

M. ch. 00 / 4813



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
CENTRE UNIVERSITAIRE DE OUARGLA

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Présenté en vue de l'obtention du titre
INGENIEUR D'ETAT
Spécialité : Chimie Industrielle
Option : génie Chimique

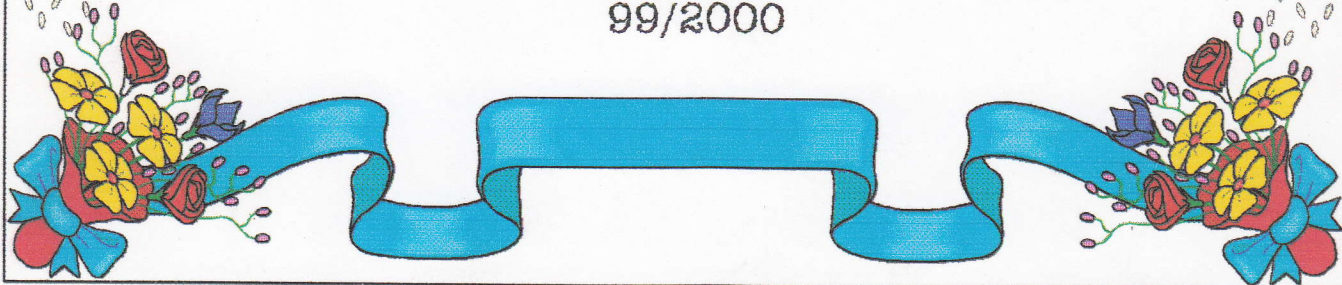
Présenté Par :
DJOUDI YASMINA

Titre du Mémoire :
*la mise en évidence des Flavonoïdes et Alcaloïdes
Existants dans la plante*

«CAPPARIS SPINOSA.L.»

Encadreur :
D^r . B. Dadamoussa

Session :
99/2000



Avant Propos

Je dédie ce modeste travail à :

Mon père qui a toujours été mon guide et mon meilleur conseiller.

Ma mère qui a su faire de moi ce que je suis aujourd'hui par sa patience, sa compréhension.

Mes frères : Nacer Eddine, Fateh, Omar.

Mes sœurs : Ratiba, Zohra, Hinda, et Soria.

Ainsi que, Dalila, Fatima, Zineb, et Meriem.

Toute ma famille.

Mes amis et collègues.

"It's the work of an educated man to look for precision in each class of things in so far as the nature of the subject admits"

Aristote (384 – 322 BC)

Remerciements

Ce travail a été effectué au Laboratoire de traitements des eaux du centre universitaire de Ouargla sous la direction de Monsieur **DADAMOUSA BELKHIR** Maître de Conférences, qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma reconnaissance pour les conseils et les encouragements bienveillants qu'il m'a prodigués .

Je remercie les enseignants pour leur participation à mon jury de mémoire et l'honneur qu'il me font en jugeant ce travail.

Je tiens à remercier **D.HINDA** qui m'a beaucoup aidé et encouragé, ainsi que **KHADIDJA, KARIMA, NOURA, Mr BEN FARDJALLA, FADILA.**

J'exprime ma reconnaissance à **Mr ARROUSSI, Mr DADANNA** pour leur aide efficace.

Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à la réalisation de ce travail et plus particulièrement mes camarades du Laboratoire, pour l'amitié qu'ils m'ont toujours témoignée.

Sommaire

✂ PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction Générale	1
Fiche descriptive de la plante à étudier	3
A / - Description	
B / - Utilisation	
C / - Composition Chimique	

• CHAPITRE I : Les Flavonoides

I - 1 /- Généralités	6
I - 2 /- Structure des Flavonoides	
I - 3 /- Répartition des Flavonoides	8
I - 4 /- Constitution Chimique et Classification	
I - 5 /- Biosynthèse des Flavonoides	11
I - 6 /- Propriétés des Flavonoides	14
I - 7 /- Principaux Flavonoides Commercialisé :	15
a - Rutosides	
b - Silymarine	
c - Citroflavonoides	
I - 8 /- Emploi des Drogues à Flavonoides	16
I - 9 /- Extraction des Flavonoides et Purification	17
I - 10/- Caractérisation et Réaction Colorées des Flavonoides	
I - 11/- Dosage	18
a - Dosage Physico-chimique	
b - Dosage Biologiques	

