

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Laboratoire de Matériaux,
Technologie des Systèmes
Énergétiques et Environnement



Université de Ghardaïa

Faculté des Sciences et Technologies
Département Génie des procédés



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : *Sciences et Technologies*

Filière : *Génie des procédés*

Spécialité : *Génie chimique*

Par :

Nadjat REMMA

Houria BOUABDELLI

Thème

Extraction des principes actifs des grains de *Ridolfia segetum* avec d'évaluation de l'activité antioxydant

Soutenu publiquement le 26/06/2019

Devant le jury :

Mr K.Mansouri

M.C.B

U.Ghardaia

Président

M^{elle} N.Hellali

M.C.B

U.Ghardaia

Examineur

Mr I.Babaarbi

M.A.A

U.Ghardaia

Examineur

Mr Y.Adamou

M.A.A

U.Ghardaia

Encadreur

Année universitaire 2018/2019

N° d'ordre :
N° de série :

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

- ♥ *A l'être le plus cher au monde, ma Mère qui a été toujours présente pour moi et pour l'affection dont elle m'a fait preuve.*
 - ♥ *Mon cher père qui m'a encouragé et soutenu jusqu'à atteindre ce que je suis maintenant.*
 - ♥ *A ma tante Amoura qui était ma deuxième mère pour moi, en lui souhaitant beaucoup du bonheur dans sa vie.*
 - ♥ *A mes frères Mokhtar et Abass en leurs souhaitant que du bonheur.*
 - ♥ *A ma sœur Rebha, en lui souhaitant beaucoup de succès dans sa vie professionnelle.*
 - ♥ *A ma sœur Asma, son mari Khaled en leur souhaitant que du bonheur dans leur vie conjugale et professionnelle.*
 - ♥ *A mon meilleur ami Mohamed Belabbassi qui était avec moi et m'a soutenu dans tous mes moments.*
 - ♥ *A mes chouchous les enfants de ma soeur Yasmine, Mohamed, Moayde et Tassnime.*
- ♥ *A toute la famille*
- ♥ *je dédie également ce modeste travail à mon binôme Houria et sa famille.*
 - ♥ *Enfin je tien à dédier aussi ce mémoire à tous mes camarades de classe, et puis à toutes les Personnes qui m'estiment.*

R.Nadjat

Dédicace

Je dédie spécialement cette mémoire A mes très chers parents, pour leurs encouragements, leur tendresse, leur amour et leur soutien durant mes études.

A mes soeurs : Oumelkhir, Fatiha et Messouda.

A mes frères: Abdellwahab, abdellkader.

A mon neveu : Mouhamed lamine.

A mon fiancé :Mouhamed islam.

A toute la famille

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université :nadjat, chaima, ikram et aida.

A: nabila, khadija et marwa. A tous qui me connaisse de près ou de loin.

B.Houria

Remerciements

Avant toute chose, Nous louons Dieu le tout puissant, pour nous avoir prêté force et patience pour l'aboutissement de ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé dans laboratoire de Génie chimie, Département de Génie de procédés, Université de Ghardaïa.

Nous tenons à remercier très chaleureusement mon encadreur, *Mr Adamou Youssef*, d'avoir dirigé ce travail avec efficacité et professionnalisme, pour tous les précieux conseils qu'il nous a donnés.

Nos vifs remerciements sont adressés à *Mr K.Mansouri* pour d'accepter de présider le jury de soutenance.

Nous exprimons également nos meilleurs sentiments de gratitude à *M^{elle} N.Hellali et Mr I.Babaarbi* les accepter comme membres du jury et consacrer leur temps à la lecture et à la correction de ce manuel.

Nous ne terminerons pas ce mot sans gratifier de nos remerciements nos parents pour leurs contributions, leur soutien et leur patience durant tout notre parcours scolaire.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, à tous nos proches et ami(e)s, qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de notre formation.

Liste des tableaux

Tableau n° 01: Les différentes classes des composés phénoliques.....	10
Tableau n° 02: Classification des triterpènes.....	21
Tableau n° 03: Classification et systématique de <i>Ridolfia segetum</i>	28
Tableau n° 04: Résultats des tests phytochimiques de <i>Ridolfia segetum</i>	60
Tableau n° 05: Rendements des extraits obtenus par macération de plante <i>Ridolfia segetum</i>	61
Tableau n° 06: Facteurs de rétention (R_f) des extraits de plante <i>Ridolfia segetum</i>	62
Tableau n° 07: Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait éther de pétrole.....	66
Tableau n° 08: Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait dichlorométhane	67
Tableau n° 09: Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait l'acétate d'éthyle.....	68
Tableau n° 10: Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait n-butanol	69
Tableau n° 11: Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait l'eau.....	73
Tableau n° 12: Valeurs des IC_{50} (en $\mu\text{g/ml}$) des extraits de <i>Ridolfia segetum</i> et de l'acide ascorbique	77

Liste des figures

Figure n° 01: Interrelation entre les métabolites primaires et secondaires	7
Figure n° 02: Biosynthész des métabolites secondaires.....	9
Figure n° 03: Squelette de base des polyphénols.	11
Figure n° 04: Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques.	12
Figure n° 05: Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques	12
Figure n° 06: Structure de flavonoïde.	13
Figure n° 07: Quelques structures de base des flavonoïdes.	14
Figure n° 08: Exemple des tanins hydrolysables	15
Figure n° 09: Exemple des tanins condensés	16
Figure n° 10: Structures chimiques de lignine	17
Figure n° 11: Structure chimique coumarine	18
Figure n° 12: Structure chimique de stilbéne	18
Figure n° 13: Structure de l'unité isoprène	21
Figure n° 14: Les principaux cycles azotés des alcaloïdes.....	25
Figure n° 15: Photo de la <i>Ridolfia Segetum</i>	29
Figure n° 16: Graines de <i>Ridolfia Segetum</i> photo originale.....	29
Figure n° 17: Structure des graines de <i>Ridolfia Segetum</i>	30
Figure n° 18: Localisation de la région d'étude.....	30
Figure n° 19: Photo de la plante <i>Ridolfia Segetum</i> séchée photo originale.....	34
Figure n° 20: Préparation d'extrait aqueux photo originale.....	35
Figure n° 21: Montage d'extraction utilisé photo originale.....	39
Figure n° 22: Récapitulatifs de l'extraction des parties aériennes de <i>Ridolfia Segetum</i>	40
Figure n° 23: Montage d'extraction utilisé photo originale.....	41
Figure n° 24: Récapitulatifs de l'extraction extraits spécifiques de <i>Ridolfia Segetum</i>	42
Figure n° 25: principe de la chromatographie sur couche mince photo originale.....	45
Figure n° 26: Migration de composant d'extrait.....	47
Figure n° 27: CG/MS utilisé.....	49
Figure n° 28: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	51
Figure n° 29: Détection chimique des tanins photo originale	55
Figure n° 30: Détection chimique des phlobatanins photo originale	55
Figure n° 31: Détection chimique des flavonoides photo originale	56

Figure n° 32: Détection chimique des coumarines photo originale	57
Figure n° 33: Détection chimique des triterpènes photo originale.....	57
Figure n° 34: Détection chimique des stéroïdes photo originale	58
Figure n° 35: Détection chimique des saponines photo originale.....	58
Figure n° 36: Détection chimique des alcaloïdes photo originale.....	59
Figure n° 37: Spectre de masse de l'extrait éther de pétrole.....	65
Figure n° 38: Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait dichlorométhane.....	66
Figure n° 39: Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait l'acétate d'éthyle.....	67
Figure n° 40: Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait n-butanol	68
Figure n° 41: Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait l'eau	69
Figure n° 42: Courbe de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH d'extrait éther de pétrole.....	71
Figure n° 43: Courbe de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH d'extrait dichlorométhane.....	71
Figure n° 44: Courbe de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH d'extrait l'acétate d'éthyle.....	72
Figure n° 45: Courbe de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH d'extrait n- butanol.....	72

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs: Absorbance.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

CG: Chromatographie en phase gazeuse.

CG/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice.

IR : Infra-Rouge.

UV : Ultra-Violet.

Vc : Acide ascorbique (vitamine c).

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction Générale 1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Métabolites secondaires

I 1. Généralité	6
I.1.1 Les métabolites (ou produits naturels des plantes)	6
I 1.1.1 Métabolites primaires	6
I 1.1.2 Métabolites secondaires	6
I 1.2 Interrelation entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire	6
I.2. Présentation générales des métabolites secondaire	7
I 2.1. Définition les métabolites secondaires	7
I 2.2. Biosynthèse des métabolites secondaires	8
I 2.3. Classification des métabolites secondaires	9
I 2.3.1. Les composés phénoliques :	10
I 2.3.1.1. Définition les composés phénoliques	10
I 2.3.1.2. Structure chimique des polyphénols	11
I 2.3.1.3. Localisation des composés phénoliques	11
I 2.3.1.4. Classification des polyphénols	11
I.a. Polyphénols monomériques	12
a.1. Acides phénoliques	12
a.2. Flavonoïdes	13
I.b. Polyphénols sous forme de polymères	15
b.1. Tanins	15
b.2. Lignines	16

I.c. Coumarines, Stilbènes (les plus rares) (NKHILI, 2009).....	17
c.1. Coumarines C ₆ -C ₃	17
c.2. Stilbènes C ₆ -C ₂ -C ₆	18
I.2.3.1.5. Intérêts thérapeutiques des polyphénols	18
I.2.3.1.5.1. Activité anticancéreuse	19
I.2.3.1.5.2. Prévention contre les maladies cardiovasculaires	19
I.2.3.1.5.3. Prévention contre les maladies hormono-dépendantes	19
I.2.3.1.5.4. Action gastro-protectrice des polyphénols	20
I.2.3.2. Les terpénoïdes (appelés aussi terpènes)	20
I.2.3.2.1. Définition les terpènes	20
I.2.3.2.2 Structure chimique des terpènes	21
I. 2.3.2.3 Biosynthèse des terpènes	22
I.2.3.2.3.1 Voie de mévalonate	22
I.2.3.2.3.2 Voie desoxyxylulose-5- phosphate	22
I.2.3.2.4. Classification les terpènes.....	22
I.2.3.2.4.1. Les monoterpènes	22
I. 2.3.2.4.2. Sesquiterpènes	23
I. 2.3.2.4.3 Diterpènes	23
I. 2.3.2.4.4 Triterpénoïdes et stéroïdes	23
I 2.3.2.4.5 Tetraterpènes	23
I.2.3.3. Les alcaloïdes	23
I.2.3.3.1. Définition Les alcaloïdes	23
I.2.3.3.2. Fonctions et propriétés	24
I.2.3.2.3. Classification les alcaloïdes	24
I.2.3.2.4. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques	25

Chapitre II : Présentation botanique

II.1. Prestation générale de la plante étudiée	28
II.2. La famille des Apiacées	28
II.3. Étude l'espèce <i>Ridolfia segetum</i>	28
II.3.1. Place dans la systématique	28
II.3.2. Description botanique de <i>Ridolfia segetum</i>	29
II.3.3. Répartition géographique	30

II.3.4.	Présentation de la région d'étude	30
II.3.5.	Synonymes végétaux	31
II.3.6.	Utilisation	31

Deuxième partie : Partie pratique

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III .1.	Matériels	34
III .1.1.	Matériels de laboratoire	34
III .1.2.	Matriel végétal	34
III .2.	Méthodes	35
III .2.1.	Préparation de l'extrait primaire	35
III .2.2.	Les tests phytochimiques	35
III.2.2.1.	Les Tanins	36
III.2.2.2.	Les pholobatannins.....	36
III.2.2.3.	Les Triterpènes	36
III.2.2.4.	Les Stéroïdes	36
III.2.2.5.	Les saponines	36
III.2.2.6.	Les Flavonoïdes	37
III. 2. 2. 6.1.	1 ^{er} Méthode	37
III. 2. 2. 6.2.	2 ^{ème} Méthode	37
III.2.2.7.	Les Coumarines	37
III.2.2.8.	Les Alcaloïdes	37
III .2.3.	L'extraction des principes actifs	38
III.2.3.1.	Préparation des extraits	38
III. 2.3.1.1.	Préparation de l'extrait brut	38
III. 2.3.1.2.	Préparation des extraits spécifiques	41
III .2.4.	Analyse des principes actifs de l'espèce <i>Ridolfia segetum</i>	44
III.2.4.1.	Analyse chromatographique	44
III. 2. 4. 1.1.	Définition la chromatographie	44
III. 2. 4. 1.2.	Les différentes méthodes chromatographiques	44
III. 2. 4. 1.2.1.	Chromatographie sur couche mince	45

III. 2. 4. 1.2.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	48
III.2.4.2. Évaluation de l'activité antioxydant	50
III. 2. 4. 2.1. Activité antioxydante (test DPPH)	50

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV.1. Les tests phytochimiques	54
IV.1.1. Composés phénoliques	55
IV.1.1.1. Tanins	55
IV.1.1.2. Phlobatannins	55
IV.1.1.3 Flavonoïdes	56
IV.1.1.4 Coumarines	57
IV.1.2. Stéroïdes et terpénoïdes	57
IV.1.2.1. Triterpènes	57
IV.1.2.2. Stéroïdes	58
IV.1.2.3. Saponines	58
IV.1.3. Composés azotés	59
IV.1.3.1. Alcaloïdes	59
IV.2. Rendement des extractions	61
IV.3. Analyse des principes actifs de l'espèce <i>Ridolfia Segetum</i>	62
IV.3.1. Analyse chromatographique	62
IV.3.1.1. Chromatographie sur couche mince	62
IV.3.1.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	63
IV.3.2. Activité antioxydante (test DPPH)	71
Conclusion Générale.....	74
Références Bibliographiques	77

Introduction Générale

Introduction Générale

Les végétaux ont toujours été employés par l'homme pour se soigner. Dans le monde, près de 80% de la population a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité.

[1]

De par leurs effets thérapeutiques, les principes actifs des végétaux : alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, huiles essentielles, quinones, saponosides, tannins, ... et vitamines constituent une source inépuisable de molécules doués de propriétés biologiques et pharmacologiques très diversifiées. [2]

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnue et répertorié, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne. [3,4]

La flore algérienne qui fait partie de la flore africaine, estimée à plus 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, est caractérisée par sa diversité florale: méditerranéenne, saharienne. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15 %) d'espèces endémiques. [5,6] C'est ce qui nous a encouragés à entreprendre ce l'étude phytochimique du *Ridolfia segetum* afin de rechercher des molécules potentiellement actives.

Notre étude a pour objet de mettre en évidence, en premier lieu, l'extraction, l'isolement et l'identification de leurs métabolites secondaires de la graine de la *Ridolfia segetum*, pour ensuite les analyser par les méthodes chromatographiques. Dans un deuxième lieu, l'activité biologique de l'extrait méthanolique de la graine de la *Ridolfia segetum*.

Notre travail, comporte quatre (4) chapitres :

- ❖ Le premier chapitre est consacré synthèse bibliographique des métabolites secondaires.
- ❖ Le deuxième chapitre est parlé de la présentation botanique de la *Ridolfia segetum* appartient à la famille des Apiacées.
- ❖ Le troisième chapitre concerne la partie expérimentale, qui comporte deux parties, l'un sur l'étude phytochimique et l'extraction de quelques principes actifs *Ridolfia segetum*; le deuxième partie sur l'analyse cette principes actifs.
- ❖ Le quatrième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une discussion.

Enfin, une conclusion générale résumer l'ensemble des résultats du travail fourni.

Première Partie
Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Métabolites secondaires

I.1 Généralité

I.1.1 Les métabolites (ou produits naturels des plantes) :

Les métabolites sont les produits intermédiaires des réactions métaboliques catalysées par les enzymes variées qui se produisent naturellement dans des cellules. Ce terme est habituellement employé pour décrire des petites molécules. [7]

Chez les plantes, il existe deux grandes classes des métabolites :

I.1.1.1 Métabolites primaires :

Des métabolites primaires sont synthétisés par la cellule parce qu'elles sont indispensables pour leur accroissement. Les préposés du service significatifs sont des acides aminés, des alcools, des vitamines (B2 et B12), des polyols, des acides organiques, ainsi que des nucléotides (par exemple inosine-5'-monophosphate et guanosine-5'-monophosphate). [8,9]

I.1.1.2 Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des composés produits par un organisme qui ne sont pas exigés pour des procédés métaboliques primaires, bien qu'elles puissent avoir fonctionnements écologiques et autres importants. Elles comprennent des médicaments, des parfums, la saveur, la teinture, des pigments, des pesticides et des additifs alimentaires avec des applications en agriculture, industrie et pharmaceutiques. [8,9]

I.1.2 Interrelation entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire :

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (glucides, lipides et protéines) qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal. [10,11]

Ces substances, issues de métabolites primaires (figure n°1), interviennent dans la structure des plantes mais également, elles exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. [11,12]

Ils participent ainsi, d'une manière très efficace, dans la tolérance des végétaux à des stress variés, par action anti herbivore, inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes, défense contre la sécheresse et lumière UV. [13]

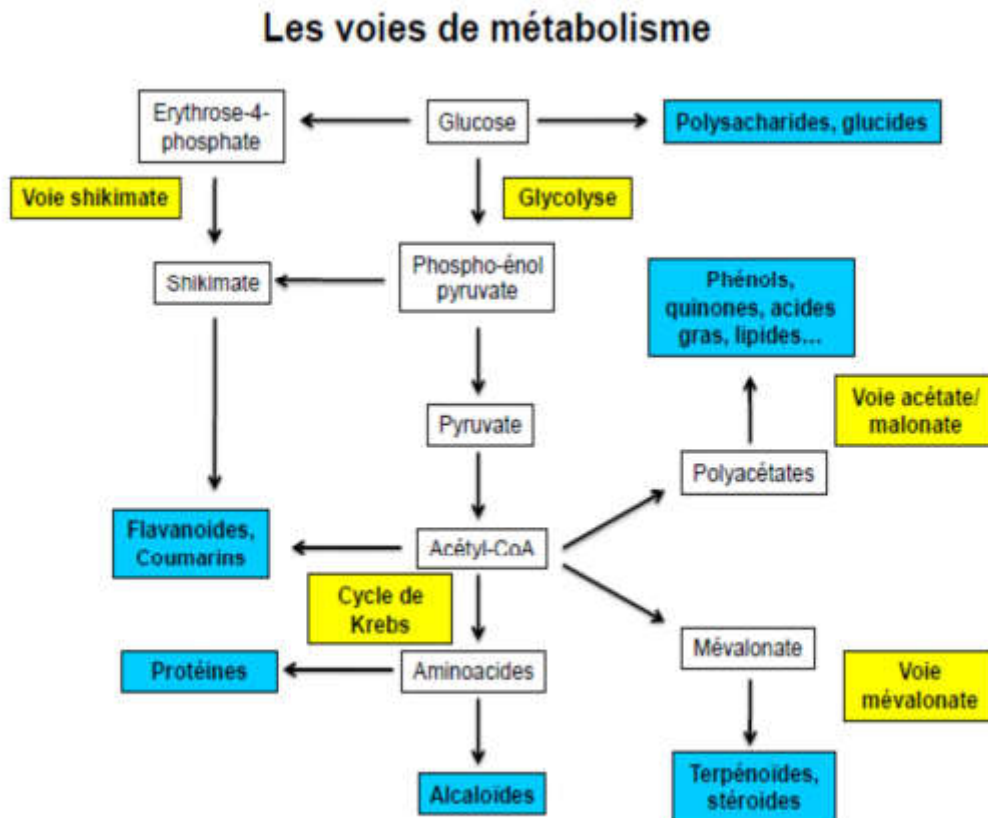


Figure n° 01: Interrelation entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires
■ *Métabolites I et II* ; ■ *Les voies métaboliques.*

I.2. Présentation générales des métabolites secondaire :

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, dont plus de 200000 molécules ont été identifiées. Classés selon leur appartenance chimique en composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes. [14,15]

I.2.1. Définition les métabolites secondaires :

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides,protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...) qui sont répartis de manière diversifiée chez les végétaux. [16]

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits. [17]

I.2.2. Biosynthèse des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires résultent généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mevalonate et du pyruvate. [18]

