



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

Etude comparative de la composition chimique des feuilles de la plante *Hedera helix L.* Algérienne et Allemande

Présenté et soutenu par : Khaoula SENSRI

Le : 22/06/2017

Zineb EL BAR

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : N. BOUTAGHANE (MCA-UFM Constantine)

Rapporteur : S. TENIOU (MAA-UFM Constantine)

Examineur : N. BOUANINBA (MCB-UFM Constantine)

Année universitaire
2016 - 2017



Remerciement

Avant de débiter ce modeste travail, il nous est particulièrement agréable d'exprimer nos gratitudes et nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, le tout puissant, qui nous a donné la force et le courage pour poursuivre nos études.

Nous voudrions remercier vivement notre encadreur de recherche Mme Soumia TENIOU d'avoir accepté de diriger ce travail, sans ses orientations et ses précieux conseils, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nous tenons à témoigner nos gratitudes aux membres du jury Mm N BOUTAGHANE et Mr N BOUANINBA d'avoir assistés pour évaluer notre travail.

Nos remerciements vont également à tous les enseignants qui nous ont suivies tout au long de notre formation au sein de l'université Frères Mentouri surtout Mr BENSEGNI et Mr Kamel BAZRI.

Nous voudrions témoigner nos profondes reconnaissances au laboratoire JANISMED pour sa collaboration d'avoir mis tous les moyens à notre disposition pour accomplir ce travail.

Nous adressons nos remerciements aux techniciens du laboratoire de Biochimie qui nous ont aidés à la réalisation de la partie pratique de notre mémoire.

Nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance vont à tous les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

.....à vous tous, merci.

Liste des abréviations

SNV : science de la nature et de la vie

Im : indice de mousse

v/v : volume/volume

CCM : chromatographie sur couche mince

HPLC : *High-Performance liquid chromatography*

R% : rendement pour cent

Rf : rapport frontal

L : extrait local (Algérien)

A : extrait Allemand

UV : ultra violet

T: témoin

RT : temps de rétention

AU : *Arbitrary unit*

Liste des figures

Figure 01: tige d'une plante volubile.....	05
Figure 02: tige d'une plante à Vrilles.....	05
Figure 03: tige d'une plante à Crampons.....	06
Figure 04: <i>Hedera helix</i>	06
Figure 05: Tige à crampons.....	07
Figure 06: feuilles de Lierre.....	09
Figure 07: fleurs de Lierre.....	09
Figure 08: fruits de Lierre.....	10
Figure 09: répartition géographique d' <i>Hedera helix L.</i>	10
Figure 10: complément alimentaire à base des feuilles de lierre Allemand.....	12
Figure 11 : structure de base des polyphénols.....	14
Figure 12 : structure de base des flavonoïdes.....	16
Figure 13 : structure des alcaloïdes	19
Figure 14 : structure de base de l'isoprène.....	21
Figure 15 : squelette de base des triterpènes tétracycliques.....	22
Figure 16 : squelette de base des stéroïdes.....	22
Figure 17: structure d'Hederacoside C et d'alpha hederin.....	23
Figure 18: carte géographique de la région de Zighoud Youcef.....	26

Figure 19: séparation de la phase chloroformique à l'aide d'une ampoule à décantée.....	31
Figure 20: le chauffage à reflux utilisé pour l'extraction.....	33
Figure 21: Évaporateur rotatif.....	33
Figure 22: filtration sous vide.....	34
Figure 23: HPLC utilisé dans notre travail analytique.....	37
Figure 24: bain ultrasons.....	38
Figure 25: filtre-seringues.....	39
Figure 26: support d'HPLC.....	39
Figure 27: colonne d'HPLC.....	39
Figure 28: chromatogrammes des deux extraits effectués avec l'éluant (Acide formique/Acétone/Méthanol/Acétate d'éthyl).....	50
Figure 29: chromatogramme du Blanc obtenu par l'HPLC.....	52
Figure 30: chromatogramme du Standard obtenu par l'HPLC.....	53
Figure 31: chromatogramme d'Extrait algérien obtenu par l'HPLC.....	54
Figure 32: courbe récapitulatif du chromatogramme obtenu pour le standard.....	56
Figure 33: courbe récapitulatif du chromatogramme obtenu pour l'extrait.....	56

Liste des tableaux

Tableau 01: Classification classique d' <i>Hedera helix</i> L.....	07
Tableau 02: principales classes des composés phénoliques.....	14
Tableau 03: différents types des flavonoïdes.....	16
Tableau 04: principaux types d'alcaloïdes et leurs précurseurs.....	20
Tableau 05: différents types des terpénoïdes.....	21
Tableau 06: Gamme de dilution décroissante de l'extrait pour mesurer l'indice de mousse.....	29
Tableau 07: les deux éluants utilisés pour la réalisation de la CCM.....	36
Tableau 08: résultats du criblage de l'extrait local et Allemand.....	41
Tableau 09: résumé des résultats du criblage des métabolites secondaires...	46
Tableau 10: hauteur de la mousse des deux extraits.....	48
Tableau 11: différents types de révélateurs réalisés sur les chromatogrammes obtenus par l'éluant (n-Butanol/Acide acétique/Eau) des deux extraits.....	49
Tableau 12: tableau récapitulatif des résultats du CCM.....	50
Tableau 13: résultats des chromatogrammes du standard et l'extrait local.....	55

Plan de travail

Introduction	02
I. Analyse bibliographique	
1. Définition des plantes grimpantes	05
1.1. Principales catégories des plantes grimpantes.....	05
1.1.1. Plantes Volubiles	05
1.1.2. Plantes à Vrilles.....	05
1.1.3. Plantes à Crampons	06
2. Définition de l' <i>Hedera helix L</i>	06
3. Classification systématique	07
4. Historique de lierre.....	08
5. Caractéristiques	08
5.1. Description botanique d' <i>Hedera helix</i>	08
5.1.1. Feuilles.....	08
5.1.2. Fleurs	09
5.1.3. Fruits	09
6. Répartition géographique	10
7. Intérêt biologique et pharmaceutique d' <i>Hedera helix L</i>	11
7.1. Usage interne	11
7.1.1. Anti spasmodique	11
7.1.2. Anti inflammatoire	11
7.1.3. Anti bactérienne	11
7.1.4. Effet cholagogue	11
7.1.5. Activité expectorant	11
7.1.6. Anti tussif	12
7.2. Usage externe	12

7.2.1. Bronchite chronique	12
7.2.2. Trachéites	12
7.2.3. Laryngites	12
7.3. PROLIERRE®.....	12
8. Définition des métabolites secondaires.....	12
8.1. Classification des métabolites secondaires.....	13
8.1.1. Composés phénoliques.....	14
8.1.1.1. Définition	14
8.1.1.2. Classification des composés phénoliques	14
➤ Acides phénoliques.....	15
➤ Flavonoïdes.....	15
➤ Tanins	18
8.1.2. Alcaloïdes	18
8.1.2.1. Définition.....	18
8.1.2.2. Classification des alcaloïdes.....	19
➤ Pseudo-alcaloïdes	19
➤ Proto-alcaloïdes.....	19
➤ Alcaloïdes vrais.....	19
8.1.3. Terpénoïdes et Stéroïdes	21
8.1.3.1. Définition.....	21
8.1.3.2. Triterpènes et stéroïdes.....	22
➤ Saponosides	23
8.2. Propriétés biologiques des métabolites secondaires	23
8.3. Principaux métabolites secondaires d' <i>Hedera helix L.</i>	24

II. Matériels et méthodes

1. Identification de la plante	26
2. Récolte de la plante.....	26
3. Criblage des métabolites secondaires.....	26
4. Criblage des flavonoïdes, Polyphénols et Tanins	27

4.1. Préparation de l'infusé.....	27
4.2. Criblage des flavonoïdes.....	27
4.3. Criblage des polyphénols.....	27
4.4. Criblage des tanins condensés	28
4.4.1. Criblage des tanins catéchiques	28
4.5. Criblage des triterpènes.....	28
4.6. Criblage des Saponosides	28
4.7. Criblage des Quinones	30
4.8. Criblage des alcaloïdes.....	30
4.9. Criblage des dérivés Anthracéniques	30
4.9.1. Extrait chloroformique	30
4.9.2. Hydrolysat.....	31
4.9.3. Criblage des anthracéniques libres	31
4.9.4. Criblage des dérivés anthracéniques combinés	31
4.9.4.1. O-hétérosides (anthraquinones).....	31
4.9.4.2. O-hétérosides à génines réduites.....	32
4.9.4.3. C-hétérosides.....	32
5. Extraction	32
5.1. Chauffage à reflux.....	32
5.2. Évaporateur rotatif.....	33
5.3. Protocole expérimental.....	34
5.4. Détermination du rendement.....	35
6. Chromatographie sur couche mince	35
6.1. Protocole expérimental.....	35
6.2. Révélation.....	36
7. Chromatographie en phase liquide à haute performance	37
7.1. Protocole d'expérimentation.....	37

III. Résultats et discussions

1. Résultats du criblage	41
--------------------------------	----

2. Détermination du rendement d'extraction	48
3. Résultats de la CCM.....	48
4. Résultats de la chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC	51
Conclusion.....	59
Bibliographie	
Résumé	

Introduction



Introduction

Les plantes médicinales jouent un rôle très important dans la recherche pharmacologique, elles renferment un nombre indéfini de principe actif et elles contribuent à la synthèse de 70% de nos médicaments. Les constituants de ces plantes peuvent être directement utilisés comme agent thérapeutique ou comme matière première utilisée dans la production des médicaments, donc ils sont l'objet de nombreuses recherches comme l'identification des substances actives des plantes. (AMEENAH, 2006 ; FABRE. A. J. 2003)

Depuis l'antiquité le lierre grimpant ou l'*Hedera helix* présente une plante très répandue dans le domaine de la phytothérapie (GHAS et al. 2011), connu pour traiter les bronchites et les rhumes. Les usages médicaux qu'ils avaient étaient beaucoup plus nombreux que les usages actuels. Notre époque est profondément marquée par la recherche d'une vie plus saine, d'un retour à la nature donc la poursuite de la recherche sur le lierre à prouver qu'il permet de traiter les inflammations des bronches, des voies respiratoires notamment les symptômes de la bronchite chronique et de soulager la toux. (CWIENTZEK et al. 2011 ; AMEENAH, 2006)

Le repère de départ était un complément alimentaire (PROLIERRE®) fabriqué en Algérie à base de cette plante, ce produit est un fluidifiant qui sert à dégager les voies respiratoires et soulage la toux (FINTELMANN et al. 2004). Le laboratoire producteur utilise dans la production de ce complément un extrait importé d'Allemagne obtenu à partir des feuilles de lierre riche en molécule d'intérêt l'Hederacoside C (LUTSENKO et al. 2010). L'Algérie est un pays connu par la richesse de sa flore en plusieurs milliers d'espèces botaniques y-compris le lierre. (QUEZEL et al. 1963). Si le lierre algérien contient la substance active spécialisée pourquoi ne pas traiter son extrait et l'utiliser dans la fabrication de ce complément ou n'importe quel produit pharmaceutique fabriqué à base de cette plante ?

Dans ce contexte et afin de réaliser une étude comparative entre la teneur des feuilles d'*Hedera helix L* algériennes et allemandes en métabolites secondaires et mettre en évidence la substance active « Hederacoside C » dans le lierre algérien. Notre travail a été effectué en quatre étapes :

Dans la première étape, sont reportées des études bibliographiques effectuées sur le lierre et les métabolites secondaires.

