

SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE ENDÉMIQUE IBÉRO-MAROCAINE, *THYMELAEA LYTHROIDES* (*)

N. DOHOU ⁽¹⁾, *K. YAMNI* ⁽²⁾,
S. TAHROUCH ⁽³⁾, *L.M. IDRISSE HASSANI* ⁽³⁾,
A. BADOUC ⁽⁴⁾, *N. GMIRA* ⁽¹⁾

Thymelaea lythroides Barr. et Murb. (Thyméléacées) est très répandue dans la forêt de Mamora au Maroc, d'où son nom, la Passerine de Mamora. Sa large utilisation en médecine traditionnelle nous a incité à réaliser un screening phytochimique, d'autant qu'à notre connaissance, l'espèce n'a jamais été étudiée chimiquement.

Les principales classes de métabolites secondaires, à savoir anthraquinones, terpénoïdes, saponines, alcaloïdes, coumarines, flavonoïdes et tanins ont été recherchées dans les différents organes de la plante : racines, écorce, feuilles, fleurs et fruits.

(*) Manuscrit reçu le 15 mars 2003.

(1) Laboratoire de Botanique et d'Écologie végétale, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Kénitra, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000 Kénitra, Maroc. naimadohou@yahoo.fr, gmira215@yahoo.fr

(2) Laboratoire de Botanique et de Protection des plantes, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Kénitra, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000 Kénitra, Maroc. yamni1@yahoo.fr

(3) Laboratoire de Symbiotes Racinaires et Biochimie végétale, Faculté des Sciences d'Agadir, Agadir, Maroc. tahrouch@hotmail.com, aminaidrissi@yahoo.fr

(4) Laboratoire de Mycologie et Biotechnologie végétale - EA 3675, Faculté des Sciences pharmaceutiques, Université Victor-Segalen Bordeaux 2, 146, rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux Cedex. jbtalenc@club-internet.fr

INTRODUCTION

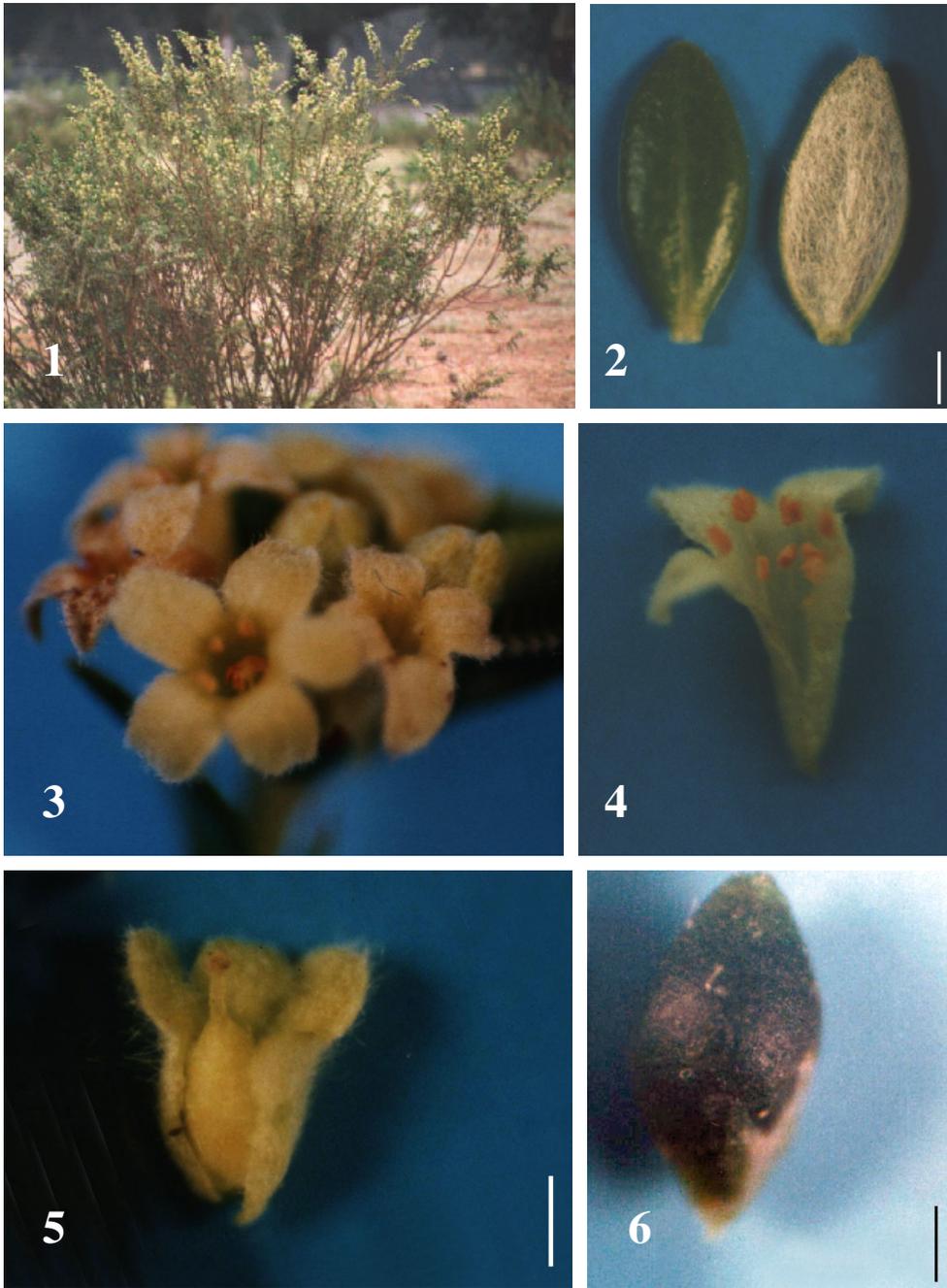
Thymelaea lythroides est un arbrisseau (Photo 1) pouvant atteindre 2 m. De la racine principale en pivot enfoncée sur plus d'un mètre de profondeur se détachent des racines secondaires. L'axe aérien se ramifie dès la base et les tiges qui en divergent sont dressées et entièrement ligneuses. Le feuillage est d'un vert sombre persistant, tout en notant que les parties inférieures des tiges sont nues. Les feuilles sont petites, de 2 à 5 mm, entières, sessiles imbriquées sur les pousses de l'année et étalées sur les rameaux plus âgés. La face inférieure est convexe et glabre alors que la supérieure est concave et recouverte d'un abondant tomentum blanchâtre (Photo 2). La nervure est médiane, visible sur les trois quarts de sa longueur.