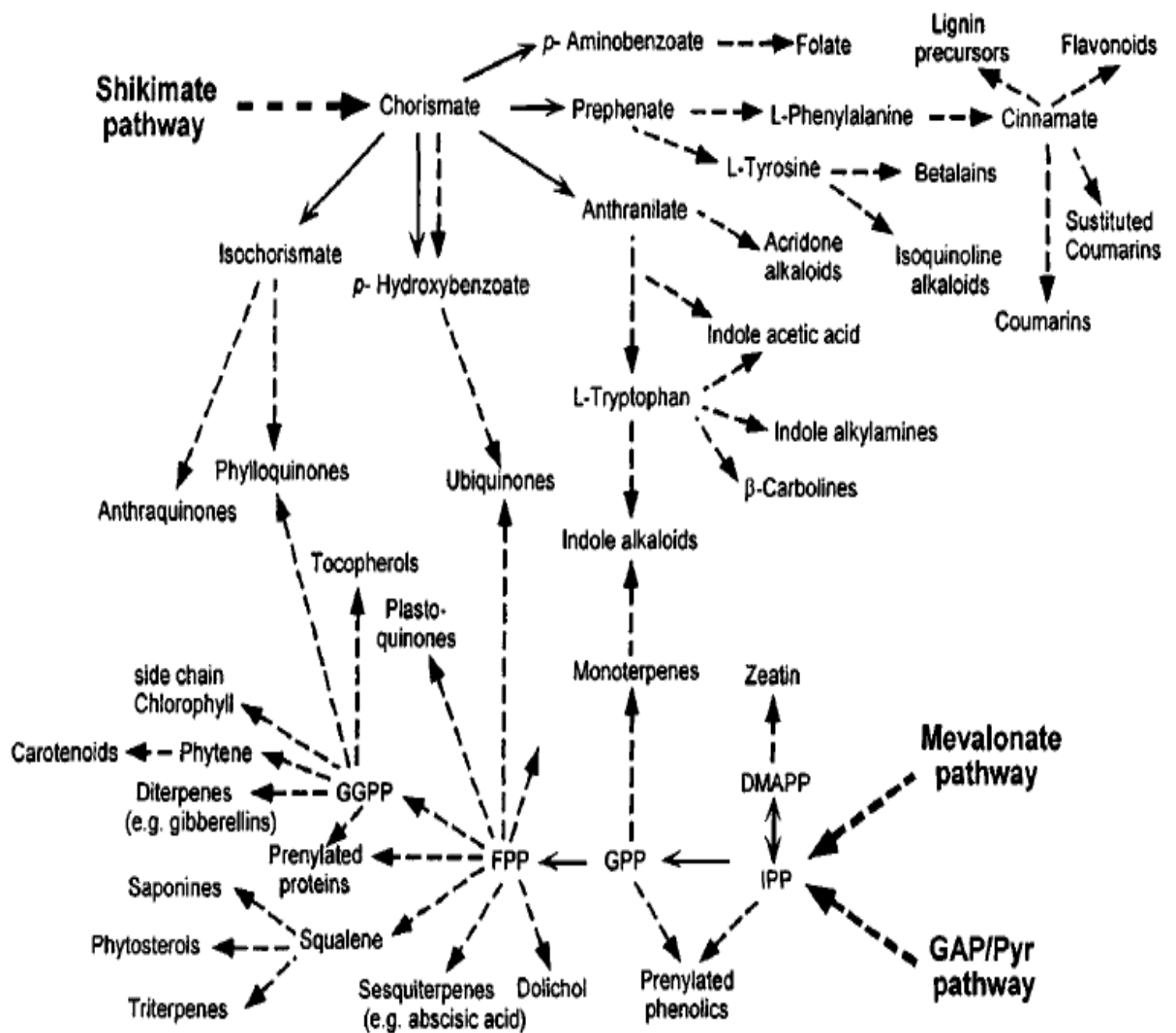


Figure n° 02: Biosynthèse des métabolites secondaire. [18]

I.2.3. Classification des métabolites secondaires :

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. [19,20]

I.2.3.1. Les composés phénoliques :

I.2.3.1.1. Définition les composés phénoliques:

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol C_6H_5OH qui est un monohydroxybenzène. [21] Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage. Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins). [22]

Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes. [23] Plusieurs classes de composés polyphénoliques sont définies selon le squelette de base (tableau n°1).

Tableau n°01: Les différentes classes des composés phénoliques. [24]

Squelette carbonée	Classes de composés phénoliques
C_6	Phénols simples et benzoquinones
C_6-C_1	Acides phénoliques
C_6-C_2	Acétophénones et les acides phenylacétiques
C_6-C_3	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C_6-C_4	Naphthoquinones
$C_6-C_1-C_6$	Xanthones
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes et anthraquinones
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
$(C_6-C_1)_2$	Tannins hydrolysables
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes et néolignanes
$(C_6-C_3-C_6)_2$	Biflavonoïdes
$(C_6-C_3)_n$	Lignines
$(C_6)_n$	Catéchols
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tannins condensés

I.2.3.1.2. Structure chimique des polyphénols :

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques. L'élément fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique (aromatique), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (figure n°3), libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside [25]. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 dalton, comme les tanins [26].

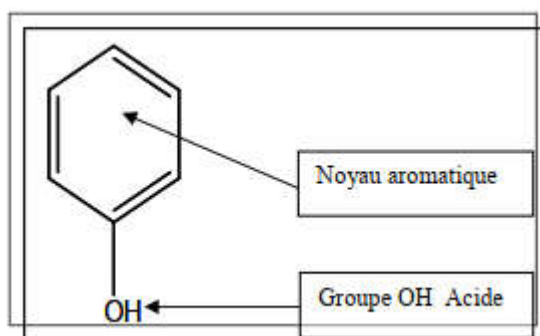


Figure n° 03 : Squelette de base des polyphénols.

I.2.3.1.3. Localisation des composés phénoliques:

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). [27] Ils sont présents aussi dans diverses substances naturelles: dans les fruits rouges, le raisin, etc. [26] Parmi les composés phénoliques, dont 8000 sont connus : les flavonoïdes, les quinones phénoliques, lignanes, les xanthones, les coumarines et d'autres classes existent en nombre considérable. [25]

I.2.3.1.4. Classification des polyphénols:

Une classification de ces substances a été proposée par HARBORNE en 1980. On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base. Deux principales classes sont largement répandues [28] :

I.a. Polyphénols monomériques:

a.1. Acides phénoliques :

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique [29] :

a.1.1. Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C₆-C₁) :

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides. [29-32] Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais. [33] Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque les plus répandus sont illustrés dans la figure suivante :

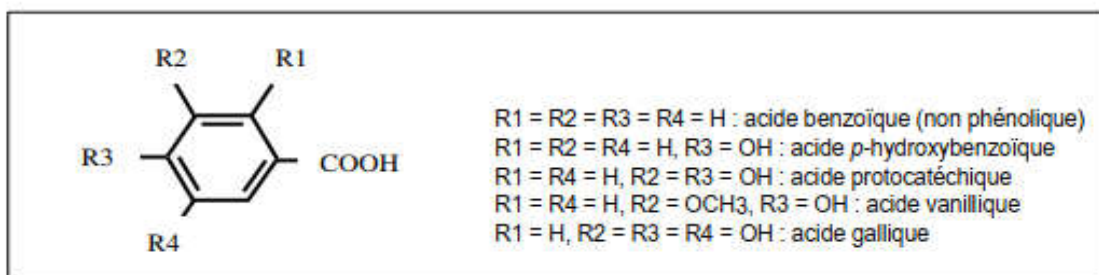


Figure n° 04: Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques. [29]

a.1.2. Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C₆-C₃) :

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés [32] et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, Oarylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique. [29]

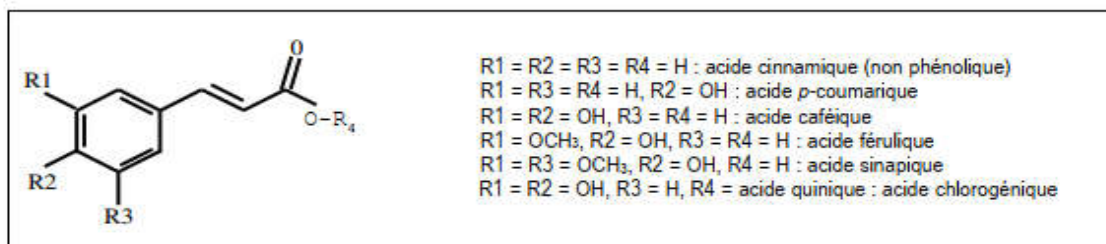


Figure n°05 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques.[34-35]

L'acide caféique est le principal représentant de cette catégorie. Il est présent dans de nombreux végétaux (graine de café, tomate, olive, pomme), en particulier dans les fruits. Il représente 75 à 100% de la teneur totale en acides hydroxycinnamiques de la majorité des fruits, principalement sous forme d'ester de l'acide quinique (acide chlorogénique). [33] L'acide chlorogénique est présent en très forte concentration dans la pomme (430 mg/kg) [36] et dans le café, une seule tasse peut en contenir de 70 à 350 mg. [33]

a.2. Flavonoïdes :

a.2.1. Définition les flavonoïdes :

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. [37] Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. [38]

a.2.2. Structure des flavonoïdes :

Structuralement les flavonoïdes ont un squelette de base commun constitué de 15 atomes de carbone assemblés en trois cycles nommés A, C et B. Selon la structure du cycle intermédiaire (cycle C). [39]

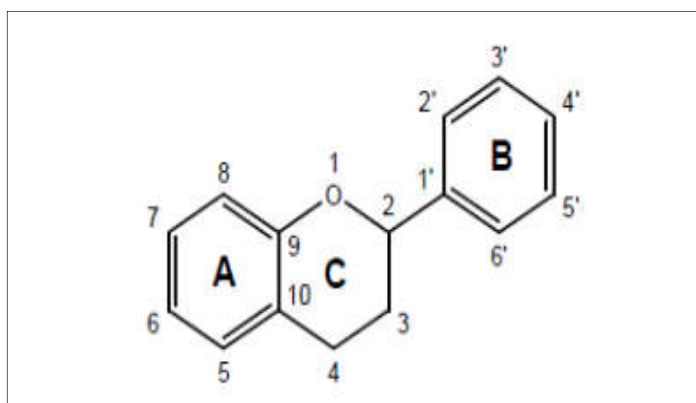


Figure n° 06: Structure de flavonoïde. [40]

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont:

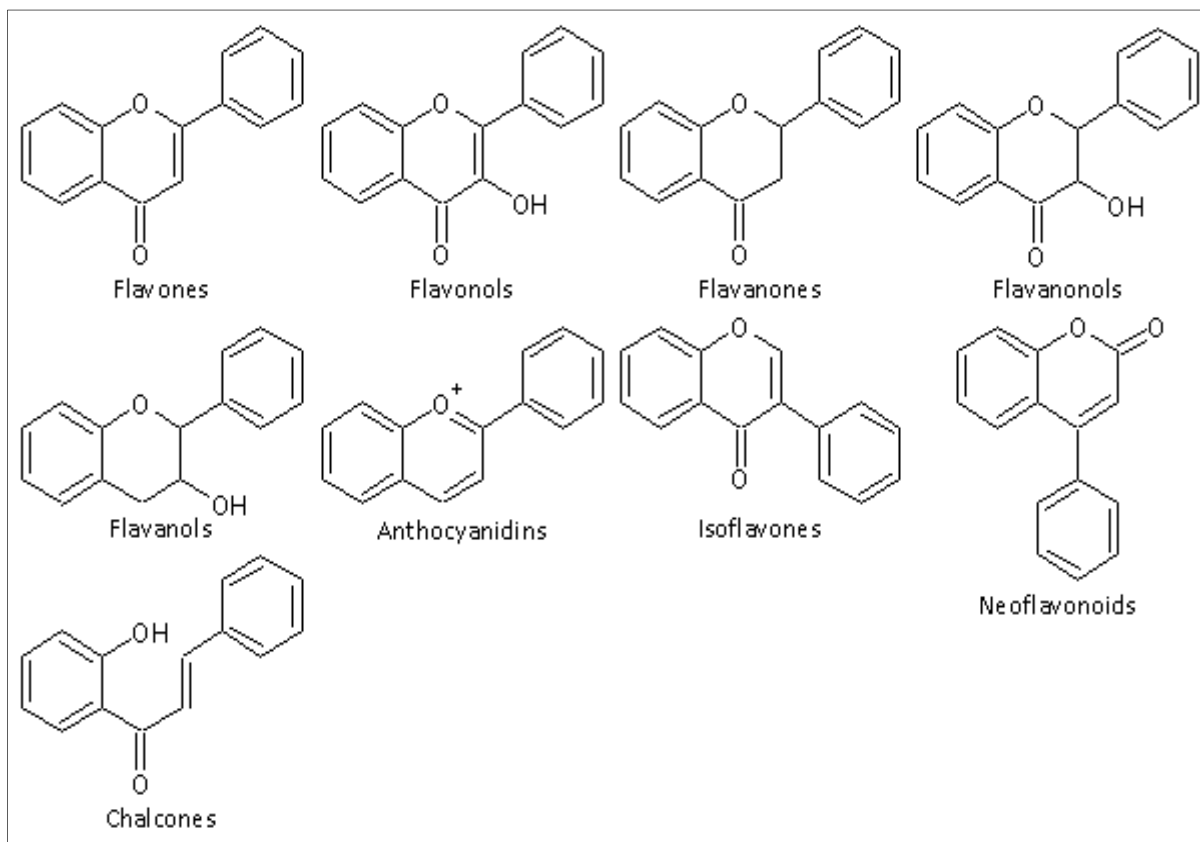


Figure n°07: Quelques structures de base des flavonoïdes. [39]

a.2.3. Propriétés pharmacologiques des flavonoïdes :

- ✓ L'activité la plus remarquable c'est qu'ils sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyde par transfert d'hydrogène ou par la chélation des ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives. Autres études aussi ont montré que les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la lipooxygénase.
- ✓ Des études ont montré que certains flavonoïdes comme : quercétine, myricétine, l'apigénine et la chrysin ont des effets anti-inflammatoires par l'action inhibitrice des enzymes responsables du métabolisme de l'acide arachidonique.
- ✓ Les flavonoïdes préviennent le diabète en inhibant l'aldose réductase.
- ✓ La réduction du risque des maladies cardiovasculaires en entravant l'athérosclérose.

✓ On attribue aux flavonoïdes d'autres propriétés: veinotonique, anti tumorale, analgésique, antispasmodique, antibactérienne, hépato-protectrice, etc. [41]

I.b. Polyphénols sous forme de polymères :

b.1. Tanins :

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leurs structures chimiques sont en effet variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes. [42]

De ce fait, toute classification chimique des tanins est forcément arbitraire. Cependant, on se réfère souvent à une distinction entre tanins hydrolysables et tanins condensés.

b.1.1. Tanins hydrolysables :

Ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifiée par l'acide gallique ou un de ses dérivés (acide ellagique, chébulique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique. [42]

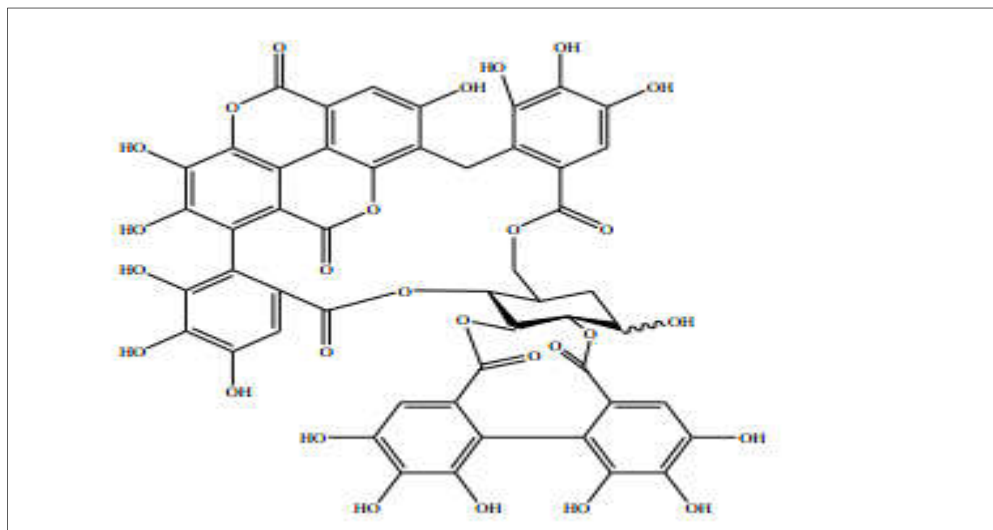


Figure n°08: Exemple des tanins hydrolysables.

b.1.2. Tanins condensés:

Ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines). Ils sont aussi désignés aussi sous le nom de « tanins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides. [42]

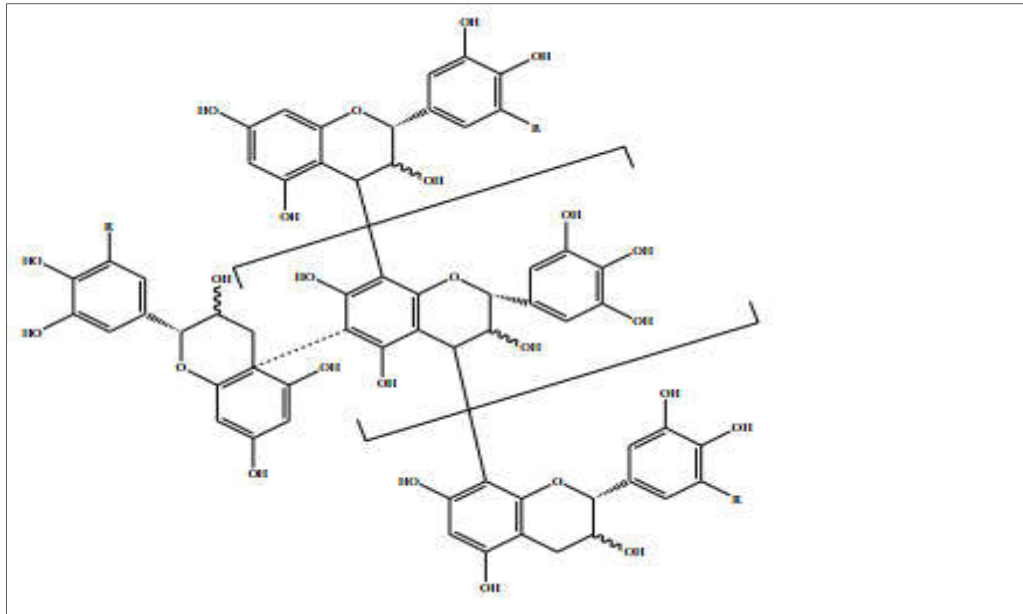


Figure n°09: Exemple des tanins condensés. [42]

b.2. Lignines :

C'est l'un des polymères biosources les plus abondants sur Terre, elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20% des tiges des plantes annuelles. C'est également le polymère aromatique naturel le plus abondant. [43] Subissant les contraintes de la gravité, la lignine est apparue afin notamment de rigidifier les parois cellulaires. [44] Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure. [45]

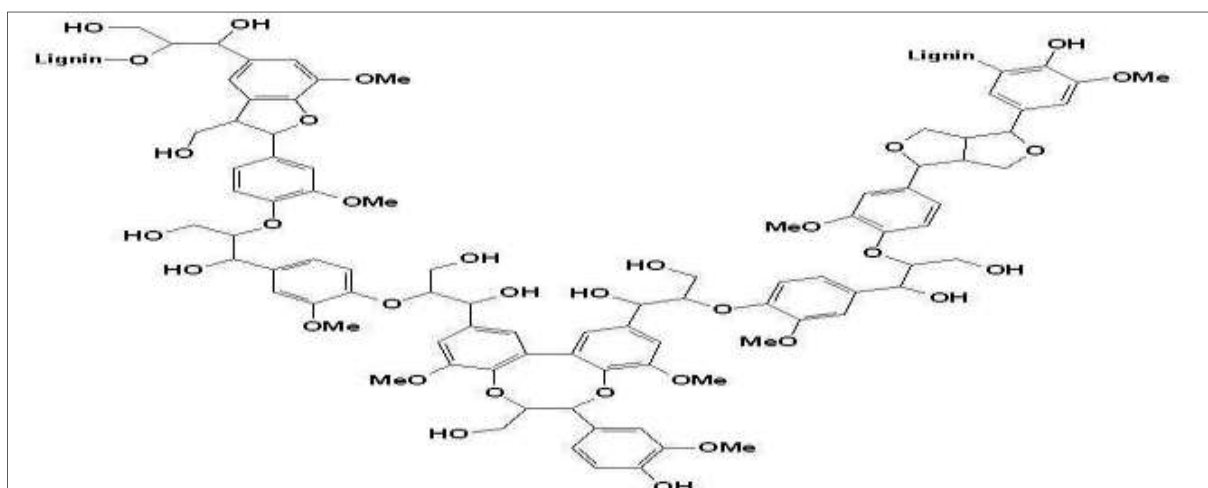


Figure n° 10 : Structures chimiques de lignine. [46]

I.c. Coumarines, Stilbènes (les plus rares)

c.1. Coumarines C₆-C₃ :

c.1.1. Définition les coumarines:

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae), dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1982 (Bruneton, 1993). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone. [47] Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines. [48-50]

c.1.2. Structure des coumarines:

Le squelette de la base des coumarines est constitué de deux cycles accolés de types (C₆-C₃) avec neuf atomes de carbones. [51]

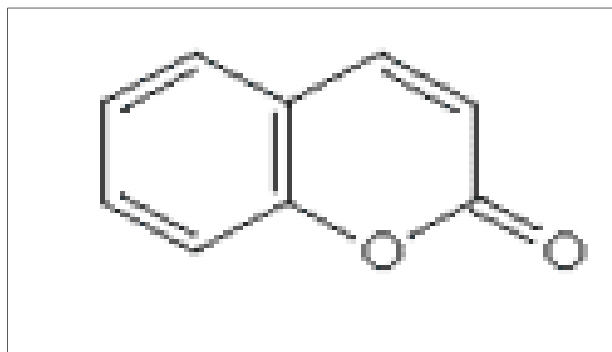


Figure n° 11 : Structure chimique coumarine.

c.2. Stilbènes $C_6-C_2-C_6$:

Les stilbènes (figure n°12) sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison. Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes oxydase et les peroxydases.

