



SCREENING PHYTOCHIMIQUE D' *Arbutus unedo* L.

PHYTOCHEMICAL SCREENING OF *Arbutus unedo* L.

| Fatine Belfekih¹ | Ouafae El Yahyaoui¹ | Mariam Chleh¹ | Lella Ould Abdellahi¹ | Amal Sammama¹ | L Aicha Lrhorfi¹ | and | Rachid Bengueddour¹ |

¹. Université Ibn Tofail | Département de Biologie | Laboratoire de Biochimie, Biotechnologies, Santé et Environnement | Kénitra | Maroc |

|Received | 20 August 2017|

|Accepted | 03 September 2017|

|Published 10 September 2017 |

RESUME

Introduction : *Arbutus unedo* L. ou "sasnou", comme on l'appelle dans la région Rabat-Salé-Kénitra, appartient à la famille d'Ericaceae. C'est un arbre très connu dans certaines régions du Maroc pour ses propriétés médicinales. Ceci est dû à sa richesse en métabolites secondaires et à son activité antioxydante. **Objectif** : Cette étude a pour objectif d'identifier les métabolites secondaires présents au niveau des organes aérés d'*arbutus unedo* L. (fruit, tige, feuille). **Méthodes** : Cette plante a été cueillie en Janvier au niveau de la forêt d'EL Harcha entre les communes Tidass et Oulmès. L'identification des métabolites secondaires a été faite via un screening phytochimique en utilisant des analyses qualitatives basées sur des réactions de coloration ou précipitation et des techniques de chromatographies sur couches minces. Ces techniques séparatives utilisent des solvants organiques, ainsi que des réactifs permettant la révélation des molécules recherchées d'une manière spécifique. **Résultats** : L'étude qualitative et l'emploi de la technique de chromatographie sur couches minces ont montré que les trois organes d'*arbutus unedo* L. renferment des métabolites secondaires importants, tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les alcaloïdes, les composés réducteurs, les coumarines, les caroténoïdes, les stérols et tri terpènes, et les huiles essentielles. Cependant, les mucilages existent uniquement au niveau du fruit et la feuille. Les protéines sont présentes seulement dans le fruit. **Conclusion** : Le screening phytochimique nous confirme la richesse de cette espèce en métabolites secondaires qui peuvent conférer à d'*arbutus unedo* ses vertus thérapeutiques.

Mots-clés: *Arbutus unedo* L., *Sasnou*, *Screening phytochimique*, *CCM*, *Métabolites secondaires*, *Forêt El Harcha*.

ABSTRACT

Introduction: *Arbutus unedo* L. (strawberry tree), or "Sasnou", as it is called in the Rabat-Salé-Kénitra region, belongs to the Ericaceae family. In some regions of Morocco, this tree is widely known for its health benefits and medicinal properties, thanks to its richness in secondary metabolites and antioxidant compounds. **Objective**: The purpose of this study is to identify the secondary metabolites present in the aerated organs of *Arbutus unedo* (fruit, stem and leaf). **Methods**: The plant was picked off in January at the forest of El Harcha, between the Tidass and Oulmès communes. The identification of secondary metabolites was carried out via phytochemical screening using qualitative analyses based on a set of staining / precipitation reactions and thin layer chromatography techniques. These separating analyses use organic solvents and reagents allowing the detection of the sought molecules in a specific way. **Results**: Phytochemical screening and thin layer chromatography showed that the three organs of *Arbutus unedo* L. contain important secondary metabolites, such as flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, reducing compounds, coumarins, carotenoids, sterols and triterpenes, and essential oils. However, mucilages exist only in the fruit and the leaf. Proteins are present only in the fruit. **Conclusion**: The analytical techniques used confirm the richness of this species in secondary metabolites that can confer on *Arbutus unedo* L. its therapeutic virtues.

Keywords: *Arbutus unedo* L., *Sasnou*, *phytochemical screening*, *thin layer chromatography*, *secondary metabolites*, *El Harcha forest*

1. INTRODUCTION

L'arbousier est une espèce de la région méditerranéenne avec quelques incursions plus au nord en Europe atlantique. Au Maroc, cette espèce s'accroît dans les bioclimats semi-aride au perhumide à variantes chaudes à fraîches au niveau du thermoméditerranéen et mesoméditerranéen sur sols calcaires et siliceux. C'est un arbuste ou petit arbre généralement de 3 à 4 m de haut qui pouvant atteindre parfois 8 m de haut [1]. La floraison débute en octobre mais les fruits n'arrivent à leur maturité qu'à l'automne de l'année suivante. C'est la raison pour laquelle fleurs et fruits cohabitent longtemps. Les arbouses persistent sur l'arbre jusqu'en janvier [2].

