+) 5-10		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ortho diOH sur B en 3,4'</li> <li>• Ortho diOH sur A (6,7 ou 7,8)</li> </ul>
AlCl <sub>3</sub> /HCl	(+) 35-55 (+) 17-20 (+) 50-60		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5-OH</li> <li>• 5-OH avec une oxygénation en 6</li> <li>• 3-OH ou 3,5-diOH</li> </ul>
AlCl <sub>3</sub> /AlCl <sub>3</sub> +HCl	(+) 30-40 (+) 20-25 (+) 10		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ortho diOH sur B</li> <li>• Ortho diOH sur A et Ortho diOH sur B</li> <li>• Ortho OH, OMe en 3',4'</li> </ul>

**Tableau 7:** Caractéristiques spectraux UV-visible des flavones et des flavonols en présence des différents réactifs.

#### 1-7-4--RMN1H et spectrométrie de masse

La RMN du proton est la technique qui permet d'obtenir la localisation des différents protons du squelette flavonique et ceux du squelette osidique, ainsi que la position et le nombre des substituants méthoxyles sur le flavonoïde

La spectrométrie de masse, impact électronique, permet la détermination du pic moléculaire de l'aglycone flavonique ainsi que le nombre et la nature des substituants qui lui sont liés [21]. Les divers modes d'ionisation, tels que la FAB, permettent l'analyse de structures glycosylées.

### **1-8-Intérêts biologiques et médicinales des flavonoides:**

Les flavonoides sont des produits naturels largement distribués dans le règne végétal, légumes, fruits, et boisson telle que le thé et le vin rouge ou ils ont une influence importante sur la couleur et le goût[22-23].

Leur activité pharmacologique a été prouvée grâce à leur action inhibitrice de certaines enzymes et leur réactivité antioxydante [22-23-24].

L'intérêt des flavonoides ne se limite pas à la coloration, mais concerne surtout leurs structures polyphénoliques qui peuvent jouer un rôle important dans les chaînes d'oxydo – réduction et modifier certaines réactions concernant la respiration et la morphogenèse.

L'objectif des tests biologiques *in vivo* et *in vitro* faits sur des produits séparés des plantes et de justifier l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle et de découvrir de nouvelles molécules biologiquement actives.

Des recherches sur les flavonoides ont fait l'objet de centaines d'études dans le monde. Il a été prouvé que les anthocyanines ont une activité anticancéreuse, réduisent la fatigue oculaire, contrôlent le diabète, améliorent la circulation sanguine.

Par ailleurs, il a été signalé que les flavonoides ont une activité antihypertensive [25], antiallergique et anti-inflammatoire[26-27-28], antihépatotoxique [29], antivirale [30-31], antitumorale [32-33-34]

Cytotoxique [35-36] antimicrobien [37] antibactériens [38], antifongique [39-40], hépatoprotective [41], phytoestrogène [42].

Les flavonoides présentent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant de manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance.

Il faut également signaler certaines autres de leurs propriétés telle que l'activité antioxydante protectrice contre les effets néfastes des entités radicalaires oxygénées [43].

Dans le domaine appliqué, certains flavonoides sont utilisés comme antioxydants pour la conservation des huiles comestibles, en cosmétologie dans les shampooings colorants et dans certaines préparations des plantes médicinales réputées pour avoir des propriétés antiulcérales.

Le coumestrol et la génistéine diminuent la conversion du 3-hydroxy-oestrone en 17- $\beta$ -oestradiol. ainsi ils ont un rôle oestrogénique faible [43].

Des recherches actuelles faites sur le thé indiquent que:

Les feuilles du thé contiennent des quantités appréciables de composés poly phénoliques qui possèdent des puissantes propriétés antioxydantes. Parmi ces composés on trouve les flavonoides qui pourraient potentiellement réduire le risque de maladie du cœur qui représente une des causes de décès les plus fréquentes [44-45] .

Les recherches sur le cancer effectuées par les docteurs Mary Ann Smith et Keith Singletary ont révélé qu'un flavonoïde présent dans le bleuet sauvage sert d'inhibiteur d'une enzyme présente durant le stade de promotion du cancer.

La majorité des flavonoides qui peuvent être des isoflavonoides , des flavanes ou des flavanones sont des agents antifongiques [46] , cependant l'augmentation du nombre des substituants OH, OMe, glycosyle font perdre progressivement cette activité aux flavonoides [39] .

La découverte des propriétés biologiques des flavonoides est considérée comme un bon développement pour la médecine .

## Références bibliographiques:

- [1] Hertog, M.G., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B. and Kromhout, D. Dietary antioxidant flavonoid and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. *Launcet* **1993**; **342**: 1007-1011.
- [2] Chanvallon, C., Blanchemaison, P., Cance-Sanchez, B. Les flavonoïdes. *Act Med Angiologie* **1994** ; **12**: 3846-50.
- [3] Ikan, R., *Naturals Products, a laboratory guide* , 2ème édition, **1991**, 3.
- [4] Akkal, S., Thèse de doctorat, Université de Constantine, **2001**.
- [5] Bruneton, J. *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 2ème édition. Tec et Docum. Paris. **1993** ; p : 266.
- [6] Richter, G., *Métabolisme des végétaux, physiologique et biochimie*. **1933**, 333.
- [7] Takayoshi, H. *Biosynthesis and biodegradation of wood components*. Academic press. **1985**.
- [8] Kochs, G., Grisebach, R. Forkman, G.J., *Eur. J. biochem.* **1986**, 155, 311.
- [9] Stotz, G., Spribille, R. and Forkman, G.J. *plant physiol.* **1984**, 116, 173.
- [10] Silva, M.S.A. and Caveliro, A.S. *A New Methods for synthesis of flavonoids*, 16ème Assemblée du groupe Polyphénols, Lisbon, **1992**. 16.
- [11] Harborne, J. B., *Flavonoïde in Phytochemistry*, **1973**, Voll II, eds Lawrence, P. Miller, 34, Litton Educational Publishing Inc.
- [12] Deluka, V. and Ibrahim, R.K. *Arch Biochem Biophysics*, **1985a**, **1985b**, 238, 595-606.
- [13] Hallbrook, K., Grisebach, H., *Biosynthesis of flavonoids* , in the flavonoids eds: Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H, **1975**, 866.
- [14] Kamenzi, Thèse Doc., Université Claude Bernard Lyon I, **1979**.
- [15] Anderson, R.A. and Sowers, J.A., *Phytochemistry*, **1960**, 7, 293-301.
- [16] Harborne, J. B., Mabry, T.J. et Mabry, H, *the flavonoids*, **1975**, Tome I, Academic Press.
- [17] Ait Moussa, S. *Etude de la composante flavonique de la plante *Haplophyllum tuberculatum**. Thèse de magister, Université de Constantine **2003**.
- [18] Bate-Smith, E.C. et Westall, R.G. *Chromatographic Behavior and chemical structure, some naturally occurring phenolic substance*. *Bioch. Bioph. Acta*, **1950**; **4**: 247-440.
- [19] Markham, K.R. and Mabry, T.J. *A procedure for the ultraviolet spectral detection of ortho dihydroxyl groups in flavonoïds*, *Phytochemistry* **1968**; **7**: 1197-1200.
- [20] Harborne, J.B., Mabry, T.J. and Mabry, H. *The flavonoïds*. Academic Press **1975**, Tome II.
- [21] Gottlieb, O. *Micro moleculare evolution, systematics and ecology*. Springer, Berlin **1982**; p: 142-148.
- [22] Havsteen, B., *Flavonoids, A class of natural products of high pharmacological potency*. *Biochem Pharmacol*, **1983**, 32, 1141- 1148.

- [23] Brandi, M.L., Flavonoids, biochemical effects and therapeutic applications. *Bone and Mineral*, **1992**, **19**, 3-14.
- [24] Saskia A. B. E. van Acker, Plemper van Balen, G., van den Berg, D. J., Aalt Bast, and Wim J.F., van der, V., *Biochemical Pharmacology*, **1998**, **56**, 935- 943.
- [25] Elbl, G., Wagner, H., A new method for the in vivo screening for inhibitors of angiotensin-converting enzyme (ACE), using the chromophore labelled substrate dansyltriglycine, *Planta Med*, **1991**, **57**, 137- 141.
- [26] Gabor, M., Anti-inflammatory and anti allergic properties of flavonoids in Cody, V., Middleton, E. Jr., Harbone, J. B., eds *Plant flavonoids in biology and medicine, progress in clinical and biological research*, New York, Alan R Liss, **1986**, 213, 471.
- [27] Middleton, E., Kandaswami, C., Effects of flavonoids on immune response and inflammatory cell function, *biochem. Pharmacol*, **1992**, **43**, 1167-1179.
- [28] Emin, J.A.D.S., Oliveira, A.B. and Lapa, A.J., Pharmacological evaluation of the anti inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids dauricin and coumestrol, in rats and mice, *Journal of pharmacy and pharmacology*, **1994**, **46**, 118-122.
- [29] Wagner, H., Geyer, B., Kiso, Y., Hikino, H., Rao, G.S., Coumestans as the main active principles of the liver drugs *Eclipta Alba* and *Wedelia calandulacea*, *Planta Med*, **1986**, 370-374.
- [30] Vlietinck, A.J., Vanden Breche, D.A., Can Ethnopharmacology contribute to the development of antiviral drugs, *Journal of Ethnopharmacology*, **1991**, **32**, 141-153.
- [31] Amaral, A.C.F., Kuster, R.M., Gonçalves, J.L.S., Wigg, M. D. Antiviral investigation on the flavonoids of *Chamaesyce thymifolia*, *Fitoterapia*, **1999**, **70**, 293- 295.
- [32] Bertram, B., Pool-Zobel, B. L., Möglichkeiten der Tumortherapie mit flavonoiden. *Zeitschrift für Phytoterapie*, **1991**, **12**, 51-55.
- [33] Wang, H.-K., Xia, Y., Yang, Z.-Y., Morris, Natschke S. L. and Lee, K.-H., Recent advances in the discovery and development of flavonoids and their analogues as antitumour and anti-hiv agents. *Advances in Experimental Medical Biology*, **1998**, **439**, 191- 225.
- [34] Gunji, H., Kharbanda, S. and Kufe, D., Induction of internucleosomal DNA fragmentation in human myeloid-leukemia cells by 1- $\beta$ -arabinofuranosylcytosine, *Cancer research*, **1991**, **51**, 741-743.
- [35] Makino, M. and Fujimoto, Y., Flavonones from *Baeckea frutescens*. *Phytochemistry*, **50**, **1999**. 273- 277.
- [36] Barrero, A. F., Herrador, M. M., Arteaga, P., Cabrera, E., Rodríguez-García-Moreno, M., Gravalos, D.G., Cytotoxic activity of flavonoids from *carthamus arborescens*, *ononis natrix* ssp *Ramosissima* and *Centaurea malacitana*, *Fitoterapia*, **1997**, **68**, 281-283.

