



**République Algérienne démocratique et populaire**

**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique**

**Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen**

**Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des Sciences de la terre et de l'Univers**

**Département de Biologie et Environnement**

**Laboratoire des produits naturels**

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : « **Sciences des aliments** »

**Thème**

**Contribution à l'étude phytochimique de quelques  
métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes) du  
calice de *Carlina acaulis* de la région de Tlemcen**

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> DJEFFEL Hana Latifa**

Devant le jury, composé de :

<b>Présidente :</b>	Mme BENSALAH F	Maitre de conférences B
<b>Encadreur :</b>	Mr BEGHADAD MC	Maitre de conférences A
<b>Examinatrice :</b>	Mme SOUALEM Z	Maitre de conférences B

**Année universitaire 2016-2017**

# Remerciement

*Grace à dieu j'ai pu terminer ce modeste travail.*

*Je tiens vivement à remercier MR BEGHDAI maître de conférence A, d'avoir accepté de m'encadrer et de m'orienter vers un sujet qu'il a su rendre plus que plaisant avec sa patience sa bienveillance et surtout ses conseils plus que précieux! Merci pour la bonne humeur et la confiance que vous nous donniez chaque jour. Je vous en serez toujours reconnaissante et veuillez accepter ma considération la plus sincère.*

*Je remercie chaleureusement Mme SOUALLEM maître de conférence B de m'avoir fait l'honneur de juger mon travail d'un oeil extérieur et critique. et d'avoir été un de mes professeurs dont je garderais un bon souvenir. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.*

*Je tiens à remercier également Mme BENSALAH maître de conférence B de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire en dépit de son précieux temps. Je vous apporte ma plus profonde gratitude.*

*Un spécial remerciement à Mme Mouttas fatema que je ne remercierai jamais assez du soutien inconditionnel qu'elle nous a apporté. .sa bienveillance, sa disponibilité et son dévouement font d'elle une personne exceptionnel. je vous en suis reconnaissante du plus profond de mon cœur.*

*J'adresse mes sincères remerciements a tous les professeurs de la faculté des sciences de la nature et de la vie. de la terre et de l'univers., qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences et leur générosité nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.*

*Enfin, je remercie chaleureusement tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite de ce travail et que je n'ai pas pu tous les citer.*

## *Dédicace*

*Mes chers et tendres parents ! merci merci et mille merci pour votre soutiens et surtout pour l'amour pure, sincère et inconditionnel que seuls vous savez si bien m'apporter , j'espère de tout cœur vous rendre fière de moi et que dieu vous garde pour moi, je vous aime.*

*Je dédie ce modeste travail également*

*A la prunelle des mes yeux, les hommes de ma vie mes chers frères **Abderraouf et Welid**, et toute ma famille a mes oncles mes tantes spécialement ma tati **Mouna** et mes petits cousins, et enfin spéciale dédicace a ma chère amie **Imene** avec qui j'ai tout partagé ces dernières années.*

*Un grand merci et une forte pensée a tous mes **amis et camarades de promotion** que je ne **pourrais citer en entier**, merci pour ces merveilleuses années passées ensemble, dans les mauvais et surtout les bons moments, je vous présente ma sincère affection*

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION GENERAL</b> .....	<b>1</b>
<b>I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	
<b>CHAPITRE I : GENERALITE SUR <i>CARLINA ACAULIS</i></b> .....	<b>3</b>
1. Présentation de <i>Carlina acaulis</i> .....	<b>3</b>
2. Noms vernaculaires et nomenclature.....	<b>3</b>
3. Origine et répartition.....	<b>3</b>
4. Classification.....	<b>3</b>
5. Description botanique.....	<b>4</b>
6. Composition chimique .....	<b>5</b>
7. Propriétés pharmacologique et médicinales.....	<b>5</b>
8. Travaux antérieurs .....	<b>5</b>
<b>CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES</b> .....	
1) Introduction .....	<b>7</b>
2) Composés phénoliques.....	<b>7</b>
a) Généralités.....	<b>7</b>
b) Composition.....	<b>7</b>
3) Alcaloïdes.....	<b>10</b>
4) Biosynthèse des polyphénols.....	<b>12</b>
5) Propriétés des composés phénoliques.....	<b>14</b>
<b>MATERIELS ET METHODES</b> .....	
1) Préparation du matériel végétal .....	<b>16</b>
2) Détermination du taux d'humidité.....	<b>18</b>
3) Tests phytochimiques.....	<b>19</b>
4) Extraction des polyphénols totaux.....	<b>21</b>
a) Extraction brut méthanol/eau.....	<b>21</b>
b) Extraction brut acétone/eau.....	<b>21</b>
5) Extractions sélectives.....	<b>21</b>
a) Extraction des tanins.....	<b>21</b>
b) Extraction des flavonoïdes.....	<b>22</b>
c) Extraction des alcaloïdes.....	<b>23</b>
6) Dosage des composés phénoliques.....	<b>23</b>
a) Dosage des phénols totaux.....	<b>23</b>
b) Dosage des flavonoïdes.....	<b>24</b>
c) Dosage des tanins.....	<b>25</b>
<b>RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	
1) Détermination de la teneur en eau.....	<b>27</b>
2) Tests phytochimiques .....	<b>28</b>
3) Extractions sélectives .....	<b>30</b>
a) Rendement des extraits bruts (méthanol/eau) et (acétone/eau) .....	<b>30</b>
b) Rendement des tanins.....	<b>31</b>
c) Rendement des flavonoïdes.....	<b>32</b>

d) Rendement des alcaloïdes.....	33
4) Dosage des composés phénoliques.....	35
a) Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux.....	35
b) Dosage des tanins.....	37
c) Dosage flavonoïdes.....	38
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>40</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>42</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>45</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b>	Photographie de <i>Carlina acaulis</i>	<b>4</b>
<b>Figure 2</b>	Structure de quelques composés phénoliques	<b>8</b>
<b>Figure 3</b>	Structure de l'acide gallique(a) et structure de l'acide ellagique (b)	<b>8</b>
<b>Figure 4</b>	Structure des tanins condensés	<b>9</b>
<b>Figure 5</b>	Quelques structures des flavonoïdes	<b>10</b>
<b>Figure 6</b>	Exemple de structure et espèce végétale associés aux alcaloïdes	<b>10</b>
<b>Figure 7</b>	Structure du chalcone	<b>12</b>
<b>Figure 8</b>	Biosynthèse des polyphénols par la voie shikimate	<b>13</b>
<b>Figure 9</b>	Biosynthèse des polyphénols par la voie d'acétate	<b>14</b>
<b>Figure 10</b>	Photographie de la région de récolte de <i>Carlina acaulis</i> (Terni)	<b>16</b>
<b>Figure 11</b>	Photographie de <i>Carlina acaulis</i> dans le champ de récolte	<b>16</b>
<b>Figure 12</b>	Photographie du calice de <i>Carlina acaulis</i> séché	<b>17</b>
<b>Figure 13</b>	Photographie du calice de <i>Carlina acaulis</i> broyé	<b>17</b>
<b>Figure 14</b>	Diagramme des tests phytochimiques réalisés sur le calice de <i>Carlina acaulis</i>	<b>20</b>
<b>Figure 15</b>	Teneur en eau du calice de <i>Carlina acaulis</i>	<b>27</b>
<b>Figure 16</b>	Rendement des extraits bruts	<b>30</b>
<b>Figure 17</b>	Rendement des tanins	<b>31</b>
<b>Figure 18</b>	Rendement des flavonoïdes	<b>32</b>
<b>Figure 19</b>	Rendement des alcaloïdes	<b>33</b>
<b>Figure 20</b>	Rendements massiques des composés phénoliques (tanins ,flavonoïdes) et des alcaloïdes du calice de <i>Carlina acaulis</i>	<b>34</b>
<b>Figure 21</b>	Comparaison du taux des composés phénoliques du <i>Carlina acaulis</i>	<b>36</b>
<b>Figure 22</b>	Comparaison du taux des tanins condensés et hydrolysables de <i>Carlina acaulis</i>	<b>37</b>
<b>Figure 23</b>	Comparaison du taux de flavonoïdes	<b>38</b>

## **INTRODUCTION**

---

L'homme préhistorique, qui avait très peu de moyens, devait se nourrir des produits de cueillette et de chasse. En assimilant la flore locale, il a découvert les plantes utiles et indispensables pour survivre.

Les plantes possèdent des métabolites dites « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la co-évolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires. **(Krief, 2003)**

De nos jours de nombreuses études cliniques menées de façon scientifique ont permis de fournir des résultats fiables sur les effets de plusieurs dizaines de végétaux, certains dangers ont également été mis en évidence; si l'on connaît depuis longtemps déjà les plantes les plus toxiques on s'est récemment rendu compte que d'autres faisaient preuve d'une nocivité plus subtile.

L'Algérie a un riche patrimoine végétal, elle recèle plusieurs sortes de végétaux connus et inconnus du monde sa richesse fait que nous avons décidé de parler d'une plante plutôt connue qu'on trouve dans nos sols « *Carlina acaulis* ».

*Carlina acaulis* est une plante protégée et pérenne dont la tige est réduite, qui pousse sur les versants ensoleillés dans les prairies et sur les terrains en friche. Cette plante a longtemps été utilisée pour soigner les éruptions survenant au niveau de la peau et pour traiter le ver solitaire et la peste. Actuellement, c'est essentiellement la racine de la *Carlina acaulis* qui est utilisée en phytothérapie comme plante médicinale. Cette plante contient de l'inuline, des huiles essentielles et des sucres amers. On lui attribue aussi des vertus thérapeutiques comme ses propriétés diurétiques, diaphorétiques et fébrifuges. **(Vulgaris, 2000).**

Notre travail vise à mettre en valeur la richesse de notre patrimoine végétal en mettant en évidence les vertus attribuées à *Carlina acaulis* et à déterminer les propriétés biologiques des polyphénols.

Pour cela notre étude se fera en 3 parties:

- La première partie sera sur une étude bibliographique qui portera sur la connaissance de quelques aspects de *Carlina acaulis* et ses métabolites secondaires.
- La deuxième partie concerne la présentation des différentes techniques utilisées



- Enfin, la troisième partie sera sur les résultats obtenus avec une interprétation et discussion.

Ce travail s'achève par une conclusion et perspective d'investigation.

