



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث 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 الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie et physiologie végétale

Spécialité : Métabolisme secondaire et molécules bioactives

Intitulé :

Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des espèces :

Ruta montana L. et Ceratonia siliqua L.

Présenté par :

BENKHADDA Nassima

Le : 22/06/2016

BENSALAH Djawhara

Président du jury : BOUDOUR Leila (Pr - UFM Constantine).

Rapporteur : CHIBANI Salih (MCA - UFM Constantine).

Examineurs : OUIBRAHIM Amira (MAA - UFM Constantine).

***Année universitaire
2015 – 2016***

a

Remerciements

Avant tout, nous remercions, Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude

Mr. Chibani Salih (MCA). Qui a accepté de nous encadrer, de diriger ce travail, et pour son aide très précieux, et ses corrections sérieuses, qu'il m'a apporté et sa patience.

Mes vifs et sincères remerciements vont à madame boudour leila (Pr). Pour son aide et pour avoir accepté de présider ce jury.

Nous adressons également mes remerciements à Mme. Ouibrahim (MAA). Pour son aides et d'avoir accepté, d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier tous les étudiants de la promotion 20015 - 2016.

A tous les enseignants de la faculté sciences de la nature et de la vie.

Mes remerciements vont également à tout Les techniciens des laboratoires pédagogiques de l'université

surtout Mme : Ratiba.

Enfin, mes remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Dédie ce travail :

À ma chère mère qui était la source d'amour le motif et le grand soutien dans ma carrière universitaire.

À mon père pour son soutien continu pour l'achèvement de ce travail.

Pour mes frères et sœurs.

Pour mon partenaire dans ce travail B. Nassima

Et pour tous les amis me soutiennent en particulier.

B. Djawhara

Dédicace

Je dédie ce travail

Aux êtres les plus chers :

A ma mère, Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Et A mon père

Et A mes chers frères pour vous exprimer toute mon affection

et ma tendresse

A ma chère belle-sœur : A ma grande famille,

Et mes amis Pour leur soutien surtout : Djawhara, houda.

B. Nassima

Sommaires

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....01

Partie 1 : Etude bibliographiques

Chapitre I : Etude botanique.

I. Les plantes médicinales.....	02
I.1. Définition.....	02
I.2. Le pouvoir des plantes.....	02
I.3. Efficacité des plantes entière.....	02

1^{ere} espèces : *Ruta montana*

II. La famille de Rutacées.....	03
II.1. Le genre de Ruta (Rue).....	03
II.1.1. Descriptions botaniques.....	03
II.1.1.1. Appareil végétatives.....	03
II.1.1.2. Appareil reproducteur.....	03
II.1.2. Distribution géographique.....	04
II.2. Espèce <i>Ruta montana</i>	04
II.2.1. Description botanique.....	04
II.2.2. La position systématique.....	05

2^{eme} espèce : *Ceratonia siliqua*

III. La famille des Fabacées	06
III.1. Description botaniques	06
III.1.1. Appareil végétative	06
III.1.2. Appareil reproducteur	07
III.2. Distribution géographique	09
IV. Genre : <i>Ceratonia</i>	09

V. L'espèce : <i>Ceratonia siliqua</i> L.	10
V.1. Description botanique.....	10
V.1.1 Appareil végétative	10
V.1.2. Appareil reproducteur	11
V.2. Origine et distribution géographique	11
V.2.1. Origine.....	11
V.2.2. Distribution.....	12
VI. La Position systématique	13
Chapitre II : Métabolites primaires et secondaires	
I. Métabolites primaires.....	15
I.1. Les glucides.....	15
I.1.1. Définition	15
I.1.2. Rôle des glucides.....	15
I.1.3. La place du glucose.....	16
I.1.4. Classification des glucides.....	16
I.2. Les lipides.....	17
I.2.1. Définition.....	17
I.2.2. La classification des lipides.....	17
I.3. Les acides aminés.....	18
I.3.1. Définition.....	18
I.3.2. Rôle des acides aminés.....	19
I.4. Sels minéraux.....	19
I.4.1. Définition.....	19
I.4.2. Les propriétés générales des sels minéraux.....	19
I.4.3. Les groupes des sels minéraux.....	20
II. Métabolites secondaires.....	21
II.1. Les composés phénoliques	21
II.1.1. La biosynthèse des polyphénols.....	22
II.1.2. Effets biologiques des polyphénols.....	22

II.2. Les flavonoïdes	23
II.2.1. Définition.....	23
II.2.2. Les classe des flavonoïdes.....	23
II.3. Les quinones	26
II.3.1. Définition.....	26
II.4. Les anthraquinones	26
II.4.1. Définition	26
II.5. Les tanins.....	26
II.5.1. Définition.....	26
II.5.2. Les classe des tanins.....	26
II.6. Terpènes.....	27
II.6.1. Définition	27
II.6.2. Classification des terpènes.....	28
II.7. Les alcaloïdes.....	30
II.7.1. Définition	30
II.7.2. Les classe des alcaloïdes.....	30
II.8. Les coumarine.....	30

Chapitre III : Les activités biologiques

I. Les activités antioxydantes	32
I.1.1. Radicaux libres	32
I.1.2. Les antioxydants.....	32

Partie 2

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

I. Matériels végétatives.....	34
II. Préparation des extraits.....	34
III. Criblage des métabolites primaire	35
III.1. Criblage des Glucides.....	35

III.2. Criblage des Acides aminés.....	35
III.3. Criblage des Lipides	35
III.4. Criblage des Sels minéraux.....	35
IV. Criblage des métabolites secondaires.....	36
IV.1. Criblage des Flavonoïdes.....	36
IV.2. Criblage des Anthocyanes	36
IV.3. Criblage des Quinones	36
IV.4. Criblage des Anthraquinones.....	36
IV.5. Criblage des Tanins.....	37
IV.6. Criblage des stérol et terpénoïdes.....	37
IV.7. Criblage des Alcaloïdes.....	37
IV.8. Criblage des Coumarines.....	38
V. La chromatographie sur couche mince(CCM)	38
VI. Etude quantitative des composés phénoliques.....	39
VI.1. Macération.....	39
VI.2. Evaporation.....	40
VI.3. Le dosage des polyphénols	41
V. Evaluation de l'activité antioxydant.....	42
Chapitre 1 : Résultat et discussion	
I. Criblage des métabolites primaire	43
I.1. Criblage des Glucides.....	43
I.2. Criblage des Lipides	44
I.3. Criblage des Acides aminés	45
I.4. Criblage des Sels minéraux.....	46
II. Criblage des métabolites secondaires.....	48
II.1. Criblage des Flavonoïdes.....	48
II.2. Criblage des Anthocyanes	49
II.3. Criblage des Quinones	51
II.4. Criblage des Anthraquinones.....	52

II.5. Criblage des Tanins.....	53
II.6. Criblage des isoprénoïdes (Terpénoïdes).....	54
II.7. Criblage des Alcaloïdes.....	55
II.8. Criblage des Coumarines.....	56
III. La chromatographie sur couche mince(CCM).....	57
IV. Analyse quantitatives des phénols.....	57
IV.1. Le dosage des polyphénols.....	57
V. Activités antioxydants	60

Conclusion

Références bibliographiques

Résumé

Annexe

Liste des abréviations

AA : Acide aminé

AcOEt : Acétate d'éthyle

Ala : acide amine alanine.

AMH : Mullur Hinton

Arg : acide amine arginine.

BuOH : Butanol

C.S : *Ceratonia siliqua*

CCM : Chromatographie sur couche mince

CHCl₃ : Chloroforme

Conc. : Concentration

CuSO₄ : Sulfate de cuivre

Cys : cystéine.

DO : Densité optique

DPPH : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl

ExC_{Fr} : Extrait caroubier fruits

ExR_f : Extrait ruta feuilles

Extrait A : Extrait méthanolique

Extrait B : Extrait chloroformique

Extrait C : Extrait étherique

FeCl₃ : trichloride de fer

Gly : glutamine.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HCl : Acide chlorhydrique

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

Iso : isoleucine.

KOH : Hydroxyde de potassium

MeOH : Méthanol

Meth : acide amine méthionine.

Mg : Magnésium.

Na₂ CO₃: Bicarbonate sodium

Na₂CO₃: picrate de sodium

NaCl : Chloride sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

Pro: proline

R.M: *Ruta montana*

Rf : Rapport frontal

Sys: Systeme

Tey: tyrosine.

UV : Ultra-violet

Liste des tableaux

Tableau 01 : La classification de <i>Ruta montana</i>	05
Tableau 02 : Position systématique des <i>Cratonia siliqua</i> selon différentes approches phylogénétique ou morphologique.....	13
Tableau 03 : les différentes classes des composés phénoliques.....	21
Tableau 04 : différentes concentrations des extraits.....	42
Tableau 05 : Préparation des concentrations des extraits méthanolique de <i>Ruta</i> ^{feuilles} et Caroubier fruits.....	43
Tableau 06 : Résultats de criblage des glucides.....	43
Tableau 07 : Résultats de criblage des lipides.....	44
Tableau 08 : Résultats de criblage des acides aminés.....	45
Tableau 09 : Résultats de criblage des sels minéraux.....	46
Tableau 10 : Résultats de criblage des flavonoïdes.....	48
Tableau 11 : Résultats de criblage des anthocyanes.....	50
Tableau 12 : Résultats de criblage des quinones.....	51
Tableau 13 : Résultats de criblage des anthraquinones.....	52
Tableau 14 : Résultats de Criblage des tanins.....	53
Tableau 15 : Résultats de criblage des isoprénoïdes (Terpénoïdes).....	54
Tableau 16 : Résultats de Criblage des alcaloïdes.....	55
Tableau 17 : Résultats de criblage des coumarines.....	56
Tableau 18 : Les taux de polyphénols totaux calculés des ExC_{fr} et ExR_{fe}	58
Tableau 19 : Les taux de polyphénols totaux existant dans les EXC_{Fr} et EXR_f ..	59
Tableau 20 : Taux d'inhibition des extraits méthanolique de <i>Ruta montana</i> feuille.....	60
Tableau 21 : Taux d'inhibition des extraits méthanolique de <i>Ceratonia siliqua</i> fruits.....	60

Liste des figures

Figure 01: Carte de répartition de la famille des Rutacées.....	04
Figure 02: Carte de répartition de la famille des Fabacées.....	09
Figure 03: Origine et distribution du caroubier dans le monde.....	13
Figure 04 : La formule cyclique et ligné de glucides.....	15
Figure 05: La formule générale des lipides.....	17
Figure 06: Formule générale d'un acide aminé.....	18
Figure 07: Squelette de base des flavonoïdes.....	23
Figure 08: La structure de Flavones et flavonols.....	24
Figure 09: La structure de Flavanones et hydroflavonols.....	24
Figure 10: La structure de Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols.....	25
Figure 11: La structura de Chalcones et auronés.....	25
Figure 12: La formule générale des anthraquinones.....	26
Figure 13: La plante de <i>Ceratonia siliqua</i>	34
Figure 14: La plante de <i>Ruta montana</i>	34
Figure 15: La chromatographie sur couche mince de la coumarine.....	38
Figure 16: Préparation de la plaque CCM.....	38
Figure 17: La chromatographie sur couche mince.....	39
Figure 18: Lompe ultraviolet(UV).....	39
Figure 19: L'étape d'obtention de l'extrait.....	40
Figure 20: Etape de l'Évaporation.....	40
Figure 21: Le criblage des glucides du Caroubier et Ruta.....	43
Figure 22: Mise en évidence des lipides de <i>Ruta montana</i> et <i>Ceratonia siliqua</i>	44
Figure 23: Chromatogramme du CCM des acides aminés.....	45
Figure 24: Mise en évidence des sels minéraux.....	47

Figure 25: Le criblage des flavonoïdes.....	49
Figure 26: Le criblage des anthocyanes.....	50
Figure 27: Le criblage des quinones.....	51
Figure 28: Le criblage des anthraquinones.....	52
Figure 29: Le Criblage des tanins.....	53
Figure 30: Le criblage des isoprénoïdes (Terpénoïdes).....	55
Figure 31: Le Criblage des alcaloïdes.....	56
Figure 32 : La chromatographie sur couche mince des organes de Caroubier et Ruta.....	57
Figure 33: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	58
Figure 34: Teneur en polyphénols totaux en (mg).....	59
Figure 35 : L'activité antioxydant.....	60
Figure 36 : Taux d'inhibition du l'extrait méthanolique de <i>Ruta montana</i> feuilles et <i>Ceratonia siliqua</i> fruit.....	61
Figure 37 : Graphique présenté d'IC50 de <i>Ceratonia siliqua</i> fruits et <i>Ruta montana</i> feuilles.	62



INTRODUCTION

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique (SVOBODA et SVOBODA ; 2000).

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 reconnues et répertoriées, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (BOURGAUD *et al* ; 2001, KAR ; 2007).

Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25% des médicaments prescrits. Soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui contribuent pour 90% du traitement médical. Jusqu'en 2004, on a estimé que près de 75% de la population africaine ont toujours recours aux plantes pour se soigner. De plus ce type de soin est considéré souvent comme faisant partie de la médecine douce (KAR ; 2007).

Nos plantes *Ruta montana* et *Ceratonia siliqua* sont connues pour leur richesse en métabolites secondaires et aussi leur activité biologique.

Vu l'importance des espèces dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques nous avons incité à étudier ces deux plantes

Nos travaux décrits dans le présent manuscrit qui est divisé en deux parties la première partie comprend trois chapitres :

- le premier chapitre traite l'étude l'atomique des espèces *Ceratonia siliqua* et *Ruta montana*.
- le deuxième chapitre concerne les métabolites primaires et secondaires.
- le troisième chapitre : l'activité antioxydante.

La 2^{ème} partie est composée de deux chapitres

- Le 1^{er} chapitre est consacré aux matériels et méthodes.
- Le 2^{ème} chapitre : résultats et discussions.



Partie 1

Etude bibliographique

Chapitre 1

Etude botanique

I. Les plantes médicinales

I.1.Définition

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui sont utilisés médicalement Ils varient en taille de grande comme les arbres par exemple : le pin et la cannelle et dont la taille est si petite que les champignons tels que la levure.

Elle contient plante médicinale l'ingrédient actif dans une de ses membres ou plus ou la totalité de ses parties. Ces substances actives peuvent être un matériau ou plus et avoir les effets physiologiques dans le traitement des maladies dans la pure image après image dessinée deux mille naturel (frais ou sec ou extraire partiellement) (Ali Mansour Hamza ; 2006).

I.2.Le pouvoir des plantes

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis XVIIIème siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels.

Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la diadoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (Iserin et al ; 2001).

I.3. Efficacité des plantes entières

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi "totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants, les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimiques actives (Iserin et al ; 2001).

II. La famille des Rutacées

Les Rutacées comprennent plus de 700 espèces en grand partie arborescentes appartenant aux pays chaud.

C'est une famille par enchainement et n'offrant qu'un petit nombre de caractères constants.

Une Rutacées s'identifie cependant avec netteté par son appareil sécréteur constitué de poche sécrétrices_ d'un type particulier et qui ne sont rencontrées dans aucunes autre famille_ dites schizolysigènes.

Ces poches, toujours très superficielles, sont d'origine épidermique ; c'est ce qui explique qu'il suffit d'écraser légèrement une partie molle d'une Rutacées pour qu'une forte odeur d'essence s'en dégage. Très abondantes sur les feuilles, elles apparaissent sous forme de points transparents.

Les fleurs possèdent un disque nectarifère intrastaminal, c'est-à-dire situé à l'intérieur des étamines sur le réceptacle (Wiar ; 2006).

II.1. Le Genre Ruta

II.1.1. Description botanique

II.1.1.1. Appareil végétative

La tige est ramifiée, vert pâle ; **les feuilles** sont pennatiséquées et cela d'autant plus que leur niveau d'insertion sur l'axe est plus bas.

II.1.1.2. Appareil reproducteur

Les fleurs sont groupées au sommet de la tige en une cyme composée, dont seule, la fleur centrale, sans doute de par sa disposition privilégiée, est pentamère. Il y a donc 4 ou 5 sépales, 4 ou 5 pétales ; l'androcée, obdiplostémone, comprend deux cycles d'étamines, donc 10 étamines pour la fleur centrale et 8 étamines pour les fleurs périphériques : le gynécée comporte un seul cycle de 4 ou 5 carpelles fermés, pluriovulés reposant sur un disque nectarifère épais.

La formule florale de la rue est donc, en ne considérant que la fleur centrale :

$$5S+5P+(5+5)E+5C$$

Cette formule ne met pas en évidence le caractère assez remarquable des carpelles, qui ne sont soudés entre eux que par leur style.

Les styles et stigmates se fanent après fécondation : les 5 carpelles devenus libres se transforment en 5 follicules (Dupont et Guignard ; 2007).

II.1.2. Distributions géographique

La famille des Rutacées a une origine les régions tropicales et tempérées notamment Afrique du sud et Australie (Gausson et *al* ; 1982)

En plus Judd et *al* (2002), ont montré que les Rutacées sont presque cosmopolites mais surtout tropicales et subtropicales.