- [37] Grayer, R.J., Harborne, J.B., Kimmins, E. M., Stevensen, F.C. and Wijayagunasekera, H.N.P., Phenolics in rice phloem sap as sucking deterrents to the brown plant hopper *Nlaparvata lugens*. *Acta Horticulturae*, **1994**, **381**, 691-694.
- [38] Gafner, S., Wolfender, J.L., Mavi, S. and Hostettmann, K., Antifungal and antibacterial chalcones from *Myrica serrata*, *Planta Medica*, **1996**, **62**, 67-69.
- [39] Picmanm A. K., Schneider, E.F., and Pieman, J., Effects of flavonoids on mycelial growth of *Verticillium albo-atrum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **1995**, **23**, 683-693.
- [40] Sekine, T., Inagaki, M., Ikegami, F., Fujii, Y. and Ruangrunsi, N., Six diprenylisoflavones, derrisisoflavone A-F, from *Derris scandens*. *Phytochemistry*, **1999**, **52**, 87-94.
- [41] Chen, T., Li, J., Cao, J., Xu, Q., Komatsu, K., and Namba, T., A new flavanone isolated from *Rhizoma smilacis glabrae* and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage. *Planta Medica*, **1999**, **65**, 56- 59.
- [42] Richard, R.A., Dixon and Daneel Ferreira, D., Genistein, *Phytochemistry*, **2002**, **60**, 205-211.
- [43] Gilbert, S., Omenn, Chemoprevention of Lung Cancer: The Rise and Demise of Beta-Carotene, *Annu. Rev. Public. Health.*, **1998**, **19**, 73.
- [44] Ishikawa, T., Suzukawa, M., Yoshida, H., Avaori, M., Nishiwaki, M., Yonemura, A., Hara, Y., Nakamura, H., Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of lowdensity lipoprotein to oxidative modification, *Am. J. Clin. Nutr.*, **1997**, **66**, 261-266.
- [45] Hertog, M. G. L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Busina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B. S., Toshima, H., Feskens, E. J. M, Hollman, P. C. H. Katan, M., Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries study. *Arch Intern Med*, **1995**, **155**, 381- 386.
- [46] Jensen, P. R., Jenkins, K. M., Porter, D. and Fenical, W., A new antibiotic flavone glycoside chemically defends the sea grass *thalassia testudinum* against zoosporic fungi. *Applied Environmental Microbiology*, **1998**, **64**, 1490-1496.

## **II- Les huiles essentielles**

### **II-1- Définition :**

Les huiles essentielles, plus proprement appelées «essence = huiles volatiles» sont des produits odorants, de composition généralement assez complexe, renfermant les principes volatiles contenus dans les plantes aromatiques (plantes qui contiennent suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs de ces organes reproducteurs) .

### **II-2- Répartition botanique :**

les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon la Wrence , 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité de familles ex : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Asteraceae, Apiaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, etc.

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : sommités fleuries (la vande, Menthe) écorces (cannelier), racines (Vétiver), rhizomes (curcuma Gingembre), fruits (Anis-Badianier), bois (camphrier) etc. dans une même plante elles peuvent être présentés à la fois dans différents organes : la composition des essences peut alors varier d'un organe à l'autre (ex : huiles essentielles de fleurs, de feuilles et de fruit de divers citrus). [1, 2]

### **II-3-Localisation :**

Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétrices isolées (lauracées) mais on les trouve plus souvent dans des organes sécréteurs : poches sécrétrices schizolysigènes (Myrtacées, Rutacées), canaux sécréteurs (conifères, ombellifères).poils sécréteurs (Labiées, composées). [1]

### **II-4-Teneur :**

La teneur d'une drogue en huile essentielle est généralement faible, de l'ordre de 1 % à 1‰, il existe cependant quelques exceptions : ex Badiane de Chine, où la teneur en essence est supérieure à 5 % « clou de Girofle » qui renferme plus de 15 % d'essence. [1]

### **II-5- fonctions :**

La variété structurale et la complexité de la composition chimique des huiles essentielles favorisent le transfert de « messages biologiques » complexes et sélectifs [3] .

La volatilité et l'odeur des huiles essentielles jouent un rôle dans les interactions végétaux (agents allélopathiques, inhibitrices sur la germination et la croissance ), et aussi dans celui des interactions végétal- animal : elles constituent un moyen défense contre les prédateurs

(microorganismes, champignons, bactéries, insectes herbivores ) et participent à l'attraction des insectes pollinisateurs [4] .

## **II-6- PROPRIETES PHYSIQUES :**

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- Ce sont généralement des liquides à la température ambiante.
- Leur volatilité les oppose aux « huiles fixes » à cette volatilité des huiles essentielles sont liées leur caractère odorant et la possibilité de les obtenir par entraînement à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaunes pâle quand elles viennent d'être préparées, il existe cependant quelque exception (ex. huiles essentielles à azulène, de coloration bleu).
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 ; seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau : ce sont les huiles essentielles de cannelle, de Giroflier, de sassafras.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.
- Peu soluble dans l'eau, et soluble dans les solvants organiques[5,6].

## **II-7- COMPOSITION CHIMIQUE :**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et de constituant variables, qui appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part, elles peuvent également renfermer divers produits issus des processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatiles. [2] Exemples des structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles:

### **II-7-1. composés terpéniques :**

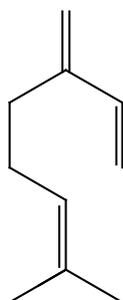
Ils sont formés d'unités isopréniques (en C<sub>5</sub>) et comprennent :

- Les monoterpènes (C<sub>10</sub>)
- Les sesquiterpènes (C<sub>15</sub>)
- Les diterpènes (C<sub>20</sub>)
- Les triterpènes (C<sub>30</sub>)

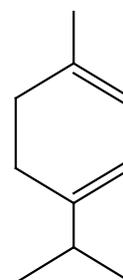
### **II-7-2. composés aromatiques dérivées du phénylpropane :**

Les huiles essentielles renfermant aussi des composés aromatiques plus particulièrement des composés « phénylpropanoïdes » dont la biogénèse est différente de celle des terpènes. [4,3,7]

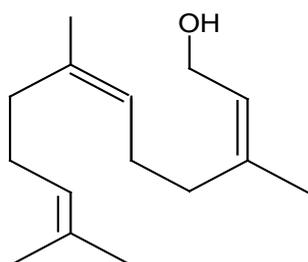
Exemples de structure de monoterpène acyclique et cyclique rencontrés dans les huiles essentielles



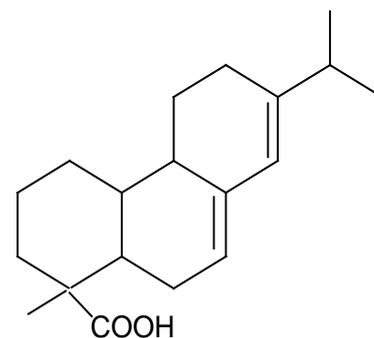
**Myrcène**



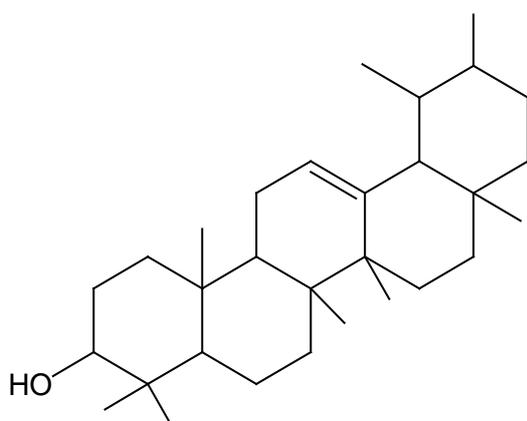
**$\alpha$ -Terpinène**



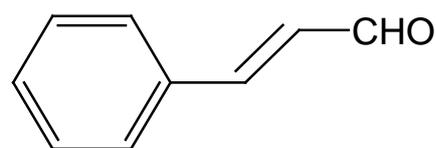
**Farnésol(sesquiterpène)**



**Acide abiétique(diterpène)**



**$\alpha$ -amyrine(triterpène)**



**Aldéhyde cinnamique**

**Remarque :** la composition chimique des huiles essentielles varie encore de façon appréciable avec le milieu, l'époque de la végétation ; elle peut se modifier au cours de l'obtention et durant la conservation (d'où la nécessité de les conserver dans des flacons bien bouchés, à l'abri de la lumière, et de les renouveler chaque année).

## II-8- LE CHEMOTYPE (familles biochimiques)

*LE CHEMOTYPE* (familles biochimiques), d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif présent dans l'HE. C'est l'élément qui permet de distinguer des HE. Extraites d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente. Cette classification capitale permet de sélectionner les HE. Pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Nous connaissons par exemple sous la même appellation botanique, deux grandes familles de thym subdivisées elles même grâce à la définition de leurs chémotypes respectifs.

### Quelques chémotypes et leurs propriétés :

monoterpènes	Stimulant du système immunitaire. Action révulsive sur la peau utile en cas des douleurs localisées : ils sont donc antalgiques à action percutanée. Leur utilisation doit être limitée dans le temps si non ils deviennent dermocaustiques et agressifs pour les muqueuses.[8]
monoterpénols	Composés anti-infectieux : bactéricides, virucides et. fongicides à utiliser parallèlement aux phénols selon les cas lors d'infection ; également excellent immunostimulants. Moins violents que les phénols ils sont des remarquables toniques généraux, le spécifiquement neurotonique moins hyperthermisants et hypertensifs, ils n'ont pas leur toxicité : non dermocaustiques, non hépatotoxiques. [8]
sesquiterpènes	Légèrement hypotenseurs, calmants et anti-inflammatoires. Les azulènes sont spécifiques donnant une couleur bleu sombre aux HE : excellents anti-inflammatoires [9] .
sesquiterpénols	Bons toniques et simulants généraux, ils sont peu anti-infectieux mais surtout immunostimulants[10]. Les HE contenant des sesquiterpénols agissent principalement sur le terrain des individus.
Phénols	Fortement anti-infectieux et immunostimulants. Ils agissent en hyper : hyperthermisants, hypertensifs[11]. Toniques à faible dose ils deviennent excitants à dose plus élevée. Les phénols doivent être utilisé prudemment et

	temporairement car ils sont irritants pour les muqueuses et hépatotoxiques à dose forte et répétée[3]., sur la peau les phénols sont irritants et dermocaustiques ; toujours les utiliser dilués sur une huile végétale.
Diterpénols	Régulateurs hormonaux en raison de leur structure voisine des hormones stéroïdes sexuelles humaines ; ils sont actifs même à faible dose[3].
Aldéhydes	Intermédiaire entre alcools et cétones. Ce sont surtout de bons anti-inflammatoires, ils agissent en hypo : calmants du système nerveux, hypothermisants et hypotenseurs. Toniques, anti-infectieux, ils peuvent irriter les muqueuses et la peau.
Acides	Les composés les plus anti-inflammatoires du règne végétal , ils sont hypothermisants, hypotenseurs. On les trouve principalement sous forme d'esters, c'est-à-dire combinés à des alcools.
Cétones	Composés très actifs physiologiquement, leur utilisation doit être bien contrôlée sinon elles deviennent rapidement toxiques. À faible dose les cétones agissent en hypo : elles sont calmantes, sédative, hypothermisants. A forte dose ou doses répétées elles sont neurotoxiques, stupéfiants et epileptisantes, voir abortives. Bon pouvoir de lyse sur les mucosités et les lipides, empêchent le sang de former des Caillots (anticoagulantes) et activent le processus de cicatrisation. Faiblement antiseptique mais fortement immunostimulantes. elles ont en plus des propriétés vermifuges les anti-mycosique. Il ne faut jamais les employer seuls, ni à haute dose, mis sur de longues périodes.
Esters	Allient les propriétés calmantes des cétones aux propriétés toniques des alcools d'où leurs propriétés anti-spasmodique et neurotoniques. Excellent rééquilibrant nerveux (antidépresseurs psychiques). Les esters sont très doux sur la peau et décongestionnent en cas de manifestations inflammatoires, en les utilise souvent car ils présentent peu de dangers.
Oxydes	Décongestionnants broncho-pulmonaires mucolytiques et expectorants. Propriétés assez spécifiques selon leur formule biochimique propre. Nombreux oxydes toxiques : stupéfiant (anéthol), neurotoxique et hépatotoxique (ascaridol) convulsivants (apiol et myristicine).