## **CHAPITRE I**

---

### **Généralités sur *Carlina acaulis***

## 1) Présentation de *Carlina* :

*Carlina acaulis* est une plante de la famille des Astéracées. C'est une plante herbacée vivace. Ses feuilles sont épineuses, pétiolées, glabres ou légèrement velues au revers. Elles mesurent de 10 à 20 cm de long sur 3 à 4 cm de large. Chaque plante porte un seul capitule mesurant jusqu'à 10 cm de diamètre. Les fleurs, insérées dans des cavités du réceptacle, sont tubulaires, pentamères, hermaphrodites et tétracycliques. Le fruit est un akène velu surmonté de soies plumeuses. (Berger,2010).

## 2) Noms vernaculaires et nomenclature :

*Carlina* proviendrait d'une déformation de *cardina* qui signifie "petit chardon" et *acaulis* du grec *caulos* qui signifie "tige" elle est également appelée " Artichaut Sauvage ", "Baromètre du Berger", "Caméléon Blanc", "Cardonnette", "Carline Acaule", "Chardon Argenté", "Chardon Doré", "Chardonnette", "Chardousse", "Gardabelle" et "Loques" (Kubbala, 2001).

## 3) Origine et répartition:

*Carlina acaulis* est originaire d'Europe méridionale et orientale, où elle croît sur les versants montagneux arides et on la trouve donc en Espagne, en Andorre, en France, en Italie, en Suisse et en Allemagne (Berger ,2010). Concernant l'Algérie on la trouve plus précisément dans la wilaya de Tlemcen dans les régions de Terni, Maghnia et Sebdou .

## 4) Classification:

La classification de *Carlina acaulis* est réalisée selon la classification de Linné:

Régne	Plantae
Sous-régne	Tracheobionata
Division	Spermatophyta
Classe	Angiosperme
Sous classe	Eudicotyle

Famille	Astéraceae
Genre	<i>Carlina</i>
Éspece	<i>Carlina acaulis</i>

### 5) Description botanique:

La plante a une tige nulle ou à peu près. Les fleurs sont disposées en capitules, ces derniers, sont gros, larges de 6 à 12 cm. L'involucre est hémisphérique, les bractées extérieures sont très inégales, divisées, épineuses, assez semblables aux feuilles ordinaires de la plante, les bractées inférieures sont membraneuses, d'un blanc argenté, souvent violacées en dessous, très visibles, étalées en rayonnant. Le calice est constitué de poils, la corolle est formée de 5 pétales soudés en tube. Les 5 étamines sont insérées sur la corolle à filets libres entre eux, mais à anthères introrses soudées entre elles et portant à leur base deux filaments plumeux. Le style est bifurqué en deux branches stigmatiques, épaissi et velu vers le haut en dessous de la bifurcation. L'ovaire est uniloculaire à 2 carpelles à placentation pariétale. Les akènes sont soyeux, l'aigrette se détache à la maturité et est deux fois longue comme le reste du fruit, et a une seule rangée de poils plumeux. Les feuilles de la plante sont sans stipules, toutes pétiolées, profondément divisées, généralement sans poils ou rarement aranéeuses (Garnier *et al.*, 1961).



Figure n°1 : Photographie de *Carlina acaulis*

## 6) Composition chimique:

La racine renferme :

- Des glucides représentés par des oses et des osides (18 à 22 % d'inuline, gomme).
- Des lipides, principalement des acides gras (acide palmitique).
- Des matières minérales, essentiellement du calcium, du magnésium et du potassium.
- Des composés phénoliques, plus particulièrement des phénols et des tanins.
- 1 à 2 % d'huile essentielle composée de terpénoïdes 12 à 15 % de ses quiterpènes comme "carlinène" et « oxyde de carline » qui est un dérivé du furane.
- Des résines .
- Une cire (**Pellay 2014**).

## 7) Propriétés thérapeutique et médicinale :

*Carlina acaulis* peut s'utiliser aussi bien en usage interne qu'externe, appliquée sur les plaies , la plante a non seulement des effets désinfectant mais présente également un pouvoir cicatrisant . Elle agit de manière efficace sur les infections buccales et atténue les éruptions excessives d'acnés, apaise les eczémas et les urticaires. En usage interne on la prend souvent en décoction, *Carlina acaulis* est diurétique et sudorifique permettant ainsi l'évacuation des toxines par les sueurs. De sa propriété apéritive, elle stimule aussi l'appétit et en cas de dyspepsie la prise de *Carlina* est tout à fait indiquée. (**Poiret et Webbies , 2011**).

## 8) Travaux antérieurs :

*Carlina acaulis* a toujours été considéré comme une plante avec de divers vertus médicinale notamment son effet diurétique et sudorifique, de ce fait la *Carlina* a aussi un grand pourcentage en composés phénoliques et un certain pouvoir antioxydant dont quelques études ont permis de sortir ces données :

Parmi les études faites sur la *Carlina acaulis* ont constaté que ses principaux composés sont l'inuline (18-20%), les flavonoïdes et l'huile essentielle (2%) avec 80% d'oxyde de carline (**Chalachat,1996**).

L'analyse de diverses espèces de genre *Carlina* concernant la présence de composés tritérpeniques et leurs répartition dans différentes parties de la plante. L'étude chimique de ces plantes se réfère uniquement à la détermination des polyphénols et de la composition des huiles essentielles (**Maciej et al. , 2016**).

Plusieurs composés ont été isolés de la technique chromatographique par HPLC d'extraits de la feuille de *Carlina acaulis* qui a révélée la présence de glycosides, flavones et plusieurs acides phénoliques, principalement des dérivés de l'acide caféique (**Meusel et Kastner ,1990**).

D'autres études ont prouvés des effets synergiques entre carline oxide et les constituants de l'extrait de la *Carlina acaulis* ce qui suggère leur incidence contre la toxicité du bêta-amyloïde, mais cela ne peut pas être attribué à l'activité antioxydante de l'oxyde de carline seul (**Roth et al.,2014**).

## **CHAPITRE II**

---

### **Métabolites secondaires**

## 1) Introduction :

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultants de réactions chimiques ultérieures, on les appelle donc métabolites secondaires (**Chalandre, 2000**).

Beaucoup de métabolites secondaires sont aussi important pour notre alimentation (gout, couleur..) et d'autres parmi eux les alcaloïdes, anthocyanes, flavonoïdes ; quinine, les stéroïdes. Ont une application commerciale dans les domaines pharmaceutique et biomédicaux et font partie des drogues, colorants, arômes, parfums et insecticides. Cette appréciation croissante des effets biologiques hautement diversifiés de ces produits naturels a permis une réévaluation des rôles joués par ces composés chez les végétaux, surtout dans le contexte des interactions écologiques (**Croteau et al 2000**).

## 2) Composés phénoliques :

### a) Généralités :

Les polyphénols forment un des groupes le plus nombreux et largement distribué dans le règne végétal avec ce qui avoisine les 8000 structures phénoliques connus.

La teneur d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Correta et al.,1993**).

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et sont présents dans toutes les parties de la plante (**Lugasi et al 2003**).

### b) Composition

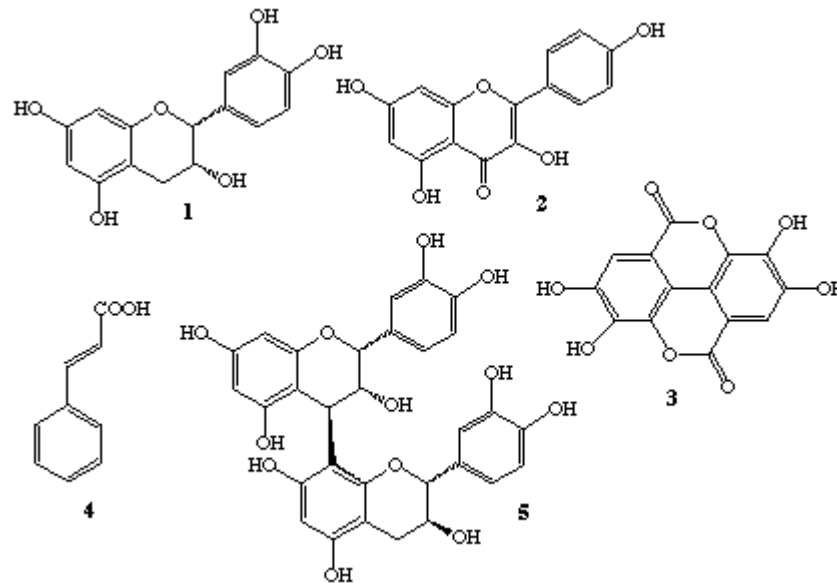
Les composés phénoliques sont constitués de :

- **Acides phénoliques :**

Cette vaste famille regroupe des composés présentant des cycles aromatiques le plus souvent soluble dans l'eau et présent sous forme de glycoconjugués (**Gavot 2009**).

Ils sont contenus dans un certain nombre de plantes surtout médicinales. Parmi les acides phénoliques on cite : acide chlorogénique, acide caféique , acide protocatéchique, acide vanillique et acide gallique (**Hale, 2003**) (**Figure n°2**)





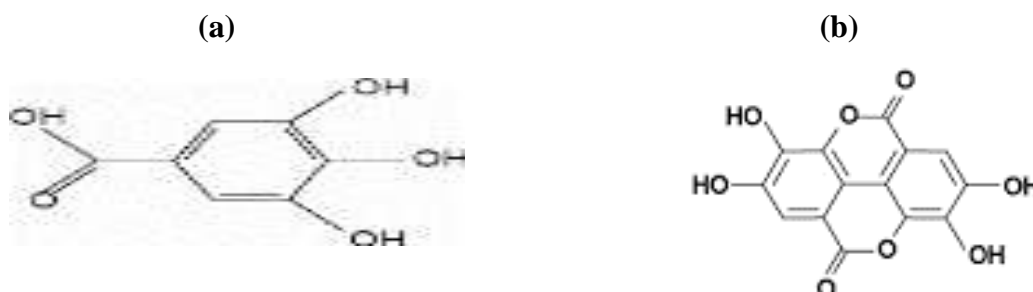
**Figure n°2 :** Structure de quelques composés phénoliques (Lugasi et al.,2003)

- **Tanins :**

Ceux sont des polyphénols polaires d'origine végétales (Berthod et al., 1999) ; existent dans presque chaque partie de la plante : écorce ,bois , feuilles ; fruits et racines .Leurs poids moléculaires s'étendent de 500 à 3000 Da (Cowan 1999). Il est difficile de les séparer dans un extrait végétal parce que de nombreux isomères avec une base moléculaire très semblable coexistent (Berthod et al 1991).