Les fleurs petites, de 5 mm, sont groupées en inflorescences capituliformes (Photo 3) sur les feuilles des rameaux courts. Elles sont nombreuses (jusqu'à 12-14), subsessiles et insérées les unes à côté des autres par l'intermédiaire d'un court pédicelle sur l'extrémité renflée de l'axe de l'inflorescence. Le pédicelle porte de longs poils qui recouvrent la base de la fleur. Le calice pétaloïde, poilu à l'extérieur, glabre à l'intérieur, se divise à la partie supérieure en quatre (rarement cinq) lobes. Les pétales sont nuls. Les fleurs mâles (Photo 4), d'environ 6 mm, sont verdâtres alors que les fleurs femelles (Photo 5) sont plutôt jaunâtres. Les deux sexes sont rarement situés sur le même pied. L'espèce peut être considérée comme dioïque. Les huit étamines sont insérées sur deux cycles. Les filets sont courts et les anthères sont constituées de deux loges polliniques volumineuses. Le tube de la fleur femelle est urcéolé, l'ovaire est supère, oblong, légèrement atténué à la base, finement velu. Le style est terminal, terminé par un stigmate légèrement papilleux. La période de floraison au Maroc débute à partir du mois de juillet et s'étale jusqu'en septembre si les conditions climatiques sont bonnes.

Le fruit est un akène accompagné du calice persistant. La graine (Photo 6) présente un tégument externe noir, rugueux, assez dur. L'albumen est peu abondant et l'embryon droit [12,22].

Une étude ethnobotanique de *Thymelaea lythroides* a été menée auprès de plusieurs herboristes de différentes villes du Maroc : Kénitra, Meknès, Oujda, Agadir et Lâayoune. Cette espèce s'avère être très utilisée pour lutter contre :

- * le mal de vessie et des reins (tisanes ou infusions de feuilles et de jeunes tiges) ;
- * le froid, les rhumatismes et le mal de dos (tisanes) ;



Thymelaea lythroides (Photographies K. Yamni)

Photo 1 : Plante fleurie

Photo 2 : Feuille

Photo 3 : Inflorescence mâle

Photo 4 : Fleur mâle

Photo 5 : Fleur femelle

Photo 6 : Graine

La barre à droite représente 1 mm

- * les migraines et la fièvre (cataplasmes sur la tête) ;
- * les enflures et les fractures (plâtre, en mélange avec la farine et les lentilles) ;
- * l'inflammation des yeux (cataplasmes) ;
- * l'inflammation de la prostate (tisanes) ;
- * le diabète (tisanes) ;
- * les abcès pour les réduire (compresses) ;
- * diverses douleurs comme celles de l'estomac, de l'intestin grêle et du gros intestin ;
- * les otites (en gouttes après chauffage des fleurs dans l'huile d'olive) ;
- * On l'utilise encore en cosmétologie pour les soins des cheveux.

Dans la littérature, la plante est citée comme purgative [3]. En plus de son emploi dans la médecine traditionnelle, les tiges et les rameaux sont très utilisés pour la confection de balais et de cordes.

Thymelaea lythroides semble n'avoir jamais été étudiée chimiquement contrairement à d'autres espèces du genre (Tableau I) :

À l'exception d'une étude des activités biologiques de ses extraits bruts [6-8], la plante est mal connue. Dans le cadre d'une valorisation des plantes aromatiques et médicinales du Maroc, nous avons entrepris un screening phytochimique de *Thymelaea lythroides* afin de connaître ses principaux constituants et ainsi mieux comprendre les propriétés pharmacodynamiques de ses extraits.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

Différents organes (racines, écorce, feuilles, fleurs et fruits) de *Thymelaea lythroides* ont été récoltés dans la forêt de Mamora (à 40 km au Nord de Rabat) à différents stades végétatifs. Une partie a été conservée à 4°C pour l'analyse quelques heures après la récolte des composés cyanogénétiques, et pour d'éventuelles études ultérieures. L'autre partie a été séchée à l'ombre, à l'abri de l'humidité et stockée soigneusement. Un spécimen d'herbier est déposé à la Faculté des Sciences d'Agadir (Université Ibn Zohr, Agadir, Maroc).

