

SOMMAIRE

| | |
|--|-------------|
| REMERCIEMENTS..... | i |
| LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS..... | vi |
| LISTE DES FIGURES | vii |
| LISTE DES TABLEAUX | viii |
| INTRODUCTION..... | 1 |
| PREMIERE PARTIE : GENERALITES | 2 |
| I- Généralités..... | 3 |
| I.1- Famille Fabaceae..... | 3 |
| I.2- Genre <i>Phylloxylon</i> | 4 |
| I.3- <i>Phylloxylon xylophyloides</i> | 5 |
| I.4- Diabète | 6 |
| I.5- Extraction | 8 |
| I.6- Glycerides..... | 9 |
| I.7- Familles des substances naturelles présentes dans la plante | 11 |
| I.8- Séparation et isolement | 13 |
| I.9- Identification structurale par RMN | 14 |
| I.10- Activité antioxydante | 16 |
| DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES | 17 |
| II- MATERIELS ET METHODES | 18 |
| II.1- Matériel végétal..... | 18 |
| II.2- Extraction | 19 |
| II.3- Criblage phytochimique..... | 22 |
| II.4- Fractionnement et isolement | 24 |
| II.5- Test d'activité Antioxydante..... | 28 |
| TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSIONS..... | 29 |
| III- RÉSULTATS | 30 |

| | |
|---|-------------|
| III.1- Résultats d'extraction et de séparation | 30 |
| III.2- Résultats du criblage phytochimique..... | 33 |
| III.3- Résultat du fractionnement..... | 36 |
| III.4- Résultats du test d'activité antioxydante | 39 |
| III.5- Résultat de l'identification du produit F ₂ | 40 |
| CONCLUSION..... | 52 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | viii |
| REFERENCES WEBOGRAPHIQUES..... | x |
| ANNEXE 1 : Espèces du genre <i>Phylloxylon</i> | xi |
| ANNEXE 2 : Classification des Alcaloïdes | viii |
| ANNEXE 3 : Classification des composés phénoliques | xi |
| ANNEXE 4 : les différents tribus et genres de la famille fabaceae..... | xiv |

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

| | |
|---------------------|---|
| A | : Ampère |
| APG | : Angiosperms Phylogeny Group |
| ^{13}C | : Carbone 13 |
| Cm | : Centimètre |
| CCM | : Chromatographie sur Couche Mince |
| ° | : Degré |
| °C | : Degré Celsius |
| CPG | : Chromatographie en Phase Gazeuse |
| δ | : Déplacement chimique |
| DEPT | : Distorsionless Enhancement Polarisation Transfert |
| H ₂ O | : Eau |
| EtOH | : Ethanol |
| g | : Gramme |
| Hz | : Hertz |
| h | : Heures |
| Kg | : Kilogramme |
| L | : Litre |
| λ | : Longueur d'onde |
| M | : Masse |
| MeOH | : Méthanol |
| mL | : Millilitre |
| mg | : Milligramme |
| mm | : Millimètre |
| min | : Minutes |
| N° | : Numéro |
| % | : Pourcentage |
| ^1H | : Proton |
| R | : Rendement |
| RMN | : Résonance Magnétique Nucléaire |
| RMN ^{13}C | : Résonance Magnétique Nucléaire de carbone 13 |
| RMN 1D | : Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension |
| RMN ^1H | : Résonance Magnétique Nucléaire de proton |
| T | : Température |
| UV | : Ultra-violet |
| V | : Volts |
| v | : Volume |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1: Lieu du récolte | 6 |
| Figure 2: Formules des glucides et du glucose..... | 6 |
| Figure 3: Inhibiteurs des α -glucosidases | 8 |
| Figure 4: Structure des disaccharides saccharose, maltose et lactose | 8 |
| Figure 5: Protocole d'extraction | 9 |
| Figure 6: Structures des glycérides..... | 10 |
| Figure 7: Saponification du trihexadécanoate de glycéride | 10 |
| Figure 8: Hydrogénation de la trilinoléine..... | 11 |
| Figure 9: Hydrolyse..... | 11 |
| Figure 10: Formules de la morphine, la codéine, l'éphédrine, l'hydrastine, la vincamine, la quinine..... | 12 |
| Figure 11: Exemples des antioxydants naturels et synthétiques..... | 16 |
| Figure 12: Photographie des feuilles de <i>Phylloxylon xylophylloides</i> | 18 |
| Figure 13: Photographie de l'écorce de <i>Phylloxylon xylophylloides</i> | 19 |
| Figure 14: Protocole d'extraction | 21 |
| Figure 15: Diagramme des étapes d'obtention de produits purs à partir des feuilles de <i>Phylloxylon xylophylloides</i> | 26 |
| Figure 16: Diagramme des étapes d'obtention de produits purs à partir des écorces de <i>Phylloxylon xylophylloides</i> | 27 |
| Figure 17: Résultats de l'extraction par partage liquide-liquide (feuilles) | 31 |
| Figure 18: Résultats de l'extraction par partage liquide-liquide (écorces)..... | 32 |
| Figure 20: CCM des produits isolés à partir des extraits des feuilles et des écorces | 38 |
| Figure 19: Profils CCM des fractions E ₂ et F ₂ | 38 |
| Figure 21: Résultat du test antioxydant des extraits hydroalcooliques, hexaniques et solutions aqueuses | 39 |
| Figure 22: Spectre RMN ¹ H du produit F ₂ | 40 |
| Figure 23: Spectre DEPT Q du produit F ₂ | 43 |
| Figure 24: Spectre RMN ¹³ C agrandi du produit F ₂ (zone des méthylènes CH ₂) | 46 |
| Figure 25: Structure proposée du produit F ₂ | 48 |
| Figure 26: Spectre RMN COSY du produit F ₂ | 49 |
| Figure 27: Corrélations ¹ H- ¹ H COSY observées sur le produit F ₂ | 50 |
| Figure 28: Trioléine ou [(1,2, 3-tri[cis-octadécénoyl]glycérol)]..... | 51 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|---------------------|---|-----------|
| Tableau I | : Criblage des alcaloïdes | 22 |
| Tableau II | : Criblage des flavonoïdes et leucoanthocyanes..... | 23 |
| Tableau III | : Criblage des tanins et des polyphénols | 23 |
| Tableau IV | : Criblage des stéroïdes et des triterpénoïdes | 24 |
| Tableau V | : Barème d'appréciation semi-qualitative de criblage phytochimique..... | 33 |
| Tableau VI | : Résultats du criblage l'extrait des feuilles..... | 34 |
| Tableau VII | : Résultats du criblage l'extrait des écorces..... | 35 |
| Tableau VIII | : Fractionnement sur colonne l'extrait à AcOEt des feuilles..... | 36 |
| Tableau IX | : Fractionnement sur colonne l'extrait à AcOEt des écorces..... | 36 |
| Tableau X | : Fractions regroupées de l'extrait à l'AcOEt des feuilles | 37 |
| Tableau XI | : Fractions regroupées de l'extrait à l'AcOEt des écorces | 37 |
| Tableau XII | : Caractéristiques des taches des produits E₂ et F₂ | 37 |
| Tableau XIII | : Caractéristiques des produits isolés à partir des extraits d'acétate des feuilles et des écorces | 39 |
| Tableau XIV | : Interprétations des signaux RMN ¹H..... | 42 |
| Tableau XV | : Interprétations des signaux du spectre DEPT Q..... | 45 |
| Tableau XVI | : Interprétation des signaux des groupes de méthylènes (CH₂)..... | 47 |
| Tableau XVII | : Représentations des corrélations ¹H-¹H COSY..... | 50 |

INTRODUCTION

Depuis son apparition sur terre, l'homme vit et dépend de son environnement. Les plantes constituent une source particulièrement importante pour ses besoins quotidiens (habillement et nutrition) ainsi que pour d'autres besoins plus spécifiques notamment médicaux.

Actuellement, avec le développement de la science, l'ethnopharmacologie permet à la recherche et à la synthèse de nouvelles molécules qui servent à la fabrication de nouveaux médicaments. Cependant, ces médicaments sont pour la plupart, inaccessibles à la majorité des populations des pays émergents en raison de leurs coûts souvent très élevés.

Face à l'évolution incessante des maladies et au manque de moyens pour la grande partie de la population africaine et de la population malgache en particulier, l'utilisation des ressources naturelles accessibles, comme les plantes médicinales endémiques, pour résoudre ces problèmes, peut être proposée comme alternatives aux traitements et aux médicaments conventionnels.

Madagascar est un exemple parfait du fait de la richesse de ses forêts remplies de plantes médicinales. Au-delà des problèmes de santé, la valorisation des plantes médicinales peut contribuer au développement socioéconomique du pays. Ce qui donne de l'importance et de la pertinence à notre étude faite sur la plante nommée *Phylloxylon xylophyloides*, connue pour ses différentes vertus médicinales telles que ses propriétés antidiabétiques, ses effets dans la régulation de l'albuminémie (taux d'albumine dans le sang) ainsi que du taux du sel dans le sang. En effet, des études scientifiques ont déjà démontré l'effet hypoglycémiant des extraits des feuilles de cette plante. D'autres études de cette plante pourront mener à la découverte de nouvelles molécules.

Ce mémoire se compose en trois parties :

- La première partie, évoque les généralités faisant état des notions qui ont été nécessaires pour la réalisation de ce travail et des études antérieures sur la plante.
- La seconde partie est consacrée à la description des matériels et méthodes.
- La dernière partie présente les résultats obtenus ainsi que les perspectives découlant de l'ensemble de ce travail.

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

I- GÉNÉRALITÉS

Une recherche bibliographique sur les propriétés pharmacologiques et sur la composition chimique de cette plante a été réalisée afin de mettre à jour les connaissances sur les travaux scientifiques menés sur la plante.

I.1- Famille Fabaceae

I.1.1-Botanique de la famille Fabaceae

La famille Fabaceae est présente dans plusieurs pays du monde. Sinon, elle se concentre principalement dans les régions subtropicales et tempérées chaudes, comme en Afrique du sud ou sur la périphérie méditerranéenne. Elle est composée de deux types d'espèces, dont les espèces ligneuses qui se situent surtout dans les régions tropicales et les espèces herbacées qui se trouvent dans les régions tempérées [1].

La classification de la famille Fabaceae par APG II (2003) est la suivante [2] :

- **Règne** : Végétal ;
- **Embranchement** : *Magnoliophyta* ;
- **Sous-embranchement** : *Rosophytina* ;
- **Classe** : *Rosopsida* ;
- **Sous-classe** : *Rosidaeae* ;
- **Ordre** : *Fabales*.

Appelée aussi Leguminosae, la famille Fabaceae est composée de 18000 espèces divisées en trois sous-familles [W1] :

- Faboideae ou Papilionoideae caractérisée par une fleur typique en papillon ;
- Caesalpinioideae qui possède une fleur pseudo-papilionacée ;
- Mimosoideae avec une fleur régulière.

I.1.2-Caractères généraux des Fabaceae

Les feuilles sont parfois simples mais dans la plupart des cas, elles sont composées, pennées à un ou plusieurs folioles. Ces feuilles sont susceptibles de mouvements (nasties) en fonction des paramètres (température, lumière, humidité) du milieu dans lequel la plante évolue.

Certaines plantes sont grimpantes, elles présentent des tiges filiformes simples ou ramifiées, qui s'enroulent autour d'un support et les permettent de s'y fixer et de s'élever, ces tiges sont appelées vrilles. Sous l'action de bactéries du genre *Rhizobium* qui vivent en symbiose avec la plante, il se forme de petites boursouflures sur les racines (nodules), cela permet à la plante d'emmagasiner de l'air composé d'azote. La disposition des fleurs sur la tige est très variable. Le fruit possède un seul compartiment qui peut se diviser en plusieurs, d'où la présence d'une cloison transversale appelée lomentum [4, W2].

I.2- Genre *Phylloxylon*

I.2.1-Botanique du genre *Phylloxylon*

Le genre *Phylloxylon* appartient à la famille des Fabaceae, précisément à la sous-famille des Faboideae et à la tribu des Indigofereae. Il est composé de 7 espèces toutes endémiques de Madagascar. Quatre de ces espèces sont caractérisées par des jeunes tiges foliacées tandis que les jeunes tiges des 3 espèces restantes sont étroites et arrondies. Le genre *Phylloxylon* est classé comme « vulnérable » à Madagascar et risque de disparaître si on ne limite pas son exploitation, raison pour laquelle il est vivement conseillé d'éviter son emploi.

Les plantes du genre *Phylloxylon* sont les suivantes [4, 5, W3] :

- 1- *Phylloxylon spinosa* Du Puy, Labat & Schrire**
- 2- *Phylloxylon xylophyloides* (Baker) Du Puy, Labat & Schrire**
- 3- *Phylloxylon perrieri* Drake**
- 4- *Phylloxylon arenicola* Du Puy, Labat & Schrire**
- 5- *Phylloxylon decipiens* Baill**
- 6- *Phylloxylon phillipsonii* Du Puy, Labat & Schrire**
- 7- *Phylloxylon xiphoclada* (Baker) Du Puy, Labat & Schrire**

I.2.2- Ethnopharmacognosie du genre *Phylloxylon*

Les deux espèces du genre *Phylloxylon* étudiées se révèlent formellement hypoglycémiantes. L'écorce du *Phylloxylon spinosa* est utilisée dans le soin du diabète ; les tiges sont grattées et les raclures mises dans l'eau froide puis chauffées jusqu'à ébullition. La solution est à boire trois fois par jour pour traiter le diabète.

L'usage du *Phylloxylon xylophyloides* est le même que celui *Phylloxylon spinosa* [W3, W4].

I.2.3- Etudes antérieures sur le genre *Phylloxylon*

Mise à part des quelques études effectuées sur les espèces *Phylloxylon spinosa* Du Puy et *Phylloxylon xylophylloides*, aucune autre étude chimique n'a encore été faite sur les autres espèces de ce genre.

I.3-*Phylloxylon xylophylloides*

I.3.1- Description

C'est un arbre pouvant atteindre une hauteur de plusieurs mètres. Il possède des tiges aplaties et son écorce se desquame en morceaux fibreux. Les fleurs sont roses ou violet-pâle à étendard et les feuilles sont obovales. Les fruits sont des gousses fuselées renfermant une ou deux graines puis une plantule à germination épigée [6].

Classification systématique

La classification systématique botanique de *Phylloxylon xylophylloides* est la suivante :

| | |
|---------------------------|--|
| Règne | : Végétal |
| Classe | : <i>Rosopsida</i> . |
| Sous classe | : <i>Rosidaeae</i> . |
| Ordre | : <i>Fabales</i> |
| Famille | : <i>Fabaceae</i> |
| Genre | : <i>Phylloxylon</i> |
| Espèce | : <i>Phylloxylon xylophylloides</i> |
| Noms vernaculaires | : Harahara, kobainantandroy tsiavango [W3, W6] |

I.3.2-Enquête ethnobotanique

Des enquêtes auprès des tradipraticiens, des guérisseurs, des marchands de plantes médicinales ou encore auprès des populations rurales ont été réalisées pour confirmer l'utilisation de la plante. Lors de la récolte, des enquêtes par interviews semi-structurés des tradipraticiens à Joffreville (Figure 1), village où a eu lieu la récolte et les villages voisins ont également été effectuées. Cependant contrairement aux données tirées dans la littérature, les tradipraticiens nous ont confirmés que seulement les feuilles sont utilisées pour traiter le diabète.

D'autres enquêtes ont eu lieu dans la ville de Mahajanga, cependant l'utilisation est différente. La plante est employée pour traiter l'albumine et pour réguler le taux du sel dans le sang des femmes enceintes.



Figure 1: Lieu du récolte

I.4-Diabète

I.4.1-Définition.

Le diabète est une perturbation du métabolisme des glucides qui peut être due soit à un déficit d'insuline, soit à une résistance anormale à cette hormone. Dans les deux cas, ce trouble engendre une accumulation de glucose (figure 2) dans les tissus.



Figure 2: Formules des glucides et du glucose

Les différents types de diabète peuvent être classés de la manière suivante :

- le diabète dit de type 1, dû à une très forte insuffisance de sécrétion d'insuline par destruction des îlots β de Langerhans du pancréas ;
- le diabète dit de type 2, réunit l'ensemble des diabètes qui se démarquent avec les autres types par l'union variable d'altérations de l'insulinosécrétion et de l'insulinosensibilité dont la pathogénie est jusqu'à nos jours très difficile à déterminer ;
- Et les autres types : diabète causé par un déficit génétique de la cellule bêta, celui dû à des anomalies génétiques de l'action de l'insuline, diabète par maladie du pancréas exocrine etc [7].

I.4.2- Traitement du diabète.

De nos jours, bien que le plus grand nombre de patients atteints du diabète n'ont pas accès au traitement adéquat, pour des raisons surtout économiques, il existe des moyens très efficaces pour lutter contre le diabète : il y a les antidiabétiques que l'on prend par voie buccale et l'insuline administré par injection.

Les antidiabétiques buccaux tels que les sulfamides hypoglycémiantes et les glinides incitent la sécrétion d'insuline. Les biguanides et les inhibiteurs de l' α -glucosidase quant à eux ralentissent l'assimilation du glucose [7].

I.4.3- Inhibiteurs des α -glucosidases

Les médicaments inhibiteurs des α -glucosidases sont le GLUCOR (Acarbose) et le DIASTABOL (Miglitol) (Figure 3). Une fois absorbés, les glucides contenus dans les aliments sont dégradés en disaccharides (Figure 4) tels le saccharose, le lactose et le maltose, par l'amylase, qui est un enzyme produit par les glandes salivaires et pancréatiques. Ils sont ensuite convertis en monosaccharides par les enzymes α -glucosidases (maltase, lactase, saccharase ou (invertase) afin de pouvoir franchir la barrière intestinale car seuls les monosaccharides en sont capables. Le rôle des inhibiteurs de l' α -glucosidase est d'inhiber le dernier stade de la digestion des sucres ; c'est-à-dire empêcher la conversion des glucides en monosaccharides. Comme les glucides ne peuvent pas être absorbés, ils vont subir la fermentation colique bactérienne au niveau de l'intestin, qui les convertit en acides gras volatils ou sont éliminés tels quels dans les selles [8].