Lactones	Agissent en hypo : hypothermisant, elles ont une action mucolytique
	puissante que les cétones.
Diones	Antispasmodiques et anticoagulantes, moins toxiques que les cétones.

## II-9-Propriétés physiologique:

Le rôle physiologique des essences aromatiques et aujourd'hui mis en lumière par le progrès scientifique :

### II-9-1-La propriété antiseptique :

C'est-à-dire microbicide (tué microbes et virus pathogènes) elles s'affirment par endroit supérieurs aux « antibiotiques » classiques parce qu'elles ont une action bactériolytique et non pas simplement bactériostatique.

**II-9-2-La propriété de défloculation :** les H.E. sont défloculantes (solvantes), c'est-à-dire qu'elles « lysent » colles (mucosités visqueuses) et cristaux (noyaux durs) issus des métabolismes et engendrés par les excès de viande et d'amidons, causes profondes de la plupart des maladies, elles saponifient les viscosités insolubles et disloquent les congrégations dures leur permettant d'être entraînées par les plasmas circulants, elle normalisent ce qu'en naturopathie on appelle le terrain humoral.

### II-9-3-La propriété de diurèse :

fait fonctionner les 4 grands émonctoires (peau, avec ses 3 grandes reins, poumons et intestins), facilement drainage des déchets et résidus humoraux solubles et insolubles vers leurs émonctoires spécialisés.

**II-9-4-Le pouvoir osmotique :** s'emploie en cosmétique, en kinésithérapie,

## II-10- L'EXTRACTION :

La connaissance des méthodes d'extraction est indispensable pour permettre à partir d'une plante médicinale d'obtenir des huiles essentielles plus ou moins purifiées ou des produits purs utilisés en thérapeutique.

Les méthodes d'extraction permettant l'isolement de nombreuses molécules pures dont la connaissance est très utile pour : le contrôle chimique de la plante, l'étude de la biosynthèse de certains groupes chimiques et la compréhension de l'activité modulée de certains extraits par rapport au produit pur responsable de l'activité. [12]

Parmi les divers procédés d'extraction des huiles essentielles, on peut citer:

### II-10-1-Entraînement à la vapeur d'eau :

La plante ou partie de la plante souvent contusée et placée dans un alambic est traversée par un courant de vapeur d'eau, les principes volatils peu solubles dans l'eau sont entraînés, après

condensation, séparés du distillation par décantation. Celle ci s'effectue dans un récipient spécial ou vase florentin (de type différent selon qu'il s'agit, d'une essence plus légère au plus lourde que l'eau). [1]

Cette méthode est plus spécialement utilisée pour séparer des mélanges de liquides non miscibles. [13]

### **Hydrodistillation :**

L'Hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. [2]

### **II-10-2- Expression à froid:**

Le principe de la méthode est très simple : « les Zestes » sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompues est récupéré par un procédé physique. [14]

Le procédé classique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Après élimination des déchets solides. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation. [2]

Touts les systèmes d'extraction à froid des essences d'agrumes sont basés sur le principe de la rupture ou de la dilacération des parois des poches oléifères et sur l'effet de la pression naturelle du contenu de ces poches sur leur paroi. En relation avec le système utilisé pour la rupture de cette paroi, on a à faire soit à des procédés agissant sur le fruit entier, soit des procédés agissant sur le fruit découpé en deux ou plusieurs quartier et débarrassés de l'endocarpe (après extraction du jus). [15]

### **II-10-3-Extraction au CO<sub>2</sub> «extraction par des gaz supercritiques »:**

Dans cette technique un courant de CO<sub>2</sub> à fort pression fait éclater les poches à essences et entraîne les huiles essentielles [16].

### **II-10-4-En fleurage :**

les organes fragiles (fleurs d'orange, pétales de rose) sont mis en contact à la température ambiante avec un corps gras (Saindoux) qui se sature en essence au bout de quelques jours. La pommade obtenue est épuisée par l'alcool absolu (dans lequel les corps gras sont très peu solubles). L'alcool est ensuite évaporé sous vide. [1]

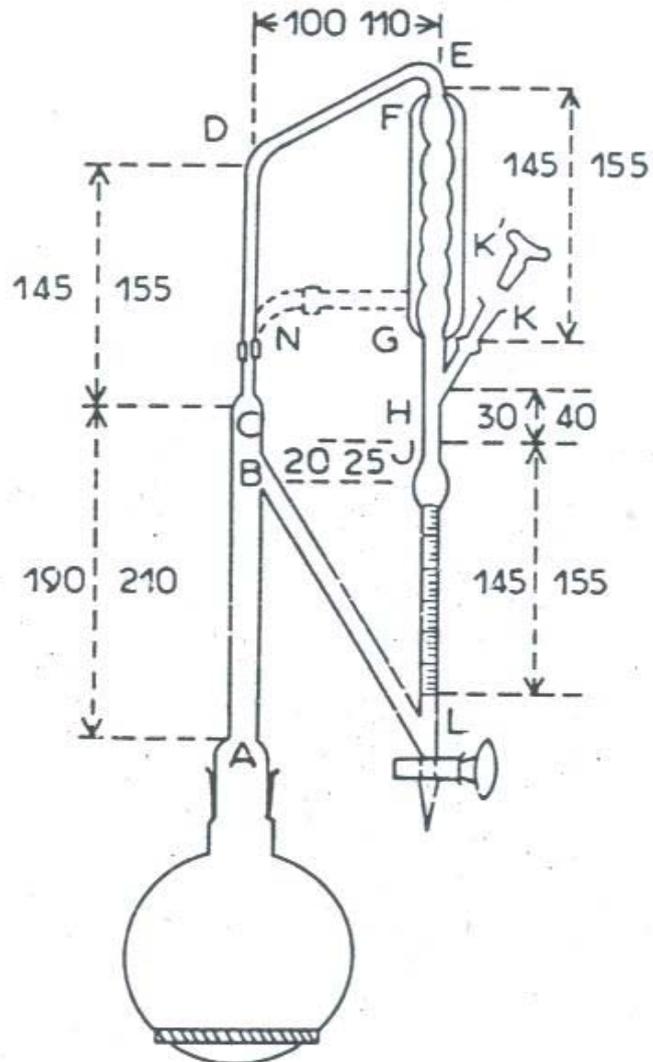
Ce dosage s'effectue par entraînement à la vapeur d'eau. Dans un appareil standard, de dimensions déterminées et dans des conditions bien précises (voir figure) :

Un poids de drogue est placé dans le ballon A, a fond rond et à col rodé, avec 300ml d'eau.

Un appareil de condensation B s'adapte sur le ballon, il comprend diverses pièces soudées: tube vertical AC, tube codé CDE.

Réfrigérant à boules FG, divisé en vingtièmes de ml et fermé par un robinet.

Un tube de communication relie la base du tube gradué au tube AC et permet à l'eau saturée d'essence de retomber dans le ballon. Le volume des huiles essentielles moins denses que l'eau ou de densité voisine



**Schéma :2 ; Appareil de Clavenger**

## **II-11- Emploi des huiles essentielles :**

**II-11-1. En pharmacie :** les drogues à huiles essentielles peuvent être utilisées :

❖ Pour leurs actions physiologiques :

➤ En nature (menthes, verveine, camomille) ; pour préparations d'infusions.

➤ Pour l'extraction de l'essence ; l'usage est externe ou interne, dans ce dernier cas, rappelons qu'il faut être prudent car la plupart des huiles essentielles ne sont pas dénuées de toxicité ;

❖ Pour les isolement de certains constituants (eugénol, anéthol, etc...)

❖ Comme excipients de nombreux médicaments (adjuvants ou aromatisants)

❖ Pour leur activité thérapeutique :

Les huiles essentielles utilisées en thérapeutique, au nombre d'une certaine environ sont des substances ayant une part importante dans les traitements phyto-aromathérapeutiques leur activité est maximale à condition d'être convenablement utilisées sous des formes pharmaceutiques adaptées.

### **a- pouvoir antiseptique :**

Ce pouvoir antiseptique s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris des souches habituellement antibio-résistantes. Certaines huiles essentielles sont également actives sur les champignons responsables de mycoses et sur des levures (candida). Les doses actives sont en général faibles et celles qui sont déterminées par une expérimentation in vitro sont directement transposables pour une utilisation par voie externe ou fortiori, comme conservateur. Sarriette, cannelle thym, girofle, lavande, eucalyptus sont en nombre des H.E. les plus antiseptiques. Des composés comme le linalol, le citral, le géraniol ou le thymol sont respectivement 5 – 5,2 – 7,1 - et 20 fois plus antiseptiques que le phénol. [1]

### **b- Antispasmodique et sédatives :**

De très nombreux drogues à huiles essentielles (menthe, verveine...) sont réputés efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux. amélioration de certains insomnies et de troubles psychosomatiques divers, diminution de la « nervosité ».

### **c-Actions irritantes :**

Utilisés par voie externe, les produits comme l'essence de térébenthine provoquent une augmentation de la microcirculation, une rubéfaction importante, une sensation de chaleur et, dans certains cas, une légère action anesthésique locale :

## **II-11-2-Dans l'industrie:**

### **a- En parfumerie et cosmétologie:**

C'est le débouché principal des huiles essentielles, des concrètes, des absolues et autres résinoides fournis par ces drogues. L'industrie des cosmétiques et le secteur des produits

d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulation de grande diffusion, les produits synthétiques. A la limite de la pharmacie et des produits d'hygiène, on notera la présence d'huiles essentielles dans les préparations pour bains (bains "calmants" ou "relaxants").

❖ De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des "bases" de parfums irremplaçables Ex: Rose, Jasmin, Vétiver, etc.... [1]

#### **b- Dans les industries agro-alimentaires:**

Si certaines drogues sont utilisées en nature (épices et aromates), d'autres le sont sous forme d'H.E. au cours des dernières décennies, la réfrigération s'est substituée aux épices pour assurer la conservation des aliments, le développement de nouvelles pratiques culinaires (plats préparés, préparations surgelées industrielles, etc.) le goût pour l'exotisme (et le marketing), les qualités gustatives des produits d'une agriculture intensive et d'autres facteurs conduisent à une augmentation rapide de la consommation de ces aromatisants naturels.. [1, 17]

## **II-12-QUELQUES DOMAINE D'APPLICATION DES HUILES ESSENTIELLES :**

Les essences végétales de plantes sont naturellement actives, à l'encontre des produits de synthèse, elles présentent des garanties d'efficacité indiscutables, l'hygiène et de santé.

#### **a- En usage interne :**

Par voie orale : le milieu interne (estomac, intestins) reste celui qui permet un rayonnement instantané pour ne pas dire immédiat des principes actifs des essences naturelles de plantes

#### **b-En usage externe :**

En massage par application directe sur la peau, et bains, Il faut insister afin de bien faire pénétrer les essences et qu'ainsi les principes aromatiques puissent produire tous leurs effets.