Tableau I :
Quelques données chimiques sur le genre *Thymelaea*.

Espèce	Organes étudiés	Molécules extraites	Références
<i>hirsuta</i>	feuilles	thyméol ((C ₃ H ₂ O) _n)	Saleh <i>et al.</i> , 1965
	feuilles	stigmasterol, β-sitosterol, alcool aliphatique C ₁₂ H ₂₂ O, lactone C ₁₉ H ₁₈ O ₆	Gharbo <i>et al.</i> , 1970
	–	alcane en C27 à 31, alcanols en C22, 24, 26 et 28, β-sitostérol et campestérol	Rizk <i>et al.</i> , 1974
	–	daphnorine, daphnorétine, daphnine, daphnéline, daphnéline-glucoside, ombelliférone, scopolétine et esculétine (coumarines)	Rizk <i>et al.</i> , 1975
	feuilles	2-vicénine (C-flavone)	Nawwar <i>et al.</i> , 1977
	feuilles	tiliroside (3- <i>p</i> -coumaroylglucosylkaempférol) (flavanol)	Ismail, 1978
	feuilles	lupéol, β-sitostérol, phytol, β-amyrine, bétuline, erythrodiol, cholestérol et lanostérol	Garcia-Granados et Saenz de Buruaga, 1980a
	feuilles et brindilles	5,12-dihydroxy-6,7-époxy-résiniféronol	Rizk <i>et al.</i> , 1984
	feuilles et brindilles	gnidicine, gniditrine, genkwadaphnine, 12- <i>O</i> -heptadécenoyl-5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol-9,13,14-orthobenzoate et 12- <i>O</i> -butényl-5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol-9,13,14-orthobenzoate (diterpènes daphnane)	Brooks <i>et al.</i> , 1990
	racines	daphnorétine (éther de dicoumaryl)	Abou-Karam <i>et al.</i> , 1998
feuilles	tanins	El-Beheiry, 2000	
<i>microphylla</i>	parties aériennes	acide oléanolique, β-sitostérol and 3- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-β-sitostérol	Cheriti et Sekkoum, 1995
<i>passerina</i>	parties aériennes	pentacosane, triacontanol, sitostérol, stigmastérol, β-amyrine, ombelliférone et scopolétine	George et Rishi, 1982
<i>tartonraira</i>	parties aériennes	orientine, isoorientine, vitexine, 2-vicénine, kaempférol, daphnorétine, genkwanine, 5- <i>o</i> -D-genkwanine, primevérosyl (flavone-coumarine)	Garcia-Granados et Saenz de Buruaga, 1980b

Composés cyanogénétiques

Trois grammes de matériel végétal frais sont mouillés avec quelques gouttes de chloroforme (CHCl_3) dans un tube à essai, où est insérée une bandelette de papier filtre imprégnée de picrate de sodium. Le tube est alors placé au bain-marie à 35°C pendant 3 heures. Un virage au rouge de la bandelette indique la présence des composés cyanogénétiques (par production de HCN) [2].

Quinones libres

Un gramme de matériel végétal sec et broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, les extraits sont filtrés et concentrés au rotavapor. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet [25].

Anthraquinones

À l'extrait chloroformique de chacun des organes, on ajoute du KOH aqueux 10 % (v/v). Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge [26].

Alcaloïdes

Trois tests fondés sur la capacité qu'ont les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds ou avec l'iode ont été effectués [24].

Préparation d'extraits méthanoliques

Deux grammes de matériel végétal, sec et broyé, sont ajoutés à 100 ml de méthanol 50 %. Après une sonication de 15 min et agitation toute la nuit, les extraits sont filtrés et évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les résidus sont repris dans quelques ml de méthanol pur. Ces extraits sont soumis aux deux tests suivants.

Test de Dragendorff

Une chromatographie sur couche mince que nous appellerons CCM1 (gel de silice type Camag CH-4132 Mutteng, plaque de 200 x 200 mm, 0,3 mm d'épaisseur, support plastique) est effectuée pour quelques μl d'extrait méthanolique. Le solvant de migration est AcEt / MeOH / NH_4OH 50 % (9:1:1). Après migration, les spots fluorescents à 365 nm sont pulvérisés avec le réactif de Dragendorff (tétraiodobismuthate de potassium). L'apparition en lumière visible de taches oranges témoigne de la présence d'alcaloïdes.

Test d'iodoplatinate

Quelques μ l d'extrait méthanolique subissent une CCM1. La révélation s'effectue avec le réactif d'iodoplatinate de potassium. L'apparition d'une coloration bleue à violette marque la présence d'alcaloïdes.