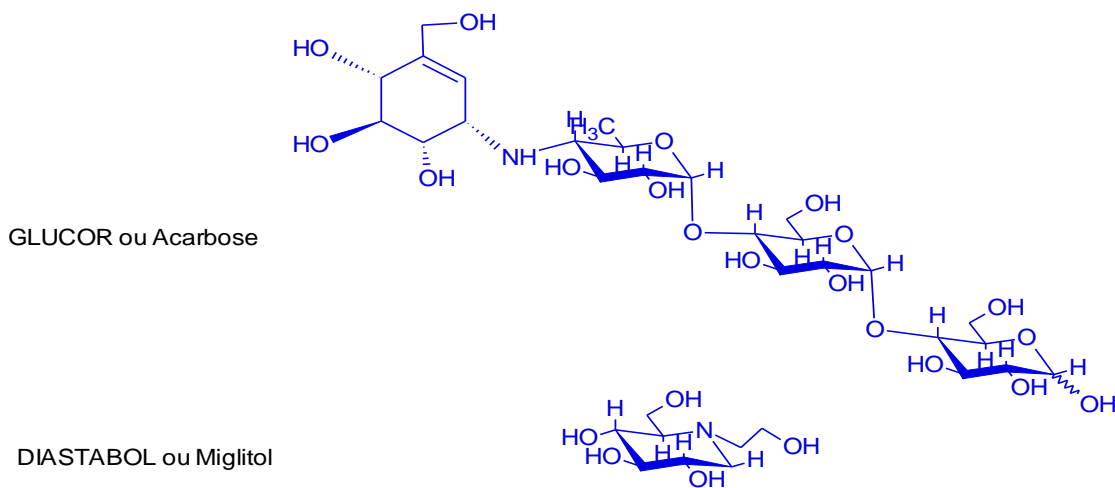


Figure 3: Inhibiteurs des α -glucosidases

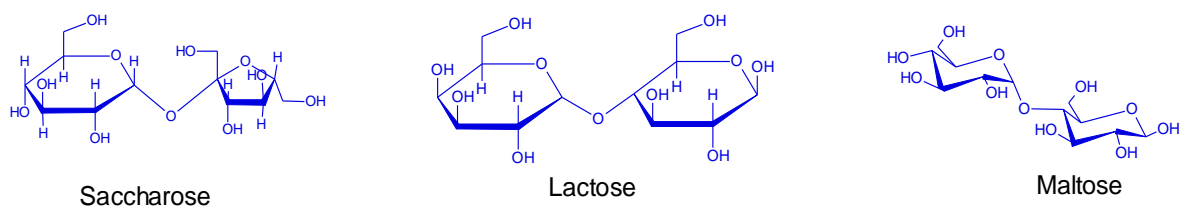


Figure 4: Structure des disaccharides saccharose, maltose et lactose

I.5-Extraction

L'extraction est une méthode de séparation de deux phases hétérogènes. Il existe différentes méthodes d'extraction :

- Le pressage qui consiste à exercer une pression sur un fruit ou à écraser des fleurs pour extraire le jus ou les arômes ;
- La décoction consiste à mettre une partie de la plante (feuille, écorce, racine) dans l'eau froide puis portée à ébullition ;
- L'enfleurage est utilisé dans le cas où les fleurs sont fragiles, comme les violettes ou les jasmins. Les fleurs sont posées sur des châssis enduits de graisse animale très pure et inodore. La graisse absorbe les molécules aromatiques qui sont ensuite récupérées avec de l'alcool.
- L'infusion consiste à dissoudre les principes actifs contenus dans le matériel végétal en le versant dans l'eau bouillante.

- La macération permet de faire l'extraction des molécules solubles dans un solvant à froid.
- L'entraînement à la vapeur ou l'hydrodistillation est l'entraînement des substances organiques par de la vapeur d'eau.

Dans le cadre de ce travail, c'est la méthode d'extraction par macération suivie de partage liquide-liquide qui a été choisie.

➤ **Extraction par partage liquide-liquide avec un solvant organique**

Le mélange binaire à séparer est mis en contact avec le solvant retenu pour sa capacité à extraire préférentiellement l'un des éléments du mélange. Après l'opération, les deux phases sont séparées par décantation :

- l'extrait formé du solvant enrichi en soluté
- le raffinat, le mélange appauvri en soluté [9].

Ce protocole est schématisé à la figure 5.

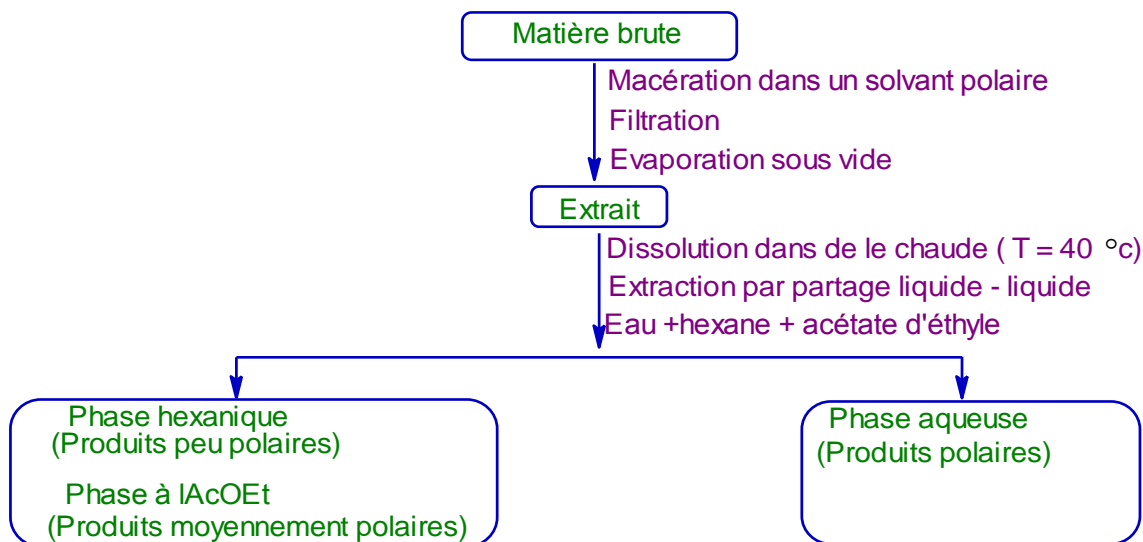


Figure 5: Protocole d'extraction

I.6-Glycerides

Les glycérolipides sont des lipides formés à partir d'esters d'acides gras et de glycérol.

Ils sont généralement contenus dans les tissus adipeux des animaux et dans les graisses végétales [10]

En fonction du nombre d'ester, on peut classer les glycérides en trois groupes (Figure 6) :

- Un monoglycéride formé par une molécule d'acide gras et une molécule de glycérol
- Un diglycéride est formé par deux molécules d'acide gras et une molécule de glycérol
- Un triglycéride est formé par trois molécules d'acide gras et une molécule de glycérol

Les radicaux peuvent être mixtes (glycéride mixte) ou identiques (glycéride homogène). Ils peuvent aussi être saturés (glycéride saturé) ou insaturés (glycéride insaturé) [11].

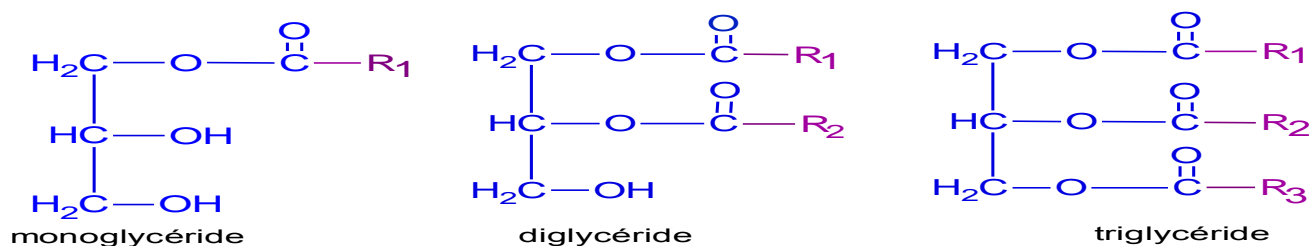


Figure 6: Structures des glycérides

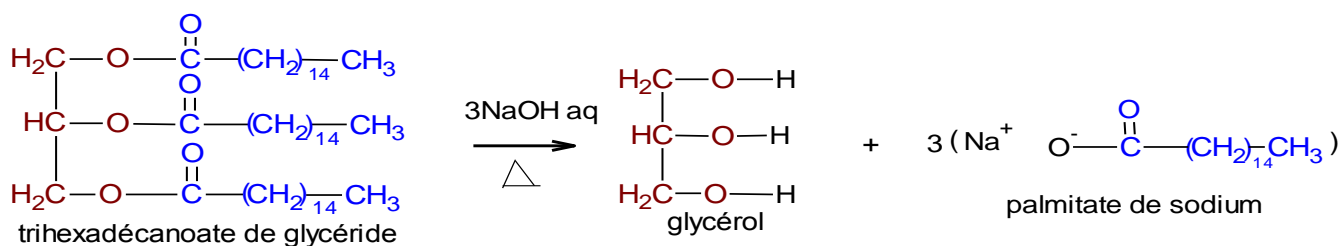
I.6.1-Propriétés physiques

- **Etat** : ils peuvent se présenter à l'état liquide ou solide.
- **Température de fusion** : elle varie en fonction de la nature des acides gras qui constituent le glycéride.
- **Solubilité** : les glycérides sont insolubles dans l'eau. Par contre, ils sont solubles dans beaucoup de solvants organiques tels que l'éther, le benzène, le chloroforme etc [12].

I.6.2-Propriétés chimiques

Les glycérides peuvent intervenir dans plusieurs types de réactions : saponification (Figure 7), hydrogénation (Figure 8), hydrolyse (Figure 9).

Saponification



(Source [13])

Figure 7: Saponification du trihexadécanoate de glycéride

Hydrogénation

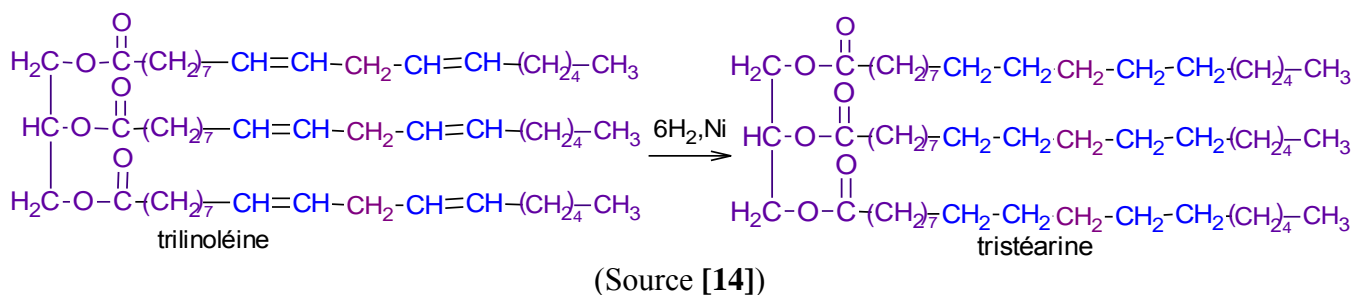


Figure 8: Hydrogénation de la trilinoléine

Hydrolyse

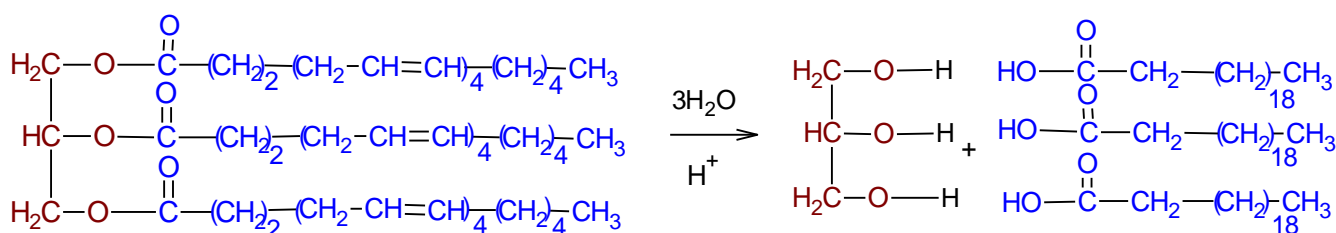


Figure 9: Hydrolyse

1.7- Familles des substances naturelles présentes dans la plante

1.7.1- Alcaloïdes

C'est un groupe de substances possédant des propriétés basiques dues à la présence de groupement azoté. Ils sont très solubles dans l'eau s'ils sont sous forme d'ammonium quaternaire et ont une forte activité biologique. En plus de l'azote, ils renferment du carbone, de l'hydrogène et plus souvent de l'oxygène à l'exception des quelques alcaloïdes qui contiennent du soufre. Du fait de leurs propriétés pharmacodynamiques très intéressantes, ils sont utilisés dans de nombreux médicaments comme principe actif [15].

On peut citer par exemple :

- La codéine et la morphine qui agissent sur le système nerveux central comme antidépresseur [W7].
- L'éphédrine quant à lui, il agit sur le système nerveux autonome comme excitant du sympathique [W8].
- L'hydrastine est un hypertenseur des vaisseaux [16].
- La vincamine a une influence sur la circulation sanguine en améliorant la circulation cérébrale [17].

- La quinine peut avoir un rôle d'antibiotique, d'antiparasitaire, ou d'anthelminthique comme dans le cas de l'hématozoaire du paludisme pour lequel il est toxique [18]

Les formules de ces composés sont données dans la figure 10.

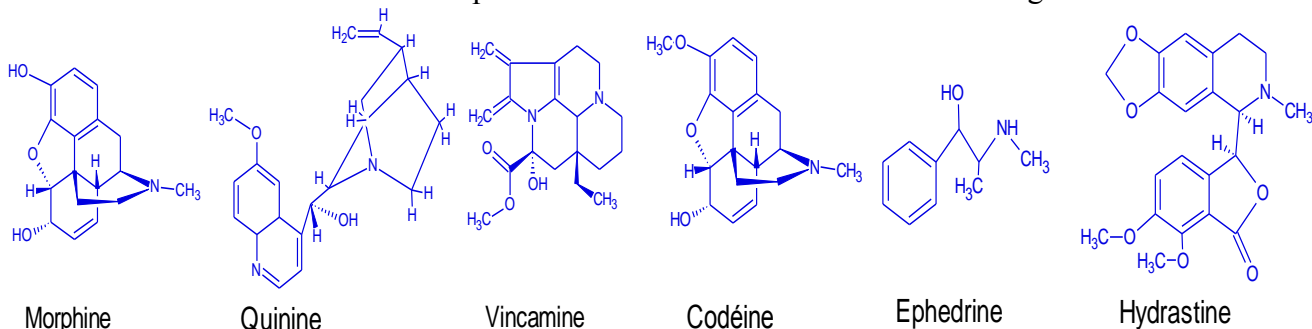


Figure 10: Formules de la morphine, la codéine, l'éphédrine, l'hydrastine, la vincamine, la quinine

I.7.2- Polyphénols

Ils sont caractérisés par la présence de nombreux groupes phénoliques agencés de manière à former des structures complexes. Plusieurs études menées au cours de ces dernières années ont démontré in vitro les propriétés suivantes [W9] :

- Antiagrégant plaquettaire
- Anti-inflammatoire
- Anticancéreuse

➤ **Leucoanthocyanes**

Les Leucoanthocyanes sont des pigments qui possèdent des activités biologiques. Ils sont plus connus pour leur propriété à maintenir les vaisseaux sanguins en bon état. Cependant, d'autres propriétés ont été mises en évidence telles que l'activité bactéricide de feuilles de *Senecio faujasioïdes*, des propriétés antitumorales marquées d'autres plantes, dues à la présence de leucoanthocyanes [19].

➤ **Les tanins**

Les tanins forment un groupe de polyphénols qui peuvent être caractérisés par l'aptitude à tanner la peau (la rendre dure et imputrescible) ou par l'astringence c'est-à-dire la propriété à provoquer une sensation de dessèchement en bouche.

On peut les classer en deux groupes :

Les tanins hydrolysables, constitués par une molécule de glucide liée à des molécules d'acide gallique ou ellagique.

Les tanins condensés, non hydrolysables, ils sont constitués d'unités de flavan-3-ol liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Au dépend de leurs structures, certains tanins sont connus par leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes [16,20].

I.8-Séparation et isolement

Les techniques chromatographiques sont généralement utilisées pour l'obtention des principes actifs et des divers constituants des différents extraits.

I.8.1- Principe général de la méthode chromatographique

La chromatographie est une méthode physico-chimique de séparation non destructrice des espèces présentes dans un échantillon en phase homogène liquide ou gazeuse. C'est aussi une méthode quantitative qui a pour but d'identifier et de quantifier les composés dans un échantillon.

Le principe de la chromatographie repose sur l'entraînement d'un mélange par une phase mobile appelée éluant, à travers une phase stationnaire appelée adsorbant.

- La phase stationnaire est fixée soit sur la surface intérieure d'une colonne soit sur une surface plane.
- La phase mobile se déplace au contact de la phase stationnaire.

La phase stationnaire retient plus ou moins fortement les substances contenues dans le mélange dilué selon l'intensité des forces d'interactions de faible énergie réalisées entre les différentes espèces moléculaires et la phase stationnaire.

.Selon la technique chromatographique, la séparation des composants résulte soit de leur adsorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité dans chaque phase [16,21, 22].

I.8.2- Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une chromatographie qui repose sur le phénomène d'adsorption et de partage. L'adsorption est un phénomène qui consiste en la formation de liaisons entre les molécules ou atomes d'un composé et celles de la surface adsorbante. D'une manière générale, elle s'effectue sur une fine couche de silice jouant le rôle de phase stationnaire déposée sur un support.

La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants qui migre sur la plaque de silice par capillarité et entraîne les composés du mélange étudié. Si les vitesses de migration des composés sont différentes, ils seront séparés. Chaque composant de l'échantillon se déplace à

sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend de la nature des composés et de celle du solvant. Les constituants s'arrêtent plus ou moins loin de la tache initiale selon leur interaction avec l'adsorbant. En général, les composants de faible polarité sont entraînés plus rapidement que les constituants plus polaires [16, 22,].

I.8.3- Chromatographie sur colonne

Cette chromatographie se différencie de la CCM par le fait que la silice est placée dans une colonne et non sur une plaque. Le but est lui aussi différent. En effet, la chromatographie sur colonne sert à séparer des produits, soit à purifier un produit de réaction. Toutefois, le principe est le même que celui de la CCM.

Deux types de chromatographie existent:

- Chromatographie à basse pression : elle utilise des particules de silice de 70 à 200 μm et le solvant s'écoule goutte-à-goutte.
- Chromatographie sous pression: elle utilise des particules de silice de 35 à 70 μm et le solvant s'écoule sous pression d'air comprimé [W9]

I.9-Identification structurale par RMN

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est un outil important pour l'analyse des molécules chimiques. Basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux (^1H , ^{13}C , ^{31}P). Elle donne une bonne approche dans la résolution des problèmes posés par l'analyse d'une molécule chimique, grâce à la diversité des paramètres mesurables [23,24]

I.9.1- Principe physique de base de la spectroscopie RMN

Tous les noyaux atomiques possèdent une charge en rotation appelée spin nucléaire. Ils sont comparables à de petits aimants, qui soumis à un champ magnétique intense peuvent accéder à différentes orientations qui se traduisent par différents niveaux d'énergie.

Dans le cas de proton (^1H) et de carbone (^{13}C) de spin nucléaire $\frac{1}{2}$, il y a deux orientations correspondantes à deux niveaux d'énergie [23,24]

- Niveau de basse énergie : le moment magnétique et le champ extérieur sont parallèles et de même sens.
- Niveau d'énergie plus élevée : ils sont de sens contraires.

I.9.2- Différents types de RMN

Deux types de spectre RMN sont généralement utilisés pour déterminer les structures des produits isolés.

a) RMN 1D

Le spectre RMN 1D permet de connaître la position et l'intensité des pics de résonance pour le spin de type A (spin nucléaire différent de zéro), ainsi que les couplages à courte distance [23,24].

◆ Spectre de RMN ^1H

Le spectre RMN ^1H présente des courbes d'intégration dont les hauteurs sont proportionnelles aux nombres de protons sur chaque site protonique. Le déplacement chimique varie de 0 à 15 ppm.

Les pics se présentent sous forme de multiplets (singulet, doublet,...) selon la loi de multiplicité ($n + 1$) ; n étant le nombre de ^1H voisins immédiats.

Ce type d'expérience apporte de nombreux renseignements à l'interprétation [23,24] :

- La valeur des déplacements chimiques de chaque proton identifiable ;
- Le nombre de résidus monosaccharidiques (nombre de protons anomères) ;
- La présence ou non d'acide sialique (présence de protons axial et équatorial) ;
- Le nombre d'osamines (nombre de raies correspondants aux groupements acétamides) ;
- Le nombre de résidus de 6-deoxyose et notamment de fucose (nombre de doublets caractéristiques dans les hauts champs ($1.1 < \delta\text{-CH}_3 < 1.3$)) ;
- Accessoirement, l'état de pureté de la molécule (intensité relative des signaux) [23]

◆ Spectre de RMN ^{13}C

Le spectre RMN ^{13}C Broad Band Decoupling (BB) permet de déterminer [23,24] :

- Le nombre de carbones (correspond au nombre de pics) ;
- Les groupements et fonctions présents dans la molécule (à partir du déplacement chimique).