• CHAPITRE II: Les Alcaloïdes

II - 1/- Généralités	20
II - 2/- Nomenclature	21
II - 3/- Historique	
II - 4/- Origine et Répartition	22
II - 5/- Localisation	
II - 6/- Biotechnologie	23
II - 7/- Propriétés Physico-chimique	
II - 8/- Rôle dans les Organismes	
II - 9/- Biogenèse des Alcaloïdes	25
II -10/- Structure et Classification Chimique	
II -11/- Réactifs Généraux des Alcaloïdes	30
II -12/- Dosage et Caractérisation des Alcaloïdes	31
II -13/- Isolement des Alcaloïdes	32
1/-Extraction	
2/-Purification	
II - 14/ Utilisation Diverses des Alcaloïdes	33
II - 15/ Action Pharmacologique et Emploi	

✂ PARTIE EXPERIMENTALE

• CHAPITRE III : Technique d'Analyse

I- La Chromatographie	35
II - La Spectroscopie UV-Visible	
III -La Spectroscopie IR	

• CHAPITRE IV : Méthodes et Techniques

I - Analyse Flavonique	41
I - 1)- Caractérisation et Réactions Colorées	
I - 2)- Extraction	42
I - 3)- Technique de Séparation et de Purification	45
I - 4)- Analyse Spectroscopique UV-Vsible	47

II - Analyse Alcaloïdiques	48
II -1) - Test et Caractérisation des Alcaloïdes	
II -2) - Extraction	
II -3) - Technique de Séparation et de Purification	50
II -4) - Analyse Spectroscopique U.V -Visible	51
III-Résultats et Discussions	52

ISOLEMENT D'UN PRODUIT X

1- Test et Caractérisation	69
2- Tests Chimiques	
3- Analyse Spectroscopique	71
4- Résultats et Discussions	
•CONCLUSION GENERALE	75
•ANNEXES	
I- Lexique de quelques plantes médicinales	77
II- Quelques alcaloïdes utilisés en médecine	84
III-Lexique	85

Partie Bibliographique

Introduction Générale

Depuis le dernier siècle jusqu'à nos jours, la flore saharienne prend la grande part de l'intérêt des chercheurs et savants qui s'occupent d'étudier sa caractérisation. Parmi eux on cite OZENDA (1976 -1983), UNESCO(1960), QUEZEL (1965).

En effet la connaissance de la végétation doit permettre un premier diagnostic, pour auto-orienter les actions d'amélioration et de mise en valeur, ainsi que les possibilités d'y introduire des cultures utiles pour l'homme (1).

Vu leurs expositions aux différents stress hydrique et thermique, les mécanismes d'adaptation des plantes médicinales peuvent présenter des particularités intéressantes par exemple l'hyosocyamus et le peganum sont très riches en alcaloïdes (2).

L'étude de la matière première naturelle à usage médical actuellement encore appelée pharmacognosie, elle est le plus souvent limitée aux produits bruts d'origine végétale (3).

L'emploi des drogues comme remède trouve son origine dans les plus anciennes civilisation c'est ainsi que plusieurs siècles avant J.C on trouve déjà la trace de l'utilisation du suc de pavot (l'opium) de la jusquiame du séné... etc.

La matière végétale a connu une évolution remarquable en thérapeutique.

On remarque qu'à partir du XIX^{ème} siècle une période scientifique avec l'isolement des principes actifs: morphine (1806), quinine et shychinine(1820) digitaline (1869) (3).

Au début du XX^{ème} siècle les progrès de la chimiothérapie, résultats de la chimie de synthèse, provoquent le déclin de la médecine à base de plante(3).

A partir de la plante, on extrait des principes actifs ex: alcaloïdes (morphine retirée de l'opium), les flavonoides, les huiles essentiels, et résines...

On s'intéresse dans ce présent travail à la mise en évidence des alcaloïdes et flavonoides présentant dans le câprier « Capparis Spinosa.L ».

Fiche descriptive de la plante à étudier

XIII, 1.

62. Cappariaceae.



265. *Capparis spinosa* L.

Dorniger Kappernstrauch.

KABBAR
CAPPARIS SPINOSA.L

Nom vernaculaire : Kabbar

Nom français : Câprier

Famille : Capparidacées

A/ Description : Le câprier est un sous-arbrisseau à tiges couchées portant des feuilles ovales et des stipules épineux il se rencontre en terrain rocheux et montagneux (1) dépassant souvent 1m de long. velus dans leur partie terminale, on le trouve en Sahara septentrional assez commun partout sur les rochers; Sahara central: partout, jusqu'au TIBESTI; s'élève jusqu'à 2000m dans les montagnes méditerranéen et SAHARA SINDIEN.(4)

Largement cultivée dans certains départements du midi de la France, très répandue aussi au Maroc en Tunisie et en Algérie et jusqu'en Afrique orientale et cultivée dans de nombreux pays (1). Nous avons collecté le Kabbar sur les roches de GHARDAIA .