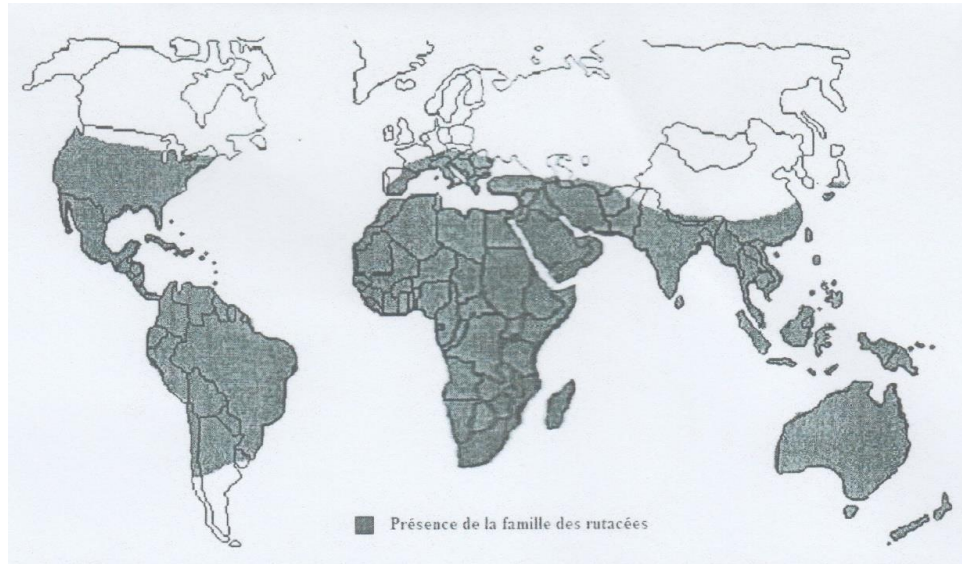


Figure 01: Répartition géographique de la famille de Rutacées (Gausson et *al* ; 1982).

II.2. Espèce *Ruta montana***II.2.1. Description botanique**

Les plantes *Ruta montana* est une plante pérennante, vivace, glauque, à tiges dressées, à feuilles très divisées, alternes, couvertes de petites punctuations qui sont des pochettes à essence. Les fleurs sont jaunes verdâtres, comportant 4 sepales, 4 pétales concaves et 8 étamines (Baba Aissa ; 1999).

II.2.2. La position systématique**Tableau 01:** La classification de *Ruta montana*.

APGIII (2009)
Règne : Plantae
Clade : Angiospermes
Clade : Dicotyledones Vraies
Clade : Rosidees
Clade : Malvidees
Ordre : Sapindales
Famille : Rutacées
Sous-Famille : Rutoideae
Genre : <i>Ruta</i>
Espèce : <i>Ruta montana</i>

III. La famille des Fabacées

Les fabacées ou légumineuses, avec 17000 espèces répandues dans le monde entier, sont après les Astéracées la seconde famille des Eudicots.

Les formes arborescentes prédominent dans les pays chauds ; les formes herbacées dans les régions tempérées.

Seul un carpelle persiste : il est à l'origine d'une gousse appelée légume par les premiers botanistes.

Les fabacées peuvent être subdivisées en quatre sous-familles :

-les Bauhinoïdées et les Mimosoïdées qui comprennent surtout des arbres des pays chauds : Mimosa, Acacia, Cassia ;

-les Faboïdées (du genre Faba, Fève), autrefois appelées papilionacées, en raison de la forme de la corolle en papillon, voir plus bas comprennent de nombreux représentants de nos régions : les Trèfles, les pois, les Haricots...

-Les Mimosoïdées encore proches des Rosacées primitives, ont un périanthe régulier et réduit mais des étamines généralement très nombreuses (Dupont et *al* ; 2007).

III.1. description botaniques

III.1.1. Appareil végétative

Nous insistons sur deux points : la particularité biologique des racines et l'évolution foliaire.

- 1- Les racines présentent des renflements ou nodosités, les Rhizobium, dont il existe plusieurs variétés ou espèces suivant la Fabacée atteinte. Il s'établit une symbiose entre cette dernière et la bactérie.

Celle-ci fixe l'azote atmosphérique, empruntant l'énergie nécessaire dans les sucres formés par la plante. En retour, cette dernière utilise la majeure partie de l' NH_3 Synthétisée par la bactérie

- 2- Les feuilles, primitivement alternes, composées-imparipennées et stipulées, peuvent évoluer vers une feuille simple, ou vers une feuille composée -pennée ; en particulier, la foliole terminale se transforme souvent en vrille et les stipules peuvent devenir plus importantes que les feuilles, voire les remplacer.

Ainsi, à partir d'une feuille à folioles imparipennées (Sainfoin, Réglisse), il peut y avoir :

- disparition de la foliole terminale (fève) ;
- ou sa transformation en vrille (vesce). Les folioles latérales peuvent alors se réduire à deux ou même totalement disparaître, tandis que, par compensation, les stipules acquièrent la taille de folioles (gesse) ;
- réduction à trois folioles (Trèfle, Lotier ; chez ce dernier, les stipules sont très importantes et simulent une feuille à cinq folioles) ; suite à une mutation, certaines feuilles de Trèfle sont à quatre feuilles ;
- ou même à la seule foliole terminale (ex : les feuilles de l'extrémité des rameaux chez le genêt à balais) ;
- transformation des stipules en épines (Robinier faux-acacia) ;
- ultérieurement, par surévolution, subdivision des deux folioles latérales (Lupin)
- et toujours par surévolution, développement de petites stipules au niveau des folioles, ce sont les stipelles (Haricot) (Dupont et *al* ; 2007).

III.1.2. Appareil reproducteur

a) La fleur

Les fleurs sont groupées en grappes plus ou moins allongées :

- _ La coupe florale est peu marquée, presque plane.
- _ Le calice, gamosépale, a cinq dents, qui se groupent parfois en deux lèvres (Genet).

La corolle, très zygomorphe, est dite (papilionacée) nous avons vu que le pétale supérieure est très important : c'est l'étendard. Il recouvre les deux pétale latéraux ou ailes, qui recouvrent eux-mêmes ceux de la carène. Ces derniers comprimés par les autres pétales ont d'ailleurs tendance à se souder plus ou moins longuement par leur bords communs.

_ Chez les trèfles, ou les fleurs sont très serrées dans l'inflorescence. L'ensemble des pétales peut se **souder** : la corolle devient gamopétale. Chez quelques espèces tropicales, seul l'étendard persiste.

_ L'androcée compte dix étamines qui peuvent être libres chez les espèces les plus primitives, soudées entre elles par leur filet, sauf une, comme chez le haricot (cas le plus fréquent) ou toutes soudées comme chez les genets.

Le gynécée est représenté par un carpelle allongé, pluri ovulé et surmonté d'un style de forme variable (Dupont *et al* ; 2007).

b) Le fruit

Nous avons vu qu'il caractérisait l'ensemble des Fabales. La gousse ou légume est un fruit sec défini par une double ouverture : ventrale (le long de la ligne de suture du carpelle, comme pour un follicule) et dorsale (au niveau de la nervure principale de la feuille carpellaire).

La gousse peut, chez quelques espèces, se transformer secondairement. Ces variations sont analogues à celles que nous décrivons chez les Brassicoidées pour les siliques.

_ La gousse peut devenir pauciséminée (et alors généralement indéhiscentes).

Le fruit de l'Arachide ou cacahuète contient encore deux à quatre graines ; le fruit du Sainfoin ne contient plus qu'une seule graine et devient un akène.

_ La gousse, bien que pluriséminée, peut perdre ses déhiscences dorsales et centrales. Elle devient lomentacée. Dans les cas les plus primitifs, les graines sont libérées par pourriture du fruit (Sophora), mais également la gousse acquiert une désarticulation secondaire en segments akénoïdes (Coronille).

_ La gousse peut prendre également une fausse cloison longitudinale par introflexion (Astragale).

_ Enfin les gousses peuvent devenir spiralées (Luzerne), vésiculeuse (Baguenaudier), ailées ou charnues (Caroubier).

Les graines, résultant d'un ovule courbe, sont elles-mêmes arquées. Elles sont exalbuminées et riches en amidon, matières protéiques (aleurone) et huile ; selon les genres, c'est l'une ou l'autre de ces réserves qui domine (ex : Amidon chez les pois, Haricot, Fève, Lentille ; huile chez l'Arachide ; Protéines chez le Soja) (Dupont *et al* ; 2007)

III.2. Distribution géographique

Les Fabacées constituent la troisième famille des angiospermes de par le nombre de ses représentants. Elles ont une distribution quasi cosmopolite et se trouvent dans les zones tropicales, subtropicales ou tempérées. Cette famille s'accommode d'une très large gamme d'habitats, et inclut autant de plantes herbacées, aquatiques ou xérophytes, que des arbustes, des arbres ou des plantes grimpantes à lianes volubiles ou à vrilles (Heywood ; 1996).



Figure 02: Carte de répartition de la famille des Fabacées (Heywood ; 1996).

IV. Genre : *Ceratonia*

Ceratonia est petite genre d'arbres à fleurs dans la famille des pois (Fabaceae), endémique à la région méditerranéenne et au Moyen-Orient. Son meilleur élément connu, le caroubier, est cultivé pour ses gousses et a été largement introduit dans les régions avec des climats similaires. Le genre a été longtemps considéré comme monotypique, mais une seconde espèce, *Ceratonia oreothauma*, a été identifiée en 1979 en provenance d'Oman et la Somalie. Il appartient à la sous-famille Caesalpinioideae, tribu Caesalpinieae.

Un nom obsolète pour *Ceratonia* était *Acalis*.

V. L'espèce : *Ceratonia siliqua* L.

Noms de l'espèce et de la taxonomie Le nom scientifique de caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) dérive de keras grecs, corne, et siliqua latine, faisant allusion à la dureté et la forme de la nacelle. Le nom commun sont dérivées l'Kharroub arabe et caroubier en français. Le genre *Ceratonia* appartient à la famille des Légumineuses (syn. Fabacées) de l'ordre Rosales. Légumineuses sont des membres importants de la végétation tropicale, subtropicale et tempérées du monde entier. Ceci est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs et comprend 650 genres et plus de 18 000 espèces et est extrêmement variable dans la morphologie et de l'écologie. Le caroubier est généralement placé dans la tribu Cassieae du Caesalpinioideae sous-famille; Cependant, plusieurs auteurs doutent de la position de *Ceratonia* dans le Cassieae. Le nombre de chromosomes diploïde pour *Ceratonia* est $2n = 24$ alors que de nombreux membres du complexe Cassieae ont $2n = 48$ (Goldblatt 1981). Le genre *Ceratonia* est considéré comme l'un des plus archaïques des genres de légumineuses. Taxonomiquement, *Ceratonia* est complètement isolé de tous les autres genres de sa famille. Hillcoat et al. (1980) et Tucker (1992a) considère la caroube comme un reste très isolé d'une partie de la famille des Légumineuses maintenant en grande partie disparu (Batlle et Tous ; 1997).

V.1. Description botanique

V.1.1. Appareil végétative

Le caroubier pousse comme un arbuste à feuilles persistantes sclerophyllous ou de l'arbre jusqu'à 10 m de haut, avec une large couronne hémisphérique et un tronc épais avec de l'écorce rugueuse brun et branches robustes. Les feuilles sont 10-20 cm de long, alternes, pennées, avec ou sans un dépliant terminal. Les folioles sont 3-7 cm de long, ovées à elliptiques, à 4-10 paires normalement opposées, coriaces, vert et brillant foncé dessus, vert pâle en dessous et finement veiné avec des marges légèrement ondulées et minuscules stipules.

Les feuilles : sont sclerophyllous et ont un très épais épiderme supérieur à une seule couche, les cellules qui contiennent des composés phénoliques dans les grandes vacuoles et stomates sont présents seulement dans l'épiderme inférieur et disposées en grappes Les parties pertinentes de la plante. Caroube ne perdant pas ses feuilles à l'automne, mais seulement en Juillet tous les deux ans, et il renouvelle que

partiellement les feuilles au printemps (avril et mai) (Batlle et Tous ; 1997).

V.1.2.Appareil reproducteur

a) Fleurs

La caroube est une espèce dioïque avec certaines formes hermaphrodites; ainsi les fleurs mâles et les fleurs femelles et hermaphrodites sont généralement supportées sur des arbres différents. Fleurs unisexuées et bisexuelles sont rares dans l'inflorescence. Les fleurs sont d'abord bisexuelles, mais généralement un sexe est supprimé au cours du développement tardif des fleurs fonctionnellement mâles ou femelles; dioécie n'est pas fréquent chez les Légumineuses. En termes d'évolution, unisexualité est généralement considéré comme un caractère dérivé de l'état ancestral bisexuel.

Les fleurs sont petites et nombreuses, 6-12 mm de long, disposées en spirale le long de l'axe de l'inflorescence en grappes des chatons comme supportés sur des éperons de vieux bois et même sur le tronc (cauliflorie). Les fleurs sont vert teinté rouge. Fleurs montrent une symétrie pentamère avec calices mais pas corolle placé sur un court pédoncule. Le calice est en forme de disque, rouge-vert et des ours nectaires. Les fleurs femelles se composent d'un pistil (6-8,5 mm) sur un disque et rudimentaires étamines, entouré de 5 sépales velus. L'ovaire est plié, composé de deux carpelles 5-7 mm de long et contenant plusieurs ovules. Le stigmate a 2 lobes. Les fleurs mâles se composent d'un disque nectarial avec 5 étamines avec des filaments délicats entourés de sépales velus. Dans le centre du disque, il y a un pistil rudimentaire. Fleurs hermaphrodites sont une combinaison des deux types, contenant un pistil et un complément de 5 étamines (Batlle et Tous ; 1997).

V.2. Origine et distribution géographique

V.2.1. Origine

Le centre d'origine de *C. siliqua* n'est pas clair. Il a été placé par De Candolle (1883) et Vavilov (1951) dans la région de la Méditerranée orientale (Turquie et Syrie). Cependant, Schweinfurth (1894) considéré comme caroube originaire des hautes terres du sud de l'Arabie (Yémen). Plus récemment, il a été considéré par Zohary (1973) comme provenant d'une flore xerotropical indo-malaisienne, le regroupement avec *Olea*, *Laurus*, *Myrtus*, *Chamaerops* et d'autres et en plaçant l'origine de son genre aussi sur la péninsule arabique. *Ceratonia oreothauma*, les espèces apparentées de caroube uniquement connus, est considéré comme ayant son centre d'origine dans le sud-Saoudite (Oman) et autour de la corne de l'Afrique (au nord de la Somalie). Les centres de vue climatique origine de la sous-famille caesalpinioideae étaient chaud et humide au départ, mais après la période de séchage et de grande élévation du Crétacé des terres se sont produites de sorte que refroidisseur, beaucoup plus sec, même

désert, les conditions ont évolué. D'autres légumineuses caesalpinioïdes sont principalement tropicales et subtropicales. En outre, Mitrakos (1988) a suggéré que le caroubier semble avoir évolué sous un climat autre que la Méditerranée (Batlle et Tous : 1997).

V.2.2. Distribution

La distribution originale de *C. siliqua* n'est pas claire car elle a subi la culture extensive depuis les temps anciens. Hillcoat et al. (1980) a suggéré sa gamme à l'état sauvage inclus la Turquie, Chypre, Syrie, Liban, Palestine, le sud de la Jordanie, l'Égypte, l'Arabie, la Tunisie et la Libye et qu'il se déplaçait vers l'ouest, à un stade précoce.

Caroube est censée avoir été propagé par les Grecs en Grèce et en Italie, puis par les Arabes le long de la côte de l'Afrique du Nord dans le sud et l'est de l'Espagne, d'où il a émigré au sud du Portugal et le sud-est de la France.

Sa présence sauvage en Méditerranée occidentale est douteuse selon Zohary (1973). Caroubiers spontanés se produisent dans de nombreux endroits à travers le bassin méditerranéen occidental, mais ils sont considérés comme des dérivés sauvages de la récolte de fruits qui a probablement évolué sous la domestication. En tant que source de nourriture, les gousses de caroube peuvent être stockés et transportés sur de longues distances.

Dans la plupart de la région sauvage de la Méditerranée et de caroubes naturalisés sont distribués dans plus ou moins la même ceinture géographique et climatique que la culture. Les formes de caroubes spontanées sont particulièrement fréquents à basse altitude le long de la côte méditerranéenne espagnole, sud-ouest Espagne, le sud du Portugal, les îles Baléares, au sud-est en France, les rivages du sud de l'Italie, y compris la Sicile, la côte adriatique de la Croatie, la région égéenne en Grèce et en Turquie, le long des plages du nord et du sud de l'île de Chypre, dans les îles de Malte, dans la ceinture maritime du Liban et de Palestine, au nord et au sud du Maroc et le littoral en Tunisie.

Le caroubier a probablement été introduit aux États-Unis de l'Espagne par l'Office des brevets des États-Unis en 1854. Dans les années 1950 W. Rittenhouse et J.E. Coit promu cette espèce en Californie et greffons introduit des cultivars sélectionnés en provenance de Chypre, Palestine, la Tunisie, la Grèce, la Yougoslavie, la Crète, le Portugal, l'Italie et l'Espagne. Arbres plantules cultivés pour l'ombre dans les rues de villes du sud de la Californie et de l'Arizona ont été sélectionnés pour la production commerciale sur la base de leurs caractéristiques florales et fruitées Dans les pays méditerranéens, la répartition des espèces sclérophylles à feuilles persistantes comme *C. siliqua* est contrôlé par l'hiver stress dû au froid (Batlle et Tous ; 1997).



Figure 03: Origine et distribution du caroubier dans le monde

(Batlle et Tous ; 1997).

VI. La Position systématique de *Ceratonia siliqua*

Tableau 02: Position systématique des *Cratonia siliqua* selon différentes approches phylogénétique ou morphologique.

APGIII (2009)	
Règne :	Plantae
Clade :	Angiospermes
Clade :	Dicotylédones vraies
Clade :	Noyau des Dicotylédones
Clade :	Rosidées
Clade :	Fabidées
Ordre :	Fabales
Famille :	Fabacées
Sous-famille :	Caesalpinioideae

Genre : <i>Ceratonia</i>
Espèce : <i>Ceratonia siliqua</i> L.

Chapitre 2

Métabolites primaires et secondaires

I. Métabolites primaires :

I.1. Les glucides

I.1.1. Définition

Les glucides ou les sucres sont d'un point de vue chimique des polyols avec le groupement fonctionnel d'un aldéhyde ou d'une cétone. C'est pourquoi les sucres sont classés en aldoses et cétooses.