◆ Spectre DEPT Q

Le spectre DEPT 135° est un spectre RMN ^{13}C Broad Band Decoupling (large band découplage) permet d'identifier :

- Les groupements méthines ($-\text{CH}-$), méthyles ($-\text{CH}_3$) (pics négatifs) ;

Les groupements méthylènes ($-\text{CH}_2-$) par des pics positifs [23,24].

b) Spectres RMN 2D (bidimensionnels)

Le spectre RMN 2D permet de montrer les corrélations plus complexes existant entre le spin A et le spin X. il s'agit en d'autre terme de trouver les corrélations entre les déplacements chimiques des différents spins qui sont couplés entre eux.

- ◆ Spectre NOESY, (nuclear overhauser effect spectroscopy) met en évidence la relation dipolaire croisée et indique les relations de proximité à travers l'espace.
- ◆ Spectre COSY, (Correlation Spectroscopy) permet d'étudier les corrélations entre protons séparés pas deux ou trois liaisons.
- ◆ Spectre HMQC, (Heteronuclear multiple Quantum Correlation) permet d'étudier les corrélations des ^1H et ^{13}C par le couplage direct 1J
- ◆ Spectre HMBC (Heteronuclear Multiple Bound correlation) permet d'étudier les corrélations des ^1H et ^{13}C par les couplages à longue distance 2J et 3J [23,24].

I.10-Activité antioxydante

Une substance chimique est dite antioxydante lorsqu'elle possède la propriété d'empêcher les radicaux libres d'oxyder certaines molécules comme les protéines et les acides gras. Les radicaux libres sont des composés instables capables de provoquer des réactions en chaines néfastes pour la santé. Les antioxydants jouent donc le rôle de « pare balle » en réagissant avec les radicaux libres et ainsi les empêchent de s'attaquer aux cellules du corps. Les antioxydants peuvent êtres d'origine naturelle comme certains composés phénoliques, les vitamines C et E ou synthétiques comme 2,6-di-tert-butyl-p-crésol (BHT) et le tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) (Figure 11) [25, W10, W11].

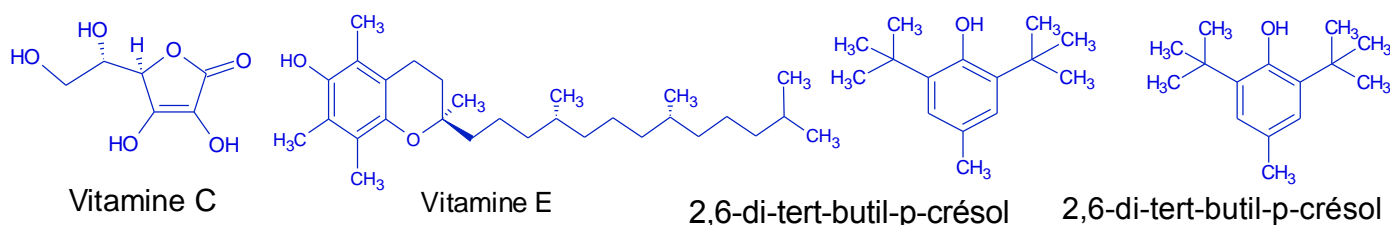


Figure 11: Exemples des antioxydants naturels et synthétiques

DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES

II- MATERIELS ET METHODES

II.1- Matériel végétal

Les feuilles (Figure 12) de la plante ont été récoltées à Joffreville par les membres du laboratoire LCSN/COB en septembre 2014 et séchées à l'air libre. L'écorce (Figure 13) de *Phylloxylon xylophylloides* a été prélevée sèche lors des enquêtes.

Un échantillon de la plante a été apporté au Parc National de Tsimbazaza pour l'identification. Elle est connue sous le nom de *Phylloxylon xylophylloides*.



Figure 12: Photographie des feuilles de *Phylloxylon xylophylloides*



Figure 13: Photographie de l'écorce de *Phylloxylon xylophylloides*

II.2- Extraction

300 g de poudre de tiges et 300 g de poudre des feuilles sont pesées avec une balance commerciale de type CAMPRY, de portée maximale 5 g. Elles sont macérées chacune dans 1500 ml d'éthanol à 80% pendant 10 jours en agitant au moins une fois par jour. Les

mélanges sont ensuite filtrés avec des filtres en tissus. Ces solutions sont ensuite ramenées à l'ensemble Rotavapor-bain marie pour être évaporées sous pression réduite dans un évaporateur rotatif de Buchi. Les extraits hydroalcooliques (après évaporation de l'éthanol) obtenus sont repris par de l'eau chaude à 40 °C, refroidis puis filtrés. Les solutions aqueuses refroidies sont épuisées dans deux ampoules à décanter, successivement par l'hexane et l'acétate d'éthyle.

Une fois la solution aqueuse et le solvant (hexane ou acétate d'éthyle) versés dans l'ampoule, l'ensemble est agité en prenant le soin d'ouvrir le robinet de temps en temps pour laisser s'échapper le gaz formé. Ensuite l'ampoule est placée verticalement pour la décantation du mélange. La phase organique est récupérée dans un erlenmeyer. La phase aqueuse est de nouveau traitée avec le même volume de solvant.

Cette opération est reprise quatre fois. Les phases organiques sont récupérées, concentrées puis évaporées.

Quatre extraits sont obtenus avec les feuilles et les écorces (Figure 14): deux extraits hexaniques et deux extraits à l'acétate d'éthyles. Le schéma montre le processus d'extraction.

Après avoir pesé, le rendement R est calculé à partir de l'équation 1 :

$$R (\%) = \frac{\text{masse de l'extrait hydroalcoolique}}{\text{masse de poudre de plante seche}} * 100$$

Equation 1

PROTOCOLE D'EXTRACTION

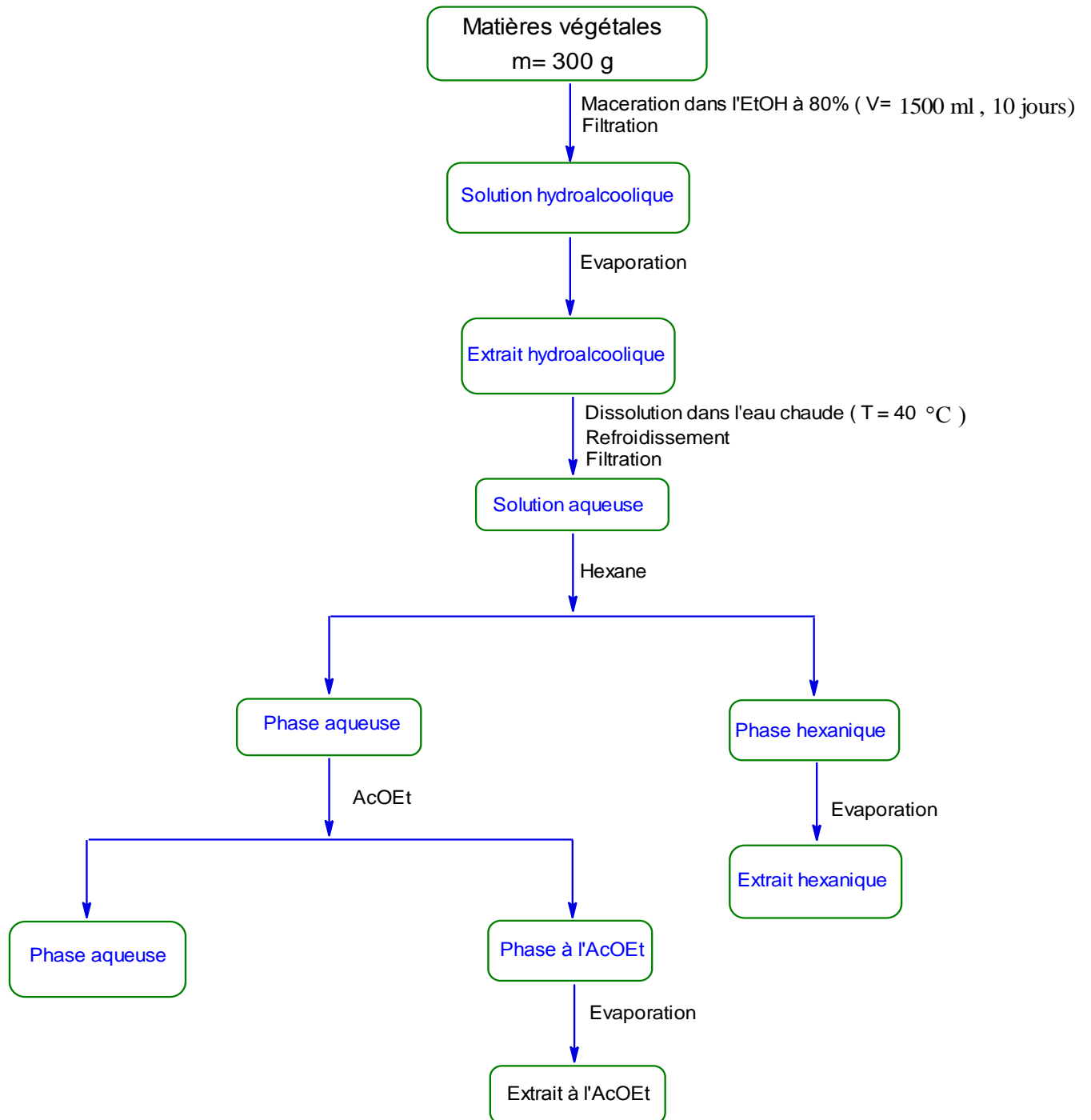


Figure 14: Protocole d'extraction

II.3- Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique permet de détecter dans les extraits de la plante les familles chimiques qu'elle contient en utilisant des réactifs caractéristiques conduisant à la formation de précipité ou à des changements de coloration ou les deux à la fois. Une partie des extraits hydroalcooliques (après évaporation de l'alcool) est utilisée pour le criblage.

II.3.1- Criblage des alcaloïdes

5 grammes de poudre de plante sèche sont macérées dans l'acide chlorhydrique (HCl) à 12 % pendant 15 mn. Après filtration, on répartit la solution acide (limpide et claire) obtenue en volumes égaux dans quatre tubes à essais ; le tube n°1 sert de témoin. Les réactifs utilisés sont mis dans le tableau I.

Tableau I: Criblage des alcaloïdes

| N° tube | Réactifs utilisés |
|---------|---|
| 2 | Wagner (I ₂ /KI) |
| 3 | Valser-Mayer (HgCl ₂) |
| 4 | Dragendorff (Bi(NO ₃) ₃ /KI) |

II.3.2- Criblage des flavonoïdes et leucoanthocyanes :

6 ml de la solution hydroalcoolique équivalent à 1,5 g de poudre de plante sont versés dans un cristalliseur puis évaporé à siccité au bain-marie. Le résidu obtenu est dépigmenté par l'éther de pétrole. Le résidu dépigmenté obtenu est dissouts dans 6 ml d'éthanol à 80 %. Après filtration, le filtrat obtenu est réparti en volumes égaux dans cinq tubes à essais ; le tube n°1 sert de témoin. Les réactifs utilisés ainsi que les résultats attendus sont regroupés dans le tableau II.

Tableau II: Criblage des flavonoïdes et leucoanthocyanes

| N° tube | Test de : | Résultats attendus |
|---------|--|--|
| 2 | Wilstater (HCl concentré, 2 ou 3 tournures de magnésium, repos 10 mn) | Jaune orangé : présence de flavones rose à rouge : flavonols rouge violacé : flavanones et flavanols |
| 3 | Wilstater modifié (HCl concentré, 2 ou 3 tournures de magnésium. Après dissolution, ajout de 1 ml d'eau et 1 ml d'alcool isoamylique, repos 10 mn) | Phase supérieure rouge : flavones Phase supérieure pourpre flavonols |
| 4 | Bate Smith(HCl concentré, chauffage pendant 30 mn au bain-marie) | Rouge violacée : présence de leucoanthocyanes (3,4-dihydroxyflavane) |
| 5 | Bate Smith modifié (HCl concentré à froid) | rouge : anthocyanes |

II.3.3- Criblage des tanins et des polyphénols

Un volume égal à 6 ml de la solution hydroalcoolique équivalent à 1,5 g de poudre de plante est versé dans un cristalliseur puis évaporé à siccité au bain-marie. Le résidu obtenu est dissouts dans 15 ml d'eau distillée chaude puis additionné de quatre gouttes d'une solution de NaCl à 10%. Après filtration, la solution obtenue est répartie dans cinq tubes à essais ; le tube n°1 sert de témoin.

Les tests utilisés ainsi que les résultats attendus sont consignés dans le tableau III.

Tableau III: Criblage des tanins et des polyphénols

| N° tube | Réactifs | Résultats attendus |
|---------|--|--|
| 2 | Quatre gouttes de gélatine 1% | Apparition de précipité |
| 3 | Quatre gouttes de gélatine salée (gélatine 1% et NaCl 10%) | Apparition de précipité |
| 4 | Quatre gouttes de FeCl ₃ 10% dans le MeOH | Coloration bleu noir : présence de tanins hydrolysables de type pyrogallique Coloration verdâtre : présence de tanins catéchiques |

II.3.4- Criblage des stéroïdes et des triterpénoïdes

10 ml c'est-à-dire un volume de la solution hydroalcoolique équivalent à 2 g de poudre de matière végétale sèche sont versés dans un cristalliseur puis évaporés à siccité au bain-marie. Le résidu obtenu est dépigmenté par l'éther de Pétrole. Les résidus dépigmentés obtenus sont dissouts dans 10 ml de CHCl_3 , la phase organique obtenue est ensuite déshydratée avec du Na_2SO_4 anhydre. Le filtrat est réparti en volumes égaux dans cinq tubes à essais ; le tube n°1 sert de témoin.

Les tests utilisés ainsi que les résultats attendus sont consignés dans le tableau IV.

Tableau IV: Criblage des stéroïdes et des triterpénoïdes

| N° tube | Test de : | Résultats attendus |
|---------|--|--|
| 2 | Salkowski (H_2SO_4 concentré) | rouge : stérols insaturés |
| 3 | Liebermann-Burchard (H_2SO_4 concentré, $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ concentré) | Pourpre : triterpènes Bleu-vert ou violet : stéroïdes |
| 4 | Baljet-Kedde (grains d'acide picrique) | orange : stéroïdes lactoniques |

II.4- Fractionnement et isolement

II.4.1- Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les plaques chromatographiques utilisées sont des plaques toutes prêtes constituées de gel de silice de 0,2 mm fixé sur une feuille d'aluminium. Après le traçage d'une ligne de dépôt d'environ 1 cm du bord inférieur, et d'une ligne de front de solvant d'environ 1 cm du bord supérieur de la plaque, l'échantillon est déposé à l'aide d'un tube capillaire. La plaque est laissée à l'air libre pendant 15 mn puis introduite dans la cuve chromatographique préparée 10 mn avant dans le but d'obtenir la saturation.

Les substances se présentent sous forme de taches sous le rayonnement ultraviolet (UV) de longueurs d'ondes de 254 nm et de 365 nm (tache fluorescente).

Le comportement d'un constituant dans un système chromatographique déterminé est repéré par le rapport frontal défini par l'équation 2 :

$$R_f = \frac{dx}{ds}$$

Equation 2

dx : distance parcourue jusqu'au centre de la tâche du constituant considéré depuis la ligne de dépôts.

ds : distance parcourue par l'éluant depuis la ligne de dépôts jusqu'au front du solvant.

II.4.2- Chromatographie sur colonne

Des CCM des extraits d'acétate d'éthyle ont été réalisées pour déterminer le mode d'élution en graduant de solvant.

La meilleure séparation a été observée avec le système AcOEt/hexane 10/90 (V/V)

- Préparation de la colonne

La colonne en verre d'une longueur de 56 cm et d'un diamètre de 2 cm est obturée par un petit bout de coton afin d'empêcher la silice de sortir. La silice sous forme de gel obtenu par son mouillage avec de l'hexane est introduite tout doucement au sommet de la colonne préalablement montée. La silice utilisée pour la séparation des produits est le gel de silice 60. La colonne est laissée au repos pendant 24 h. Afin d'éviter son assèchement, elle doit contenir un minimum de solvant.

- Préparation du dépôt sec

L'extrait à l'AcOEt est mélangé avec un peu de silice, puis laissé jusqu'à évaporation de l'hexane ; une poudre est obtenue après broyage.

- Fonctionnement de la colonne.

Les protocoles d'obtention des produits purs à partir des feuilles et des écorces sont présentés respectivement par les Figures 15 et 16.

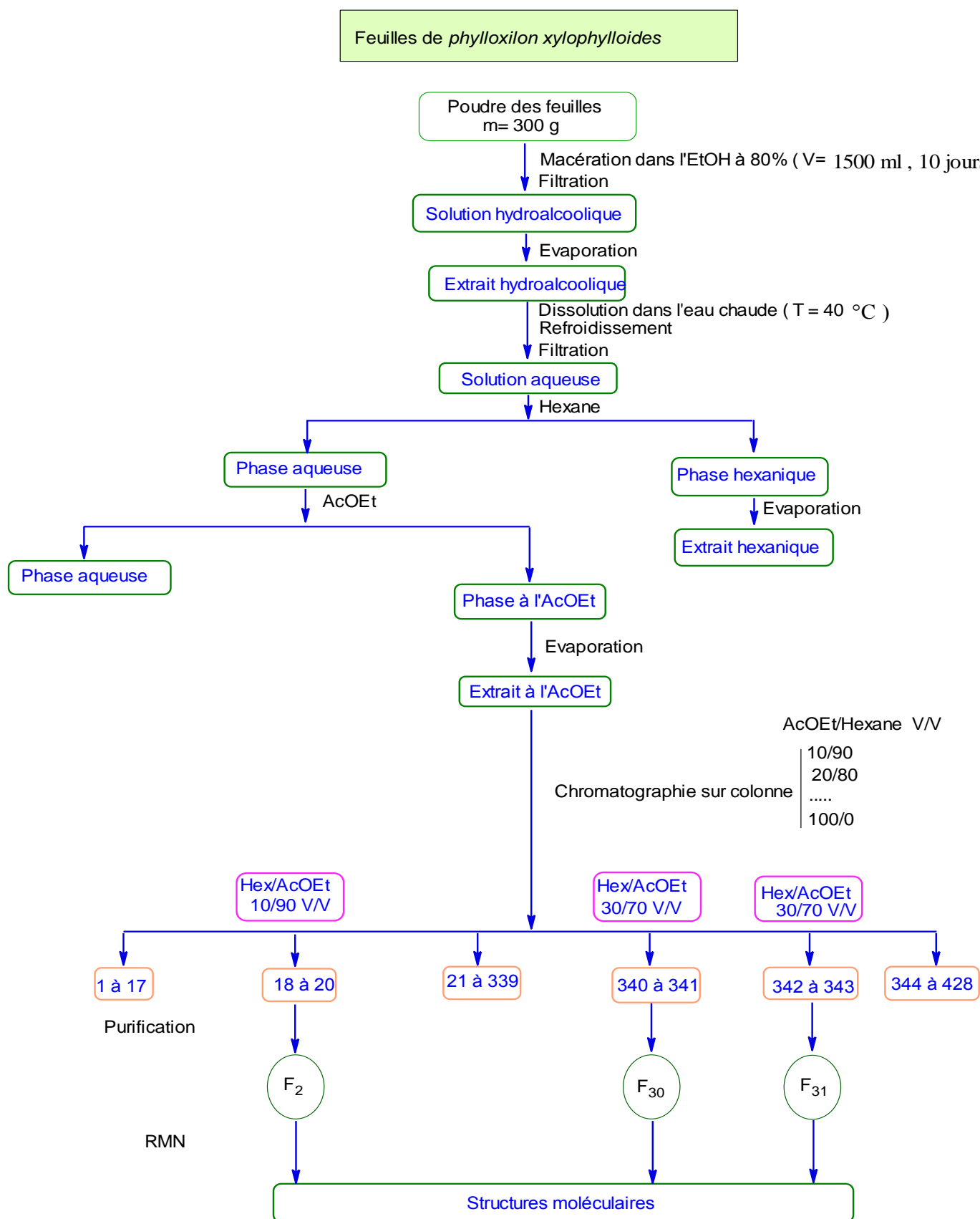


Figure 15: Diagramme des étapes d'obtention de produits purs à partir des feuilles de *Phylloxylon xylophyloides*