## **II-13- ATTENTION AUX HUILES ESSENTIELLES :**

1. Les huiles essentielles ne doivent pas être appliquées sur les muqueuses ou sur les yeux.
2. La majorité des huiles essentielles ne doivent pas être appliquées pures sur la peau mais diluées.
3. Certaines huiles essentielles peuvent être irritantes pour les peaux sensibles ou créer une réaction allergique.
4. D'une manière générale, l'usage d'huile essentielle déconseillée pour les femmes enceintes et les sujets épileptiques, Les sujets ayant des problèmes du cœur.
5. Pour l'emploi des huiles à objectif thérapeutique, nous conseillons de consulter un médecin aromathérapeute.

## **Bibliographie :**

- [1] Paris M. et Hurabielle M. "Abrégé des Matières Médicinales" (pharmacognosie) Tome 1, édition Masson, Paris (France) **1981**.
- [2] Jean Bruneton "pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales" 3<sup>ème</sup> édition **1995**.
- [3] J. Bruneton "pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec. Et Doc. Lavoisier. 3<sup>ème</sup> édition. **1999, P: 484-488**.
- [4] M. Paris. Abrégé de matière médicale, pharmacognosie. Ed. Masson. **1981, p: 182-194**.
- [5] Paris RR. et Myose H, Matières médicinales. Tome 1, édition Masson , 2<sup>ème</sup> édition Paris, **1976**.
- [6] Belaiche P, traité de phytothérapie et aromathérapie, Tome 2, Maloine S. A. Editeur Paris **1976**.
- [7] J. L. Guignard, L. Cosson et M. Henry. Abrégé de phytochimie. Ed. Masson. **1985, P:155**
- [8] D. G. Gram et G. S. Hammoud. Chimie organique. 2<sup>ème</sup> édition, Quatier- Villars. **1968, P:918- 930**.
- [9] A. D. Kinghorn et M. F. Balandrin. Human agents from plants. **1993, P: 284-285**.
- [10] C. Alan. Spivey, Matthew Weston and Steven Woodhead. Celasteraceae sesquiterpenoids: Biological activity and synthesis. Chem. Soc. Rev. **2002, 31(1), P: 43-59**.
- [11] J. M. Kornprobst. Chimie marine pour le développement. **1985, P: 203**.
- [12] Balansard G, Maillard C, Vidal-olivier E , Méthodes d'extraction en vue d'obtention des extraits au produits purs à partir des plantes médicinales. Editions Techniques, Encycl. Méd. Nat (Paris) phytothérapie, aromathérapie **1991**.
- [13] Ghérin H "chimie M.P.C. préparation aux grandes écoles Dunod" édition Paris **1963**.
- [14] Roberto chiej "Les plantes médicinales" solard édition **1982**.
- [15] Kobert K "systematic experiments of the antiseptic action of ethereal oils" pham. Ztg. **1906**.
- [16] M.M. Sonwa. Isolation and structure elucidation of Essential oil constituents. Comparative study of the oil of cyperus alopecuroides, cyperus papyrus, and cyperus rotundus. Dissertation for the fulfilment of the requirements foe the degree of Dr. Rev. Nat. Mbamougong(Cameroon) Hamburg **2000**.
- [17] Belaiche P , Historique et prescription en aromathérapie **1991**.

# CHAPITRE III

## PARTIE EXPERIMENTALE

### DE L'ESPECE

#### XANTHIUM STRUMARIUM

## **I-MATERIEL ET METHODES**

### **I-1-Matériel végétal**

La plante est cueillie dans la région de Annaba (Sidi Ammar), La récolte a été effectuée au mois d'octobre 2005.

Notre recherche phytochimique a été faite sur les parties aériennes sèche de la plante feuilles, et graines .

### **I-2-Tests préliminaires de la composition chimique**

Les tests ont été réalisés sur les différentes parties de plante : partie aérienne (feuilles, tiges, graines) et la partie sous terrainne (racines).

#### **a- Alcaloïdes**

Prendre 10 g de la poudre sèche et l'extraire avec 50 ml de HCl dilué à 1%. Rendre l'extrait basique avec une solution de  $\text{NH}_3$  puis extraire le mélange 03 fois avec 20 ml de  $\text{CHCl}_3$ . Evaporer la phase organique puis dissoudre le résidu dans 2 ml de HCl dilué à 1%.

Ajouter à la solution 3 gouttes du réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des Alcaloïdes.

#### **b- Flavonoides**

Macérer 10 g de la poudre sèche dans 150 ml de HCl dilué à 1% pendant 24 h. filtrer et procéder au test suivant : prendre 10 ml de filtrat, le rendre basique par l'ajout de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . L'apparition d'une couleur jaune claire dans la phase supérieure du tube à essai indique la présence des flavonoides.

#### **c- Tanins**

Prendre 10 g de poudre sèche, l'extraire avec une solution aqueuse de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  1%. Filtrer, tester le filtrat avec quelques gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$ . L'apparition d'une couleur verte indique la présence des tanins.

#### d- Saponosides

Prendre 2 g de poudre sèche, la mettre à ébullition dans 80 ml d'eau distillée, filtrer et refroidir la solution, agiter le filtrat. L'apparition d'une mousse qui dure quelques instants indique la présence des saponines.

#### e- Cardénolides cardiotoniques

Macérer 1 g de poudre sèche dans 20 ml d'eau distillée, filtrer, prélever 10 ml de filtrat, l'extraire avec un mélange de 10 ml de  $\text{CHCl}_3$  et de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ . Evaporer la phase organique et dissoudre le résidu dans 3 ml de  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , ajouter quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  suivi de 1 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré sur les parois du tube à essai. L'apparition d'une couleur vert-bleue dans la phase acide indique la présence des cardénolides

#### f- Stérols et terpènes

Pendre 5g de la poudre sèche, la dissoudre dans 210ml d'éther de pétrole, filtrer puis évaporer; le résidu obtenu est dissout dans 0,5 ml d'acide acétique et ensuite dans 0,5ml de  $\text{CHCl}_3$ .

Les deux solutions sont transférées dans un tube à essai, puis on ajoute 1ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré. Dans la zone de contact entre les deux liquides, un cercle violet ou marron est formé puis devient gris, ceci indique la présence des stérols et terpènes.

Le tableau 1 : suivant rassemble les résultats des tests indiquant la composition chimique de la plante *Xanthium strumarium*

**Tableau 1:** Résultats des tests préliminaires de la composition chimique de la plante.

Partie utilisée Composition chimique	<i>Feuille</i>	<i>Tige</i>	<i>Graine</i>	<i>Racine</i>
<b>Alcaloïdes</b>	+	-	+	-
<b>Flavonoïdes</b>	+	-	+	+
<b>Tanins</b>	+	+	+	+
<b>Saponosides</b>	+	+	+	+
<b>Cardénolides</b>	+	+	+	+
<b>Stérols et terpènes</b>	+	+	+	+

(+):positive , (-):négative

### I-3-Méthode d'extraction :

Une fois la plante cueillie, elle est mise dans un endroit sec et à l'abri de la lumière afin de la sécher. Le matériel végétal, obtenu à partir des feuilles et graines et racines sèches, puis on suite les étapes suivantes :

1/ bien broyer la plante.

2/ mettre la plante broyée dans un bécher avec un peu d'éther de pétrole pour la délipidation et filtrer (cette opération est répétée trois fois)

3/ ajouter le (MeOH / H<sub>2</sub>O / 7/ 3) pendant 48h (3fois) c'est a dire ajouter sur le bécher le (méthanol-eau) 7/ 3 pendant 48h (laisser 48h puis filtrer), récupérez l'extrait hydro alcoolique (Me OH/H<sub>2</sub>O), (faite trois fois)

4/ ensuite recueillir l'extrait hydro alcoolique et évaporer à 35°C

5/ ajouter de l'eau distillée et filtrer pour se débarrasser des résidus : poussière chlorophylle

6/ on ajoute au filtrat phase aqueuse dans une ampoule à décanter l'éther de pétrole : c'est une extraction (liquide - liquide)

7/ prendre la phase aqueuse lui ajouter le CHCl<sub>3</sub> (c'est-à-dire dans une ampoule a décanter)

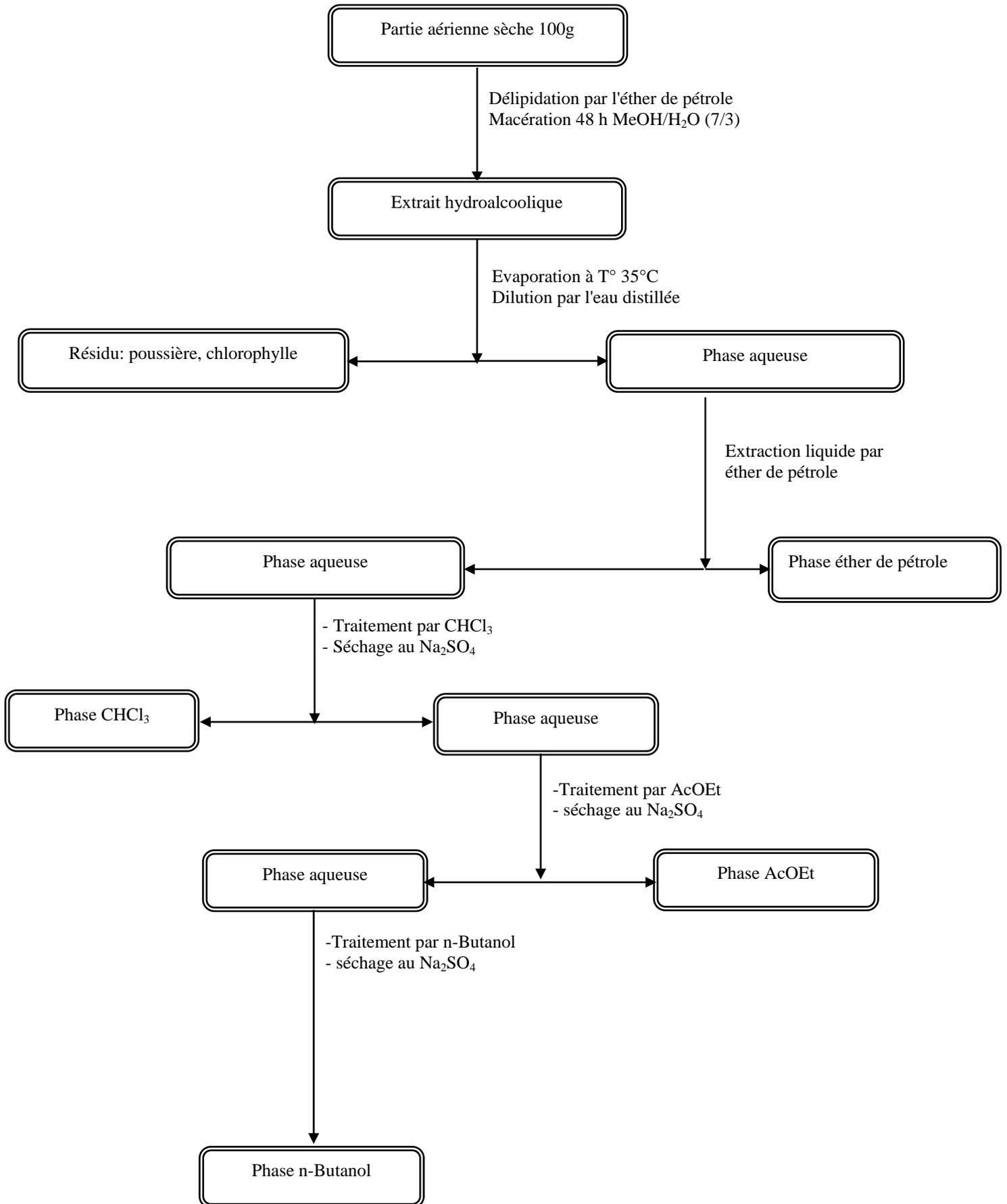
8/ récupérer la phase organique on ajoute Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour éliminer l'eau, on obtient une phase organique CHCl<sub>3</sub>.