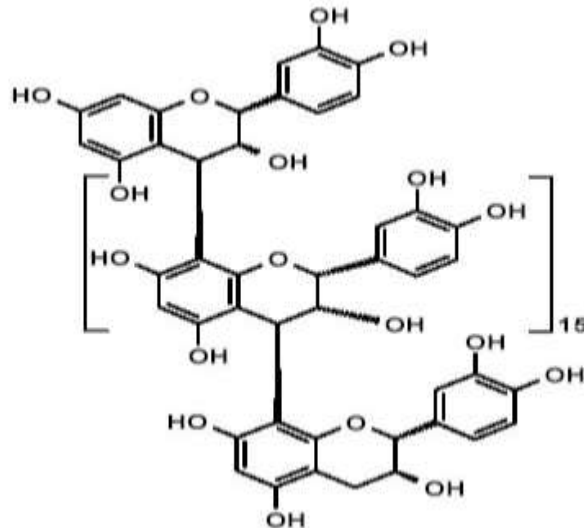
Aujourd'hui, on distingue :

- Les tanins hydrolysables, esters d'un sucre, qui est très généralement le glucose, et de l'acide gallique ou de l'acide ellagique (Figure n°3).



**Figure n°3:** Structure de l'acide gallique (a) et structure de l'acide ellagique (b)

- Les tanins condensés ou proanthocyanidols, (**Figure n°4**) non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols . Ils forment dans les vacuoles des solutions pseudo-colloïdales et peuvent aussi se fixer au niveau des lignines, renforçant encore l'imputrescibilité du bois de cœur. La disparition des tanins, lorsque les fruits ont atteint leur maturation, montre que comme d'autres composés phénoliques, ils peuvent être ré-utilisés par la plante. (**Gavot, 2009**).



**Figure 4** : Structure des tanins condensés

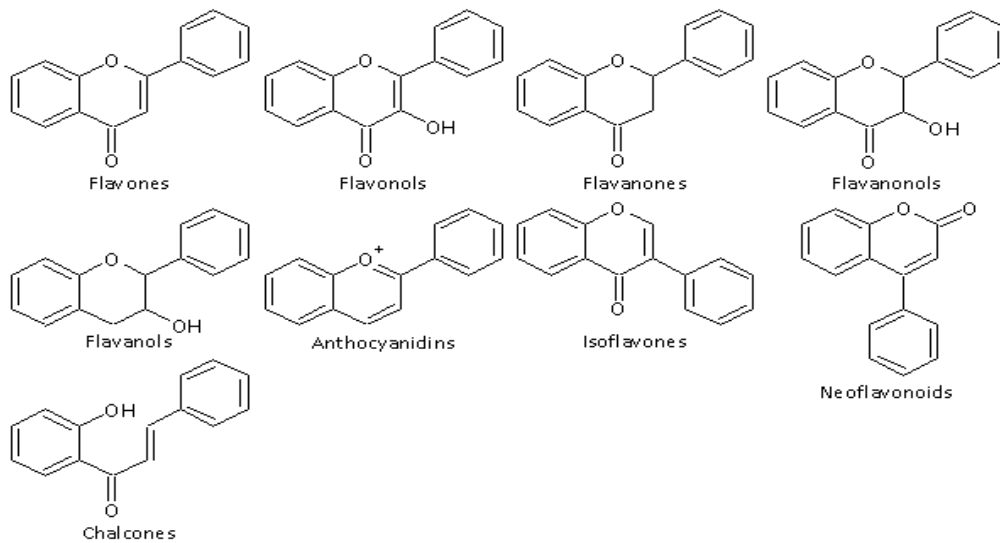
- **Flavonoïdes** :

Les flavonoïdes sont des dérivés phénylpropanoïdes solubles dans l'eau, souvent incolores ou jaunes (sauf exceptions dont les anthocyanes). Ces composés sont des dérivés de la naringénine-chalcone, elle-même issue de la condensation de trois résidus malonyl-CoA avec une molécule d'acide cinnamique. Il s'agit donc de dérivés phénylpropanoïdes. La structure de base comporte deux cycles aromatiques à 6 carbones joints par un hétérocycle à oxygène. Les flavonoïdes constituent en eux même une famille de composés extrêmement vaste, jouant des rôles physiologiques importants. ( **Gavot, 2009**) (**Figure n°5**).

Les principales catégories de flavonoïdes sont définies par :

1/ La présence ou l'absence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C, qui déterminent la planéité de la molécule. Les flavones, flavonols et dérivés présentent une double liaison et sont des molécules planes, contrairement aux flavanes, flavanones et dérivés

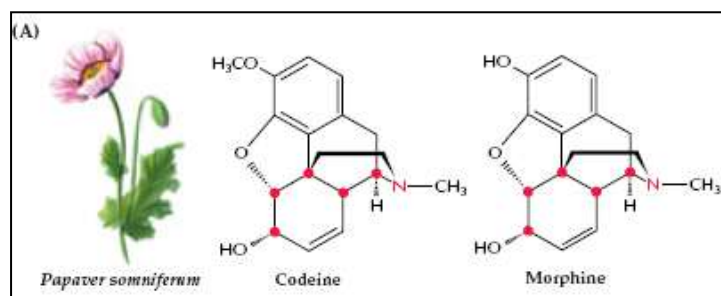
2/ La présence de fonctions cétones, alcools et méthoxy. (Gavot, 2009).



**Figure n°5** : Quelques structures des flavonoïdes (Gavot, 2009).

### 3) Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés azotés, basiques qui s'extraient soit dans l'eau acide soit dans des solvants comme le chloroforme après alcalinisation. Ils précipitent généralement avec des réactifs iodométriques (réactif de Dragendorff) et sont très souvent biologiquement actifs. On retrouve en effet des molécules comme la quinine (anti-malaria), des drogues (cocaïne), des anticancéreux (la vincristine et le taxol), des molécules utilisées comme poisons (strychnine) et des stimulants (caféine). La plupart des alcaloïdes naturels sont d'origine végétale (Gavot, 2009). (Figure n°6).

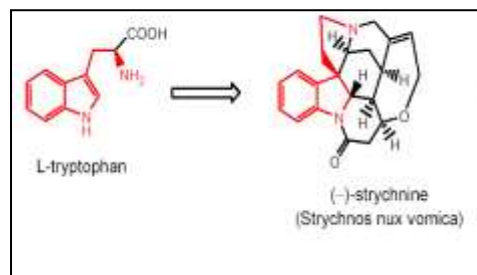


**Figure n°6** : Exemple de structure et espèce végétale associés aux alcaloïdes (Croteau et al.,2000)

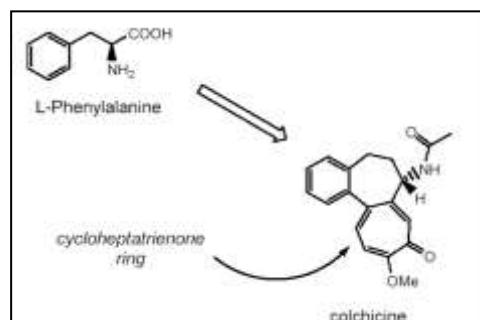
Cette famille de métabolites secondaires a été particulièrement étudiée du fait des enjeux économiques qui y sont associés. Leurs actions biologiques les place également au cœur de phénomènes d'interactions de défense face aux pressions biotiques (herbivores, microorganismes). L'amertume – une caractéristique anti-nutritionnelle – est une caractéristique générale des alcaloïdes.

On distingue généralement :

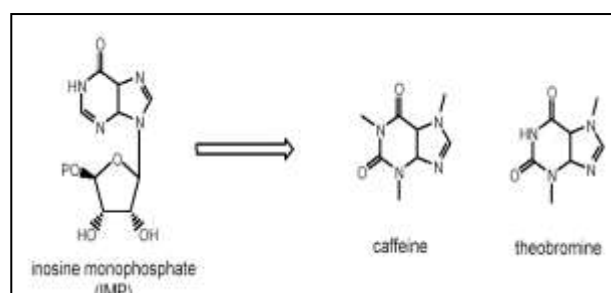
- **Les alcaloïdes vrais**, qui sont d'un point de vue de la biosynthèse dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle : exemple la strychnine dérivée du tryptophane



- **Les proto-alcaloïdes**, qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques (exemple : la colchicine)



- **Les pseudo-alcaloïdes**, qui ne dérivent pas d'acides aminés (exemple : la caféine)



#### 4) Biosynthèse des polyphénols :

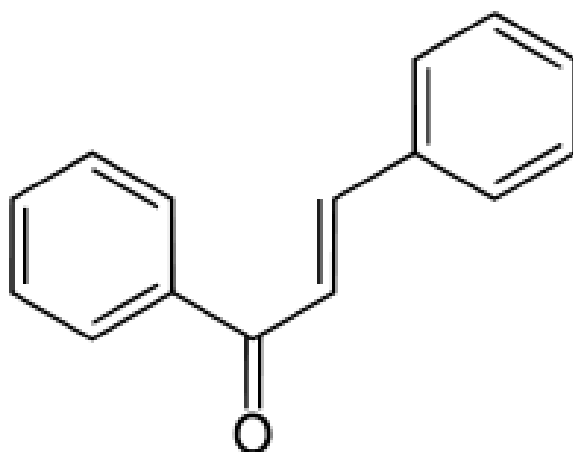
Les composés phénoliques constituent un groupe important de métabolites secondaires. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques, tyrosine et phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de façons variables suivant les végétaux, à partir de la voie de l'acide shikimique. (**Macheix et al., 2005**)

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

- **Voie de l'acide shikimique :**

Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont respectivement produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse. Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques (C6-C1) formant les tanins hydrolysables et de la chalcone (**Figure n°7**) qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tanins condensés. (**Dewick, 1998**).

Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. Ce sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique. (Figure n°8)



**Figure n°7 :** Structure du chalcone (**Dewick, 1998**).

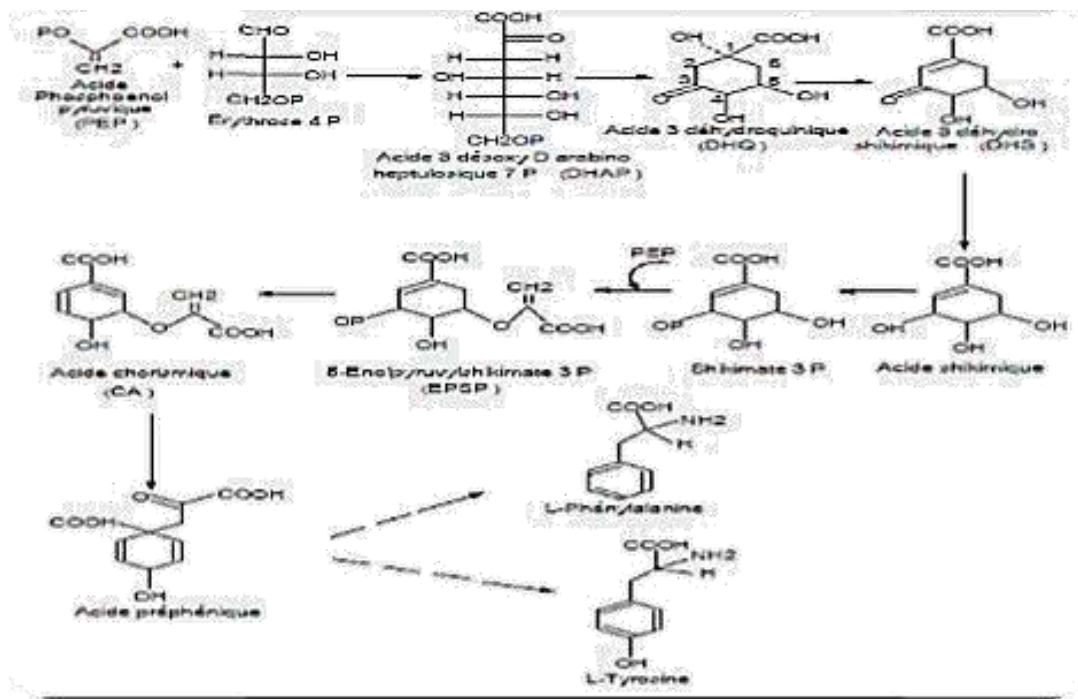


Figure n°8 : Biosynthèse des polyphénols par la voie shikimate (Dewick,1998).

- Voie de l'acide d'acétate :

La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétylCoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités «Acétate» qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Richter, 1993). (Figure n°9)

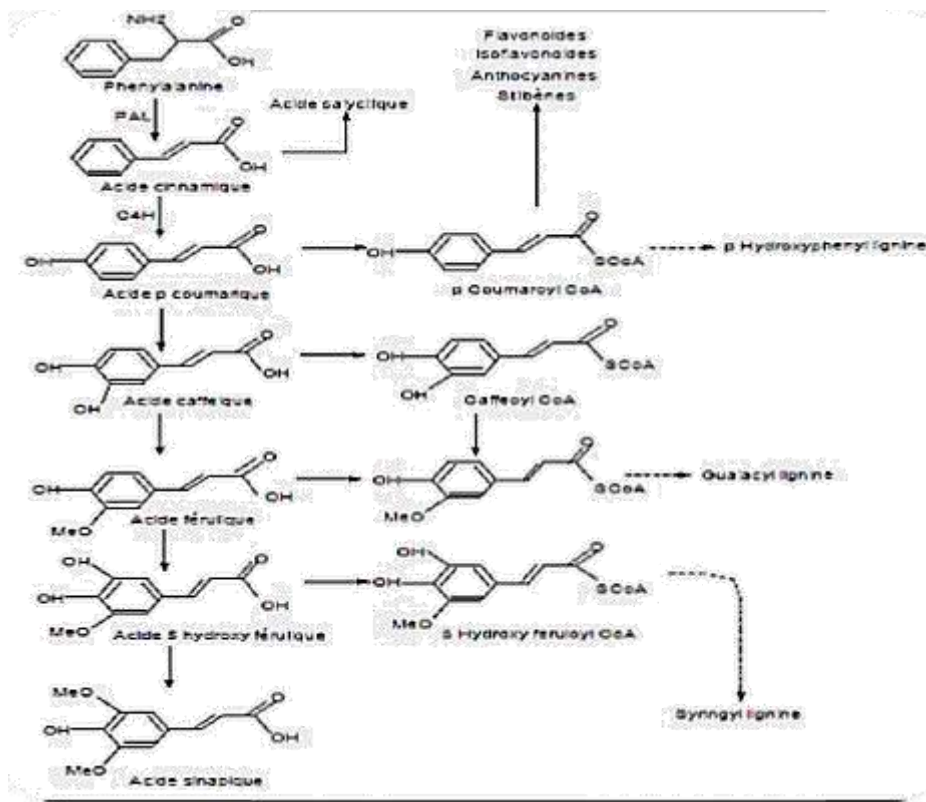


Figure n°9 : Biosynthèse des polyphénols par la voie d'acétate (Bruneton, 1999).

### 5) Propriétés des composés phénoliques :

D'anciens travaux de Nitsch G P et Nitsch C en 1961 et d'Alibert et ses collaborateurs en 1977 ont montré que les phénols seraient associés à de nouveaux processus physiologiques : croissance, différenciation, organogénèse, floraison et tubérisation.

Les flavonoïdes et d'autres polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des besoins dépendent de la teneur en polyphénols (Lugasi *et al.*, 2003).

L'astringence est due au tanin catéchétiques qui précipitent les protéines salivaires, entraînant avec elles leur « cortège » des molécules d'eau qui lubrifiaient alors la muqueuse buccale. Les tanins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs, les

flavones sont responsables à l'amertume des citrus et peuvent donner naissance, par transformation chimique, à des dihydrochalcones à saveur sucrée (**Dubois et al ., 1977**).

Certaines hypothèses suggèrent que l'investissement métabolique pour la synthèse des tanins, nécessaires en quantité relativement importante pour exercer des effets toxiques significatifs, serait plus important que celui nécessaire aux systèmes de défense allélochimique basés sur la production de petites quantités de toxines très actives, comme les alcaloïdes (**Lebreton, 1982**).

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets des rayonnements UV. Les pigments responsables de la coloration des fleurs représentent des signaux visuels qui attirent des animaux pollinisateurs. La plupart de ces pigments sont des anthocyanes, des aurones et des chalcones. D'autres polyphénols incolores tels que les flavonols et flavanones interagissent avec les anthocyanes pour altérer par co-pigmentation la couleur des fleurs et des fruits (**Brouillard et al ., 1977**).

Les cellules végétales répondent au stimulus environnemental en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression. Lorsque la plante soumise à des blessures mécaniques, des composés phénoliques et phénols simples sont synthétisés et l'activité peroxydasique caractéristique des tissus en voie de lignification est stimulée. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections (**Fleurit et Macheix, 1997**).



## **MATERIEL ET METHODES**

---

Notre modeste travail a été réalisé au laboratoire des produits naturels situé a Bouhanak

### 1) Préparation du matériel végétal :

Nous avons récoltés notre plante *Carlina acaulis* dans la région de Terni de la wilaya de Tlemcen au cours du mois d'avril. (Figure n°10 et 11).



**Figure n°10** : Photographie de la région de récolte de *Carlina acaulis* (Terni)



**Figure n°11** : Photographie de *Carlina acaulis* dans le champ de récolte

Au laboratoire la plante est lavée et séparée en 3 parties (racines, feuilles et calice) , le calice a été mis à sécher a l'air libre et a l'abri de la lumière pendant 15 jours. **(Figure n°12)**. Le séchage est suivi par le broyage qui se fera juste avant chaque analyse. **(Figure n°13)**.



**Figure n°12** : Photographie du calice de *Carlina acaulis* séché



**Figure n°13** : Photographie du calice de *Carlina acaulis* broyé

## 2) Détermination du taux d'humidité : (Audigie et al.,1980).

La teneur en eau est déterminée sur l'échantillon fraîchement récolté.

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve à température de 100 à 105° jusqu'à obtention d'une masse pratiquement constante

### - Mode opératoire :

- Laver et sécher à l'étuve des vases de tare pendant 30 min à 100° avec couvercles inclinés
- Laisser refroidir dans un dessiccateur durant 20min puis les peser avec leurs couvercles
- Mettre dans chaque vase 2g d'échantillon fermer et peser les vases de tare dans l'étuve pendant 3h à 105° avec couvercle incliné
- Remettre le couvercle rapidement laisser refroidir au dessiccateur puis peser

### - Expression des résultats :

Le taux d'humidité (%) d'un matériel végétal est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité \%} = ((P3-P2) / (P1-P2)) \cdot 100$$

Dont :

P1 : Poids en gramme de la vase de tare vide

P2 : Poids en gramme de la prise d'essai avant séchage

P3 : Poids en gramme de la prise d'essai après séchage

A partir de la teneur en eau on peut déterminer le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche\%} = 100 - \text{teneur en eau \%}$$

### 3) Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques permettent de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques comme les tanins et les flavonoïdes, les hétérosides et les composés azotés en particulier les alcaloïdes

- **Principe :**

La mise en évidence des composés chimiques est effectuée par des tests réalisés généralement sur des extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou macération à froid) ou directement sur la poudre d'échantillon à analyser

- **Mode opératoire :**

L'épuisement est réalisé dans un ballon surmonté d'un réfrigèrent contenant 5g de matériel végétale en présence de 150ml des solvants suivants : eau, éthanol et éther d'éthyliques

L'ensemble a été porté à reflux pendant une heure pour chaque solvant, les extraits ont été filtrés, concentrés, à l'aide d'un rotavapeure, et stockés à 4°, puis soumis aux différents test (**Figure n°14**) (**Trease et Evans,1987**).