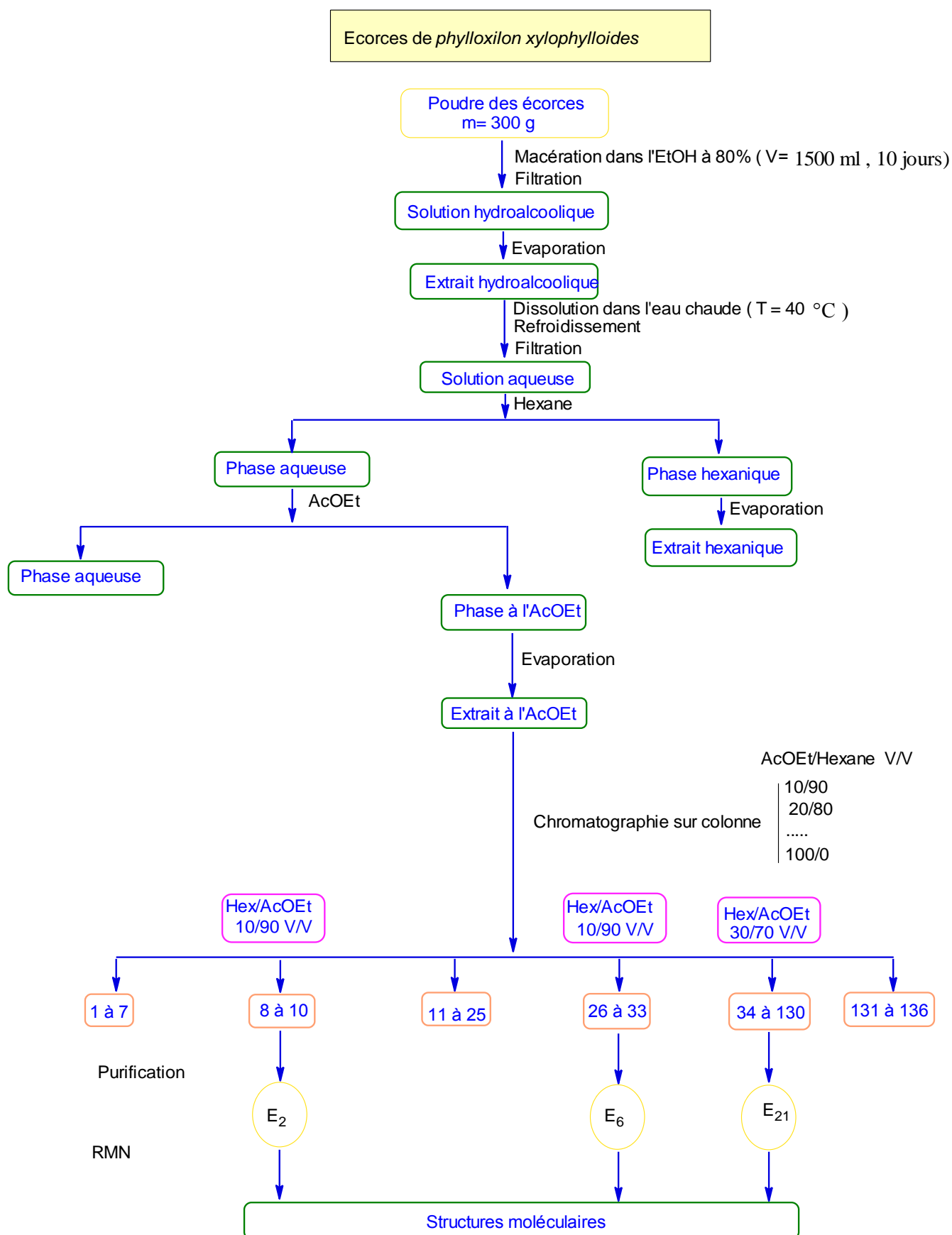


Figure 16: Diagramme des étapes d'obtention de produits purs à partir des écorces de *Phylloxylon xylophylloides*

Le mélange à chromatographier est déposé dans la colonne. Une fois la colonne remplie d'éluant, le robinet est ouvert. Les fractions sont recueillies dans des flacons qui sont suivies par CCM afin de connaître leur profil chromatographique. Les fractions de même aspect en CCM ont été rassemblées, puis évaporées à une température moins de 50°C dans une étuve.

II.5- Test d'activité Antioxydante

Des tests d'activité antioxydante ont été effectués sur les extraits hydroalcooliques, les solutions aqueuses et les extraits hexaniques des feuilles et de l'écorce. Ces extraits ont été d'abord développés en chromatographie sur couche mince dans le système de solvant AcOEt/hexane 5/5 (V/V). Ensuite une solution de DPPH est préparée en dissolvant 16 mg de DPPH dans 8ml de méthanol. Les plaques ont été plongées dans cette solution. Des taches de couleur jaune se forment au bout de 10 minutes.

La plante vient d'être étudiée. Il ne reste plus qu'à observer les résultats avérés.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III- RÉSULTATS

III.1- Résultats d'extraction et de séparation

L'extraction a été faite à partir de 300 g de matériel végétal dans 1500 ml d'EtOH à température ambiante. Deux volumes de solutions hydroalcooliques, 1260 ml pour les feuilles et 1290 ml pour l'écorce ont été obtenus.

- L'évaporation du solvant a donné les extraits secs (m_{seef} , m_{esce}) et les rendements correspondants (R_{if} , R_{ie}).

Pour les feuilles : $m_{seef} = 34,6 \text{ g}$ $R_{if} = 11,53 \%$

Pour les écorces : $m_{esce} = 6,2 \text{ g}$ $R_{ie} = 2,06 \%$

La reprise avec l'eau chaude des extraits hydroalcooliques permet d'obtenir des solutions aqueuses de volume 185 ml pour les feuilles et 110 ml pour l'écorce.

- Les extractions liquide-liquide avec l'hexane (avec les feuilles $V = 560 \text{ ml}$, avec les écorces $V = 255 \text{ ml}$) ont permis d'obtenir :

Avec les feuilles un extrait hexanique E_{hf} correspondant à une masse m_{hf} de l'ordre de **0,0001 g**.

Avec les écorces un extrait hexanique E_{he} correspondant à une masse m_{he} de l'ordre de **0,0001 g**.

- Les extractions liquide-liquide avec l'acétate d'éthyle (avec les feuilles $V = 560 \text{ ml}$, avec les écorces $V = 255 \text{ ml}$) ont permis d'obtenir :

Avec les feuilles un **Extrait AcOEt** E_{af} correspondant à une masse $m_{af} = 1,4 \text{ g}$ et un rendement correspondant $R_{af} = 0,47 \%$

Avec les écorces un **Extrait AcOEt** E_{ae} correspondant à une masse $m_{ae} = 0,9 \text{ g}$ et un rendement $R_{ae} = 0,30 \%$

Le résumé de ces résultats est présenté sur les figures 17 et 18.

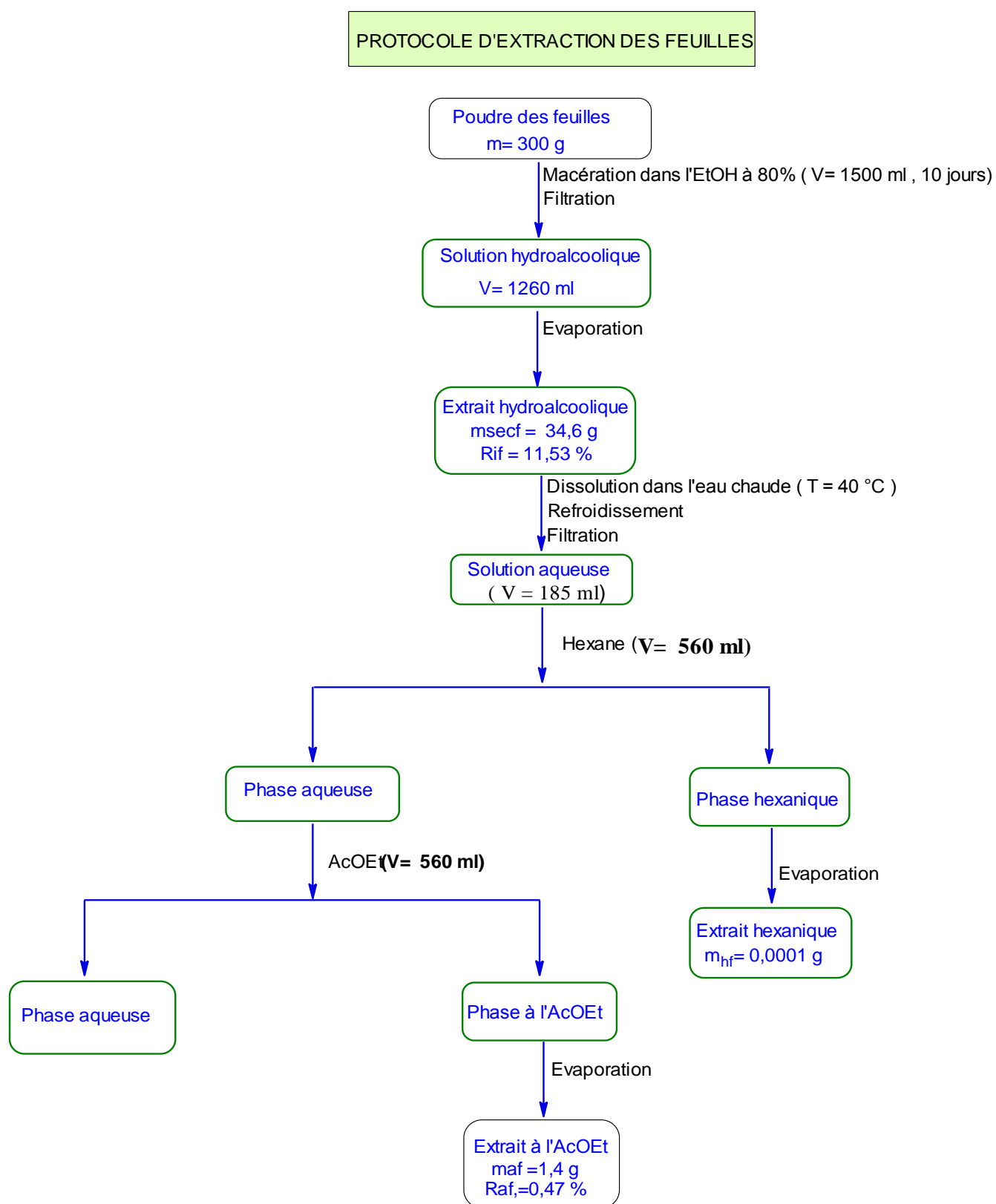


Figure 17: Résultats de l'extraction par partage liquide-liquide (feuilles)

PROTOCOLE D'EXTRACTION DES ECORCES

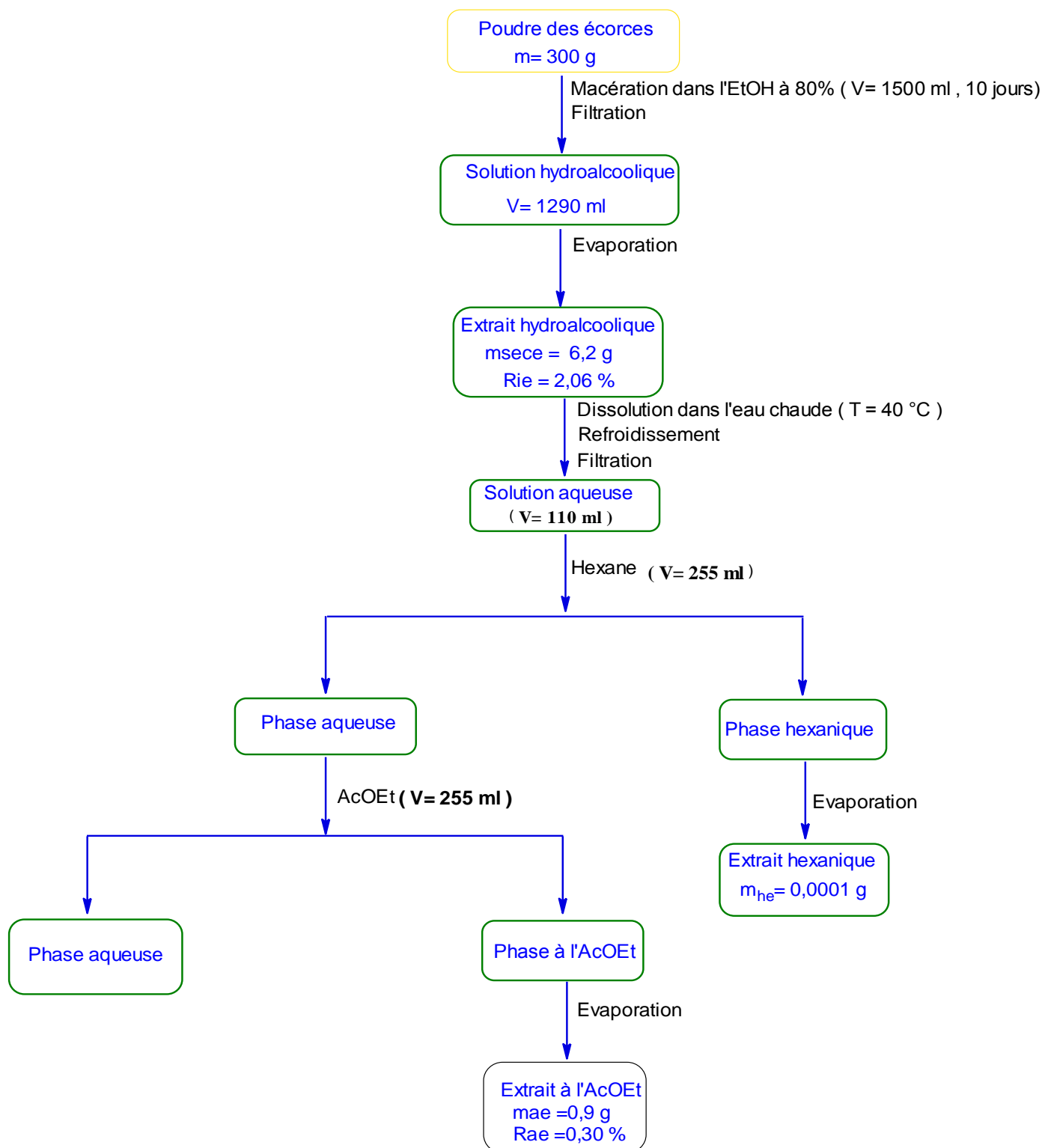


Figure 18: Résultats de l'extraction par partage liquide-liquide (écorces)

III.2-Résultats du criblage phytochimique

III.2.1- Criblage des alcaloïdes

Les tests préliminaires effectués sur les extraits EtOH des feuilles et de l'écorce ont donné des résultats positifs. Les tests de confirmation ont révélé la présence d'une quantité assez importante d'alcaloïdes dans les deux extraits.

III.2.2- Criblage des Flavonoïdes et Leucoanthocyanes

Dans les deux cas, les tests de Wilstater, de Wilstater modifié, de Bate-Smith et Bate-Smith modifié n'ont indiqué aucun changement de couleur sauf dans le cas du test pour les feuilles qui a viré au rouge violacé. Cela signifie qu'il n'y a ni flavones, ni flavanols ni anthocyanes ni leucoanthocyanes dans la plante étudiée ici sauf dans le cas des feuilles où la vivacité du rouge violacé détecté indique une présence importante de leucoanthocyanes.

III.2.3-Criblage des Tanins et des polyphénols

Les tests avec le chlorure ferrique (FeCl_3) à 10%, avec la gélatine à 1% et avec la gélatine salée ont donné des résultats positifs avec les feuilles. Par contre pour les écorces, aucun changement de couleur n'a été observé lors du test avec le chlorure ferrique FeCl_3 à 10%. Ces observations révèlent la présence de polyphénols et de tanins dans les feuilles et les écorces, la présence de tanins condensés dans les feuilles et l'inexistence de ces derniers dans les écorces.

III.2.4-Criblage des Stéroïdes et Terpénoïdes

Aucun changement de couleur n'a été observé dans les quatre tests effectués dans ce cas, à savoir le test de Liebermann-Burchard, le teste de Keller-killiani, le test de Slakowski et enfin celui de Badjet Kedde. Ces observations démontrent l'inexistence de triterpènes, de stéroïdes, de triterpénoïdes, de stérols insaturés, de stéroïdes lactoniques ainsi que désoxy-2-sucre dans les parties étudiées de la plante. Le barème adopté pour l'appréciation des résultats a été rappelé dans le tableau V. Ces résultats sont représentés dans les tableaux VI et VII.

Tableau V: Barème d'appréciation semi-qualitative de criblage phytochimique

| Signe | Précipitation | Coloration | Indice de mousse |
|-------|----------------------|--------------------|------------------|
| - | Pas de précipitation | Sans changement | 0 à 2 cm |
| + | Précipitation faible | Coloration faible | 2 à 4 cm |
| ++ | Précipitation moyen | Coloration moyen | 4 ç 5 cm |
| +++ | Précipitation forte | Coloration intense | Plus de 5 cm |

Tableau VI: Résultats du criblage l'extrait des feuilles

| Famille chimique | Test | Observation | Appréciation | Conclusion |
|--|---------------|----------------------------------|--------------|--|
| Macération chlorhydrique | Wagner | Précipité | + | Test positif |
| | Mayer | Précipité | + | |
| | Drangenodorff | Précipité | + | |
| Alcaloïdes | Wagner | Précipité | ++ | Présence d'Alcaloïdes |
| | Mayer | Précipité | ++ | |
| | Drangenodorff | Précipité | ++ | |
| Flavonoïdes et Leucoanthocyanes | Tube 2 | Pas de coloration | - | Absence de : flavones, flavonols, flavanones et flavanols |
| | Tube 3 | Pas de coloration | - | |
| | Tube 4 | Rouge violacé | +++ | Présence de Leucoanthocyanes |
| | Tube 5 | Pas de précipité | - | Absence des anthocyanes |
| Tanins et des polyphénols | Tube 2 | Précipité | +++ | Présence des Polyphénols |
| | Tube 3 | Précipité | ++ | Présence des Tanins |
| | Tube 4 | Coloration bleu-vert + précipité | +++ | Présence des Tanins condensés |
| Stéroïdes et Terpénoides | Tube 2 | Pas de | - | Absence de : triterpènes, stéroïdes, triterpénoides, stérols insaturés, stéroïdes lactoniques et desoxy-2-sucres |
| | Tube 3 | Pas de coloration | | |
| | Tube 4 | Pas de coloration | | |
| | Tube 5 | Pas de coloration | | |
| | Tube 6 | Pas de coloration | | |

Tableau VII: Résultats du criblage l'extrait des écorces

| Famille chimique | Teste | Observation | Appréciation | Conclusion |
|--|---------------|--------------------------------|--------------|--|
| Macération chlorhydrique | Wagner | Précipité | +++ | Teste positif |
| | Mayer | Précipité | + | |
| | Drangenodorff | Précipité | + | |
| Alcaloïdes | Wagner | Précipité | +++ | Présence d'Alcaloïdes |
| | Mayer | Précipité | ++ | |
| | Drangenodorff | Précipité | ++ | |
| Flavonoïdes et Leucoanthocyanes | Tube 2 | Pas de coloration | - | Absence de : flavones, flavonols, flavanones et flavanols. |
| | Tube 3 | Pas de coloration | - | |
| | Tube 4 | Pas de coloration | | Absence de Leucoanthocyanes |
| | Tube 5 | Pas de coloration | | Absence des anthocyanes |
| Tanins et des polyphénols | Tube 2 | Précipité | ++ | Présence Polyphénols |
| | Tube 3 | Précipité | + | Présence des Tanins |
| | Tube 4 | Pas de précipité ni coloration | - | Absence des Tanins condensés |
| Stéroïdes et Terpénoides | Tube 2 | Pas de coloration | - | Absence de : triterpènes, stéroïdes, triterpénoides, stérols insaturés, stéroïdes lactoniques et desoxy- 2-sucres |
| | Tube 3 | Pas de coloration | | |
| | Tube 4 | Pas de coloration | | |
| | Tube 5 | Pas de coloration | | |
| | Tube 6 | Pas de coloration | | |

III.3-Résultat du fractionnement

Lors du fractionnement des extraits des feuilles et des écorces de *Phylloxylon xylophyloides* sur colonnes de silice, six produits sont isolés ; trois produits correspondants aux fractions F₂, F₃₀ et F₃₁ pour les feuilles et trois produits correspondants aux fractions E₂, E₆ et E₂₁ pour l'écorce.