Test de Mayer

À 0,5 g de matériel végétal en poudre, on ajoute 15 ml d'EtOH 70 %. Après une sonication de 15 min et une agitation de 20 h, on laisse reposer l'extrait jusqu'à décantation complète, suivie d'une filtration et d'une évaporation à sec. Le résidu est repris dans quelques ml d'HCl 50 %. La formation d'un précipité jaune, après ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer (mercuritétraiodure de potassium), témoigne de la présence d'alcaloïdes.

Terpénoïdes

À 2 g de matériel végétal en poudre sont ajoutés 10 à 20 ml d'hexane. Le mélange est soumis à une sonication de 15 min, une agitation de 30 min et à une filtration. Une CCM1 est effectuée, en utilisant comme solvant le benzène (pur à 98-99 %). Après migration, la plaque est pulvérisée avec du chlorure d'antimoine et placée à l'étuve à 110°C pendant 10 min. Toute fluorescence à 365 nm indique la présence de terpénoïdes [24].

Saponosides

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Deux grammes de matériel végétal sec broyé à tester sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. On porte à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. À partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) avec 1, 2, ... 10 ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun des tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de 1 cm dans le x^e tube, alors l'indice de mousse est calculé par la formule suivante : $I = \text{hauteur de mousse (en cm) dans le } x^e \text{ tube} \times 5 / 0,0x$. La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100.

Une approche qualitative sur des extraits méthanoliques, préparés selon la méthode décrite pour la recherche des alcaloïdes, se fait par CCM1

avec comme solvant de migration AcEt / MeOH / H₂O (100:13,5:4) et révélation à la vanilline sulfurique.

Coumarines

Test de détection : 2 g de matériel végétal en poudre sont mélangés à 10 ml de CHCl₃. Après un chauffage de quelques min et une filtration, les extraits chloroformiques sont soumis à une CCM1, le solvant étant le mélange toluène / AcEt (93:10). La visualisation du chromatogramme, après migration, se fait à 365 nm en absence et en présence de NH₃.

Test de confirmation : 1 g de poudre végétale est placé dans un tube, en présence de quelques gouttes d'eau. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV [26].

Flavonoïdes

Recherche qualitative : un gramme de matériel végétal sec et broyé est extrait avec 20 ml de MeOH 80 %. Après agitation (15 min) et sonication (15 min), les extraits sont filtrés et soumis à une CCM1, le solvant de migration étant AcEt / MeOH / NH₄OH 50 % (9:1:1). La révélation se fait à 365 nm après pulvérisation avec le réactif de Neu (2-aminoéthyl-diphénylborate) à 1 % dans du MeOH pur.

Dosage des flavonoïdes totaux : un gramme de matériel végétal broyé est mis en présence de 100 ml de méthanol 80 %. Après agitation et sonication, 2 ml de l'extrait sont mélangés à 100 µl de Neu. L'absorption est déterminée à 404 nm et comparée à celle du quercétol standard (0,05 mg/ml) traité avec la même quantité de réactif. Le pourcentage des flavonoïdes totaux est alors calculé en équivalent quercétol selon la formule suivante [17] :

$$F = (0,05 \times A_{\text{ext.}} / A_{\text{q.}}) \times 100 / C_{\text{ext.}} \quad (\text{en } \%)$$

A_{ext.} : Absorption de l'extrait

A_{q.} : Absorption du quercétol

C_{ext.} : Concentration de l'extrait en matériel végétal soit 10 mg / ml

Hydrolyse acide : elle permet d'obtenir, après rupture des liaisons -C-O-C- présentes chez les hétérosides, les aglycones flavoniques et les anthocyanidols. Pour cela, 2 g de matériel végétal sont placés dans des Erlens, en présence de 160 ml de HCl 2N à température ambiante. Les Erlens sont placés 40 min au bain-marie à 100°C. Après refroidissement, les anthocyanes et les aglycones sont extraits selon la méthode de Lebreton *et al.* [19].

Pour les anthocyanes, la phase aqueuse est soumise deux fois au n-butanol, qui extrait les anthocyanidols dont la couleur est rouge. Pour les aglycones flavoniques, la phase aqueuse acide est extraite 2 fois par l'éther éthylique. Les extraits obtenus, de couleur jaune, sont mis à évaporer sous une hotte ventilée, puis repris dans quelques ml d'éthanol 95 %.

Deux analyses sont effectuées : quantitative (par dosage) et qualitative (par CCM).

Le dosage des anthocyanes se fait en balayant le spectre de 480 à 600 nm et en retenant l'absorbance maximale. La teneur est calculée selon la formule suivante [19] :

$$T_{\text{anthocyanes}} = (\gamma A / \epsilon) \times M \times V \times d / p \quad (\text{en mg/g})$$

γ : Facteur de correction, égal à 6, du rendement de la transformation des proanthocyanes (de l'ordre de 17 %)

A : Absorbance à la longueur d'onde d'absorption maximale

ϵ : Coefficient d'absorption molaire du cyanidol (= 34700)

M : Masse molaire du leucocyanidol (= 306)

V : Volume de la solution butanolique

d : Facteur de dilution

p : Poids de matière sèche de matériel végétal hydrolysé.