[52]

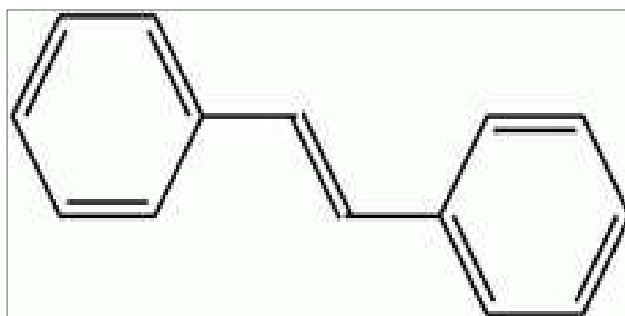


Figure n°12 : Structure chimique de stilbène.

I.2.3.1.5. Intérêts thérapeutiques des polyphénols :

La principale caractéristique des polyphénols est qu'ils sont des agents antioxydants très puissants. [53-55]

En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Ce principe a été utilisé dans la fabrication de plusieurs médicaments, comme le Daflon produit à base de diosmine.

Cette même activité antioxydante permet aux polyphénols de réguler les radicaux bonmauvais (qui peuvent être les deux), comme l'oxyde nitrique qui favorise une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules de ce dernier. [56]

En raison de ces vertus, les composés phénoliques sont largement utilisés dans les domaines thérapeutiques et pharmaceutiques. Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer les suivants :

I.2.3.1.5.1. Activité anticancéreuse:

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Des cellules impliquées, comme les hépatocytes, synthétisent des enzymes dites de phase I (notamment des monooxygénases, telle que les cytochromes P-450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant le substrat des enzymes de phase II (glucoronyl transférases, sulfotransférases...). Ces dernières convertissent leurs substrats en espèces hydrolysables facilement excrétées hors des cellules. Les enzymes de phase I et II agissent également dans la muqueuse intestinale. Elles sont synthétisées sous l'action des substances polyphénoliques trouvées dans les légumes, et aussi sous l'action des isothiocyanates (dérivés des glucosinolates). [57]

I.2.3.1.5.2. Prévention contre les maladies cardiovasculaires :

Consommation des polyphénols favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaire. [58]

Au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité évitant ainsi l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguins et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués). [59]

Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose, qui induit l'occlusion des artères. Ainsi en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques d'infarctus du myocarde. [60]

I.2.3.1.5.3. Prévention contre les maladies hormono-dépendantes :

L'exemple le plus important est la prévention contre l'ostéoporose. Ceci en modulant la réponse aux oestrogènes endogènes. Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones du soja ont une affinité remarquable pour les récepteurs d'oestrogènes et sont qualifiés pour cela de phytoestrogènes.

Les fruits et légumes contenant aussi des polyphénols, tels que la quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée, possèdent également des propriétés pseudo-

oestrogéniques inhibant la perte osseuse chez la rate ovariectomisée. Mais, de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme. [61]

Aussi, les effets bénéfiques des polyphénols (lignanes en particulier) dans la prévention de cancers hormono-dépendants ont été largement documentés ces dernières années par des études épidémiologiques identifiant une relation entre la présence de lignanes dans la ration alimentaire et le taux d'incidence de certains cancers. [62]

I.2.3.1.5.4. Action gastro-protectrice des polyphénols:

Les polyphénols, dont principalement les flavonoïdes et les acides phénoliques comme l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide é gallique ; sont capables de réduire la surface des lésions gastriques produites par l'andométhacine chez les rates. L'acutissimine B et phillyraeoïdine A isolées et purifiées à partir de *Quercus suber* et *Quercus coccifera* ont aussi confirmé l'action gastroprotectrice attribuée aux polyphénols. De même, ces derniers montrent une activité antibactérienne très importante contre *Helicobacter pylori*, responsable de l'ulcère de l'estomac et du duodénum. [63,64]

I.2.3.2. Les terpénoïdes (appelés aussi terpènes) :

I.2.3.2.1. Définition les terpènes:

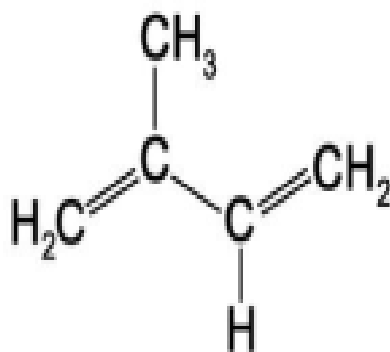
Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représenté et d'un intérêt chimique considérable, très diversifiés. Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Extraites ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Ils ont un caractère commun, formés d'unités isopréniques (C_5H_8). Ils sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques (C_5H_8) n. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des anneaux. De ce fait une classification rationnelle, basée sur ce nombre qu'ils renferment, est possible [65-66] tableau n°2 :

Tableau n°02: Classification des triterpènes. [65,66]

Monoterpènes	C ₁₀
Sesquiterpènes	C ₁₅
Diterpènes	C ₂₀
Sesterpènes	C ₂₅
Triterpènes et Stéroïdes	C ₃₀
Tetraterpènes	C ₄₀
Polyterpènes	(C ₁₀) _n avec n>8

I.2.3.2.2. Structure chimique des terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique, soit à chaîne ouverte: leur formule brute est (C₅H_x)_n dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et ne peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C₅H₈. Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.). [67,68]

**Figure n°13 :** Structure de l'unité isoprène

I.2.3.2.3. Biosynthèse des terpènes :

Les terpènes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isopréniques. [69]

L'isopentényl- diphosphate (IPP) et le diméthylallyldiphosphate (DMAPP), équivalents biologiques de l'isoprène, sont les précurseurs communs de tous les isoprénoides et peuvent s'isomériser grâce à une enzyme l'IPP isomérase, [70] chez les plantes supérieures, les isoprénoides sont synthétisés par deux voies biochimiques indépendantes, voie de mévalonate et la voie desoxyxylulose-5- phosphate. [71]

I.2.3.2.3.1. Voie de mévalonate :

Se fait dans le cytosol et le reticulum endoplasmique, la plus anciennement connue, utilise l'acétyl-CoA comme point de départ, tout comme la biosynthèse des acides gras. [71]

I.2.3.2.3.2. Voie desoxyxylulose-5- phosphate :

La voie de desoxyxylulose-5- phosphate (DXP) qui fut découverte chez les organismes procaryotes, puis généralisée selon les dernières recherches aux chloroplastes des plantes supérieures donne naissance aux précurseurs d'isoprènes, monoterpènes, diterpènes et tétraterpènes et ce à partir des produits issus directement de la photosynthèse; la pyruvate et glycéraldéhyd 3-phosphate. [72]

I.2.3.2.4. Classification les terpènes :

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes ou monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les triterpènes C₃₀, et les tétraterpènes C₄₀. [73]

I.2.3.2.4.1. Les monoterpènes :

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90% des huiles essentielles sont des monoterpènes). [74]

Ils comportent dix (10) atomes de carbones et sont issus de la condensation de deux unités isoprène, selon le mode de couplage «tête-queue». Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes linéaires

(acycliques), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques) et tricyclique. [75,76]

I.2.3.2.4.2. Sesquiterpènes :

Les sesquiterpènes sont des molécules à 15 atomes de carbone constituées de trois unités isopréniques et dérivant du Farnésyl diphosphate (FPP); [77] il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple: β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α -bisabolol, farnesol.

I.2.3.2.4.3. Diterpènes :

Les diterpènes sont formés de quatre unités isoprènes ($C_{20}H_{32}$), [78] il comprend les gibbérellines (phytohormones du développement impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux tels que la germination. [79]

I.2.3.2.4.4. Triterpénoïdes et stéroïdes :

Les triterpènes sont des composés en C_{30} issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du scalène. [80] Les stéroïdes sont dérivés de triterpènes tétracycliques et possèdent un squelette cyclopentaperhydro phénanthrène. Beaucoup de stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiens. [81]

I.2.3.2.4.5. Tetraterpènes :

Les Tetraterpènes contiennent une longue chaîne de 40 atomes de carbones, à doubles liaisons conjuguées de configuration « trans » dont les extrémités sont des chaînes ouvertes ou des cycles. Les tetraterpènes les mieux connus sont les caroténoïdes. Ces derniers représentent un large groupe de pigments naturels de couleurs jaune, orange et rouge. [74]

I.2.3.3. Les alcaloïdes :

I.2.3.3.1. Définition les alcaloïdes :

En général, ces composés possèdent au moins un atome d'azote **hétérocyclique**. Actuellement, la structure chimique d'environ 16 000 alcaloïdes est connue. Environ 20 % des espèces de plantes produisent des alcaloïdes. Ils ont une nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. La médecine les emploie le plus souvent à l'état pur et leur véritable valeur ne s'affirme qu'entre les mains du médecin car ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif. Les plantes les utilisent pour la

plupart d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes car ces composés sont toxiques. [82]

I.2.3.3.2. Fonctions et propriétés :

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes. [83] Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau; ils sont solubles dans l'alcool plus à chaud qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque. [84]

I.2.3.3.3. Classification les alcaloïdes :

Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes :

- **des phénylalanines** : capsaïcine du piment, colchicine du colchique.
- **des alcaloïdes isoquinoléiques** : morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales. [85]
- **des alcaloïdes quinoléiques** : tige feuillée de la rue commune.
- **des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques** : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë.
- **des alcaloïdes dérivés du tropane** : scopolamine et atropine de la belladone.
- **des alcaloïdes stéroïdes** : racine de vétrate, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple. [85]

Les principaux cycles azotés des alcaloïdes sont de type (figure n° 14): Indole (a), Quinoline (b), Isoquinoline (c), Tropane (d), Pyridine (e), quinolizidine (f), la morphine (g) et solanidine (h) (stéroïde). [86]

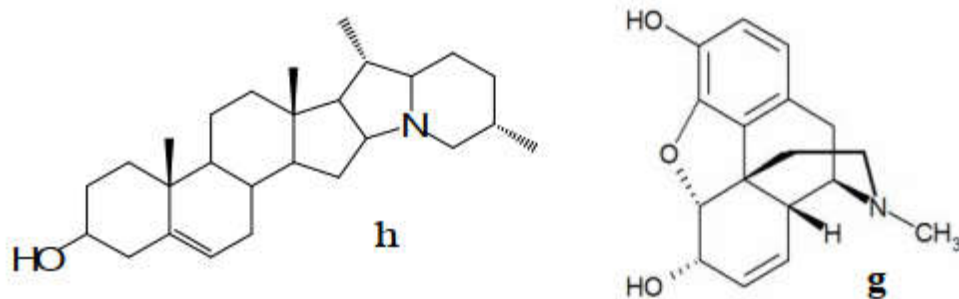
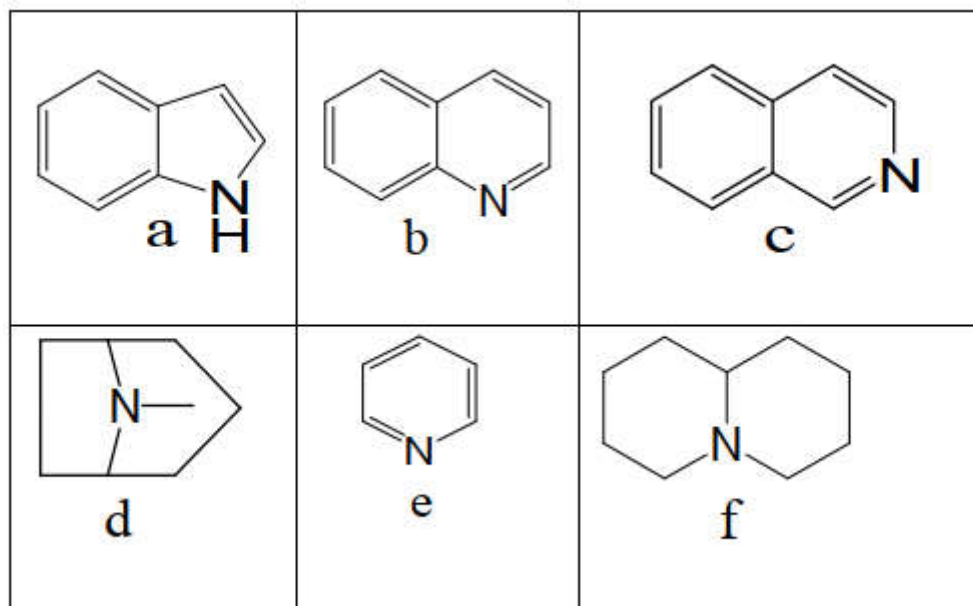


Figure n° 14: Les principaux cycles azotés des alcaloïdes. [85]

Indole (a), Quinoline (b), Isoquinoline (c), Tropane (d), Pyridine (e), quinolizidine (f), la morphine (g) et solanidine (h) (stéroïde).

I.2.3.3.4. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques:

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, chez l'homme ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques. [87,88]:

-
- Les alcaloïdes présentent fréquemment de propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuses utilisations en thérapeutique, notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire. [89]
 - On notera aussi l'existence d'anti-tumoraux, d'anti-parasitaires, de curarisants, les alcaloïdes sont utilisés comme anti-cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson). [90]

Ces nombreuses activités conduisent à une utilisation importante des drogues à alcaloïdes, soit sous forme de préparation galéniques, soit le plus souvent, pour l'extraction des alcaloïdes qu'elles renferment, ces alcaloïdes étant utilisés eux mêmes ou servant de matière première d'hémi-synthèse. [89]

Chapitre II

Présentation botanique

II.1 Prestation générale de la plante étudiée :

Ridolfia segetum appartient à la famille des Apiacées. Cette famille, très abondante dans le monde et riche en huiles essentielles, comprend plus de 3000 espèces avec 55 genres représentés en Algérie. L'identification botanique a été établie à partir d'un échantillon de plante au niveau de leurs fleurs. [91]

II.2 La famille des Apiacées :

La famille des Apiacées (anciennement nommées «Ombellifères») regroupe les plantes qui ont une inflorescence en forme d'ombelle. Le pédicelle (branche individuelle d'une seule fleur) rayonne depuis un point commun de la tige. Cette famille compte plus de 3000 espèces réparties en 420 genres. Principalement herbacées, beaucoup sont huileuses ou aromatiques, quelques-unes sont toxiques. La famille des Apiacées est généralement divisée en deux catégories [92] :

- celle des plantes cultivées pour leur racine.
- celle des plantes cultivées pour leur feuillage.

II.3 Étude l'espèce *Ridolfia segetum* :

II.3.1 Place dans la systématique :

Tableau n°03 : Classification et systématique de *Ridolfia segetum*. [93]

Sous embranchement	Angiospermes
Genre	<i>Ridolfia</i>
Groupe / Espèce	<i>segetum</i>
Famille	Apiaceae
Ordre	Apiales
Classification	Dicotylédones

II .3.2 Description botanique de *Ridolfia segetum* :

C'est une plante annuelle de 40-80 cm, glabre, glaucescente, à racine grêle, pivotante. Tige grêle, finement striée, à rameaux ascendants. Fleurs jaunes, en ombelles à 10-40 rayons grêles, presque égaux (figure n°15), on peut le trouver sous les noms communs dans d'autres pays saat- ridolfie; ridolfia des moissons ; aneto puzzolente ; andragem ; false fennel. C'est une plante endémique dans la région méditerranéenne de l'Europe, de l'Asie, de l'Afrique. [94]



Figure n°15: Photo de la plante *Ridolfia Segetum*.

Ses fruits gris brun, petits de longueur inférieure à 1 mm, sont des diakènes côtelés de forme ovoïde. Ses graines petites, ovales, striées, courbes et grisvert ressemblent aux graines du carvi et du cumin. [95]



Remma et Bouabdelli. 2019

Figure n° 16 : Graines de *Ridolfia segetum* photo originale.

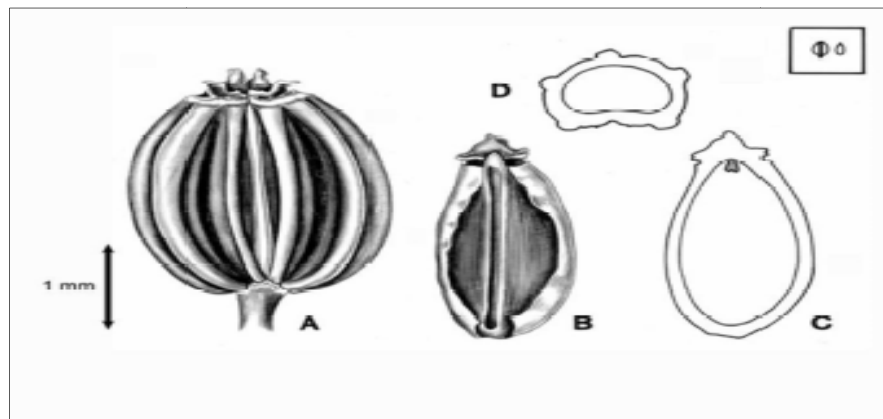


Figure n°17: Structure des graines de *Ridolfia segetum*.

II .3.3 Répartition géographique :

La plante *Ridolfia segetum* est une plante spontanée qui pousse en région méditerranéenne dans les champs et les lieux vagues. [96]

II .3.4 Présentation de la région d'étude :

Commune d'Boukais : la plante *Ridolfia segetum* étudiée provient de la région d'Boukais (oasis vers les frontières marocaines) à 50 km Nord Ouest de la ville d'Bechar (figure n°18). Elle a été achetée chez un Herboriste à Bechar.



Figure n°18: Localisation de la région d'étude.

II .3.5 Synonymes végétaux :

La plante *Ridolfia segetum* possède plusieurs noms qui sont : « persil de maïs », « Fenouil faux », Ridolfie des moissons, Aneth des moissons ou « carvi faux », false karwia, False Fennel, Moutar, Beubsa. Son nom populaire est Karwiya el amya ou aoura. [97]

II .3.6 Utilisation :

Les graines de *Ridolfia segetum* ont une odeur forte. Elles sont employées comme aromates dans l'industrie de conserves au vinaigre. Elle est également employée à des fins médicamenteuses dans les pays du bassin méditerranéen. Elle permet de réguler les périodes menstruelles des femmes, et augmente l'écoulement du lait. Aussi, elle empêche la constipation, les gaz, les infections respiratoires.... et les toux. [97]

Deuxième Partie

Partie Pratique

Chapitre III

Matériel et Méthodes

III .1. Matériels :

III.1.1. Matériels de laboratoire :

Balance de précision, Agitateur, Papier filtre, Plaque chauffante, Tube à essai, Eprouvettes, Entonnoir, Rotavapor de type Heidolph, Bécher, Erlenmeyer, spectromètre FTIR-600, Spectrophotométrie, Appareil chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

III.1.2. Matériel végétal :

Les grains de la plante *Ridolfia segetum* a été achetée durant le mois octobre 2018 à la ville de Bechar Nord Ouest Algérie. Le séchage de cette plante à été effectué dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires presque de 48 heures, puis le broyage, la conservation de la plante séchée dans une bouteille de verre.