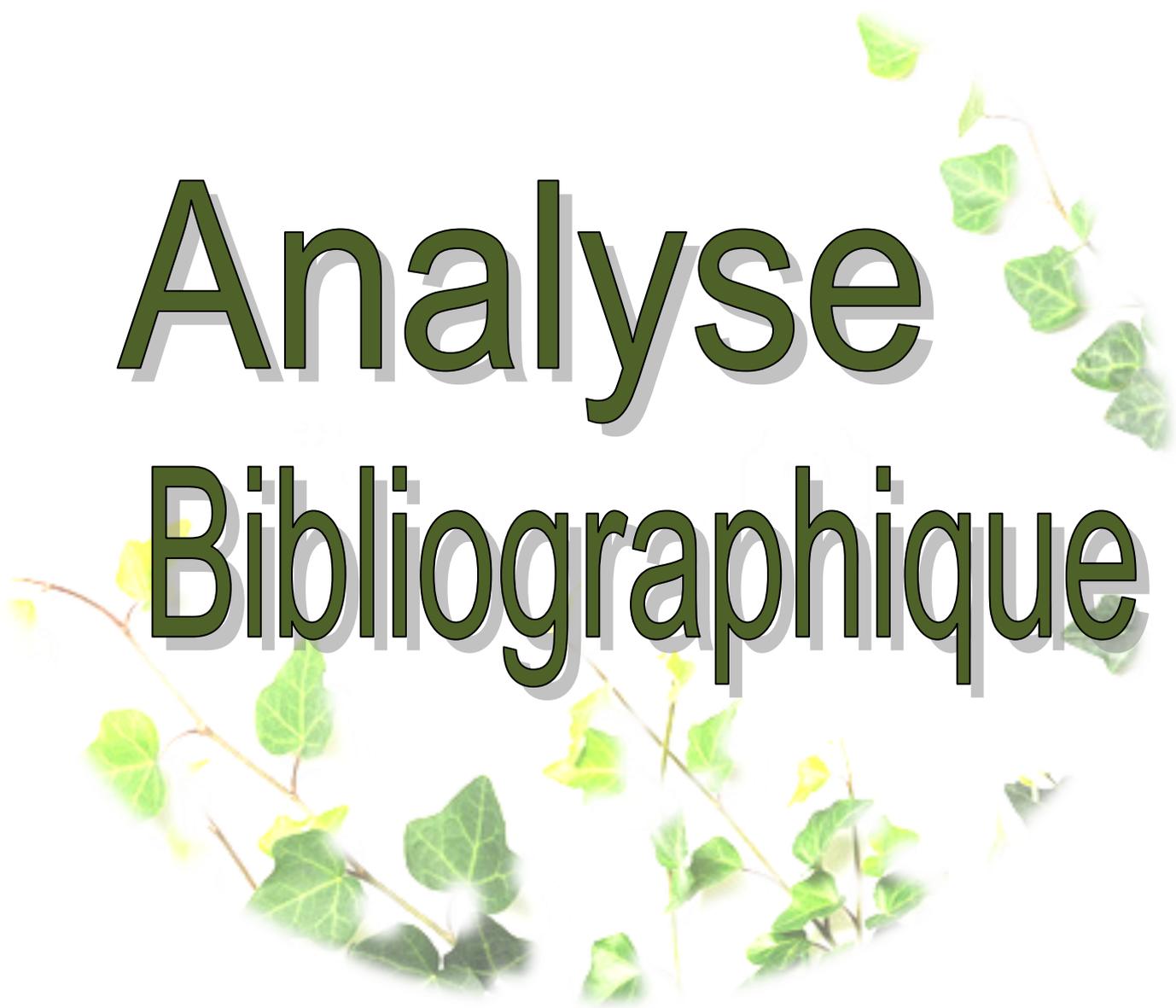
La deuxième étape est consacrée sur un criblage des différents métabolites des feuilles de notre plante et d'extrait des feuilles ramené d'Allemagne.

Dans la troisième étape, une extraction des métabolites secondaires a été effectuée sur les feuilles d'*Hedera helix L.*

Enfin une étude analytique par chromatographie sur couche mince (CCM) et chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) a été établie sur notre extrait et sur l'extrait étranger afin de réaliser une comparaison de la composition chimique entre les deux extraits, et vérifier l'existence du principe actif « Hederacoside C » dans notre lierre « *Hedera helix L.* ».

Analyse

Bibliographique



I. Analyse bibliographique

1. Définition des plantes grimpantes

Une plante grimpante désigne une plante dont la tige ne peut s'élever verticalement sauf à l'aide d'un support tel que les murs, les arbres, les arbustes, les clôtures, etc. Elles sont caractérisées par une longue tige souple, facile à se multiplier.

1.1.Principales catégories des plantes grimpantes

On distingue plusieurs catégories des plantes grimpantes selon le type de la tige.

1.1.1. Plantes Volubiles

Ces plantes s'enroulent en spirale au tour de leur soutien (**Figure 1**). Exemples : chèvrefeuilles, Glycines, volubilis etc. (**BERNIER. 2011**)



Figure 01 : tige d'une plante volubile

1.1.2. Plantes à Vrilles

Ces plantes émettent des pétioles secondaires qui s'enroulent et se fixent naturellement au support (**Figure 2**). Exemples : vigne, Clématites et Passiflore. (**BERNIER. 2011**)



Figure 02 : tige d'une plante à Vrilles

1.1.3. Plantes à Crampons

Ces plantes possèdent des rameaux porteurs, des racines adventives aériennes s'agrippent aux surfaces rugueuses (**Figure 3**). Exemples : Lierre, hydrangée grimpant. (**BERNIER, 2011**)



Figure 03 : tige d'une plante à Crampons

2. Définition d'*Hedera helix L*

Hedera était le nom latin du lierre et venait de *haerere* signifiant s'attacher, puisqu'elle a des racines crampons qui permettent à la plante de s'attacher aux supports. *Helix* se traduit par spirale. Connue aussi sous le nom d'herbe de Saint-Jean, lierre de poète, lierre à cautère ou lierre grimpant (**Figure : 4**). C'est une espèce de la famille *Araliaceae*. (**CINDY, 2009**)



Figure 04 : *Hedera helix*

Le lierre est une liane culturelle et médicinale très ancienne. C'est une plante vivace dont sa longueur pouvant atteindre 25 à 30 mètres. Il s'attache à son support grâce à des racines ayant des ventouses à leurs extrémités (racines crampons **Figure 5**). Il s'agit d'une

plante vigoureuse à feuilles persistantes poussant dans les forêts humides (à l'état sauvage), où il s'agrippe aux arbres par ses racines.



Figure 05 : Tige à crampons

Le lierre qui est considéré depuis longtemps comme parasite ne l'est pas vraiment au sens vrai, il peut seulement étouffer les plantes qui lui servent de support. Le lierre grimpant a plusieurs propriétés parmi eux antitussif et antispasmodique dans les inflammations chroniques, etc. (FINTELMANN et WEISS, 2004)

3. Classification systématique

La classification d'*Hedera helix* est citée au **Tableau 1** ci-dessous :

Tableau 01 : Classification classique d'*Hedera helix* L

Règne	Plantae
Sous règne	Tcheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Apiales
Famille	Araliaceae
Genre	<i>Hedera</i>
Espèce	<i>Hedera helix</i> L

4. Historique du lierre

Les anciennes civilisations utilisaient le lierre comme un remède pour guérir plusieurs maladies. Les grecs et sans qu'ils le sachent en croyant que c'est le dieu du vin qui s'appelle Bacchus qui leurs protège contre certaines maladies après macérer le lierre et le considérer comme un vin (**BERNIER. 2011**). Ce Dieu portait une couronne de feuilles de lierre en croyant qu'elle permet la protection des buveurs. (**FABRE, 2003**)

Beaucoup de propriétés médicinales peuvent être accordées au lierre grâce leurs effets thérapeutiques. Voila quelques utilisations de lierre par les anciennes civilisations :

- Le lierre avec l'huile d'olive soigne les oreilles purulentes.
- Le jus des feuilles permet de se débarrasser des mauvaises odeurs du nez et détruit les poux.
- le jus de la racine : en boisson traite les morsures d'araignées venimeuses.

Il été recommandé de faire tremper du lierre dans l'eau froide, le cuire et le manger contre la langueur et aussi le mettre autour de la tête cela permet de diminuer sa lourdeur et empêche les bourdonnements d'oreilles.

En Allemagne et depuis 1988 les feuilles de lierre ont été utilisées pour guérir les infections, les inflammations des voies respiratoires et la bronchite chronique d'origine inflammatoire. (**ROUSSEAU, 2007**)

5. Caractéristiques

5.1. Description botanique d'*Hedera helix*

Le lierre grimpant est une plante rustique, lianeuse, vigoureuse et ligneuse qui peut mesurer jusqu'à 30 mètres. Il grimpe à l'aide des crampons qui sont de courtes racines aériennes. La longueur de cette liane peut arriver de 15 à 30 cm chaque année.

5.1.1. Feuilles

Les feuilles sont alternes, persistantes, régides, de couleur verte foncée et luisantes. Elles peuvent être de couleur blanche au niveau du contour du limbe (**Figure 6**). Elles fournissent la drogue végétale, qui renferme principalement des saponines triterpéniques, des glucosides flavoniques et des acides phénols etc. (**FINTELMANN et WEISS. 2004**)



Figure 06 : feuilles de Lierre

5.1.2. Fleurs

Les fleurs de lierre sont petites possèdent cinq pétales jaune-verdâtre. Elles sont disposées en petites ombelles terminales simple assez denses et de forme globuleuse (Figure7).



Figure 07 : fleurs de Lierre

5.1.3. Fruits

Les fruits sont des drupes, d'abord, vertes après marrons et enfin noires à la maturité, sous forme globuleuse et charnus. Chaque baie renferme trois à cinq graines brunâtres de consistance spongieuse (Figure 8). (MARTIN. 2014 ; DUPONT et *al.* 2007; BEDRY. R et *al.* 1997)



Figure 08 : fruits de Lierre

6. Répartition géographique

L'*Hedera helix L* est une espèce très répandue dans le monde entier, il pousse en Europe, en Asie, en Afrique et aussi en Amérique.

En Algérie, le Lierre est une plante fréquente dans tous le pays sauf dans les régions arides. Présenté sur des arbres, des rochets, des bâtiments, des haies et aussi peut se ramper parfois sur le sol, l'*Hedera helix* se retrouve à l'état sauvage comme il peut être cultivé. (BEDRY. R et al. 1997)

La répartition géographique d'*Hedera helix* dans le monde entier est motionnée dans la carte suivante (figure : 9).



Hedera helix L

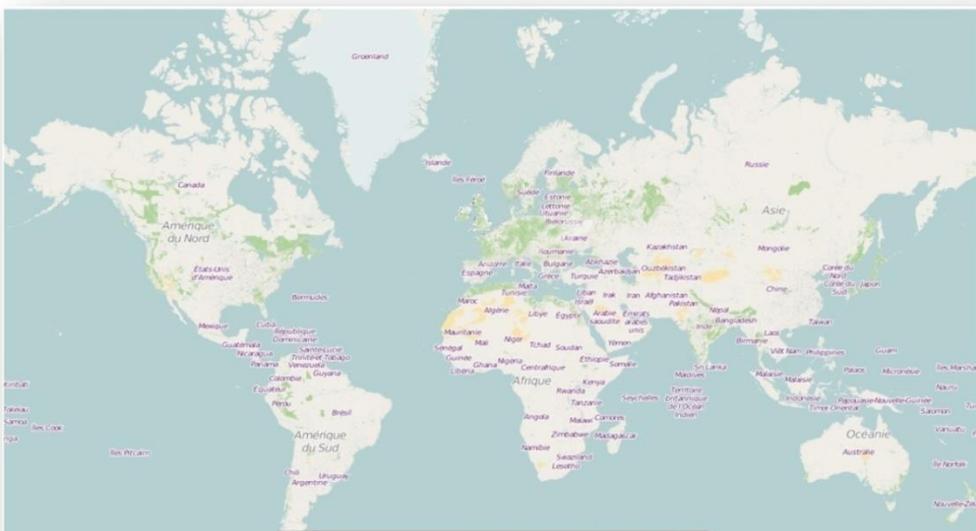


Figure 09 : répartition géographique d'*Hedera helix L*

7. Intérêt biologiques et pharmaceutiques d'*Hedera helix L*

Depuis l'antiquité les feuilles de lierre étaient une recette des mamans qui guérissait plusieurs maladies et qui apportait beaucoup de bienfaits à la santé humaine. Leurs importances résident dans le type d'utilisation, il peut être soit interne ou externe. **(BEDRY. et al. 1997)**

7.1. Usage interne

7.1.1. Anti spasmodique : comme leur nom l'indique ce sont des substances médicamenteuses destinées à traiter les spasmes (digestifs ou génito-urinaires) -Les spasmes sont des contractions intenses brutales de la musculature dite involontaire ou lisse -. **(JAULIN. 2004)**

Les saponines présentes dans les feuilles de lierre: Hederacoside C et α -hederin, ainsi les composés phénoliques ont montré une activité antispasmodique contre les contractions induites par l'acétylcholine d'un iléon isolé de cobaye **(LUTSENKO et al. 2010 ; JAULIN. 2004).**

7.1.2. Anti inflammatoire : destiné à combattre les inflammations. Certain nombre d'études ont montré que les feuilles de lierre ont des effets anti-inflammatoires. Il est certainement bien connu que les saponines des feuilles de Lierre, comme l'alpha-hédérine et l'Hederasaponine-C, présentent également des effets anti-inflammatoires. **(GHAS et al. 2011 ; FINTELMANN et al. 2004)**

7.1.3. Anti bactérienne : Une étude montre que l'extrait des feuilles de lierre possède une activité contre des souches de bactéries. D'autres études démontrent que ces feuilles ont des actions antifongiques. Ces activités inhibent le développement des bactéries ou les détruites par la présence des saponines triterpénoïdes étaient censées avoir des actions antimicrobiennes. **(GHAS et al. 2011)**

7.1.4. Effet cholagogue : se dit des substances qui facilitent l'évacuation ou l'élimination de la bile. **(BEDRY et al. 1997)**

7.1.5. Activité expectorant : favorise l'expulsion par la bouche des sécrétions des contenues dans la trachée, les bronches ou les poumons. **(BEDRY et al. 1997)**

7.1.6. Anti tussif : substance censée arrêter la toux. Le Lierre grim pant peut soulager la toux en cas de coqueluche. (**FINTELMANN et al. 2004 ; KRIEF.2003**)

7.2. Usage externe

Surtout utilisé pour traiter les brulures, les plaies, les cors. Voila quelques exemples des maladies que le lierre peut guérir.