Le dosage différentiel des flavones et des flavonols est effectué en se basant sur les propriétés chélatantes d' AlCl_3 à 1 % en solution dans l'éthanol 95 %. Après un repos de 10 min, le spectre est balayé de 380 à 460 nm et l'absorbance maximale est retenue. L'absorbance du pic différentiel (spectrophotomètre UV visible, type HP Vectra, Chemstations software) contre un blanc ne contenant pas d' AlCl_3 est proportionnelle à la concentration de l'échantillon en aglycones flavoniques. La teneur en aglycones, exprimée en équivalent de quercétol, est calculée selon la formule [19] :

$$T_{\text{aglycones}} = (A / \epsilon) \times M \times V \times d / p \quad (\text{en mg/g})$$

A : Absorbance du pic différentiel

ϵ : Coefficient d'absorption molaire du quercétol (= 23000)

M : Masse molaire du quercétol (= 302)

V : Volume de la solution éthanolique d'aglycones

d : Facteur de dilution

p : Poids de matière sèche de matériel végétal hydrolysé.

La chromatographie sur couche mince des anthocyanes (CCM2) est effectuée sur du papier Whatman N°1 avec comme solvant de migration le forestal et visualisation à la lumière visible. Pour les aglycones flavoniques on réalise une CCM1 avec comme solvant CHCl_3 / MeOH / H_2O / AcOH (100:15:0,5:0,3).

Tanins

1,5 g de matériel végétal sec sont placés dans 10 ml de MeOH 80 %. Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes. L'ajout de FeCl_3 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques [26].

RÉSULTATS

Le screening phytochimique effectué sur *Thymelaea lythroides* a permis d'obtenir les résultats suivants :

Composés cyanogénétiques

Pour ce test et en comparaison avec des extraits de graines d'abricots qui sont de bons témoins riches en composés cyanogénétiques, les extraits de *Thymelaea lythroides* se sont révélés contenir ce type de composés avec des quantités variables selon l'organe analysé.

Quinones libres

Les quinones libres sont trouvées dans les fruits, à l'état de traces dans les feuilles et ne sont pas détectés dans les autres organes (fleurs, écorce et racines).

Anthraquinones

Les extraits de feuilles, de fleurs et d'écorce contiennent des anthraquinones, les phases aqueuses ayant viré au rouge. L'extrait de fruits est dépourvu de ce type de métabolites, alors que celui des racines n'en contient que sous forme de traces.

Alcaloïdes

Le réactif de Dragendorff donne sur les CCM deux bandes majeures (Rf 0,19 et 0,85) d'une légère coloration orange - brune chez les différents organes testés. Des bandes mineures (Rf 0,4 et 0,66) sont observées chez certains organes.

Pour le test d'iodoplatinate, la révélation des chromatogrammes a permis d'observer des bandes majeures (Rf 0,28 et 0,83) de coloration bleu marron pour les différents organes. Le spot majeur obtenu pour les racines (Rf 0,78) est néanmoins de coloration jaune.

Pour le test de Mayer, un précipité blanc a été observé pour l'extrait de feuilles, celui des fleurs et faiblement pour celui des fruits. Par contre, ce test n'a pas permis de mettre en évidence l'existence d'alcaloïdes dans l'écorce ou les racines.

Terpénoïdes

Les chromatogrammes révélés sont visualisés à 365 nm et montrent des fluorescences de diverses couleurs chez les différentes parties de la plante, en faveur de l'existence de terpénoïdes : bandes jaune orange (Rf 0,16 et 0,35) pour les feuilles ; bandes jaune orange (0,16) et jaune clair (0,4) pour les fleurs ; bandes jaune orange (0,19 et 0,4) et jaune (0,59) pour les fruits ; bandes orange (0,12 et 0,5) pour l'écorce et la racine.

Saponosides

Les saponosides sont présents (Tableau II) majoritairement dans les racines. Cependant, le témoin Saponaire a un indice presque quatre fois supérieur. Suivent les feuilles et les fleurs, alors que les fruits n'en renferment pratiquement pas.

Tableau II
Indice de mousse des différents organes de *Thymelaea lythroides*
comparé à celui de *Saponaria officinalis* (3 répétitions).

Espèce	<i>Saponaria officinalis</i>	<i>Thymelaea lythroides</i>				
		Racines	Écorce	Feuilles	Fleurs	Fruits
Indice de mousse	395 ± 2	100 ± 6	20 ± 7	62 ± 11	47 ± 3	6,5 ± 1,5

La révélation du chromatogramme à la vanilline sulfurique donne une coloration rose violette témoignant de la nature triterpénique des saponosides. Ils apparaissent présents surtout chez les racines et sous forme de traces chez les autres organes.

Coumarines

Plusieurs bandes sont observées sur les CCM des différents organes. Après exposition aux vapeurs de NH₃ et visualisation sous UV, des fluorescences jaunâtre et violette sont observées, en faveur de l'existence de coumarines.