B/ Utilisation : les câpres vendues en Europe sont des boutons floraux de capparispinosa marinés dans du vinaigre, ils ont une saveur amère et passent pour être un remède contre le scorbut . En Inde, on prépare ainsi non seulement les boutons, mais aussi les fruits l'écorce est employé pour soigner les rhumatismes, la paralysie, les maux de dents, les feuilles, broyées sont utilisés en cataplasme contre la goutte. (1)

Les fruits et les feuilles écrasés et mélangés à l'huile d'olive constituent un excellent liniment .En infusion contre l'émorragie les maladies de foies, les migraines en fumigation , contre les rhumatisme.

toujours contre les rhumatismes capparispinosa mélangée avec hena et doumrane et de l'huile d'olive sont utilisée en cataplasme (5)

C/-Composition Chimique: Selon la littérature la composition chimique de cette plante les boutons contiennent un glycoside, de la rutine,0.4% de pentosane ainsi que de l'acide rutique, l'acide pectique volatil, et de la saponine les graines de câprier donnent de 34 à 36 % d'une huile jaune pale (1).

Chapitre I: Les Flavonoïdes

I-1)- Généralités :

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (6). Ces composés ont été considérés comme composés métaboliques secondaires inactifs, mais sont actuellement reconnus comme métabolites ayant une grande importance dans les processus biochimiques et physiologiques des plantes (7).

Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles, tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols jaunes), des anthocyanosides rouge, bleu ou violets (8).

Même si leur présence est parfois masquée (ne sont pas directement visibles), ils contribuent à la coloration par leur rôle de CO- pigments (flavones et flavonols incolores) (8). Ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (6).

Ils sont rencontrés souvent dans la plupart des espèces végétales chlorophylliennes (7). Les pigments flavoniques sont pratiquement universels dans les feuilles et pétales; on les trouve fréquemment dans d'autres organes (fruits, racines, bois...) (7)

Ils sont utilisés dans l'industrie pour prévenir le rassisement des graisses (selon BRASSER et col 1985) (9).

Ce n'est que depuis quelques années que certaines propriétés pharmacologiques ont pu être mises en évidence et que leur étude a pris un nouvel essor (6). Selon OSLER et col-1984, les flavonoïdes peuvent être utilisés dans les traitements des cataractes d'origine diabétique (9). Ils présentent aussi des possibilités anticancéreuses (selon BEZANGE BEAUQUESNE -1987) (9).

I- 2) - Structure des flavonoïdes:

Les flavonoïdes possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃ (6).

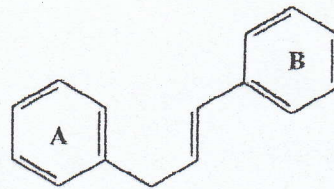
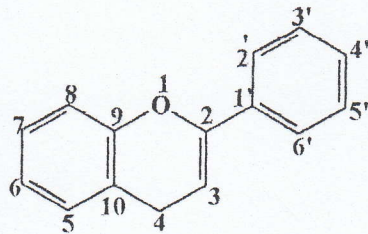


schéma 1 : squelette de base des flavonoïdes.

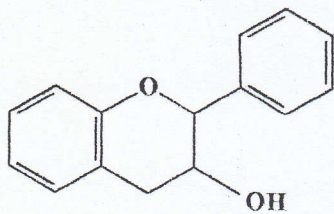
Les flavonoïdes sont le plus souvent sous forme d'hétérosides ou flavonosides dont les génines sont des dérivés de la phénylchromone (flavones vraies), la chromone étant la benzo- γ -pyrone.



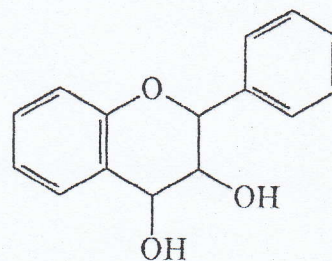
2-Pényl chromones (Flavone vraies)

Dans les flavonoïdes au sens large, on inclut tous les composés en C6 -C3-C6 comprenant en plus les dérivés du phényl - chromane ou flavannes; ce sont :

- les catéchols (catéchines) ou dérivés de 3-hydroxy flavanne
- les proanthocyanidols (anciennement appelés leucanthocyanes) ou dérivés du 3,4- dihydroxy flavane.