9/ récupérer la phase aqueuse lui ajouter acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter.

10/A la phase acétate d'éthyle on ajoute Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour éliminer l'eau et en pèse.

11/ la phase aqueuse on lui ajoute le n-butanol, c'est-à-dire une extraction (liquide- liquide) avec le n-butanol, puis on ajoute Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour éliminer l'eau

Le schéma n°1 récapitule les différentes étapes de l'extraction. [1]



**Schéma 01: protocole de l'extraction**

L'extraction faite sur la partie aérienne (feuilles, graines) et la partie sous terrain (racines)  
 Les résultats d'extraction de chaque partie de la plante sont enregistrés dans les tableaux suivants:

**Feuilles:**

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
100g (feuilles)	Extrait CHCl <sub>3</sub>	0,71	0,71
	Extrait AcOEt	0,41	0,41
	Extrait n-BuOH	5,65	5,65

**Tableau 2 :** Résultat de l'extraction du feuilles

**Graines:**

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
100g (Graines)	Extrait CHCl <sub>3</sub>	0.09	0.09
	Extrait AcOEt	0,5	0,5
	Extrait n-BuOH	4,20	4,20

**Tableau 3 :** Résultat de l'extraction du Graines

**Racines:**

Matériel végétal	Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
100g (Racines)	Extrait CHCl <sub>3</sub>	0,26	0,26
	Extrait AcOEt	0,18	0,18
	Extrait n-BuOH	0,41	0,41

**Tableau 4 :** Résultat de l'extraction des racines

## I-4-Séparation chromatographique et Identification de produit isolé

### I-4-1-Séparation chromatographique de l'extrait chloroforme du feuille :

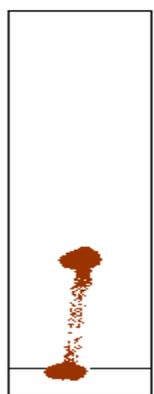
Le chloroforme est un solvant de polarité moyenne, il est sensé entraîner les composés semi polaires, notamment les terpénoïdes.

Avant d'entamer la séparation par chromatographie sur colonne de ce type de composés, nous avons procédé à la recherche du meilleur système d'élution par chromatographie sur couche mince de gel de silice déposée sur feuille d'aluminium.

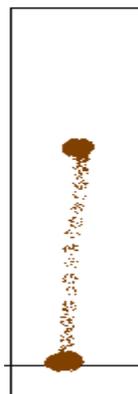
La meilleure séparation obtenue lors de cette analyse utilise l'éther de pétrole et l'éther diéthylique. Les chromatogrammes obtenue pour ce système de solvants dans les proportions 1 : 1 et 3 : 7 sont donnés ci-après :

**Chromatogramme1** : chromatogrammes de l'extrait chloroformique obtenus dans le système de solvants éther de pétrole-éther diéthylique.

1 : 1



3 : 7



#### I-4-1-1- Chromatographie sur colonne :

D'après le chromatogramme 1, l'éluant: éther de pétrole/ éther diéthylique donne le meilleur séparation ce qui nous encouragée à continuer notre séparation avec ses deux solvants comme phase mobile en Chromatographie sur colonne et en les utilise en gradient de polarités , et le gel de silice comme phase stationnaire.

Ainsi 0,7g de l'extrait chloroformique sont déposés sur la colonne de gel de silice préparés dans l'éther de pétrole. L'élution est donc réalisées par le mélange éther de pétrole / éther diéthylique avec des polarités croissantes et un fractionnement de 50ml en commençant par l' éther de pétrole pur et en terminant par l'éther diéthylique pur.

Le suivi de la composition est effectuée par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support aluminium et les plaques sont observées sous UV et les vapeurs d'iode.

Les fractions de même sont réunies ce qui nous a mené aux 10 spots.

Le tableau 5 suivant résume tous les travaux :

Tube	Fraction	Eluant	observation
1 – 6	F1	Ether de pétrole 100%	Aucun
6 – 10	F2	EP(80)/ED(20)	Aucun
11 –15	F3	EP(70)/ED(30)	Aucun
16 – 18	F4	EP(30)/ED(70)	Mélange complexe
19 – 20	F5	EP(30)/ED(70)	1- seule tache
21 – 24	F6	EP(30)/ED(70)	Trois taches
25 – 28	F7	EP(80)/ED(20)	Mélange complexe
29 – 38	F8	EP(80)/ED(20)	Trois taches
39 – 41	F9	EP(90)/ED(10)	Aucun
41 – 50	F10	ED (100%)	Mélange complexe

**Tableau 5**

Les fractions sont contrôlées par CCM analytique de gel de silice sur support aluminium. Le choix de l'éluant est établi après avoir essayé plusieurs systèmes d'élution. L'éluant qui a donné le meilleur résultat est le suivant :

EP / ED dans les proportions : 2 : 1 en volume pour les fractions moins polaires.

EP / ED dans les proportions 1: 2 en volume pour les fractions polaires.

Les plaques sont observées sous lumière UV- visible (254) et les vapeurs d'iode.

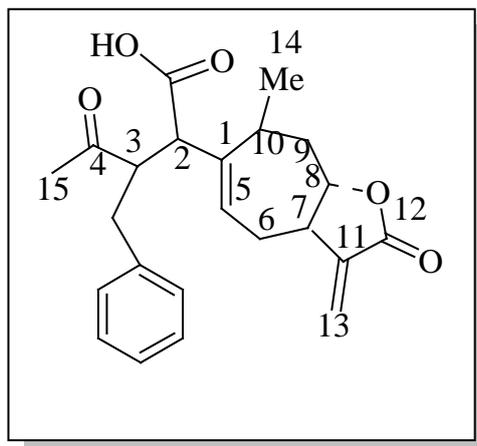
Parmi les dix fractions, nous nous sommes intéressés uniquement à la fraction F<sub>5</sub> qui donne une seul tache en CCM.

Donc, la fraction F<sub>5</sub> est évaporée sous pression réduite pour donner le produit A sous forme huileux.

### I-4-1-2-Identification de produit isolé :

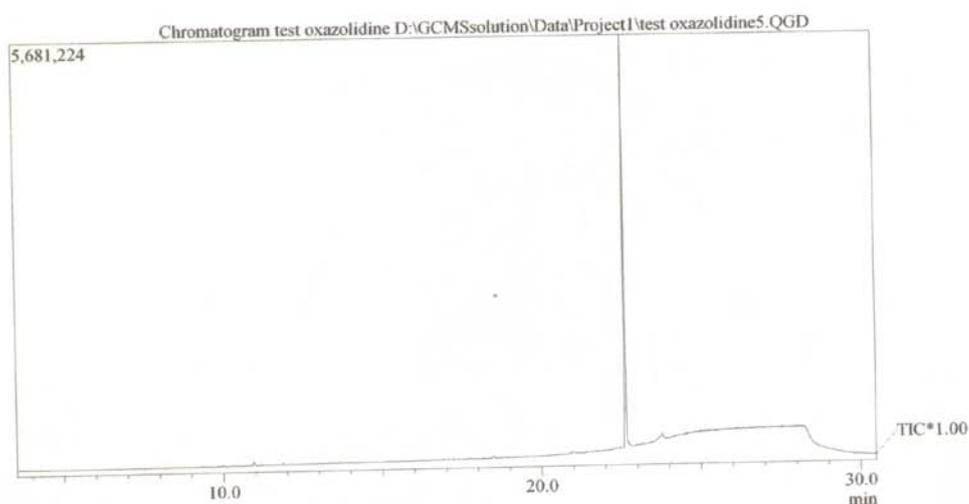
#### a- produit A

Le produit est analysés sur un appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse ou le chromatogramme montre un pic avec une bonne résolution. Donc le produit est identifiés comme un sesquiterpène lactonique grâce à la banque de donnée de l'appareil, de formule brute  $C_{23}H_{26}O_5$ , et de formule développée comme suite :