Flavonoïdes totaux

L'analyse qualitative après CCM, révélation au réactif de Neu et visualisation sous UV, a permis de mettre en évidence de nombreuses fluorescences (en particulier Rf 0,24 verdâtre, 0,34 et 0,42 jaune orange, 0,61 bleu violet, 0,72 orange, 0,82 jaune verdâtre, 0,85 bleu), surtout pour les parties aériennes. Pour l'écorce et les racines, une fluorescence bleue violette (Rf 0,61) est nettement observée. Les feuilles, fleurs et fruits contiendraient principalement des flavones et flavonols, alors que l'écorce et les racines contiendraient surtout des acides ou des esters phénoliques.

Pour l'analyse quantitative (Tableau III), les fleurs sont les plus riches en flavonoïdes totaux, suivies des feuilles et des racines, puis des fruits et enfin de l'écorce.

Anthocyanes

Les CCM des feuilles et des fleurs mettent en évidence deux bandes majoritaires de coloration pourpre (Rf 0,31) et rouge (Rf 0,48) correspondant respectivement au delphinidol et au cyanidol. Des traces sont aussi présentes dans les fruits et l'écorce, mais pas dans les racines. Le dosage des anthocyanes (Tableau III) met en évidence des quantités importantes dans les feuilles. Les fleurs et les fruits en contiendraient sous forme de traces, alors qu'elles sont presque absentes dans l'écorce ou les racines.

Aglycones flavoniques

À 365 nm deux spots fluorescents (Rf 0,27 et 0,35) jaune brun sont observés sur les chromatogrammes des feuilles, des fleurs et des fruits. Après exposition aux vapeurs de NH₃, les taches jaunes brunes s'intensifient en faveur de la présence de flavonols et flavones. Ces métabolites existeraient sous forme de traces dans l'écorce et les racines. On a aussi noté à 365 nm deux spots majeurs (Rf 0,42 et 0,60) de fluorescence violet sombre en grande quantité chez les feuilles et les fleurs.

Les fleurs possèdent une teneur en aglycones flavoniques (Tableau III) plus importante par rapport aux feuilles. Dans les fruits, l'écorce et les racines, ces métabolites existeraient en moindre quantité.

Tanins

D'après la coloration obtenue avec FeCl₃, les feuilles, les fleurs et les fruits de cette espèce contiendraient des tanins galliques, alors que l'écorce et les racines contiendraient des tanins catéchiques.

Tableau III
Teneurs moyennes en flavonoïdes totaux, anthocyanes et aglycones flavoniques de *Thymelaea lythroides* (3 répétitions).

%	Racines	Écorce	Feuilles	Fleurs	Fruits
Flavonoïdes totaux	0,454 ± 0,024	0,274 ± 0,007	0,494 ± 0,004	0,509 ± 0,011	0,376 ± 0,015
Anthocyanes	0,1 ± 0,03	0,313 ± 0,1	5,8 ± 0,79	1,56 ± 0,20	0,99 ± 0,01
Aglycones flavoniques	0,017 ± 0,001	0,063 ± 0,029	0,157 ± 0,057	0,242 ± 0,108	0,046 ± 0,001

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le screening phytochimique de *Thymelaea lythroides* a été effectué pour la première fois et les résultats sont regroupés dans le Tableau IV. Ils ont permis de mettre en évidence que :

- La plante contient des terpénoïdes. Les Thyméléacées présentent des diterpènes de type peu fréquent [10].

- Les feuilles et les racines contiennent des saponosides. D'après Touati [31], ils seraient sporadiques chez les Thyméléacées.

- Les différents organes contiennent des alcaloïdes à concentration variable selon l'organe testé. D'après Touati [31], *Thymelaea hirsuta* ne contient pas ce genre de composés. Cependant, 36 % des espèces présenteraient des alcaloïdes chez les Thyméléacées [21].

- La plante contient des coumarines. Rizk et ses collaborateurs [28] mentionnent chez *Thymelaea hirsuta* la présence de différentes structures coumariniques à base de daphnétine (fluorescence jaune), d'ombelliférone (fluorescence violette), de scopolétine et d'esculétine. De plus, la présence d'ombelliférone et de scopolétine a été aussi rapportée chez *Thymelaea passerina*, en plus d'autres molécules [15].

Tableau IV :
Métabolites secondaires des différents organes de *Thymelaea*
***lythroides*.**

Partie étudiée		Racines	Écorce	Feuilles	Fleurs	Fruits
Classe de composés						
Composés cyanogénétiques		++	++	+	traces	traces
Quinones		-	-	traces	-	+
Anthraquinones		traces	+++	+++	++	-
Alcaloïdes	Dragendorff	+	+	+	+	+
	iodoplatinate	+	+	+	+	+
	Mayer	-	-	+	+	traces
Terpénoïdes		+	+	+	+	+
Saponosides	triterpéniques	+++	traces	++	traces	traces
	stéroïdiques	-	-	-	-	-
Coumarines		+	+	+	+	+
Flavonoïdes		++	+	++	+++	+
Anthocyanes		traces	traces	+++	++	+
Aglycones flavoniques		traces	traces	+	++	traces
Tanins	catéchiques	+	+	-	-	-
	galliques	-	-	+	+	+

+ : présence
 - : non détecté.