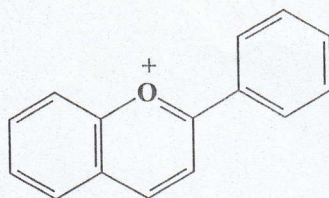


3-hydroxy flavanne (catéchines)



3,4-dihydroxy flavanne (proanthocyanidols)

On rattache aussi au flavannes les anthocyanes qui sont des dérivés du flavylum



Flavylium

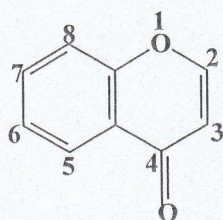
I-3)-Répartition des flavonoides :

Les flavonoides sont surtout abondants chez les plantes supérieures, particulièrement dans certaines familles: polygonacées, Rutacées, Légumineuses, ambellifères et composés présents dans tout les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes (feuilles et boutons floraux).

I-4)-Constitution chimique et classification:

a)-Les génines :

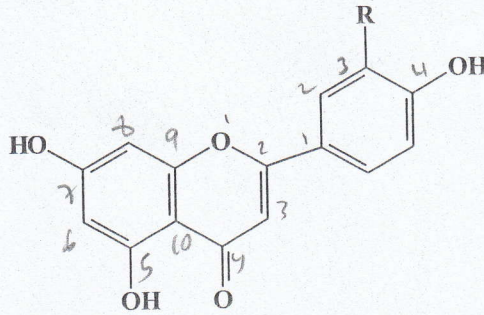
sont des dérivés polyhydroxylés, parfois méthoxylés ou méthylés de la chromone ou benzo- γ -pyrone



La chromone

On distingue :

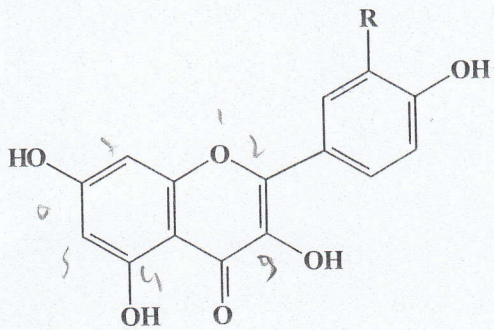
a-1)- les flavones vraies: dérivées de la 2- phényl chromone



Ex: Apigénine (5,7,4'-trihydroxy flavone) R=H

Lutéoline (5,7,3,4'-tetrahydroxy flavone) R=OH

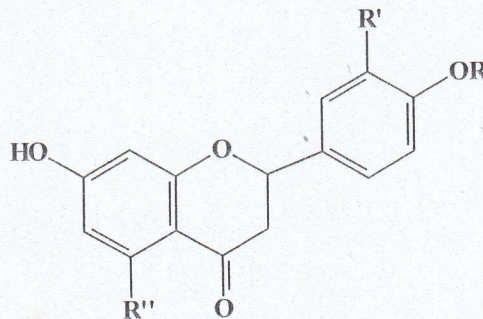
a-2)-Les flavonols: Possédant un hydroxyle alcoolique en 3 (3-hydroxy flavones):



Ex: Kaempférol (5,7,4'-trihydroxy flavonol) R=H

Quercétol (5,7,3',4'-tetrahydroxy flavonol) R=OH

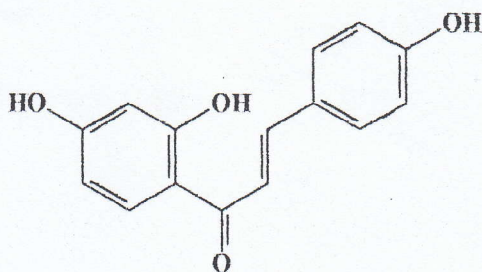
a-3)-Les flavanones: Ne comportant pas de double liaison en 2-3



Ex: Liquiritigénine (7,4'-dihydroxy flavanone) R=R'=R''=H

a-4)-Les chalcones: Dont le cycle pyronique est ouvert (isomère des flavanones)

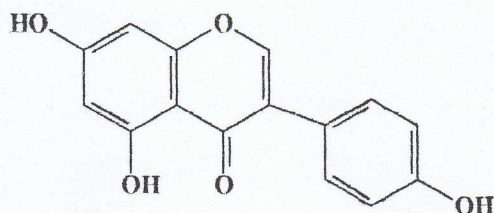
Ex: Isoliquiritigénine (4,2',4'-trihydroxy chalcone)