7.2.1. Bronchite chronique : est une inflammation des bronches provoquant toux et crachats pendant deux à trois mois par an plus de deux années successives. (**Marta. M et al. 2011**)

7.2.2. Trachéites : une inflammation de la trachée, qui peut être d'origine mécanique. (**BEDRY et al. 1997**)

7.2.3. Laryngites : est une infection de la gorge et plus précisément du larynx et des cordes vocales. Il s'agit d'une maladie courante le plus souvent bénigne. Le lierre peut aussi guérir les rhumatismes, la lithiase biliaire, l'hypertension et facilite la menstruation chez la femme. (**BEDRY et al. 1997**)

7.3. PROLIERRE®

C'est un complément alimentaire destiné à traiter quelques maladies respiratoires ; il s'agit d'un produit dont le principe actif est un extrait des feuilles de lierre commercialisé sous le nom de PROLIERRE® (**figure : 10**), présenté sous forme de solution.



Figure 10 : complément alimentaire à base des feuilles de lierre Allemand

Un Bronchodilatateur secretolytique qui permet le soulagement de la toux qui se trouve en une seule forme pour toutes les tranches d'âge. C'est un produit sans alcool, sans sucre et sans colorant.

Le laboratoire producteur de PROLIERRE®, JANISMED, utilise une matière première importée d'Allemagne (le lierre est reconnu depuis 1988 en Allemagne pour traiter les infections et les inflammations des voies respiratoires). Cette matière est sous forme d'extrait qui possède la substance active (Hederacoside C) obtenue après extraction et purification.

- La formule chimique d' Hederacoside C : $C_{59}H_{96}O_{26}$
- Le poids moléculaire d' Hederacoside C : 1221.391 g/mol

8. Définition des métabolites secondaires

Toutes les plantes supérieures possèdent des métabolites dites secondaires, contrairement aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides etc. Ces métabolites secondaires qui sont synthétisés dans une partie de la plante, s'accumulent en faible ou en grande quantité dans une autre partie. Il y a plus de 200000 molécules ont été identifiées, qui sont ordonnées selon leurs identités chimiques en trois classes. **(MACHEIX. et al. 2005)**

On appelle métabolite secondaire des composés biosynthétisés naturellement par les végétaux, qui ne participent pas directement à son développement. Ces métabolites sont responsables des fonctions périphériques essentielles à la survie de la plante. **(HARTMANN. T. 2007)**

De nombreux métabolites secondaires possèdent des propriétés thérapeutiques et on les utilise dans des différents domaines. Parmi ces domaines nous nous intéressons dans cette recherche au domaine pharmaceutique.

8.1. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être classifiés en différents groupes selon leurs caractéristiques chimiques. Les trois groupes les plus importants cités ci-dessous.

8.1.1. Les composés phénoliques

8.1.1.1. Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandue dans le règne végétal. La structure de base est un phénol, qui est un cycle aromatique hydroxylé, comporte plusieurs groupements hydroxyles associés à un ou plusieurs noyaux benzéniques (**Figure 11**). (**AAREF et HADED. 2015**)

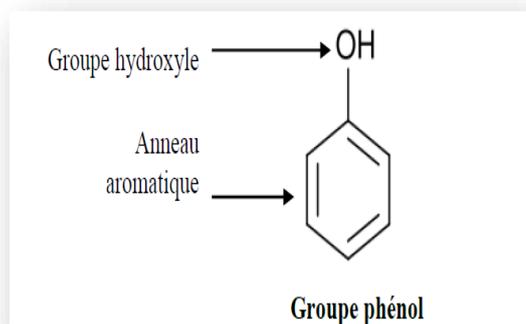


Figure 11 : structure de base des polyphénols

8.1.1.2. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les compose et aussi la substitution qui les lie. Les principales classes des composés phénoliques sont mentionnées dans le **tableau 2** ci-dessous :

Tableau 02 : principales classes des composés phénoliques (MERGUEM. 2009)

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe
6	C6	Phénols simples
7	C6-C1	Acides phénoliques
9	C6-C3	Acides cinnamiques
		Coumarines

		Phénylpropènes
(9)2	(C6-C3)2	Lignanes
(9)n	(C6-C3)n	Lignines
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes
		Isoflavonoïdes
		Anthocyanes
(15)2	(C6-C3-C6) 2	Bilavonoïdes
(15)n	(C6-C3-C6) n	Proanthocyanes (Tanins)

➤ **Acides phénoliques**

Les acides phénoliques (ou acides phénols) sont incolores et rares dans la nature (**KRIEF. 2003**). Ils possèdent une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. On distingue deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. (**AKROUM. 2011**)

➤ **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des substances naturelles qui forment une grande gamme des métabolites secondaires appartenant à la famille des polyphénols (plus de 4000 flavonoïdes ont été déjà identifiés). Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts en 1930 par Albert Szent-Gyorgyui sous le nom de vitamine P. (**MADJOUR. 2014**)

Le nom flavonoïdes provient du latin flavus qui veut dire « jaune ». Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. (**HAVSTEEN. 2002**)

La structure de base des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6. Elle est formée de deux cycles en C6 (A et C) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle B) (**Figure 12**). (**AKROUM. 2011**)

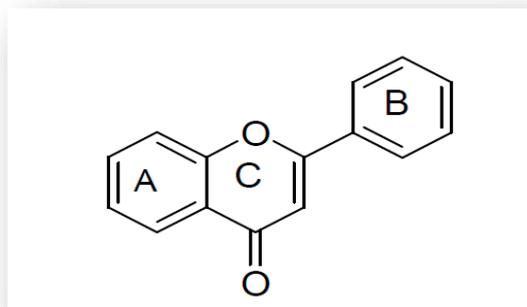
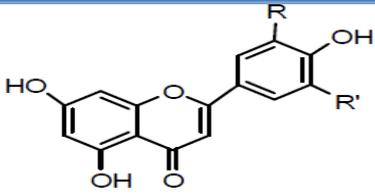
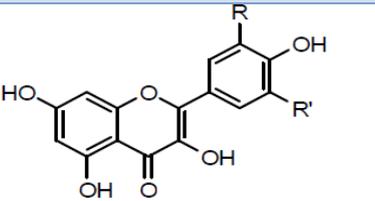


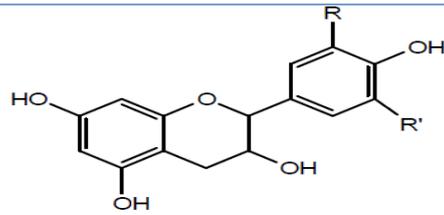
Figure 12 : structure de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont indiquées ci-dessous.

Tableau 03 : différents types des flavonoïdes (NKHILI. E, 2009)

Différents types des Flavonoïdes	Structures
<p>Flavones</p>	 <p>R=R'=H: Apigénine R= OH, R' = H: Lutéoline R=R'= OCH₃: Tricine</p>
<p>Flavonols</p>	 <p>R=R'=H: Kaempférol R= OH, R' = H: Quercétine R= OCH₃, R' = H: Isorhamnétine R=R'= OH: Myricétine</p>

Flavan-3-ols

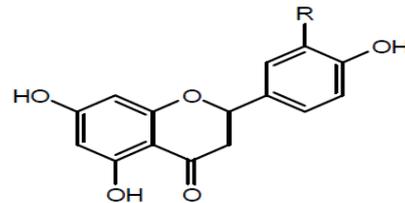


R=R'=H : Afzéléchine

R = OH, R' = H : **Catéchine**

R = R' = OH : **Gallocatechine**

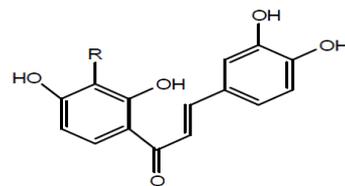
Flavanones



R= H : Naringénine

R= OH : **Eriodictyol**

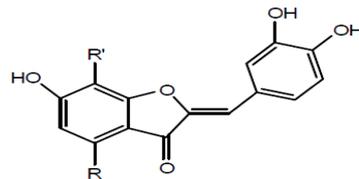
Chalcones



R = H : Butéine

R = OH : Okanine

Aurones

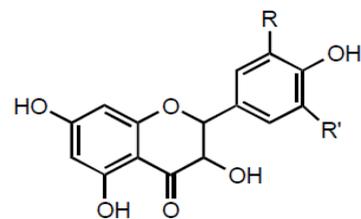


R = R' = H: Sulphorétine

R = OH, R' = H: Aureusidine

R = H, R' = OCH3: Leptosidine

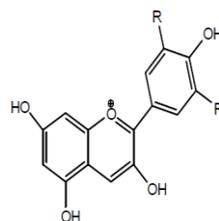
Flavanonols



R= OH, R' =H: Taxifoline

R= OH, R'= OH: Ampéloptol

Anthocyanes



R = R' = H : Pélagonidine
R = OH, R' = H : Cyanidine
R = OCH₃, R' = H : Péonidine
R = R' = OH : Délphinidine
R = R' = OCH₃ : Malvidine
R = OH, R' = OCH₃ : Pétunidine

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques et on les utilise dans des différents domaines. Parmi ces activités on cite : anticancerogène, anti inflammatoire, antitumoraux et antioxydant. (LARAOUÏ. 2007)

➤ Tanins

Les tanins (ou tannins) sont des composés phénoliques complexes à haut poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ce sont des molécules fortement hydroxylées appartiennent à la classe des polyphénols et on peut les trouver dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains. (AAREF. et al. 2015)

Ces composés naturels produits par les plantes et se caractérisent par leurs capacités de se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes pour former un précipité. (LEGRAND. 2015)

On distingue deux grands groupes différents en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. (LEGRAND. G. 2015)

8.1.2. Alcaloïdes

8.1.2.1. Définition

Les alcaloïdes sont des molécules organiques hétérocycliques azotées basiques, d'origine naturelle, constituent un groupe très vaste des métabolites secondaires. La plupart des alcaloïdes possèdent une activité biologique et surtout dans le secteur pharmaceutique. La structure de base des alcaloïdes est un cercle hétérocyclique qui possède un atome d'azote (Figure 13).

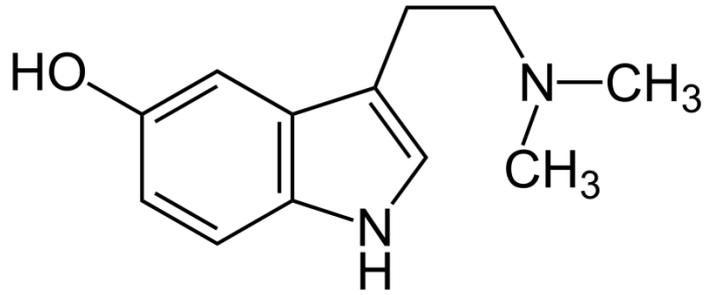


Figure 13 : structure des alcaloïdes

Beaucoup d'alcaloïdes possèdent des propriétés antibactériennes et ce sont actifs contre les infections microbiennes. **(LEGRAND. 2015)**

8.1.2.2. Classification des alcaloïdes

On revèle trois grandes classes d'alcaloïde

➤ Pseudo-alcaloïdes

Ces alcaloïdes ne sont pas des dérivés d'acides aminés et ne possèdent pas d'azote intra cyclique. L'intégration de l'azote dans la structure se fait en phase finale. **(MERGUEM. 2009)**

➤ Proto-alcaloïdes

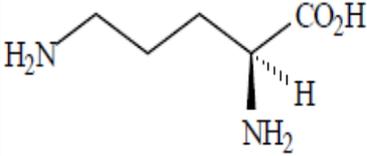
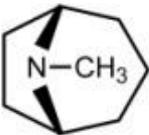
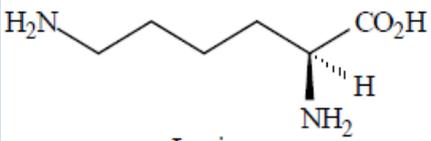
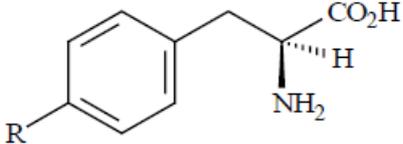
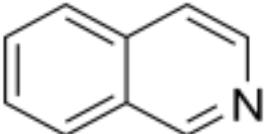
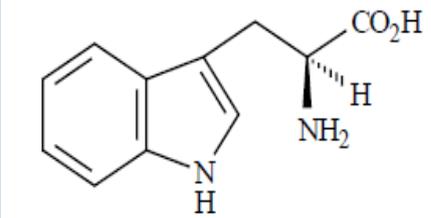
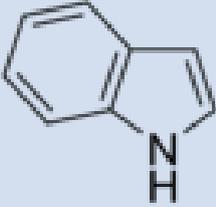
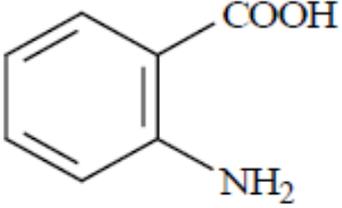
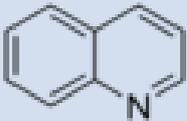
Dans ce type d'alcaloïde, l'azote n'est pas inclu dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acide aminés. **(MERGUEM 2009)**

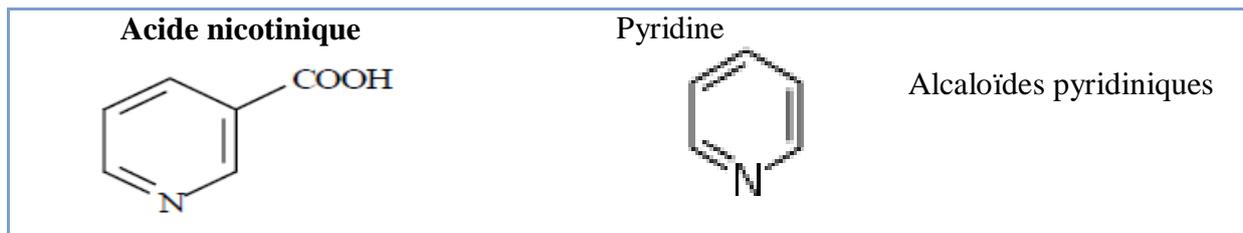
➤ Alcaloïdes vrais

Ces alcaloïdes comportent un atome d'azote inclu dans un système hétérocyclique. Ils sont formés à partir d'acides aminés. **(MERGUEM. 2009)**

Malgré la structure variée des alcaloïdes, ils proviennent d'un petit nombre de précurseurs simples. La plupart des alcaloïdes sont synthétisés à partir d'acide aminés tel que la tyrosine, le tryptophane etc. **(MERGUEM. 2009)**. On distingue plusieurs types d'alcaloïdes selon leurs précurseurs d'acides aminés **(tableau 4)**.