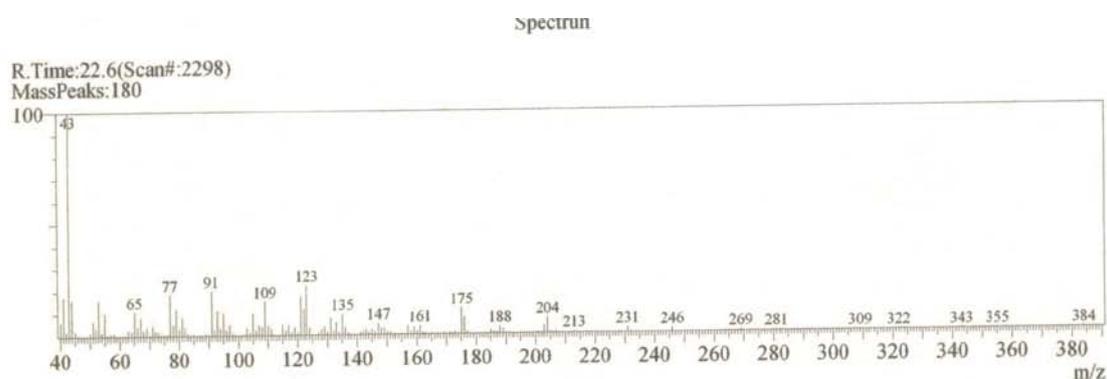


**3-benzyl, xanthosine acide**

### Chromatogramme 2

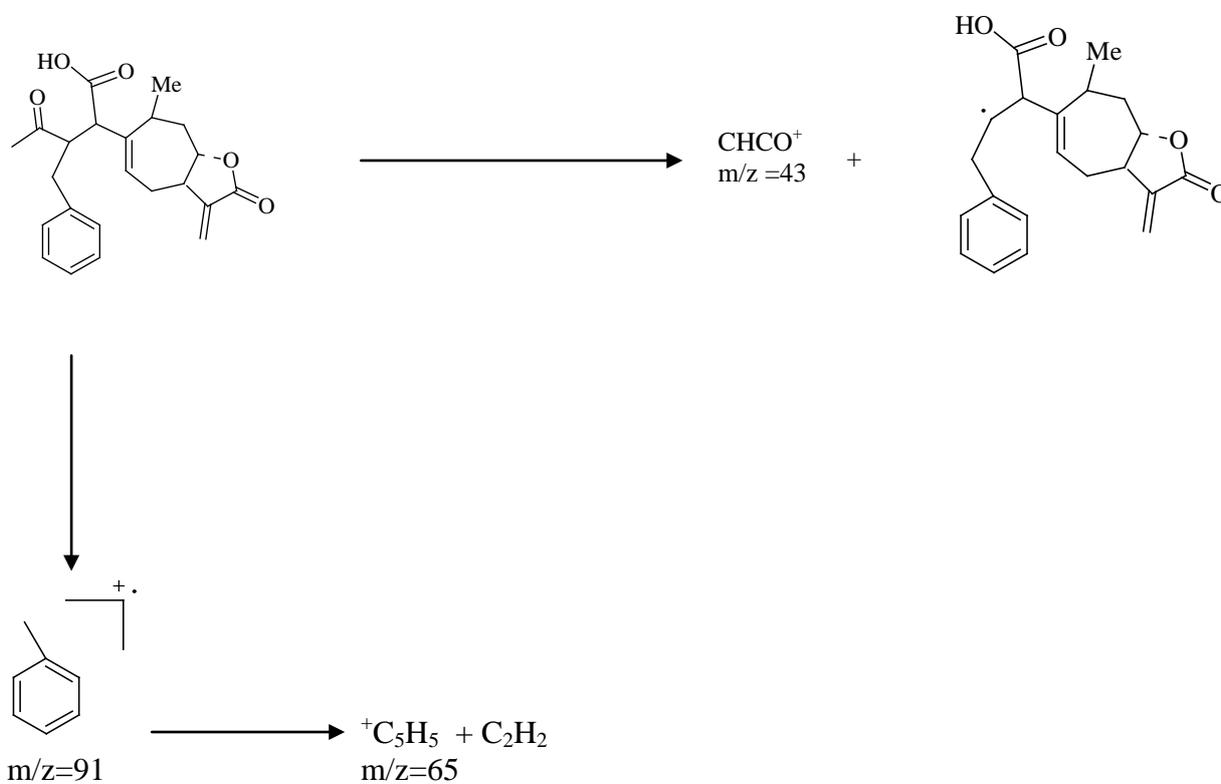


## Spectre de masse du produit A:



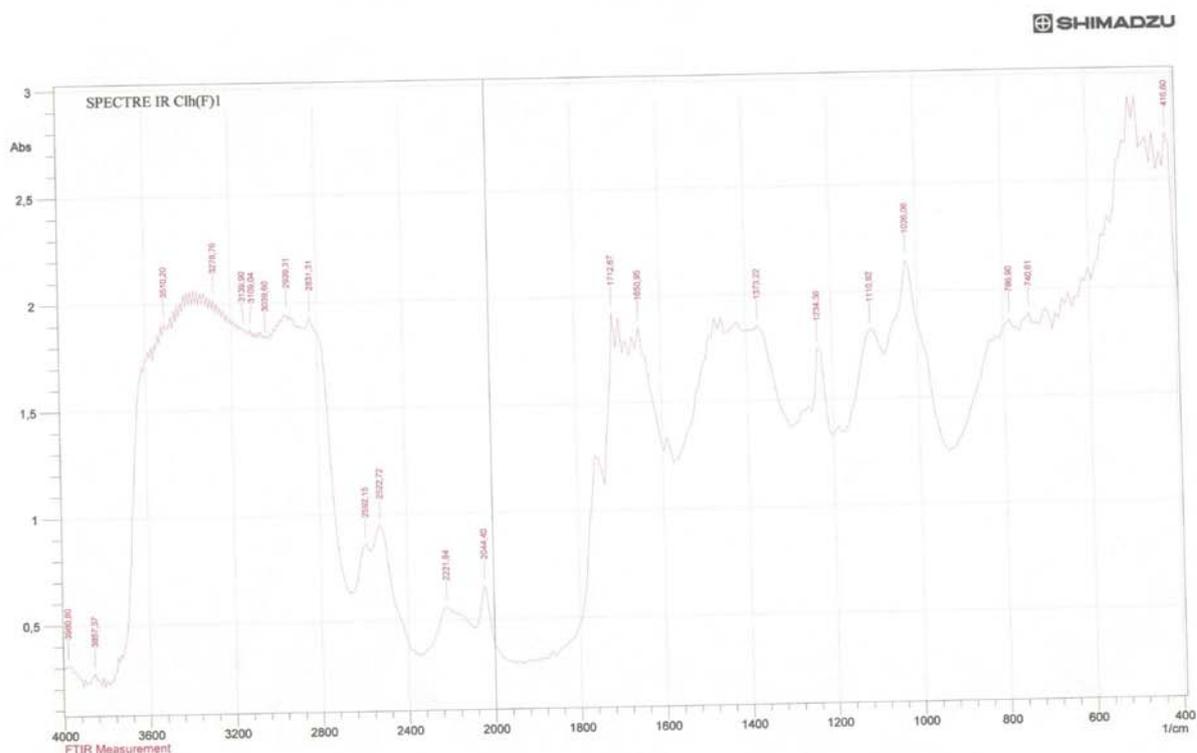
Le spectre de masse ne permet pas d'observer l'ion moléculaire du produit A, uniquement les fragments qui sont apparus.

Interprétation des différents fragments du spectre de masse :



La spectroscopie IR (spectre N :2) permet nous confirmer ce résultat et les bandes caractéristiques sont:

- Une bande large avec forte absorption à  $3278,76\text{ cm}^{-1}$  caractéristiques d'un acide.
- Une bande d'absorption à  $1712,67\text{ cm}^{-1}$  caractéristique d'une lactone sesquiterpénique  $\alpha, \beta$  insaturés et du C=O du carbonyle.
- Une bande d'absorption à  $1026,06\text{ cm}^{-1}$  caractéristiques de la fonction C - O.
- Une bande d'absorption à  $740,61\text{ cm}^{-1}$  caractéristiques du benzène monosubstitué.



*Spectre IR du produit A*

#### **I-4-2- Identification de composés isolés de l'extrait n-Butanol du graines du *xanthium strumarium*:**

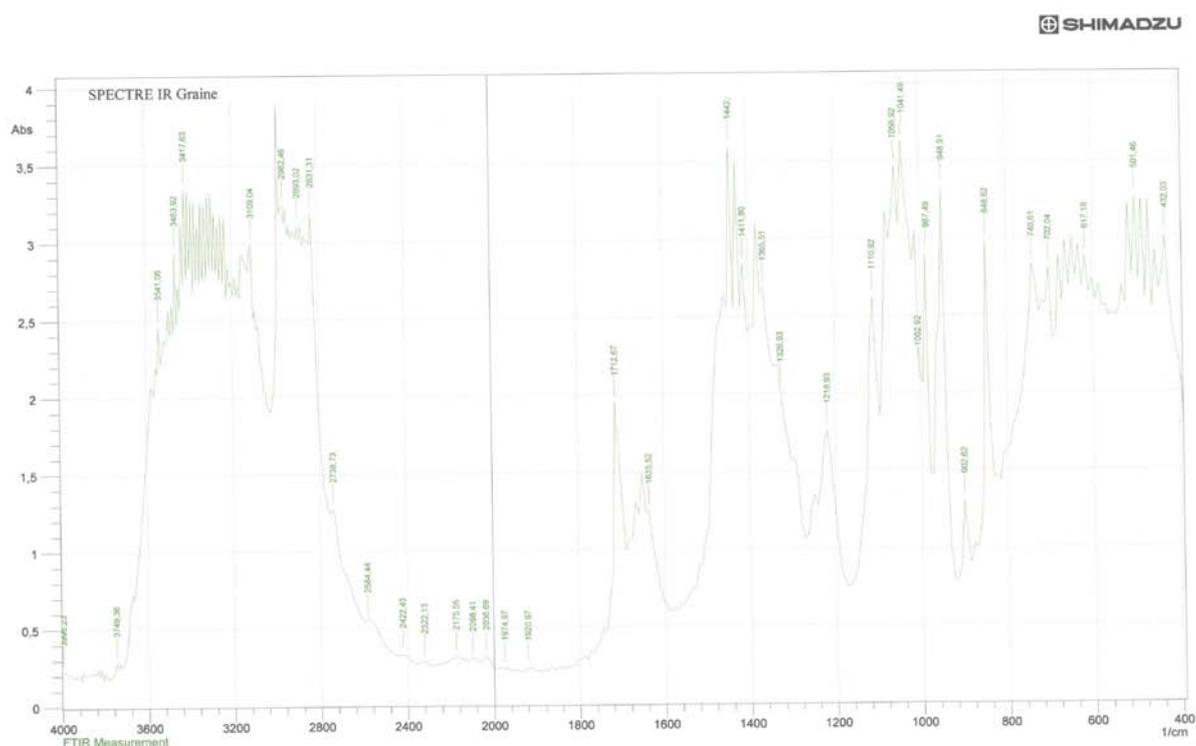
L'extrait n-Butanol des graines qui donne une quantité énorme égale 4,20g à partir de 100g de poudre sèche donne un produit majoritaire qui a été cristallisé sur le MeOH après dissolution de l'extrait n- Butanol sur ce dernier, ce produit donne une tache majoritaire sur plusieurs éluants essayées, ce produit est nommé B

##### **a- Spectroscopie IR**

Le spectre IR du produit B montre:

- Une bande d'absorption large est forte à  $3417,63\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de OH
- Une bande a  $1712,67$  et  $1635,52\text{ cm}^{-1}$  caractéristique d'une cétone conjuguée avec une double liaison C=C.

- Une bande à  $1041,49\text{cm}^{-1}$  caractéristique d'une fonction C-O.
- Une bande à  $848,62\text{ cm}^{-1}$  caractéristiques d'un benzène.



### *Spectre IR du produit B*

#### *Spectroscopie RMN du produit B :*

Entre  $\delta = 6$  et  $\delta = 7,5$  ppm en remarque la présence des signaux équivalents à un proton de cycle benzénique et les protons de double liaison C=C sous forme de massif.

Un signal sous forme d'un singulier d'intégration 2H à  $\delta = 3,20$  ppm attribuable a H<sub>2</sub>

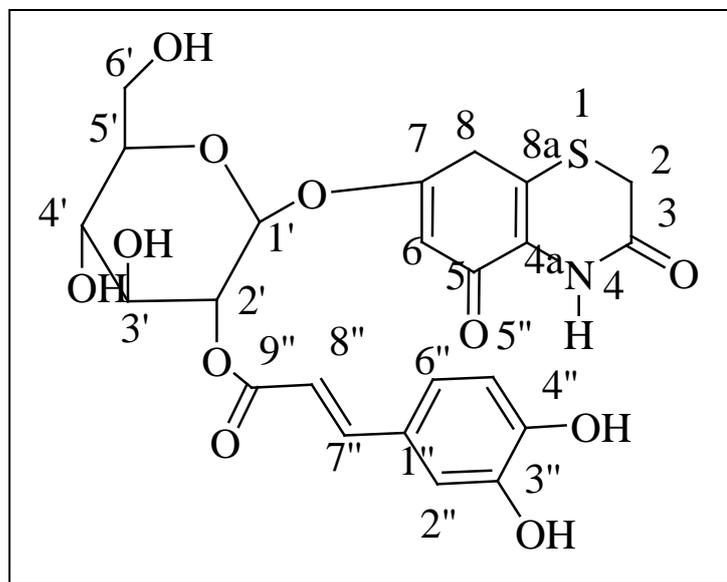
Un signal sous forme d'un singulier d'intégration 2H à  $\delta = 2,5$  ppm attribuable a H<sub>8</sub>

Un signal sous forme d'un singulier d'intégration 1H à  $\delta = 6,15$  ppm attribuable a H<sub>6</sub>