A partir d'une longueur de chaîne de trois atomes de carbone, il est possible de parler d'un sucre qui répond à la formule brute des glucides $C_n(H_2O)_n$ (Sabine Meyer et al ;2012)

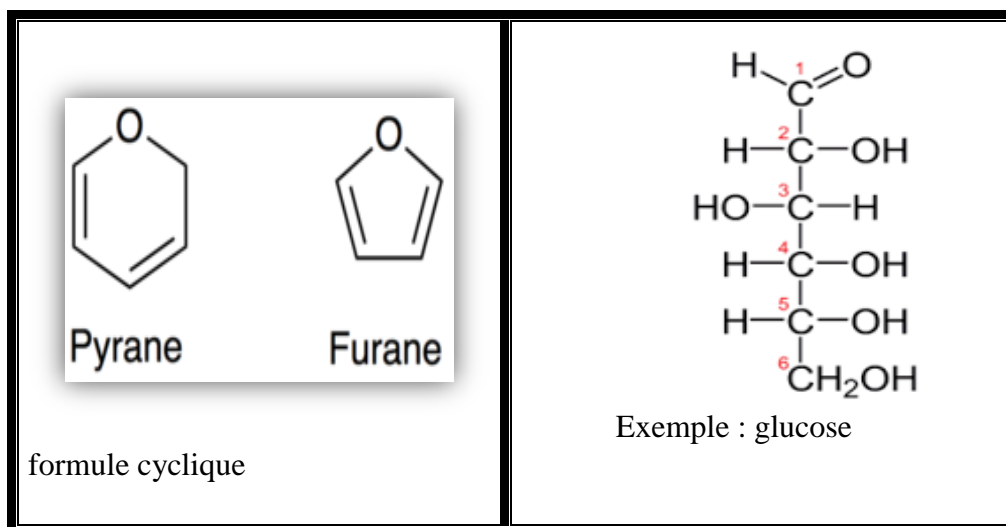


Figure 04: La formule cyclique et lignée de glucides.

I.1.2. Rôle des glucides

b.1) Rôle énergétique

- 40 à 50 % des calories apportées par l'alimentation humaine sont des glucides.
- Ils ont un rôle de réserve énergétique dans le foie et les muscles (glycogène) (Touitou ; 2005).

b.2) Rôle structural Les glucides interviennent comme

- Eléments de soutien (cellulose), de protection et de reconnaissance dans la cellule.
- Eléments de réserve des végétaux et animaux (glycogène, amidon).
- Constituants de molécules fondamentales : acides nucléiques, coenzymes, vitamines, ...

- Ils représentent un fort pourcentage de la biomasse car la plus grande partie de la matière organique sur la Terre est glucidique (Touitou ; 2005).

I.1.3. La place du glucose

- Principal carburant des tissus
- Seul carburant du fœtus
- Rôle fondamental car tous les glucides alimentaires sont absorbés sous forme de glucose ou convertis en glucose dans le foie.

Tous les glucides sont synthétisés à partir du glucose dans l'organisme (Coutouly ; 2007).

I.1.4. Classification des glucides

On distingue les oses et les osides.

a) Les critères de classification des oses

Ces critères font appel au nombre d'atomes de carbone de l'ose et à la nature du carboxyle.

- Le nombre d'atomes de carbone : 3C (triose) ; 6C (hexose)
- La nature du carbonyle : Aldéhyde → Aldose ; Cétone → Cétose
- La combinaison de ces 2 critères caractérise l'ose :

— Aldopentose, Aldohehexose, ...

— Cétopentose, Cétohexose, (Kessous ; 2011)

b) Les osides

- Ce sont des molécules dont l'hydrolyse fournit 2 ou plusieurs molécules d'oses. Ces oses sont identiques ou différents (Chikhi et al ; 2006)
- On en distingue 2 grands groupes :

Holosides et Hétérosides.

❖ Holosides

— Liaison de n molécules d'oses par des liaisons glycosidiques.

— Selon le nombre d'oses constitutifs : Di-, Tri, Tétra ... holosides.

— Oligosides : jusqu'à quelques dizaines d'oses.

— Polyosides : quelques centaines d'oses (cellulose, amidon) (Jacque ; 2009).

❖ **Hétérosides :**

— Ils donnent par hydrolyse : oses + aglycone (partie non sucrée).

— Liaison à des Protéines (glycoprotéines), à des Lipides (glycolipides), à des bases (Jacque ; 2009).

I.2. Les lipides

I.2.1. Définition

Les lipides sont employés comme réserve énergétique, comme constituants membranaires et comme isolant thermique sous forme de tissu adipeux. Ils exercent en outre des fonctions particulières sous forme d'hormones, de vitamines ou d'acides biliaires. Ils peuvent être répartis en trois classes avec pour charpente le glycérol, la sphingosine et l'isoprène. L'acétyl-CoA est la molécule à l'origine de leur synthèse à tous (Smith et al, 2006).

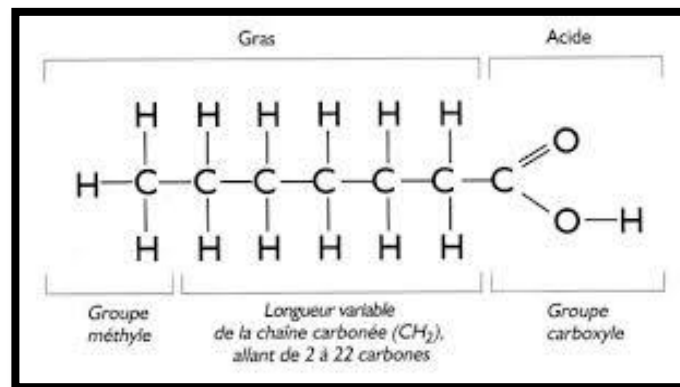


Figure 05: La formule générale des lipides.

I.2.2. La classification la plus utilisée est la suivante

a) Les lipides vrais :

Ils résultent de la condensation d'acides "gras" avec des alcools par une liaison ester ou amide, et on les subdivise en :

- les lipides simples qui sont neutres,
 - Glycérolipides : l'alcool est le glycérol
 - Cérides : les alcools sont à longue chaîne (gras)
 - Stérides : l'alcool est un stérol (polycyclique)
- les lipides complexes qui contiennent en plus des précédents du phosphore, de l'azote, du soufre ou des oses (Walton et brown ; 1999).

b) Les composés à caractère lipidique (lipoïdes)

- isoprénoides, dérivés d'unités isoprène : on trouve aussi le groupe des composés terpéniques et les dérivés du stérol
- icosanoides : des médiateurs dérivés d'un acide gras (Walton et brown ; 1999).

c) Les associations de lipides et les lipides conjugués

Les lipides participent à des édifices supramoléculaires non covalents qui incluent des protéines. Dans quelques cas, des protéines peuvent avoir une fraction lipidique liée de manière covalente (Walton et brown ; 1999).

I.3. Les acides aminés

I.3.1. Définition

Les acides aminés sont des ampholytes.ils peuvent exister sous différent états ionique en solution aqueuse. Selon la valeur du PH,le groupement amine , tout comme le groupement carboxyle, peut être protoné ou déprotoné. Les acides aminés possèdent de ce fait un effet tampon, c'est à dire qu'ils peuvent stabiliser le PH d'une solution (Michel et *al* ; 2013).

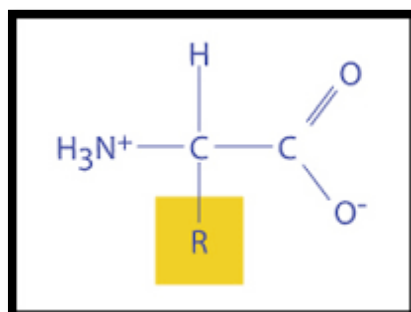


Figure 06: Formule générale d'un acide aminé (Moussard ; 2011).

I.3.2. Rôle des acides aminés

Les acides aminés, exception faite de quelques cas particuliers ne s'accumulent pas ; ils sont immédiatement métabolisés pour donner des métabolites primaires ou secondaires (Moussard ; 2011).

a) Métabolites primaires

Les acides aminés du métabolisme primaire sont :

- Polymérisés sous forme de peptides et de protéines donnant naissance ainsi aux enzymes du métabolisme, aux protéines de structure et de réserve.
- Utilisés dans les biosynthèses très générales comme la synthèse des acides nucléiques, ou plus spécialement caractéristiques des végétaux : formation de l'auxine et de l'éthylène, synthèse de vitamines du groupe B.

Les végétaux sont les seuls à pouvoir synthétiser les vitamines du groupe B. Dans le cas de la Thiamine ou vitamine B1, l'alanine et la méthionine sont à l'origine du cycle Thiazole.

La biotine (vitamine H) est synthétisée à partir de la cystéine.

b) Métabolites secondaires

Chez les plantes les acides aminés sont le point de départ de nombreux métabolites secondaires. Ils sont à l'origine des alcaloïdes (Merghem ; 2009).

I.4. Sels minéraux

I.4.1. Définition

Les sels minéraux sont les constituants qui restent (sous forme de cendres) après calcination des tissus organiques.

I.4.2. Les propriétés générales des sels minéraux

Les sels minéraux sont essentiels à l'organisme, notamment parce qu'ils :

- ✓ contrôlent l'équilibre hydrique (pression osmotique)
- ✓ règlent l'équilibre acide-base (pH)
- ✓ font partie de certaines structures (os, dents)
- ✓ entrent dans la composition des enzymes, des hormones.
- ✓ catalysent de nombreuses réactions du métabolisme Selon les quantités mises en jeu dans l'organisme.

I.4.3. Les groupes des sels minéraux

Les sels minéraux sont couramment divisés en 2 groupes:

- les éléments principaux ou macroéléments: Ca, P, K, Cl, Na, Mg.
- les éléments traces ou oligoéléments: Fe, Zn, Cu, Mn, I, Mo, etc.

II. Métabolites secondaires

II.1. 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. 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'arome, 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). Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes (Walton et Brown ; 1999).

Tableau 03: les différentes classes des composés phénoliques (Daayf et Lattanzid ; 2008).

Squelette carbonée	Classes de composés phénoliques
C6	Phénols simples et benzoquinones
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénonnes et les acides phenylacétiques
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C6-C4	Naphthoquinones
C6-C1-C6	Xanthonnes
C6-C2-C6	Stilbènes et anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C1) ₂	Tannins hydrolysables
(C6-C3) ₂	Lignanés et néolignanés

(C6-C3-C6) ₂	Biflavonoïdes
(C6-C3) _n	Lignines
(C6) _n	Catéchols
(C6-C3-C6) _n	Tannins condensés

II.1.1. La biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

- Celle de l'acide shikimique
- Celle issue de l'acétate

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (Martin et Andriantsitohaina ; 2002).

II.1.2. Effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Baharun ; 1997). Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (BabarAli et *al* ; 2007), anti-allergènes, vasodilatateurs (Falleh et *al* ; 2008) et antioxydants (Gomez-Caravaca et *al* ; 2006). Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculoprotecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du ruténoside, le Daflont ou le Diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des anti-agrégant plaquettaire, ou hypotenseur sans résultats probants (Martin et Andriantsitohaina ; 2002).

II.2. Les flavonoïdes

II.2.1 Définition

L'appellation « flavonoïdes » rassemble une très large gamme de composés polyphénoliques formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones. Ces composés représentent le groupe de composés phénoliques le plus diversifié : plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés. Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune qu'ils engendrent. D'ailleurs, leurs fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration ; au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes. Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc. Aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal. Certains sont plus spécifiques de certains tissus. Exemple : les chalcones se trouvent plus fréquemment dans les pétales de fleurs (Seyoum et al ; 2006)

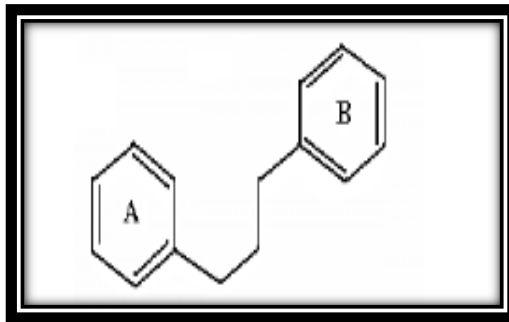


Figure 07: Squelette de base des flavonoïdes.

II.2.2. Les classe des flavonoïdes

Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme suit :

a) Flavones et flavonols : Le cycle A de ces deux types de molécules est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et en C7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés. D'autre part, le cycle B est substitué en C4' ou di-substitué en C3' et C4' par des groupements OH ou méthoxyles (OCH₃). Les flavonols se distinguent des flavones par un OH en C3

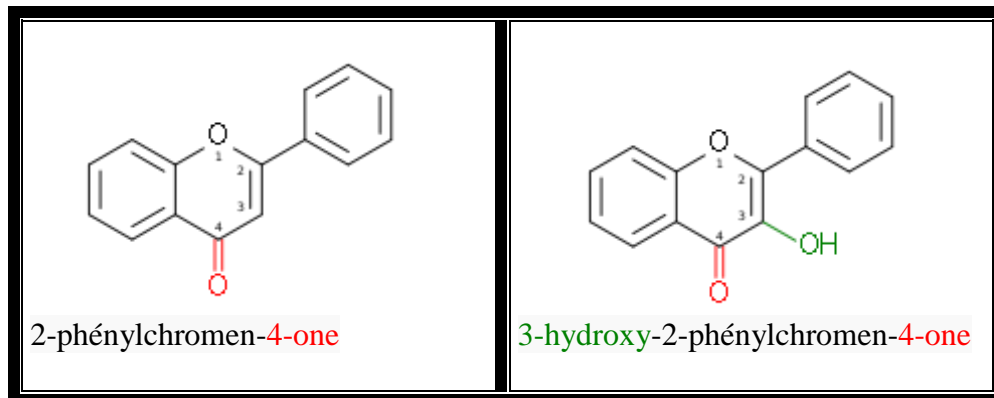


Figure 08: La structure de Flavones et flavonols.

b) Flavanones et hydroflavonols : Se caractérisent par l'absence de la double liaison entre le C2 et le C3 et par la présence des centres d'asymétrie. Les variations structurales sont ici de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols. Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C3 (Fraga ; 2009).

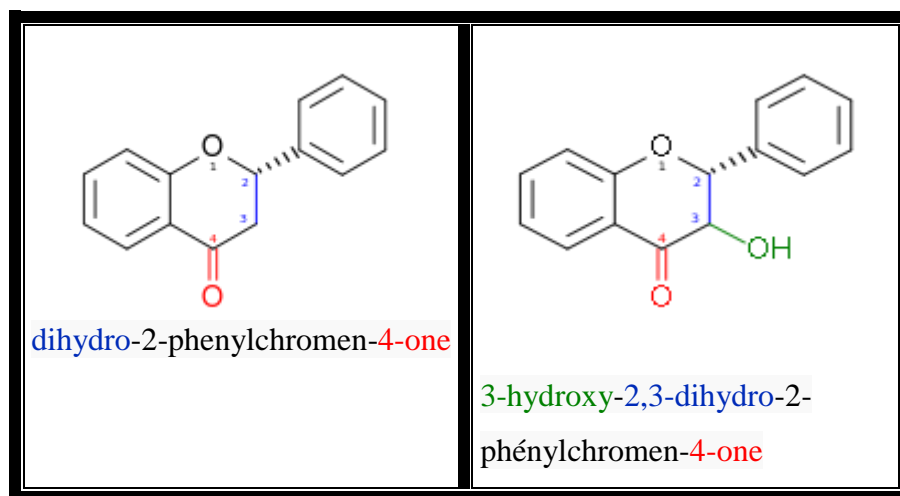


Figure 09: La structure de Flavanones et hydroflavonols.

c) Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols : Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C4. Cette position peut être libre (flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (flavan-3,4-diols).

Les anthocyanosides sont caractérisées par l'engagement de l'OH en C3 dans une liaison hétérosidique. On trouve parmi ces composés, le palargonidol-3,4-O-glucoside et le cyanidol-3-O-rutinoside ou keracyanine (Bruneton 1999). Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont souvent à l'origine des

polymères flavoniques appelés proanthocyanidols ou tannins condensés. Les anthocyanes donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve, rose ou rouge (Heller et Forkman ; 1986).

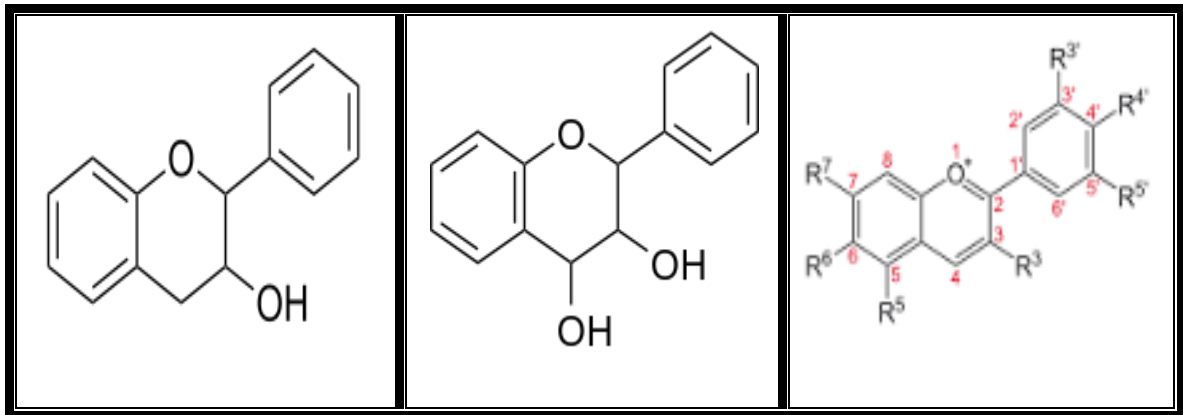


Figure 10: La structure de Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols.

d) Chalcones et aurones : Les chalcones ont leur noyau pyranique central ouvert et sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique et insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le 17 cycle A sont plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes. Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumarone (Bruneton ; 1999, Ono et al 2006). Néanmoins, selon d'autres auteurs (Sarni-Manchado et Cheynier ; 2006), la classification des flavonoïdes inclue aussi le groupe des anthocyanes. Ceci en raison de la grande similitude structurale de ces derniers avec les flavonoïdes ; et plus précisément avec les anthocyanidols.