Tableau 04 : principaux types d'alcaloïdes et leurs précurseurs (MUNIZ. 2006)

Acides aminés	Structure du noyau de base	Types d'alcaloïdes
<p>Ornithine</p> 	<p>Pyrrolidine</p> 	Alcaloïdes pyrrolidiniques
	<p>Tropane</p> 	Alcaloïdes tropaniques
<p>Lysine</p> 	<p>Pipéridine</p> 	Alcaloïdes pipéridiniques
<p>R=H , Phénylalanine R=OH , Tyrosine</p> 	<p>Isoquinoléine</p> 	Alcaloïdes isoquinoléiniques
<p>Tryptophane</p> 	<p>Indole</p> 	Alcaloïdes indoliques
<p>Acide athranilique</p> 	<p>Quinolizidine</p> 	Alcaloïdes quinolizidiniques
	<p>Quinoléine</p> 	Alcaloïdes quinoléiniques



8.1.3. Terpénoïdes et Stéroïdes

8.1.3.1. Définition

Les terpénoïdes ou terpènes regroupent un ensemble de molécules très différents de métabolites secondaires chez les végétaux. Ce terme est réservé pour les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène. La structure de base d'isoprène illustré ci-dessous (**Figure 14**). (**AAREF et HADED. 2015**)

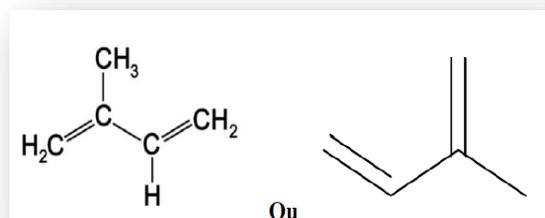


Figure 14 : structure de base de l'isoprène

Les terpénoïdes sont stockés dans les vacuoles au niveau des épines, des racines ou encore des feuilles comme l'*Hedera helix L* qui représentent notre objet de recherche.

On distingue différentes classes selon le nombre d'unité isoprénique qu'ils contiennent.

Tableau 05 : différents types des terpénoïdes (MERGUEM. 2009)

Nombre de carbone	Types du terpénoïdes
5	Hémiterpènes
10	Monoterpènes

15	Sesquiterpènes
20	Diterpènes
30	Triterpènes
40	Tétraterpènes
> 40	Polyterpènes

8.1.3.2. Triterpènes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C₃₀ issus de la cyclisation hypoxysqualène ou du squalène. Les stéroïdes peuvent être considérés comme triterpènes tétracycliques (**Figure 15**) ayant perdu au moins trois méthyles (**Figure 16**). (**KRIEF. 2003**)

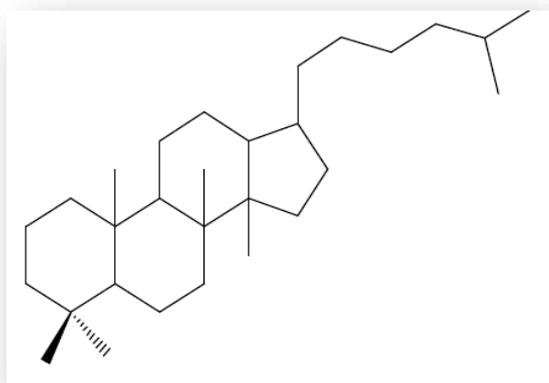


Figure 15 : squelette de base des triterpènes tétracycliques (KRIEF. 2003)

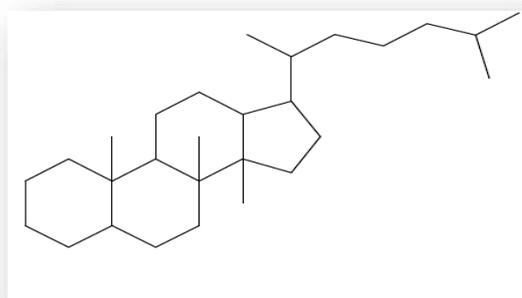


Figure 16 : squelette de base des stéroïdes (KRIEF. 2003)

➤ Saponosides

Les saponosides (ou saponines) constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives car ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. (KOUGAN NKWOKAP. 2010). Ce sont des molécules composées de deux entités : une génine (aussi appelée aglycone) et une fraction glycoside (GUILLAUME et CHARROUF. 2005). Selon la nature de la génine on distingue deux classes des saponines : les saponines à génines triterpéniques et celles à génines stéroïdiques (KOUGAN NKWOKAP. 2010). Les génines des saponines isolées de l'*Hedera helix* appartiennent toutes au groupe triterpènes (LUTSENKO et al. 2010). Les principales saponines présentes dans les feuilles de lierre sont Hederacoside C et α -hederin (Figure 17). (LANDGREBE et al.1999)

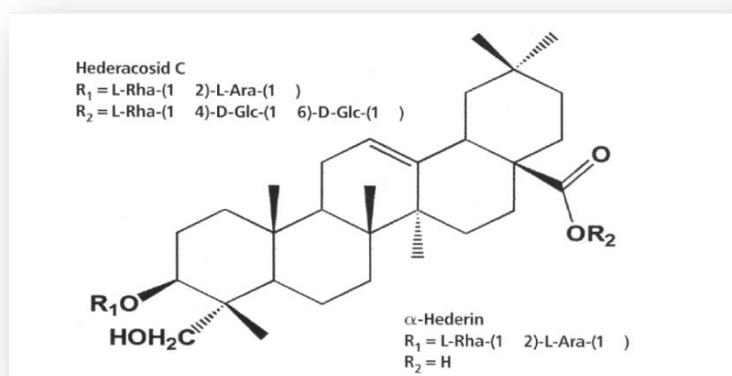


Figure 17 : structure d'Hederacoside C et d'alpha-hederin (LANDGREBE et al.1999)

8.2. Propriétés biologiques des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques. Ces dernières varient selon la classe des métabolites secondaires.

Les polyphénols contiennent différentes activités thérapeutiques, parmi eux : une activité antioxydante, anticancéreuse, anti diarrhéique, antiseptique, etc. (MERGUEM. 2009)

Les alcaloïdes sont utilisés dans plusieurs domaines tels que le domaine pharmaceutique. Ils possèdent aussi beaucoup d'activités biologiques comme l'activité anticancéreuse, anti hyper tensive, antitussive, analgésique, etc. **(BADIAGA. 2011)**

Les tèrpenoïdes et les stéroïdes possèdent des propriétés thérapeutiques parmi eux antiseptiques, spasmolytique, anti inflammatoire, **(FINTELMANN et WEISS. 2004)** antitussif **(KRIEF. 2003)**, etc.

8.3. Principaux métabolites secondaires d'*Hedera helix L*

Le lierre est une plante riche en métabolites secondaires. Cette richesse lui accorde une grande importance et lui permette de se démarquer des autres plantes. Parmi ces métabolites on trouve les saponosides qui sont des substances dans lesquelles réside l'effet thérapeutique.

Les saponines présentent dans les feuilles de lierre sont l'Hederacoside C et la α -hédérine, ainsi que l'hédéragénine obtenue après l'hydrolyse. Ces molécules actives ont une action antitussif et anti inflammatoire. **(GHIAS et al. 2011)**

Parmi les polyphénols trouvés dans les feuilles de lierre : Flavonoïdes (quercétine, le kaempferol), les tannins ont montré une activité antispasmodique contre les contractions induites par l'acétylcholine d'un iléon de cobaye isolé. **(GHIAS et al. 2011)**

Les alcaloïdes aussi sont présentent dans les feuilles de lierre. **(GHIAS et al. 2011)**

Matériels & Méthodes



II. Matériels et méthodes

1. Identification de la plante

L'Hedera helix L a été identifié par Mr Bazri Kamel, qui est un botaniste de formation, Maître de conférence « A » au département d'Ecologie végétale, Faculté SNV, Université Frères Mentouri, Constantine.

2. Récolte de la plante

La récolte de la plante a été effectuée dans la région de Zighoud Youcef, Constantine, durant le mois de février 2017.



Figure18 : carte géographique de la région de Zighoud Youcef(Google earth)

Afin d'obtenir la poudre végétale de cette plante, nous avons procédé au séchage des feuilles recueillies dans un endroit sec à l'abri des rayons solaires pendant 20 jours. A l'aide d'un broyeur électrique nous avons broyé les feuilles séchées afin de les conserver pour la réalisation de notre étude.

3. Criblage des métabolites secondaires

Le criblage ou « *screening* » des métabolites secondaires est une technique classique qui permet de qualifier les composés chimiques d'une espèce. Autrement dit le criblage est une méthode qu'on utilise pour mettre en évidence les différents types des métabolites secondaires tels que les polyphénols, les alcaloïdes, les terpénoïdes etc.

4. Criblage des flavonoïdes, Polyphénols et Tanins

4.1. Préparation de l'infusé

Dans un bécher, 5g de la poudre végétale a été mise avec 100ml d'eau distillée suivi d'une agitation vigoureuse. Le mélange résultant a été introduit dans un bain marie réglé à 90°C pendant 15 min.

Le mélange obtenu a été filtré pour obtenir un infusé concentré à 5%.

4.2. Criblage des flavonoïdes

➤ **Test 01** : dans un tube à essai, 2ml de l'infusé précédemment préparé a été introduit avec 5ml d'HCL concentré dans l'ETOH (Alcool Chlorhydrique). Ensuite 1ml d'Alcool iso amylique a été ajouté au mélange, plus de 1 ou 2 rognures de Magnésium (**BRAMKI et al. 2016**).

La formation d'une coloration :

- Rose orange due à la présence des flavones.
- Rose violacé due à la présence des flavanones.
- Rose cerise due à la présence des flavonoïdes libres.

➤ **Test 02** : 5ml de l'infusé a été mis dans un tube à essai avec 5ml d'HCL (concentré à 50% dans l'ETOH). Ensuite, 1 ml d'alcool iso- amylique a été ajouté dans le tube.

Après 15 min de chauffage au bain marie, la formation d'une coloration rouge cerise indique la présence des flavanols (Leucoanthocyanes).

4.3. Criblage des polyphénols

➤ **Test au chlorure ferrique** : dans un tube à essai, 2,5ml de l'infusé a été introduit avec 0,5 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1%).

La formation d'une coloration noirâtre indique la présence des composés phénoliques. (**BRAMKI et al. 2016**)

4.4. Criblage des tanins condensés

- **Révélation par le réactif de Stiasny** : le réactif de Stiasny a été préparé comme suit : 10ml Formaldéhyde plus de 5ml HCL concentré.

Dans un tube à essai, 10 ml de l'infusé ont été mis avec 5ml du réactif de Stiasny.

La présence des tanins est confirmée par l'apparition d'un précipité rouge. (**BRAMKI et al. 2016**)

4.4.1. Criblage des tanins catéchiques

5g de la poudre végétale a été mise dans un bécher qui contient 20ml de MeOH suivi d'une agitation de 15 min.

Dans un tube à essai, 2.5 ml de l'extrait obtenu ont été introduit avec 1 ml d'une solution de FeCl₃ à 1% (1g de FeCl₃ et 100 ml de MeOH).

La formation d'une coloration verdâtre est due à la présence des tanins Catéchiques. (**VIJAYAKUMARI et al. 2010**)

4.5. Criblage des triterpènes

- **Réaction de Lieberman –Burchard** : Après la macération du mélange (1g de l'échantillon + 20 ml d'Ether Ethylique) pendant 24 heures.

10ml du macéré évaporé a été mis dans 1ml de ChCl₃. La solution obtenue a été introduite dans un tube à essai rempli avec 2ml de H₂SO₄. (Cette réaction a été effectuée à froid).

La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet signifie la présence des triterpènes. (**BRAMKI et NEKIA. 2016**)

4.6. Criblage des Saponosides

La procédure qui nous permet de confirmer la présence des saponosides est la formation d'une mousse après agitation de l'extrait.