Remma et Bouabdelli. 2019

Figure n°19: Graines sèches de *Ridolfia segetum* photo originale.

III .2. Méthodes :

III.2.1. Préparation de l'extrait primaire:

Peser 20 g du matériel végétal et on mettre dans b cher de 500 ml avec 160 ml d'éthanol et 40 ml eau distillée, et laisser macérer pendant 24 heures à température ambiante, puis filtré l'extrait (extrait hydroalcoolique).

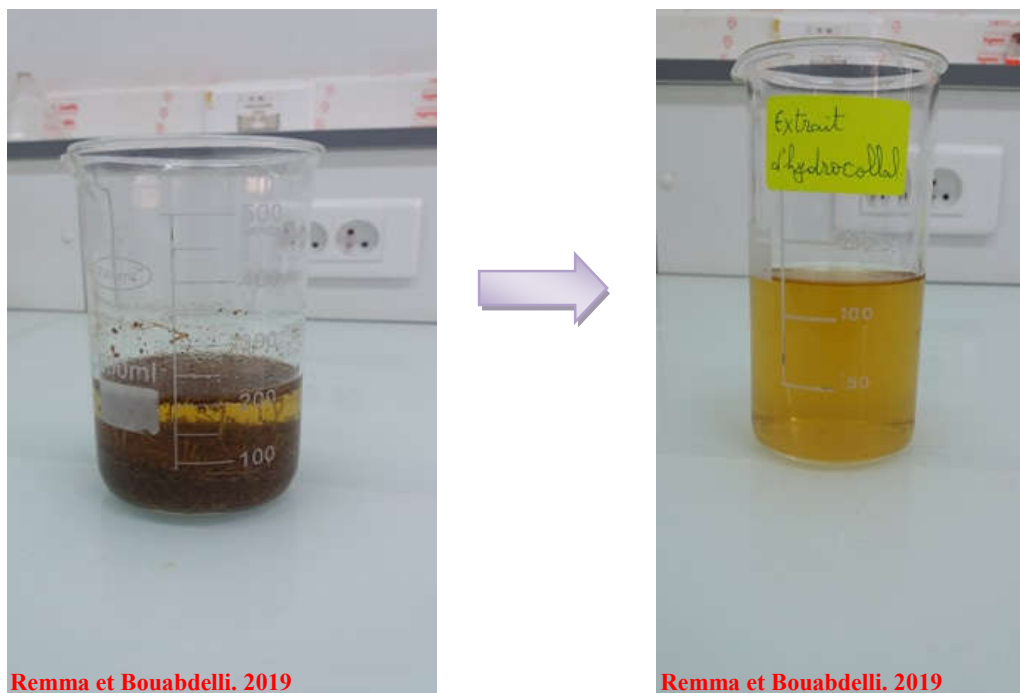


Figure n 20 : Préparation d'extrait hydroalcoolique photo originale.

- L'extrait aqueux obtenu après filtration de la solution a été soumis aux tests suivants :

III.2.2. Les tests phytochimiques :

Le matériel végétal pulvérisé est  puis  par macération dans des solvants suivante ( thanol et eau distillée) et soumise à un criblage phytochimique qualitatif pour l'identification de divers constituants chimiques en utilisant la méthode décrite par Trease et Evans (1987), Harbone (1973) et Sofowora (1993). [98-100]

Les tests phytochimiques basés sur des réactions de coloration et de précipitation pour détecter la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques.

III.2.2.1. Les Tanins :

- **La préparation solution de chlorure de fer FeCl_3 : 5%** Signifie 5 g de FeCl_3 fondre dans 100 ml d'eau distillée.

- On met 2 ml de l'extrait hydroalcoolique avec 2 ml eau distillée chaude et ajoute 2 à 3 gouttes de solution FeCl_3 (5%). En présence de tanins, avec les sels ferrique (FeCl_3): **tanins galliques** donnent un précipité bleu noir et **tanins cathéchique** un précipité brun verdâtre. [98]

III.2.2.2. Les phlobatannins :

- Environ 2 ml de l'extrait hydroalcoolique ont été ajoutés à 2 ml d'HCl concentré et le mélange a été bouilli. Le dépôt d'un précipité rouge a été considéré comme une preuve de la présence de phlobatannins. [98]

III.2.2.3. Les Triterpènes :

- On met 2 ml de l'extrait hydroalcoolique avec 2ml d'acide acétique $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$, puis ajouter 2 à 3 gouttes d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 . Une couleur rouge foncé indique la présence des triterpènes. [98]

III.2.2.4. Les Stéroïdes :

- On met 2 ml de l'extrait hydroalcoolique avec 2ml de chloroforme, puis ajouter 2 ml d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 . On observe un anneau rouge-brunâtre, alors qu'en présence de stérols. [98]

III.2.2.5. Les saponines :

- Dans un bécher, on ajoute 5ml de l'extrait hydroalcoolique puis ajouter 5 ml d'eau H_2O et le mélange a été bouilli. La hauteur de la mousse indique la présence saponosides. [102]

III.2.2.6. Les Flavonoïdes :

- **La préparation de solution $Pb(OAc)_4$: 10%** Signifie 10g de $Pb(OAc)_4$ fondre dans 100 ml d'eau distillée.

➤ Pour détecter la présence les flavonoïdes nous avons utilisé deux méthodes :

III.2.2.6.1. 1^{er} Méthode :

- On mettre 1 ml de l'extrait aqueux avec 1ml de solution $Pb(OAc)_4$ (10%). L'apparition d'une coloration jaune indique la présence d'un flavonoïde. [98]

III.2.2.6.2. 2^{ème} Méthode :

- Dans un bécher, on ajoute 10 ml de l'extrait hydroalcoolique, évaporés jusqu'à séchage complet. Ajouter au résultat 1 à 2 ml de méthanol chaud puis quelques copeaux de magnésium (Mg) avec 4 à 5 gouttes d'alcool chlorhydrique concentré. Il se produit une réaction de précipitation pendant quelques minutes. L'apparition d'une coloration orangée ou rouge indique la présence d'un flavonoïde. [98]

III.2.2.7. Les Coumarines :

- **La préparation solution hydroxyde de sodium NaOH: 10%** Signifie 10g de NaOH fondre dans 100 ml d'eau distillée.

-Dans un éprouvette on mettre 2 ml de l'extrait hydroalcoolique, puis ajouter 3ml de solution hydroxyde de sodium NaOH (10%).L'apparence de la couleur jaune indique la présence de la coumarine. [98]

III.2.2.8. Les Alcaloïdes :

- Dans un bécher, on ajoute 50 ml de l'extrait hydroalcoolique est évaporé jusqu'à atteindre 5 ml, puis ajouter 8ml de HCl au résidu. Après refroidissement, on ajoute 2g de Na_2CO_3 . Filtrer le mélange puis ajouter 2 ml de HCl. Ensuite, 3 ml de filtrat a été traité avec le réactif de Dragendorff. La précipitation avec ce réactif a été considérée comme une preuve de la présence d'alcaloïdes. [98]

III.2.3. L'extraction des principes actifs :

Les principes actifs d'une plante sont des agents chimiques capables d'une activité. La présence de ces composants souvent en quantité extrêmement faible dans la plante impose des séparations, généralement, délicates. La décoction, l'infusion et la macération sont les méthodes de séparation les plus utilisées pour l'extraction globale des principes actifs et qui sont suivies par une série de séparation chromatographique pour atteindre une matière pure d'un principe actif. [101]

Dans notre étude, nous avons utilisé la méthode d'extraction macération. L'extraction est effectuée par à laisser séjourner la plante dans différents solvants de différentes polarités pendant plusieurs heures. Pour extraire certains principes actifs à partir de la plante *Ridolfia segetum*.

III.2.3.1. Préparation des extraits :

III.2.3.1.1. Préparation de l'extrait brut :

Dans un bécher de 700 ml, on ajoute 100g de la plante de *Ridolfia segetum*, séchée et broyée mise en contact avec 300 ml de éther de pétrole et laisser macérer pendant 24 heures à température ambiante, ensuite la filtration est réalisée sur papier filtre. On garde le filtrat et utilise le résidu par un autre solvant.

On ajoute la plante utilisée avec un mélange éthanol/ eau (7/3) (v/v) et laisser macérer pendant 24 heures à température ambiante. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. Ensuite la filtration est réalisée sur papier filtre et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapor de type Heidolph à une température de 45°C. L'extrait aqueux concentré obtenu est dilué avec de l'eau distillée tiède à raison de 60 ml et laisser pendant 24 heures. Après filtration, l'extrait aqueux dilué a été conservé à température ambiante jusqu'à l'utilisation.



Figure n°21: Montage d'extraction utilisé photo originale.

- Le processus d'extraction est résumé par l'organigramme suivant (figure n°22):

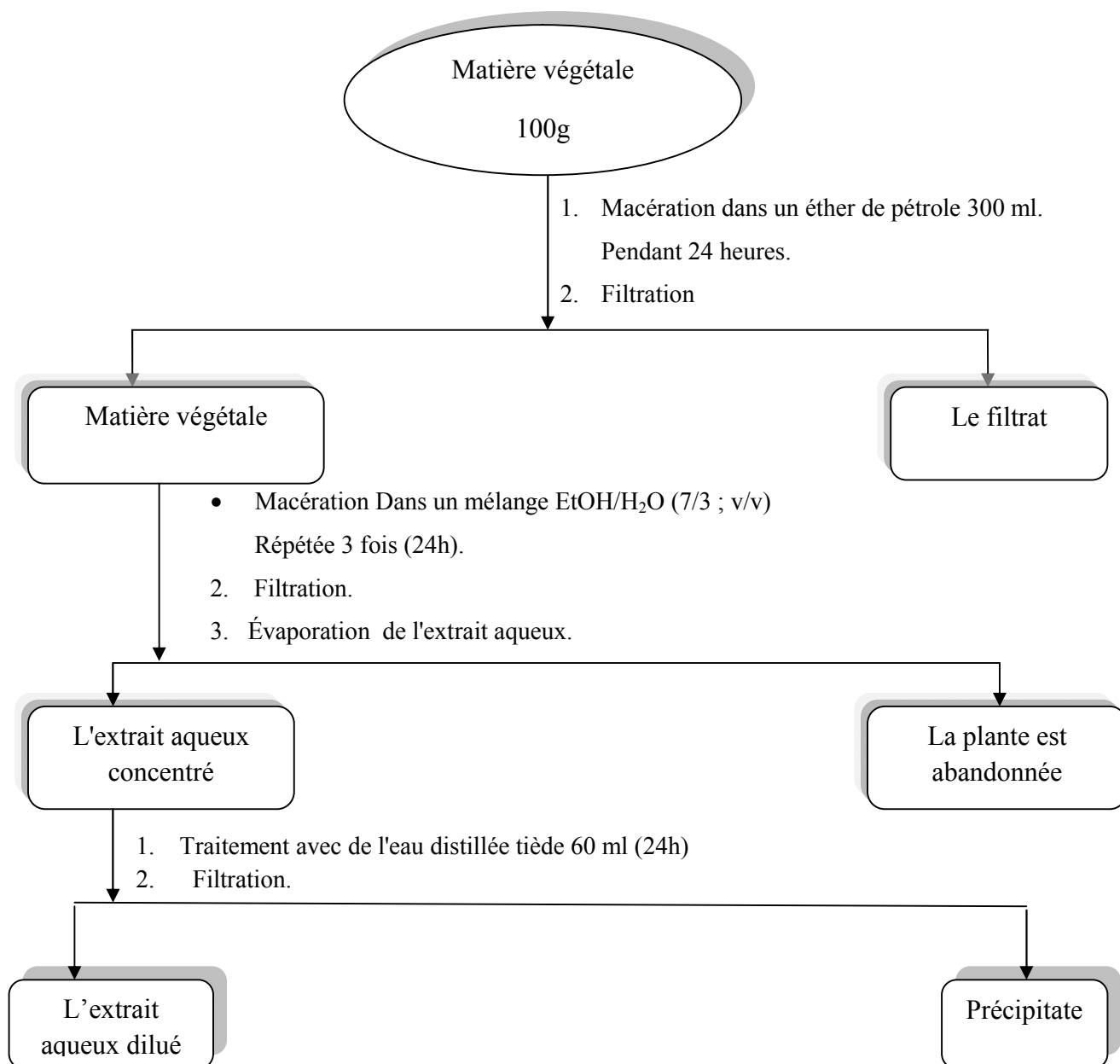


Figure n° 22: Récapitulatifs de l'extraction des parties aériennes de *Ridolfia segetum*. [102]

III.2.3.1.2. Préparation des extraits spécifiques :

Phase aqueuse obtenue précédemment (L'extrait aqueux dilué) subit une série d'extraction liquide-liquide en utilisant des solvants non miscibles à l'eau et de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole qui extrait les produits non polaires, dichlorométhane qui extrait les produits peu polaires, puis l'acétate d'éthyle qui extrait les produits moyennement polaires et en dernier le n-butanol qui entraîne les composés polaires et le reste l'extrait l'eau. Les phases organiques sont séchées par du sulfate de sodium anhydre pour éliminer toute trace d'eau, puis filtrées et enfin concentrées à sec par évaporation dans un rotavapor de type Heidolph et pesées.



Figure n°23: Montage d'extraction utilisé photo originale.

- Le processus d'extraction est résumé par l'organigramme suivant (figure n°24):

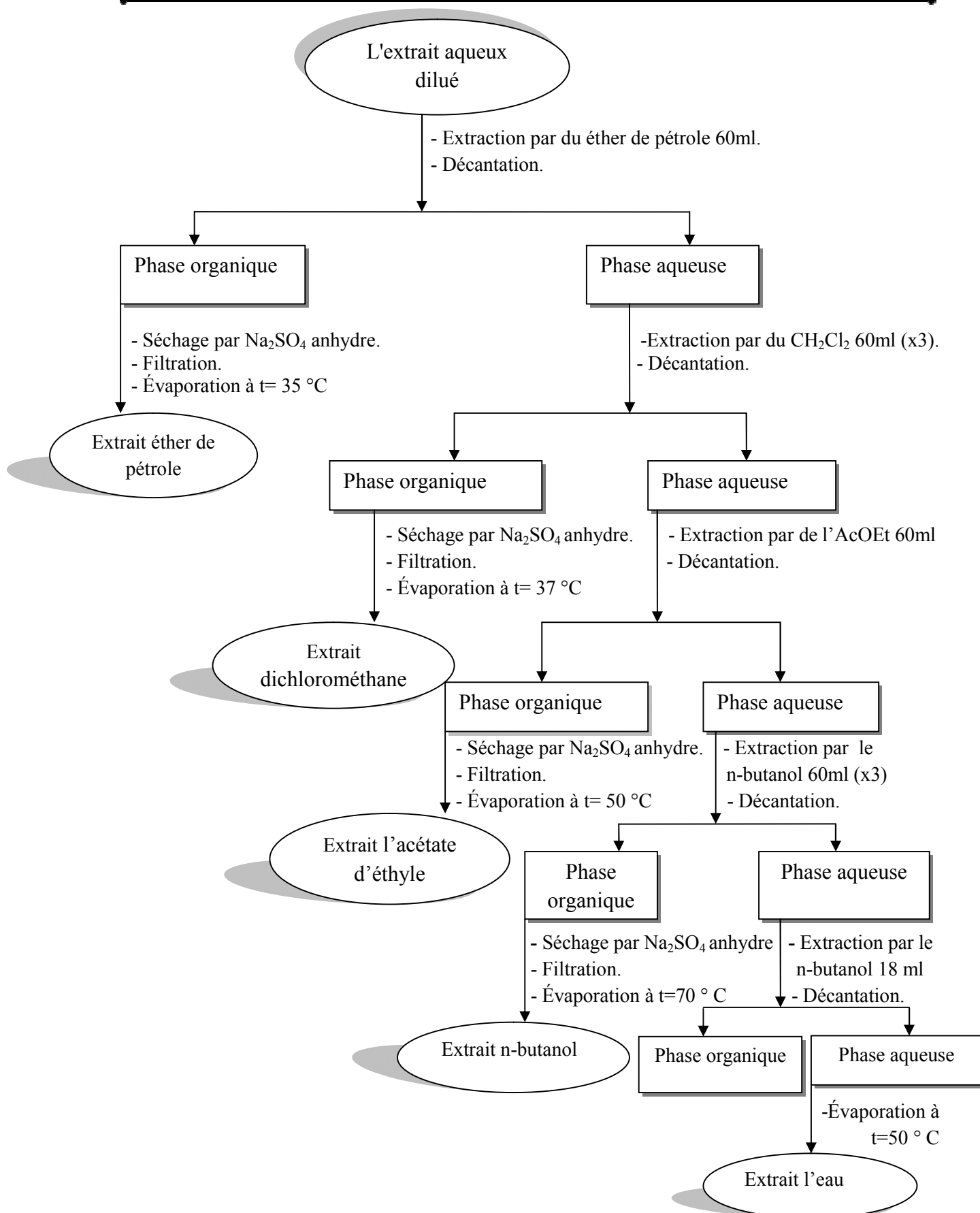


Figure n° 24: Récapitulatifs de l'extraction des extraits spécifiques de *Ridolfia segetum*. [102]

- **Calcul du rendement :**

Le rendement désigne le rapport entre la masse de l'extrait après évaporation du solvant et la masse initiale sèche de la plante.

Exprimé en pourcentage, le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$\text{Rendement (\%)} = (M_{\text{ext}} - M_{\text{vid}} / M_{\text{int}}) \times 100$$

M_{ext} : Masse en gramme du ballon après évaporation.

M_{vid} : Masse en gramme du ballon avant évaporation (ballon vide).

M_{int} : Masse en gramme de la plante sèche initiale.

III.2.4. Analyse des principes actifs de l'espèce *Ridolfia segetum* :

Dans le but d'analyser ces principes actifs isolés à partir de plant *Ridolfia segetum*, nous avons utilisé chromatographie et d'évaluation de l'activité antioxydant.

III.2.4.1. Analyse chromatographique :

III.2.4.1.1. Définition la chromatographie :

La chromatographie dérive du mot (khrôma qui signifie couleur en grec) est une technique de chimie permettant la séparation et l'identification d'espèces chimiques contenues dans un mélange. On distingue différents types de chromatographies, selon la phase (liquide ou gazeuse), le procédé (adsorption, ionique ...) ou le support (papier ou colonne). [103] Le premier scientifique à utiliser cette technique, le botaniste russe Tswett, en 1906 en séparant les pigments d'une feuille d'épinard. [104]

III.2.4.1.2. Les différentes méthodes chromatographiques:

Les différentes méthodes chromatographiques sont les suivantes :

- Chromatographie sur couche mince (CCM).
- Chromatographie en phase gazeuse (CPG).
- Chromatographie sur colonne.
- Chromatographie liquide de haute performance (CLHP, HPLC en anglais).

Ces méthodes permettent d'avoir des données conduisant à l'identification des structures moléculaires organiques. [105,106] Dans notre travail, nous avons utilisé : CCM et CPG.