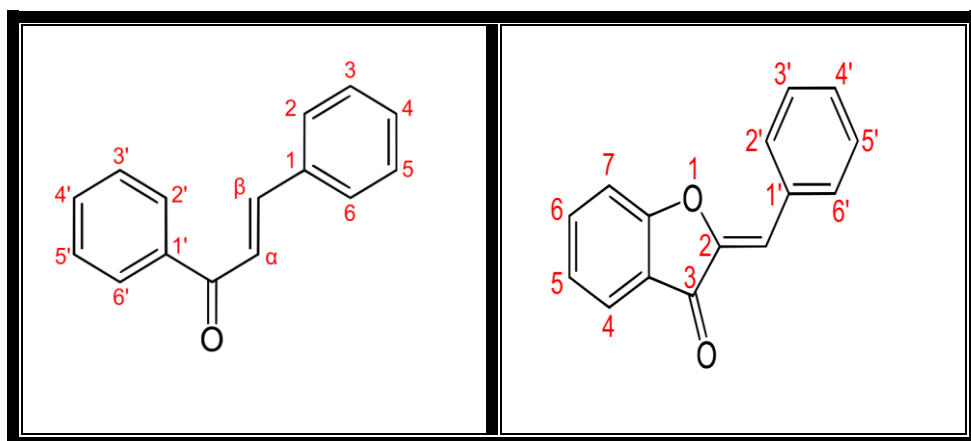


Figure 11: La structure de Chalcones et aurones.

II.3. Les quinones

II.3.1. Définition

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (Kansole ; 2009).

II.4. Les anthraquinones

II.4.1. Définition

Sont des composés aromatique qui provoquent des contractions des parois du gros intestin et ont ainsi une action extrêmement laxative. Le séné (*cassia angustifolia*) et la rhubarbe d'ornement (*Rheum palmatum*) contiennent par exemple de l'antraquinone (Hans et Kothe ; 2007)

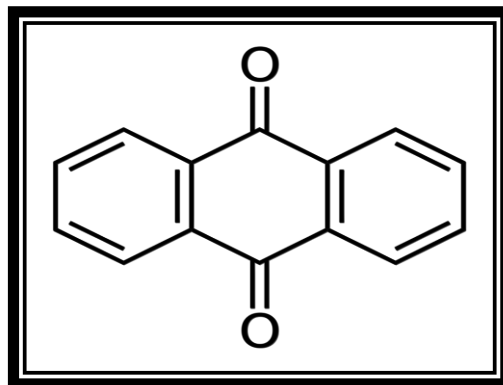


Figure 12: La formule générale des anthraquinones.

II.5. Les tanins

II.5.1. Définition

Les tanins naturels sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise en 500 et 3000 et, qui outre les réactions habituelle des phénols, provoquent la précipitation des protéines (ou autres polymères) et les tanins, ou acides tanniques, sont des composés organiques complexes présents dans pratiquement toutes les plantes à des concentrations diverses. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles, ce qui leur donne un goût piquant désagréable et les rend

immangeable pour le bétail (Roux, 2007).

II.5.2. Les classe des tanins

a) Les tannins hydrolysables:

Sont des hétéro polymères dont l'hydrolyse chimique ou enzymatique libère outre la molécule de glucose, de l'acide gallique (cas de gallotannins) ou ses formes dimériques : acide m-digallique, ac ellagique (cas des ellagitannins) (Jarrige et *al* ; 1995, Collin et *al* ; 2011)

b) Les tanins condensés (tanins vrais ou tannoïdes) :

Résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leuco-anthocyanidines). Les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables. Les tannins condensés sont également appelés proanthocyanidines ; en effet leur oxydation en milieu alcool-acide à chaud entraîne la fonction de pigments anthocyaniques tels que cyanidine et delphinidine. C'est certainement ce type de molécules qui est dotée de propriétés remarquables chez les plantes qui en sont pourvues (Weinman et *al*, 2004 , Dykes et *a* ; 2006).

II.6. Terpènes

II.6.1. Définition

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n 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 C_5H_8 .

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.) (Merghem ; 2009).

II.6.2. Classification des terpènes :

Dans le règne végétal, les tetrénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Merghem ; 2009).

a) Hémiterpènes

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule de C5 ramifiée; parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme hémiterpène, seul l'isoprène a toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes

b) Monoterpènes

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurelles : les monoterpènes linéaires (acyclique), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques).

c) Sesquiterpènes

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules dont les plus caractéristiques sont présentées à la figure B3. Les sesquiterpènes se divisent en plusieurs catégories structurelles, acyclique, monocyclique, bicyclique, tricyclique, polycyclique.

d) Diterpènes

Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C20) élaborées à partir de 4 unités d'isoprène ; ils se forment à partir de leur précurseur, le géranylgeranylpyrophosphate (GGPP). Ces composés sont principalement présents dans les plantes supérieures dans les résines ou les gibbérellines, ainsi que dans les champignons. Il existe environ 2700 diterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme cyclique. Parmi les diterpènes linéaires, on rencontre la famille Phytane dont le phytol est le représentant le plus connu dans la chlorophylle ou dans les vitamines K et E. Les diterpènes cycliques sont des dérivés de cyclophytane Le rétinol et le rétinol, deux formes de la vitamine A sont les plus connus dans cette famille.

e) Sesterpènes :

Les sesterpènes sont des composés en C₂₅, construits à partir de 5 unités d'isoprène. L'acide mévalonique (MVA) semble être le précurseur de cette classe. Ils ont été isolés des plantes, des champignons, des insectes, et des éponges. Il y a plus de 150 sesterpènes bien connus, parmi lesquels une trentaine a une structure de furfurane, dérivé du 3,7,11,15,19Pentamethyleicosane. Les sesterterpènes sont plutôt rares dans la nature ; ils se trouvent soit sous forme linéaire soit cyclique, avec un, deux, trois ou quatre cycles.

f) Triterpènes

Les triterpènes en C₃₀ sont produits à partir de deux molécules de farnésyl-Pyrophosphate (FPP) par une fusion de tête-à-tête. Il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant très rare. Parmi les triterpènes acycliques, le squalène est le précurseur des autres triterpènes, et aussi des stéroïdes végétaux. La plupart des triterpènes sont des alcools, sous forme libre ou glycoside (les saponines) ou ester. Les triterpènes libres sont des composants principaux des résines ou du latex des végétaux. La vitamine D₂ est un produit dérivé de triterpène.

g) Tetraterpènes :

Les caroténoïdes sont des tetraterpènes, les plus typiques étant les apocaroténoïdes, les diapocaroténoïdes, les mégastigmanes.

h) Polyterpènes

En général, les polyterpènes ou polyisoprènes se composent de plus de 8 unités d'isoprène. Ces terpènes se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis- et trans. Le cis-polyisoprène se trouve dans le caoutchouc indien, alors que le polyisoprène-trans est la partie principale de gutta-percha. En plus Chicle représente un mélange de 1:2 de deux isomères cis- et trans-. Les prenylchoinones sont des polyterpènes comptant jusqu'à 10 unités d'isoprène, parmi eux, on rencontre les vitamines K₁ et K₂ et la vitamine E.

II.7. Les alcaloïdes :

II.7.1. Définition :

Les alcaloïdes sont des composées organiques azotes qui doivent leur activité pharmacologique au groupe amine qu'il contiennent en permanence de nombreux poisons dingirent comme l'atropine extrait de la belladone mortellement toxique (*atropa belladona*)et qui peut cependant être utilisée a faible doses dant une optique thérapeutique, font partie de la famille des alcaloïdes (Bhat ; 2005).

II.7.2. Les classe des alcaloïdes :

a) **Les pseudo-alcaloïdes** : Ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale : exemple la coniine.

b) **Les proto-alcaloïdes** : L'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont Elaborés a partir d'acides amines, exemples : mescaline, horidinine, éphédrine, colchicine.

c) **Les alcaloïdes vrais** : que l'on classe suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle ; Biosynthétiquement formes a partir d'acides amines ; Possèdent une activité pharmacologique marquée (Merghem : 2009).

II.8. Les coumarines :

Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide P-coumarique.

Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés dans lesquels ils sont extractibles. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau. Elles ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituants. En lumière ultra-violette, les CCM présentent des tâches dont la coloration varie du bleu au pourpre en passant par le jaune.

Les coumarines sont cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées.

L'odeur de foin fraîchement coupé de la coumarine est très utilisée en parfumerie .Elles est aussi utilisée dans les produits cosmétiques.

Chapitre 3

L'activité antioxydante

I. Les activités antioxydantes :

I.1. Radicaux libres et antioxydants :

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques. Les radicaux libres ne sont pas toujours néfastes ; en fait, ils permettent au corps de contrôler la tonicité des muscles lisses, de combattre les inflammations et de lutter contre les bactéries. Cependant, l'opération bénéfique des radicaux libres dépend d'un équilibre délicat qui peut être détruit par de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons et l'eau et les aliments que nous consommons. Les rayons ultraviolets du soleil, d'autres radiations, la fumée de tabac, l'exercice excessif et le stress sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système (Descheemaeker ; 2004).

I.2. Les antioxydants :

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie et le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé. Les risques et les effets néfastes des antioxydants synthétiques utilisés comme additifs alimentaires ont été questionnés au cours des dernière années et la nécessité de les substituer par des antioxydants naturels, issus de plantes médicinales, est apparente. Le maintien d'un niveau non cytotoxique des espèces oxygénées réactives est assuré par des systèmes d'antioxydants.

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou

extracellulaire. Les défenses antioxydants de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (Shahidi ; 1997).



Partie 2

Chapitre 1

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal

I.1. *Ceratonia siliqua* : Les feuilles et les tiges ont été récolté le mois de février 2016 dans la région d'Elkharoub (wilaya de Constantine).



Arbre



Fruits



Feuilles

Figure 13: L'espèce *Ceratonia siliqua*.

I.2. *Ruta montana* : La plante a été récolté durant le mois de février 2016 dans la zone sidi amour d'Elkharoub (wilaya de Constantine).



Figure 14: L'espèce *Ruta montana*.

II. Préparation des extraits

II.1. Extrait hydrométhanolique (extrait A)

Dans un flacon contenant 4g de poudre végétal on ajouté 40ml de MeOH (70%), Après 24 heures de repos, le macérât est filtrée pour obtenir l'extrait hydrométhanolique.

II.2. Extrait Chloroformique (extrait B)

2g de poudre végétal ont été macéré dans 20ml de CHCl_3 , Après 24 heures de repos, le macérât est filtrée pour obtenir l'extrait chloroformique.

II.3. Extrait étherique (extrait C) :

2g de poudre végétal ont été macéré dans 20ml de éther de pétrole, Après 24 heures de repos, le macérât est filtrée pour obtenir l'extrait étherique.

II.4. Extraits aqueux (extrait D) :

L'extrait aqueux a été préparé à partir de la poudre végétale dans l'eau distillée.

III. Criblage des métabolites primaires :

III.1. Les glucides :

➤ **Protocole expérimentale :**

On ajoute à l'extrait aqueux de chaque organe la solution de Fehling, la présence d'une couleur rouge brique confirme la présence des glucides réducteurs.

III.2. Les acides aminés :

Préparation de l'éluant : butanol 70 ml + acide acétique 18 ml + eau 12 ml.

- **Solutions d'AA** : 5 mg d'AA (proline, alanine, glycine, isoleucine, tyrosine, cystéine, méthionine) dans 1 ml d'eau distillée.
- **Révéléateur** : solution de ninhydrine à 5%
- **Les plaques CCM** : tracé, à l'aide d'un crayon un trait à 2 cm du bas de la plaque, marquant la ligne sur laquelle se feront les dépôts. Sur la plaque CCM on a déposé successivement les différentes substances (Les AA de référence et l'extrait aqueux de chaque organe). Après on place la plaque dans la cuve. Puis on retire la plaque et pulvérisé le révélateur sous la hôte sur la plaque CCM.

III.3. Les lipides :

➤ **Protocole expérimentale :**

On a utilisé deux extraits (B, C) de chaque plante additionné du réactif noir soudan. L'observation de la couleur noir confirme la présence des lipides.

III.4. Les sels minéraux :

➤ **Protocole expérimentale :**

Ces tests sont réalisés à partir des extraits aqueux, on utilise quatre tubes avec leurs témoins dans chaque tube, on ajoute les différents réactifs spécifiques aux l'extrait aqueux.

IV. Criblage des métabolites secondaires

IV.1. Criblage des flavonoïdes

➤ Protocole expérimental

Le criblage des flavonoïdes se réalise à partir de l'extrait hydro-méthanoïque des différents organes (feuilles, tiges, fruits, racines) des plantes utilisées.

On utilise trois tubes, le 1^{er} servant de témoin et les 2 autres pour les 2 tests

- **Test de Wilstater**

Pour le premier test : 0,5 ml de HCl pure et quatre tournures de magnésium (Mg) sont ajoutés dans 0,5 ml d'extrait (A). Après 10 minutes. Le changement de coloration est observé :

- Virage au rouge (flavones).
- Virage au rouge pourpre (flavonols).
- Rouge violacée (flavanones et flavanols).

2-Criblage des anthocyanes

- **Test de Bate-Smith**

Pour le second test, la même opération est répétée sur le même extrait(A) mais avec quatre gouttes de HCl et porter au Bain marie (30minutes). L'apparition d'une coloration rouge dénote la présence d'anthocyanes.

IV.3. Criblage des quinones :

➤ Protocoles expérimentales :

Dans ce criblage on utilise l'extrait (B), dans un tube contenant l'extrait (B) et on ajoute quelques gouttes de NaOH 10%, après agitation la présence des quinones est confirmée par la coloration jaune de la phase aqueuse.

IV.4. criblage des anthraquinones

➤ Protocoles expérimentales

Le criblage des anthraquinones se réalise à partir d'extrait(C), dans un tube on ajoute KOH 10% à l'extrait(C), après agitation la présence des anthraquinones est confirmée par la coloration rouge de la phase aqueuse.

IV.5. Criblage des tanins

➤ **Protocoles expérimentales**

Le criblage des tanins se réalise à partir de l'extrait hydro-méthanolique, on a utilisé trois tubes à essai contenant des extraits des plantes *Ceratonia siliqua* et *Ruta montana*.

- ✓ tube1 : témoin.
- ✓ tube2 : ajoutée de 4 à 5 gouttes de FeCl₃ (couleur bleue).
- ✓ tube3 : ajoutée de 4 à 5 gouttes de gélatine 1% (précipite).

IV.6. Criblage des stérols et triterpènes :

Dans boîte de pétri en verre on pose l'extrait (A) et laissée pour séchée, puis on ajoute 10ml de chloroforme et on filtre l'extrait obtenue.

Tube n°1 : test de Salkowski : dans ce tube ajouter 1 à 2 ml de H₂SO₄ sur l'extrait (D). Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence des Stérols insaturés.

Tube n°2 : test de Libermann-Burschard : additionner trois gouttes d'Anhydride acétique puis agiter légèrement, Ajouter une goutte de H₂SO₄. Le changement de la coloration est observé pendant 1 heure :

- une coloration bleu-vert indique la présence des Stéroïdes.
- rouge-violet à rose dénote la présence de triterpène.

Tube n°3 : test de Badjet-Kedde : additionner quelques grains d'Acide picrique. L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques.

IV.7. Criblage des alcaloïdes :

➤ **Préparation des réactifs :**

Pour faire les tests d'identification rapides des alcaloïdes on peut préparer un extrait selon le procédé suivant :

➤ **Protocole expérimentale :**

Dans un tube à essai de 16 ml, on introduit 200 mg de poudre végétale avec 10 ml d'acide sulfurique (1%) on agite pendant 2 min et on filtre sur papier, après on partage le filtrat entre trois (03) tubes, et on ajoute respectivement au :

- ✓ Tube n°1 : reste comme témoin.
- ✓ Tube n°2 : quelques gouttes de réactif Dragendorff. Apparition d'un précipité et la couler orange confirme la présence des alcaloïdes.
- ✓ Tube n°3 : quelques gouttes de réactif Mayer. Apparition d'un précipité de la couleur jaune confirme la présence des alcaloïdes.

IV.8. Criblage les coumarines :

➤ **Préparation de l'éluant :**

Mélange toluène / AcOEt (36:14)

➤ **Préparation des plaques CCM :**

Dans la plaque préparé a CCM on dépose sur la ligne de dépôt nos échantillons (extraits chloroformiques) du différante organes des plantes étudiées et on met les plaque CCM dans la cuve pendant la migration des échantillons. La visualisation du chromatogramme, après migration, se fait à 254 nm.



Figure 15: La chromatographie sur couche mince de la coumarine.

V. analyse des extraits par CCM

➤ **Les systèmes solvants**

Sys 1 : chloroforme/méthanol (9,1).

Sys 2 : butanol / acide acétique / eau (4, 1,5).

Sys 3 : acétate d'éthyle / méthanol / eau (10, 1,1/2)

➤ **Préparation de la plaque CCM**

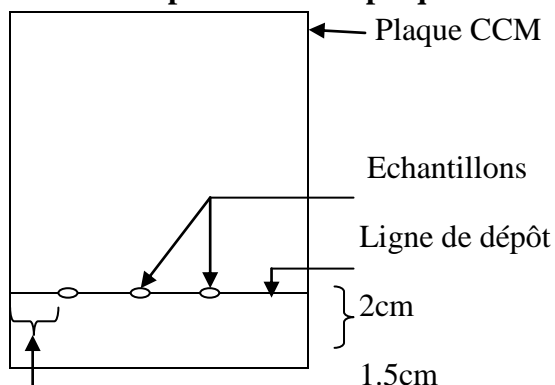


Figure 16: Préparation de la plaque CCM.

- Et on met les plaques préparé dans la cuve.