L'intensité de la mousse proportionnelle se réfère au taux des saponosides dans l'extrait. C'est la technique la plus abondante pour la mise en évidence des saponosides.

➤ Préparation

1g de broyat de la poudre végétale a été introduit dans un erlenmeyer rempli avec 100ml d'eau distillée. Le mélange obtenu a été placé au bain marie à 90°C pendant 30min.

Un décocté a été obtenu après filtration à l'aide d'un papier filtre.

Selon le **tableau** suivant les quantités ont été mises dans 11 tubes à essai successivement.

Tableau 06 : Gamme de dilution décroissante de l'extrait pour mesurer l'indice de mousse

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Décocté (mL)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
Eau (mL)	10	9.5	9	8.5	8	7.5	7	6.5	6	5.5	5

L'extrait obtenu dans chaque tube a été agité vigoureusement pendant 15 secondes. Il y'aura formation d'une mousse persistante en cas de présence des Saponosides. (KARUMI et *al.* 2004)

Après avoir laissé reposer pendant 10 minutes, la hauteur de la mousse permet de calculer l'indice de mousse(Im). Selon la pharmacopée française, 1989 :

Si la hauteur de la mousse est inférieure à 1 cm dans tous les tubes, l'indice est inférieur à 100.

Si la hauteur de la mousse est de 1 cm dans l'un des tubes, la dilution de la drogue végétale dans ce tube est l'indice de mousse, qui peut être calculé selon la formule suivante :

$$Im = 1/C \times D$$

C : concentration initiale de l'extrait

D : hauteur de la mousse dans le tube ou elle est proche à 1 cm

Si la hauteur de la mousse est supérieure à 1 cm dans tous les tubes, l'indice est supérieur à 1000.

4.7. Criblage des Quinones

Dans un tube à essai rempli de 15 à 30ml d'éther de pétrole, a été ajouté 1g de broyat. Après une agitation, le mélange a été laissé reposer pendant 20 heures.

Une fois les 20h passées l'extrait a été filtré. La formation d'une phase organique vire au jaune, rouge au violet après l'ajout de quelques gouttes de NaOH (1/10), confirme la présence des quinones dans l'extrait. (RIBEREAU. 1968)

4.8. Criblage des alcaloïdes

➤ Préparation de la solution à analyser

5g de la poudre végétale finement pulvérisée a été introduite dans un erlenmeyer. 25ml d'Acide Sulfurique H₂SO₄ (Dilué à 1/10 avec de l'eau distillée) a été rajouté à la poudre. Finalement l'erlenmeyer a été fermé par un papier d'aluminium. Le mélange a été agité et laisser macérer pendant 24 heures à température ambiante.

Le mélange macéré a été filtré à l'aide d'un papier filtre et laver de manière à obtenir 25ml de filtrat.

Le filtrat obtenu a été introduit dans 5 tubes à essai (au nombre de réactif +le témoin). 5 gouttes de chacun des réactifs spécifiques des alcaloïdes (Mayer, Wagner, Hager et Dragendorff) ont été rajoutés aux tubes et laisser reposer pendant 15 minutes. (ABBAH. 2009). La présence des alcaloïdes est confirmée par la formation:

- ✓ D'un précipité blanc-jaunâtre, Selon Mayer.
- ✓ D'un précipité rouge brique foncé, Selon Wagner.
- ✓ D'un précipité jaune, Selon Hager.
- ✓ D'un précipité rouge-orangée, Selon Dragendorff.

4.9. Criblage des dérivés Anthracéniques

4.9.1. Extrait chloroformique

1g de la poudre végétale a été mise dans un erlenmeyer rempli avec 10ml de Chloroforme. Le mélange obtenu a été introduit dans un bain marie pendant 3 minutes.

4.9.2. Hydrolysats

Une partie du résidu de la poudre épuisée par le Chloroforme, 10 ml d'eau distillée et 1ml d'Acide Chlorhydrique concentré ont été rajoutés dans un tube à essai.

Le tube à essai a été maintenu dans un bain marie pendant 15 min. Un refroidissement sous l'eau froide a été établi puis filtration. La suspension obtenue a été complétée jusqu'à 10ml avec l'eau distillée.

4.9.3. Criblage des anthracéniques libres

1ml de l'extrait a été mis dans un tube à essai dans lequel a été rajouté 1ml de NH_4OH dilué suivi d'une agitation.

La formation d'une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

4.9.4. Criblage des dérivés anthracéniques combinés

4.9.4.1. O-hétérosides (anthraquinones)

5ml d'hydrolysats a été mis dans un tube à essai dans lequel a été rajoutés 5ml de Chloroforme suivi d'une agitation. Une fois l'agitation terminée la phase organique a été soutirée dans un tube à essai grâce à une ampoule à décanter (**figure : 19**).



Figure 19 : séparation de la phase chloroformique à l'aide d'une ampoule à décanter

1ml de NH_4OH dilué a été rajouté à la phase soutirée, le mélange obtenu a été filtré.

La formation d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence d'anthraquinones.

4.9.4.2. O-hétérosides à génines réduites

3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10% ont été rajoutées à 5ml d'hydrolysate. Un refroidissement a été établi après un chauffage pendant 5 min au bain marie ensuite une agitation avec le Chloroforme. La phase chloroformique a été soutirée et introduit dans un tube à essai ensuite 1ml de NH₄OH dilué a été rajouté.

La formation d'une coloration rouge plus intense indique la présence des produits d'oxydation.

4.9.4.3. C-hétérosides

La phase aqueuse a été reprise (celle qui a été conservée au cours de la caractérisation des O-hétérosides) par 10 ml d'eau distillée. 1 ml de FeCl₃ à 10% a été rajouté au mélange. Le tube à essai rempli avec le mélange a été maintenu dans un bain marie bouillant pendant 30 min. Une fois les 30 minutes passées un refroidissement a été établie plus une agitation avec 5 ml de Chloroforme. La phase chloroformique a été soutirée dans un tube à essai. 1ml de dilué a été rajouté à la phase précédemment soutirées le test a été terminé par une agitation.

La formation d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides. (ATTOU. 2011)

5. Extraction

5.1. Chauffage à reflux

Cette technique permet de faire une bonne extraction dans un temps record (accélère une extraction trop lente) à une température élevée, tout en évitant une perte de solvant par l'évaporation grâce au système reflux. (Figure : 20)



Figure 20 : le chauffage à reflux utilisé pour l'extraction

C'est une technique d'extraction liquide-solide, basé sur l'augmentation de la température qui sert généralement à élever la solubilité des molécules dans le solvant.

Lors du chauffage, les composés volatils passent à l'état gazeux et se dirigent vers système réfrigérant placé au dessus du système de chauffage. Les vapeurs se condensent et tombent dans le ballon. Les boules du système réfrigérant favorisent le refroidissement du gaz en augmentant la surface de contact entre les vapeurs et les parois froides. Ce système fonctionne de façon à éviter toute sorte de perte (ni solvants ni molécules).

5.2. Évaporateur rotatif

L'évaporateur rotatif est une technique de distillation, qui sert à l'évaporation sous vide d'un solvant dans lequel se trouve un soluté (généralement pour se débarrasser du solvant utilisé dans une extraction ou dans un milieu réactionnel). (**Figure : 21**)



Figure 21 : Évaporateur rotatif

Le principe de cet appareil est basé sur l'évaporation douce et la condensation des solvants ou le séchage de la poudre végétale à basse température d'ébullition à l'aide d'un ballon qui se met en rotation sous vide.

5.3. Protocole expérimental

Dans un Erlenmeyer, 100g de la poudre végétale obtenue après séchage et broyage de la plante ont été pesés puis laisser macérer dans l'éther de pétrole pendant 48h. Le mélange a été agité pendant 6 heures. Une fois la macération terminée, le mélange a été filtré à l'aide d'une fiole à vide (**figure : 22**).

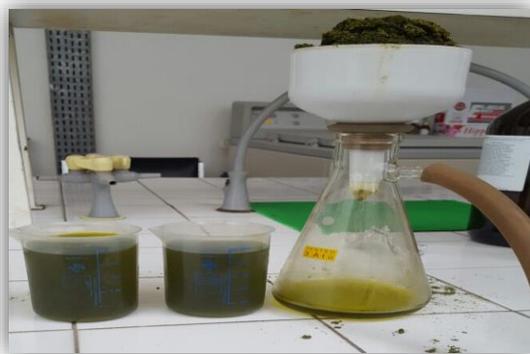


Figure 22 : filtration sous vide

La poudre végétale épuisée a été récupérée et mélangée avec un mélange (éthanol/eau distillée) (30/70) v/v (ces proportions sont obtenues à partir du certificat d'analyse de l'extrait des feuilles de lierre importé d'Allemagne). Au but d'homogénéiser le mélange, ce dernier a été agité à l'aide d'un barreau magnétique et un agitateur pendant une heure. L'extraction a été effectuée à l'aide d'un chauffage à reflux pendant 4 heures.

Dans un premier temps le mélange a été placé dans le ballon. Ce dernier est replacé, le chauffe-ballon a été mis en marche toute en vérifiant la circulation d'eau froide dans le réfrigérant et la température. Au bout de quelques minutes, le solvant évaporé passe dans le système réfrigérant, et commence à se condenser et retomber dans le ballon.

Après, le mélange obtenu a été soumis à une filtration sous vide. Le filtrat alcoolique obtenu a été concentré ensuite à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à 60c°.

Après évaporation, l'extrait concentré a été récupéré afin de réaliser les analyses chromatographiques : CCM et HPLC.

5.4. Détermination du rendement

Le rendement est désigné par la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant. Il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale des feuilles d'*Hedera helix L* soumise à l'extraction.

$$R\% = \frac{\text{Masse d'extraction}}{\text{Masse de l'extrait sec}} * 100$$

6. Chromatographie sur couche mince

C'est une technique d'analyse quantitative permet la séparation des constituants d'un mélange, selon la polarité des molécules. À l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe et l'autre mobile.

La phase stationnaire est une couche fine de silice (ou un autre gel) déposée sur un support approprié tel que les plaques de verre, plaques de polyester ou d'aluminium. Par contre la phase mobile est un solvant ou un mélange des solvants, nommée éluant.

L'éluant migre le long de la phase stationnaire par capillarité et entraîne les composés du mélange à séparer. Chaque constituant migre d'une certaine distance, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétenion frontale (Rf).

$$Rf = \frac{\text{Hauteur de la tache}}{\text{Hauteur du front du solvant}}$$

6.1. Protocole expérimental

La chromatographie analytique a été utilisée pour vérifier et comparer à la fois les différents métabolites existants dans notre extrait et dans la poudre allemande. Des plaques CCM prêtes à l'emploi (gel silice 60F₂₅₄- Merck sur support d'aluminium de marque Macherey-Nagel) ont été utilisées comme phase stationnaire. Ces plaques ont été découpées précautionneusement selon les dimensions suivantes : 10cm x 4.5cm.

La ligne de dépôt a été tracée légèrement à l'aide d'un crayon, environ 1 cm du bord inférieur de la plaque à chromatographie. La position des dépôts a été repérée sur la ligne de dépôt par deux traces. Le premier, « L », représente l'extrait des feuilles de Lierre local. Quant au second nommé « A » caractéristique de l'extrait Allemand.

Ensuite, l'éluant a été versé dans la cuve à chromatographie, de manière que le niveau de ce dernier ne dépasse pas la ligne tracée sur la plaque. Plusieurs systèmes solvants, tirées à partir de la bibliographie, ont été utilisés pour mieux séparer les différents composés métaboliques éventuellement présents dans les deux extraits. Deux systèmes solvants ont été utilisés dans notre travail (**tableau 07**).

Tableau 07 : les deux éluants utilisés pour la réalisation de la CCM

N°	Phase mobile	Proportions
1	n-butanol/Acide acétique/Eau	60/15/25
2	Acide formique/acétone/Méthanol/acétate d'éthyl	4/20/20/30

Les échantillons à chromatographier ont été déposés à l'aide d'une pipette pasteur, sur la ligne de dépôt. Les deux dépôts ont été espacés régulièrement afin d'éviter leurs chevauchement lors de la migration, une goutte à droite de l'extrait du principe actif allemand « A » et une goutte de l'extrait des feuilles de Lierre local à gauche « L ». Afin d'obtenir une tache concentrée des deux échantillons, les dépôts ont été effectués à maintes reprises.

Les plaques ont été introduites dans la cuve, l'éluant (phase mobile) monte par capillarité le long de la plaque. Cette dernière a été retirée de la cuve et séchées dès que le solvant arrive à environ 0.5cm du bord supérieur.

6.2. Révélation

La révélation des plaques a été effectuée par différentes méthodes qui sont :

La lampe UV à 254nm et à 366nm, révélateur des alcaloïdes (Dragendorff), révélateur des tanins (FeCl₃), révélateur des flavonoïdes (AlCl₃) et l'acide sulfurique.