III .2.4.1.2.1.Chromatographie sur couche mince :

- **Définition la chromatographie sur couche mince :**

La chromatographie sur couche mince est la plus simple des méthodes chromatographiques. Elle consiste à placer sur une feuille (papier, silice ou autre) une tache et de la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant), l'éluant diffuse le long du support. La tache migre sur la feuille plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant. [107]

- **Principe de la chromatographie sur couche mince :**

La chromatographie sur couche mince s'effectue généralement sur une fine couche de silice (phase stationnaire) déposée sur un support. Le mélange à étudié est ensuite posé à l'aide d'un capillaire à environ 1 cm du bord puis placé dans une cuve contenant l'éluant. Le niveau de l'éluant devant être en dessous du produit déposé. La cuve de chromatographie est ensuite refermée par un couvercle. L'éluant migre sur la plaque de silice par capillarité et entraîne les composés du mélange étudié. Si les vitesses de migration des composés sont différentes, ils seront séparés. La plaque de chromatographie est ensuite lue directement si les composés sont visibles, ou placée sous une lumière UV. Ils peuvent également être révélés en pulvérisant une solution d'acide sulfurique puis chauffé dans une étuve. [108]

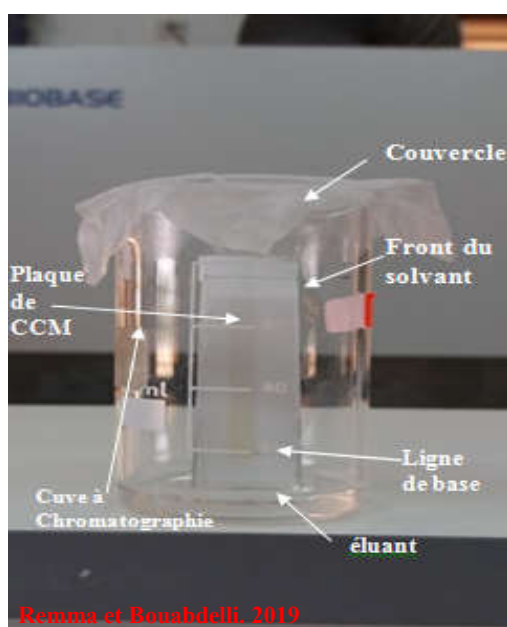


Figure n°25: principe de la chromatographie sur couche mince photo originale.

➤ **Protocole expérimental :**

Sur une plaque de gel de silice de largeur 2cm et 6.5 cm longueur, on trace au crayon un trait horizontal à une distance de 1 cm du bord inférieur et à 0,5 cm du bord supérieur.

○ **Première plaque CCM :**

On dépose une goutte de l'extrait éther de pétrole sur le trait du bord inférieur. La plaque est alors introduite dans une cuve contenant l'éluant : éther/éther de pétrole (1 :4) à une hauteur de 1 cm.

○ **Deuxième plaque CCM :**

On dépose une goutte de l'extrait dichlorométhane sur le trait du bord inférieur. La plaque est alors introduite dans une cuve contenant l'éluant : hexane/ dichlorométhane/acoet (4 :4 :1) à une hauteur de 1 cm.

○ **Troisième plaque CCM :**

On dépose une goutte de l'extrait l'acétate d'éthyle sur le trait du bord inférieur. La plaque est alors introduite dans une cuve contenant l'éluant : acoet/méthanol de pétrole (19.5 :0.5) à une hauteur de 1 cm.

○ **Quatrième plaque CCM :**

On dépose une goutte de l'extrait n-butanol sur le trait du bord inférieur. La plaque est alors introduite dans une cuve contenant l'éluant : dichlorométhane/méthanol (19.5 :0.5) à une hauteur de 1 cm.

Lorsque l'éluant atteint le front de la plaque, cette dernière est retirée de la cuve et puis séchée. La plaque de chromatographie est ensuite lue, sous une lumière UV, les composés apparaissent sous forme de taches rondes ou ovales. Pour une phase stationnaire et une phase mobile données, chaque composé est caractérisé par son un facteur de rétention (R_f) qui est défini comme étant le rapport entre la distance parcourue par la substance (h) sur la distance parcourue par le front de l'éluant (H) :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par la substance}}{\text{distance parcourue par l'éluant}}$$

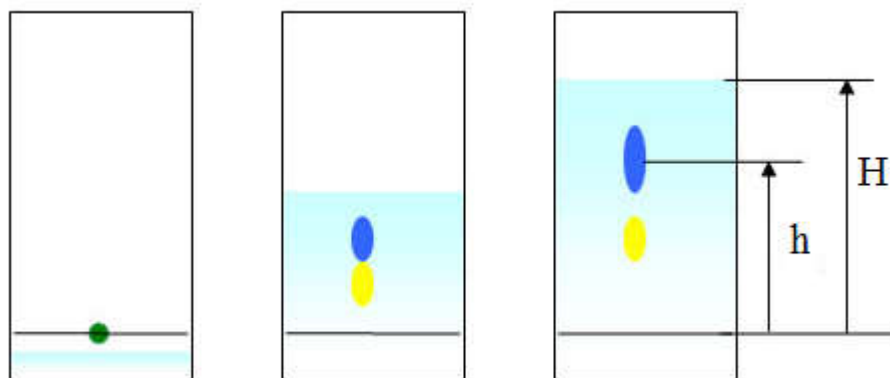


Figure n°26: Migration de composant d'extrait.

III .2.4.1.2.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse :

- **Principe de la chromatographie en phase gazeuse :**

La chromatographie en phase gazeuse est, comme toutes les techniques de chromatographie, une technique qui permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie, mais aussi en parfumerie. [109] Le mélange à éluer est injecté à l'aide d'une seringue. Une fois vaporisés par l'injecteur, les composés sont entraînés dans la colonne par le gaz vecteur (le plus souvent He ou N₂). Suivant l'affinité avec la phase stationnaire, les composés sont séparés avant d'être détectés en sortie de colonne. [110]

- **Principe de la spectrométrie de masse :**

La spectrométrie de masse est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique. [111]

Le principe de la spectrométrie de masse est basé sur l'ionisation des molécules introduites dans l'appareillage par un champ électrique et/ou magnétique. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé. [112]

- **Principe de la CG/MS :**

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse sur charge. Cette technique permet d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voire en traces. Les données résultant de cette analyse sont représentées par un chromatogramme avec pour chaque pic, un spectre de masse du composé sorti à ce moment-là. [113]

➤ **Protocole expérimental :**

Les analyses des extraits des graines de *Ridolfia segetum* par CG/MS a été effectuée dans un laboratoire inhart, kulliyah du bâtiment d'ingénierie d'université islamique internationale de Malaisie, 53100 Kuala Lumpur. Cette analyse a été réalisée sur un appareil CG de type Agilent technologie 7693 et spectromètre de masse MS de type Leco.



Figure n°27: CG/MS utilisé.

Nous mettons les symboles suivants à la place noms des extraites :

Y₁ : extrait éther de pétrole; **Y₂**: extrait dichlorométhane; **Y₃**: extrait l'acétate d'éthyle;

Y₄: extrait n-butanol; **Y₅**: extrait l'eau.

III.2.4.2. Évaluation de l'activité antioxydant :

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$). [114-117]

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes $\text{ROO}\cdot$ par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) [118] ; les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) [119] ; ou les radicaux $\text{ABTS}\cdot$ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) [120], ainsi que la méthode utilisant le radical libre $\text{DPPH}\cdot$ (diphényl-picrylhydrazyle). [121]

Dans notre travail, la méthode appliquée pour mesurer une activité antioxydant est celle du piégeage des radicaux libres à l'aide du $\text{DPPH}\cdot$.

III.2.4.2.1. Activité antioxydante (test DPPH) :

- **Définition :**

Le test $\text{DPPH}\cdot$ permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique $\text{DPPH}\cdot$ (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le $\text{DPPH}\cdot$, initialement violet, se transforme en DPPH-H , jaune pâle. [122-127]

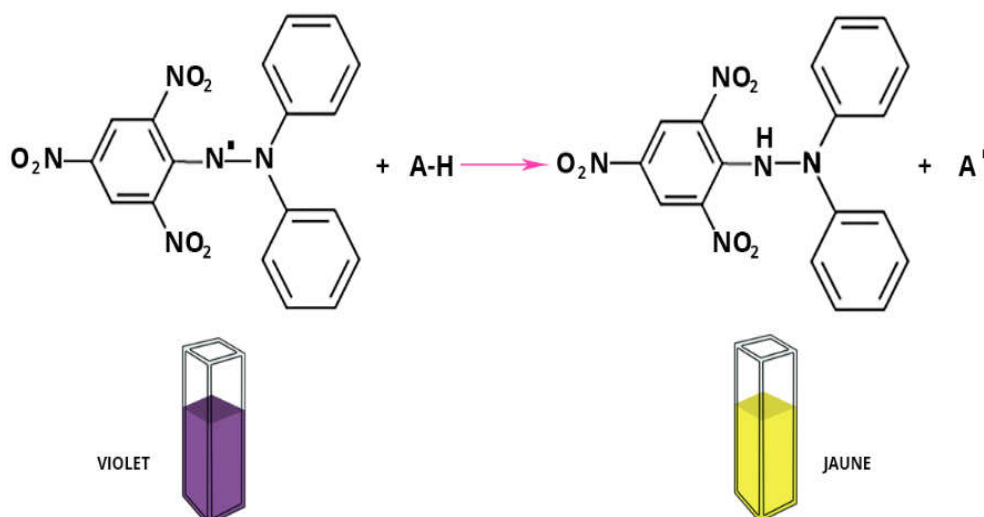


Figure n° 28: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

• **Principe :**

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH•). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Sanchez-Moreno et al (1998). [128]

➤ **Protocole expérimental :**

L'activité antioxydante des extraits de *Ridolfia segetum* a été déterminée en utilisant le radical 1,1diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Nous avons commencé par la préparation de la solution du DPPH à est obtenue en dissolvant 2 mg de la poudre dans 50 ml de méthanol ont été mélangés et maintenus dans l'obscurité à température ambiante pendant 2 heures. Les extraits ont été préparés en dissolvant de méthanol.

Le test s'effectue en mélangeant 1 ml de la solution précédente de DPPH avec 1ml de l'extrait à tester à différentes concentrations. Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'antioxydant de référence ou le contrôle positif (Ascorbic acid) a été aussi préparé selon la même méthode avec des mêmes concentrations pour la comparaison.

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I\% = [(A_0 - A)/A_0] \times 100$$

Avec :

I% : pourcentage d'inhibition.

A₀: absorbance du contrôle.

A : absorbance de l'échantillon (d'extrait ou référence).

• **Des concentrations inhibitrices à 50 % (IC₅₀) :**

La réactivité est estimée par la concentration effective CE₅₀ et appelée parfois notée IC₅₀ de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH• dans le milieu réactionnel. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa IC₅₀ est petite. L'indice IC₅₀ montre les concentrations de l'antioxydant qui sont nécessaires pour faire décroître la concentration initiale du DPPH• avec 50% (exprimée en mol Antioxydant/mol DPPH• ou mg Antioxydant/g DPPH•). [129]

Chapitre VI

Résultats et Discussion

IV.1. Les tests phytochimiques :

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait de graine de *Ridolfia segetum* a révélé la présence de certains principes actifs tels que des alcaloïdes, des tanins, des stéroïdes, des saponines, des coumarines et des flavonoïdes (**Tableau n°04**). On sait que ces composés phytochimiques possèdent une activité thérapeutique qui justifie ses utilisations en médecine traditionnelle. La présence de ces métabolites secondaires suggère que la plante pourrait avoir une importance industrielle et médicinale. Plusieurs rapports indiquent que les composés possèdent une activité antitumorale, antidiabétique et antioxydante remarquable.

[130-132]

IV.1.1. Composés phénoliques :**IV.1.1.1. Tanins :**

On observe la transformation de solution à une couleur brun verdâtre (figure n°29). Donc on a confirmé la présence de tanin cachectique dans notre plante.



Remma et Bouabdelli. 2019

Figure n°29: Détection chimique des tanins photo originale.

IV.1.1.2. Phlobatannins :

Nous remarquons l'apparition de marron dans une solution au lieu de rouge (figure n°30). Et pour cela notre plante ne contient pas des phlobatannins.



Remma et Bouabdelli. 2019

Figure n°30: Détection chimique des phlobatannins photo originale.

IV.1.1.3. Flavonoïdes :

Dans la première méthode, on remarque transformation la solution en couleur jaune et in deuxième méthode, aussi on observe transformation la solution en couleur orangée (figure n°31). Donc on a confirmé la présence des flavonoïdes dans notre plante.

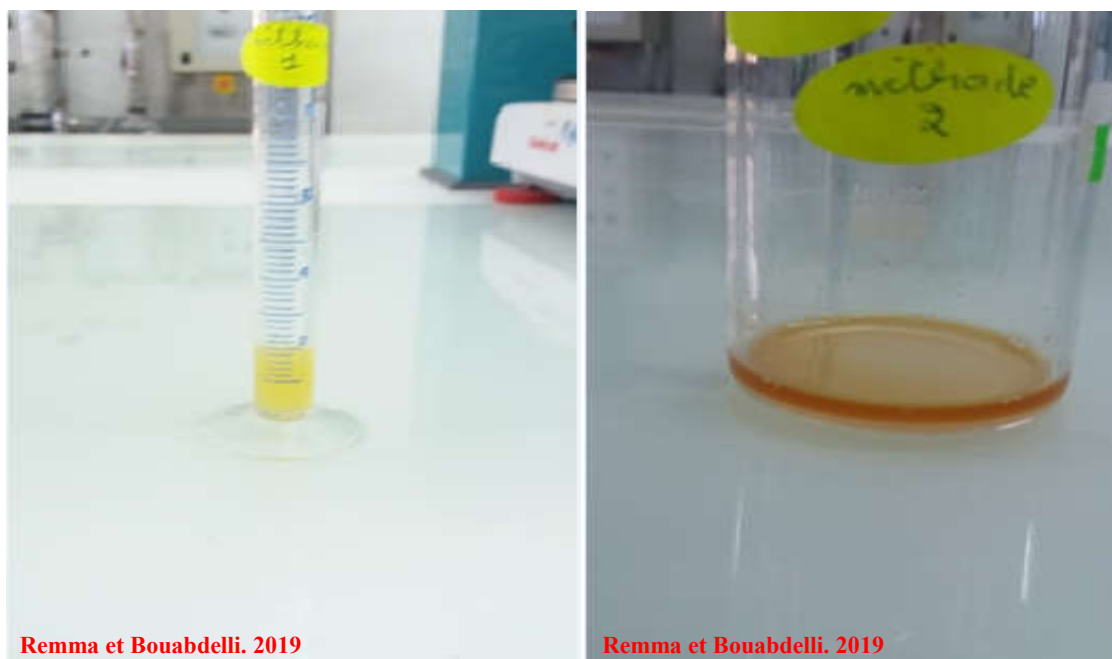


Figure n°31: Détection chimique des flavonoïdes photo originale.

IV.1.1.4. Coumarines :

On observe transformation la solution en couleur jaune (figure n°32). Cela signifie qu'il y a des coumarines dans notre plante étudiée.



Figure n°32: Détection chimique des coumarines photo originale.

IV.1.2. Stéroïdes et terpénoïdes :**IV1.2.1. Triterpènes :**

Nous remarquons l'apparition de jaune pâle dans une solution au lieu de rouge foncé (figure n° 33). Et pour cela notre plante ne contient pas des triterpènes.



Figure n°33: Détection chimique des triterpènes photo originale.

IV.1.2.2. Stéroïdes :

Formation d'un anneau rouge-brunâtre dans la solution (figure n°34); Ceci prouve de la présence des stéroïdes dans l'extrait de la plante *Ridolfia Segetum*.



Figure n° 34 : Détection chimique des stéroïdes photo originale.

IV.1.2.3. Saponines :

On observe quelque bulle en quantité très faible la solution (figure n°35).Ceci indique que la plante étudiée (*Ridolfia segetum*) contient des saponines.

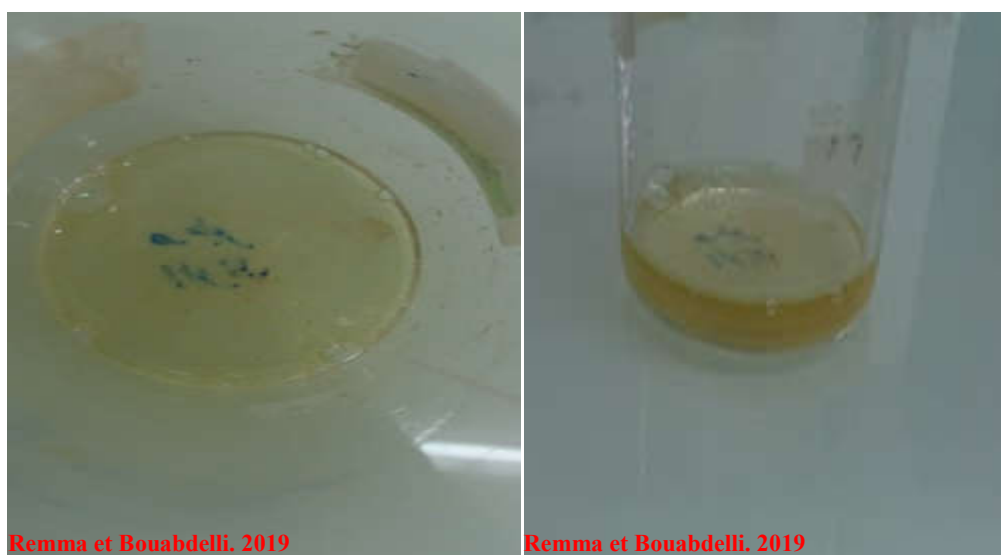


Figure n°35: Détection chimique des saponines photo originale.

IV.1.3. Composés azotés :

IV.1.3.1. Alcaloïdes :

Formation d'un précipité noir en quantité pas mal dans la solution (figure n°36); Ceci prouve de la présence d'alcaloïdes dans la plante *Ridolfia segetum*.



Figure n°36: Détection chimique des alcaloïdes photo originale.

Nous constatons que :

- Les composés les plus abondants étaient des coumarines.
- Des tanins et des flavonoïdes ont également été observés en plus grande quantité mais moins que des coumarines.
- Des alcaloïdes et des stéroïdes ont été observés à des quantités modérées et les saponines en moindre quantité.
- Le test pour les phlobatannins et les triterpènes a donné un résultat négatif.

Les résultats des tests phytochimiques est résumé par le tableau suivant (tableau n°04):

- ✓ Présence de la substance est représenté par : +.
- ✓ L'absence de la substance est représenté par : -.

Tableau n°04 : Résultats des tests phytochimiques de *Ridolfia segetum*.

<i>Constituants phytochimiques</i>		<i>Remarque</i>	<i>Résultats</i>	
<i>Composés phénoliques</i>	<i>Tanins</i>	<i>catéchiques</i>	Apparition d'une couleur brun verdâtre.	+
		<i>galliques</i>	N'apparaître pas d'une couleur bleu-noire.	-
	<i>Phlobatannins</i>		N'apparaître pas d'une couleur rouge.	-
	<i>Flavonoïdes</i>	<i>1^{er} Méthode</i>	Apparition d'une couleur jaune.	+
		<i>2^{ème} Méthode</i>	Apparition d'une couleur orangée.	+
	<i>Coumarines</i>		Apparition d'une couleur jaune.	+
<i>Stéroïdes et Terpénoïdes</i>	<i>Triterpènes</i>		N'apparaître pas d'une couleur rouge foncé.	-
	<i>Stéroïdes</i>		Formation d'anneau rouge-brunâtre.	+
	<i>Saponines</i>		Apparition quelque bulle.	+
<i>Composés azotés</i>	<i>Alcaloïdes</i>		Apparition d'un précipité noir.	+

IV.2. Rendement des extractions :

Les résultats de rendement des extraits de la matière végétale obtenus par macération avec différents solvants sont indiqués dans le tableau (05).

Tableau n° 05: Rendements des extraits obtenus par macération de plante *Ridolfia segetum*.

<i>Extraits</i>	<i>Rendement (%)</i>
Aqueux	4.59
n-butanol	3.44
Éther de pétrole	2.29
Dichlorométhane	0.11
Acétate d'éthyle	0.07

Nous constatons que l'extrait aqueux donne le rendement le plus élevé il est de 4.59% puis suivi de l'extrait n-butanol (3.44%), l'extrait éther de pétrole (2.29%) puis l'extrait dichlorométhane (0.11%) et enfin l'extrait acétate d'éthyle (0.07%).

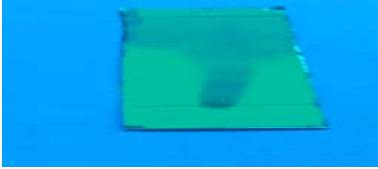
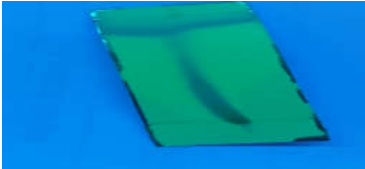
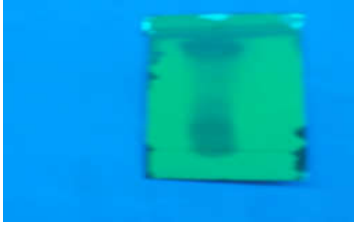
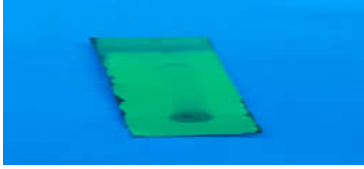
IV.3. Analyse des principes actifs de l'espèce *Ridolfia segetum* :

IV.3.1. Analyse chromatographique :

IV3.1.1. Chromatographie sur couche mince :

Les résultats de la mesure du Rf des extraits de plante *Ridolfia segetum* sont reportés dans le tableau (06).