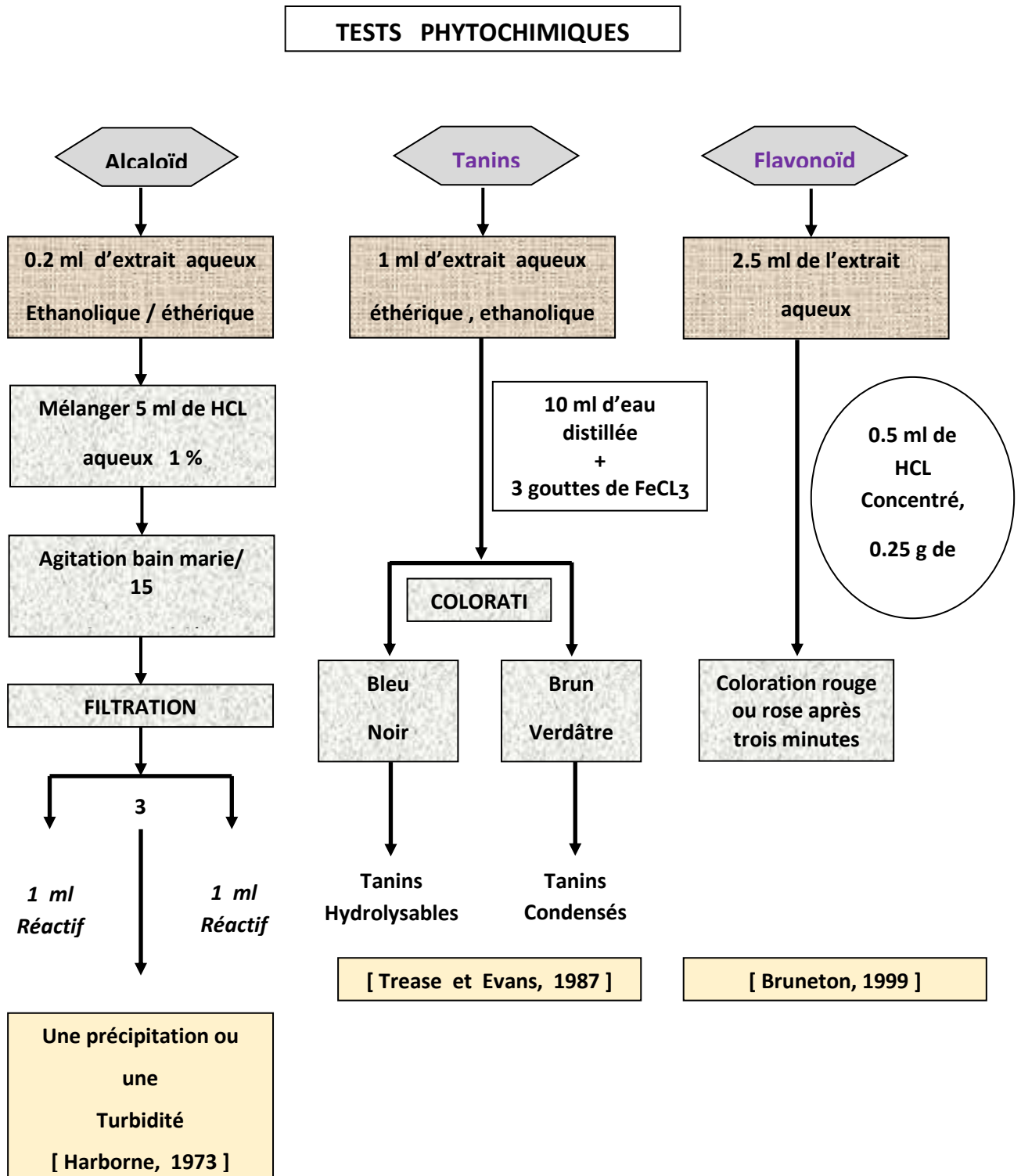


Figure n°14 : Diagramme des tests phytochimiques (Trease et Evans,1987).

#### **4) Extraction des polyphénols totaux :**

On effectue ces tests en utilisant deux solvants « acétone/eau » et méthanol /eau» .

##### **a) Extraction brute avec le solvant méthanol / eau : (Harbonne , 1998).**

- Peser 10 g de matériel végétal à mettre dans 100ml du solvant (80ml méthanol + 20ml d'eau distillé)
- Macération pendant 24h avec agitation à température ambiante à l'abri de la lumière
- Filtrer la solution après la 1<sup>ère</sup> macération puis reprendre le filtrat et rajouter 100ml du solvant (80ml méthanol+ 20ml eau distillé) et remettre à macérer pendant 24h
- Filtrer et mélanger les 2 solutions et mettre au frais à 4°
- Mettre au rotavapeur la solution jusqu'à épuisement et récupérer le résidu avec 3ml de méthanol

##### **b) Extraction brute avec le solvant acétone/eau : (Blahova et al., 2004).**

- Peser 10 g de matériel végétal à mettre dans 100ml du solvant (70ml méthanol + 30ml d'eau distillé)
- Macération pendant 24h avec agitation à température ambiante à l'abri de la lumière
- Filtrer la solution après la 1<sup>ère</sup> macération puis reprendre le filtrat et rajouter 100ml du solvant (70ml méthanol+ 30ml eau distillé) et remettre à macérer pendant 24h
- Filtrer et mélanger les 2 solutions et mettre au frais à 4°
- Mettre au rotavapeur la solution jusqu'à épuisement et récupérer le résidu avec 3ml de méthanol

#### **5) Extractions sélectives :**

##### **a) Extractions des tanins (Bruneton1999) :**

- 5g de matériel végétal broyé avec 55ml d'acétone + 90 ml d'eau distillé, l'ensemble est porté à une macération à froid 4° pendant 4jours
- Filtrer et extraire la solution deux fois avec 50ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides

- Décanter et extraire la phase aqueuse 2 fois avec 50ml d'acetate d'éthyle
- Faire évaporer le solvant à sec
- Récupérer le résidu sec obtenu avec 3ml de méthanol
  
- **Expression des résultats :**

Le rendement après extraction des tanins est exprimé selon la formule suivante :

$$\text{Rdt}\% = \frac{\text{P2}-\text{P1}}{\text{M}} \cdot 100$$

Rdt : Rendement

P1 : Poids en g du ballon vide

P2 : Poids en g du ballon après séchage

M : Masse en g de l'échantillon

**b) Extraction des flavonoïdes (Dauguet et Faucher, 1982) :**

5g de matériel végétal dans 100ml de méthanol a faire bouillir avec 2,5 gr de CaCO<sub>3</sub>.

L'ébullition est maintenue sous réfrigérant a reflux pendant 1h, après filtration , le dépôt est traité de nouveau pendant 1h a l'ébullition dans la même quantité d'alcool.

Les deux solutions alcooliques sont réunis, elles sont éliminées par distillation sous pression réduite et le résidu sirupeux est repris par 100ml d'eau distillé bouillante.

La solution aqueuse est filtrée a chaud et le filtrat épuisé successivement par l'étherd'éthylique et l'acétate d'éthyle et le n-butanol tous les composés flavoniques se retrouvent dans l'extrait d'éthylique

- **Expression des résultats :**

Le rendement après extraction des flavonoïdes est exprimé selon la formule suivante :

$$\text{Rdt}\% = \frac{\text{P2}-\text{P1}}{\text{M}} \cdot 100$$



Rdt : Rendement

P1 : Poids en g du ballon vide

P2 : Poids en g du ballon après séchage

M : Masse en g de l'échantillon

**c) Extraction des alcaloïdes (Bruneton 1999) :**

On mélange 5g de matériel végétal avec 125ml d'HCL à 2% et 55ml d'acétate d'éthyle, l'ensemble est porté à une macération a froid pendant 10H, filtrer le mélange et basifier la phase aqueuse acide avec du NH<sub>4</sub>OH, elle est ensuite extraite deux fois avec de l'acétate d'éthyle jusqu'à ce que la phase aqueuse ne contienne plus d'alcaloïdes.

Le solvant organique contenant des alcaloïdes est décanté, débarrasser des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation avec MgSO<sub>4</sub>, faire évaporer le solvant et reste alors un résidu c'est des alcaloïdes totaux

- **Expression des résultats :**

Le rendement après extraction des alcaloïdes est exprimé selon la formule suivante :

$\text{Rdt}\% = \frac{\text{P2} - \text{P1}}{\text{M}} \cdot 100$
---

Rdt : Rendement

P1 : Ppoids en g du ballon vide

P2 : Poids en g du ballon après séchage

M : Passe en g de l'échantillon

**6) Dosage des composés phénoliques :**

**a) Dosage des phénols totaux :( Blahova et al 2004) :**

- **Principe :**

Ce dosage repose sur la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocaltau, ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphomolybdique et d'acide phosphotungstique.

L'oxydation des phénols réduits ce réactif en mélange d'oxydes bleus et tungstène et de molybdène .L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composé phénolique oxydés

- **Mode opératoire :**

On prépare la solution mère 3ul de l'extrait et compléter avec 2000ul de méthanol

- De la solution mère on préparer deux dilution 1/10 et 1/100
- 2ml de NaCO<sub>3</sub> ajouté a la solution et 100ul de Folin-Ciocaltau
- Les solutions sont incubés a l'obscurité pendant 30min
- Les observations sont mesurés a 760nm

- **Expression des résultats :**

La concentration des polyphénols totaux, est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage (voir annexe)

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche en appliquant la formule suivante :

$$T = C * V * D / PS$$

T : Teneur en polyphénols totaux

C : Concentration de polyphénols en équivalent de l'acide gallique déduite par la courbe

V : Volume de l'extrait total

D : Facteur de dilution

Ps : Poids de la matière sèche

**b) Dosage des flavonoïdes : (Djeridane et al.,2006)**

- **Mode opératoire :**

0,5 ml de l'échantillon mélangé avec 0,5 ml AlCl<sub>3</sub> a 2%, après incubation de 15min à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 430nm

- **Expression des résultats :**

La concentration des flavonoïdes, est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage (voir annexe). La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercitrine pour 100g de matière sèche en appliquant la formule suivante :

$$Y = 5,1403 \cdot X$$

c) **Dosage des tanins :**

**Tanins condensés : (Swain et Hillis,1959).**

- **Principe :**

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vaniline en milieu acide, il est spécifique des flavones3-ols (Price et al. , 1978)

- **Mode opératoire :**

Solution A : extrait de l'échantillon

Solution B : vanilline a 1% avec acide sulfurique

Prendre 500ul de la solution A et 1ml de la solution B , mettre les tubes au bain marie pendant 15min a 20° , lire l'absorbance a 500nm

- **Expression des résultats :**

$$T (\%) = 5,2 \cdot 10^{-2} \times DO \times V / P$$

5,2.10-2 : Constante exprimée en équivalent de cyanidines

DO : Densité optique

V : Volume

P : Poids de l'échantillon

T % : Pourcentage du taux de tanins condensés

### **Tanins hydrolysables : (Mole et Waterman ,1987)**

#### **- Principe :**

Cette méthode est basée sur une réaction avec le chlorure Ferrique, le mélange de l'extrait tannique avec le réactif chlorure ferrique provoque la coloration rouge violet du complexe d'ou la formation des ions

#### **Mode opératoire :**

Préparer le réactif C ( FeCl<sub>3</sub> à 0,01 M dans HCl à 0,001M) (voir annexe)