7. Chromatographie en phase liquide à haute performance

HPLC ou *High-Performance liquid chromatography* est une technique qui sert à la séparation analytique et/ou préparatifs des molécules présentes dans un mélange grâce à deux phases une stationnaire et l'autre fixe. (Figure : 23)



Figure 23 : HPLC utilisé dans notre travail analytique

Cet équipement à le même principe de la chromatographie classique, une phase stationnaire qui est fixée dans un tube métallique appelé colonne et une phase mobile nécessite un solvant ou un mélange de solvant. Sous haute pression, la pompe assure le débit d'écoulement de la phase mobile.

Les composés qu'on veut séparer se mettent en solution dans un solvant, ce mélange sera introduit dans la phase mobile (éluant), Les molécules seront transportées selon leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire et la phase mobile .A la sortie de la colonne il ya un détecteur qui affiche les différents solutés sous forme de pic.

7.1. Protocole d'expérimentation

a. Préparation de la phase mobile

Selon la pharmacopée Européenne l'éluant utilisé afin de réaliser l'analyse chromatographique par HPLC pour l'extrait de lierre est un mélange de deux phases mobiles, leur préparation a été réalisée comme suit.

- **Phase mobile A:** 880ml eau pure et 140ml acétonitrile ont été versés dans un Erlenmeyer de 1000 ml. Une fois le mélange préparé, un ajustement de pH à 2 a été établi avec l'acide phosphorique 85%.

- **Phase mobile B:** 998ml acétonitrile et 2 ml acide phosphorique ont été mélangés dans un Erlenmeyer de 1000 ml.

Une fois l'agitation terminée une filtration a été établie sur les deux phases mobiles grâce à un filtre de 0.45 μ m.

b. Préparation du mélange de solvant : Mélange de 80ml Méthanol et 20ml eau

c. Blanc : Le mélange de solvant précédemment préparé.

d. Standard : 12mg de la poudre de l'extrait allemand a été mélangé avec 20ml d'éthanol.

e. Echantillon : 100mg de l'extrait local des feuilles de lierre ont été mis dans 20ml du mélange de solvant précédemment préparé. Afin d'établir la dissolution de l'extrait et le standard, une agitation a été établie pendant 10 min au bain ultrasons (**Figure 24**).



Figure 24 : bain ultrasons

Une fois la préparation est terminée, une filtration a été établie grâce a des filtre-seringues (**Figure 25**) dans les *vials* d'HPLC



Figure 25 : filtre-seringues

Une fois les *vials* de standard, d'échantillon et de blanc remplis. Ces derniers ont été placés dans le support d'HPLC. (Figure 26)



Figure 26: support d'HPLC

f. System chromatographique

La colonne de HPLC utilisée dans notre travail a les caractéristiques suivantes:

Détecteur : UV 205 nm

Colonne : 4.0mm×125mm×5μm (largeur × longueur× épaisseur) le gel utilisé : la silice

Température de la colonne 40°C

Débit : 1.5ml /min

Volume d'injection : 20μl



Figure 27 : colonne d'HPLC

Résultats & Discussions



III. Résultats et discussions

1. Résultats du criblage

Le criblage phytochimique qui a été effectué consiste à détecter et qualifier les différentes familles des métabolites secondaires existantes dans les feuilles d'*Hedera helix* algérien et l'extrait des feuilles de lierre Allemand par des réactions de précipitation, de changement de couleurs ou examens sous UV.

Les résultats de la mise en évidence des différents métabolites secondaires ont été mentionnés au **tableau 08** suivant en fonction de différents critères d'observation, entre autre :

Réaction positive : (+++) très abondant.

Réaction moyennement positive : (+) faible.

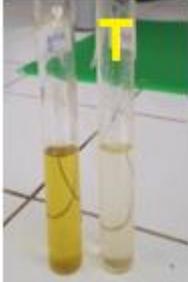
Réaction négative : (-) absent.

Rappelons que « L » signifie l'extrait de lierre local, « A » signifie l'extrait de lierre Allemand et « T » signifie témoin.

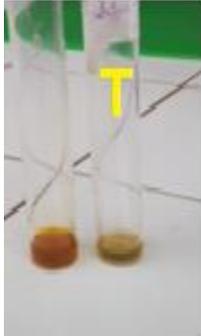
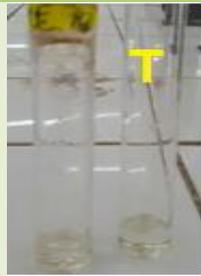
Tableau 08 : résultats du criblage de l'extrait local et Allemand

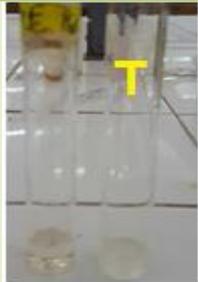
Classes chimiques	Absence/ Présence	Coloration/ Précipitation	Photos des résultats	
Flavonoïdes	« L »	+	Rose orange	
	« A »	+++	Rose orange	
	« L »	+	Rose	

	« A »	+++	Rose cerise	
Polyphénols	« L »	+++	Couleur noirâtre	
	« A »	+++	Couleur noirâtre	
Tanins condensés	« L »	-	/	
	« A »	-	/	
Tanins catéchiques	« L »	+++	Vert noirâtre	
	« A »	+++	Vert noirâtre	

Triterpènes	« L »	+++	Anneau violet	
	« A »	+++	Anneau rouge	
Saponosides	« L »	+++	Présence d'une mousse	
	« A »	+++	Présence d'une mousse	
Quinones	« L »	-	/	
	« A »	-	/	

	Mayer	« L »	+++	Précipité blanc jaunâtre	
		« A »	-	/	
Alcaloïdes	Wagner	« L »	+++	Précipité rouge brique foncé	
		« A »	-	/	
	Hager	« L »	+++	Précipité jaune	
		« A »	-	/	

Dragendorff	« L »	+++	Précipité rouge orangé	
	« A »	-	/	
Anthracéniques Libres	« L »	-	/	
	« A »	-	/	
O-hétérosides	« L »	-	/	
	« A »	-	/	

Anthracéniques combines	O-hétérosides à génines réduites	« L »	-	/	
		« A »	-	/	
	C-hétérosides	« L »	-	/	
		« A »	-	/	

Les résultats précédents du criblage des métabolites secondaires ont été résumés dans le tableau suivant.

Tableau 09 : résumé des résultats du criblage des métabolites secondaires

Métabolites secondaires testés sur	Résultats	
<i>Hedera helix</i>		
Saponosides	« L »	(+++)
	« A »	(+++)
Triterpènes	« L »	(+++)
	« A »	(+++)

Polyphénols	« L »	(+++)
	« A »	(+++)
Tanins catéchiques	« L »	(+++)
	« A »	(+++)
Flavonoïdes	« L »	(+)
	« A »	(+++)
Alcaloïdes	« L »	(+++)
	« A »	(-)
Tanins condensés	« L »	(-)
	« A »	(-)
Quinones	« L »	(-)
	« A »	(-)
Dérivés anthracéniques	« L »	(-)
	« A »	(-)

Les résultats du criblage montrent une forte ressemblance dans la composition des deux extraits en métabolites secondaires.

D'après les deux tests des flavonoïdes, la présence de ces derniers dans l'extrait allemand est importante par comparaison avec notre extrait. Les saponosides, triterpènes, polyphénols et tanins cathéchiques se présentent avec des quantités importantes pour les deux extraits. L'extrait Allemand est dépourvu des alcaloïdes, alors que notre extrait est riche de ces métabolites.

Enfin les résultats montrent l'absence des quinones, tanins condensés et dérivés anthracéniques dans les deux extraits. Ces résultats sont conformes avec ceux trouvés dans la partie bibliographique (GHAS et *al.* 2011).

Le test phytochimique de la détection des saponosides est confirmé par la présence d'une mousse persistante. La mesure de la hauteur de cette mousse est mentionnée dans le **tableau 10**. Cette dernière nous a permis de calculer l'indice de mousse (Im).

Tableau 10 : hauteur de la mousse des deux extraits

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Extrait local	0	0.3	0.8	1.0	1.8	2.0	2.2	2.4	2.7	3.2	3.5
Extrait allemand	0	3.6	4.0	4.2	4.7	4.9	5.0	5.1	5.2	5.3	5.6

Pour l'extrait local, $I_m = 666.667$.

Pour l'extrait Allemand, la hauteur de la mousse est plus de 1 cm donc $I_m > 1000$.

➤ D'après les résultats mentionnés au tableau au-dessus l'extrait Allemand est très riche en saponosides par rapport à l'extrait local.

2. Détermination du rendement d'extraction

Rappelons que l'extraction des feuilles d'*Hedera helix* a été réalisée avec un mélange d'Ethanol/Eau (30/70) (v/v). L'extrait a été récupéré et pesé après une évaporation à sec.

Le rendement d'extraction désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale des feuilles utilisées. Ce rendement a été déterminé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{\text{Masse d'extraction}}{\text{Masse de l'extrait sec}} * 100$$

Le rendement obtenu est de 17.66% pour 100g des feuilles de lierre utilisées.

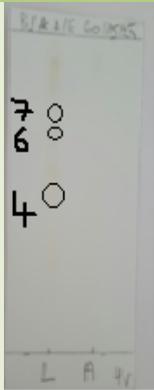
3. Résultats de la CCM

Une évaluation qualitative de la composition des deux extraits (local et Allemand) a été réalisée par chromatographie analytique sur couche mince, en réalisant plusieurs systèmes solvants, le système solvant (n-Butanol/Acide acétique/Eau; 60/15/25 ; v/v/v) ; a permis de donner une bonne séparation chromatographique et une visibilité acceptable des spots comme l'indique le tableau 11. Le système solvant (Acide formique/Acétone/Méthanol/Acétate d'éthyl ; 4/20/20/30 ; v/v/v/v) a été utilisé pour vérifier la présence du principe actif

Hederacoside C dans notre extrait par comparaison avec l'extrait Allemand (**figure : 28**), sachant que ce système qui permet la détection d'Hederaciside C est mentionné par la pharmacopée européenne.

Les différents spots qui se présentent sur les chromatogrammes ont été visualisés sous lumière UV à 254 nm et 366 nm. Afin de connaître la nature chimique de ces spots, trois révélateurs ont été utilisés sur les chromatogrammes : FeCl₃ révélateur des tanins, AlCl₃ révélateur des flavonoïdes et le révélateur de Dragendorff qui est spécifique des alcaloïdes (tableau : 11).

Tableau 11 : différents types de révélateurs réalisés sur les chromatogrammes obtenus par l'éluant (n-Butanol/Acide acétique/Eau) des deux extraits

L'œil nu	UV à 254	UV à 366	Révélateur des tanins	Révélateur des flavonoïdes	Révélateur des alcaloïdes
					

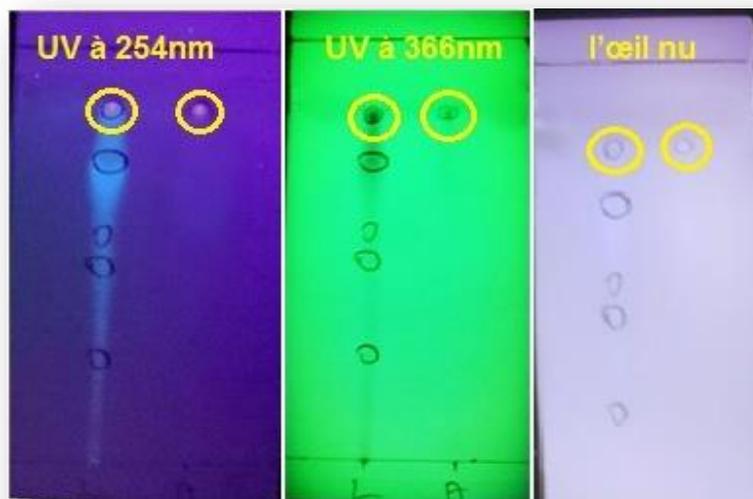


Figure 28 : chromatogrammes des deux extraits effectués avec l'éluant (Acide formique/Acétone/Méthanol/Acétate d'éthyl)

Les résultats observés par les chromatogrammes « Les rapports frontaux (RF), la position et la couleur des spots » des deux extraits (local et Allemand) ont été résumés dans le **tableau 12** ci-dessous :

Tableau 12 : tableau récapitulatif des résultats du CCM

Positions	Extrait local « L » (11 spots)			Extrait Allemand « A » (7 spots)		
	RF	Couleurs	Révélateurs	RF	Couleurs	Révélateurs
1	0.117	Orange	Dragendorff	/	/	/
2	0.2	Violet	Uv à 254nm	0.211	Violet	Uv à 254nm
3	0.338	Violet	Uv à 254nm	0.338	Violet	Uv à 254nm
4	0.505	Marron	L'œil nu	0.517	Marron	L'œil nu
5	0.576	Jaune	AlCl3	0.588	Jaune	AlCl3
6	0.647	Marron	L'œil nu	/	/	/
7	0.705	Marron	L'œil nu	/	/	/
8	0.764	Violet	Uv à 254nm	0.752	Violet	Uv à 254nm

9	0.835	Verte	FeCl ₃	/	/	/
10	0.929	Jaune	AlCl ₃	0.929	Jaune	AlCl ₃
11	0.964	Rose	Uv à 366nm	0.964	Rose	Uv à 366nm

D'après les chromatogrammes obtenus, plusieurs métabolites secondaires ont été observés dans les deux extraits à la fois, avec presque les mêmes RF et les mêmes couleurs (tableau : 12). Citons à titre exemple : spots 5 et 10, avec les RF (0.576 ; 0.929) et (0.588; 0.929) des deux extraits local et Allemand successivement, du nature flavonoïde d'après le réactif d'AlCl₃ portant la couleur jaune pour les deux extraits. Cependant le spot 9 avec le RF 0.835 portant la couleur verte avec le réactif FeCl₃ des tanins est observée seulement pour notre extrait.