La variation des proportions d'éluant utilisées est rapportée dans les tableaux VIII et IX.

Tableau VIII: Fractionnement sur colonne l'extrait à AcOEt des feuilles.

| Système d'éluant Hexane /AcOEt (V/V) | Fraction correspondant |
|---|------------------------|
| 10/90 | 1 à 105 |
| 15/85 | 106 à 200 |
| 20/80 | 201 à 285 |
| 25/75 | 286 à 310 |
| 30/70 | 311 à 325 |
| 40/60 | 326 à 340 |
| 50/50 | 341 à 355 |
| 60/40 | 356 à 370 |
| 70/30 | 371 à 380 |
| 80/20 | 381 à 395 |
| 90/10 | 396 à 400 |
| 100/0 | 400 à 415 |

Tableau IX: Fractionnement sur colonne l'extrait à AcOEt des écorces

| Système d'éluant Hexane /AcOEt (V/V) | Fraction correspondant |
|---|------------------------|
| 10/90 | 1 à 45 |
| 20 /80 | 46 à 105 |
| 30/70 | 106 à 123 |

Les fractions ont été regroupées en fonction de leurs profils en CCM. Les produits F₂, F₃₁, F₃₂, E₂, E₆ et E₂₁ sont les fractions majoritaires obtenues par regroupement des fractions. Ces résultats sont présentés dans les tableaux X et XI.

Tableau X: Fractions regroupées de l'extrait à l'*AcOEt* des feuilles

| Produits | Fractions | Système d'éluant Hexane /AcOEt (V/V) |
|-----------------|------------|---|
| F ₂ | 18 à 20 | 10/90 |
| F ₃₁ | 442 et 443 | 50/50 |
| F ₃₂ | 444 et 445 | 50/50 |

Tableau XI: Fractions regroupées de l'extrait à l'*AcOEt* des écorces

| Produits | Fractions | Système d'éluant Hexane /AcOEt (V/V) |
|-----------------|-----------|---|
| E ₂ | 8 à 10 | 10/90 |
| E ₆ | 26 à 33 | 80/20 |
| F ₂₁ | 131 à 136 | 30/70 |

A vue d'œil, les fractions F₂ et E₂ semblent être de la même composition chimique, elles ont le même aspect (huileux) et la même couleur (jaune), d'autant plus qu'elles ont été obtenus à peu près au même moment et avec le même système d'éluant Hexane /AcOEt (V/V), 10/90. L'analyse par CCM a permis de confirmer cette hypothèse ; F₂ et E₂ ont le même R_f dans les mêmes conditions. Ces résultats sont décrits dans le tableau XII et figure 19.

Tableau XII: Caractéristiques des taches des produits E₂ et F₂

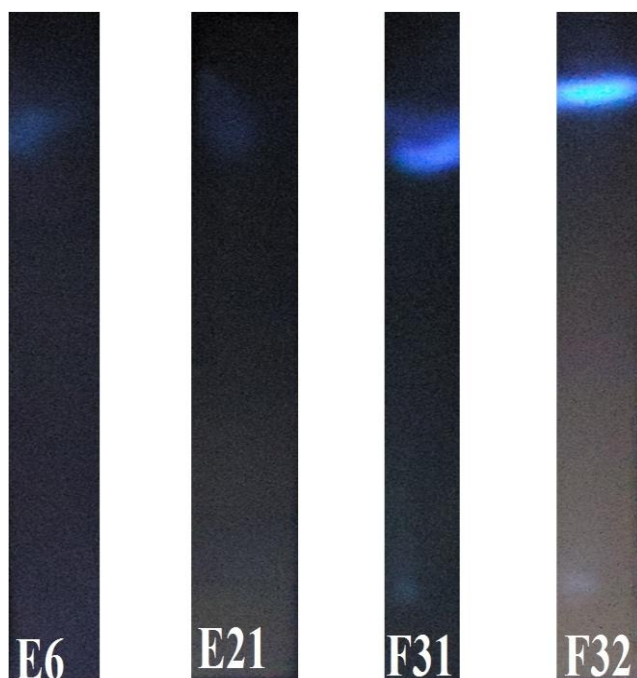
| Tache | Système d'éluant | R _f | Aspect | Masse (mg) | Coloration Sous radiation UV |
|----------------|-------------------------|----------------|-------------|---------------|------------------------------------|
| | | | | | λ=365nm |
| F ₂ | Hexane / AcOEt 90/10 | 0,24 | Huile Jaune | 140,00 | Blanc |
| E ₂ | | 0,23 | Huile Jaune | 210,00 | Blanc |



Système d'éluant : Hexane/AcOEt : 90/10
Phase stationnaire : Gel de silice de 0,2 mm fixé sur une feuille d'aluminium
Observation : UV $\lambda=365\text{nm}$

Figure 19: Profils CCM des fractions E₂ et F₂

Les caractéristiques des produits E₆, E₂₁, F₃₁ et F₃₂ sont décrits dans la figure 20 et le tableau XIII.



Système d'éluant : Hexane/AcOEt : 90/10
Phase stationnaire : Gel de silice de 0,2 mm fixé sur une feuille d'aluminium
Observation : UV $\lambda=365\text{nm}$

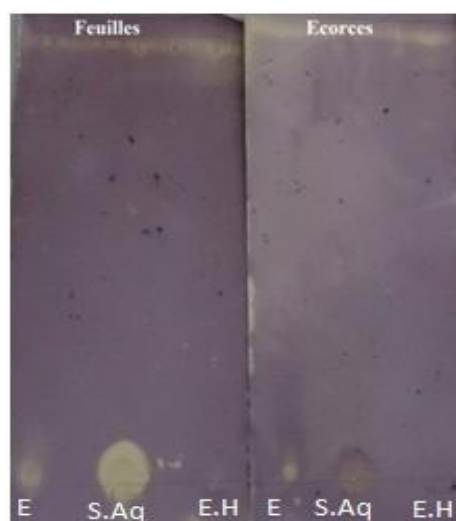
Figure 20: CCM des produits isolés à partir des extraits des feuilles et des écorces

Tableau XIII: Caractéristiques des produits isolés à partir des extraits d'acétate des feuilles et des écorces

| Produits | Système d'éluant | Rf | Aspect | Masses (mg) | Coloration Sous radiation UV |
|-----------------|-----------------------|------|-----------------|-------------|------------------------------------|
| | | | | | $\lambda=365\text{nm}$ |
| E ₆ | MeOH / AcOEt 30/70 | 0,83 | Cristaux blancs | 16,00 | Bleu |
| E ₂₁ | | 0,94 | Cristaux blancs | 10,00 | Bleu |
| F ₃₁ | | 0,88 | Huile jaune | 27,00 | Bleu claire |
| F ₃₂ | | 0,71 | Huile jaune | 11,00 | jaune |

III.4-Résultats du test d'activité antioxydante

Le test sur les extraits hydroalcooliques des feuilles et des écorces et sur la solution aqueuse des écorces a révélé un bref changement de couleur. Ce qui peut être traduit par une faible quantité de composés antioxydants. Aucun changement de couleur n'a été observé lors du test sur les extraits hénaniques. Seule la solution aqueuse des feuilles donne un résultat significatif. En effet, une tache de coloration jaune sur fond violacé a été observée. Cette tache est observée sur la ligne de dépôt, cela implique que les produits possédant la propriété antioxydante n'ont pas été élués par le système de solvant utilisé lors du développement des plaques chromatographiques. Ces résultats sont illustrés sur la figure 21.



Système d'éluant : Hexane/AcOEt : 5/5
Phase stationnaire : Gel de silice de 0,2 mm fixé sur une feuille d'aluminium
Révélateur : DPPH/MeOH,(16mg/8ml)
E : Extrait hydroalcoolique
S.Aq : Solution aqueuse
E.He : Extrait hénanique

Figure 21: Résultat du test antioxydant des extraits hydroalcooliques, hénaniques et solutions aqueuses

III.5-Résultat de l'identification du produit F₂

Le produit F₂ qui a les mêmes propriétés physiques que E₂ a été analysé par spectroscopie RMN et identifié. Le comportement du produit F₂ (couleur jaune, aspect huileux) laisse penser que F₂ est un acide gras ou un triglycéride.

III.5.1-Spectre RMN ¹H

Le spectre RMN ¹H (Figure 22) révèle 9 signaux nommés A, B, C, D, E, F, G, H et I qui correspondent à 9 sites de protons tous identifiables par leurs déplacements chimiques sur le tableau des principaux déplacements chimiques des ¹H.

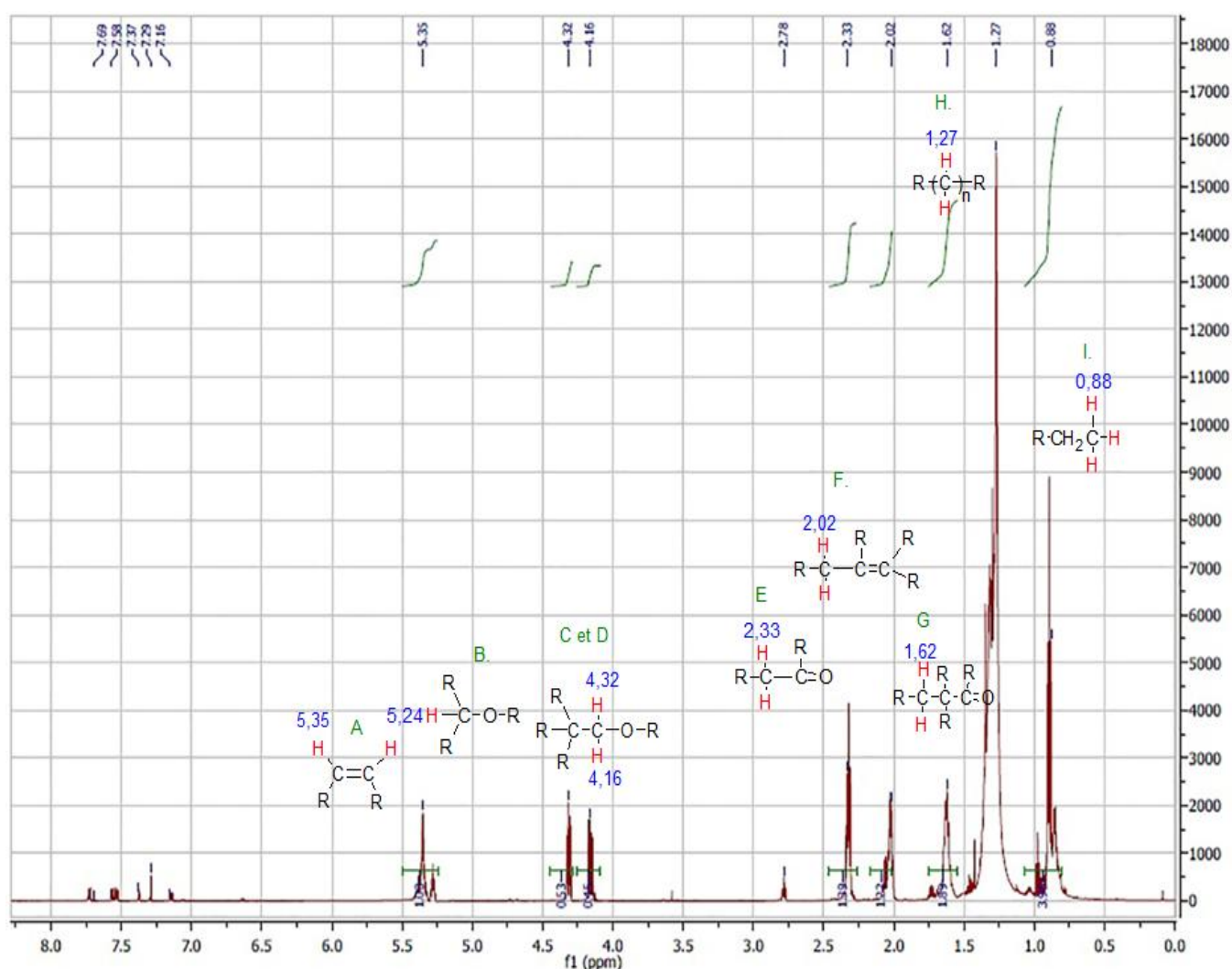
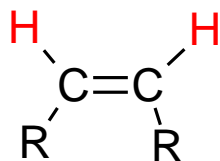
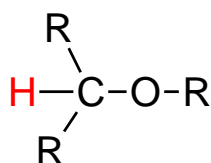


Figure 22: Spectre RMN ¹H du produit F₂

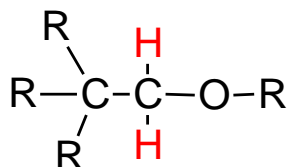
- Le proton à $\delta = 5,35$ ppm est attribué au groupement méthine éthylénique (A) [26]



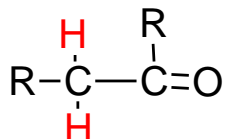
- Le proton à $\delta = 5,24$ ppm appartient au groupement méthine oxygéné (B) [26].



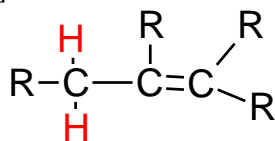
- Les protons à $\delta = 4,32$ ppm et $\delta = 4,16$ correspondent au groupement méthylène oxygéné (C) et (D) [26].



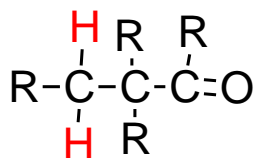
- Le proton à $\delta = 2,33$ ppm est attribué au groupement méthylène en position α d'un carbonyle (E) [26].



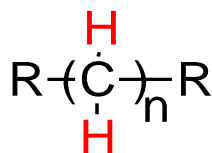
- Le proton à $\delta = 2,02$ ppm appartient au groupement méthylène en position α d'un carbone éthylénique (F) [26].



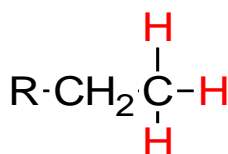
- Le proton à $\delta = 1,62$ ppm correspond au groupement méthylène en position β d'un carbonyle (G) [26].



- Le proton à $\delta = 1,27$ ppm appartient au groupement méthylène d'une longue chaîne (H) [26].



- Le proton à $\delta = 0,88$ ppm est attribué au groupement méthyle (I) [26].



Ces différents sites de protons sont représentés sur le tableau XIV.

Tableau XIV: Interprétations des signaux RMN ^1H

| Signaux | Déplacements chimique (ppm) | nombre de ^1H | Attributions |
|---------|-----------------------------|------------------------|---|
| A | 5,35 | 6 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\text{C}}=\underset{\text{H}}{\text{C}}-\text{R}$ |
| B. | 5,24 | 1 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{R}}{\text{C}}}-\text{O}-\text{R}$ |
| C. | 4,32 | 2 | $\text{R}-\underset{\text{R}}{\overset{\text{R}}{\text{C}}}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{O}-\text{R}$ |
| D. | 4,16 | 2 | $\text{R}-\underset{\text{R}}{\overset{\text{R}}{\text{C}}}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{O}-\text{R}$ |
| E | 2,33 | 6 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{R}}{\text{C}}=\text{O}$ |
| F. | 2,02 | 12 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{R}}{\text{C}}=\underset{\text{R}}{\text{C}}-\text{R}$ |
| G | 1,62 | 6 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\underset{\text{R}}{\overset{\text{R}}{\text{C}}}-\underset{\text{R}}{\text{C}}=\text{O}$ |
| H. | 1,27 | | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{R}$ |
| I. | 0,88 | 9 | $\text{R}-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{H}$ |

III.5.2-Spectre DEPT Q

Le spectre DEPT Q (figure 23) représente les signaux des carbones :

- CH et CH₃ du côté positif
- CH₂ et C quaternaire du côté négatif

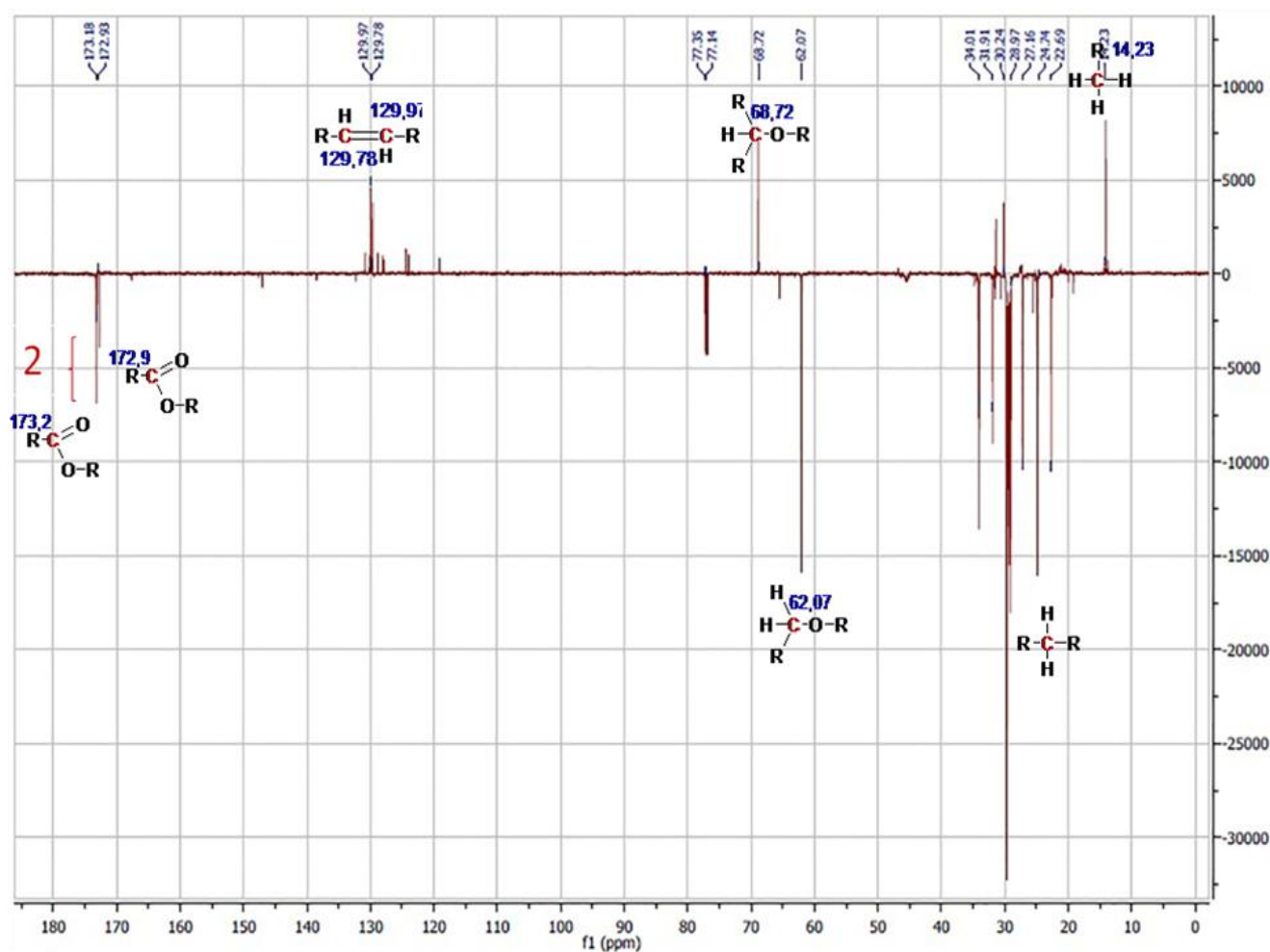
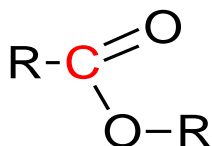


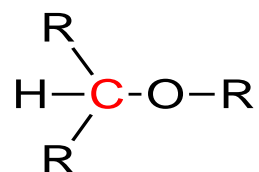
Figure 23: Spectre DEPT Q du produit F₂

Le spectre DEPT Q révèle 14 signaux importants. En s'inspirant des données théoriques, la présence des trois groupements suivants permet de poser l'hypothèse qu'il s'agit d'un triglycéride.