Isoliquiritigénine \leftrightarrow Liquiritigénine

a-5)-Les isoflavones dérivées de la phényl -3-chromone :

Exemple:

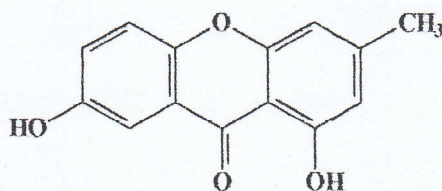


Génistéine (5,7,4'-trihydroxy isoflavone)

a-6)-Autres types de flavonoïdes: On rattache aux flavonoïdes

1-Les xanthones: (dibenzopyrones)

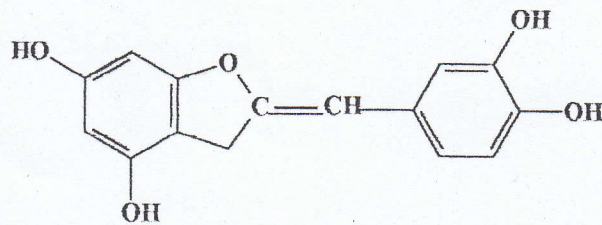
Ex: Gentsine (1,7-dihydroxy,3-méthoxy xanthone)



Gentsine

2- Les aurones: (benzalcoumaranones)

Ex: Aureusidine(4,6,3',4'-tetrahydroxy aurone)



aureusidine

b)- les oses : sont généralement le glucose ou le rhamnose, parfois le galactose, le plus souvent ils sont fixés en 3 ou en 7. Il existe des monosides, des biosides, des triosides, les oses pouvant être placés sur le même carbone de la génine ou sur deux carbones différents.

La liaison est le plus fréquemment de type O-hétéro - sidique, mais on trouve aussi des C - hétérosides.

I-5)-Biosynthèse des flavonoïdes:

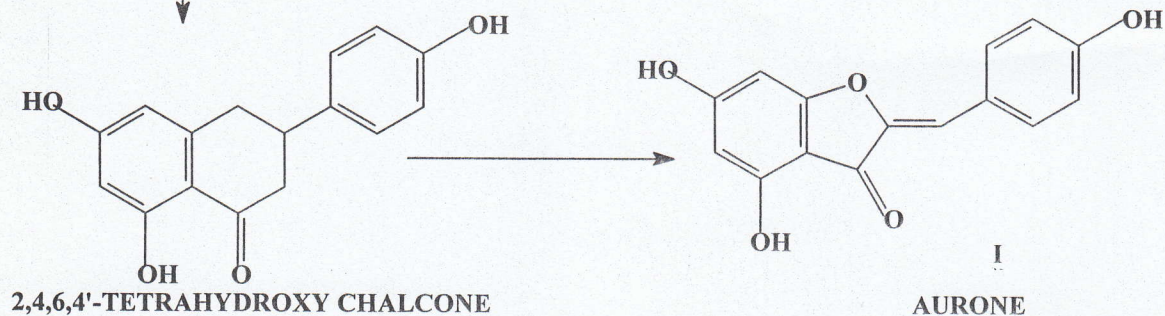
Leur biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6 - tétrahydroxychalcone par l'action d'enzymes, cette chalcone de couleur jaune, est métabolisée en différentes classes de flavonoïdes: flavanone (II), aurone (I) (jaune), 2,3 dihydroflavonol ou flavonol (IV), flavone(III), anthocyanidine (VII) (rouge - bleu), flavonol (V) (jaune), catéchine (VII)...

Des étapes ultérieures, surtout de glycosylation et d'acylation, amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle ils se trouvent in vivo.

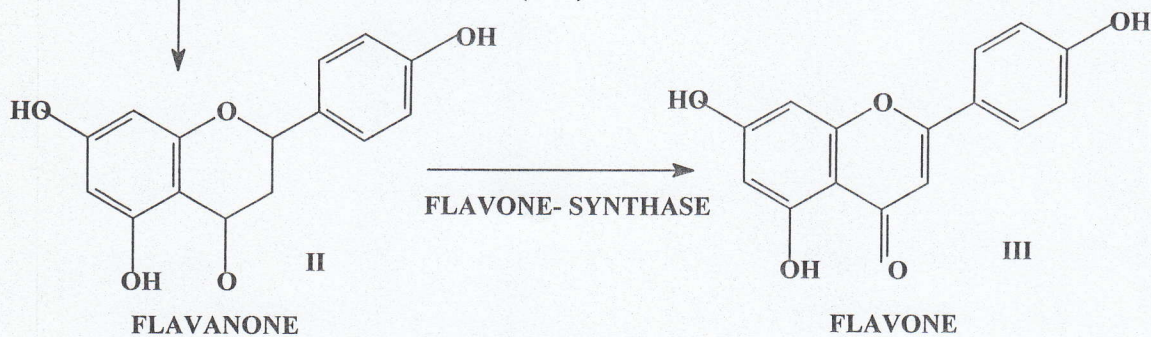
Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire. A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides, une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées , la partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone.