Divers propriétés médicinales ont été retrouvées chez cette espèce. L'arbousier est un anti-inflammatoire, antiseptique, astringent, diurétique et dépuratif [3]. Les feuilles étant riches en tanins (36% environ) et en arbutosides (un hétéroside phénolique), qui ont des vertus astringentes et antiseptiques, la médecine traditionnelle les emploie en décoction prolongée contre les affections des voies urinaires (cystite en particulier) [4]. Au Maroc, une étude ethnobotanique

réalisée dans la région d'Izarène a montré que l'utilisation de cette espèce est souvent dans le traitement du diabète et l'hypertension artérielle, ainsi que dans les maladies cardiaques [5]. Les fruits d'arbousier se sont révélés être une bonne source d'antioxydants [6].

Plusieurs études se penchent vers la recherche des vertus thérapeutiques des plantes médicinales, étant trouvé qu'elles participent dans la lutte contre certaines maladies. Dans ce contexte, cette étude a pour objectif de relever les molécules bioactives existant dans le fruit, la feuille et la tige d'arboise par le biais d'un screening phytochimique en utilisant des réactions de coloration/précipitation et des techniques de chromatographies sur couches minces. Ce travail permet donc de déterminer la richesse de cette espèce en métabolites secondaires afin de la valoriser et de l'exploiter dans divers domaines en particulier médicinale et cosmétique.

2. MATERIELS AND METHODES

2.1 Site de récolte et matériel végétal

Les trois organes étudiés ont été récoltés au bord de la forêt d'El Harcha, entre les communes Tiddas et Oulmès au début du mois de janvier 2016 (figure1) Le fruit d'*A. Unedo* a été séché à l'aide d'une étuve à une température de 25°C puis au four jusqu'à évaporation complète de l'eau et obtention de fruit totalement sec, alors que les tiges et les feuilles ont été séchées dans un endroit sec et aéré. Chacun des organes a été broyé puis tamisé afin d'obtenir une poudre bien moulue.



Figure 1: La figure montre la localisation géographique de site d'étude [7].

2.2 Screening phytochimique

Le screening phytochimique a pour objectif de détecter les principaux métabolites secondaires existants dans *A.unedo.L* via une analyse qualitative des réactions de coloration/précipitation et l'utilisation des techniques de chromatographies sur couches minces (CCM).

Chromatographies sur couches minces (CCM): Le principe de la CCM consiste en une séparation des substances chimiques en fonction de leur affinité par rapport à deux phases: une phase stationnaire solide et une phase mobile liquide (éluant) constituée par un mélange de solvants. Sur une même plaque chromatographique sont appliqués 10µl de trois extraits correspondant aux trois échantillons. Les plaques ont été séchées à l'air ambiant et placées dans les cuves de migration saturées par les phases mobiles appropriées. Après migration, les plaques ont été retirées, séchées, examinées sous l'UV à 366 nm, puis révélées avec un réactif spécifique et examinées sous lumière visible et à l'UV à 366 nm [8]. Ensuite, on mesure le rapport frontal (RF) [9] :

$$RF = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le front de solvant}} \quad (1)$$

Les extraits utilisés dans cette étude sont les suivants :

L'infusé à 5% : 5 g de poudre végétale sont introduits dans 100 ml d'eau bouillante et laisser infuser 15 à 30 minutes. Cet infusé est utilisé pour la caractérisation des tanins et les flavonoïdes [9].

L'extrait chloroformique : 1g de drogue en poudre a été ajouté à 10 ml de chloroforme dans un tube à essai et prudemment chauffer au bain-marie pendant 3 minutes. Cet extrait a servi à la recherche des anthracéniques libres. L'hydrolysât : à une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, 10 ml d'eau et 1ml d'acide chlorhydrique concentré sont ajoutés. Le tube à essai est maintenu dans un bain-marie bouillant pendant 15 min et refroidi par la suite sous courant d'eau. L'hydrolysât est employé pour l'identification des anthracéniques combinés.

L'extrait éthérique : 1 g de poudre et 20 ml d'éther sont introduits dans un tube à essai et laisser macérer pendant 24 heures. Cet extrait est utilisé ensuite pour la caractérisation à la fois de stérols et tri terpènes, caroténoïdes et de coumarines [9].