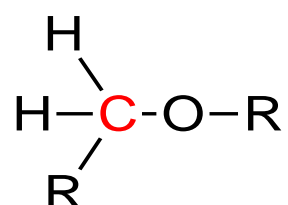
Les carbones C1 et C2 de déplacements chimiques 173,2 ppm et 172,9 correspondent aux groupements carbonyles des esters [26].



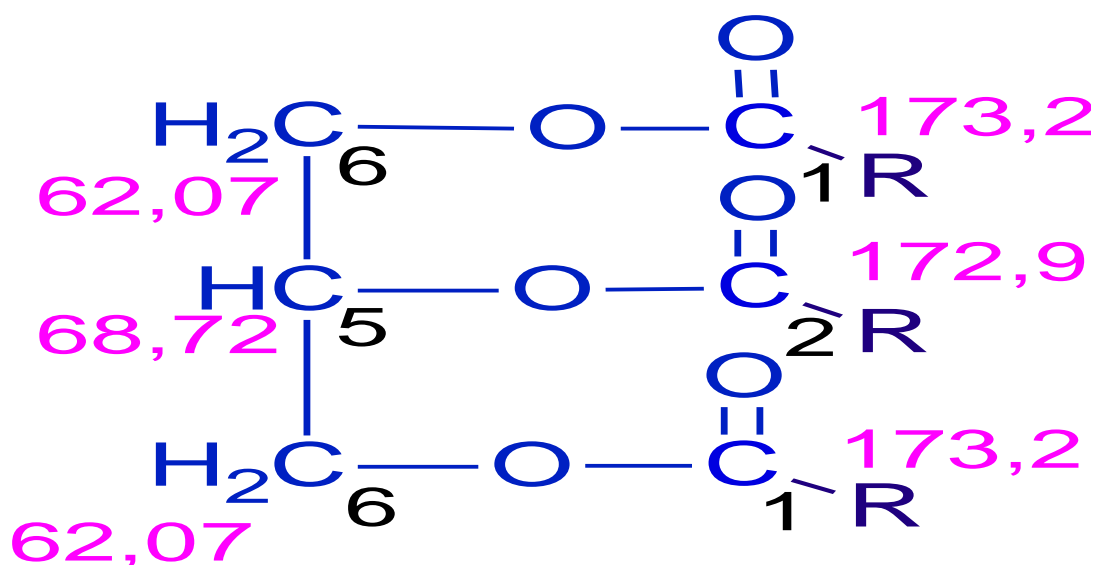
Le carbone C5 de déplacement chimique 66,7 ppm est attribué au groupement méthine oxygéné [26].



Les carbones C6 de déplacement chimique 62,07 ppm appartiennent au groupement méthylènes oxygénés [26].



Ainsi ces données permettent d'avoir la séquence a



Séquence a

Il est observé que C1 et C2 ont sensiblement le même déplacement chimique. La différence de 03 ppm remarquée entre C1 et C2 est due aux interactions entre C2 et C5.

Ces informations supposent que R est le même partout.

L'interprétation de tous les signaux observés sur le spectre DEPT Q est résumée dans le tableau XV.

Tableau XV: Interprétations des signaux du spectre DEPT Q

| Signaux | Deplacements Chimiques (ppm) | Natures des carbones | Attributions |
|------------------------------------|------------------------------|----------------------|---|
| C ₁ | 173,2 | Quaternaire | Ester $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C} \\ \diagup \\ \text{O}-\text{R} \end{array}$ |
| C ₂ | 172,9 | Quaternaire | Ester $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C} \\ \diagup \\ \text{O}-\text{R} \end{array}$ |
| C ₃ | 129,97 | Tertiaire | Ethylénique $\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \\ \text{R}-\text{C}=\text{C}-\text{R} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$ |
| C ₄ | 129,78 | Tertiaire | Ethylénique $\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \\ \text{R}-\text{C}=\text{C}-\text{R} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$ |
| C ₅ | 68,72 | Tertiaire | Méthinique $\begin{array}{c} \text{R} \\ \diagdown \\ \text{H}-\text{C}-\text{O}-\text{R} \\ \diagup \\ \text{R} \end{array}$ |
| C ₆ | 62,07 | Secondaire | Glycérole $\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{H}-\text{C}-\text{O}-\text{R} \\ \diagup \\ \text{R} \end{array}$ |
| C ₇C ₁₉ | | Secondaire | Aliphatique $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{R} \\ \\ \text{H} \end{array}$ |
| C ₂₀ | 22,66 | Secondaire | Aliphatique $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{R} \\ \\ \text{H} \end{array}$ |
| C ₂₁ | 0,88 | Primaire | Aliphatique $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$ |

La figure 24 représente le spectre RMN ^{13}C agrandi du produit F_2 (zone des méthylènes CH_2). Elle donne les déplacements chimiques des différents groupes de méthylènes CH_2 . L'absence de bruit de fond tend à confirmer l'hypothèse selon laquelle le R est identique.

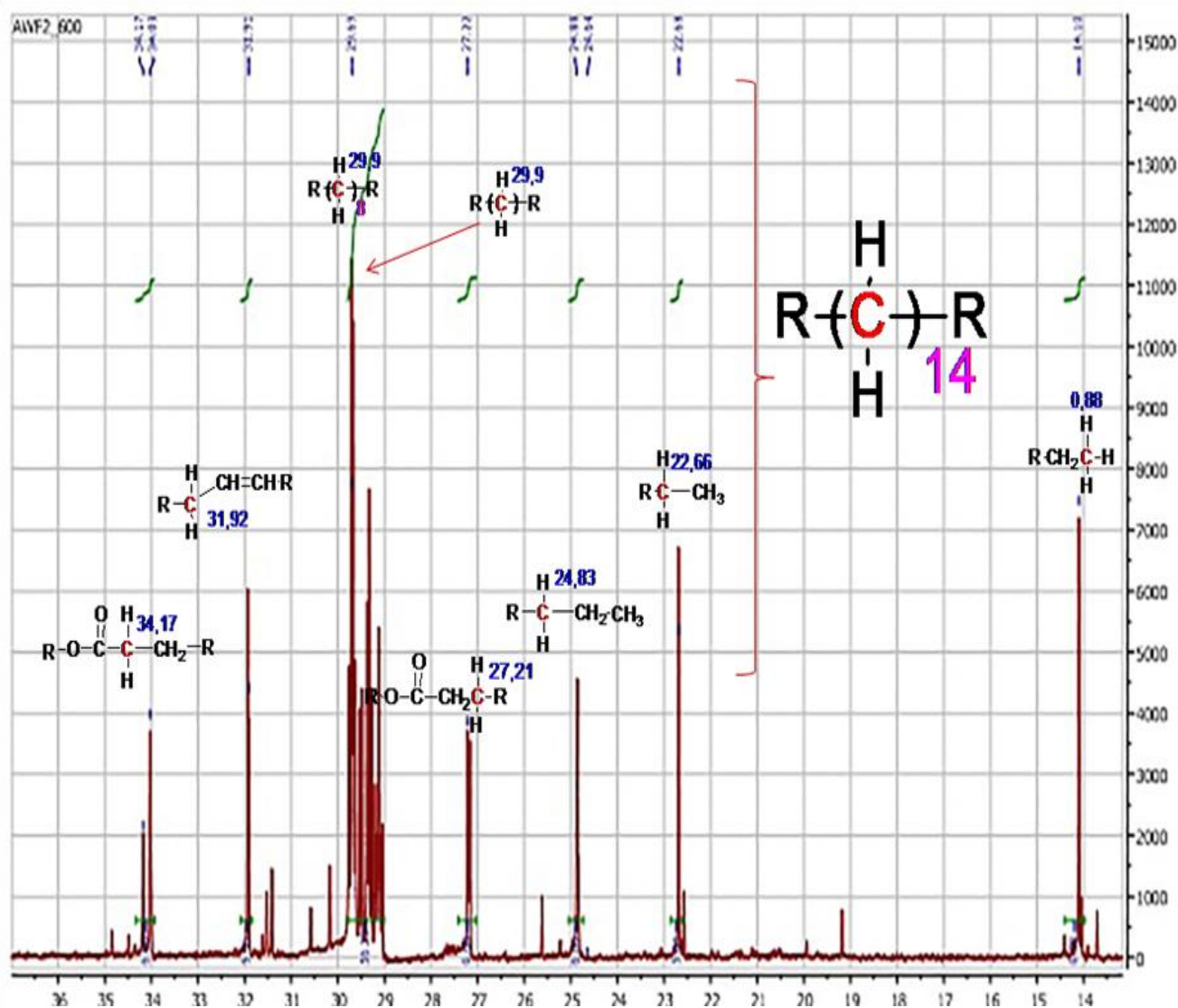


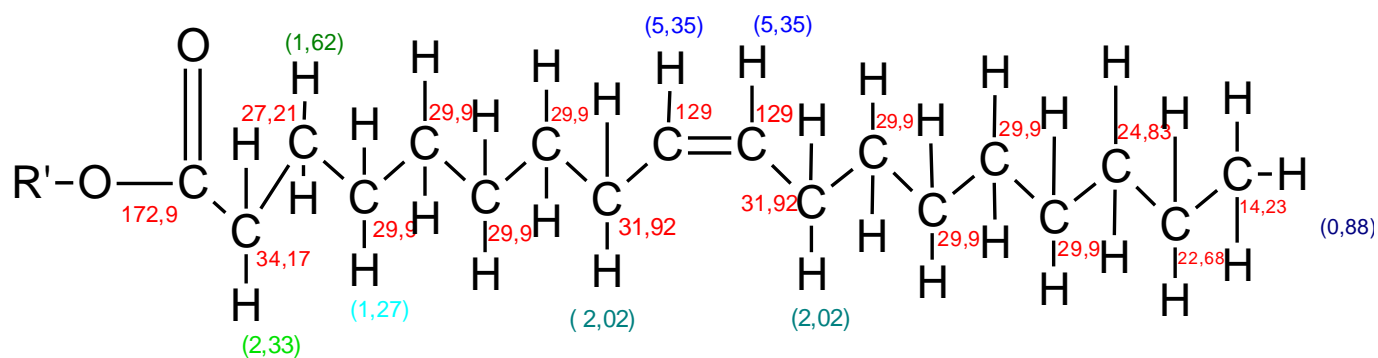
Figure 24: Spectre RMN ^{13}C agrandi du produit F_2 (zone des méthylènes CH_2)

Le nombre de $(\text{CH}_2)_n$ est déterminé à l'aide des valeurs des courbes d'intégration. Pour un méthyle CH_3 , l'intégration est 6. pour $(\text{CH}_2)_n$ l'intégration est 50. Ainsi la valeur de n est 8. L'interprétation des signaux des groupes de méthylènes CH_2 est donnée dans le tableau XVI.

Tableau XVI: Interprétation des signaux des groupes de méthylènes (CH_2)

| Déplacements chimiques (ppm) | Attributions |
|------------------------------|---|
| 34,17 | $\text{R}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\underset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{R}$ |
| 31,92 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}$ |
| 29,9 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}(\text{H})-\text{R}$ |
| 27,21 | $\text{R}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{R}$ |
| 24,83 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ |
| 22,66 | $\text{R}-\underset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$ |
| 0,88 | $\text{R}-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{H}$ |

Cette interprétation permet de supposer que la chaîne acide (R) est en $\text{C}_{18} \Delta^9$ qui n'est autre que l'acide oléique nommé ici séquence b.



Séquence b : chaîne acide en $\text{C}_{18} \Delta^9$; acide oléique

L'hypothèse de structure d'un triglycéride pour F_2 et l'existence des séquences a et b permettent de proposer la structure de F_2 selon la figure 25.

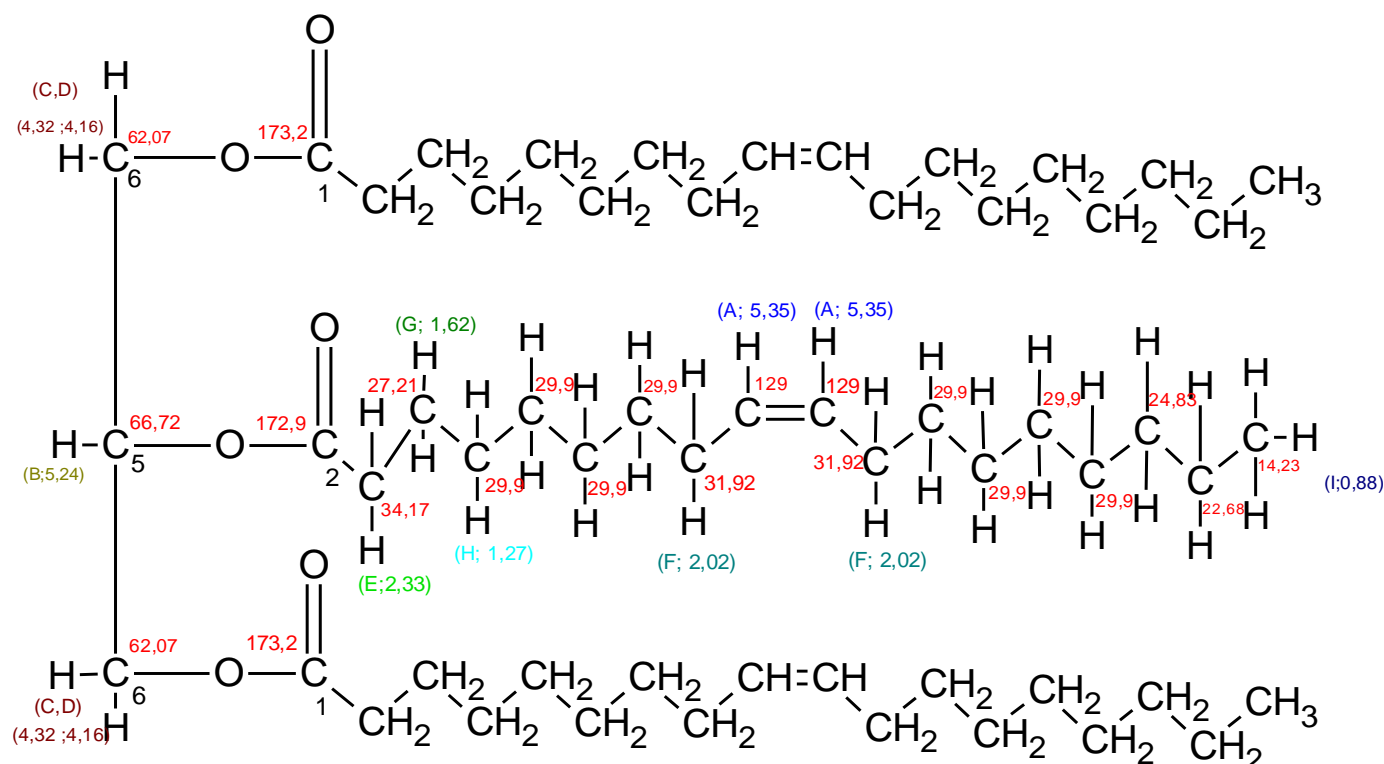
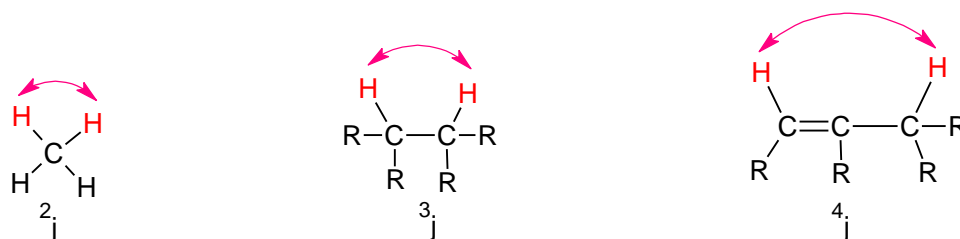


Figure 25: Structure proposée du produit F_2

Cette proposition a été confirmée par les corrélations observées dans le spectre COSY.

III.5.3-Spectre 1H - 1H du produit F_2

Le spectre COSY donne les corrélations entre les protons (1H) vicinaux ou géminés. La figure 26 donne le tracé de ces corrélations observées sur le produit F_2 .



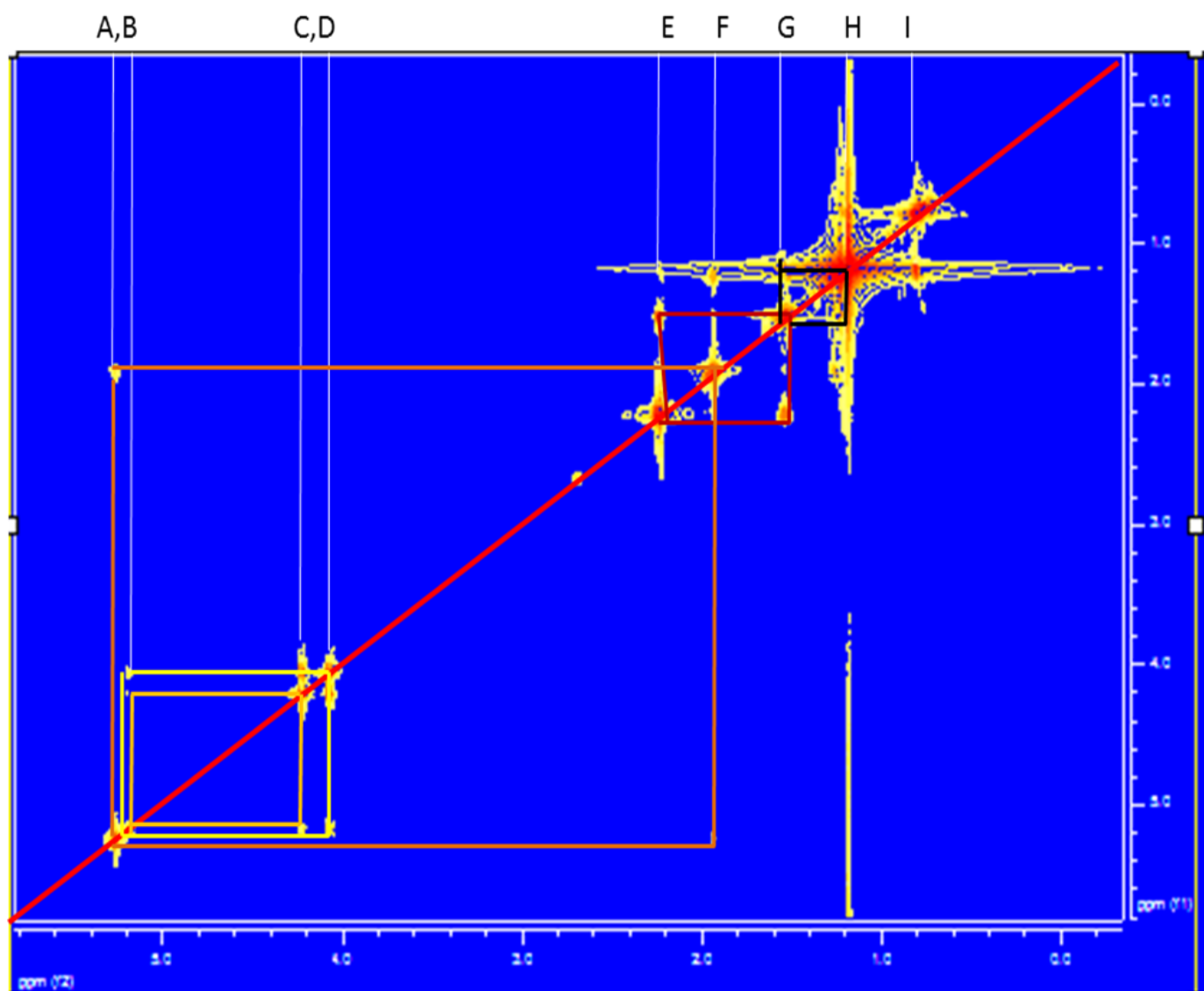


Figure 26: Spectre RMN COSY du produit F₂

Les corrélations observés sur le spectre COSY sont les suivantes :

- Correlations entre les protons A et F
- Correlations entre les protons B et C et entre B et D
- Correlations entre les protons E et G
- Correlations entre les protons G et H

Ces resultats sont donnés dans le tableau XVII.