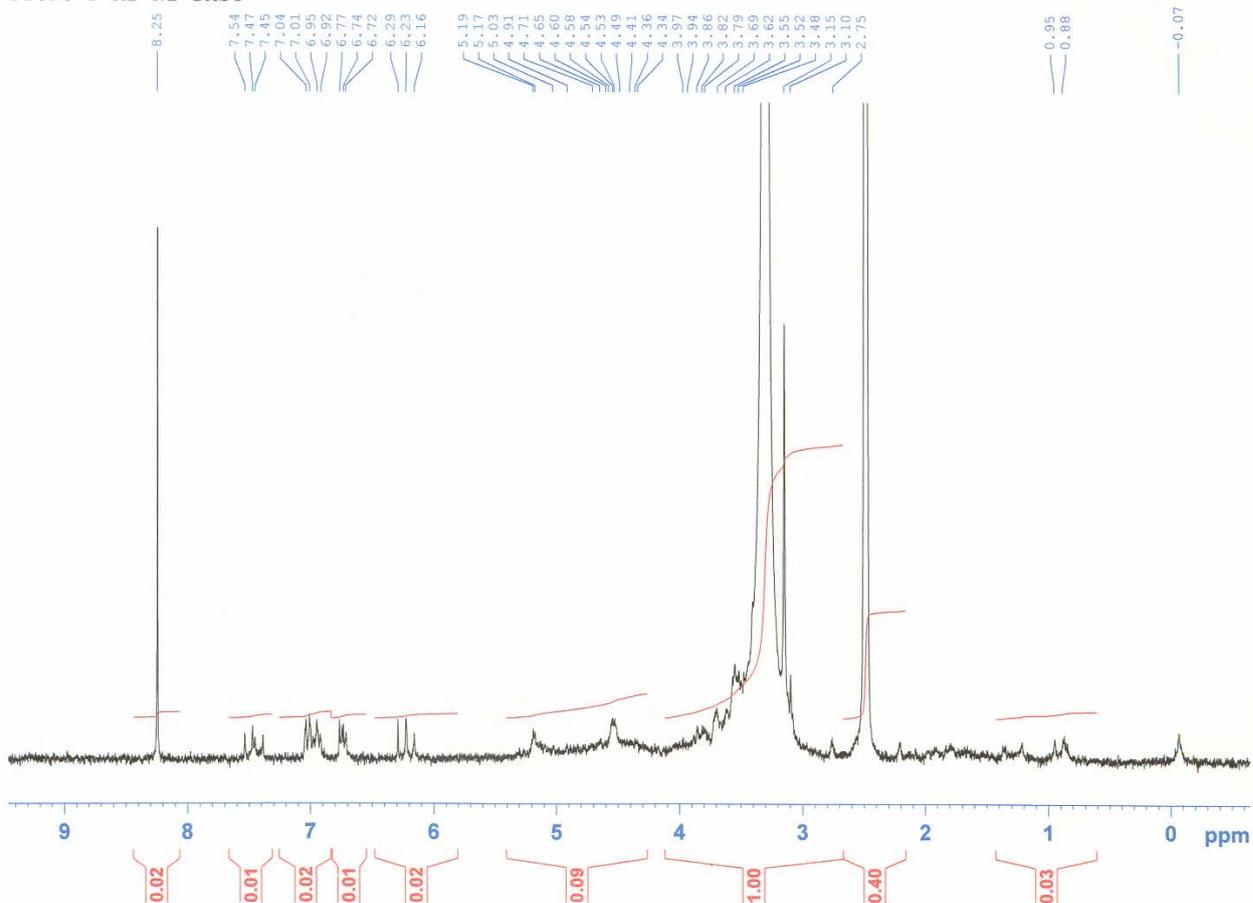
Les signaux de groupements pyranosyle apparaissent entre 3,30 et 5,20 ppm

Un signal sous forme d'un singulier d'intégration 1H à  $\delta = 8,25$  ppm attribuable a H<sub>4</sub> (NH).

D'après les spectres de IR et RMN et en se basant sur les données bibliographiques [2], la structure proposée est la : **7- Hydroxy -4,8 dihydrobenzol[1,4]thiazine-3,5-dione(2-O-caffeoyl)- $\beta$ -D-glycopyranoside**



DICKO P AB N1 DMSO



*Spectre RMN<sup>1</sup>H du produit B*

### **I-4-3- EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES DE LA PLANTE:**

#### **I-4-3-1- L'HYDRODISTILLATION**

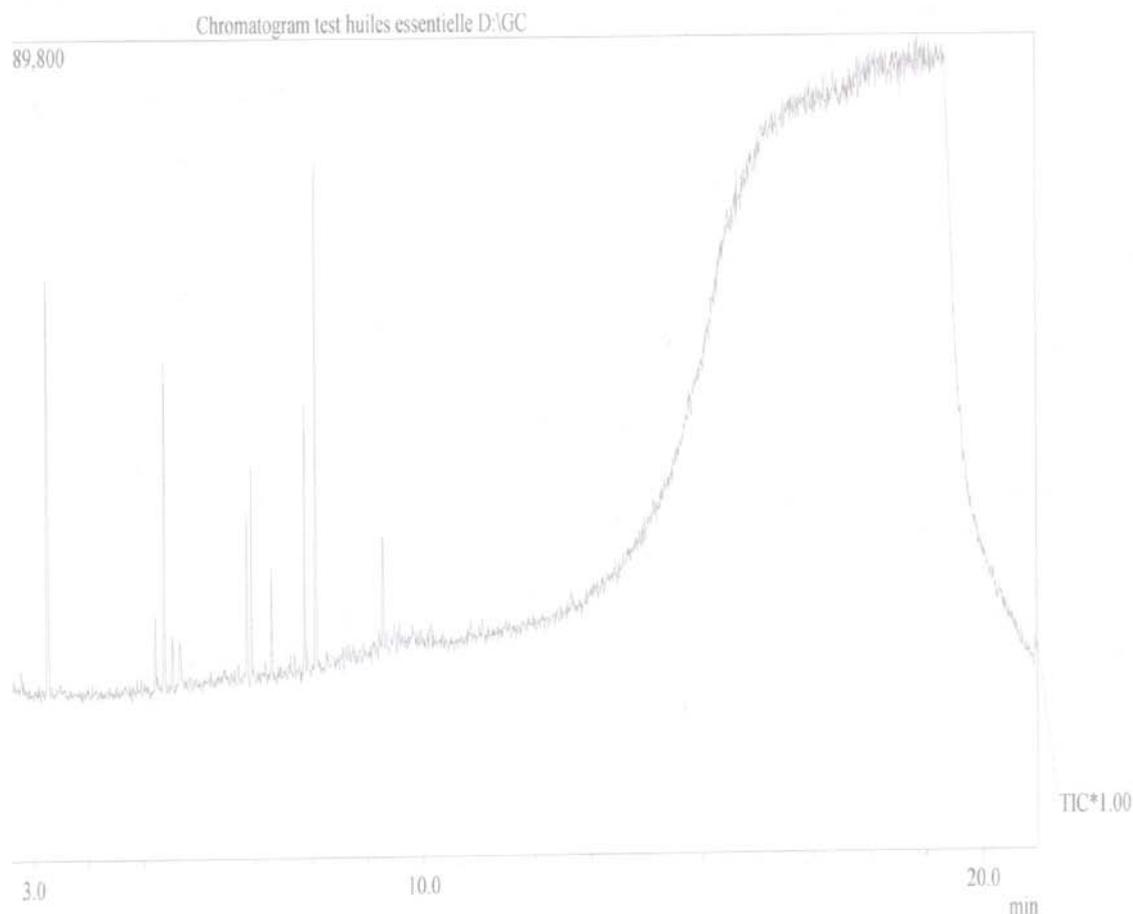
Les feuilles de la plante donnent une odeur très agréable après avoir dilacérés par les doigts de la main ce qui nous encouragé de chercher un autre métabolite secondaire qui est les huiles essentielles, donc pour cela une quantité de 110g du feuilles sèches du cette plante est soumises à une hydro- distillation par entraînement à la vapeur d'eau.

L'appareil utilisée est représentée dans le schéma :2 (page 47).

#### **I-4-3-1-2- Méthode d'analyse :**

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse à été effectuée sur un appareil schimadzu dans une colonne capillaire semi polaire, la température à été programmés de 80° pendant 2min avec une vitesse de 15C<sup>0</sup>/min .T<sup>0</sup> de détection est de 280C<sup>0</sup> ,utilisée l'hélium comme gaz porteur.

Les résultats d'analyses mentionnés dans le chromatogramme n°3



**Chromatogramme N:3: CPG des huiles essentielles du feuilles du *Xanthium strumarium***

## **Discussion:**

D'après le chromatogramme on trouve qu'on a identifiés 11 produits (constituant des huiles essentielles des feuilles du *Xanthium strumarium*)

## **II- GENERALITES SUR LES BACTERIES :**

### **II-1- Définition:**

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires qui n'appartiennent ni au règne animal ni au règne végétal. Elles sont présentes un presque partout : l'air, le sol, l'eau, la peau...; elles peuvent vivre de façon autonome dans la nature, pour cela elles prélèvent la nourriture dans le milieu environnant. [3]

Certaines sont des microbes qui provoquent des maladies « rhume, listériose » mais d'autres sont très utiles à l'homme comme les bactéries présentes dans l'intestin qui aident à digérer et les bactéries utilisées dans la fabrication des aliments «yaourts...» .

Leur classification se base sur leurs morphologies (sphère, bâtonnets ou spirales), leur affinité à la coloration de gram (gram+, gram-) et leurs caractères cultureux (aérobies ou anaérobies). Une bactérie est composée [4].

- D'un noyau, contenant dans un seul chromosome, le patrimoine génétique de la cellule.
- D'un cytoplasme, contenant des ribosomes, siège des synthèses protéiques et éventuellement des plasmides.
- D'une paroi, ou membrane, lui donnant sa forme, sa rigidité et ses antigènes.

Les essais antibactériennes des extraits : éther de pétrole, chloroforme, éthanol du tige du *Xanthium strumarium*, et l'extrait chloroformique des feuilles, et l'extrait n-butanol de la graine de la plante sont testés in vitro sur quelques types de bactéries.

### **II-2- Escherichia Coli:**

Isolé pour la première fois par Thomas Escherich en 1855, il représente 80% de la flore intestinale aérobie. Le germe se retrouve dans les matières fécales. De là, il se répand dans la nature : sols et eaux.

E. Coli se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisse à bords réguliers de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentés et mobiles. [3].

E. Coli a une fonction de suppression des bactéries nuisibles et permet de synthétiser de nombreuses vitamines.

### **II-3- Streptocoques:**

Ils constituent 80% des micro-organismes de la plaque dentaire. Il existe quatre espèces de Streptococcus susceptibles d'apparaître dans la cavité buccale « mutans, sanguis, salivaruis, mitis ».

Les streptocoques sont fragiles et vivent à l'état commensal au niveau des muqueuses de l'homme ou de l'animal [5], ce sont des cocci à gram positif, ronds et ovoïdes, disposés en paires pour former des diplocoques et pouvant se présenter sous forme de chaînettes plus ou moins longues. Ils sont à sporulés, immobiles et non capsulés.

#### **II-4- La pseudomonas aeruginosa:**

Le genre pseudomonas est un genre pléthorique avec 160 espèces dont l'espèce type est «pseudomonas aeruginosa» qui à été isolé en 1882 par Gessard[6].