Les chromatogrammes de la (figure : 28) ont montrés que l'extrait des feuilles de lierre récolté de la région de Zighoud Youcef, Constantine, contient la molécule Hederacoside C par comparaison avec l'extrait contenant ce principe actif importé d'Allemagne qui est la base de la production du complément alimentaire PROLIERRE® par le laboratoire JANISMED.

Pour confirmer l'existence de ce principe actif dans notre extrait, une analyse chromatographique par HPLC a été effectuée au niveau du laboratoire JANISMED à la Zone Industrielle, Ibn Badis El Tarf, El Khroub, Constantine, cette analyse a été effectuée sur l'extrait résultant des feuilles d'*Hedera helix* algérienne (locale) et un standard de référence (extrait allemand).

4. Résultats de la chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC :

Après l'analyse qui a durée 4h (temps de rétention de chaque *vial* 80min). Les chromatogrammes obtenus (absorbance en fonction du temps de rétention) sont présentés dans les **figures 29, 30 et 31** suivantes.



Figure 29 : chromatogramme du Blanc obtenu par HPLC

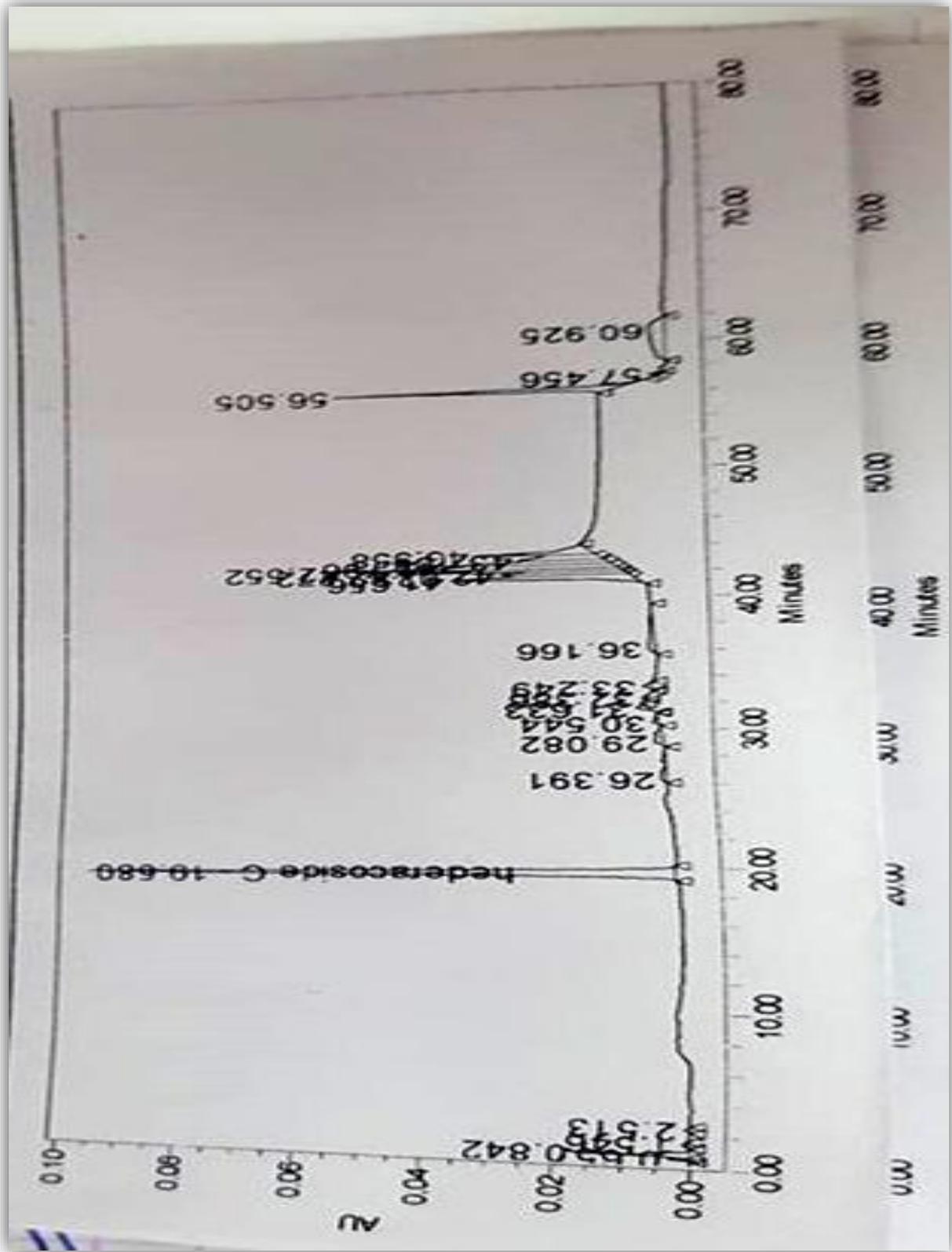


Figure 30 : chromatogramme du Standard obtenu par HPLC



Figure 31 : chromatogramme d'Extrait algérien obtenu par HPLC

- Le tableau suivant présente les valeurs obtenues par HPLC pour le standard et l'extrait respectivement en tenant compte les valeurs équivalentes à l'apparition de l'Hederacoside C (le temps de rétention d'apparition environ 20min). Sachant que RT est le temps de rétention en minute et Area est la surface du pique (sans unité vu que c'est une absorbance).

Tableau 13 : résultats des chromatogrammes du standard et l'extrait local

RT(min)		Area (AU)	
Extrait	Standard	Extrait	Standard
17.167	0.657	54224	15355
17.814	0.842	146114	165459
18.52	1.546	119594	12051
19.135	2.513	233655	8018
<u>19.937</u>	<u>19.58</u>	<u>2385359</u>	<u>1782650</u>
21.124	26.391	225125	50646
21.712	29.082	849902	66951
22.185	30.544	181594	24349

Ces valeurs nous a permis de dessiner les courbes présentés dans les figures (32 et 33).

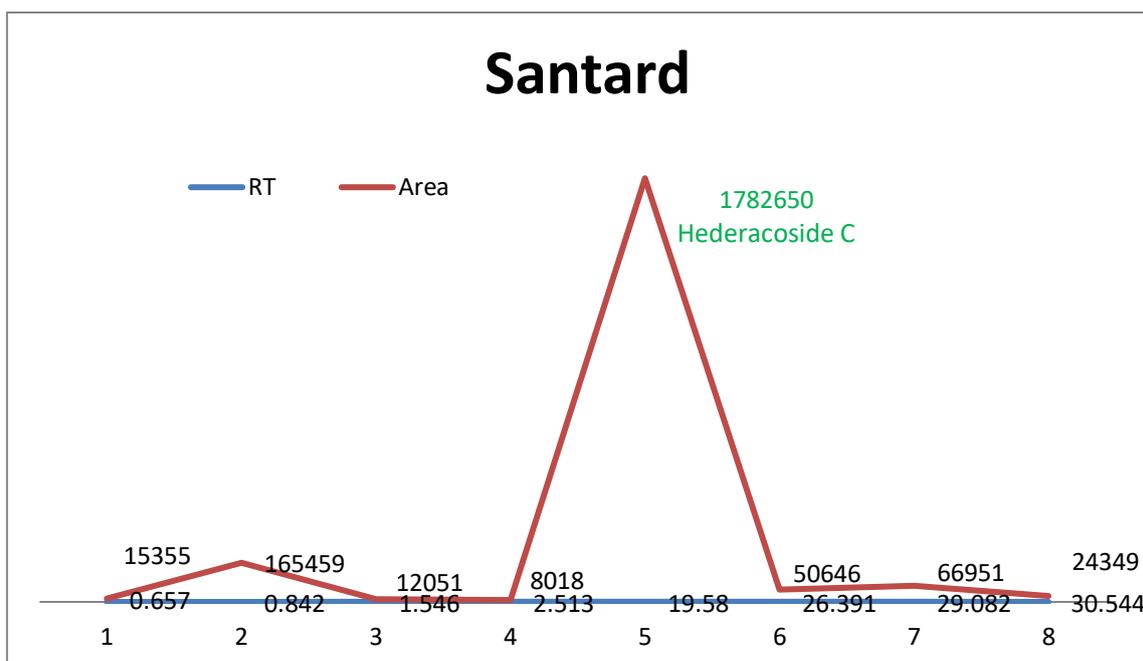


Figure 32: courbe récapitulatif du chromatogramme obtenu pour le standard

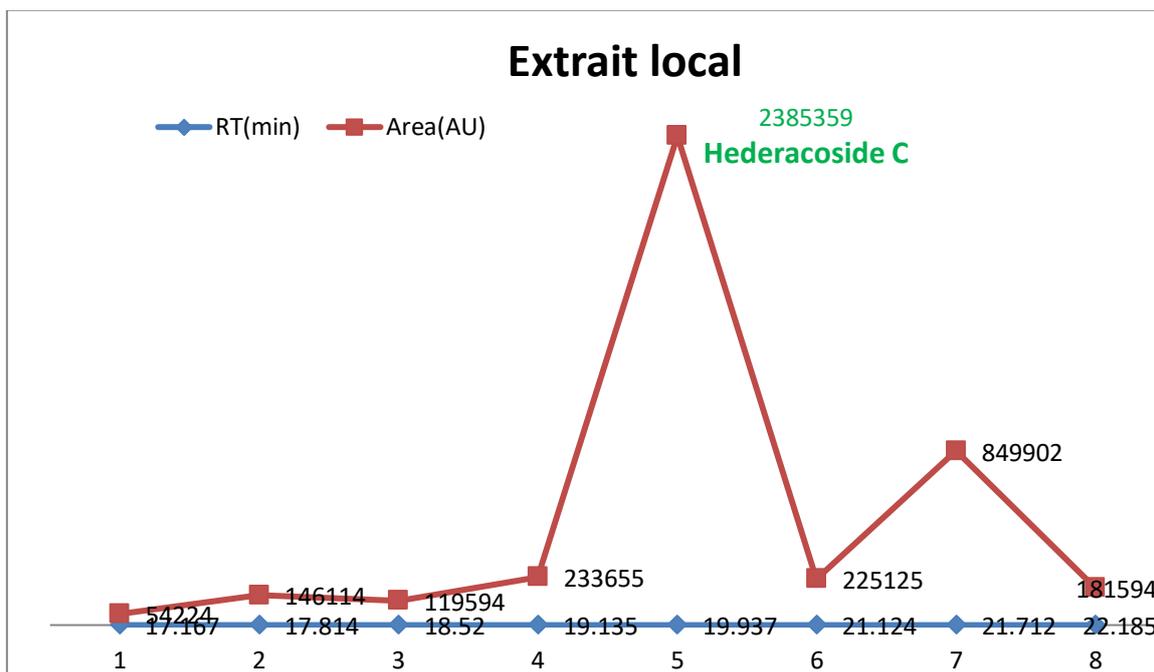


Figure 33 : courbe récapitulatif du chromatogramme obtenu pour l'extrait

Dans l'analyse par HPLC de deux échantillons dans les mêmes conditions expérimentales (mêmes préparations, mêmes phases mobiles et mêmes phases stationnaires), si on trouve des résultats comparables dans un temps de rétention proche pour les deux comparants ; cela signifie qu'on est en face de la même molécule, ce qui est observé d'après

les résultats obtenu par HPLC des deux extraits (notre échantillon et le standard), le principe actif « Hederacoside C » est apparu dans le temps de rétention équivalent à 19.58 min pour le standard et 19.937 min pour notre extrait avec des valeurs de surface de 7 chiffres. Ces résultats confirment les résultats obtenu par CCM (figure: 28), donc on peut conclure que l'extrait résultant de notre extraction à partir des feuilles de lierre *Hedera helix L* contient la substance active Hederacoside C.

Conclusion



Conclusion

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Parmi ces ressources la phytothérapie été la source principale des remèdes destinés contre de nombreuses maladies, elle désigne la médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.

Les propriétés guérissantes attribuées au lierre font l'objet d'une recherche approfondie sur la mise en évidence et l'identification des substances actives présentes dans cette plante.

Dans cette perspective, ce travail est centré sur une étude comparative entre la composition chimique des feuilles de lierre algérienne et allemande.

Les résultats du criblage des métabolites secondaires et l'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince CCM ont montré que la composition chimique des deux extraits (local et étranger) est identique avec quelque différences, citons à titre exemple : des métabolites ont été observé dans notre extrait qui sont dépourvu dans l'extrait importé comme les alcaloïdes.

D'après la CCM, le principe actif « Hederacoside C » du complément d'intérêt est observé aux chromatogrammes dans notre extrait par comparaison avec le deuxième extrait. Ces résultats ont été confirmés par une autre analyse qualitative (HPLC), qui a prouvé à partir des chromatogrammes de l'extrait local et le standard de référence, l'existence de cette substance spécialisée qui est la base de production du complément « PROLIERRE® » notre repère de départ dans ce travail.