2.2.1 Les alcaloïdes : Introduire 10 g de poudre végétale sèche dans un erlenmeyer, à laquelle 50ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 avec de l'eau distillée est ajouté. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h. Ensuite, dans 1ml du filtrat, 5 gouttes de réactif de Dragendorff sont ajoutées. L'apparition d'un précipité rouge-orangé révèle la présence d'alcaloïdes [10].

2.2.2 Les tanins : La détection des tanins a été faite par l'ajout dans un tube à essai de 5 ml d'infusé à 5%, et 1 ml de la solution aqueuse de FeCl₃ dilué à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

La différenciation des tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny; à 30 ml d'infusé à 5%, 15 ml du réactif de Stiasny est ajouté (10ml du formol à 30% + 5 ml HCl concentré). La solution est ensuite chauffée au bain-marie à 90°C. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques. Pour la caractérisation des tanins galliques, on a filtré la solution précédente qu'on a saturée avec une solution d'acétate de sodium et à laquelle on a ajouté quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny [9].

CCM : La mise en évidence des tanins par CCM a été faite par l'utilisation d'un solvant de migration: Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (40:8:5).La pulvérisation de la plaque est réalisée par une solution de Chlorure ferrique/Acide acétique/Eau (2:2:96) avant la révélation sous U.V à 366nm [11].

2.2.3 Les flavonoïdes : Les flavonoïdes ont été identifiées par la réaction de la cyanidine : 5 ml d'infusé à 5% est mis dans un tube avec 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95°, eau distillée, acide chlorhydrique à volumes égales), puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool iso amylique sont ajoutés.

L'apparition d'une coloration rose-orangée (Flavones) ou rose-violacée (Flavonones) ou rouge (Flavonols) au niveau du surnageant d'alcool iso amylique, indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). La réaction de la cyanidine est effectuée une autre fois mais sans l'ajout de magnésium avec un chauffage de quelques minutes au bain marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

Les anthocyanes ont été identifiés comme suit : Dans 5 ml d'infusé à 5%, 5 ml de H₂SO₄ est ajoutée, puis 5 ml de NH₄OH. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu-violacée en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyanes [9].

CCM : Un gramme de matériel végétal sec est extrait avec 20 ml de méthanol 80 %. Après agitation (15 min) et sonication (15 min), les extraits sont filtrés et soumis à une CCM, 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 méthanol pur [12].

2.2.4 Les Dérivés anthracéniques : Les dérivés anthracéniques ont été identifiés par la procédure suivante :

Les Anthracéniques libres ont été détectées par l'ajout dans un tube à essai d'un 1ml d'extrait chloroformique et 1 ml de NH₄OH dilué. Après agitation, une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres.

Les anthracéniques combinés :

- O-hétérosides

5 ml d'hydrolysat préparé précédemment est agité avec 5 ml de Chloroforme. La phase organique est soutirée et introduite dans un tube à essai, tandis que la phase aqueuse est gardée. A la phase organique, 1 ml de NH₄OH dilué est ajouté puis agité. La présence d'antraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense. Si la réaction est négative ou faiblement positive, les O-hétérosides à génine réduite est à rechercher. Pour cela, un prélèvement de 5 ml d'hydrolysat préparé précédemment et 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10% sont ajoutées. Après avoir chauffé pendant 5 minutes au bain-marie et faire refroidir sous courant d'eau, une agitation avec 5 ml de chloroforme est réalisée. La phase chloroformique est soutirée et introduite dans un tube à essai, puis 1 ml de NH₄OH dilué est ajouté et agité. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment (c'est-à-dire sans addition de FeCl₃ à 10%).

- C-hétérosides

Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée dans 10 ml d'eau et ajouter 1 ml de FeCl₃ à 10%. Le tube à essai est maintenu dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes et refroidi sous courant d'eau. Une agitation est ensuite effectuée avec 5 ml de CHCl₃. La phase chloroformique est soutirée et recueillie dans un tube à essai, puis 1 ml de NH₄OH dilué est ajouté. Après agitation, une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de c-hétérosides [9].

2.2.5 Les anthraquinones : Les anthraquinones sont mises en évidence par CCM en utilisant un extrait méthanolique obtenu par la macération de 1g de la drogue végétale dans 20 ml de méthanol pendant 24 h [13]. Le solvant de migration utilisé est l'acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (81:11:8) et comme révélateur une solution d'hydroxyde de potassium à 10 % dans l'éthanol est élaborée [8].