Prendre 500ul de l'extrait et on ajoute 1,75ml de réactif C

Lire l'absorbance a 660nm 15 secondes après l'addition du réactif C

#### **- Expression des résultats :**

$$T \% = DO_x (MxV/Emole P)$$

DO : Densité optique

Emole : 2169 de l'acide gallique

M : 300

V : Volume de l'extrait utilisé

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

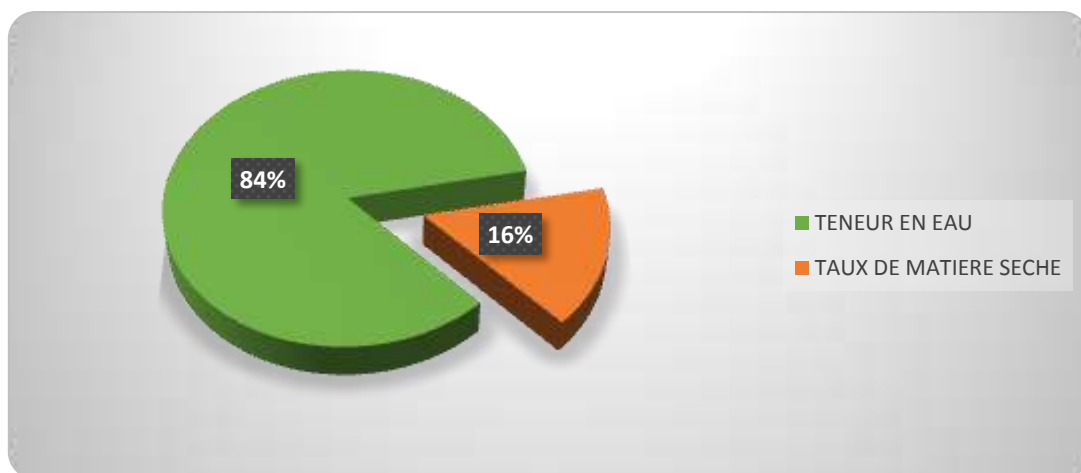
---

## 1) Détermination de la teneur en eau :

Les végétaux sont généralement connus pour leur richesse en eau, de ce fait on confirme cette hypothèse par la détermination de la teneur en eau contenue dans le calice de *Carlina acaulis*.

L'analyse de la teneur en eau au niveau du calice de la *Carlina acaulis* montre un taux très élevé estimé à 84% (**Figure n°15**).

A partir de la teneur en eau on a pu déterminer le pourcentage de la matière sèche estimé à 16%.



**Figure n°15** : Teneur en eau du calice de *Carlina acaulis*

Les facteurs climatiques comme l'environnement et la qualité du sol jouent un grand rôle sur la teneur en eau.

Etant donné l'originalité de notre travail sur le calice de *Carlina acaulis*, les comparaisons ont été faites avec les racines et les feuilles de la *Carlina acaulis*.

Donc nos résultats sont conformes avec ceux de **Bouchriha et Habbar**, (2009) sur la racine estimée à 78,52% et **Hadj-ali**, (2017) sur les feuilles estimée à 80,54% ce qui confirme la grande teneur en eau de notre plante.

## 2) Tests phytochimiques :

Avant de calculer le rendement des métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes), on doit d'abord vérifier leur présence au sein de notre échantillon.

On a donc utilisé des tests physico-chimiques simples en utilisant des solvants de polarités différentes. On affirme la présence ou l'absence de différentes familles des métabolites secondaire du calice de *Carlina acaulis* avec l'apparition d'une coloration, précipitation ou floculation.

Les tests photochimiques réalisés sur le calice de *Carlina acaulis* ont permis de détecter différentes familles de composés phénoliques par la réaction qualitative de caractérisation.

Ces derniers se présentent ainsi :

- 1) (+) : présence en faible quantité. est enregistré si le réactif présente une légère opacité
- 2) (++) : présence en quantité moyenne. Est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation
- 3) (+ + +) : présence en forte quantité. Est enregistré si le réactif produit une floculation ou une légère turbidité
- 4) (-) : absence des composés. Est enregistré en cas d'absence de turbidité, de floculation et de précipitation

Les résultats des tests phytochimiques obtenus pour les tanins, les flavonoïdes et les alcaloïdes du calice de *Carlina acaulis* sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau** : Résultats des tests phytochimiques du calice de *Carlina acaulis*

Famille De composés	Extrait aqueux	Extrait éthanolique	Extrait éthérique
<b>Alcaloïdes</b>	Reactif de mayer (-)	(-)	(-)
	Reactif de wagner (-)	(-)	(-)
<b>Flavonoïdes</b>	(+ + +)		
<b>Tanins</b>	( + +)	(+)	(-)

Par rapport à nos résultats (Tableau) on constate on au premier abord une absence total ou presque des alcaloïdes au niveau de chaque extraits.

Les faibles concentrations au niveau du calice ne permet pas un seuil de détection élevé et fiable avec l'épuisement à chaud, il serait préférable d'utiliser d'autres techniques d'identification plus précise comme (CCM ou HPLC...).

En ce qui concerne les tanins leurs présence est confirmé a petite et moyenne présence dans les extraits aqueux et éthanolique avec la solution de chlorure ferrique .

- Extrait aqueux : une légère turbidité avec une couleur noir verdâtre ce qui suggère qu'il s'agit des tanins condensés.
- Extrait éthanolique : une turbidité un peu moins apparente avec une couleur brun verdâtre ce qui suggère également qu'il s'agit de tanins condensés

Donc nos tests confirment la présence des tanins dans le calice de *C. acaulis*. a des proportions détectable par les tests phytochimiques et ils sont aussi présents dans les autres parties de la plante : feuilles (**Khenafou et Benmenni,2017**) et racines (**Hadj-Ali et Fifra 2017**).

Concernant les flavonoïdes on constate que l'apparition d'une couleur d'un rose très pale en contact avec le tournure de magnésium indique une forte présence des flavonoïdes dans le calice de *Carlina acaulis* .

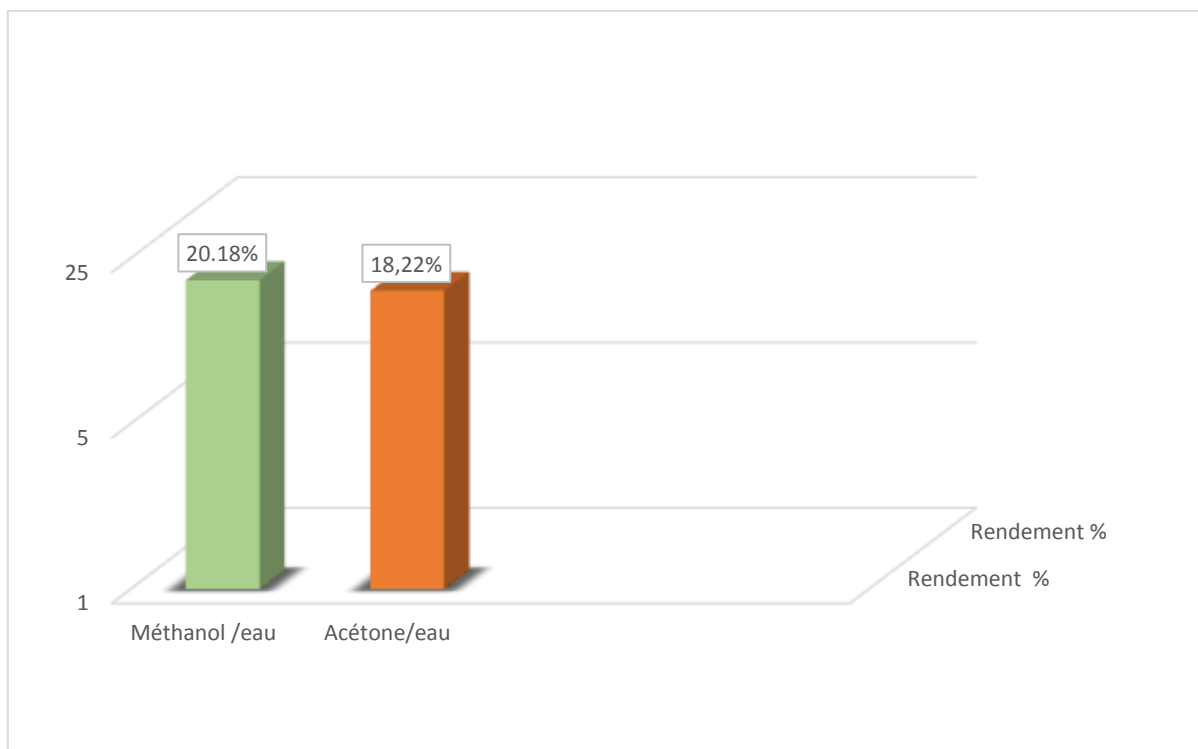


Nos résultats démontre que parmi ces métabolites présents dans le calice de *Carlina acaulis* , elle contient plus de flavonoïdes que les tanins et les alcaloïdes.

### 3) Extractions sélectives :

#### a) Rendement des extraits bruts méthanol/eau et acétone/eau :

Pour l'extraction des composés phénoliques de la *Carlina acaulis*, on a utilisé deux solvants « méthanol/eau » et « acétone/eau » qui nous ont permis de déterminer leurs rendements. (Figure n°16).