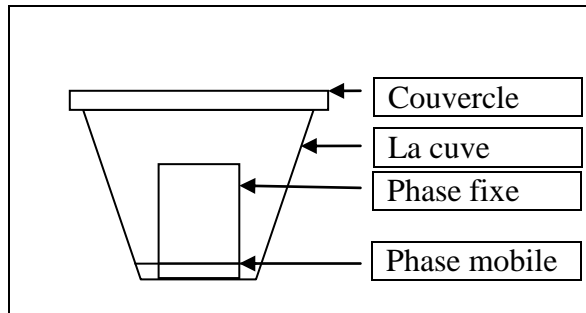


Figure 17: La chromatographie sur couche mince.

- En observé les plaque CCM sous le lompe Ultraviolet (254nm).



Figure 18: Lompe ultraviolet(UV).

- Rapport frontal (Rf) :

$$R_f = \frac{\text{Distance de la tache}}{\text{Distance du front du solvant}}$$

VI. Etude quantitative des composés phénoliques

VI.1. Macération

- *Ceratonia siliqua*

618g de poudre végétale (fruits de caroubier) ont été macérés dans 1000 ml de MeOH (hydrométhanoliques) à 70% pendant 24 h sous agitation permanente. Les macérâts hydrométhanoliques ont été filtrés l'extrait.

(La macération est répétée deux fois sur la même poudre végétale pour extraire le maximum des molécules).

- *Ruta montana*

100g de poudre végétale (feuilles de Ruta) ont été macérés dans 50 ml de MeOH (hydrométhanoliques) à 70% pendant 24 h sous agitation permanente. Les macérâts hydrométhanoliques ont été filtrés l'extrait.

(La macération est répétée deux fois sur la même poudre végétale pour extraire le maximum des molécules).



Macération



filtration



l'extrait de macérât

Figure 19: L'étape d'obtention de l'extrait.

VI.2. Evaporation :

On placé l'extrait dans l'appareil rotavapeur à température 40°C.



Figure 20: Etape de l'Évaporation.

VI.3. Le dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et al. (1999).

➤ **Protocole expérimentale :**

A partir de la solution mère (1 mg/ml) des extraits méthanoliques des feuilles de la plante *Ruta montana* et des fruits de *Ceratonia siliqua*. Nous avons préparé deux répétitions d'une même concentration (125 µl) avec la méthode suivante : Une prise de 125 µL de l'extrait dilué (SM) est mélangée avec 500 µL d'eau distillée et 125 µL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 1250 µL de Na₂CO₃ de 2 à 7% est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm (Heilerová et al ; 2003).

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique a des concentrations variables de 50, 100, 200, 300, 400, 500 mg.l⁻¹. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg/EAG.g⁻¹ MS), (Singleton et al ; 1999).

V. Évaluation de l'activité antioxydant :

➤ Protocole expérimentale :

a) Préparation de DPPH

4mg de DPPH, est solubilisé dans 100ml de MeOH absolu pour avoir la concentration de 4mg/ml.

b) Préparation des solutions mères

On dissous 0.05g de chaque extrait (feuille de Ruta, fruit de Caroubier) avec 10ml de MeOH et pour obtenir des solutions mères(SM).

c) Préparation des dilutions des extraits

L'expérience effectuée sur 5 concentrations différentes d'échantillon de l'ordre décroissant, dilués dans le méthanol (Tableau 4) :

Tableau 04 : Les différentes concentrations des extraits.

Concentration finale (mg/ml)	Volume de SM (ml)	Volume de MeOH (ml)
3	3	2
2	2	3
1	1	4
0.5	0.5	4.5
0.25	0.25	4.75

- ❖ On mélange 2.5ml de la solution méthanolique du DPPH préparé avec 25µl de chaque extrait.
- ❖ Laisser a l'abri de la lumière et a température ambiante pendant 30 minutes.
- ❖ On mesure l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre à 517nm.
- ❖ Finalement on mesure l'absorbance de chaque concentration par rapport à un blanc constitué uniquement par le méthanol pur (25µl) et le DPPH (2.5ml).
- ❖ On trace la courbe de la cinétique de disparition du DPPH en présence de l'échantillon à tester en fonction du temps pour déterminer le temps de stabilisation de la réaction et pour effectuer la lecture de l'absorbance du produit. (SANCHEZ-MORENO ; 2002)

Chapitre 2

Résultats et discussion

I. Criblage des métabolites primaires :

I.1. Criblage des glucides :

L'apparition de couleur rouge brique confirme la présence de glucides.

Tableau 06 : Le criblage des glucides.

Plantes	Caroubier			Ruta		
Organes	Fruits	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
Réactions	+++	+++	+++	+++	---	---

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

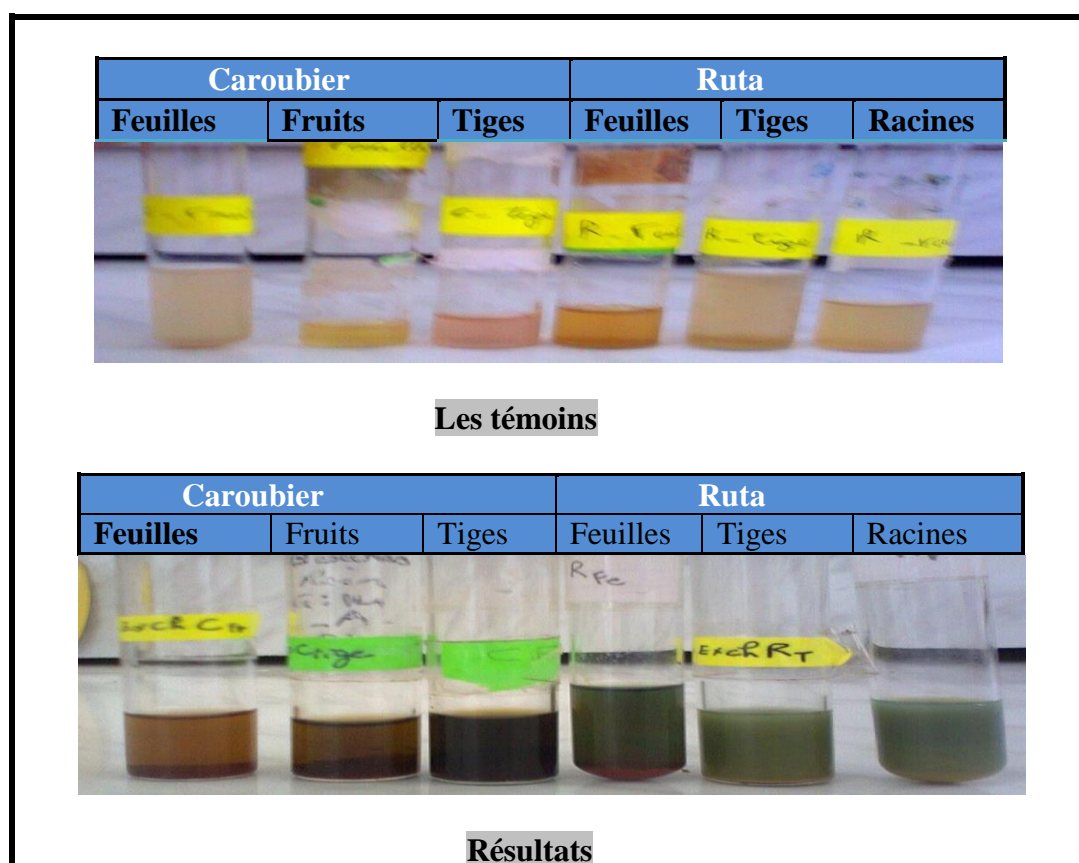


Figure 21: Criblage des glucides du Caroubier et Ruta.

❖ *Ceratonia siliqua* :

Tous les organes (feuilles, fruits et tiges) du caroubier sont riches en glucides.

❖ *Ruta montana* :

Les feuilles de la plante contiennent des quantités suffisantes en glucides, les autres organes (tiges et racines) sont dépourvus de glucides.

I.2 Criblage des lipides :

L'obtention de couleur noire, après l'ajout du réactif noir soudan III indique la présence des lipides.

Tableau 07 : Le criblage des lipides.

Plantes	Caroubier			Ruta		
	Fruits	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
Réactions	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ex : Chl						
Réactions	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ex : EP						

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

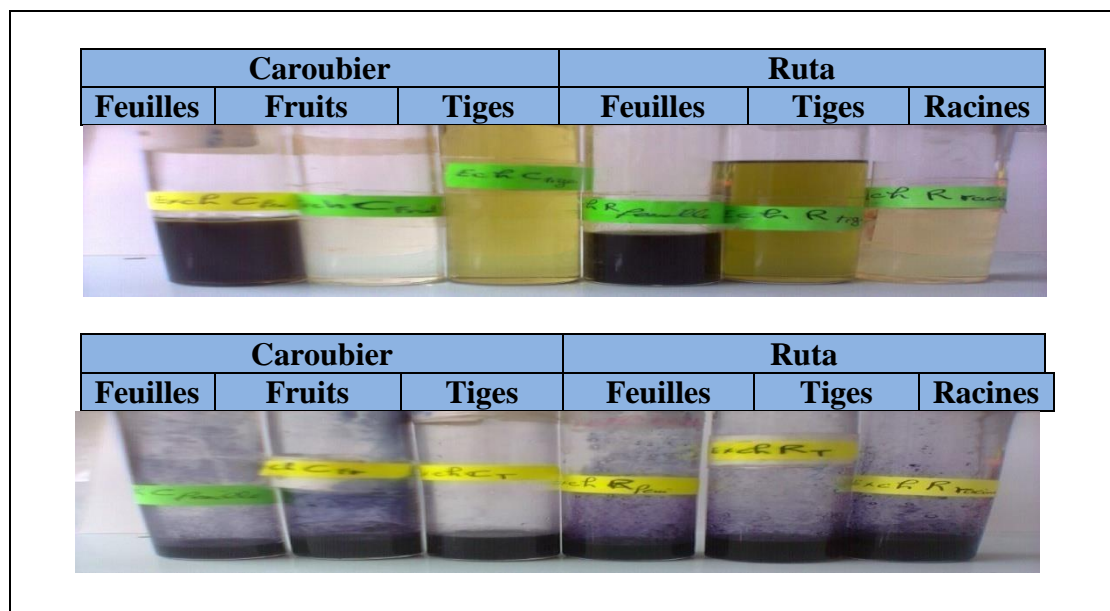


Figure 22: Résultats de mise en évidence des lipides de

Ruta montana et *Ceratonia siliqua*.

- Les résultats de mise en évidence confirment la richesse des deux plantes étudiés en lipides.

I.3. Criblage des acides aminés :

L'étude analytique par CCM des extraits de différents organes des deux espèces montrent que les fruits du caroubier sont en acides aminés tels que proline, alanine.....Tableau 08.

Tableau 08 : Criblage des acides aminés.

AA	Organes	Pro	Arg	Ala	Gly	Isol	Tyr	Cys	Meth
Plante									
Caroubier	Feuilles	-	+	+	+	+	-	-	-
	Fruits	-	+	+	+	+	+	+	-
	Tiges	-	+	+	+	-	-	-	-
Ruta	Feuilles	-	-	+	+	-	+	+	-
	Tiges	-	-	+	+	-	+	+	-
	Racines	-	-	+	+	-	-	-	-

+++ : Réaction fortement positive.

++ : Réaction moyennement positive.

+ : Réaction faiblement positive.

--- : Réaction négative.

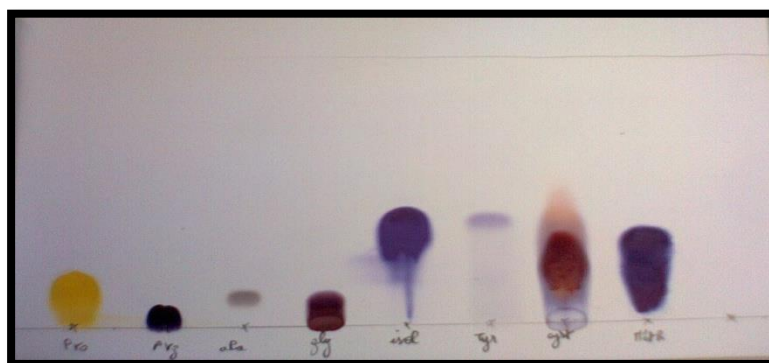


Figure 23: Chromatogramme du CCM des acides aminés.

I.4. Criblage des sels minéraux :

Tableau 09: Criblage des sels minéraux.

Plantes	Organes	Réactions			
		Oxalate d'ammonium	AgNO ₃	chlorure barium	Acide picrique
Caroubier	Feuilles	+++	+++	+++	+++
	Fruits	++	+++	++	+++
	Tiges	---	+++	+++	+++
Ruta	Feuilles	---	+++	++	+++
	Tiges	---	+++	---	+++
	Racines	++	+++	++	+++

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

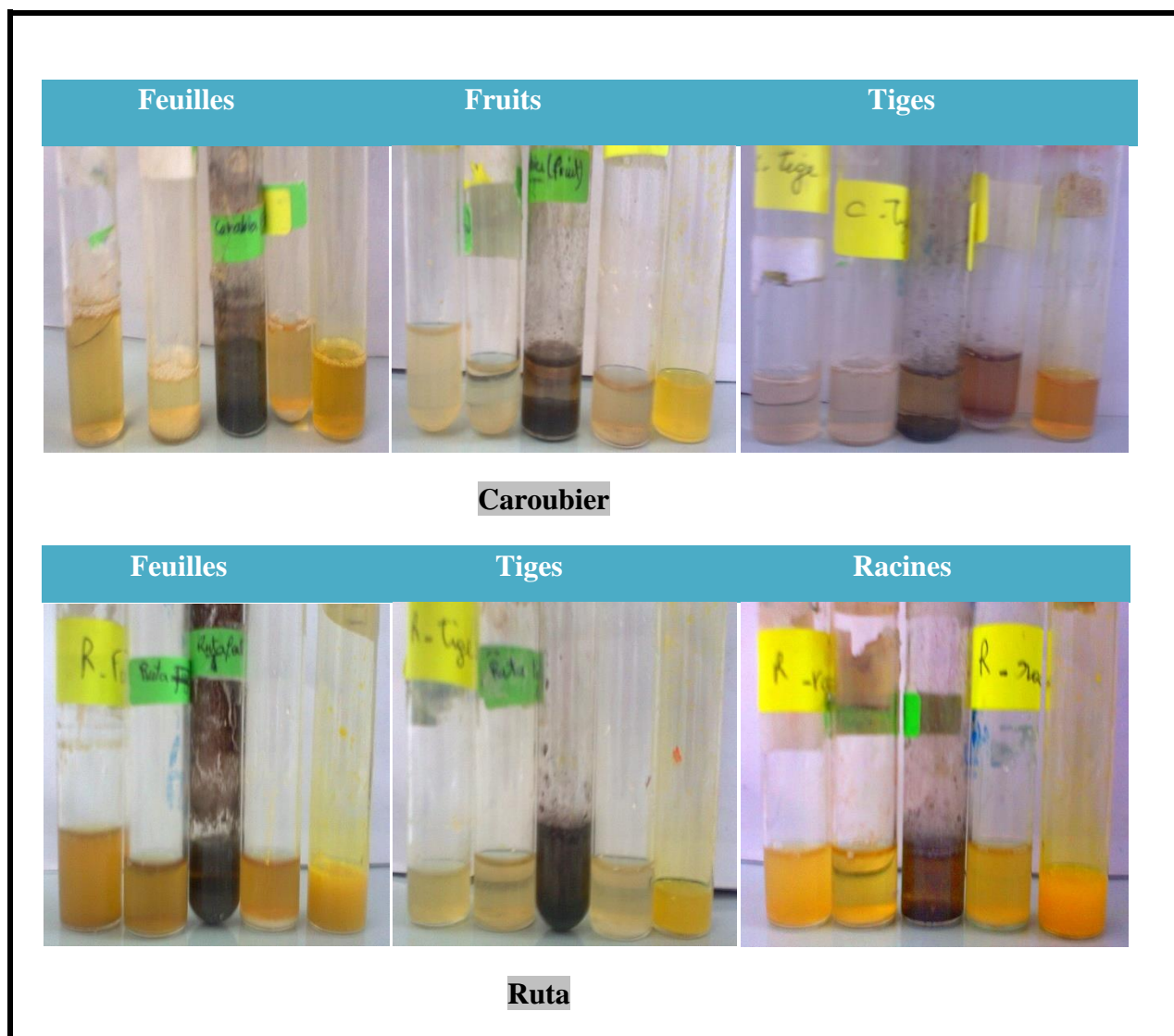


Figure 24: Mise en évidence des sels minéraux.

Les tests de criblage des sels minéraux par les réactifs spécifiques des extraits aqueux de deux plantes ont montré que : les deux plantes sont riche en sels minéraux (Ca^{++} , Chlorure, SO_4 , K^+).

I. Criblage des métabolites secondaires :

II.1. Criblage des flavonoïdes :

Le criblage des flavonoïdes par les réactifs spécifiques (HCl conc.) des extraits hydrométhanoliques de l'espèce *Ruta montana* L. et *Ceratonia siliqua* L. la présence de couleur rouge confirme que l'organe est riche en flavonoïdes.

Tableau 10: Criblage des flavonoïdes.