2.2.6 Stérols et tri terpènes : Les Stérols et terpènes ont été identifiés par la réaction de Liebermann-Burchard. Dans une capsule, 10 ml de l'extrait éthérique est évaporé à sec, le résidu est dissous dans 1 ml d'anhydride acétique, puis dans 1 ml de chloroforme et à recueillir dans deux tubes à essai ; l'un servira de référence. 1 à 2 ml d'acide chlorhydrique concentré est ajouté au fond du tube à essai sans agiter. A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence des stérols et de tri terpènes [9].

2.2.7 Les caroténoïdes : 5 ml d'extrait éthérique sont évaporés dans une capsule à sec et 2 à 3 gouttes sont ajoutées de la solution saturée de SbCl₃ dans le chloroforme. Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite [9].

CCM : Sur une plaque de silice, quelques gouttes des extraits aux dichlorométhane sont déposées. Le solvant de migration utilisé est l'éther d'éthyle/éther de pétrole (60:40) [11].

2.2.8 Les saponosides : Dans une série de 10 tubes à essai de 160 x 16 mm, numérotés de 1 à 10, à répartir successivement 1,2...10ml du décocté à 1% préparé. Le volume est ajusté dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde. Ensuite, laisser reposer les tubes pendant 15 minutes, puis la hauteur de la mousse est mesuré dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse Im [9].

$$I_m = \frac{1000}{n^\circ \text{ du tube}} \quad (2)$$

Avec n = numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est égale à 1cm.

Les saponosides sont détectée également par CCM avec comme solvant de migration AcEt/MeOH/H₂O (100:13,5:4) et la révélation est réalisée par la vanilline sulfurique [12].

2.2.9 Les Mucilages : 1ml du décocté à 10% est introduit dans un tube à essai, puis 5 ml d'alcool absolu est ajouté. L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages [9].

2.2.10 Les Coumarines : Dans une capsule, 5 ml d'extrait éthérique est évaporé, puis 2 ml d'eau chaude est ajoutée au résidu. La solution est partagée entre 2 tubes à essais. Au contenu de l'un des tubes, 0,5 ml est ajouté de NH₄OH à

25%. La fluorescence est observée sous U.V à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines [9].

CCM : Quelques gouttes de l'extrait chloroformique ont été déposées sur une plaque de silice, avec comme solvant de migration l'acétate d'éthyle/Toluène (10:93). La pulvérisation de la plaque est faite avec l'ammoniac NH₃ comme révélateur avant l'observation sous U.V à 366 nm [11].

2.2.11 Les protéines : Les protéines sont mises en évidence par la réaction du Biuret. 1g de la poudre végétale a été ajouté à 2 ml de NaOH aqueux à 20% dans un tube à essai, auxquels sont ajoutées 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de CuSO₄ à 2%. L'apparition d'une coloration violette, quelquefois teintée de rouge, indique une réaction positive [14].

2.2.12 Les huiles essentielles : 10 ml de l'extrait au dichlorométhane à 1% ont été évaporés à sec. Le résidu est ensuite dissous dans 3 ml d'éthanol. La solution ainsi obtenue est à nouveau évaporée à sec. La sensation d'une odeur parfumée indique la présence d'huiles essentielles [15].

2.2.13 Les 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 CCM 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 [12].

2.2.14 Les composés réducteurs : Introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs [16].

2.2.15 Stupéfiants : les tétrahydrocannabinols : Dans un tube à essai, 0,5 g de la poudre est ajouté à 5 ml d'éther de pétrole, puis une agitation pendant 15 mn. Ensuite, le filtrat est évaporé à sec au bain marie. Ensuite, l'ajout au résidu trois à quatre gouttes de KOH à 5% dans l'alcool. Une coloration violette indique la présence de tétrahydrocannabinols [17].

3. RESULTATS

3.1. Screening phytochimique

Les analyses phytochimiques à savoir l'analyse qualitative par réaction de coloration/précipitation et ou par CCM ont révélé la présence de certains métabolites secondaires dans les différentes parties étudiées d'*A.unedo* L. (fruit, tige, feuille) (tableau 1,2).