**Figure n°16 : Rendements des extraits bruts**

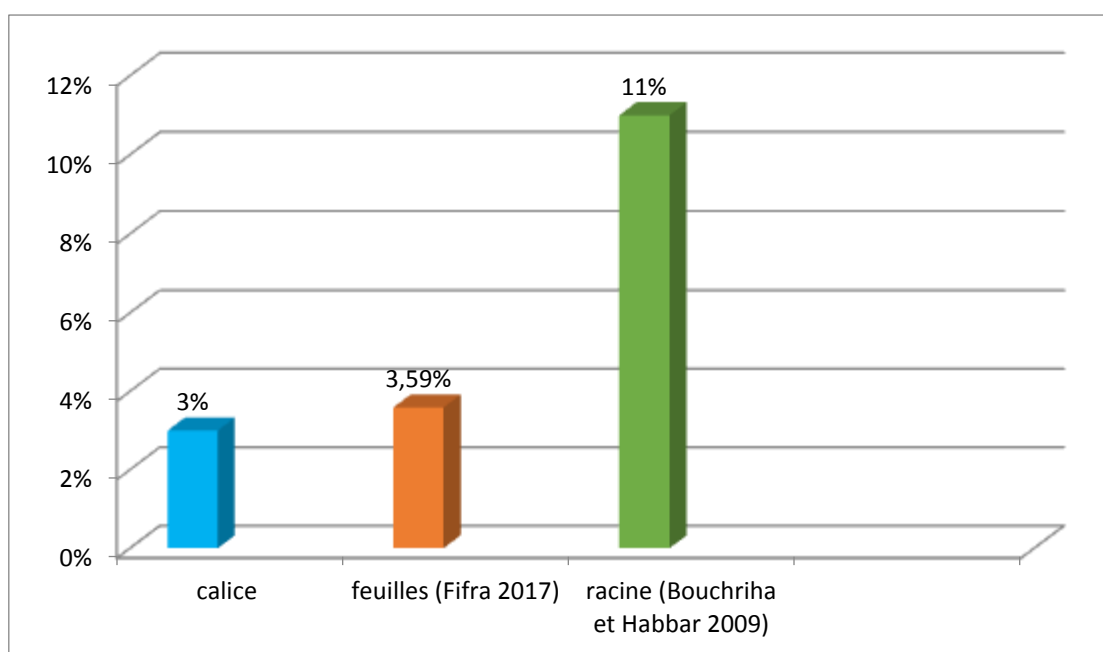
En vue de nos résultats (Figure n°16) on constate que le rendement de nos deux extraits sont assez élevées métahnl/eau estimé à 20,18 et acétone/eau estimé à 18,22 de ce fait l'extrait méthanol /eau a un rendement plus élevée que l'extrait acétone/ eau d'un pourcentage de 2%

La grande diversité structurale des composés phénoliques rend difficile une présentation globale des méthodes qui permettent leur extraction et leur isolement processus mis en jeu au cours de leur biosynthèse de leurs propriétés physico-chimique et biologiques

### b) Rendement des tanins :

L'extraction des tanins a été faite par une macération à froid dans un mélange d'acétone et d'eau en sachant que l'acétone c'est le solvant qui permet d'extraire le plus les tanins dans une plante.

Nos résultats obtenus des rendements des tanins du calice de *Carlina acaulis* est démontré dans la figure 17 en comparaison avec les résultats de **(Bouchriha et Habbar, 2009)** sur la racine et de **(Fifra, 2017)** sur les feuilles.



**Figure n°17 : Rendement des tanins**

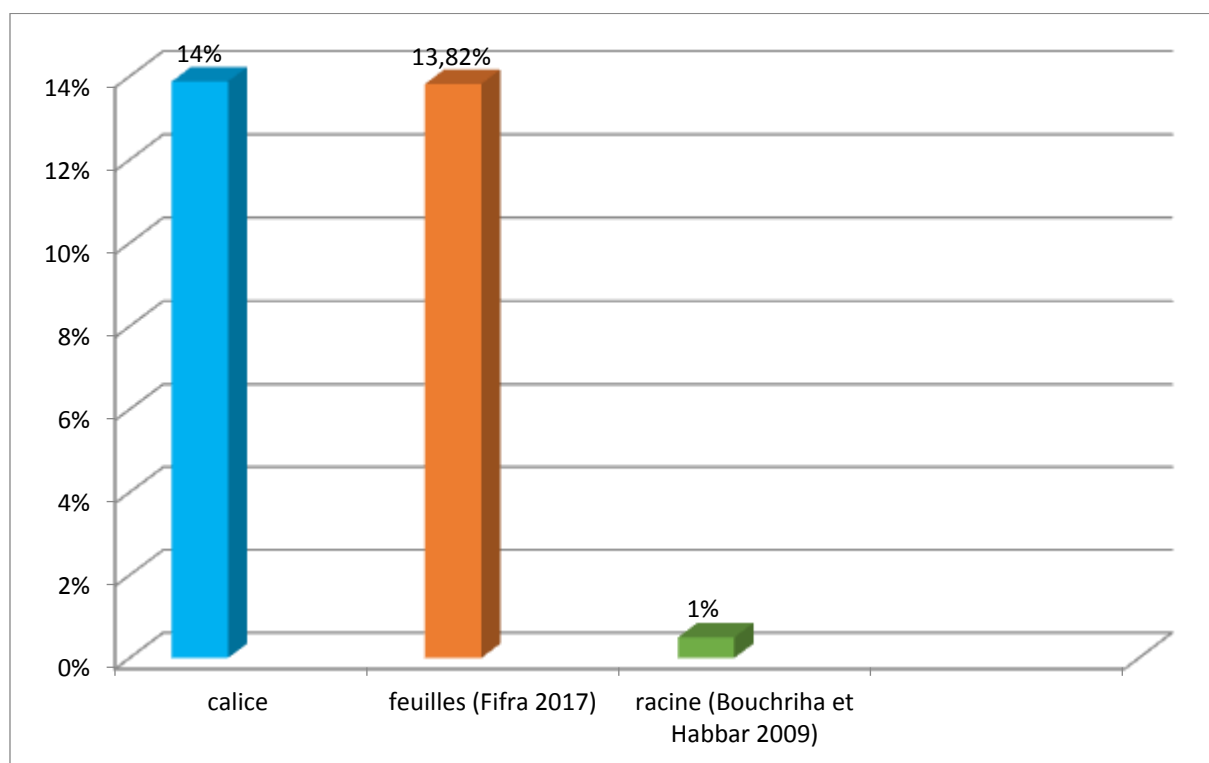
D'après nos résultats (**Figure n°17**) on constate que le rendement de notre extraction estimé à 3% diffère de celui de la racine (**Bouchriha et Habbar., 2009**) estimé à 11% mais est presque identique à celui des feuilles (**Fifra, 2017**). On peut dire que le calice de *Carlina acaulis* contient des tanins mais à faible dose.

La teneur en tanin varie avec l'espèce végétale et ces variations peuvent être liées d'une part au degré de maturité et d'autre part au site de récolte (**Bornner et al . ,1974**). L'acétone possède la capacité de solubiliser les tanins qui ne sont pas solubles dans le méthanol (**Milcent et Chau , 2003**).

### c) Rendement des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties végétales (racines, tiges, fleurs et feuilles). Ils varient selon les stades de développement de la plante (**wilson,1993**).

Les résultats qu'on a obtenus du rendement des flavonoïdes du calice de *Carlina acaulis* sont illustrés dans la (**Figure n°18**).



**Figure n°18 : Rendement des flavonoïdes**

Le rendement en flavonoïdes du calice de *Carlina acaulis* est estimé à 13,88% contrairement à celui de la racine (**Bouchriha et Habbar ,2009**) estimé à 0,5% beaucoup plus faible quand à celui des feuilles (**Fifra, 2017**) estimé à 13,82% est presque identique à nos résultats

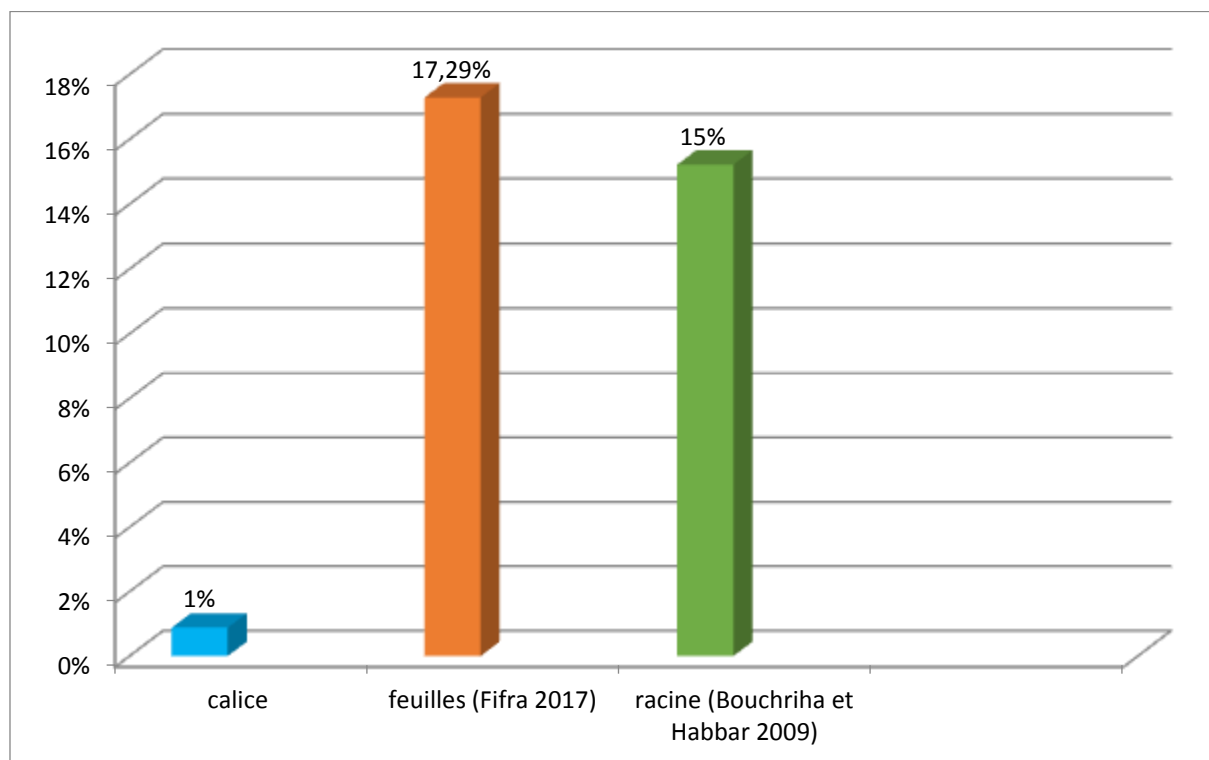
Nos résultats en comparaison de ceux de **(Bouchriha et Habbar, 2009)** et **(Hadj-Ali et Fifra, 2017)** d'une plante de la même famille prouve que le calice et les feuilles de *Carlina acaulis* ont un fort rendement en flavonoïdes.

Il est important d'ajouter que le méthanol est le solvant qui extrait le mieux les antioxydant et les flavonoïdes **(Sun et al ., 2002)**.

#### d) Rendement en alcaloïdes :

La présence des alcaloïdes peut expliquer des activités biologiques diverses **(Milcent et Chau, 2003)**. Ils jouent à faibles doses, le rôle d'anesthésiques locaux, d'analgésiques, d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludiques, d'anti-tumoraux **(Chenni, 2010)**.

Les résultats du rendement des alcaloïdes du calice de *Carlina acaulis* sont présentés dans la **(Figure n°19)**.