Tableau XVII: Représentations des corrélations ^1H - ^1H COSY

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | | | | | | ◆ | | | |
| B | | | ◆ | ◆ | | | | | |
| C | | ◆ | | | | | | | |
| D | | ◆ | | | | | | | |
| E | | | | | | | ◆ | | |
| F | ◆ | | | | | | | | |
| G | | | | | ◆ | | | ◆ | |
| H | | | | | | | ◆ | | |
| I | | | | | | | | | |

Les corrélations les ^1H - ^1H observées sur le produit F_2 sont représentées sur la figure 27.

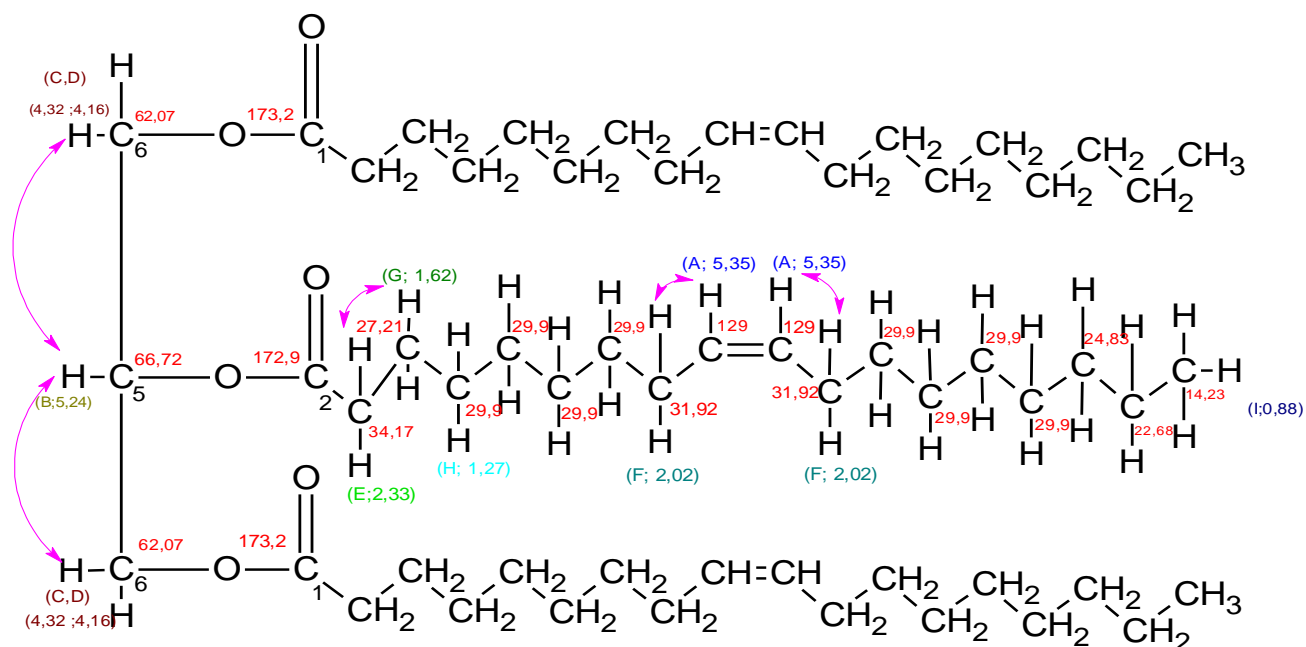


Figure 27: Corrélations ^1H - ^1H COSY observées sur le produit F_2

Toutes ces informations permettent de dire qu'il s'agisse d'un triglycéride simple avec une monochaine en C₁₈ et une double liaison. Ainsi F₂ s'agit de **1,2, 3-tri[cis-octadécénoyl]glycérol** connu sous le nom commercial **Trioléine** (figure 28)

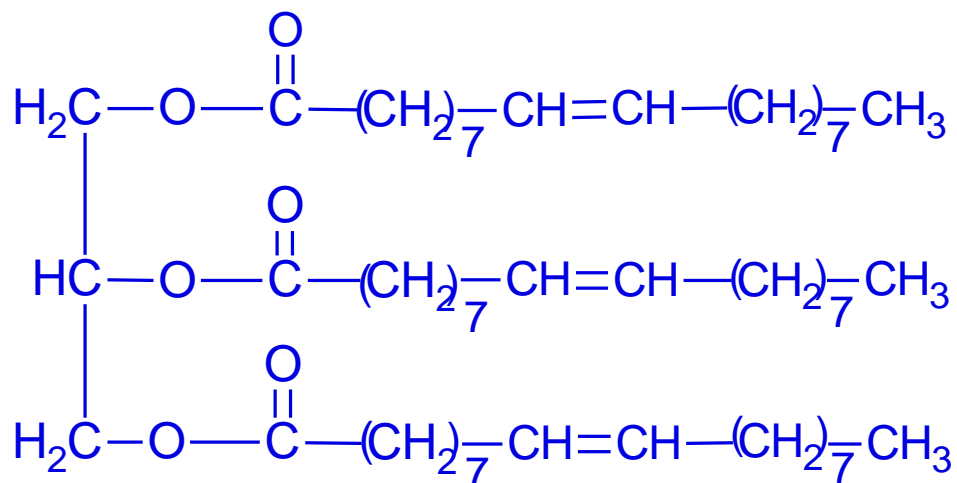


Figure 28: Trioléine ou [(1,2, 3-tri[cis-octadécénoyl]glycérol)]

La Trioléine est présente dans les huiles végétales et la matière grasse animale.

Son utilisation est rependue dans plusieurs domaines. Elle est utilisée comme lubrifiant dans l'industrie textile. Dans le domaine alimentaire, elle est utilisée comme émulsifiant. En médecine, elle est employée pour effectuer le test à la Trioléine [27, W12].

Cette Structure peut être vérifiée en CCM et en CPG en faisant l'hydrolyse acide puis une estérification.

Ces résultats ont été comparés avec la littérature et ils corroborent.

CONCLUSION

L'étude chimique des feuilles et de l'écorce de *Phylloxylon xylophyloides* a permis à mettre en évidence, par les méthodes de criblages photochimique, quatre familles des substances naturelles présentes dans la plante à savoir les Alcaloïdes, , les Polyphénols tels les tanins et les leucoathocyanes.

Les méthodes d'isolement et de fractionnement ont permis d'isoler plusieurs produits purs dont un seul a pu être identifié.

Le **1, 2,3-tri [cis-octadécénoyl]glycérol** connu sous le nom de Trioléine est une molécule présente à la fois dans les feuilles et les écorces. Il a pu être identifié grâce aux méthodes d'analyse par RMN. C'est une molécule qui possède un grand intérêt dans le domaine de l'hygiène puisque elle est utilisée dans la fabrication de savon. Il a un grand intérêt aussi dans le domaine de l'énergie ; elle est utilisée dans la fabrication de biocarburant.

L'obtention de ces différents résultats a permis donc d'atteindre les objectifs de ce travail qui ont été l'isolement et l'identification d'un ou plusieurs composés chimiques à partir des extrait de la plante nommée *Phylloxylon xylophyloides*.

Les propriétés antidiabétiques de la plante ayant été démontrées dans des travaux antérieurs, d'autres études accompagnées par les méthodes d'extraction bioguidée pourront être réalisées afin d'identifier les molécules responsables des autres propriétés thérapeutiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] J. DEMOL-2002-Amélioration des principales espèces tropicales, Presses Agronomiques de Gembloux-livre
- [2] W. J. JUNK, M.T. F. PIEDADE, F. WITTMANN - 2010 -Amazonian Floodplain, Forests- livre
- [3] A. LAWSON- 2006- étude phytochimique d'une fabacée tropicale, lonchocarpus nicou évaluation biologique préliminaire, Thèse, Sciences de la Vie et de la Santé, Sciences Pharmaceutiques, Université de limoges
- [4] D.J. DU PUY, J.-N. LABAT, R. RABEVOHITRA, J.-F. VILLIERS, J. BOSSER & J. MOAT,-2002- The Leguminosae of Madagascar, Royal Botanic Gardens, Kew -livre
- [5] N. LE GRAND, J.-B. GALLE, J.-P. NICOLAS, A. LOBSTEIN, R. SALADIN-2009- Ethnopharmacologie appliquée à Madagascar : recensement et étude de plantes traditionnellement utilisées contre le diabète, Société française d'ethnopharmacologie,-livre
- [6] J.P. NICOLAS-2009- les plantes médicinales du nord de Madagascar, Simson-livre
- [7] N. LE GRAND-2008- Démarche de l'ethnopharmacologie appliquée : plantes antidiabétiques de Madagascar, thèse, pharmacie, Université de Rennes I
- [8,14] G. BOUVENOT, C. CAULIN-2011 -Guide du bon usage du médicament (2e ed.) , Lavoisier- livre
- [9] H. RENON-1971- Calcul sur ordinateur des équilibres liquide-vapeur et liquide-liquide, Editions TECHNIP- livre
- [10] C AUDIGIE, F ZONSZAIN -1991- Biochimie structurale , Wolters Kluwer France-livre
- [11] J. BOREL, A. RANDOUX -1997-Biochimie dynamique, De Boeck Supérieur- livre
- [12] I. CLAVERIE, M. PANET, S. BARBEAU -2008- Biochimie, Wolters Kluwer France-livre
- [13] C. LAPOINTE-VIGNOLA, Fondation de technologie laitière du Québec-2002- Science et technologie du lait: transformation du lait, Presses inter Polytechnique- livre
- [14] P. GOUDET, P. YINDOULA , -2008 - Matière et énergie dans les systèmes: manuel de chimie-biochimie alimentaire, bac technologique 1res et terminales STAV, Educagri Editions-livre
- [15] W.G. HOPKINS-2003- Physiologie végétale, De Boeck Supérieur- livre
- [16] J. DUPAYRAT-1970-Structures et nomenclatures des hétérocycles, TECHNIP -livre

- [17] J. BRUNETON -2009-Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.), Lavoisier- livre
- [18] M. KIEL -2004- Chimie organique, De Boeck Secundair- livre
- [19] V. N. MANDIMBISOLOFO, R. MARSON, R. DANIEL- 2013 - Contribution à l'étude des propriétés biologiques des extraits de feuilles de *Senecio faujasioïdes* (Asteraceae), journal international de santé au travail- article
- [20] M. MAMADOU-2002-action pharmacologique des tanins , thèse, pharmacie , Université Cheikh Anta Diop
- [21] J. BOREL, A. RANDOUX -1997-Biochimie dynamique, De Boeck Supérieur –livre
- [22] J. MENDHAM -2005-Analyse chimique quantitative de Vogel, De Boeck Supérieur- livre
- [23] I. GROSU, M. DARABANTU, S. MAGER-2009- Résonance magnétique nucléaire appliquée à l'analyse structurale de composés organiques, Publication Univ Rouen Havre- livre
- [24] K. P. C. VOLLHARDT, N. E. SCHORE-2004- Traité de chimie organique, De Boeck Supérieur –livre
- [25] W. J. BAUER, R. BADOUD, J. LÖLIGER-2010- Science et technologie des aliments: principes de chimie des constituants et de technologie des procédés, PPUR Presses polytechniques-livre
- [26] A. MARIE NAM - 2014- Contribution de la RMN ^{13}C à l'analyse des huiles végétales, huiles essentielles et résines (*Olea europaea*, *Pinus halepensis* et *Cedrus atlantica*), Thèse, chimie théorique, physique, analytique, Université de Corse-Pascal Paoli
- [27] M. RUBINSTEIN, E. LAURENT, M. STEGEN-2000- Médecine nucléaire: manuel pratique, De Boeck Supérieur-livre

REFERENCES WEBOGRAPHIQUES

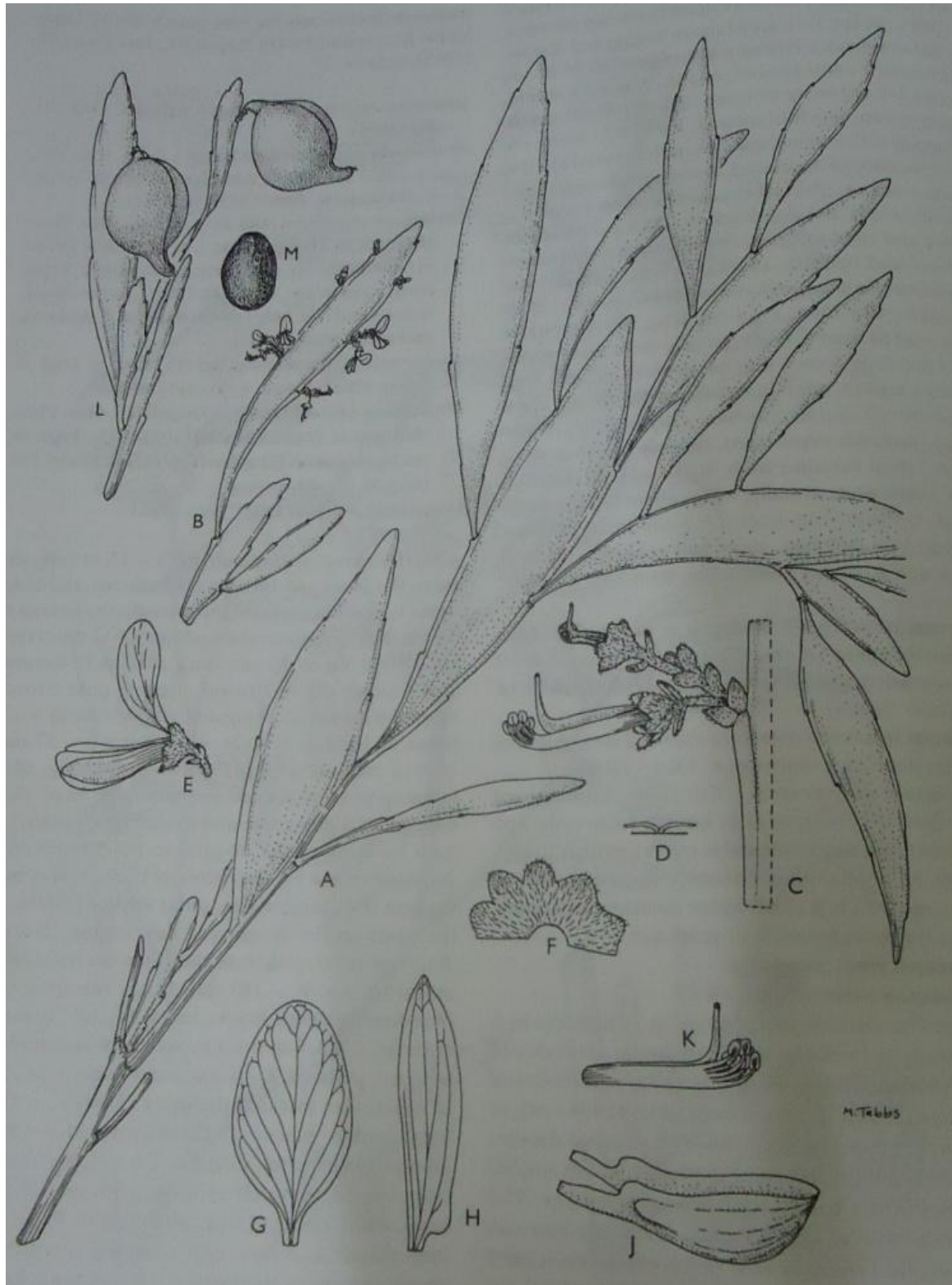
- [W1] <http://www.mi-aime-a-ou.com/Fabaceae.php> consulté 21 /01 / 2015
- [W2] <http://www.floraphile45.org/flore/famille/FABACEAE.html> tableau 1 consulté 23 / 01/ 2015
- [W3] <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php> consulté 23 / 01/ 2015
- [W4] http://www.efloras.org/object_page.aspx?object_id=81383&flora_id=12 consulté 25/01/ 2015
- [W5] <http://sonneratphoto.mnhn.fr/2011/06/01/9/P0004132.jpg> consulté 25/01/ 2015
- [W6] http://www.efloras.org/object_page.aspx?object_id=81385&flora_id=12 consulté 25/01/ 2015
- [W7] <http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Neuropeptidesa.php> consulté 25/03/ 2015
- [W8] <http://nootriment.com/ephedrine/> consulté 25/03/ 2015
- [W9] <http://www.lachimie.fr/analytique/chromatographie/CCM/ccm.php> consulté 2015
- [W10] http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/DocumentsReference/Document.aspx?doc=indice_tac_nu consulté le 09/07/2015
- [W11] <http://www.guide-vitamines.org/dossiers-guide-vitamines/antioxydants/definition-antioxydants.html> consulté le 09/07/2015
- [W12] http://fr.swewe.net/word_show.htm/?283751_1&trioléate_de_glycérol consulté le 09/07/2015