PHENYLALANINE + 4-COUMARYL-CoA

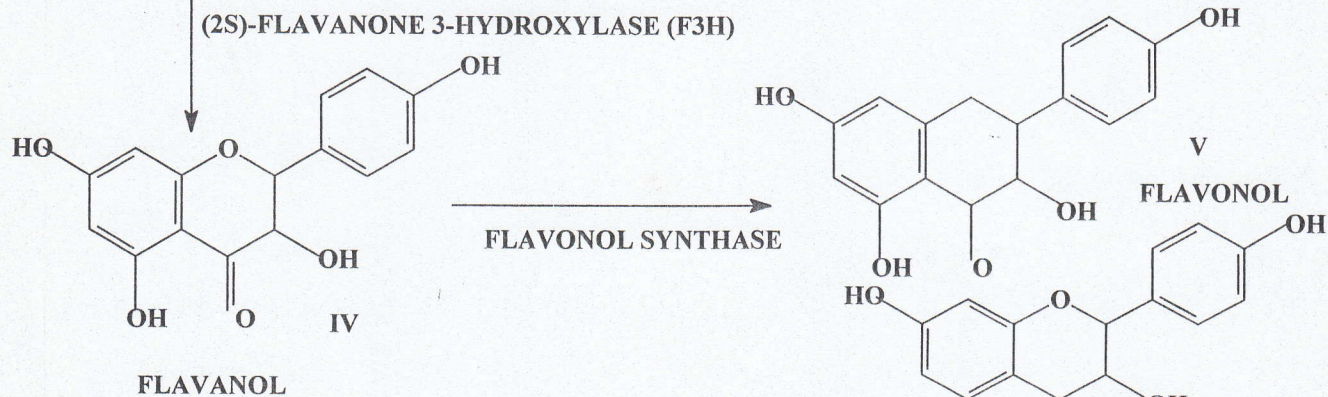
- 1) PHENYLALANINE AMMONIA LYASE (PAL)
- 2) CHALCONE -SYNTHOSE (CHS)



CHALCONE-ISOMERASE (CHI)

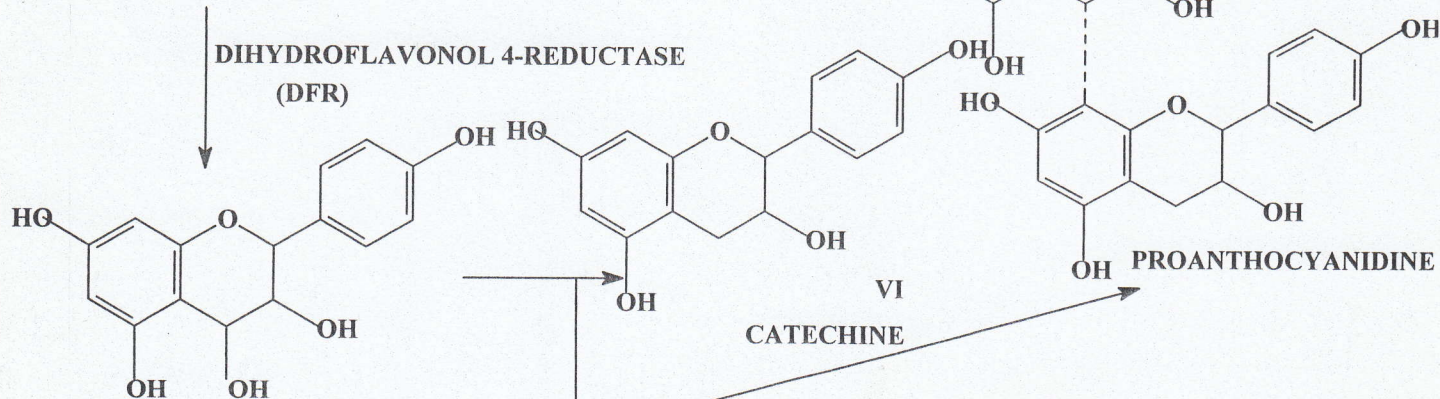


(2S)-FLAVANONE 3-HYDROXYLASE (F3H)