3.1.1. Analyse qualitative

Les résultats illustrés dans le tableau 1 montrent qu'il y'a présence d'alcaloïdes dans toutes les parties étudiées de la plante. Le groupe des tanins ont montré une réaction très positive avec FeCl₃, ce qui indique leur présence en quantité élevé dans la feuille et la tige par rapport au fruit. On a démontrée qu'il y'a présence aussi de tanins catéchiques mais en quantité moyenne dans le fruit et faible dans la tige, contrairement à la feuille. Alors que les tanins galliques existent plus dans le fruit que dans la tige et la feuille. Dans le même sens les flavonoïdes existent plus dans le fruit, suivis par la feuille puis la tige. Alors que, les anthracéniques libres et combinés et même des stupéfiants de type tétrahydrocannabinols sont absents dans les trois organes étudiés de la plante.

Les coumarines sont très présents au niveau de fruit, tandis qu'elles sont absents chez la tige et la feuille. Contrairement à la feuille les caroténoïdes existent moyennement dans le fruit et faiblement dans la tige. En d'autres parts, les composés réducteurs existent en quantité plus élevée chez la tige par rapport au fruit, mais moyennement présents dans la feuille. L'indice de mousse montre la présence des saponines dans tous les organes étudiés avec une valeur très élevée chez la feuille.

En fin, les analyses qualitatives indiquent la présence des stérols et tri terpènes dans les différentes parties, la feuille renferme plus de stérols et tri terpènes que le fruit suivi par la tige. Par contre, la tige est dépourvu de mucilage, alors qu'il est présent plus dans le fruit que la feuille. Cette dernière renferme plus d'huiles essentielles que le fruit et la tige. Les protéines existent uniquement dans le fruit.

Tableau 1 : Présente les résultats de screening phytochimique par réaction de coloration/précipitation des organes étudiés d'*A.unedo*.

Classe de composés / plante	Fruit	Tige	Feuille
Alcaloïdes	+++	++	+
Tanins			
• Simple	+++	++++	++++
• Cathéchiques	++	+	-
• Galliques	++++	++	+
Flavonoïdes			
• Flavones	+	+++	+
• Flavonoïdes libres	-	-	+
• Flavonones	-	-	-
• Leucoanthocyane	-	-	-
• Catéchols	-	-	-
• Anthocyanes	+++	-	-
Anthracéniques			
• Libres	-	-	-
• Combinés	-	-	-
Stupéfiant	-	-	-
Coumarines	+++	-	-
Caroténoïdes	++	+	-
Composés réducteurs	+++	++++	++
Saponines	++	+++	++++
Stérols et tri terpènes	+++	++	++++
Mucilage	+++	-	++
Huiles essentielles	+++	++	++++
Protéines	++	-	-

++++ : Très positive ; +++ : Positive ; ++ : Moyennement positive ; + : Faiblement positive ; - : Négatif

3.1.2. Chromatographies sur couches minces

Les résultats illustrés dans le tableau 2 montrent :

La visualisation des coumarines sur CCM sous U.V à 366 nm indique des spots orange chez le fruit et même chez la tige et la feuille, ce qui confirme leur présence dans toutes les parties étudiées de la plante.

Les tanins également ont été détectées par CCM en apparaissent sous forme de bandes de différentes couleurs et Rf chez les trois organes étudiés.

Les anthraquinones apparaissent sous forme de bandes colorées en rose dans le chromatogramme de feuille, de la tige et du fruit et aucun changement n'est observé après l'ajout du révélateur.

Les caroténoïdes détectés par CCM sous L'U.V à 366 nm apparaissent sous forme de spots fluorescents colorés uniquement en orange dans les différents organes d'*Arbutus unedo* A l'œil nu, il y a présence des taches de différentes couleurs : la feuille : jaune (Xanthophylles), jaune-orangé (β -Carotène), Phéophytine (vert-olive)), la tige : jaune(Xanthophylles), Phéophytine (vert-olive), et le fruit : jaune (Xanthophylles), jaune-orangé (β -Carotène) [11].

L'analyse chromatographique sur couches minces (CCM) a confirmé la présence des flavonoïdes dans les différentes parties étudiées par l'existence de fluorescences visibles à l'U.V à 366 nm avec des Rf et colorations très diversifiés. Les feuilles ont montré des fluorescences orange, rose, jaune et bleu. Des fluorescences roses ont été également observées chez la tige, tandis qu'il y a apparition de fluorescences bleues chez le fruit juste après révélation par le réactif de Neu et aussi bleu et orange concernant la tige et la feuille. Ceci indique la diversité importante des flavonoïdes dans notre plante.

Après avoir ajouté le chlorure d'antimoine comme révélateur au niveau du chromatogramme des terpénoïdes, des bandes colorées en bleu apparaissent chez la feuille et le fruit, alors qu'il y a absence de ces molécules au niveau de la tige.