Tableau n°06 : Facteurs de rétention (Rf) des extraits de plante *Ridolfia segetum*.

<i>Extraits</i>	<i>N° de Taches</i>	<i>Rf</i>	<i>Les plaques CCM</i>
Éther de pétrole	1	0.34	
Dichlorométhane	1	0.74	
Acétate d'éthyle	1	0.26	
	2	0.88	
n-butanol	1	0.7	

-
- ✚ L'analyse chromatographie sur couche mince est une analyse qualitative qui nous permet d'identifier un composé en fonction de son rapport frontal (Rf) dans un solvant d'éluion donné.
 - ✚ Extrait éther de pétrole, extrait dichlorométhane et extrait n-butanol se trouvent contenir un seul tache, ce qui signifie que ces extraits contiennent un produit. En ce qui concerne l'extrait l'acétate d'éthyle, nous avons trouvé deux taches qui signifient contient deux produits
 - ✚ Afin de connaître la nature du produit, les témoins sont choisis placés à coté de l'échantillon ont été bien choisis, les taches ayant parcouru la même distance ont de grandes chances d'être de même nature que les constituants de l'échantillon.

IV.3.1.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse :

L'analyse par CG /SM de nos échantillon a été réalisée sur un appareil CG de type Agilent technologie 7693 et spectromètre de masse MS de type Leco.

Les conditions d'analyse sont les suivantes :

Caractéristiques de la colonne :

- Colonne : capillaire.
- Longueur : 25m.
- Diamètre : 0,20 mm.
- épaisseur du film = 0,33 μm .

Propagation de la température : 35 °C pendant 5 min puis élévation à raison de 6 °C/min jusqu' à 280 °C pendant 5 min

Nature du gaz vecteur : Helium H₂.

Débit du gaz vecteur : 1 ml/min.

Volume injecté : 0,2 μl .

Logiciel utilisé : Chemstation.

Les tracés chromatographiques et les résultats analytiques des extraits des graines de *Ridolfia segetum*; enregistrés dans les conditions citées ci-dessus sont représentés sur les figures (37-41).

Tableau n°07 : Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait éther de pétrole.

Peak	Name	Similarity	R.T. (s)	Unique Mass
1	Phosphinous chloride, (chloromethyl)(1,1-dimethylethyl)-	501	3494,49	57
2	Heptadecane, 2-methyl-	511	582,45	71
3	Nickel tetracarbonyl	535	2839,09	44
4	5H-Cyclopropa(3,4)benz(1,2-e)azulen-5-one, 1,1a-à,1b-à,4,4a,7a-à,7b,8,9,9a-decahydro-7b-à,9-à,9a-à-trihydroxy-3-hydroxymethyl-1,1,6,8-à-tetramethyl-4a-methoxy-, 9,9a-didecanoate	563	335,409	71
5	Nickel tetracarbonyl	578	2823,28	28
6	Methyl 10,12-octadecadiynoate	625	731,22	91
7	Nickel tetracarbonyl	626	2923,42	28
8	Methanone, (1-hydroxycyclohexyl)phenyl-	639	1153,49	99
9	3-Pyrrolidinecarboxylic acid, 5-oxo-1-(2-pyridinylmethyl)-	653	217,848	93
10	Tricyclo[7.4.0.0(3,8)]tridec-12-en-2-one, 5,6-epoxy-4-methyl-1-(2-propynyl)-	656	1038,32	26
11	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1à,4aà,8aà)-	678	730,987	161
12	2-Butene	712	180,598	39
13	Nickel tetracarbonyl	727	2762,93	28
14	Daucol	752	1094,69	93
15	Ethanol, 2-(1-methylethoxy)-	755	185,246	45
16	Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	774	545,731	57
17	Ethanone, 1-(3-butyloxiranyl)-	776	1187,32	43
18	trans-Sesquisabinene hydrate	814	1037,72	105
19	1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-	814	916,177	93
20	Decane, 6-ethyl-2-methyl-	828	238,067	43
21	Octane, 2,4,6-trimethyl-	842	465,786	43
22	1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-	843	842,174	69
23	Undecane, 2,8-dimethyl-	863	758,875	43
24	1-Undecene, 4-methyl-	889	283,518	43
25	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	900	919,63	192

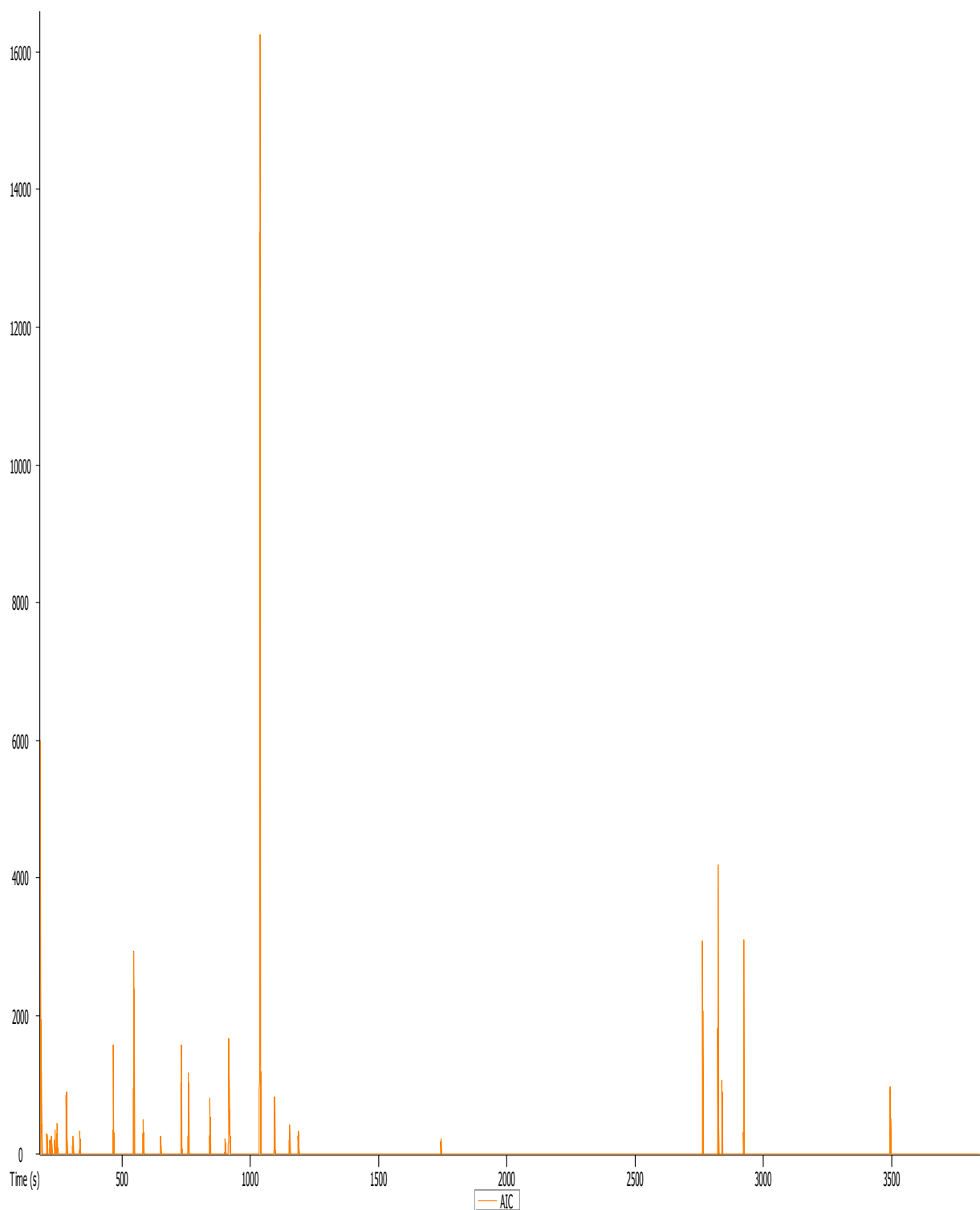


Figure n°37: Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait éther de pétrole.

Tableau n°08: Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait dichlorométhane.

Peak	Name	Similarity	R.T. (s)	Unique Mass
1	Copper, [2,8,12,18-tetraethyl-3,7,13,17-tetramethyl-21H,23H-porphinato(2-)-N21,N22,N23,N24]-, (SP-4-1)-	500	212,868	21
2	1,1':3',1"-Terphenyl, 3,3",5,5"-tetrabromo-5-(3,5-dibromophenyl)-	560	180,266	33
3	3-Heptanone, 2,4-dimethyl-	730	284,248	71
4	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	745	919,829	41
5	Oxalic acid, allyl pentyl ester	772	466,383	41
6	Heptane, 2,5,5-trimethyl-	781	465,952	57

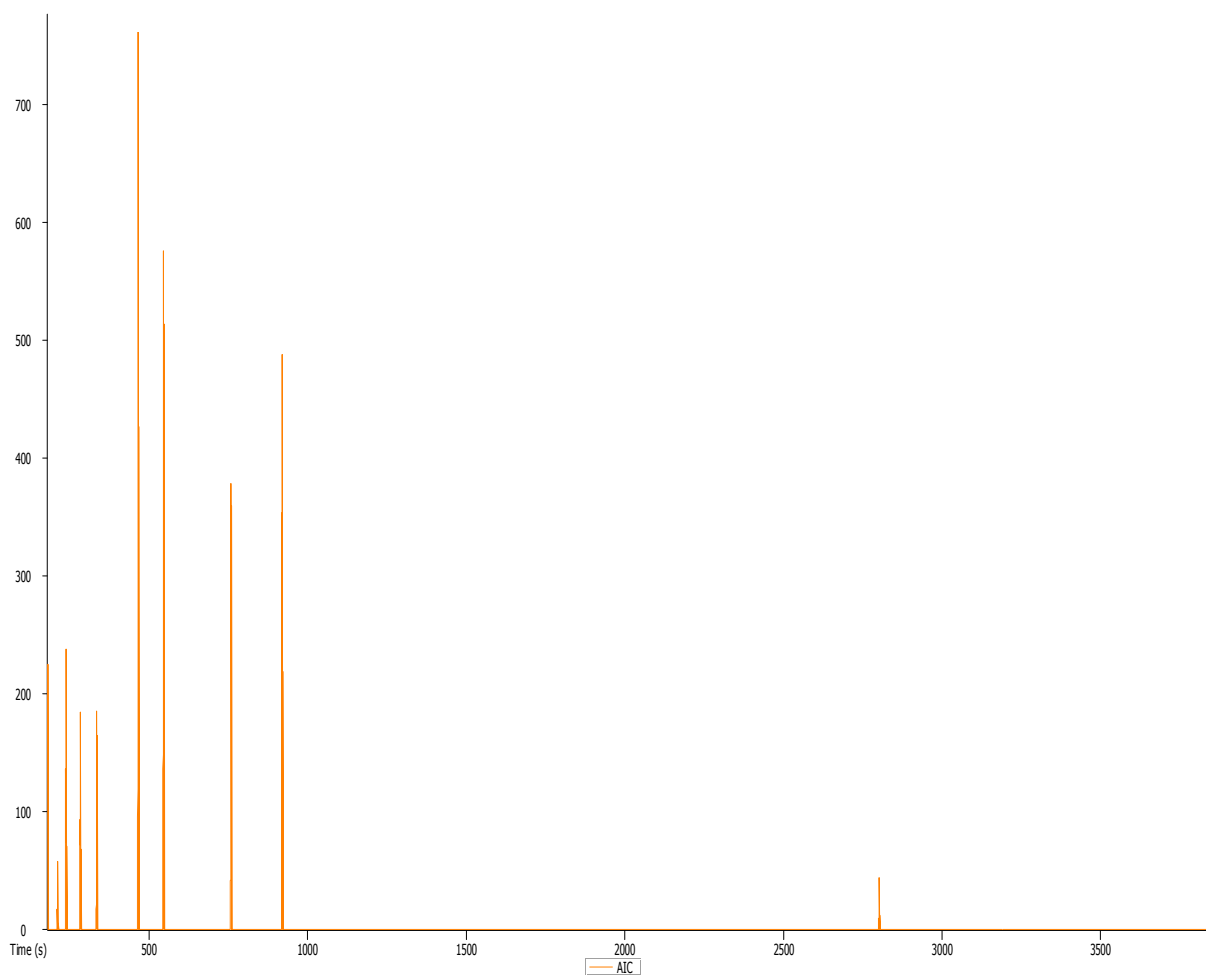


Figure n° 38 : Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait dichlorométhane.

Tableau n°09 : Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait l'acétate d'éthyle.

Peak	Name	Similarity	R.T. (s)	Unique Mass
1	1,1':3',1"-Terphenyl, 3,3",5,5"-tetrabromo-5-(3,5-dibromophenyl)-	553	2272,16	23
2	Unknown 2	22	1605,81	23
3	Unknown 3	270	180,83	22
4	Unknown 4	299	2314,49	23

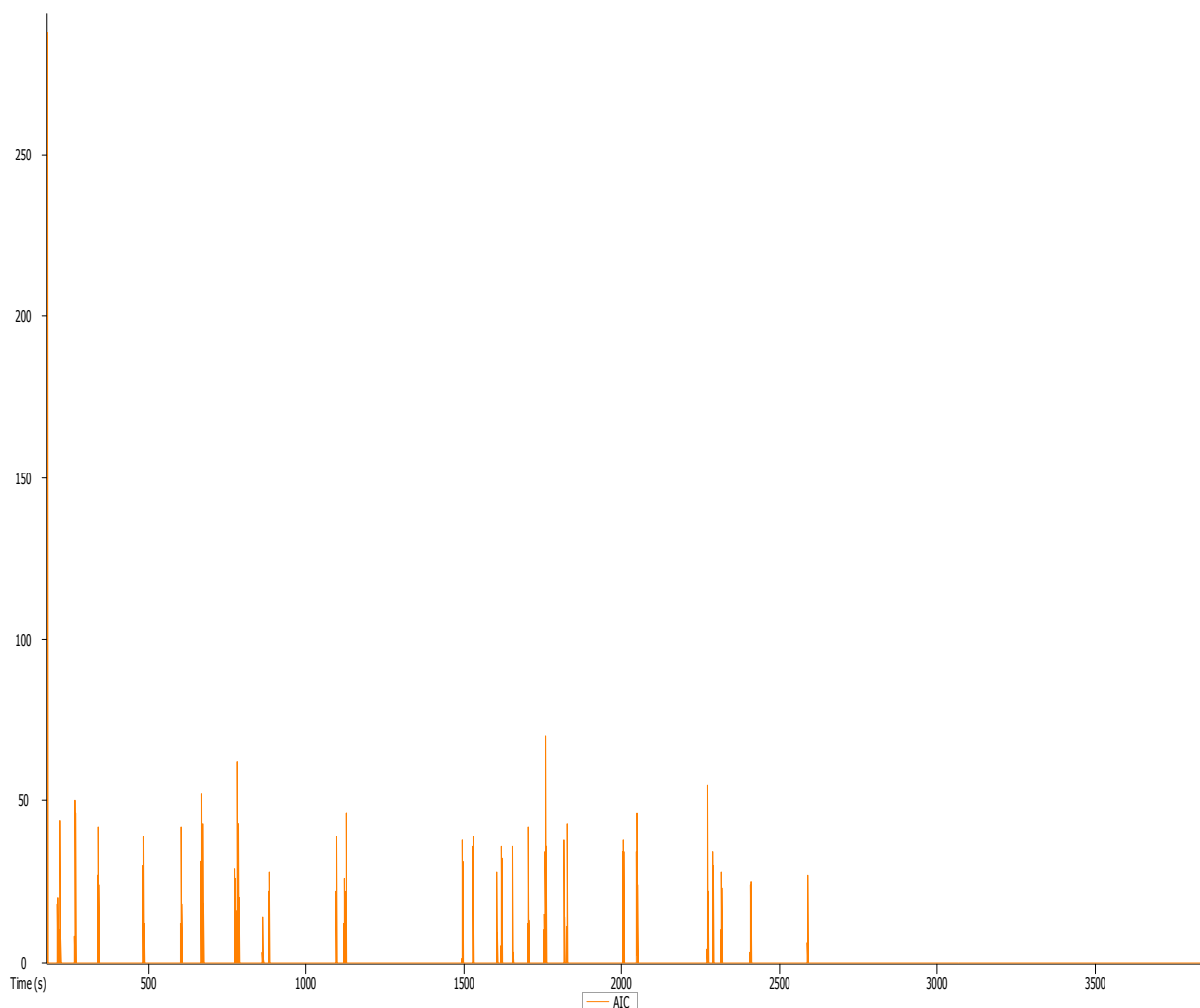


Figure n°39: Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait l'acétate d'éthyle.

Tableau n°10: Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait n-butanol.

Peak #	Name	Similarity	R.T. (s)	Unique Mass
1	Lycopene	564	180,232	125
2	Hydrazinecarboxamide	634	181,66	32
3	Hydrazinecarboxamide	635	182,855	29
4	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-	646	1639,87	67
5	Carbohydrazide	685	200,85	31
6	13-Docosenoic acid, methyl ester	691	1646,84	55
7	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	772	919,364	57
8	(+)-Salsolidine	799	1255,71	192
9	2-Chloroethanol	827	183,42	31
10	Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	878	1451,69	41