La P.a. vit à l'état saprophytotique dans l'eau, le sol humide et sur les végétaux [6].Elle résiste peu à la dessiccation, elle peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme [7] c'est un agent pathogène opportuniste.

C'est une bacille à gram négatif, très mobile grâce à des flagelles polaires, aérobic strict au métabolisme respiratoire, ne fermentant pas le glucose et producteur de pigments hydrosolubles [8]; c'est une bactérie capable de produire de nombreux métabolites.

La pathologie engendrée par cette bactérie est très polymorphe:

- Infections locales de l'oreille
- Infections des plaies et des brûlures
- Infections urinaires
- Méningite
- Gastro-entérites aiguës... [7]

#### **II-5- Stapylococcus :**

Stapylococcus ont été découverts par Pasteur en 1880 ; en 1883, OGSTON a crée le nom de *Stapylococcus* pour décrire ses graines «KOKKOS» groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos).

Observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle, les staphylocoques doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques.

En 1884, ROSENBAACH a obtenu des cultures pures de ces bactéries, il a scindé le genre *Stapylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées.

Ce germe a été retrouvé à l'état saprophyte un presque partout dans la nature (air, eau, poussière, peau de l'homme et des animaux, cuir chevelu, l'intestin, ... etc.).

*Staphylocoques* de 0,5µm à 0,6 µm, ils appartiennent à la famille des microcaceas, immobiles, non sporulés et sans capsules.

A l'état pathogène le *Staphylocoque* est l'agent principal de la plupart des suppurations aiguës (furoncles, anthrax, abcès... ) mais aussi des suppurations viscérales et de ce fait est rencontré dans les divers liquides de l'organismes ( sang, urine, liquides de sérosités... ).

### III-Test antibactériens des extraits : éther de pétrole, chloroforme, éthanol des tiges, du *Xanthium strumarium* :

Sur les extraits éther de pétrole, Chloroforme, Ethanol des tiges nous avons réalisé des tests de l'activité antibactériennes sur les trois espèces bactériennes«*E.Coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptocoque*» au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital d'EL-Taref, et pour les extraits chloroformique du feuille et n-Butanol du graine du *Xanthium strumarium* au niveau du laboratoire de bactériologie de l' INSM université d'Annaba

#### III-1- Préparation des extraits :

Les tiges du *Xanthium strumarium* sont séchées et broyée et macérés dans plusieurs solvants de polarités croissantes pour tester les activités antibactériennes de chaque extrait, le tableau 7 suivant donne les rendements des extraits :

**Tableau 7:** Rendement des extraits préparés.

Solvants	Tige du X.S (25g)	Rendement (%)
300ml (éther de pétrole)	0,09	0,36
300ml (chloroforme)	0,88	3,52
300ml (éthanol)	0,36	1,44

#### III-2- Dilution des extraits :

Les extraits sont très opaques donc il est nécessaire de le diluer pour faciliter les différentes étapes de notre travail.

##### A- Extrait éther de pétrole (M=0,09g = 90mg)

###### Extrait à 1%:

Diluer 0,09g dans 90ml de l'acétone.

###### Extrait à 0,1%:

On prend 5ml de la solution 1% dans 50ml de l'acétone.

**Extrait à 0,01%:**

On prend 5ml de la solution 0, 1% dans 50ml de l'acétone.

**B- Extrait CHCl<sub>3</sub> (M=0,88 = 880mg) :****Extrait à 1%:**

Diluer 0,88g dans 880ml de l'acétone.

**Extrait à 0,1%:**

On prend 5ml de la solution 1% dans 50ml de l'acétone.

**Extrait à 0,01%:**

On prend 5ml de la solution 0, 1% dans 50ml de l'acétone.

**C- Extrait EtOH (M=0,36 = 360mg) :****Extrait à 1%:**

Diluer 0,36g dans 360ml de l'acétone.

**Extrait à 0,1%:**

On prend 5ml de la solution 1% dans 50ml de l'acétone.

**Extrait à 0,01%:**

On prend 5ml de la solution 0, 1% dans 50ml de l'acétone.

**III-3- Préparation des suspensions bactériennes:**

On préparé la suspension bactérienne pour les trois espèces de bactéries choisies, chacune dans sa milieu de culture spécifique, la gélose nutritive pour les *Streptocoques*, Chapman pour les *Staphylococcus epidermidis* et le BCP pour les *Escherichia Coli*.

- Ajouter à une colonie choisie de bactérie 8ml d'eau physiologique et agiter ce mélange.
- Couler une boite de pétri avec le milieu de culture solide spécifique.
- Déposer 0,5ml de la suspension dans une boite de pétri déjà préparée pour cet usage.
- Laisser les boites de pétri dans l'étuve à une température de 37°C pendant 24heures.

**III-3-1- Milieu solide:****- Méthode de diffusion en milieu gélosé**

L'étude de l'activité antimicrobienne est effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé qui est largement répandue, du fait de sa simplicité et de son faible coût. Elle permet de déterminer la sensibilité des bactéries vis-à-vis des agents antimicrobiens.

Cette technique consiste à diffuser une substance antimicrobienne dans un milieu de culture gélosé, en réalisant un gradient de concentration à partir d'une sources de support : disque de papier pré imprégné ( disque stérilisé ).

## Mode opératoire

A partir du milieu de conservation les bactéries sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et dispersées dans 5ml d'eau physiologique (suspension bactérienne)

La suspension bactérienne est ensuite étalée par un écouvillon sur le milieu solide «gélose nutritive: G N, Chapman, BCP » préalablement préparé, stérilisé puis coulée sur les boîtes de pétri.

Des disques en papier filtre de 6 mm de diamètre stériles et imprégnés de concentration croissante de l'extrait de l'éther de pétrole chloroformique, et l'extrait éthanoïque pour les tiges du *Xanthium strumarium*, une fois le disque son secs on les dispose à la surface de la gélose ensemencé par la souche bactérienne, les boîtes de pétri sont ensuite incubées à 35° pendant 24h

L'apparition d'une zone claire autour des disques indique l'action antibactérienne de l'extrait de la plante vis-à-vis la souche bactérienne. Cette zone (diamètre) d'inhibition de la croissance bactérienne autour du disque est mesurée en mm.

Nous pouvons dire que cette méthode est une méthode qualitative et les résultats sont illustrés dans les tableaux suivants :

**Tableau 8** : Zone d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait éther de pétrole.

Plante	Extrait éther de pétrole (mg/ml)	Zone d'inhibition		
		Microorganismes		
		<i>E.Coli</i>	<i>S.ep</i>	<i>Strept</i>
<i>Xanthium strumarium</i>	1	-	-	-
	0,1	-	-	-
	0,01	-	-	-

**Tableau 9 :** Zone d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait chloroformique.

Plante	Extrait chloroformique (mg/ml)	Zone d'inhibition		
		Microorganismes		
		<i>E.Coli</i>	<i>S.ep</i>	<i>Strept</i>
<i>Xanthium strumarium</i>	1	-	-	-
	0,1	-	-	-
	0,01	-	-	-

**Tableau 10 :** Zone d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique

Plante	Extrait éthanolique (mg/ml)	Zone d'inhibition		
		Microorganismes		
		<i>E.Coli</i>	<i>S.ep</i>	<i>Strept</i>
<i>Xanthium strumarium</i>	1	-	-	-
	0,1	-	-	-
	0,01	-	-	-

### Discussion de résultat :

Tous les extraits donne un résultat négatif sur tout les souches bactériennes, ce qui mené de dire que les tiges de la plante *Xanthium strumarium* et très pauvre en principes actifs.

### IV- Test antibactérienne de l'extrait chloroformique des feuilles et n-butanol des graines du *Xanthium strumarium* :

Les tests antibactériens de ces deux extraits ont été effectués sur les *Escherichia Coli*, *Staphylococcus epidermidis* et *Pseudomonase aeruginosa*.

#### IV-1- Préparation des suspensions bactériennes :

On a préparé la suspension bactérienne comme on l'a déjà mentionné dans le première test avec changement des milieux de cultures, donc :

- Gélose nutritive pour E. Coli.
- Mannitol mobilité pour *Staphylococcus epidermidis*
- Milieux King A et King B pour *Pseudomonas aeruginosa*.

#### IV-2- Préparation des extraits :

Ces deux extraits sont obtenus par le protocole d'extraction déjà mentionnée :

#### IV-3- Effets de ces deux extraits sur les bactéries étudiés:

Les résultats sont mentionnés dans le tableau suivant

**Tableau 11:** Zone d'inhibition de ces deux extraits.

Extraits	Zone d'inhibition		
	<i>E.Coli</i>	<i>S.ep</i>	<i>Ps.a</i>
chloroformique des feuilles (10mg/ml)	16	21	21
n-Butanolique des graines (10mg/ml)	12	11	18

### Discussion des résultats:

- l'extrait chloroformique montre une activité antibactérienne intéressante sur toutes les bactéries avec un diamètre qui varie entre 16 et 21 mm.
- l'extrait n-Bu des graines montre une modeste activité antibactérienne sur *E.Coli* et *S.ep*, avec diamètre d'inhibition 12mm et 11mm respectivement.

## **V- Conclusion générale:**

L'étude chimique de la plante *Xanthium strumarium*, a été faite sur les feuilles et les graines.

La séparation chromatographique sur colonne de gel de silice de l'extrait chloroformique des feuilles a permis d'obtenir un produit A ayant la structure d'un sesquiterpène lactonique. Par ailleurs, un autre produit B étant un thiazinedione a été obtenu à partir de l'extrait de n-Butanol des graines. Les produits obtenus sont identifiés par les méthodes spectroscopiques et en se référant aux données bibliographiques.

Le chromatogramme obtenu par CG de l'huile essentielle des feuilles montre que cette dernière est composée de onze produits.

Concernant l'activité biologique, des tests antibactériens des extraits des différentes parties de la plante ont été entrepris. Seules les extraits des feuilles et des graines montrent une activité antibactérienne.

## Références bibliographiques

- [1] Gonnet, J.F., Jay Voirin. M., et breton, P. L. développement Récente dans l'analyse des aglycones flavonique. Assemblés générale du Groupe Polyphénols, Lapont de la Morge, Suisse **1973**.
- [2]-Luping Qin, A new thiazinedione from *Xanthium strumarium*, *Fitoterapia* 77 **2006**, 245- 24
- [3] Camille Delarras. Microbiologie. 90 heures de travaux pratique. Gaetan Morin éditeur. 1998, P: 86-103.
- [4] Paul Singleton. Bactériologie. 4<sup>ème</sup> édition. Ed. Dunod. **1999**, P: 331-357.
- [5] Facklam, R. R, and RB. Carcy. Streptococci and aerobiology in E.H **1985** lennette.
- [6] S. Ben Hassen, L. Messadi, A. Ben Hassen. Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait des vaches atteintes ou de mammite. *Ann. Med. Vet.* **2003**, 147, P: 41-47.
- [7] D. Dacheux et al. Cell death of human polymorphonuclear neutrophils induced bay a *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis isolate requires a functional type III secretion system. *Infect immune.* **1999**, 67, P: 6164-67.
- [8] D.L Erickson et al. *Pseudomonas aeruginosa* quorum. Sensing systems may control virulence factor expression in the lungs of patients with cystic fibrosis. *Infect Immun.* **2002**, 70, P: 1783-1790.