Partant de ces résultats encourageant il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur l'*Hedera helix*, afin d'arriver à réaliser un extrait pur en éliminant ce qui semble toxique en passant par les mêmes démarches faites sur l'extrait Allemand. Ce qui limite les importations et ouvre les portes vers l'utilisation de la flore algérienne pour la fabrication des médicaments synthétisés à base de cette plante.

Nous pensons montrer à travers ce travail que le lierre d'Algérie constitue un réservoir très intéressant pour un bon investissement dans le futur.

Bibliographie

- AAREF. M & HADED. M. Contribution à l'étude phytochimique , les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica L* (région d'Oued Souf). Mémoire du Master. Université El Chahid Hamma Lakhder. Oued Souf. Algérie. 2015. P : 3-19.
- ABBAH. J. Pharmacological evidence favouring the use of *Nauclea latifolia* in malaria ethnopharmacy: effects against nociception, inflammation, and pyrexia in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2009. **127**. 85-90.
- AKROUM. S.. Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat. Université mentouri constantine. Algerie. 2011. p : 4-13.
- AMEENAH. G.F. Medical plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Aspect Med*. 2006. **27**. 1-93.
- ATTOU. A. contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* de la région de Ain Témouchent. Mémoire magister. Biochimie. 2011. P :39.
- BADIAGA. M. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako. Mali. 2011. P :10.
- BEDRY. R et JOUGLARD. J." *Hedera helix L*". IPCS INCHEM. France.1997.<http://www.inchem.org/documents/pims/plant/pim258fr.htm#SubSectionTitle:3.1.1> Caractéristiques essentielles permettant l'identification
- BRAMKI. I et NEKIA. A. Recherche des métabolites secondaires du champignon Algérien *Pleurotus eryngii* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Master. Université mentouri 1. Constantine. Algérie. 2016. P : 14.

- CINDY, J. Contribution à l'élaboration d'un site d'internet de toxicologie végétale chez les ruminants : monographie des principales plantes incriminées d'après les données du CNITV. Thèse de doctorat. Université CLAUDE-BERNARD. LYON1. France . (2009). P :155.
- DUPONT . F& GUIGNARD. J. L. Botanique, Systématique moléculaire. Edition Masson. Paris. (2007). P :243.
- FABRE. A. J. Mythologie et plantes médicinales de l'antiquité. Histoire des plantes médicinales. 2003. **37**. 65-87.
- FINTELMANN, V et WEISS, R.F. Manuel pratique de phytothérapie. Edition Vigot. Paris. (2004). P:204
- GHIASHIAS. U et *al.* "Preliminary Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Hedera Helix L.". Middle-East Journal of Scientific Research. 2011; **8**; 198-202.
- GUILLAUME. D et CHARROUF. Z. Cahiers agricultures. Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). 2005 ; **14** ; 6.
- HARTMANN. T. From waste products to ecochemicals: fifty Fifty years research of plant secondary metabolism. Science Direct. 2007. **68**. 2831-2846.
- HAVSTEEN. B. biochemistry and medical significances of the flavonoids. Pharmacology thérapeutique. 2002. **96**. 67-202.
- JAULIN. M. contribution à l'étude de la médecine traditionnelle en pays de Loire : exemple d'utilisation de remèdes naturels en ventée et départements voisins. Université de Nante. France. 2004. p : 26-92.
- KARUMI. Y et *al.* Identification of active principles of Balsamina (Balsam Apple) leaf extract. Journal of medical sciences. 2004. **4**. 179-182.

- KOUGAN NKWOKAP. G. B. Isolement et caractérisation des saponosides des trois plantes de la famille des *ARALIACEAE* et *DRACAENACEAE* et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur cellules tumorales. Thèse du doctorat. Biologie végétale. Université Bourgogne, Université Yaoundé. CAMERON. 2010. P : 15.
- KRIEF. S. Métabolites secondaires des plantes et compartiment animaux : surveillance sanitaire et observation de l'alimentation des chimpanzé (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en OUGANDA. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse du doctorat. Muséum national d'histoire naturelle. Paris. France. 2003. P : 18-31.
- LANDGREBE. H et *al.* Effectiveness and use of an old medical plant. 1999; **35**; 11-15.
- LARAOUI.H. Etude phytochimique de l'extrait chloroformique de *Bupleurum atlanticum*, mémoire de Magister. Université Hadj Lakhder. Annaba. Algérie. 2007. P : 15.
- LEGRAND. G. Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniques chez la chicorée : approches biochimique et moléculaire. Thèse de doctorat. Université de Lille1. France. 2015. p : 35-60.
- LHUILLIER. A. Contribution a 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 de doctorat. Toulouse. 2007.
- LUTSENKO, Y et *al.* « *Hedera helix* as a medicinal plant», *Herba Botanica*. 2010; **56** ; 83-96.

- MACHEIX. J. J et *al.* Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique , PPUR presses polytechniques. Italie. (2005). P :7.
- MADJOUR. S. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne d'une labiée *Rosmarinus officinalis*. Mémoire master. Université Med Khider. Biskra. Algérie. 2014. P : 21.
- Marta. M et *al.* The effect of the whole extract of common ivy (*Hedera helix*) leaves and selected active substances on the motoric activity of rat isolated stomach strips. *Journal of Ethnopharmacology*.2011. **143**. 796–802.
- MARTIN. P. Les familles des plantes à fleurs d'Europe. Botanique systématique et utilitaire. Press Universitaires de Namur. Belgique. (2014). P :183.
- MERGUEM. R. Eléments de biochimie végétal. Bahaeddine Edition. Algérie. 2009. p : 93-158.
- MUNIZ. M.M. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : (+)-anatoxine-a et la (+/-)-camptothécine. Thèse doctorat. Université Joseph Fourier. Grenoble1. France. 2006. P : 16.
- NKHILI. E. Polyphénols de l'alimentation : Extration, Interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse doctorat. Science des aliments. Université Cadi Ayyad. Marrakech. Maroc. 2009. P : 13-16.
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S.Paris. **1**. 588.
- RIBEREAU. G. Les composé phénoliques des végétaux. Dunod. Paris. 1968. p:254.
- ROUSSEAU.G.2007<http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/Plantessupple>

ments/Fiche.aspx?doc=lierre_grimpant_ps#historique.

- VIJAYAKUMARI. B. et *al.* Preliminary phytochemical screening of the various extracts of *Rotula Aquatica* Lour. *Journal of pharmacy and pharmaceutical science*. 2010. **2**. 6371-6380.

Résumé

Ce travail a été effectué sur le lierre grimpant *Hedera helix L* récolté dans la région de zighoud youcef Constantine au nord d'Algérie, c'est une espèce très répandue dans le monde entier connue par ces propriétés curatives et bénéfiques pour la santé humaine. PROLIERRE® est un complément alimentaire secretolytique, un Broncho-dilatateurs qui soulage la toux ; fabriqué par le LABORATOIRE JANISMED à la 76, Zone Industriel, El Tarf, Ibn Badis, El Khroub, Constantine, à partir des extraits des feuilles d'*Hedera helix L*. Ce dernier est importé d'Allemagne dont le principe actif est une molécule qui appartient à la famille des saponosides : « Hederacoside C ».

A la lumière de ces données nous avons pensée à réaliser une étude comparative de la composition chimique des feuilles de lierre algérienne et allemande, et vérifier la présence du principe actif : Hederacoside C dans notre extrait afin de mettre un point de départ pour l'utilisation de notre lierre dans la fabrication de ce complément. Pour cela un criblage des métabolites secondaires et une étude analytique par CCM et HPLC ont été effectués pour les deux extraits. Les résultats ont montrés une ressemblance des métabolites secondaires existants dans les deux extraits, et d'après les résultats du CCM et d'HPLC on peut conclure que notre extrait contient l'Hederacoside C, molécule d'intérêt utilisée pour la fabrication du PROLIERRE®.

Mots clés : *Hedera helix L*, Prolierre, Hederacoside C, métabolites secondaires.

Abstract

This work was carried out on the climbing Ivy *Hedera helix L* which is harvested in Zighoud Youcef, Constantine in the north of Algeria, It is a very known species in the entire world known for its curative and beneficial properties for human health. PROLIERRE® is a dietary supplement which is manufactured by JANIS MED LABORATORY located in 76, Zone Industrielle, Ibn Badis, El Tarf, El Khroub, Constantine. This syrup is a secretolytic, a Broncho-dilator that relieves cough due to the extract of *Hedera helix L* leaves. This latter is imported from Germany whose active principle is a molecule belonging to the saponosides family "Hederacoside C".

The aim of this research attempts to compare between the chemical compositions of the Algerian and the German ivy leaves for the purpose of checking the presence of the active principle « Hederacoside C » in our extraction to shed the light on the local ivy leaves for using them in the future manufacturing of this supplement. To achieve this purpose two methods have been carried out for both the extracts, screening of the secondary metabolites and analytical study by TLC and HPLC. The results showed a similarity in the existence of the secondary metabolites in the two extracts, and according to the results of the TLC and HPLC it can be concluded that our extract contains Hederacoside C, a specialized substance for the manufacture of Prolierre.

Key words: *Hedera helix L*, Prolierre, Hederacoside C, secondary metabolites.

ملخص

تقوم هذه الدراسة على نوع من النباتات المتزحلقة و هي اللبلاب المتحصل عليها من منطقة زيغود يوسف قسنطينة المتواجدة في شمال الجزائر. يعرف اللبلاب المتواجد في كل بقاع العالم بخصائصه العلاجية و المفيدة لصحة الإنسان. PROLIERRE® هو مكمل غذائي تم تصنيعها من قبل مخابر JANISMED المتواجدة في المنطقة الصناعية، ابن باديس، الطارف، الخروب، قسنطينة. هذا المكمل له القدرة على تخفيف السعال لاحتوائه على مادة فعالة مستخلصة من أوراق اللبلاب والتي تنتمي إلى عائلة. Saponoside « Hederacoside C ».

حيث يقوم المخبر المنتج باستيراد هذا الأخير من ألمانيا. في ضوء هذه المعطيات فكرنا بالقيام بالمقارنة بين التركيب الكيميائي لأوراق اللبلاب الجزائري وأوراق اللبلاب الألماني والتحقق من وجود المادة الفعالة في اللبلاب المحلي وهذا لوضع نقطة بداية لاستعمال اللبلاب الجزائري لتصنيع هذا المكمل الغذائي. لهذا أجري فحص وجود المركبات الايض الثانوية والدراسة التحليلية عن طريق CCM et HPLC لكل من المستخلصين الجزائري و الألماني حيث أظهرت النتائج وجود تشابه في المركبات الثانوية بينهما أما نتائج CCM et HPLC فقد أكدت وجود المادة الفعالة المستعملة في صنع المكمل PROLIERRE® في أوراق اللبلاب الجزائري بعد مقارنتها بأوراق اللبلاب الألماني.

الكلمات المفتاحية : *Hedera helix L*, *Prolierre*, *Hederacoside C*, مركبات الايض الثانوية.

Année universitaire : 2016-2017

Présenté par : Khaoula SENSRI
Zineb EL BAR

Etude comparative entre la composition chimique des feuilles de la plante *Hedera helix L.* Algérienne et Allemande

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé.

Résumé Ce travail a été effectué sur le lierre grimpant *Hedera helix L* récolté dans la région de zighoud youcef Constantine au nord d'Algérie, c'est une espèce très répandue dans le monde entier connue par ces propriétés curatives et bénéfiques pour la santé humaine. PROLIERRE® est un complément alimentaire secretolytique, un Broncho-dilatateurs qui soulage la toux ; fabriqué par le LABORATOIRE JANISMED à la 76, Zone Industriel, El Tarf, Ibn Badis, El Khroub, Constantine, à partir des extraits des feuilles d'*Hedera helix L*. Ce dernier est importé d'Allemagne dont le principe actif est une molécule qui appartient à la famille des saponosides : « Hederacoside C ».

A la lumière de ces données nous avons pensée à réaliser une étude comparative de la composition chimique des feuilles de lierre algérienne et allemande, et vérifier la présence du principe actif : Hederacoside C dans notre extrait afin de mettre un point de départ pour l'utilisation de notre lierre dans la fabrication de ce complément. Pour cela un criblage des métabolites secondaires et une étude analytique par CCM et HPLC ont été effectués pour les deux extraits. Les résultats ont montrés une ressemblance des métabolites secondaires existants dans les deux extraits, et d'après les résultats du CCM et d'HPLC on peut conclure que notre extrait contient l'Hederacoside C, molécule d'intérêt utilisée dans la fabrication du PROLIEER®.

Mots clés : *Hedera helix L*, Prolierre, Hederacoside C, métabolites secondaires.

Laboratoire : Biochimie, JANISMED.

Membres du jury

Présidente du jury : N. BOUTAGHANE (MCA-UFM Constantine)

Rapporteur : S. TENIOU (MAA-UFM Constantine)

Examineur : N. BOUANINBA (MCB-UFM Constantine)

Date de soutenance :
22/06/2017