L'analyse chromatographique indique la présence des saponosides sous forme des bandes colorées en violet chez les trois organes, ce qui montre qu'ils renferment des saponines de type stéroïdique.

Tableau 2. Le tableau montre les résultats des analyses phytochimiques par chromatographies sur couches minces.

<i>Arbutus unedo L.</i>			
Classe de composés	Feuille	Tige	Fruit
Coumarines	0.10 (orange)	0.10 (orange)	0.58 (orange)
	0.17 (orange)	0.38 (orange)	
	0.24 (orange)	0.57 (orange)	
	0.31 (orange)		
	0.42 (orange)		
	0.57 (orange)		
Tanins	0.68 (rose)	0.81 (bleu)	0.78 (orange)
	0.77 (orange)	0.86 (bleu)	0.82 (bleu)
	0.81 (orange)		0.94 (orange)
	0.85 (bleu)		
	0.92 (orange)		
Anthraquinones	0.66 (rose)	0.8 (rose)	0.9 (rose)
	0.79 (rose)	0.88 (rose)	
	0.89 (rose)		
Caroténoïdes	0.38 (orange)	0.59 (orange)	0.93 (orange)
	0.59 (orange)	0.78 (orange)	0.97 (orange)
	0.77 (orange)	0.86 (orange)	
	0.91 (orange)		
Flavonoïdes	0.29 (orange)	0.70 (rose)	0.13 (bleu)
	0.35 (orange)	0.76 (rose)	0.30 (bleu)
	0.41 (rose)	0.13 (bleu)	
	0.5 (orange)	0.42 (orange)	
	0.57 (orange)	0.57 (orange)	
	0.63 (jaune)		
	0.66 (bleu)		
	0.72 (rose)		
	0.81 (rose)		
	0.87 (rose)		
	0.96 (rose)		
Terpénoïdes	0.93 (bleu)	-	0.97 (bleu)
	0.07 (orange)		
Saponines	0.53 (orange)	0.71 (violet)	0.67 (bleu)
	0.63 (orange)	0.85 (violet)	0.73 (violet)
	0.74 (violet)	0.94 (bleu)	0.87 (violet)
	0.84 (bleu)		
	0.90 (orange)		

4. DISCUSSION

L'examen des résultats obtenu a montré la présence de plusieurs métabolites secondaires au niveau de différents organes d'*arbutus unedo L.* Les alcaloïdes présents au niveau de toute la plante avec des proportions variables, tandis que d'autres travaux indiquent l'absence de ces molécules dans la feuille [18]. Ceci peut être dû probablement du fait de l'influence de plusieurs facteurs comme le mois de récolte [19], les conditions climatiques (température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité) stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires [20]. Ces composés chimiques appartiennent aux substances organiques d'origines végétales et ce sont des métabolites azotés à caractère alcalines qui précipitent généralement avec des réactifs idoméalliques (réactif de Dragendroff). Les stérols et tri terpènes, saponines également présents chez toute la plante et appartiennent à la classe des terpènes. D'ailleurs, les caroténoïdes qui contiennent des atomes d'oxygènes présents chez tous les organes étudiés d'*Arbutus unedo L.*, ne sont pas à proprement parler des terpènes mais des terpénoïdes. Les composés phénoliques sont présents au niveau de la plante sous forme de flavonoïdes qui existent plus dans le fruit d'*Arbutus unedo L.* par rapport aux autres parties étudiées de la plante et dans le même sens, une étude montre que les fruits d'*Arbutus unedo L.* sont une très bonne source d'antioxydants précisément parce qu'ils ont une forte teneur en flavonoïdes (32,37mg /100 g) de portion comestible [6].

Les composés phénoliques existent également sous forme des tanins et de coumarines au niveau de cette espèce. L'analyse qualitative montre que les coumarines sont absentes chez la tige et la feuille, alors que ces molécules ont été identifiées par CCM au niveau de ces mêmes organes. Cette différence est due probablement aux différentes conditions des deux types d'analyses ; à savoir la méthode d'extraction, la nature du solvant, la température. En effet, la solubilité des composés phénoliques ; auxquels appartiennent les coumarines, est affectée par la polarité du solvant utilisé [21,22].

En revanche, la majorité des résultats de nos travaux ont été conformes avec ceux retrouvés par d'autres études soit en Algérie [23], Portugal [24,25], Turquie [18,26], Croatia [19] et en Spain [6]. Cependant, certaines divergences observées ont été plus au moins justifiées.