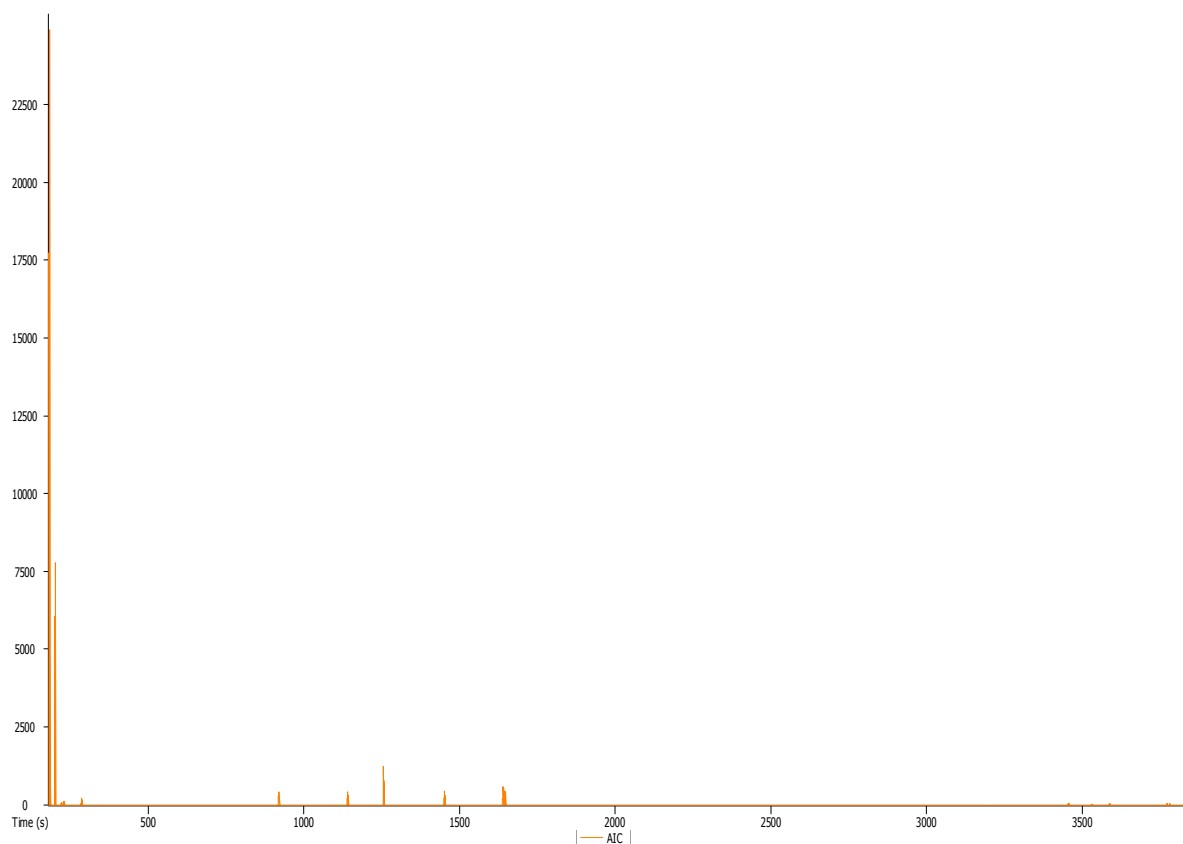
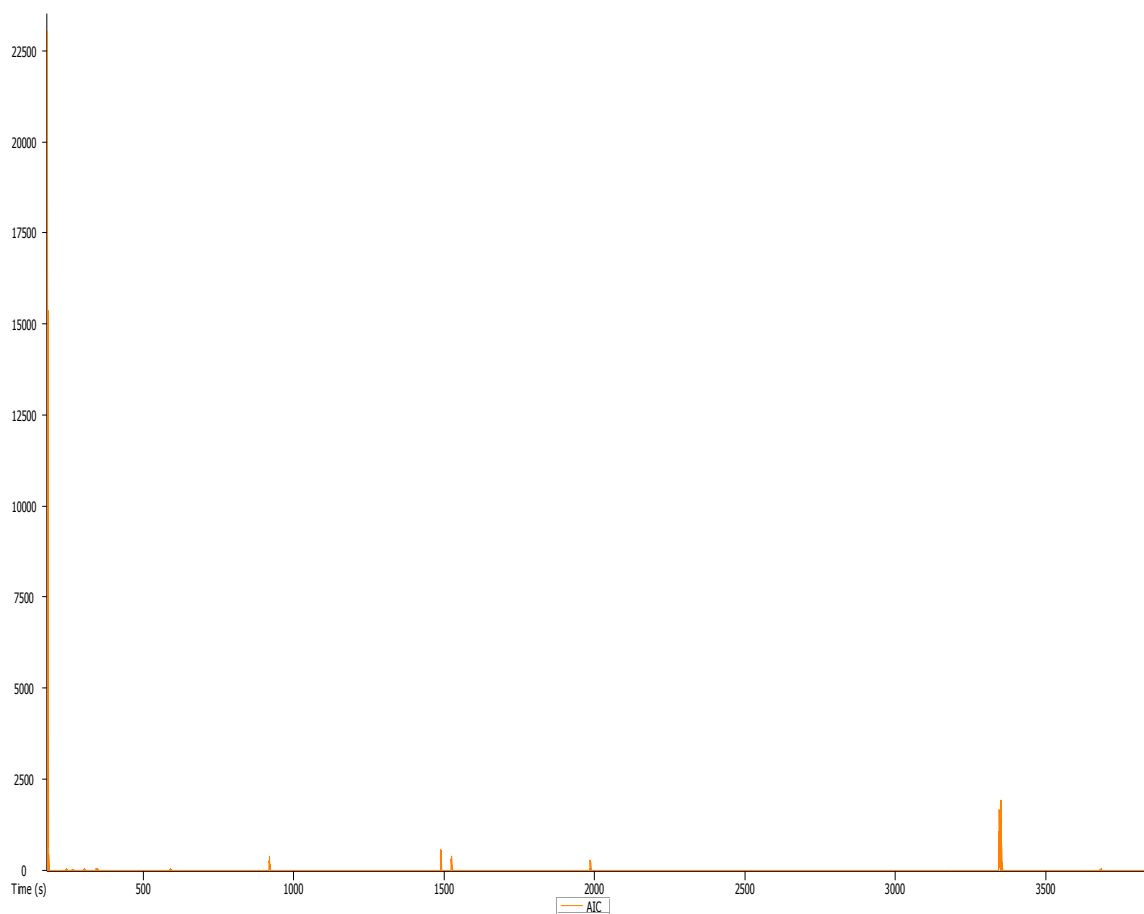
**Figure n° 40 :** Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait n-butanol.

Tableau n°11: Résultats d'analyse par CG/MS de produit majoritaire de l'extrait l'eau.

Peak #	Name	Similarity	R.T. (s)	Unique Mass
1	1,3-Dioxolane, 2-(1,1-dimethylethyl)-	619	1985,78	73
2	Acetonitrile, hydroxy-	652	180,498	29
3	Molybdenum, bis[(1,2,3,4,5-ü)-1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-2,4-cyclopentadien-1-yl]di-æ-carbonyldicarbonyldi-, (mo-mo)	653	180,299	39
4	Tri-ruthenium dodecacarbonyl	676	182,523	31
5	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	693	919,63	57

**Figure n°41:** Spectre de masse de produit majoritaire de l'extrait l'eau.

- L'identification des composants a été réalisée par CG/MS :

On note sur le chromatogramme de l'extrait éther de pétrole plusieurs pics. La CG/MS de l'extrait éther de pétrole révèle la présence des plusieurs des composants nous mentionnons certains d'entre eux : Phenol, 2,4-bis(1,1-diméthylethyl)- du pic à 919,63s. On note à 283,518 s et de 758,875 s selon les données du spectromètre de masse respectivement à 1-Undecene, 4-methyl- et Undecane, 2,8-dimethyl- (figure n°37).

Le chromatogramme de l'extrait dichlorométhane enregistre la présence des pics qui diffère de ceux de l'extrait éther de pétrole. On note à 465,952 et de 466,383 s selon les données du spectromètre de masse respectivement à Heptane, 2,5,5-trimethyl- et à Oxalic acid, allyl pentyl ester. La présence du pic à 919,829 s correspond d'après les données à Phenol, 2,4-bis(1,1-diméthylethyl)- (figure n°38).

Le chromatogramme de l'extrait l'acétate d'éthyle révèle plusieurs pics. La présence du pic à 2272,16 s correspond d'après les données à 1,1':3',1"-Terphenyl, 3,3",5,5"-tetrabromo-5-(3,5-dibromophenyl)- (figure n°39). Par absence d'échantillons dans la banque de données, les autres pics n'ont pu être identifiés.

Le chromatogramme de l'extrait n-butanol et l'extrait l'eau révèle peu de pics par rapport aux les autres.

Le chromatogramme de l'extrait n-butanol la présence du pic à 1451,69 s correspond d'après les données à Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester. On note à 183,42 s, la détection de 2-Chloroethanol (figure n°40).

Le chromatogramme de l'extrait l'eau la présence du pic à 919,63 s correspond d'après les données à Phenol, 2,4-bis(1,1-diméthylethyl)-. On note à 182,523 et de 180,299 s selon les données du spectromètre de masse respectivement à Tri-ruthenium dodecacarbonyl et à Molybdenum, bis[(1,2,3,4,5- η)-1,3-bis(1,1-diméthylethyl)-2,4-cyclopentadien-1-yl]di- α -carbonyldicarbonyldi-, (mo-mo) (figure n°41).

IV.3.2. Activité antioxydante (test DPPH):

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydant des différents extraits de *Ridolfia segetum*.

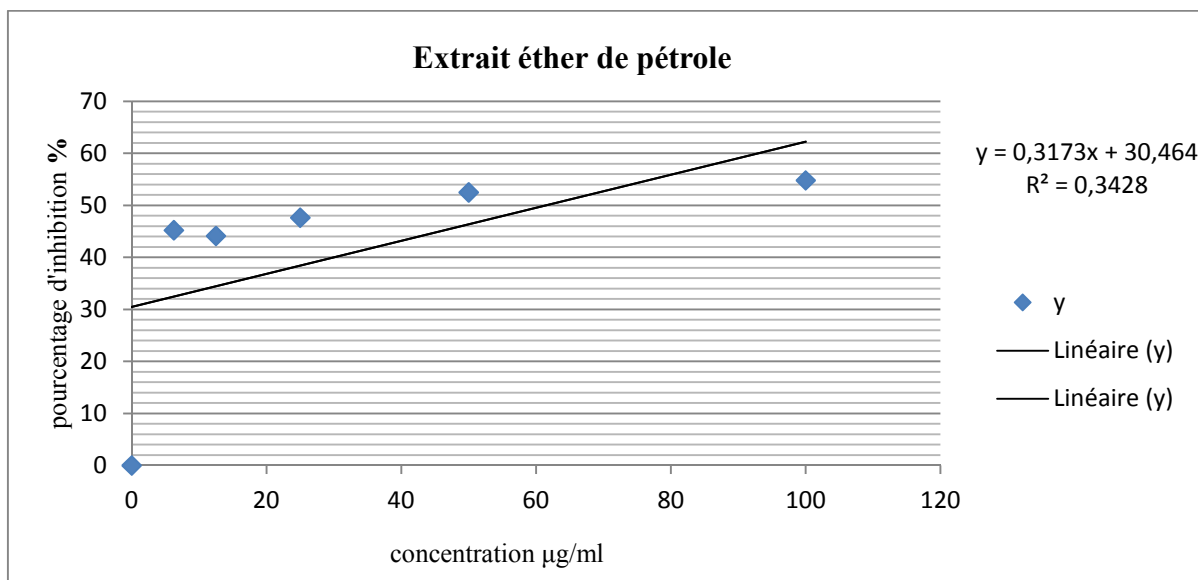


Figure n°42 : Courbe de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH d'extrait éther de pétrole.

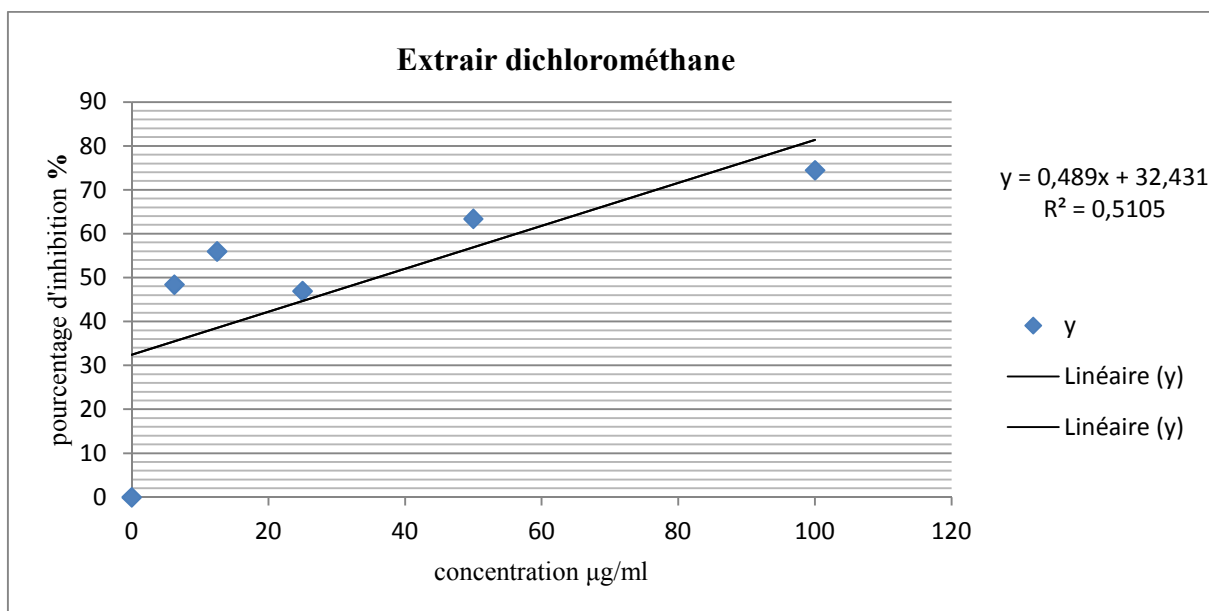


Figure n°43 : Courbe de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH d'extrait dichlorométhane.

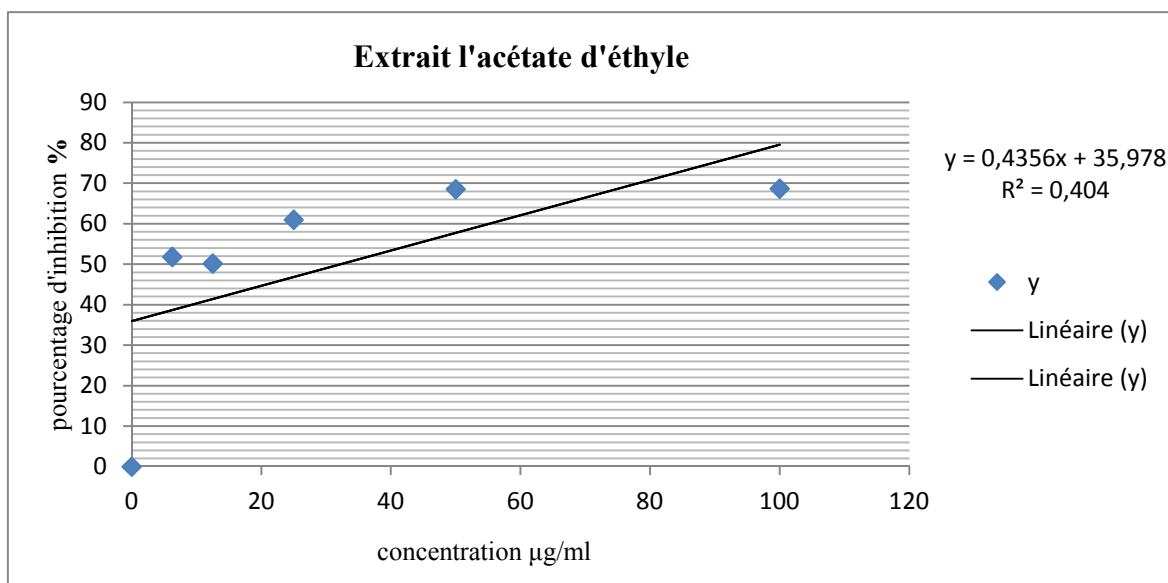


Figure n°44 : Courbe de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH d'extrait l'acétate d'éthyle.

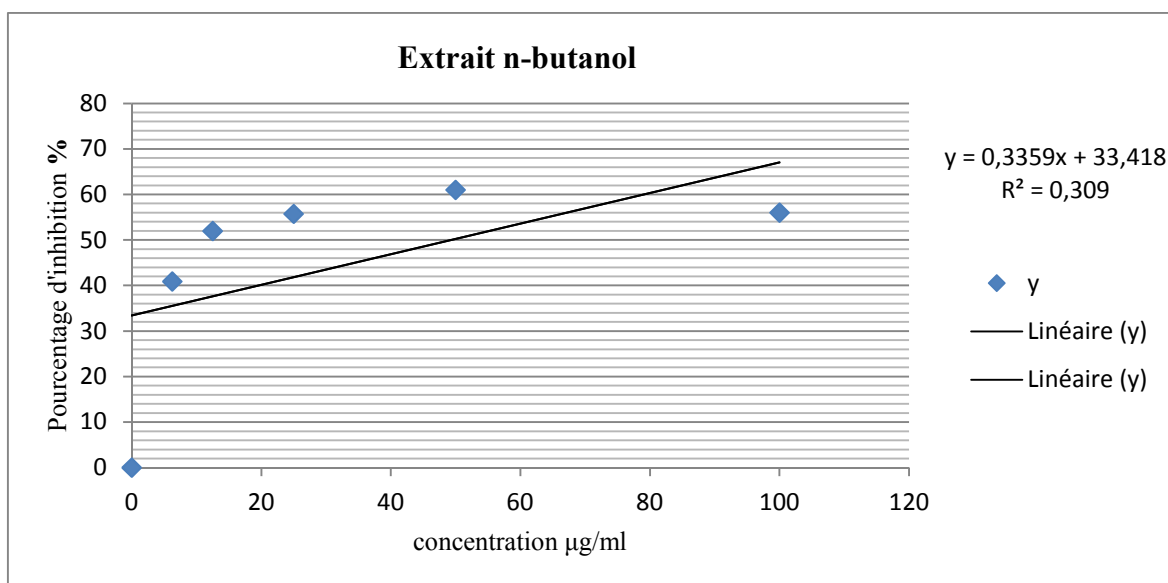


Figure n°45 : Courbe de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH d'extrait n-butanol.

A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi la valeur d'IC₅₀ chaque extrait, plus la valeur d'IC₅₀ est faible, plus l'efficacité de l'extrait est grande. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence (on utilise l'acide ascorbique comme référence). Nous n'avons pas pu terminer le travail sur l'acide ascorbique et l'avons extrait des valeurs de laboratoire standard (unités traditionnellement utilisées). On trouve l'intervalle de l'acide ascorbique est [6-20 µg/ml]. [133]

Les valeurs des concentrations efficaces et de l'activité antiradicalaires sont rapportées dans le tableau suivant :

Tableau n°12: Valeurs des IC₅₀ (en µg/ml) des extraits de *Ridolfia segetum* et de l'acide ascorbique.

Les Extraits	Extrait éther de pétrole	Extrait dichlorométhane	Extrait l'acétate d'éthyle	Extrait n-butanol	Acide ascorbique
Valeurs IC ₅₀ µg/ml	61.569	35.928	32.190	49.365	6-20

- L'examen de tableau et des figures laisse constater que l'extrait l'acétate d'éthyle et l'extrait dichlorométhane ont des activités antioxydant voisin. Ceci se traduit par la valeur de leurs IC₅₀ respectives (32.190 et 35.928 µg/ml) et de leur activité anti radicalaire.
- L'extrait n-butanol est 2 fois plus faible que l'acide ascorbique (Vc).
- L'extrait éther de pétrole a une très faible activité antioxydante par rapport à l'acide ascorbique antioxydant.

L'acide ascorbique est utilisé comme conservateur dans l'industrie alimentaire. Il semble que la vitamine C (l'acide ascorbique) est l'antioxydant le plus efficace par rapport les extraits étudiés. Parmi les quatre extraits, l'extrait de l'acétate d'éthyle est le plus actif dont IC₅₀ égale à 32.190 µg/ml, suivi par les extraits de dichlorométhane et n-butanol avec des valeurs respectivement (35.928 µg/ml et 49.365µ g/ml), et finalement l'extrait de l'éther de pétrole qui semble être la moins performante avec un IC₅₀ de 61.569 µg/ml. En général, nos extraits ont une activité antioxydant.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Le travail que nous avons mené sur l'étude phytochimique et l'activités antioxydante de principes actifs des graines de *Ridolfia segetum* provenant du sud Algérien (wilaya d'Bechar commune d'Boukais) nous a permis de dégager les points essentiels suivants :

Les principes actifs ou métabolites secondaires des végétaux constituent une source inépuisable de molécules dotées de propriétés médicamenteuses très recherchées dans le domaine pharmaceutique.

Les résultats des tests phytochimiques préliminaires de coloration et de précipitation laissent penser à l'existence prépondérante de coumarines, de flavonoïdes, de tanins ..., et d'alcaloïdes. Il apparaît également de ces tests que de les graines de la *Ridolfia segetum* très peu de saponines, et phlobatannins et les triterpènes ils sont absents dans notre plante

On utilise la méthode macération pour extraire les principes actifs de la plante ils sont ensuite séparés en fonction de différents solvants de polarité croissante. L'extraction de ces principes actifs a permis d'obtenir des rendements qui sont différentes en fonction des solvants utilisés (4.59% pour l'extrait aqueux, 3.44% pour l'extrait n-butanol, 2.29% pour l'extrait éther de pétrole, et pour l'extrait dichlorométhane et acétate d'éthyle sont très faibles rendements respectivement 0.11% et 0.07%).

Les principes actifs des graines de la *Ridolfia Segetum* ont été séparés et caractérisés par chromatographie (CCM, CG/MS).

Les résultats des analyses qualitatives et quantitatives obtenues en CG / MS aident à identifier 47 composés, nous mentionnons certains d'entre eux sont : Phenol, 2,4-bis(1,1-diméthylethyl)- ; 1-Undecene, 4-méthyl- et Undecane, 2,8-diméthyl- ; Heptane, 2,5,5-triméthyl- et à Oxalic acid, allyl pentyl ester ; Phenol, 2,4-bis(1,1-diméthylethyl)- et 1,1':3',1"-Terphenyl, 3,3",5,5"-tetrabromo-5-(3,5-dibromophenyl)-.

Conclusion Générale

L'activité antioxydante des extraits de *Ridolfia Segetum* été évaluée par méthode de piégeage de radical libre DPPH. D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante ($IC_{50}=32.190$, $IC_{50}=35.928$, $IC_{50}=49.365$, $IC_{50}=61.569$) ($\mu\text{g/ml}$) ont montré que les extraits méthanoliques possèdent une activité antioxydante.

Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de *Ridolfia Segetum* comme plante médicinale traditionnelle très largement utilisée dans les pays du bassin méditerranéen, nous proposons l'exploitation des plantes médicinales et encourageons leur utilisation domestique ou médicale.

Références

Bibliographiques

- [1] Adjanooum. J. E; Aké-Assi. L; Floret. J. J; Guinko. S; Koumaré. M; Ahyi. A. M. R; Raynal. J, 1979, Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, 291, ACCT, Paris.
- [2] Beloued, A., "Plantes médicinales d'Algérie", OPU, Alger. 1998; b) Sallé, J.L., "Le Totum en Phytothérapie" Approche de phytothérapie. Ed Frison-Roche. Paris 1991; c) Valnet, J., « Aromathérapie », Traitement des maladies par les essences de plantes. Ed. Vigot, 2001.
- [3] BOURGAUD F., GRAVOT A., MILESI S., et GONTIER E.; 2001; Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; Plant Science 161, p: 839-851.
- [4] KAR A.; 2007; Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: NEW AGE INTERNATIONAL PUBLISHERS; p: 1-30.
- [5] Gaussen. H et Leroy. H. F, 1982, Précis de botanique, végétaux supérieurs, 426, 2ème Ed.
- [6] Ozenda. P, 1977, Flore du Sahara, 250-259, Ed CNRS, Paris. France.
- [7] Dewick PM. The biosynthesis of shikimate metabolites. Nat. Prod. Rep. 1995, 12: 579-607.
- [8] Renneberg R. Biotechnology pour des débutants. Elsevier, 2008 ; Pp. 92-138.
- [9] Shastri V. Industrial Biotechnology. Maison d'édition de Gyan, 2006 ; Pp. 1-38.
- [10] CUENDET M., 1999. Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « Fagraea blumei » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « Bartsia alpina » (Scrophulariaceae), « Loiseleuria procumbens » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.
- [11] GRAVOT A., 2008. Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.
- [12] KANSOLE M., 2009. Etude ethnobotanique, phytocimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- [13] THOMAS ; O.P., 2009. Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Université Nice Sophia Antipolis.

- [14] CUENDET M., 1999. Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.
- [15] VERMERRIS W., 2006. Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).
- [16] BENAYACHE F. Étude phytochimique et biologique de l'espèce thymus numidicus Poiret université Constantine 2013 pp 23-34.
- [17] ATTOU A. contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (fidjel) de la région d'Ain Témouchent université Abou Bekr belkaid Tlemcen 2010-2011 pp 9-15.
- [18] VERPOORTE R. et ALFERMANN A.W.; 2000; Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism; Ed: KLUWER ACADEMIC; p: 1- 23.
- [19] Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- [20] Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Therapeut. p96, 67– 202.
- [21] Maamri S, « Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens », Thèse pour l'obtention du diplôme de Magister (Université M'HAMED BOUGARA Boumerdes), 2008.
- [22] Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes 2005.pp 121-216.
- [23] WALTON N.J. et BROWN D.E.; 1999; Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: WORLD SCIENTIFIC; p: 1-14.
- [24] DAAYF F. et LATTANZID V.; 2008; Recent Advances in Poly phenol Research 1; Ed: WILEY-BLACKWELL; p:1- 24
- [25] Laraoui Habiba, 2007, étude phytochimique de l'extrait chloroformique de *Bulpleurum atlanticum*, Thèse de Magister, Université El Hadj Lakhdar Batna, Option : chimie organique, 35.

- [26] Dave-Oomah. B, 2003, Bulletin IBP, numéro 1, Canada.
- [27] Boizot. N et Charpentier J. P, 2006, Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, INRA - Amélioration génétique et physiologie Forestières, Laboratoire d'analyses biochimiques, le cahier des technique de l'INRA, 79- 80..
- [28] Harborne J.B., 1980. Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series ,8, 329-402.
- [29] Bruneton J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- [30] Clifford M.N. (1999). Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida. 41 (5): 393-397.
- [31] D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità*. 43(4) : 348-361.
- [32] Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A.-R., Simonic M. et Knez Z. (2005). Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.
- [33] Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.
- [34] Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007). Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Archives Pharmacal Research*. 30: 07-13.
- [35] Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008). Les polyphénols du raisin. Ed :Springer. 6 :75-82.
- [36] Podsedek A., Wilska-Jeszka J., Anders B., Markowski J. (2000). Compositional characterisation of some apple varieties. *European Food Research and Technology*. 210: 268-272.
- [37] Diehl, M. A., Schulz, C. M., Shaw, D. A., and Williams, T. M., "Bioflavonoïds: a new approach in cosmetics." *Cosmetics & toiletries manufacture worldwide*, 2001, p.6.

- [38] Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). Editions Tec & Doc Lavoisier, 1120p.
- [39] Ayad R, « recherche et détermination structurel des métabolites secondaires de l'espèce: *Zygophyllum cornutum* », Thèse pour l'obtention du diplôme de Magister (université Mentouri de constantine), 2008, P55-P62.
- [40] Lhuillier A, « Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* hook. F ex oliver, *agauria polyphylla* baker (ERICACEAE), *tambourissa trichophylla* baker (monimiaceae) et *embelia concinna* baker (myrsinaceae) », Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat (Ecole doctorale de Toulouse), 2007, P20.
- [41] Addy M. E. and Burka J.F., Effect of *Desmodium adscendens* fraction F1 [DAFL] on tone and agonist-induced contractions of guinea pig airway smooth muscle. 1989a. *Phytotherapy Research* 3: 85 - 90.
- [42] Edwin Haslam, 1996. *J. Nat. Prod* ,59, 205-215.
- [43] PRIVAS E., 2013- Matériaux ligno-cellulosiques «Élaboration et Caractérisation laboration ». Thèse de Doctorat en Science et génie des matériaux, L'École Nationale Supérieure des Mines, Paris. France. 166 p.
- [44] CRUZ J.M., DOMINGUEZ J.M., DOMINGUEZ H., PARAJO J.C. , 2001- Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 49(5):2459-2464.
- [45] MURRY R. D. H., Mendez J., Brown S. A., 1982- the natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. 702 p.
- [46] SCALBERT A., WILLIAMSON G., 2000- Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*. Vol. (130): 2073-2085.
- [47] Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M. (2001). The in vitro dermal absorption and métabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances, *Food and Chemical Toxicology*. p39, 153-162.
- [48] Guignard, J.L. (1998). *Abrégé de botanique*, Masson (Ed). Paris. 212p.

- [49] Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L. (2003). Natural product: their chemistry and biological significance, *Journal of the American Oil Chemistry Society*. 80:65-70.
- [50] Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. p50, 120-123.
- [51] Bahaz M et Rachdi H, « Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhettinolepis Lonadoides* Coss (Tichert) », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla), 2010.
- [52] PERRET C., 2001- Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat .Université de Neuchâtel. Suisse. 184 p.
- [53] Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 2000, 63 (7), 1035-42.
- [54] Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: Evidence from animal studies. *J. Nutr.* 2003, 133: 3275-84.
- [55] Oszmianski J, Wojdylo A, Lamer-Zarawska E, Swiader K. Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chem.* 2007, 100 (2): 579-83.
- [56] Srivastava RC, Husain MM, Hasan SK, Athar M. Green tea polyphenols and tannic acid act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties. *Cancer Lett.* 2000, 153 (1- 2): 1-5.
- [57] Ames BN, Gold LS, Willett WC. The causes and prevention of cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995, 92: 5258-65.
- [58] Martin S, Andriantsitohaina R. Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann. Cardiol. Angéiol.* 2002, 51 (6): 304-15.
- [59] Yamanaka N, Samu O, Nagao S. Green tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate Cu²⁺ induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. *FEBS Lett.* 1996, 401: 230-4.
- [60] Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Pearson DA, Schmitz HH, Gosselin R, Keen CL. Cocoa inhibits platelets activation and function, *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 72:30-5.
- [61] Gerber M, Berta-Vanrullen I. Soja et phytoestrogènes. *Arch. Pédiatrie* 2006, 13 (6): 534-536.

- [62] Lainé E, Hano C, Lamblin F. Les lignanes phyto-œstrogènes du lin sont ils des bienfaiteurs méconnus ? *Phytothér.* 2007, 5: 121-8.
- [63] Funatogawa K, Hayashi S, Shimomura H, Yoshida T, Hatano T, Ito H, Hirai Y. Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.* 2004, 48 (4): 251-61.
- [64] Ruggiero P, Tombola F, Rossi G, Pancotto L, Lauretti L, Del Giudice G, Zoratti M. Polyphenols reduce gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection or VacA toxin administration in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006 50 (7): 2550-52.
- [65] Qureshi. N., Porter. J. W. (1981) In *Biosynthesis of isoprenoid Compounds*; Porter. J. W., Spurgeon. S. L. Eds ; Wiley : New York, Vol 1, pp 47-94.
- [66] Cram, D. G. and Mahmoud, G. S; *Chimie organique.* (1968) 2ème édition. Quatre-villars. pp 918-930.
- [67] Malecky, M. (2005). *Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins*, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- [68] Benaïssa, O. (2011). *Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres Chrysanthemum et Rhanterium*, Thèse Doctorat. 63p.
- [69] BHATS S.V., NAGASAMPIGIB B.A., SIVAKUMAR S.M., 2005- *chemistry of natural products*. Ed. narosa, Springer, Verlag Berlin Heidelberg. USA. 840 p
- [70] SPURGEON S.L., PORTER J.W., 1981- introduction in: *biosynthesis of isoprenoid compounds*. Ed. (J. W. porter, S. L. Spurgeon, eds.), John Wiley and Sons, New york-Chichester-Brisbae-Toronto. Pp 1-46.
- [71] SHARKEY T.D.H.E., 1991- *Stomatal control of trace gas emissions. Trace gas emission by plants. Physiological ecology. A series of monographs, texts, and treatises*. Ed. Ca, Academic press, San diego. USA. Pp 335-339.
- [72] LICHTENTHALER H.K., 1999- *The 1-deoxy-d-xylose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. annual review of plant physiology and plant molecular biology*. Vol. (50): 47-65.
- [73] GUIGNARD JL., 1996- *Biochimie végétale*. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.

- [74] Ayad, R. (2008). Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique. p 35-39, 40, 47.
- [75] Malecky, M. (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- [76] Belbache, H. (2003). Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora* Desf, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine. p 16-20.
- [77] WINK M., 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. Vol. (64): 3-19.
- [78] HERNANDEZ-OCHOA L.R., 2005- Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat. Institut national polytechniques, Toulouse. France. 255p.
- [79] GRAEBE J.E., 1987- Gibberlin biosynthesis and control. *Annu. Ruv. Plant physiol*. Vol. (38): 419-465
- [80] KRIEF S., 2003- Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzes (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de Doctorat. Museum national d'histoire naturelle, Ouganda. 49p.
- [81] . HANSON J. R., 2003- Natural products : the secondary metabolites. Ed. Royaume-Uni : Royal society of chemistry, Italy. 137 p.
- [82] R. H. F. Manske (dir.), *The Alkaloids: Chemistry and Physiology*, Chemistry and Physiology, Volume 1 à 20, Academic Press Inc., 1950 à 1981.
- [83] HESS M., 2002- Alkaloids, Nature's Curse or Blessing 1ère édition. Ed. WileyVCH, New York. USA. 297 p.
- [84] COWAN N. M., 1999- Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*. Vol. 12(4): 564-582.
- [85] GONZÁLEZ A.G., BARRERA J.B., GARCÍA T.Z., ROSAS F.E., 1984- Sesquiterpene lactones from *Centaurea* species. *Phytochemistry*. Vol. 23(9): 2071–2072.

- [86] MEDJROUBI K., BENAYACHE F., BENAYACHE S., AKKAL S., KHALFALLAH N., ACLINO P., 1997- Guaianolides From *Centaurea Musimomum*. *Phytochemistry*. Vol. (45), 1449-1451.
- [87] MCCALLEY D.V., 2002- Analysis of the Cinchona alkaloids by highperformance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A*. Vol (967): 1–19.
- [88] STÖCKIGT J., SHELUDKO Y., UNGER M., GERASIMENKO I., WARZECHA H., STÖCKIGT D., 2002- High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic– electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups Review. *Journal of Chromatography A*. Vol (967): 85–113.
- [89] GAZENGEL JM., ORECCHIONI AM., 2013- *Le préparateur en pharmacie – Guide théorique et pratique*. 2ème ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 1443 p.
- [90] ISMAIL I.S., ITO H., SELLOUM L., BOURICHE H., YOSHIDA T., 2005- Constituents of *Cleome arabica* leaves and twigs. *Natural Medicine*. Vol 59(1): 53.
- [91] Boitineau, M., *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 2010.
- [92] Fiche « Produire des semences de carotte dans un itinéraire agrobiologique », ITAB, Avril 2005.
- [93] Coste H., Jovet P., de Vilmorin R., « *Flore descriptive et Illustrée de la France* » Troisième supplément, Librairie Albert Blanchard, 1997.
- [94] www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-56198-synthese.
- [95] [h?q=ridolfia+segetum&um=1&hl=fr&safe=active&rlz=1W1RNWN_fr&tbm=isch&ei=iWXRTdesI an8QPlk6j9DQ&sa=N&start=162&ndsp=18&biw=1345&bih=368](http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-56198-synthese).
- [96] Tela Botanica , base de donnees nomenclaturale de la flore de france par Benoît Bock BDNFF v4.02, 2011. Disponible sur <http://www.tela-botanica.org>.
- [97] Youcef ADAMOU, 2012-Composition chimique et activité biologique de l’huile essentielle de l’Aneth : *Ridolfia segetum* de Magister en Chimie.Universite d'Oran es-senia. Algérie.
- [98] Trease, G.E., Evans, W.C. 1987. *Pharmacognosy*.13th edn. Brailliar Tiridel Can. Macmillian Publishers.

- [99] Harbone, J.B. 1973. *Phytochemical methods*. London. Chapman and Hall, Ltd, Pp. 49-188.
- [100] Sofowara, A. 1993. *Medicinal plants and traditional medicine in Africa*.
- [101] ALI KALLA., 2012- Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien. Thèse de doctorat en Science Exacte. Université Mentouri, Constantine, Algérie.
- [102] Hocine DADOUGI, en Université de Kasdi Merbah Algérie.
- [103] Ruffenach, Mathieu. Decroix, Sophie. *Physique Chimie 2de-Programme 2010*. Bordas, 2010. P.68. Collection E.S.P.A.C.E. ISBN 978-2-04-732759-3.
- [104] 1906 - Le botaniste russe, M. TSWETT, publie son livre: "Les chromophylles dans le monde végétal et animal", où sa méthode de séparation de pigments est décrite en détail.
- [105] Braithwaite and Smith 1985 - *Chromatographic Methods* - 4^{ème} éd., Chapman and Hall.
- [106] Savidan 1963 - *La chromatographie* - Dunod.
- [107] Bounias 1983 - *L'analyse biochimique quantitative par nanochromatographie en couche mince* - Masson.
- [108] www.lachimie.fr/analytique/chromatographie/CCM/ccm.php.
- [109] Gwenola Burgot, Jean-Louis Burgot, *Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications*, Lavoisier, 3^e édition, 2011.
- [110] www.lachimie.fr/analytique/chromatographie/CPG/CPG.php.
- [111] Ambrose Douglas (1961), *Gas chromatography*, Londres, Newnes, 220 p.
- [112] Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Darnell, J., Kaiser, C., Masson, L., "Biologie moléculaire de la cellule", 3^{ème} Ed. Deboeck, Bruxelles, 2005, p.94-95.
- [113] *Gas Chromatography and mass spectrometry : a practical guide*, Kitson, Larsen & McEwen, academic press, 1996.
- [114] Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M., Pridham J.B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research* 1995, 22, 375-383.
- [115] Burda S., Oleszek W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal*

of Agricultural and Food Chemistry 2001, 49, 2774-2779.

[116] Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., McDonald S., Robards K., Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 2002, 127, 183-198.

[117] Bartosz G. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology* 2003, 9, 5-21.

[118] Ricardo da Silva J.M., Darmon N., Fernandez Y., Mitjavila S. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1991, 39, 549-1552.

[119] Benzie I. F., Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 1996, 239, 70-76.

[120] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice- Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 1999, 26, 1231-1237.

[121] Sharma Om P., Bhat T.K., DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry* 2009, 113 (4), 1202.

[122] Berset C., 2006. Antioxydants phénoliques. Structures, propriétés, sources végétales. In *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, p. 265-294.

[123] Brand-Williams W., Cuvelier ME., Berset C., 1995. Use a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.

[124] Choe E., Min D.C., 2009. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 345-358.

[125] Cuvelier ME., Maillard MN., 2012. Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Oléagineux Corps gras Lipides*, 19 (2), 125-132.

[126] Frankel E. N., 2007. Chemistry of antioxidation. *In Antioxidants in food and biology, facts and fiction*. Frankel E.N. (Ed.). The Oily Press, 21-42.

[127] Mc Clements D., Decker E., 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science*, 65 (8), 1270-1282.

- [128] Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. (1998). Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci. Technol. Int.*, 4: 391-399.
- [129] Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci Food. Agric.*, 76: 270–276.
- [130] Gupta, V.K., Sharma, S.K. 2006. Plants as natural antioxidants. *Nat. Prod. Rad.*, 2006: 326-34.
- [131] Kaur, C., Kapoor, H.C. 2002. Antioxidant activity and total phenolic content of some asian vegetables. *Int. J. Food. Sci. Tech.*, 37: 153-61.
- [132] Ray, G., Hussan, S.A. 2002. Oxidant, antioxidant and carcinogenesis. *Indian J. Exp. Biol.*, 40: 1213-32.
- [133] http://www.gastro.medline.ch/Services_et_outils/Valeurs_standard_en_laboratoire/Valeurs_standard_en_laboratoire_Biochimie.php

Résumé

Ridolfia segetum, est une plante aromatique, médicinale, appartenant à la famille des apiacées, appelée communément (Karwiya el amya). Elle est spontanée, qui pousse en région méditerranéenne largement répandue en Afrique du nord, particulièrement en sud Algérie trouve dans la région d'Boukais wilaya de Bechar.

Notre travail porte sur l'extraction des principes actifs des grains de plante *Ridolfia segetum* ; où Les principes actifs ont une source inépuisable de molécules dotées de propriétés médicamenteuses très recherchées dans le domaine pharmaceutique.

Le screening chimique a mis en évidence la présence de tanins, flavonoïdes, coumarines, stéroïdes, saponines et d'alcaloïdes, dans la plante étudié. les principes actifs contenus dans les graines de *Ridolfia Segetum* , ont été extraits par méthode de macération et séparés en fonction de différents solvants de polarité croissante .Les méthodes chromatographique disponibles que nous avons utilisées nous ont permis de caractériser les différents principes actifs isolés.

L'analyse chromatographique par CG/MS indique que les principes actifs consistent en 47 composés identifiés. Aussi bien l'activité antioxydante, montrent que nos extraits ont une faible activité antioxydante en comparaison avec celle de l'acide ascorbique qui est un antioxydant puissant.

Mots clés : Les principes actifs ou métabolites secondaires, *Ridolfia segetum*, Macération, Chromatographie, Activité antioxydante, Région d'Boukais.

Abstract

Ridolfia segetum, is an aromatic plant, medicinal, belonging to the family apiaceae, commonly called (Karwiya el amya). It is spontaneous, which grows in the Mediterranean region widely spread in North Africa, particularly in southern Algeria found in the region of Boukais wilaya of Bechar.

Our work focuses on the extraction of the active ingredients of the plant seeds *Ridolfia segetum*; where Active ingredients have an inexhaustible source of molecules with highly sought-after drug properties in the pharmaceutical field.

The chemical screening showed the presence of tannins, flavonoids, coumarins, steroids, saponins and alkaloids, in the plant studied. The active ingredients contained in the seeds of *Ridolfia Segetum*, were extracted by maceration method and separated according to different solvents of increasing polarity. The available chromatographic methods that we used allowed us to characterize the various isolated active ingredients.

Chromatographic analysis by GC / MS indicates that the active ingredients consist of 47 identified compounds. As well as the antioxidant activity, show that our extracts have a low antioxidant activity in comparison with that of ascorbic acid which is a powerful antioxidant.

Key words: Active ingredients or secondary metabolites, *Ridolfia segetum*, Maceration, Chromatography, Antioxidant activity, Boukais region.