- L'espèce est riche en acides phénoliques et flavonoïdes. La 2-vicénine (6,8-di-C-β-D-glucopyranosylapigénol) a été trouvée dans les feuilles de *Thymelaea hirsuta* [23]. Touati [31] a identifié chez cette espèce du kampférol (fluorescence jaune). Cet auteur a observé 6 mg/g d'anthocyanidols pour les feuilles de *Thymelaea hirsuta*, valeur semblable à celle obtenue chez les feuilles de *T. lythroides* (5,8 mg/g). La richesse de la plante en flavonoïdes, produits naturels antioxydants, peut expliquer le fait qu'elle possède différentes propriétés pharmacologiques, surtout pour les parties aériennes.

- *Thymelaea lythroides* contiendrait des tanins à la fois de type gallique et catéchique.

Au cours de nos récoltes et prospections, nous avons remarqué que la plante n'est jamais broutée par le bétail. Le faible intérêt pastoral des Thyméléacées a été expliqué par le fait qu'elles contiennent des alcaloïdes et des glucosides [20]. Les tanins et les terpénoïdes pourraient jouer un rôle de protection contre les agressions par les animaux et les insectes.

Thymelaea lythroides apparaît donc être une plante riche en métabolites secondaires, largement utilisée en médecine traditionnelle dans la région du Gharb au Maroc pour combattre et guérir différents maux. Une exploitation de ses propriétés pharmacologiques implique une recherche plus poussée de ses principes actifs, actuellement en cours. Elle devra s'accompagner d'une mise en place de la propagation végétative de cette espèce, qui est considérée comme rare [11].

RÉFÉRENCES

- 1 - Abou-Karam (M.), El-Shaer (N.S.), Shier (W.T.) - Inhibition of oncogene product enzyme activity as an approach to cancer chemoprevention. Tyrosine-specific protein kinase inhibition by daphnoretin from *Thymelaea hirsuta* root. - *Phytother. Res.*, 1998, **12**(4), 282-284.
- 2 - Al-Yahya (M.A.) - Phytochemical studies of the plants used in traditional medicine of Saudi Arabia. - *Fitoterapia*, 1986, **57**(3), 179-182.
- 3 - Bellakhdar (J.) - *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis press, 1997, 759 p.

- 4 - Brooks (G.), Evans (A.T.), Aitken (A.), Evans (F.J.), Rizk (A.F.M.), Hammouda (F.M.), El-Missiry (M.M.), Ismail (S.E.) - Daphnane diterpenes of *Thymelaea hirsuta*. - *Phytochemistry*, 1990, **29**(7), 2235-2237.
- 5 - Cheriti (A.), Sekkoum (K.) - Phytochemical investigation of *Thymelaea microphylla* growing in Algeria. - *Acta Chim. Slovenica*, 1995, **42**(3), 373-374
- 6 - Dohou (N.), Gmira (N.), Doumi (L.), Hmamouchi (M.) - Valorisation des sous produits de plantes médicinales endémiques de la région du Gharb : cas de l'espèce *Thymelaea lythroides*. - *1^{er} Congr. de l'AMPEPM : « Plantes médicinales : biologie et santé », 01-03 nov. 2001, Univ. Ibn Tofaïl, Fac. Sci. Kénitra (Maroc)*, 2001, p 45.
- 7 - Dohou (N.), Doumi (L.), Gmira (N.), Hmamouchi (M.) - Valorisation des substances naturelles de *Thymelaea lythroides* (Barr. & Murb.). - *Symp. Int. (RPMA). « Plantes médicinales, santé, environnement au service du développement », 02-04 mai 2002, Univ. Med. V. Fac. Méd. Pharm. Rabat (Maroc)*, 2002a, p 38.
- 8 - Dohou (N.), Doumi (L.), Gmira (N.), Hmamouchi (M.) - Valorisation des substances naturelles de *Thymelaea lythroides* (Barr. & Murb.). - *3^e Rencontre Andalou-Marocaine sur la Chimie des Produits Naturels, 29-31 mai 2002, Univ. Cadiz (Espagne)*, 2002b, p PO-V06.
- 9 - El-Beheiry (M.A.H.) - Evaluation of the organic composition of *Thymelaea hirsuta* populations in Egypt. - *Bull. Fac. Sci., Assiut Univ., D: Botany*, 2000, **29**(1), 375-383.
- 10 - Evans (F.J.), Taylor (S.E.) - Pro-inflammatory, tumor-promoting and anti-tumor diterpenes of the plant families Euphorbiaceae and Thymelaeaceae. - *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.*, 1983, **44**, 1-99.
- 11 - Fennane (M.), Ibn Tattou (M.), Raimondo (F.M.), Valdés (B.) - *Catalogue des plantes vasculaires rares, menacées ou endémiques du Maroc*. Raimondo (F.M.), Valdés (B.) Eds, Palermo : Published under the auspices of OPTIMA by the Herbarium Mediterraneum Panormitanum « Bocconeia », 8, 1998, 243 p.
- 12 - Ganière (S.) - Étude anatomique des *Thymelaea* du Maroc. - *Cah. Fac. Sci. Univ. Mohammed V. Sér. Biol. Vég.*, 1964, (5), Rabat, 67 p.
- 13 - Garcia-Granados (A.), Saenz de Buruaga (A.) - [Thymelaeacea photochemistry. I. Diterpenes, triterpenes and sterols of *Thymelaea hirsuta* L. leaves.] (espagnol) - *Anales Quim., Ser. C: Quim. Org. Bioquim.*, 1980a, **76**(1), 94-95.