Très peu d'études phytochimiques ont été réalisées sur la tige de cette espèce, mais des travaux indiquent que les iridoïdes [27], les proanthocyanidines [28] sont des métabolites présents au niveau de la tige d'*Arbutus unedo* L. Notre étude montre que la tige d'*Arbutus unedo* L. contient des quantités plus au moins importantes de métabolites secondaires, tels que les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les coumarines, les stérols et tri terpènes, les caroténoïdes et les saponines, les composés réducteurs et les huiles essentiels. Toutefois, une étude ethnobotanique réalisée dans la région de Zaër (Maroc occidental) indique qu'à forte dose, l'arbusier est narcotique et stupéfiant [3], tandis que nos analyses pour les tétrahydrocannabinols montrent que les trois organes étudiés d'*Arbutus unedo* L. ne contiennent pas de ce stupéfiants.

La teneur en métabolites secondaires chez *Arbutus unedo* L. change durant les mois de l'année, ce qui a été prouvé par Males et al [19]. Ceci explique probablement les quelques différences observées par rapport aux autres études effectuées sur la même espèce.

5. CONCLUSION

Le screening phytochimique a montré que les trois organes d'*arbutus unedo* L. (fruit, tige, feuille) sont riches en métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les alcaloïdes, les composés réducteurs, les coumarines, les caroténoïdes, les stérols et tri terpènes, et les huiles essentielles. Cette analyse nous a également montré que le matériel végétal étudié est dépourvu de dérivés anthracéniques libres et combinés et de stupéfiants de type tétrahydrocannabinols. L'espèce *arbutus unedo* L. montre une grande richesse en métabolites secondaires dont les fonctions biologiques sont nombreuses et variées. Pour toutes ces raisons, cette plante peut trouver des applications dans les domaines médicaux et cosmétiques.

6. REFERENCES

- [1] Aafi A., Sghir Taleb M., et Fechtal M. Espèces remarquables de la flore du Maroc. Maroc : Centre National de la Recherche Forestière de Rabat ; 2002. 36p. Available on : <http://www.youscribe.com/BookReader/Index/511811?documentId=482934>.
- [2] Reille M.Garriguel : Arbres et arbustes, arbrisseaux et sous-arbrisseaux. Nîmes, Mars 2016. Available on : <http://www.arbres-lozere.fr/>.
- [3] Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M., et Hseini S. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la Région de Zaër (Maroc Occidental). Lejeunia. Revue de Botanique, 2009, pp.1-30. Available: <http://popups.ulg.ac.be/0457-4184/index.php?id=710>.
- [4] Tonelli N., et Gallouin F. Des fruits et des graines comestibles du Monde entier. 1^{ère} édition. Paris : Lavoisier ; 2013. 91p.
- [5] Orch H., Douira A., et Zidane L. Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète et des maladies cardiaques dans la région d'Izarène (Nord du Maroc). Journal of Applied Biosciences. 2015; 86:7940–7956. Available on: <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v86i1.3>
- [6] Pallauf K., Rivas-Gonzalo J.C., Del Castillo M.D., Cano M.P., et de Pascual-Teresa S. Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. Journal Food Composition and Analysis. 2008; 21(4):273–281. Available on: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157508000021>.
- [7] Barbe C., Fernandes P., et Sanseau A. Reboisement et sylvopastoralisme : un projet innovant en forêt d'El Harcha au Maroc. Revue Forestière Française, 1996, pp.585-594. Available on : <http://hdl.handle.net/2042/26779>.
- [8] Okombe Embeya V. Activité antihelminthique de la poudre d'écorce de racine de vitex thomasii de wild (verbenaceae) sur haemonchus contortus chez la chèvre. Thèse, Université de Lubumbashi, Faculté de médecine vétérinaire. Congo. 2011. Available on : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00799960/document>.
- [9] Aworet Samseny R-R. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le Strychnos Icaja Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse, Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto - Stomatologie, Mali. 2003. Available on : http://indexmedicus.afro.who.int/iah/fulltext/Thesis_Bamako/04P17.PDF.
- [10] Sandrine F. M. Etude phytochimique et des activités biologiques de Maerua angolensis DC. (Capparidaceae). Thèse, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto-Stomatologie, Bamako-Mali. 2005. Available on : http://indexmedicus.afro.who.int/iah/fulltext/Thesis_Bamako/05P22.PDF.
- [11] Yahyaoui O., AIT Ouaziz N., Guinda I., Sammama A., Kerroui S., Bouabid B., El Bakkal M., Quyou A., Lrhorfi L.A., et Bengueddour R. Phytochemical screening and thin layer chromatography of two medicinal plants: Adansonia digitata (Bombacaceae) and Acacia raddiana (Fabaceae). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2017; 6(1):10-15. Available on: <http://www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue1/PartA/5-6-16-956.pdf>.
- [12] Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani LM., Badoc A., et Gmira N. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, thymelaea lythroides. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux. 2003 ; 142(1-4):61-78. Available on : <http://www.socpharmbordeaux.asso.fr/pdf/pdf-142/142-061-078.pdf>.
- [13] Berrani A., Lrhorfi L.A., Dahmani F.Z., Frikh H., et Bengueddour R. Criblage phytochimique de deux plantes médicinales : Vitex agnus castus et Anabasis aetioïdes. Science Lib Editions Mersenne. 2015 ; 7:1-22.