FLAVANOL

DIHYDROFLAVONOL 4-REDUCTASE (DFR)



LEUCANTHOCYANIDINE



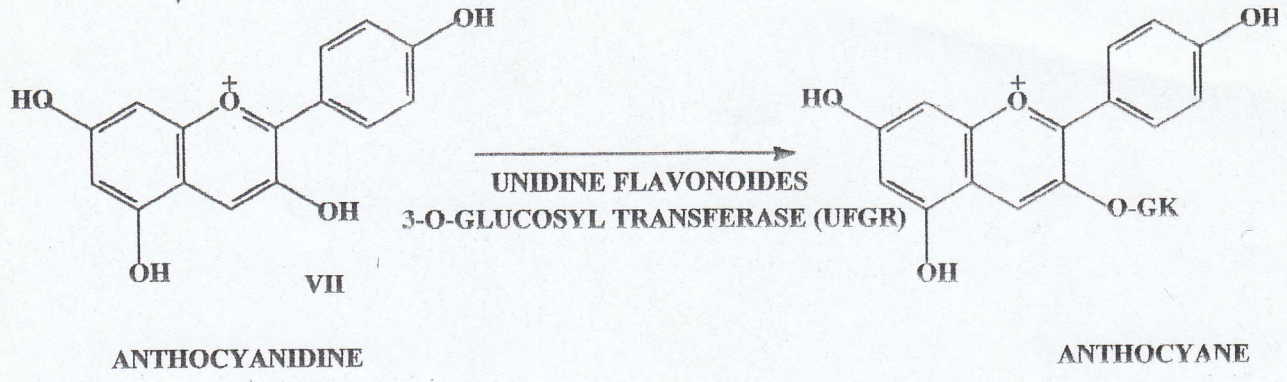


Schéma 2 : Différentes réactions enzymatiques conduisant aux principales familles des flavonoïdes.

I-6)-Propriété des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif (8).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois... certains flavonoïdes sont plus spécifiques à certains tissus, les anthocyanes sont plutôt localisées dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles.

Les chalcones, se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). En particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleur.

Un des rôles de la couleur chez les plantes est d'attirer les insectes et cela afin de déclencher la fécondation, les charger de pollen ou de graines de façon à en assurer la dissémination nécessaire à la production de l'espèce(6).

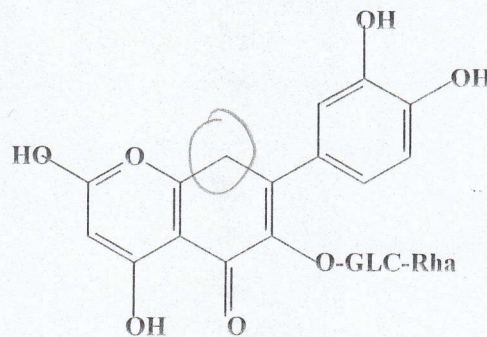
On peut noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent également jouer un rôle dans la protection de ces plantes (6)

Les flavonoïdes sont solubles dans les solutions alcalines (ammoniacale ou potasse) en donnant une coloration jaune qui disparaît par addition d'acide, les gènes sont peu solubles dans l'eau et solubles dans l'éther (8).

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical ou on leur reconnaît des activités anti-virales anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques , anti-cancéreuses...(6)

I-7)-Principaux : flavonoïdes commercialisés :

a°) - **Rutosides:** le rutoside ou rutine est le rhamnoglucoside en 3 du quercétol (5, 7, 3', 4'- Tetra hydroxyflavonol)



Rutoside

Il est inscrit à la pharmacopée française, IIIe EB ; il est très répandu dans le règne végétal, mais seule quelques drogues servent à son extraction industrielle, tels que : le SAMASIN, SOPHORA (sophora japonica). EUCALYPTUS.

Le rutoside est très largement utilisé en FRANCE en thérapeutique il existe de nombreuses spécialités pharmaceutiques sont employés :

* le rutoside lui même = ex : rutine squibb

* des dérivés hydrosolubles du rutoside:

* Seuls = solurutine (mopholinoéthylrutoside)

relvéne (hydroxy-éthylrutoside).