Plantes	Caroubier			Ruta		
Organes	Feuilles	Fruits	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
Réactions	+++	+	++	+	++	+++

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

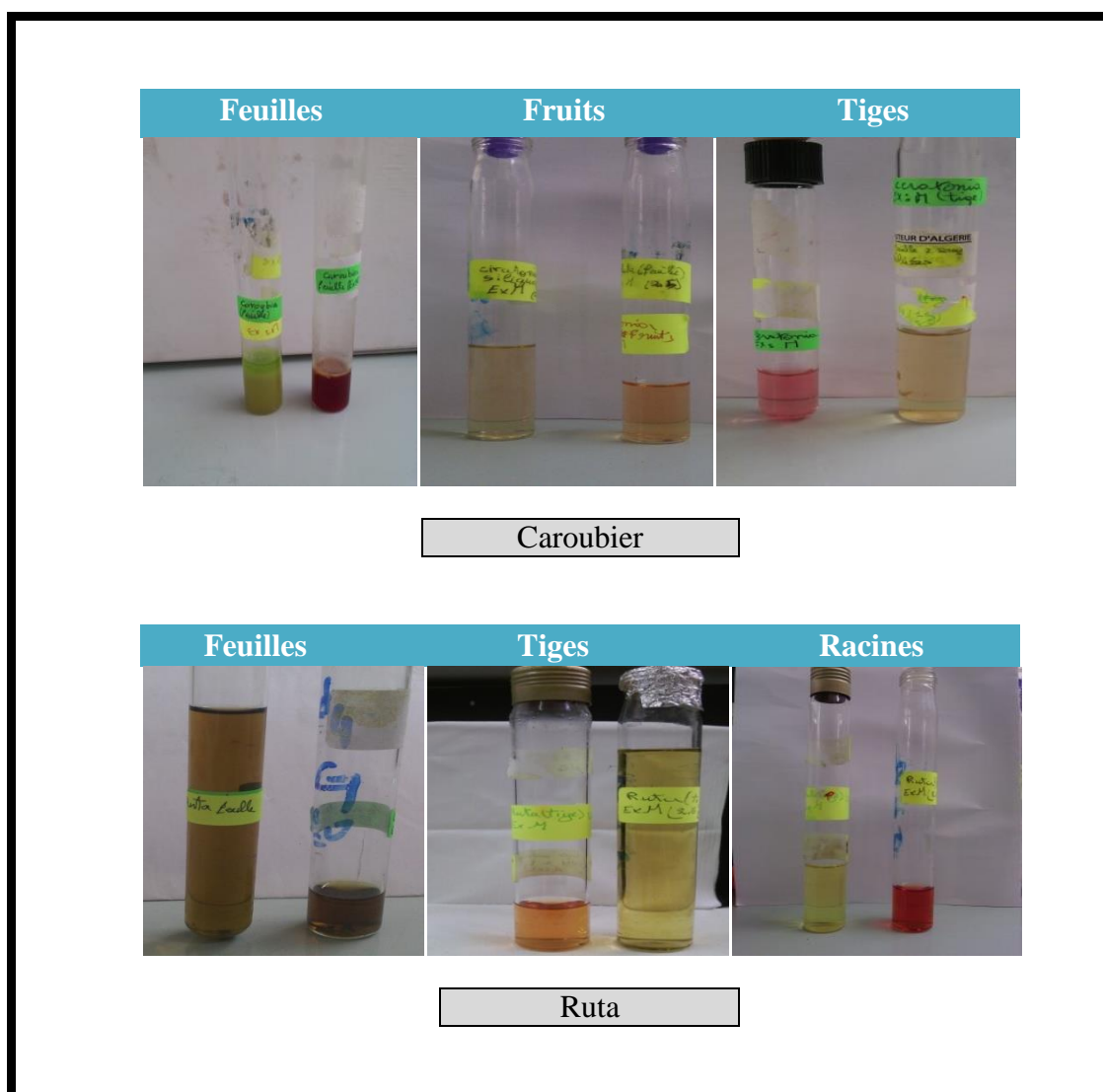


Figure 25: Criblage des flavonoïdes.

-Le criblage des flavonoïdes par des extraits hydrométhanoliques des espèces *Ruta montana* L. et *Ceratonia siliqua* L. ont révélé que les feuilles du caroubier sont riches en flavonoïdes, suivi des tiges et fruits.

Et les racines du Ruta sont très riches en flavonoïdes para port aux tiges et feuilles.

II.2. Criblage des anthocyanes :

Le criblage des flavonoïdes par les réactifs spécifiques (HCl cons + Mg) des extraits hydrométhanoliques des plantes Ruta et Caroubier ; la présence de couleur rouge confirme que l'organe est riche en anthocyanes.

Tableau 11: Criblage des anthocyanes.

Plantes	Caroubier			Ruta		
Organes	Feuilles	Fruits	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
Réactions	+++	++	+++	---	---	---

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

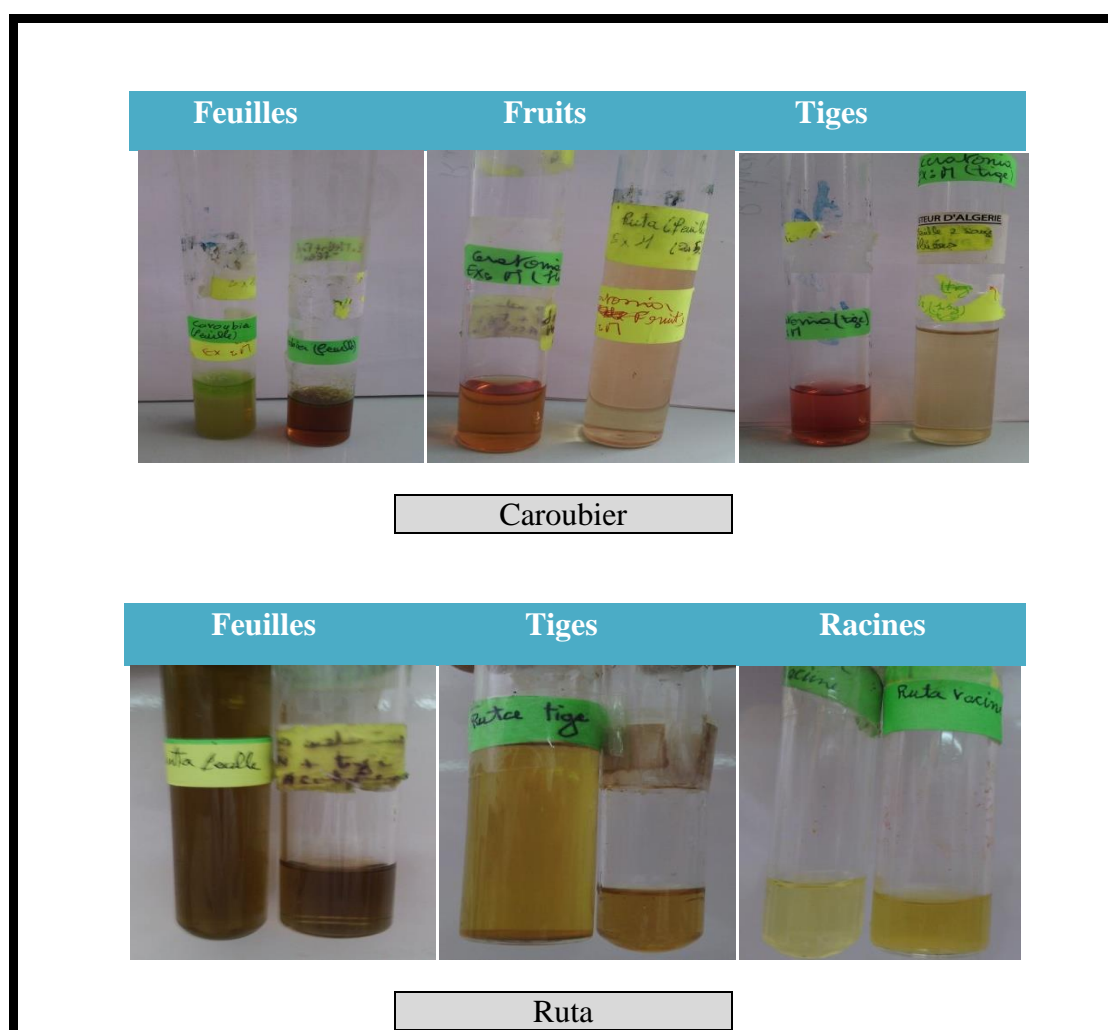


Figure 26: Criblage des anthocyanes.

Le criblage des anthocyanes des espèces *Ruta montana* L. et *Ceratonia siliqua* L. on prend que la plante de Caroubier est plus riche en anthocyanes par contre la plante Ruta dépourvus aux anthocyanes.

II.3. Criblage des quinones :

La coloration de la phase aqueuse en couleur rouge confirmé la présence des quinones.

Tableau 12: Criblage des quinones.

Plantes	Caroubier			Ruta		
	Feuilles	Fruits	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
Réactions	---	---	---	+	+	+

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

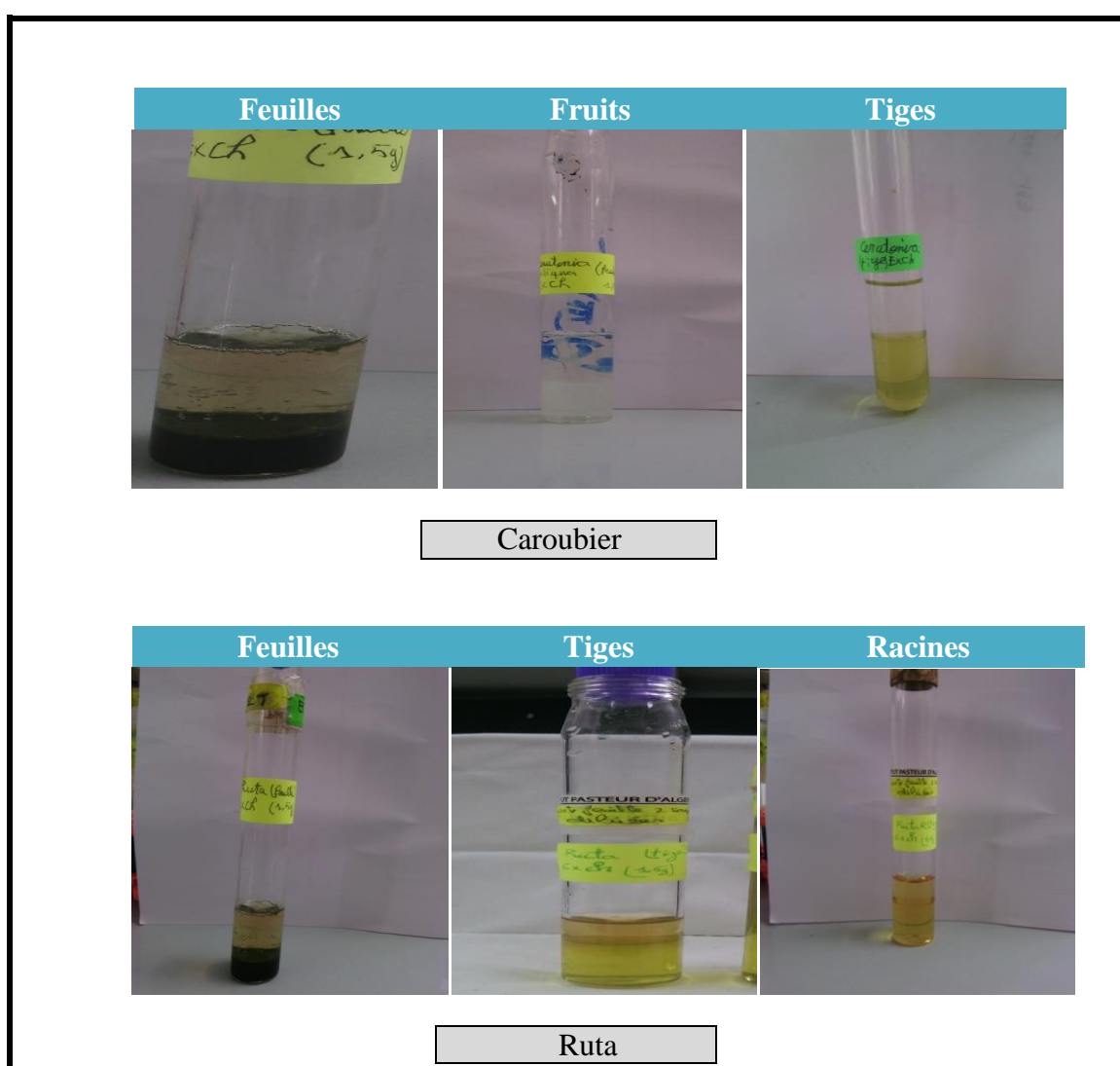


Figure 27: Criblage des quinones.

A partir des résultats obtenus, la plante Caroubier ne contient pas de quinones, inversement Ruta contient des quinones avec une faible concentration dans tous les organes.

II.4. Criblage des anthraquinones :

La coloration de la phase aqueuse en couleur rouge confirmé la présence des anthraquinones.

Tableau 13: Criblage des anthraquinones.

Plantes	Caroubier			Ruta		
Organes	Feuilles	Fruits	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
Réactions	---	---	---	---	---	---

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

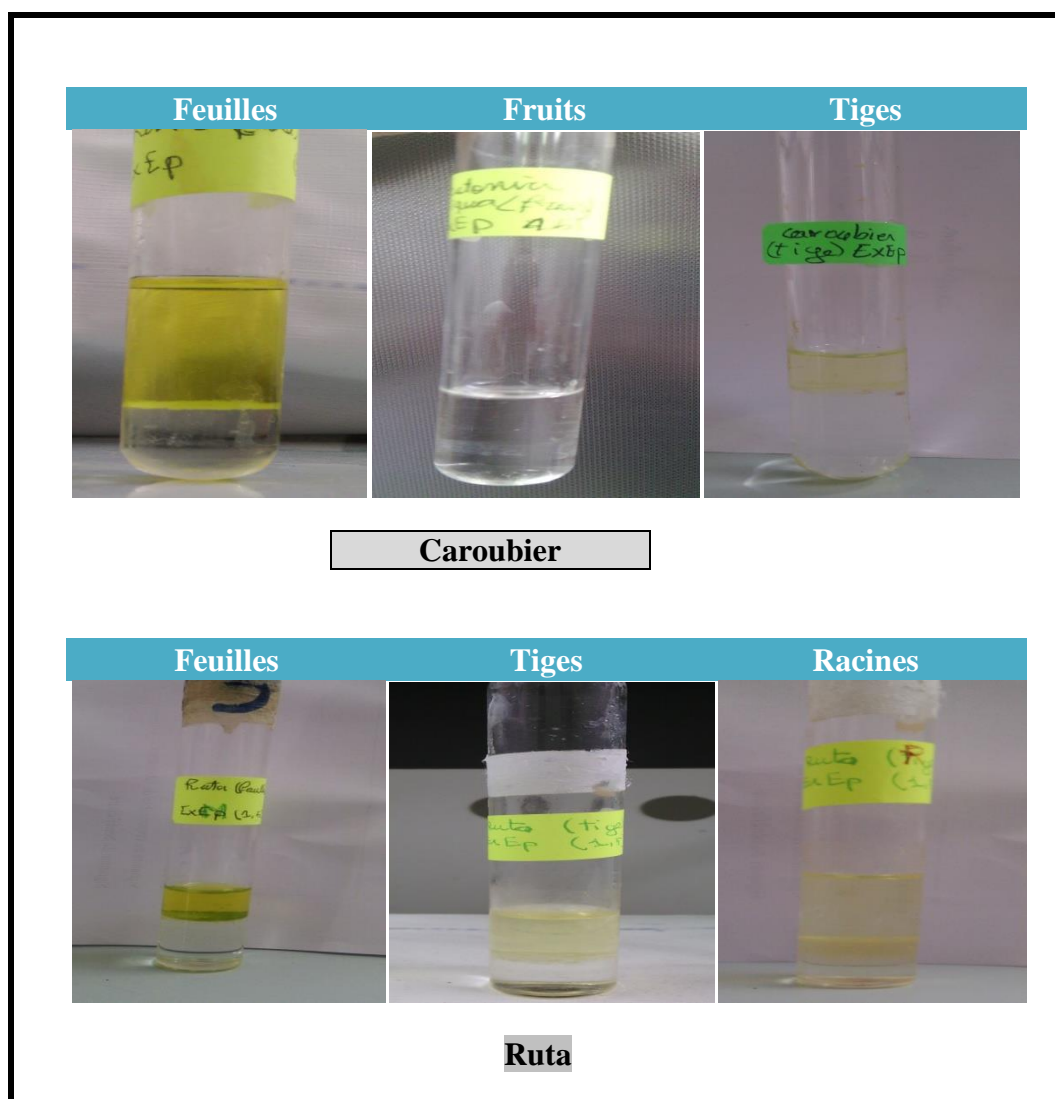


Figure 28: Criblage des anthraquinones.

Grâce à ces résultats, nous constatons que les plantes (Ruta, Caroubier) sont pauvres des anthraquinones.

II.5. Criblage des tanins

Quand ajouté la gélatine sa forme d'un précipité blanc présente la présence des tanins.

Et le $FeCl_3$ donnée la couleur bleu qu'il confirme la présence des tanins.

Tableau 14: Criblage des tanins.