- 14 - Garcia-Granados (A.), Saenz de Buruaga (J.M.) - [Thymeleacea photochemistry. II. Flavone and coumarin components of *Thymelea tartonraira* L.] (espagnol) - *Anales Quim., Ser. C: Quim. Org. Bioquim.*, 1980b, **76**(1), 96-97.
- 15 - George (V.), Rishi (A.K.) - Constituents of *Thymelaea passerina*. - *Fitoterapia*, 1982, **53**(5-6), 191-192.
- 16 - Gharbo (S.A.), Khafagy (S.M.), Sarg (T.M.) - Phytochemical investigation of *Thymelaea hirsuta*. - *U. Arab Rep. J. Pharm. Sci.*, 1970, **11**(1), 101-106.
- 17 - Hariri (E.B.), Sallé (G.), Andary (C.) - Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.). - *Protoplasma*, 1991, **162**(1), 20-26.
- 18 - Ismail (S.I.) - Tiliroside (kaempferol-3-*p*-coumaroylglucoside) from *Thymelea hirsuta*. IV. - *Fitoterapia*, 1978, **49**(4), 156-159.
- 19 - Lebreton (P.), Jay (M.), Voirin (B.) - Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. - *Chim. Anal. (Paris)*, 1967, **49**(7), 375-383.
- 20 - Le Floc'h (E.) - *Contribution à une étude ethnobotanique de la Flore Tunisienne*. Pub. Sci. Tunis. Programme Flore et végétation Tunisiennes. 2 Part. Imprimerie Officielle de la République Tunisienne, 1983, 402 p.
- 21 - Levin (D.A.) - Alkaloid bearing plants: an ecogeographic perspective. - *Am. Nat.*, 1976, **110**(972), 261-284.
- 22 - Métro (A.), Sauvage (C.) - *Flore des végétaux ligneux de la Mamora*. Rabat : Édition La Nature au Maroc, 1955, 380-381.
- 23 - Nawwar (M.A.M.), Ishak (M.S.), El Sherbieny (A.E.D.A.), Meshaal (S.A.) - Flavonoids of *Reaumuria mucronata* and *Thymelaea hirsuta*. - *Phytochemistry*, 1977, **16**(8), 1319-1320.
- 24 - Randerath (K.) - *Chromatographie sur couches minces*. Paris : Édition Gauthier-Villars, 1971, 337-339.
- 25 - Ribéreau-Gayon (J.), Peynaud (E.) - *Les composés phénoliques des végétaux*. Traité d'œnologie. Paris : Édition Dunod, 1968, 254 p.
- 26 - Rizk (A.M.) - Constituents of plants growing in Qatar. - *Fitoterapia*, 1982, **52**(2), 35-42.
- 27 - Rizk (A.M.), Hammouda (F.M.), Ismail (S.I.) - Phytochemical investigation of *Thymelaea hirsuta*. II. Lipid fraction. - *Plant Med.*, 1974, **26**(4), 346-358.

- 28 - Rizk (A.F.M.), Hammouda (F.M.), Ismail (S.I.) - Phytochemical investigation of *Thymelaea hirsuta*. III. Coumarins. - *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, 1975, **85**(1), 107-115.
- 29 - Rizk (A.M.), Hammouda (F.M.), Ismail (S.E.), El-Missiry (M.M.), Evans (F.J.) - Irritant resiniferonol derivatives from Egyptian *Thymelaea hirsuta* L. - *Experientia*, 1984, **40**(8), 808-809.
- 30 - Saleh (M.R.I.), Haddad (D.Y.), Sarg (T.M.) - Isolation of the crystalline principle, thymelol, from leaves of *Thymelaea hirsuta*. - *U. Arab Rep. J. Pharm. Sci.*, 1965, **4**, 49-56.
- 31 - Touati (D.) - Contribution à la connaissance du profil biochimique des dicotylédones buissonnantes et arbustes de la Méditerranée. *Thèse 3^e cycle Univ. Claude Bernard Lyon I*, 1985, 156 f.

ABSTRACT

Phytochemical screening of an ibero-moroccan endemic, *Thymelaea lythroides*

Thymelaea lythroides Barr. et Murb. (Thymelaeaceae) is widespread in the Mamora forest, from which its name is derived: "Passerine of Mamora". Its wide use in traditional medicine led us to study this plant, since it has not been previously investigated chemically.

Root, bark, leaf, flower and fruit were screened for the principal classes of secondary metabolites, such as anthraquinones, terpenes, saponins, alkaloids, coumarins, flavonoids and tannins.

Key-words: phytochemical screening, *Thymelaea lythroides*, Thymelaeaceae.