* En association : Ercevit, Esberiven, Solurutine, sont administrés par voie buccale ou par voie parentérale (intramusculaire).

ce sont des médicaments qui agissent comme protecteurs capillaires dans certaines maladies vasculaires et circulatoires .

b°) -Silymarine:

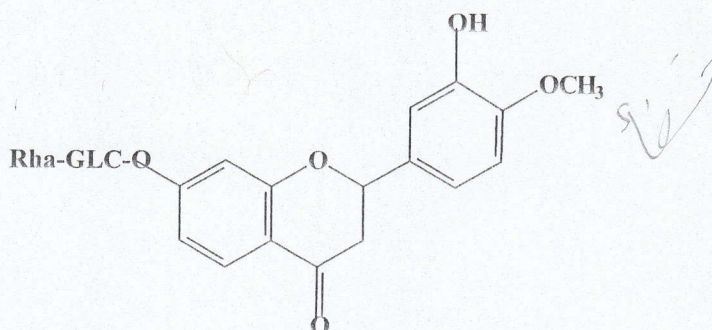
c'est un principe extrait des graines du chardon- Marie, silybum marianum, composées.

Du point de vue chimique, c'est un dérivé de type dihydroflavonol (dihydroquercétol) uni à une molécule d'alcool .

coniférylique, ce composé est utilisé comme hépato-protecteur et activateur des hépatocytes spécialités = ex légalon, et solution stago.

c°) - Citroflavonoïdes:

Les citroflavonoïdes sont des composés flavaniques à action vitaminique p extraits de divers citrus. le principal d'entre eux est l'hespéridoside (hespéridine) ou rutinoside en 7 de l'hespéretol: trihydroxy - 5,7,3 méthoxy - 4 flavanone.



Citroflavonoïde

De nombreuses espèces sont cultivées principalement pour l'alimentation. les citroflavonoïdes quant à eux constituent un sous-produit de la fabrication des jus de fruits (orange, citron, pamplemousse).

L'emploi des flavonoïdes totaux ou citroflavonoïdes est effectué souvent par voie buccale (ex: frubiose, daflon...) ces produits sont utilisés dans les cas de fragilité capillaire en général.

IL existe d'autres flavanones autre que citro flavonoïdes, généralement on les extrait d'une plante appelée réglisse (elle a une importance marquée en thérapeutique).

I-8)-Emploi des drogues à flavonoïdes:

Certaines drogues sont utilisées pour l'extraction industrielle de flavonoïdes: citroflavonoïdes totaux, diosmine, hespéridoside, rutoside ... D'autres qui doivent leurs activités à plusieurs principes actifs, sont utilisées sous forme d'extraits standardisés.

Dans le cas des drogues utilisées par la phytothérapie, il est difficile, sauf rares exceptions, de parler de drogues à flavonoïdes car s'il est probable qu'ils participent à l'activité de ces drogues, ils ne sont que rarement seuls en cause: des huiles essentielles, d'autre composés phénoliques, des sels minéraux, des saponosides,... peuvent justifier une partie de l'activité annoncée.

I-9)-Utilisation des Flavonoïdes en Thérapeutique:

Les résultats fournis par des tests biochimiques ou des études de pharmacologie animale, la réalité de l'efficacité clinique de la plupart des flavonoïdes - et, à fortiori, celle des drogues qui en contiennent- est rarement correctement établie.

Les essais chez l'homme qui ne sont assez souvent que des observations, ne sont pas toujours conduits en conformité avec les normes actuellement en vigueur pour ce type d'évaluation. Seul un petit nombre de molécules ou d'extraits standardisés.

C'est essentiellement dans le domaine capillaro-veineux que l'on utilise les flavonoïdes seuls ou associés, ce sont les constituants habituels des vasculoprotecteurs et veinotoniques, des tropiques utilisés en phlébologie. D'une façon générale les spécialités actuellement disponibles sur le marché ont les indications ou propositions d'emploi suivantes:

- Traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolympatique: jambes lourdes, paresthésie, crampes, douleurs et autres signes fonctionnels, oedèmes;

- Traitement des troubles de la fragilité capillaire au niveau de la peau (ecchymose, pétéchie) et des muqueuses (gingivorragie, épistaxis);

- Traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire;

- Métrorragie liées à la contraception par dispositifs intra-utérins;

- Troubles liés à la circulation rétinienne et/ou choroidienne en association éventuelle avec d'autres traitements.

I-10)-Extraction des flavonoïdes et purification:

L'extraction des flavonoïdes est basée sur leur solubilités dans l'eau ou l'alcool à chaud.

La cristallisation est employée parfois pour l'obtention des flavonoïdes par simple refroidissement des solutions extractives. Le plus souvent, l'extraction s'effectue par de l'alcool ; les solutions alcooliques obtenues sont évaporées, le résidu est repris par l'eau chaude et épuisé par l'acétate d'éthyle puis le butanol.