Plantes	Caroubier			Ruta		
Organes	Feuilles	Fruits	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
Réactions	+++	+++	+++	++	++	+++

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

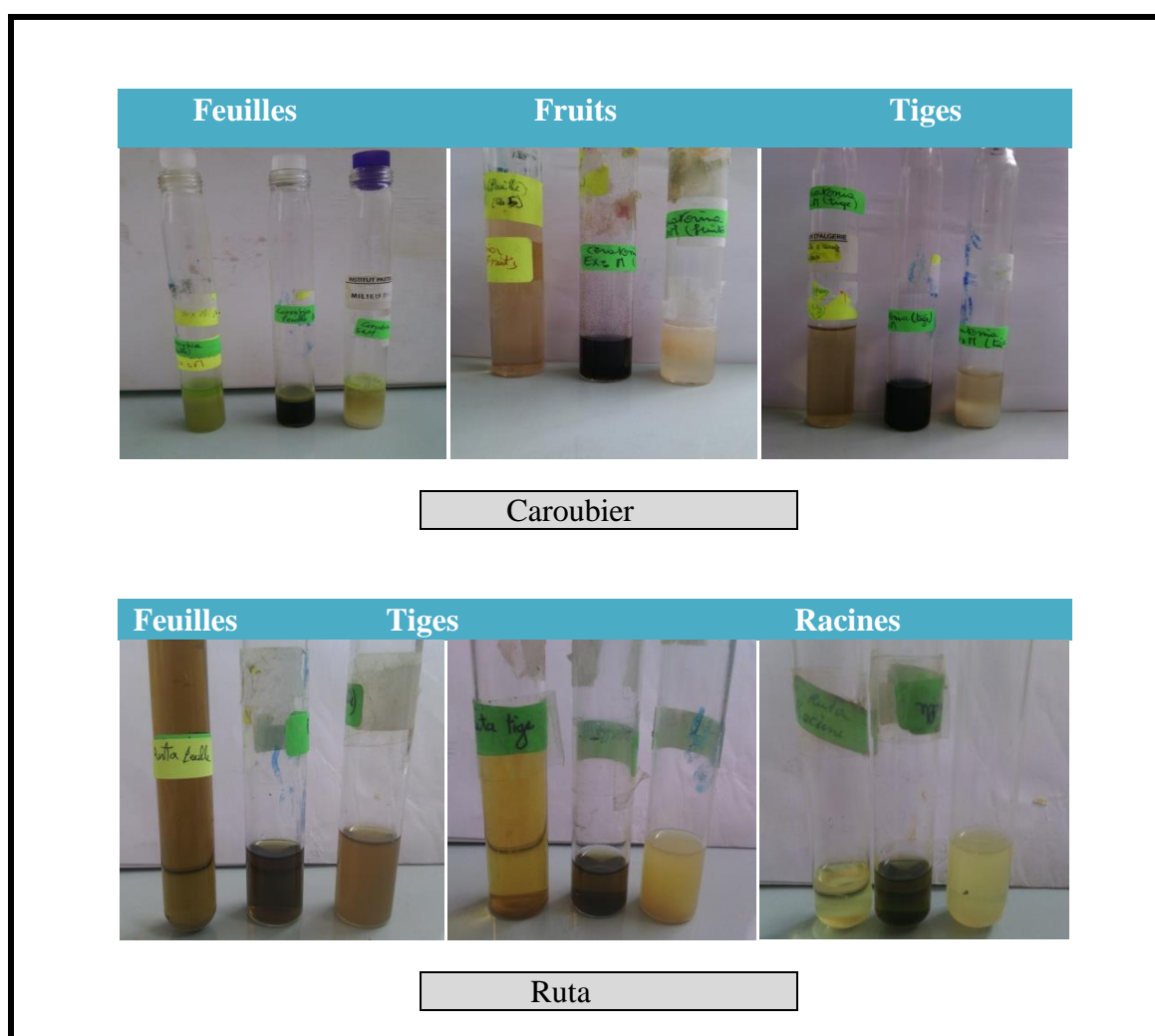


Figure 29: Résultats de Criblage des tanins.

Les plantes sont riches en tanins mais la pourcentage des tanins augmente dans la plante *Ceratonia siliqua* par rapport à *Ruta montana*.

II.6. Criblage des isoprénoïdes (Terpénoïdes)

-H₂SO₄ : présence de la couleur rouge confirme que cette partie est riche en stérols insaturé.

-H₂SO₄+HCl cons : la présence de couleur bleu spectacle ou présentation des stéroïdes et la couleur rouge confirme la richesse en tréterpènes.

-Acide picrique : la couleur orange donc la présence des stéroïdes factoniques.

Tableau 15: Criblage des isoprénoïdes (Terpénoïdes).

plantes	organes	Réactions		
		H ₂ SO ₄	H ₂ SO ₄ +HCl cons	Acide picrique
Caroubier	Feuilles	++	+	---
	Fruits	+	+	---
	Tiges	+	---	---
Ruta	Feuilles	+++	---	---
	Tiges	+++	+++	---
	Racines	+++	++	---

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

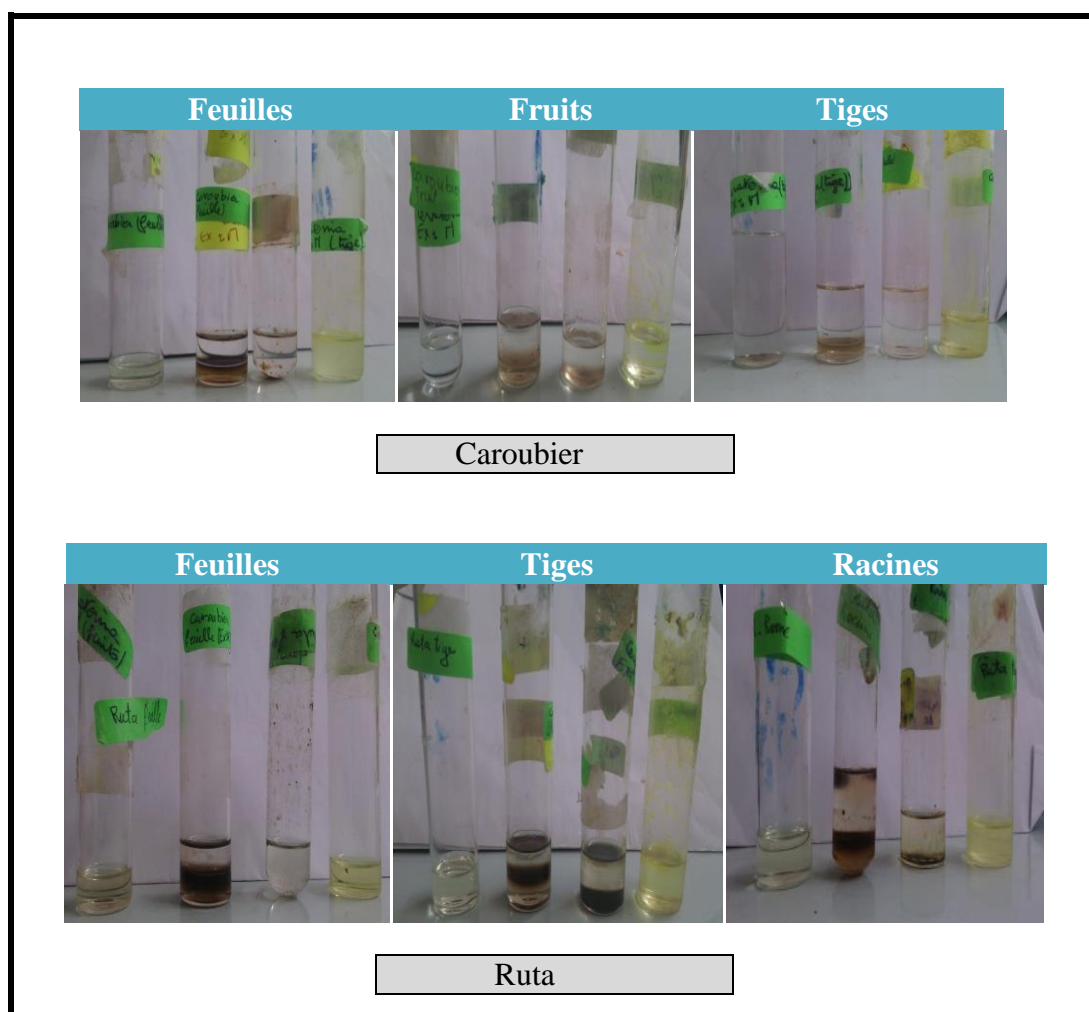


Figure 30: Criblage des isoprénoides (Terpénoides).

Les résultats obtenir présente que :

- Le caroubier est contient des stérols insaturés dans les trois organes et trèterpènes dans les feuilles et les fruits.
- Ruta (feuilles, fruits, tiges) est riche en stérols insaturés et en tréterpenes sauf les tiges.
- Les deux plantes sont pauvres en steroides.

II.7. Criblage des alcaloïdes :

L'émergence de la couleur jaune indique : que l'organe est riche en alcaloïdes.

Tableau 16: Résultats de Criblage des alcaloïdes.

Plante	Caroubier			Ruta		
	Feuilles	Fruits	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
Réactions	++	+++	+++	++	+++	+++

+++ : Réaction fortement positive

++ : Réaction moyennement positive

+ : Réaction faiblement positive

--- : Réaction négative

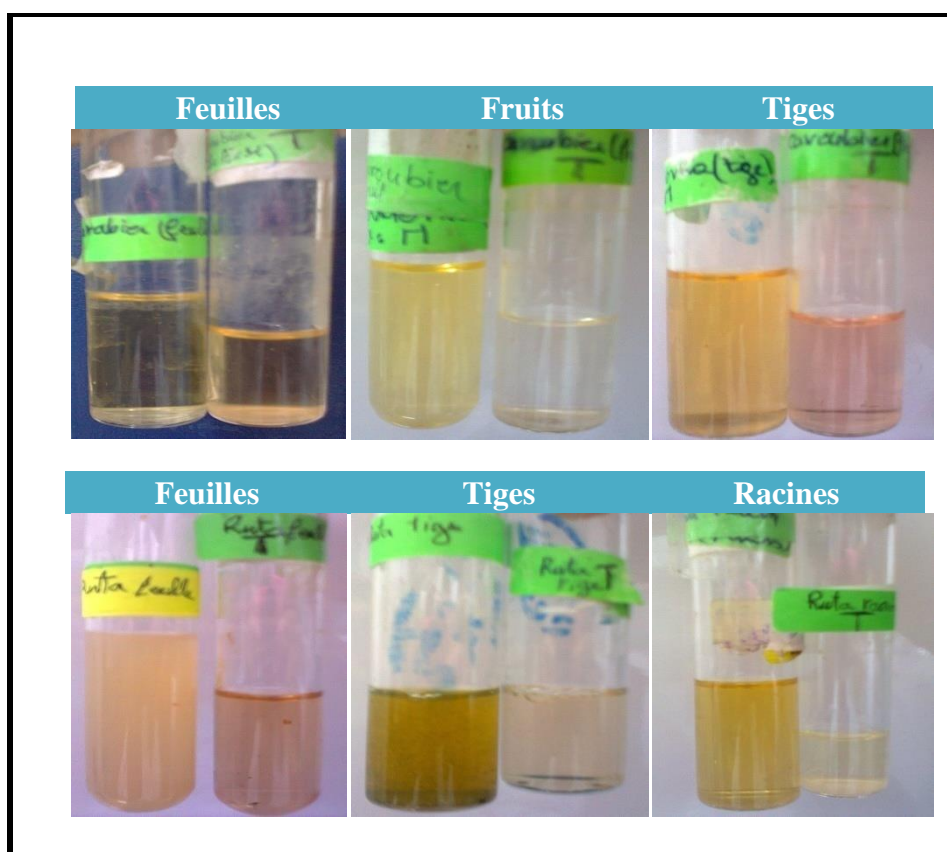


Figure 31: Criblage des alcaloïdes.

A travers les résultats obtenir les deux plantes étudiées est riche en alcaloïdes dans toutes les parties.

II.8. Criblage des coumarines :

Présence d'une tache bleue confirme la présence des coumarines.

Tableau 17 : Résultats de criblage des coumarines.

Caroubier			Ruta		
Feuilles	Fruits	Tiges	Feuilles	Tiges	Racines
-	-	-	+	+	+

+ : Résultats positives. - : Résultats négatives.

Les organes étudié de la plante Ruta est riche en coumarines inversement mais le caroubier pauvre en coumarines.

III. La chromatographie sur couche mince (CCM) :

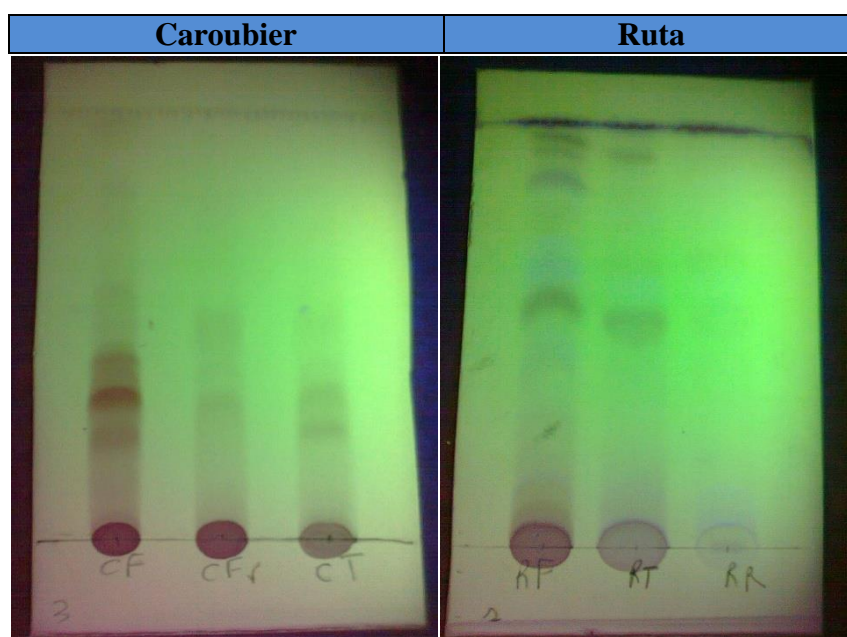


Figure 32 : La chromatographie sur couche mince des organes de Caroubier et Ruta.

L'étude analytique des extraits hydrométhanoliques par CCM de l'espèce *Ceratonia siliqua* et *Ruta montana* et visualisée avec la lampe UV : 254 nm a confirmé la présence des métabolites secondaires comme les flavonoïdes, terpènes Dans les deux espèces.

IV. Analyse quantitative des phénols :

IV.1. Dosage de polyphénol :

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de (Singleton et Ross ; 1965) avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

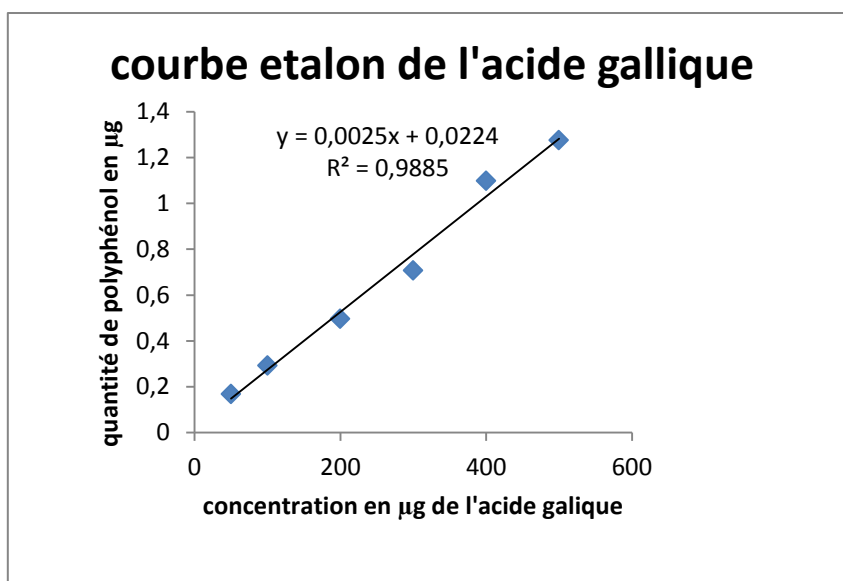


Figure 33: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 18 : Les taux de polyphénols totaux calculés des ExC_{Fr} et ExR_f

	DO (nm)	Quantité de polyphénols en (mg)
ExC_{Fr}	0.083	30.5
	0.034	6
ExR_f	0.334	156
	0.238	108

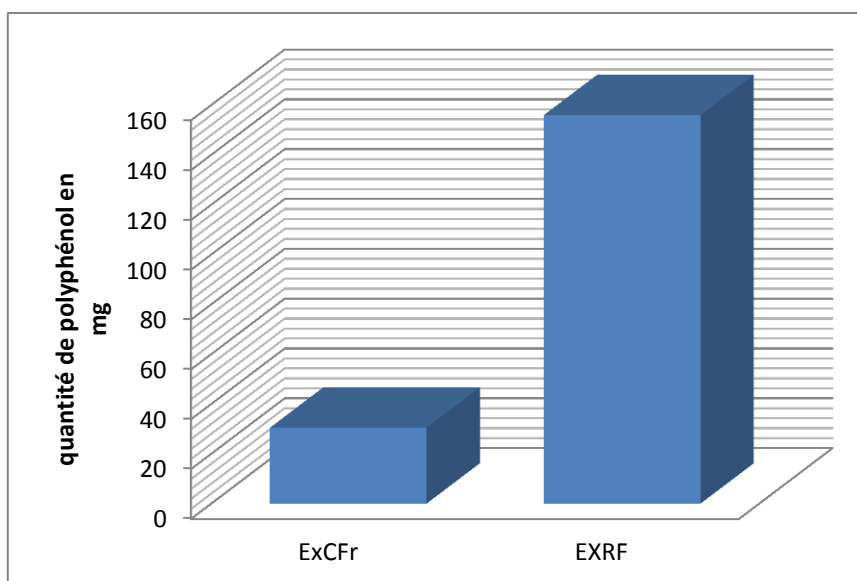


Figure 34: Teneur en polyphénols totaux en (mg)

Tableau 19: Les taux de polyphénols totaux existant dans les EXC_{Fr} et EXR_f

Echantillon	Taux de polyphénols (mg.EAG/g.ms)
EXC_{Fr}	$18.25 \pm 17,3241161$
EXR_f	$108 \pm 33,9411255$

A partir de ce résultat on conclut que les deux plantes sont contiennent les polyphénols mais avec un pourcentage différent c'est-à-dire que les feuilles de Ruta sont riches en polyphénols par rapport aux fruits de caroubier.

V. L'activité antioxydant :

Le besoin de savoir les profils et d'identifier les composés individuels dans les échantillons exige le remplacement des méthodes traditionnelles par des techniques séparatives. L'HPLC est sans doute la technique analytique la plus utile pour caractériser les composés polyphénoliques (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).



Figure 35: l'activité antioxydant

Tableau 20: Taux d'inhibition des extraits méthanolique de *Ruta montana* feuille.