ANNEXE 1 : ESPÈCES DU GENRE *PHYLLOXYLON*

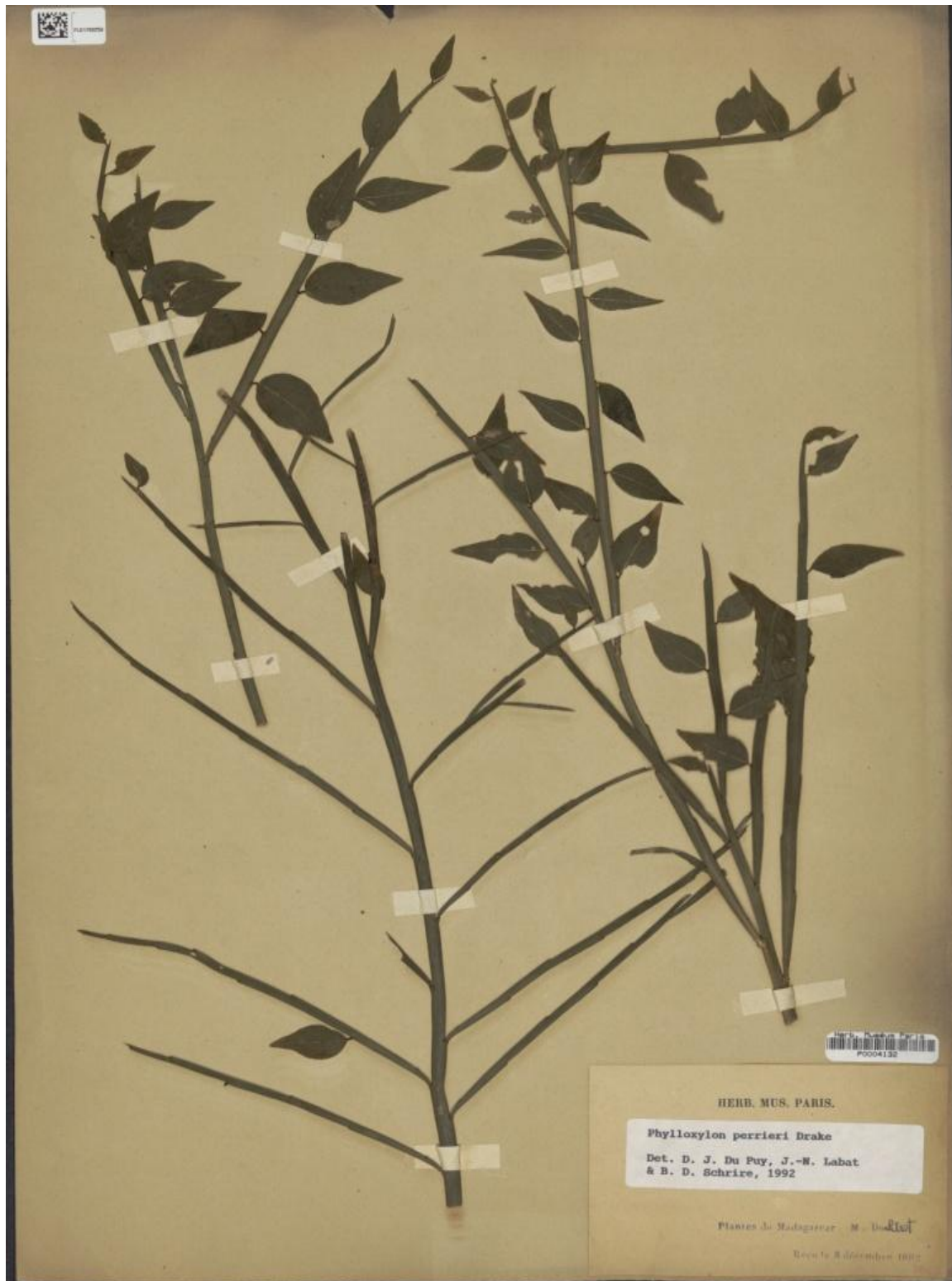


(Source : [W4])

Phylloxylon spinosa Du Puy, Labat & Schrire



(Source : [4])
Phylloxylon xylophylloides (Baker) Du Puy, Labat & Schrire



(Source : [W5])
Phylloxylon perrieri Drake



(Source : [4])

Phylloxylon arenicola Du Puy, Labat & Schrire



(Source : [4])
Phylloxylon decipiens Baill

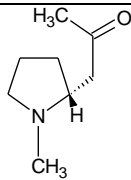
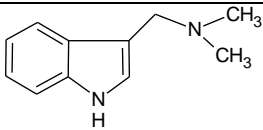
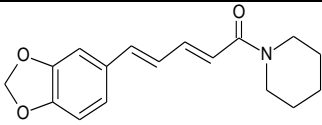
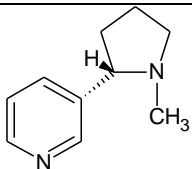
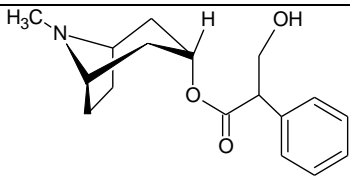
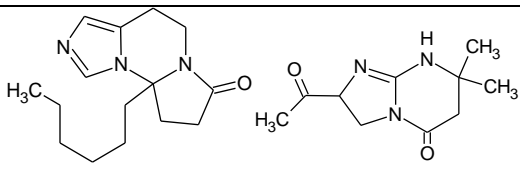
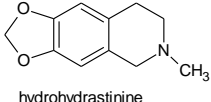
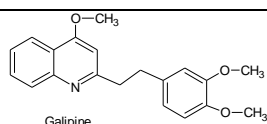


(Source : [4])
Phylloxylon phillipsonii Du Puy, Labat & Schrire

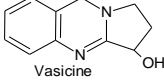
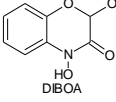
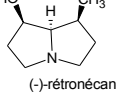
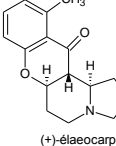
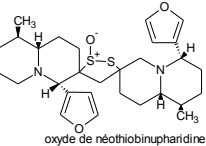
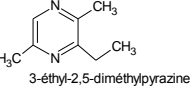
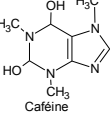
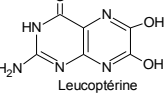
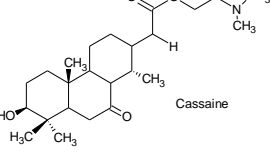
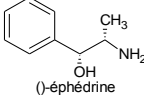


(Source : [W6])
Phylloxylon xiphoclada (Baker) Du Puy, Labat & Schrire

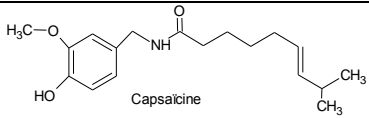
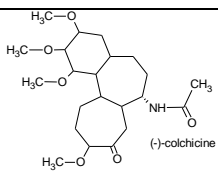
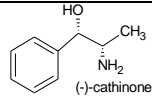
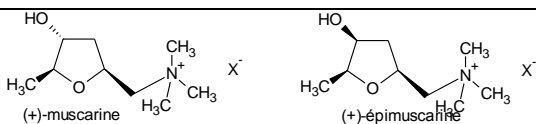
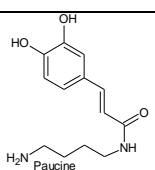
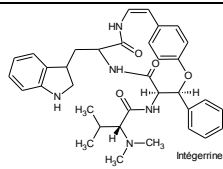
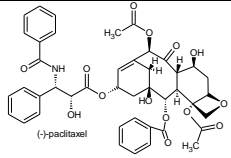
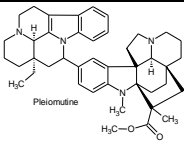
ANNEXE 2 : CLASSIFICATION DES ALCALOÏDES

| Alcaloïdes | | |
|---|--------------------------|---|
| Famille chimique | | Formule |
| Pyrrolidines | (R)-hygrine |  |
| Indoles | Gramine |  |
| Pipéridines | Pipérine |  |
| Pyridines | (-)-nicotine |  |
| Tropanes | Atropine |  |
| Histamines, imidazoles et guanidines | Glochidine, Alchomine |  |
| Isoquinolines | Hydrohydrastinine |  <p style="text-align: center;">hydrohydrastinine</p> |
| Quinoléines | Galipine |  <p style="text-align: center;">Galipine</p> |


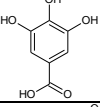
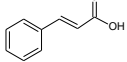
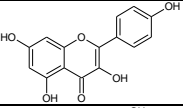
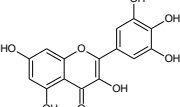
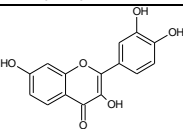
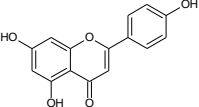
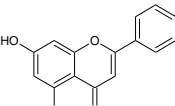
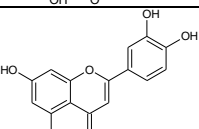
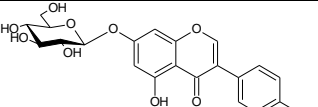
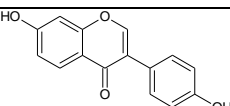
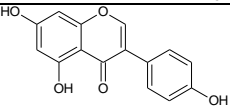
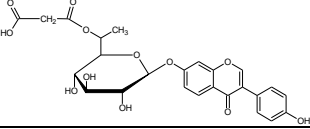
ANNEXE 2 : Suite

| | | |
|------------------------------|-------------------------------|--|
| Quinazolines | Vasicine |  Vasicine |
| Benzoxazines et benzoxazoles | DIBAO |  DIBAO |
| Pyrrolozidines | (-)-rétronécanol |  (-)-rétronécanol |
| Indolizidines | (+)-élaeocarpine |  (+)-élaeocarpine |
| Quinolizidines | Oxyde de néothiobinupharidine |  oxyde de néothiobinupharidine |
| Pyrazines | 3-éthyl-2,5-diméthylpyrazine |  3-éthyl-2,5-diméthylpyrazine |
| Purines | Caféine |  Caféine |
| Ptéridines | Leucoptérine |  Leucoptérine |
| Érythrophléums | Cassaine |  Cassaine |
| Phénylalkylamines | (-)-éphédrine |  (-)-éphédrine |

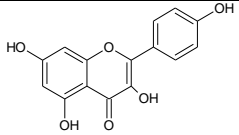
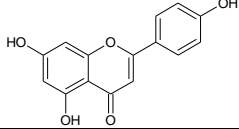
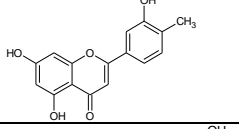
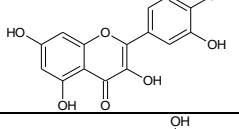
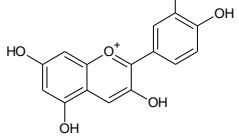
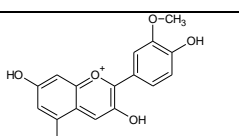
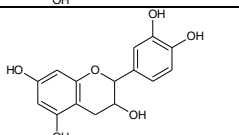
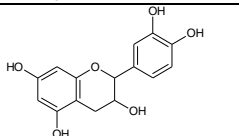
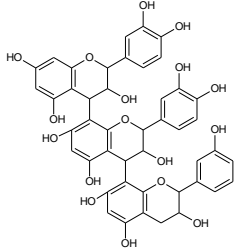
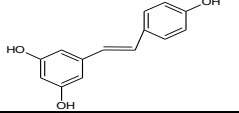
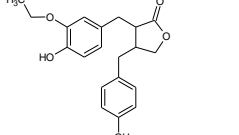
ANNEXE 2 : Suite

| | | |
|---------------------------------------|-----------------------------------|---|
| Benzylamines | Capsaïcine |  <p>Capsaïcine</p> |
| Colchicines | (-)-colchicine |  <p>(-)-colchicine</p> |
| Cathedulines | (-)-cathinone |  <p>(-)-cathinone</p> |
| Muscarines | (+)-muscarine (+)-épipuscarine |  <p>(+)-muscarine (+)-épipuscarine</p> |
| Putrescines, spermidines et spermines | Paucine |  <p>Paucine</p> |
| Peptides | Intégerine |  <p>Intégerine</p> |
| Terpénoides et stéroïdes | (-)-paclitaxel |  <p>(-)-paclitaxel</p> |
| Alcaloïdes dimériques | Peiomutine |  <p>Peiomutine</p> |

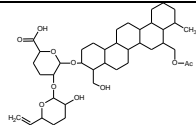
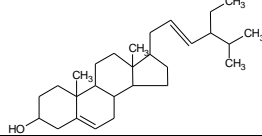
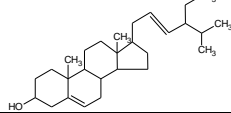
ANNEXE 3 : CLASSIFICATION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

| Classe | | Exemples | |
|--------------------|----------------------------|---|---|
| Phénols | |  | |
| Acides phénoliques | Drivés d'acide gallique |  | |
| | Dérivés d'acide cinnamique |  | |
| Flavonoïdes | Flavonols | Kaempferols |  |
| | | Myricétine |  |
| | | Quercétine |  |
| | Flavones | Apigénine |  |
| | | Chrysine |  |
| | | Lutoléine |  |
| | Isoflavones | Génistine |  |
| | | Daidzéine |  |
| | | Génistéine |  |
| | | Daidzine |  |

ANNEXE 3 : Suite

| | | |
|--------------------------|-------------------|---|
| Dihydroflavonols | Dihydroquercétine |  |
| Flavonones | Naringérine |  |
| | Hespérétine |  |
| | Taxifoline |  |
| Anthocyanidines | Cyanidine |  |
| | péonidine |  |
| Flavanols | Catéchine |  |
| | Epicatéchine |  |
| Polymères de flavonoïdes | Tanins condensés |  |
| resvératrd | Trans-resveratrol |  |
| Matairésinol | Matairésinol |  |

ANNEXE 3 : Suite

| | | | |
|----------------------------|------------------------|------------------|---|
| Saponines | Glycosides terpéniques | Saponine de soja |  |
| Phytostérols /phytostanols | Campestérol | Campestérol |  |
| | Stigmastérol | Stigmastérol |  |

ANNEXE 4 : LES DIFFERENTS TRIBUS ET GENRES DE LA FAMILLE FABACEAE

Les différents tribus de la famille Fabaceae

| | | | |
|------------|----------------|----------------|---------------|
| Vicieae | Millettieae | Crotalarieae | Trifolieae |
| Genisteae | Brongniartieae | Podalyrieae | Galegeae |
| Bossiaeeae | Euchrestae | Amorpheae | Parkieae |
| Phaseoleae | Dipterygeae | Aeschynomeneae | Mimozyantheae |
| Detarieae | Acacieae | Mirbelieae | Desmodieae |
| Adesmieae | Mimoseae | Dalbergieae | Liparieae |
| Hedysareae | Caesalpinieae | Psoraleae | Abreae |
| Sophoreae | Indigofereae | Carmichaelieae | Robinieae |
| Cercideae | Swartzieae | Ingeae | Cassieae |
| Loteae | Cicereae | Thermopsidaeae | |

ANNEXE 4 : Suite

Les différents genres de la famille Fabaceae et les taxons correspondants

| Genre | Taxon(s) | Genre | Taxon(s) |
|-------------------|---|--------------------|---|
| <i>Anthyllis</i> | <i>Anthyllis vulneraria</i> L. | <i>Astragalus</i> | <i>Astragalus glycyphyllos</i> L. |
| <i>Cercis</i> | <i>Cercis siliquastrum</i> L. | <i>Colutea</i> | <i>Colutea arborescens</i> L. |
| <i>Coronilla</i> | <i>Coronilla minima</i> L. <i>Coronilla varia</i> L. | <i>Cytisus</i> | <i>Cytisus lotoides</i> Pourr. <i>Cytisus multiflorus</i> (L'Hér.) Sweet <i>Cytisus oromediterraneus</i> Rivas Mart. & al. <i>Cytisus scoparius</i> (L.) Link |
| <i>Galega</i> | <i>Galega officinalis</i> L. | <i>Genista</i> | <i>Genista anglica</i> L. <i>Genista germanica</i> L. <i>Genista pilosa</i> L. <i>Genista sagittalis</i> L. <i>Genista tinctoria</i> L. |
| <i>Gleditsia</i> | <i>Gleditsia triacanthos</i> L. | <i>Hippocrepis</i> | <i>Hippocrepis comosa</i> L. |
| <i>Laburnum</i> | <i>Laburnum anagyroides</i> Medik. | <i>Lotus</i> | <i>Lotus angustissimus</i> L. <i>Lotus corniculatus</i> L. <i>Lotus glaber</i> Mill. <i>Lotus hispidus</i> Desf. ex DC. <i>Lotus maritimus</i> L. <i>Lotus pedunculatus</i> Cav. |
| <i>Lupinus</i> | <i>Lupinus angustifolius</i> L. <i>Lupinus angustifolius</i> subsp. reticulatus (Desv.) Arcang. <i>Lupinus polyphyllus</i> Lindl. | <i>Melilotus</i> | <i>Melilotus albus</i> Medik. <i>Melilotus altissimus</i> Thuill. <i>Melilotus officinalis</i> (L.) Lam. |
| <i>Onobrychis</i> | <i>Onobrychis viciifolia</i> Scop. <i>Onobrychis viciifolia</i> Scop. subsp. Viciifolia | <i>Ononis</i> | <i>Ononis natrix</i> L. <i>Ononis pusilla</i> L. <i>Ononis spinosa</i> L. |
| <i>Ornithopus</i> | <i>Ornithopus perpusillus</i> L. | <i>Phylloxylon</i> | <i>Phylloxylon spinosa</i> Du Puy <i>Phylloxylon xylophyloides</i> (Baker) Du Puy <i>Phylloxylon perrieri</i> Drake <i>Phylloxylon arenicola</i> Du Puy, <i>Phylloxylon decipiens</i> Baill. <i>Phylloxylon phillipsonii</i> Du Puy, <i>Phylloxylon xiphoclada</i> (Baker) Du Puy |
| <i>Robinia</i> | <i>Robinia pseudoacacia</i> L. | <i>Spartium</i> | <i>Spartium junceum</i> L. |
| <i>Ulex</i> | <i>Ulex europaeus</i> L. <i>Ulex minor</i> Roth | | |

Auteur: Mohamed El Mahad IBRAHIM ABDOU

Adresse : Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et de Chimie Organique Biologie, salle Q211- Département de Chimie Organique, Faculté des sciences, BP 906- université d'Antananarivo.

E-mail : el_mahad@hotmail.fr

Titre : Etudes chimiques du *Phylloxylon xylophylloides* (Fabaceae).

Nombre de page : 52

nombre de référence : 38

Nombre de figures : 28

nombre de tableaux : 17

RESUME

La plante nommée *Phylloxylon xylophylloides* est endémique de Madagascar. Elle est connue pour ses différentes vertus médicinales telles que ses propriétés antidiabétiques, ses effets dans la régulation de l'albuminémie ainsi que du taux du sel dans le sang. Cette étude avait pour objectif d'extraire, d'isoler et d'identifier un ou plusieurs composés chimiques à partir du *Phylloxylon xylophylloides*. Les feuilles et l'écorce, séchées et broyées ont été macérées dans une solution hydroalcoolique suivie d'une série d'extraction liquide-liquide avec l'hexane et l'acétate d'éthyle. Des composés possédant une activité antioxydante ont été mis en évidence dans la solution aqueuse des feuilles. Les extraits acétates ont été fractionnés, ce qui a permis d'isoler Cinq produits purs. L'identification par RMN 1D et 2D du produit F2 obtenu à partir des feuilles a montré qu'il s'agit du **1,2,3-tri [cis-octadécénoyl] glycérol**. La comparaison de F2 et E2 obtenu avec l'écorce a démontré qu'il s'agit du même produit. D'autres études sont envisageables pour isoler et identifier les molécules responsables des différents vertus attribués à la plante.

Mots clés : Fabaceae, *Phylloxylon xylophylloides*, Trioléine.

ABSTRACT

Phylloxylon xylophylloides is endemic plant Madagascar. It is known for its various medicinal properties such as its properties are antidiabetic, its effects in the regulation of serum albumin and the salt levels in the blood This study was to isolate and identify chemical compounds *phylloxylon xylophylloides* extract hydroalcoholic. The leaves and bark , dried and ground from the plant were extracted by soaking in a solution followed by a series of liquid-liquid extraction with hexane and ethyl acetate. Hydroalcoholic extract of the leaves show antioxidant activity. Acetate extracts were fractionated. It allowed to the isolation of 5 pure products. The fraction F₂ obtained from leaves have been Identified by NMR spectre 1D/2D. It was shown that this is the 1,2,3,Tri[cis-octadecinoyl glycerole. The Comparaison of F₂ and E₂ obtained from the bark and the leaves showed that there are the same products. Other studies are possible to isolate and identify the molecule responsible for different virtues attributed to the plant.

Keywords: Fabaceae, *Phylloxylon xylophylloides*, Trioléine.

Encadrante: Lovasoa RABESIAKA