- [14] Yves-Alain B., Janat A., Mamyrbekova B., Boua B., Fézan H., et Tra BI. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences & Nature*. 2007; 4(2):217-225. Available on: <https://www.ajol.info/index.php/scinat/article/view/42146/59006>.
- [15] Ilboudo S., Ouedraogo M., Some N., et Guissou PI. Criblage phytochimique et évaluation de la toxicité aigüe de *Pisolithus tinctorius* (Basidiomycète). *Journal des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*. 2009; 10(2):6-13. Available on: http://www.ufrspb.ci/cf/doc2_87.pdf.
- [16] Azzi R. Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest Algérien : enquête ethnopharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Tlemcen. 2013. Available on: <http://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/2035>.
- [17] Diallo A. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* WILLD. (Myrtaceae). Thèse. Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto-Stomatologie, Mali. 2005. Available on: <http://www.keneya.net/fmpos/theses/2006/pharma/pdf/06P24.pdf>.
- [18] Baytop T., Özcöbek G., et Alpuğan G. Recherches phytochimiques sur les plantes de la Turquie II, Istanbul. *Journal of Faculty of Pharmacy Istanbul University*. 1970; 6:27-34.
- [19] Maleš Ž., Plazibat M., Bilušić Vundač V., et Žuntar I. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree – *Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Journal Acta Pharmaceutica*. 2006; 56(2):245–250.
- [20] Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bourouai N., Trabelsi N., Boulaaba M., et Abdely C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 2008; 331(5): 372-379.
- [21] Bachiri L., Echchegadda G., Ibijbjen J., et Nassiri L. Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de lavande autochtones au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.»». *European Scientific Journal*. 2016; 12(30):313-333. Available on: <http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n30p313>.
- [22] Mahmoudi S., Khali M., et N.Mahmoudi. Etude de l'extraction des composés phénolique de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue de Nature & Technologie, B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, 2013, pp. 35- 40. Available on: http://www.univ-chlef.dz/RevueNatec/Issue_09_Art_B_06.pdf.
- [23] Mihoub F., et Gouchala F. Préférence, neophobia and nutritional quality of a wild fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.) from Algeria. *International Journal of Applied, Physical and Bio-Chemistry Research (IJAPBCR)*. 2014; 4(3):19-28.
- [24] Barros L., Carvalho A.M., Sá Morais J., et Ferreira I. C.F.R. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry*. 2010; 120(1): 247–254.
- [25] Oliveira I., Baptista P., Bento A., et Pereira J. A. *Arbutus unedo* L. and its benefits on human health. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2011; 50(2): 73–85. <http://www.vup.sk/en/download.php?bulID=391>.
- [26] Özcan M.M., et Haciseferoğulları H. The Strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering*. 2007; 78(3):1022–1028.
- [27] Karikas G.A., Euerby M.R., et Waigh R.D. Constituents of the Stems of *Arbutus unedo*. *Journal of Planta medica*. 1987; 53(2):223-224.
- [28] Dib M.A., Allali H., Tabti B., Bendiabdellah A., et Djabou N. A New Proanthocyanidins from *Arbutus unedo* L. Stems. *Asian Journal of Chemistry*. 2008; 20(5):3926-3934.

Cite this article: Fatine Belfekih, Ouafae El Yahyaoui, Mariam Chleh, Lella Ould Abdellahi, Amal Sammama, L Aicha Lrhorfi, et Rachid Bengueddour. SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'*Arbutus unedo* L. *Am. J. innov. res. appl. sci.* 2017; 5(3): 237-245.

This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>