Conc.	Blanc	Ruta	% Inhibition
0,25	0,515	0,48	6,80
0,5	0,515	0,455	11,65
1	0,515	0,382	25,83
2	0,515	0,176	65,83
3	0,515	0,113	78,06

Tableau 21: Taux d'inhibition des extraits méthanolique de *Ceratonia siliqua* fruits

Conc.	Caroubier	Blanc	% Inhibition
0,25	0,502	0,515	2,52
0,5	0,482	0,515	6,41
1	0,455	0,515	11,65
2	0,379	0,515	26,41
3	0,22	0,515	57,28

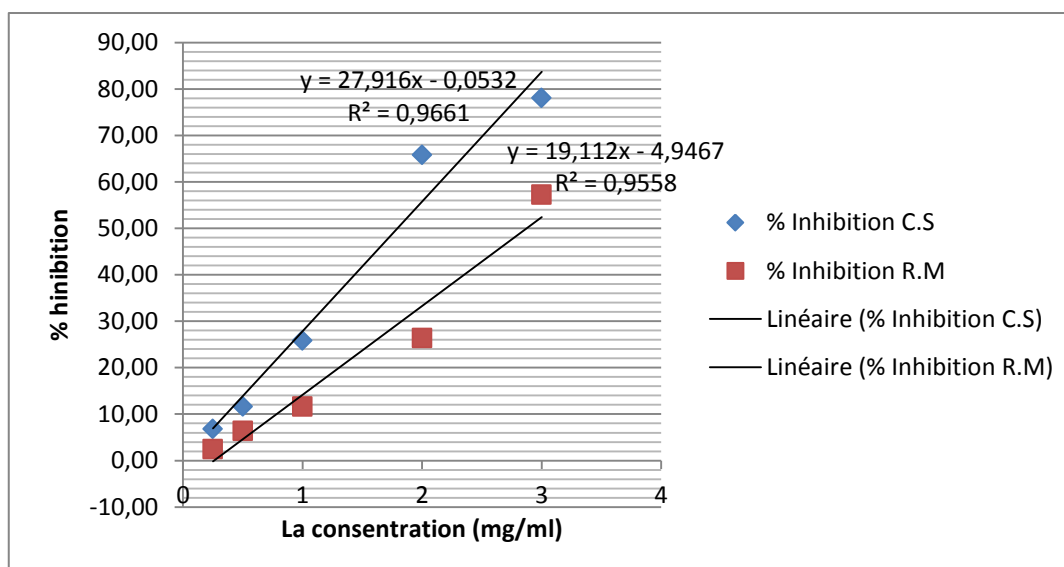


Figure 36: Taux d'inhibition du DPPH EM R.M._{feuilles} et EM C.S._{fruits}.

Calcul des IC₅₀ : IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC₅₀ (Efficient concentration₅₀), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (TORRES et *al* ; 2006).

Calcule IC₅₀ :

✓ *Ceratonia siliqua*

IC 50 = 2.35mg/ml

✓ *Ruta montana*

IC 50 = 1.78mg/ml

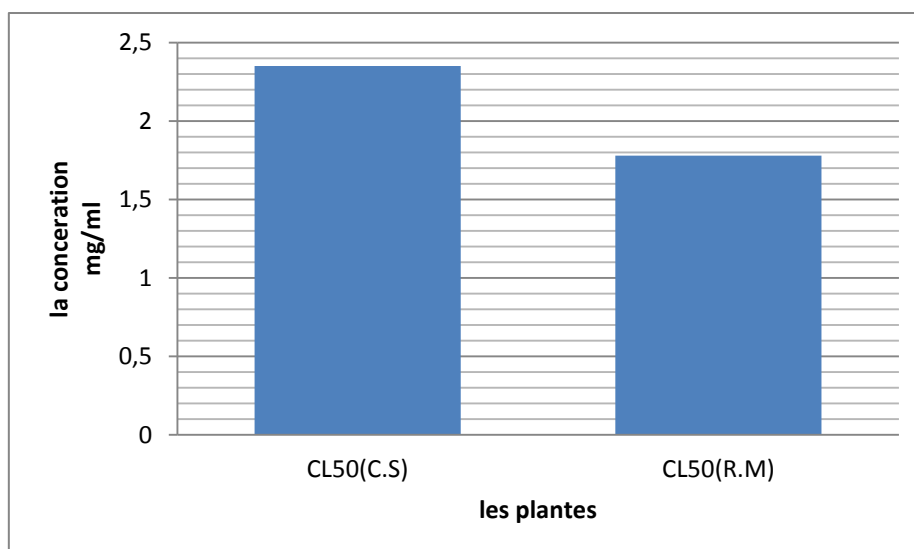


Figure 37: Graphique présenté d'IC50 de *Ceratonia siliqua* fruits et *Ruta montana* feuilles.

-A travers les testes que nous va faite ont démontre :

- Les liaisons entre les radicaux libres et la DPPH augmentent dans la plante *Ruta montana* que *Ceratonia siliqua*.
- Donc les deux plantes *Ceratonia siliqua* et *Ruta montana* à une activité antioxydant mais cette activité est augmente dans la plante *Ruta montana*.

Conclusion

Conclusion

Le screening phytochimique associé à l'identification des métabolites primaires et secondaires réalisé sur les organes (feuilles, fruits, tiges et racines) des espèces *Ceratonia siliqua* et de *Ruta montana*. Les résultats obtenus ont permis de dire que :

Ceratonia siliqua est riche en glucides, lipides, acides amines et sels minéraux et aussi en métabolites secondaires : Flavonoïdes, Tanins, anthocyanes, stérols, triterpènes et alcaloïdes.

Ruta montana est riche en lipides, acides amines, sels minéraux, et des flavonoïdes surtout dans les racines. Et riche aussi en stérols, triterpènes, coumarines et alcaloïdes.

Le dosage des polyphénols totaux de l'extrait hydrométanolique des feuilles de *Ruta* et des fruits de Caroubier a révélé que les deux plantes sont riches en polyphénols avec ces des quantités considérables ($18,25 \pm 17,32$ mg.EAG/g.ms pour la Caroubier et $108 \pm 33,94$ mg.EAG/g.ms pour *Ruta*).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait hydrométanolique de deux espèces étudiées a montré que :

- L'extrait du *Ruta montana* ($IC_{50}=1.78$ mg/ml) à un pouvoir antioxydant puissant par rapport à l'extrait de Caroubier ($IC_{50}=2.35$ mg/ml).

Résumé

Les plantes médicinales *Ceratonia siliqua* et *Ruta montana* appartenant à la famille des fabacées et rutacées respectivement, récoltés d'Elkharoub contenant des principes actifs utilisée comme nourritures et en médecine traditionnelle. Le screening phytochimique à révélé que de l'espèce *Ceratonia siliqua* est riche en glucides, lipides, acides aminés, flavonoïdes, tanins, anthocyanes et alcaloïdes.

L'espèce *Ruta montana* est riche en métabolites primaires comme les lipides, les acides aminés, les sels minéraux et métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, tanins, alcaloïdes et coumarines.

L'évaluation de l'activité antioxydante à montre que l'extrait methanolique de *Ruta montana* à un pouvoir antioxydant plus puissant que celle de l'extrait du *Ceratonia siliqua*.

Mots clés :

Ceratonia siliqua –*Ruta montana* –tanins –alcaloïdes –flavonoïdes –coumarines.

ملخص

النباتات الطبية *Ruta montana* و *Ceratonia siliqua* من العائلة البقولية والسذابية على التوالي و الذي جمع من الخروب؛ تحتوي على مواد فعالة المستخدمة كغذاء وفي الطب التقليدي. كشف الفحص الكيميائي للنباتين أن *Ceratonia siliqua* غني بالغلوسيدات والدهون والأحماض الأمينية، الفلافونويدات؛ العفص، anthocyanes، قلويدات.

أما نبات *Ruta montana* فهو غني بالأبيض الأولي مثل الدهون، الأحماض الأمينية، الأملاح المعدنية والمركبات الثانوية مثل الفلافونويدات، العفص، قلويدات، الكومارينات.

وقد أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلص هيدروميثانولي ل *Ruta montana* نشاط مضادة للأكسدة أكثر من مستخلص *Ceratonia siliqua*.

الكلمات المفتاحية:

Ruta montana , *Ceratonia siliqua*، الفلافونويدات، anthocyanes، لكومارينات.

Abstract:

Ceratonia siliqua and *Ruta montana* are both considered to be medical plants since they consist of many active compounds. A group of experiments were conducted on those plants in order to know the type of these molecules, their functions, and the content of initial and secondary compounds. We arrived at:

- The Carob plant is rich with mineral salts, especially its content of a large proportion of the glucide, tannins, amino acids and the anthocyanine.
- The Ruta Plant contains lipids, amino-acids and mineral salts, flavonoids and alkaloids.

The study proved that both *Ruta montana* and *Ceratonia siliqua* function as antioxidant which is more significant with Ruta compared to Carob functioning as antibacterial.

- Key words:

Ceratonia siliqua -*Ruta montana* -Tanins - Flavonoids- Alkaloids.

Références bibliographiques

(B)

Baba Iassa F. (1999). Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed: LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA. P: 243 – 244.

Babar Ali M., Hahn E.J., Paek K.Y. (2007). Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. 12: 607-621.

Bahorun T. (1997). Substances naturelles actives: la flore mauricienne. Une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural research council. Réduit, Mauritius. P: 83-94.

Battle L et Tous J. (1997). Carob tree *Ceratonia siliqua* L. IPGRI Germany. P: 10-20.

Bhat S.V. Nagasampagi B.A. Sivakumar M (2005). Chemistry of Natural Products. Narosa, New Delhi, India. P. 4-10.

Bouchefra Amina (2012). Yaourts probiotiques algériens et ferments commerciaux utilisés dans leur fabrication : contrôle de qualité et de l'étiquetage. Magistère, Sciences Alimentaires. Université Mentouri de Constantine. p:14.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} édition. Ed. Lavoisier, Paris. P :500.

(C)

Chikhi Abdelwahab et Bensegueni Abderrahmane (2006). Biochimie générale. 1^{ère} partie : dar Alkitabs et Fikr. p 1-23.

Collin S. et Crouzet J. (2011). Agence universitaire de la francophonie. Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire. Edition Lavoisier. P : 13.

Coutouly G ; Klein E ; Barbieri E; Kriat M. (2007). Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique ; 3^{ème} Ed : doin. P: 28-34.

(D)

Daayf F. et Lattanzid V. (2008). Recent Advances in Poly phenol Research 1. Ed: WILEY-BLACKWELL. P: 1- 24.

DESCEEMAER K. (2004). Nutri- & Phytothérapie: développements récents. Ed: GARANT. P: 41-51.

DUPONT F; Guignard J.L. (2007). Abrèges : botanique systématique moléculaire.14^e Ed : Elsevier Masson, France. P: 155; 188-189.

Dykes L; Rooney L. W. (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal Sciences* 44, 236 - 241.

(F)

Falleh H. Ksouri R. Chaieb K. Karray-Bourouai N., Trabelsi, N. Boulaaba M. Abdelly C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. P: 372-379.

Fraga C. G. (2009). Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. John Wiley & Sons Edition, p : 5-13.

Fritch H, Griesbach H (1975). Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochem*. 14: 2437-42.

(G)

Gaussen H. Ozenda P. Leroy J.F. (1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs. TomeII. Ed. Masson, Paris. P: 600.

Gomez-Caravaca,A.M.,Gomez-Romero,M.,Arraez-Roman,D.,Segura-Carretero,A., Fernandez-Gutierrez,A.(2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1220-1234.

(H)

Hans W ; Koth (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. P: 6-7.

Harborne J.B. , and Williams C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 55: 481-504.

Heywood. V.H. (1996). Flowering Plants of the World. 3th Ed, Oxford University Press, Oxford; p: 141-145, 149-152.

Heller.W, Forkmann.G. (1986). The flavonoids. Advances in research since . In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 1993, p: 399-425.

(I)

Iserin P., Masson M., et al (2001). Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Ed Larousse. P:10-12.

(J)

Jacques- Henry Weil (2009). Biochimie générale. 11^{ème} Ed: Dunod, Paris. P: 195.

Jarrige, R. & Ruckebusch, Y. (1995). Nutrition des ruminants domestiques : Ingestion et digestion. Editions Quae, p 57.

Judd W.S., Cambeil C.S., Kellogg E.A. et Stevens P. (2002). Botanique systématique une perspective phylogénétique 1^{ère} édition. Ed De Boeck, Paris. p: 540.

(K)

KAR A.; 2007; Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: NEW AGE INTERNATIONAL PUBLISHERS; p: 1-30. 70.

KEVILLE K. et GREEN M.; 1995; Aromatherapy: A complete guide to healing art, Ed 1: THE CROSSING PRESS; p: 120-140.

KESSOUS C (2011). Biochimie structurale .12emeedition .office des publication universitaire, pp66-68.

(M)

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéiologie. P : 304-315.

Merghem. R, (2009). Elément de biochimie végétale.1^{ère}Ed : Baha eddine. P : 70-75.

Michel.G , Bernadette.Q, Paul-François.G ;(2013). Mini manuel biochimie. 3^e Ed : Dunod, Paris. P : 3.

Morreel K, Goeminne G, Storme V, Sterck L, Ralph J, Coppieters W, Breyne P, Steenackers M, Georges M, Messens E, Boerjan W (2006). Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in Populus: a case study. Plant J. 47: 224-37.

Moussard ;(2011). Biochimie et biologie moléculaire ; 2^{ème} Ed : De BOECK,en Belgique ; P : 03.

(R)

Roux, D. & Catier, O. (2007). Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie. Wolters Kluwer France Edition. p : 74.

(S)

Sabine mayer-Rogge et kai mayer-Rogge, (2012). Biochimie métabolique.1^{er} Ed : BOECK ; Belgique. P: 14.

SANCHEZ-MORENO C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. International Journal of Food Science and Technology 8. P: 121-137.

Seyoum A., Asres K. and El-Fiky F.K. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry. 67: 2058–2070.

Shahidi F. (1997). Natural Antioxidants: chemistry, health effects and applications. Ed: AOCS MISSION STATEMENT. P: 174-197.

Singleton V.L., Orthofer R .and Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates by means of Folin-Ciocalteu reagent . In: Jones, L. (ed). Methods in enzymology. San Diego.CA: Academic Press.99:152-178.

SVOBODA K. et SVOBODA T. (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants; Ed: MICROSCOPIX PUBLICATIONS. P: 7-12.

(T)

Touitou.Y, (2005). Biochimie: structure des glucides et lipides; Faculté du médecine : Pierre and Marie. P: 5.

Torres R. et al (2006). Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*; Phytochemistry 67. Ed: ELSEVIER. P: 984-987.

(W)

WALTON N.J. et BROWN D.E. (1999). Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: WORLD SCIENTIFIC; p: 1-14.

Weinman.S; Méhul.P. (2004). Toute la Biochimie. Ed : Dunod, Paris ; P : 81-88.

WIART C. (2006). Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future; Ed: WORLD SCIENTIFIC. p: 401 – 416.

علي منصور حمزة (2006). النباتات الطبية وصفها- منشأها- طرق استعمالها وزراعتها; منشأة المعارف، مصر. ص: 5.

Annexe

Préparation des réactifs

- **Fehling A:** (3.46 mg de sulfate de cuivre(CuSO₄) + 50 ml l'eau distillé).
- **Fehling B:** (tartarate potassium sodium 17.3mg et 5mg de hydroxyde sodium diluée dans 50ml d'eau distillé).
- **Dragendorff**

0,85 g sous nitrate basique de bismuth + 8 g d'Iodure potassium + 100 ml d'Acide acétique glaciale + 70 ml d'eau distillée.

- **Mayer**

1,35 g Chlorure mercurique + 5 g d'Iodure potassium + 30 ml d'eau distillée.

Agiter jusqu'à dissolution puis ajouter l'eau distillée jusqu'à 100 ml.

Dosage polyphénol

Tableau : La valeur de la densité optique (DO) du *ceratonia siliqua* et *Ruta montana*.

		ExC _{Fr}	ExR _f
Do (nm)	Répétition1	0,083	0,334
	Répétition2	0,034	0,238

Courbe étalon de l'acide gallique :

$$Y = 0.002 X + 0.022$$

$$y = 0,002x + 0,022$$

$$R^2 = 0,988$$

Activité antioxydante

Calcule IC₅₀ :

✓ *Ceratonia siliqua*

$$y = 27,91x - 0.053 \longrightarrow y = 50\%$$

$$\text{Alors IC}_{50} : 50 = 27,91x - 0.053$$

$$\text{Donc : } x = (50 + 0.053) / 27.91 = 2.35\text{mg/ml}$$

$$\text{IC } 50 = 2350\mu\text{g/ml.}$$

✓ *Ruta montana*

$$y = 19.11x - 4.946 \longrightarrow y = 50\%$$

$$\text{Alors IC}_{50} : 50 = 19.11x - 4.946$$

$$\text{Donc : } x = (50 + 4.946) / 19.11 = 1.78\text{mg/ml}$$

$$\text{IC } 50 = 1780 \mu\text{g/ml.}$$

Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des espèces : *Ruta montana* L et *Ceratonia siliqua* L.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Résumé

Les plantes médicinales *Ceratonia siliqua* de et *Ruta montana* appartenant à la famille des fabacées et rutacées respectivement, récoltés d'Elkharoub contenant des principes actifs utilisée comme nourritures et en médecine traditionnelle.

Le screening phytochimique à révélé que de l'espèce *Ceratonia siliqua* est riche en glucides, lipides, acides aminés, flavonoïdes, tanins, anthocyanes, alcaloïdes.

La plante *Ruta montana* est riche en métabolites primaires comme les lipides, les acides aminés, les sels minéraux et métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, tanins, alcaloïdes et les coumarines.

L'évaluation de l'activité antioxydante à montre que l'extrait methanolique de *Ruta montana* à un pouvoir antioxydant plus puissant que celle de l'extrait du *Ceratonia siliqua*.

Mots clés : *Ceratonia siliqua*, *Ruta montana*, tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, coumarines.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biologie-écologie végétale

Jury d'évaluation :

Président du jury :	BOUDOUR	Leila	(Pr - UFM Constantine).
Rapporteur :	CHIBANI	Salih	(MCA - UFM Constantine).
Examineurs :	OUIBRAHIM	Amira	(MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 22/06/2016