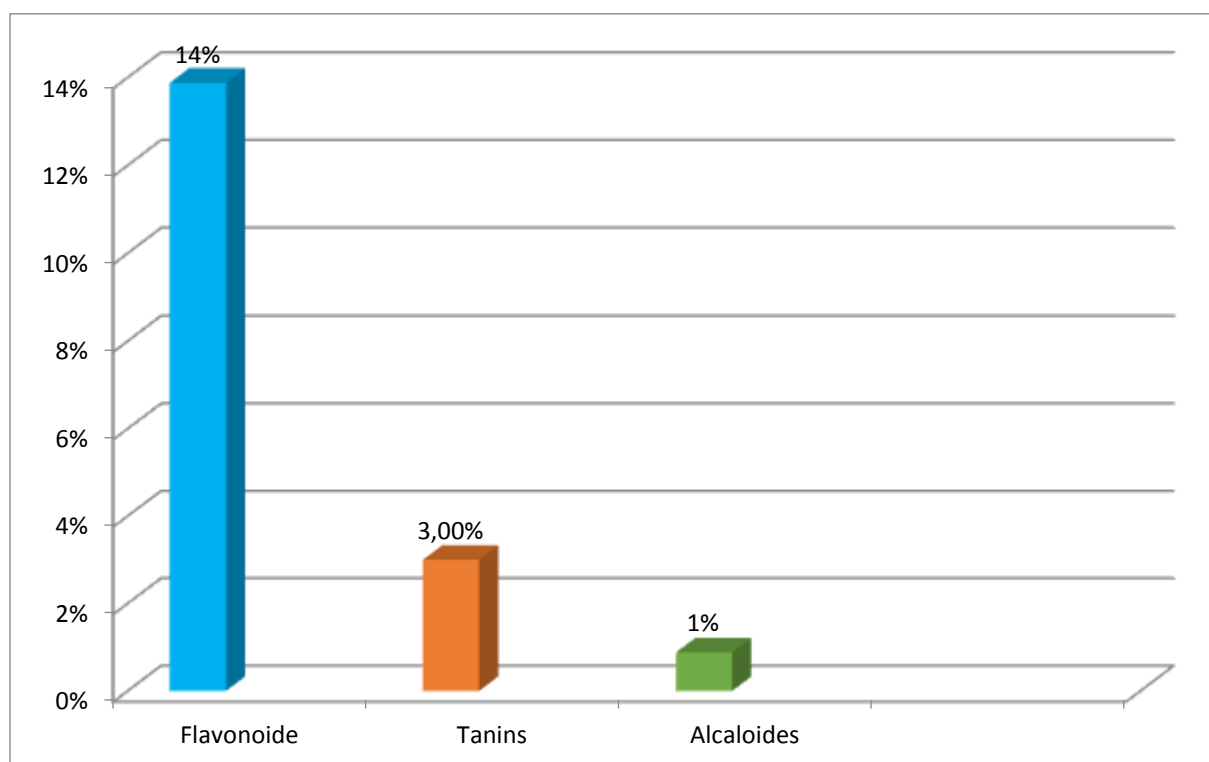


**Figure n°19** : Rendement des alcaloïdes

On constate d'après nos résultats que le calice de *Carlina acaulis* a un taux très faible en alcaloïdes estimé à 0,88% comparé à ceux de la racine et des feuilles de (Bouchriha et Habar.,2009) , (Hadj-Ali et Fifra , 2017) beaucoup plus élevés estimé a 15,22% et 17,29% respectivement.

En sachant que les alcaloïdes du fait de leur toxicité sont peu ou pas concentrés dans les parties aériennes en comparaison avec la partie souterraine de la plante. Étant donné que le calice est comestible il est tout a fait normal que le rendement soit faible parce que une forte concentration en alcaloïdes est considéré comme toxique.

On a regroupés tous les rendements des composés phénoliques et des alcaloïdes du calice de *Carlina acaulis* dans la figure suivante :



**Figure n°20 :** Rendements massiques des composés phénoliques (tanins, flavonoïdes) et des alcaloïdes du calice de *Carlina acaulis*

Suite à nos résultats on constate que le rendement le plus élevé est celui des flavonoïdes estimé à 13,88%, suivie par les tanins avec 3% et en dernier les alcaloïdes a 0,88% ce qui explique que le calice de *Carlina acaulis* est comestible. Par conséquent nos

résultats diffèrent complètement avec ceux de **(Bouchriha et Habbar ,2009)** qui ont eu des rendements sur la racine de *Carlina acaulis* estimés : alcaloïdes à 15,22%, tanins 11% et flavonoïdes 0,5%.

Et concorde en générale avec ceux des feuilles de *Carlina acaulis* **(Fifra ,2017)** : alcaloïdes 17,29%, tanins 3,59%, flavonoïdes : 13,82%.

Nos résultats sont plutôt cohérent entre eux en sachant que le méthanol favorise l'extraction des flavonoïdes et que notre extrait méthanol / eau a donné le rendement le plus élevé et que le rendement des composés phénolique le plus élevé estimé du calice de *Carlina acaulis* est celui des flavonoïdes.

#### **4) Dosage des composés phénoliques :**

Le dosage nous permet de déterminer la qualité ou la concentration des composés phénoliques présents dans les plantes par moyen de réactions chimiques.

##### **a) Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux :**

Pour notre étude les polyphénols ont subi une extraction dans un mélange de solvants (méthanol/eau) car on a trouvé que le calice de *Carlina acaulis* était plus riche en flavonoïdes plutôt qu'en tanins.

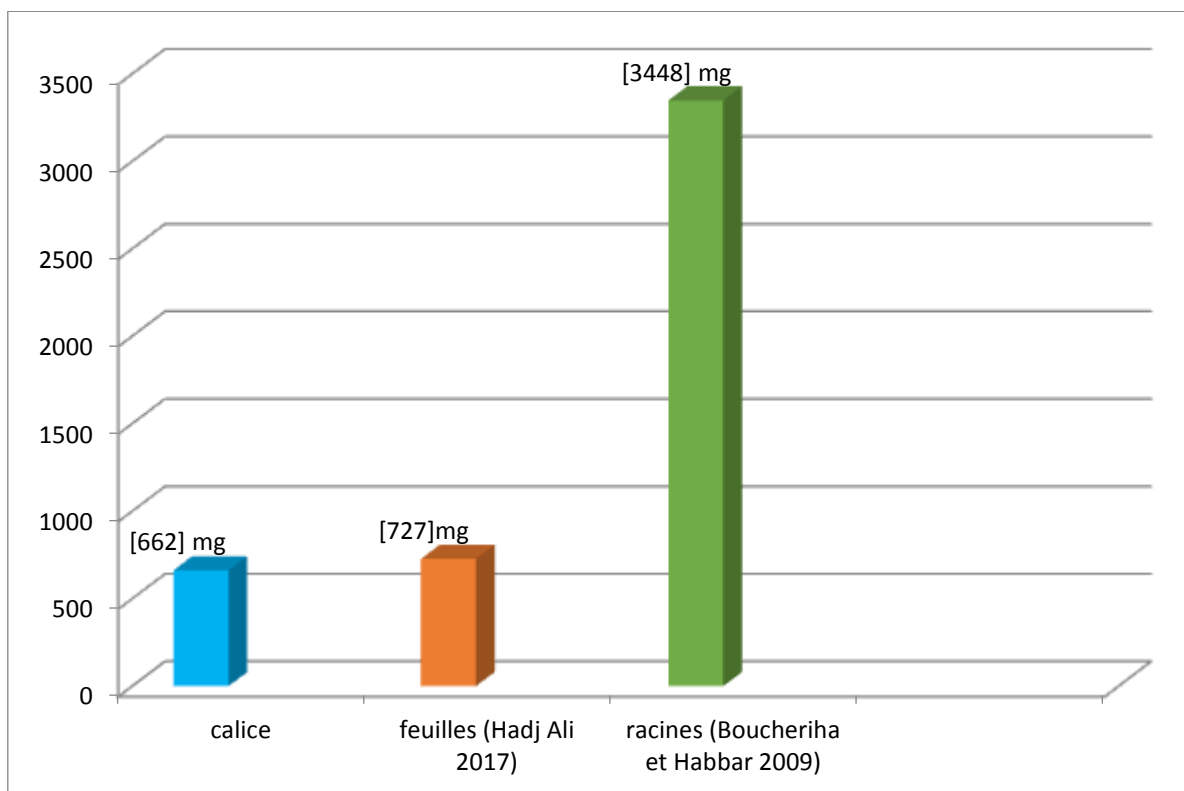
Le contact entre le solvant et la matière végétale à analyser a pour but de libérer les polyphénols présents dans les cellules par rupture du tissu végétale et par diffusion (**Hyouni et al.,2007**).

Dans le but de déterminer la teneur en polyphénols totaux de notre échantillon un dosage biochimique a été effectué au niveau d'extraits méthanoliques des polyphénols.

On a utilisé la méthode de Folin-ciocalteu pour doser les polyphénols pour plusieurs raisons. D'abord c'est une méthode qui satisfait les critères de faisabilité et de reproductibilité, et cette technique est une méthode standardisée. C'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche.

Avant de passer à la détermination de la teneur en composés phénoliques nous avons établi une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme composé de référence.

Après extrapolation des résultats de la DO sur la courbe d'étalonnage, la teneur en composés phénoliques totaux de notre échantillon est estimée à 662mg/100g, la comparaison a été faite avec les résultats de (**Bouchriha et Hirba, 2009**) pour la racine avec une valeur estimée à 3348mg/100g et (**Hadj-Ali 2017**) avec une valeur estimée à 727mg/100g



**Figure n°21** : Comparaison du taux des composés phénoliques du *Carlina acaulis*

La comparaison de nos résultats avec ceux dans la (**Figure n°21**) montre que la teneur en polyphénols totaux du calice de *Carlina acaulis* est faible par rapport aux racines de **Bouchriha et Habbar ,(2009)** et très proche par rapport aux feuilles de **Hadj-Ali ,(2017)**

Selon **Macheix** et ses collaborateurs (**1990**), la concentration des polyphénols est très variable d'une espèce à une autre, régulièrement durant le stockage par les différentes voies de brunissement.

D'après **Macheix** et ses collaborateurs aussi (**2005**) ont montré que la méthode de Folin-Ciocalteu peut présenter des interférences en présence d'autres composés réducteurs que les composés phénoliques comme l'acide ascorbique.

**b) Dosage des tanins :**

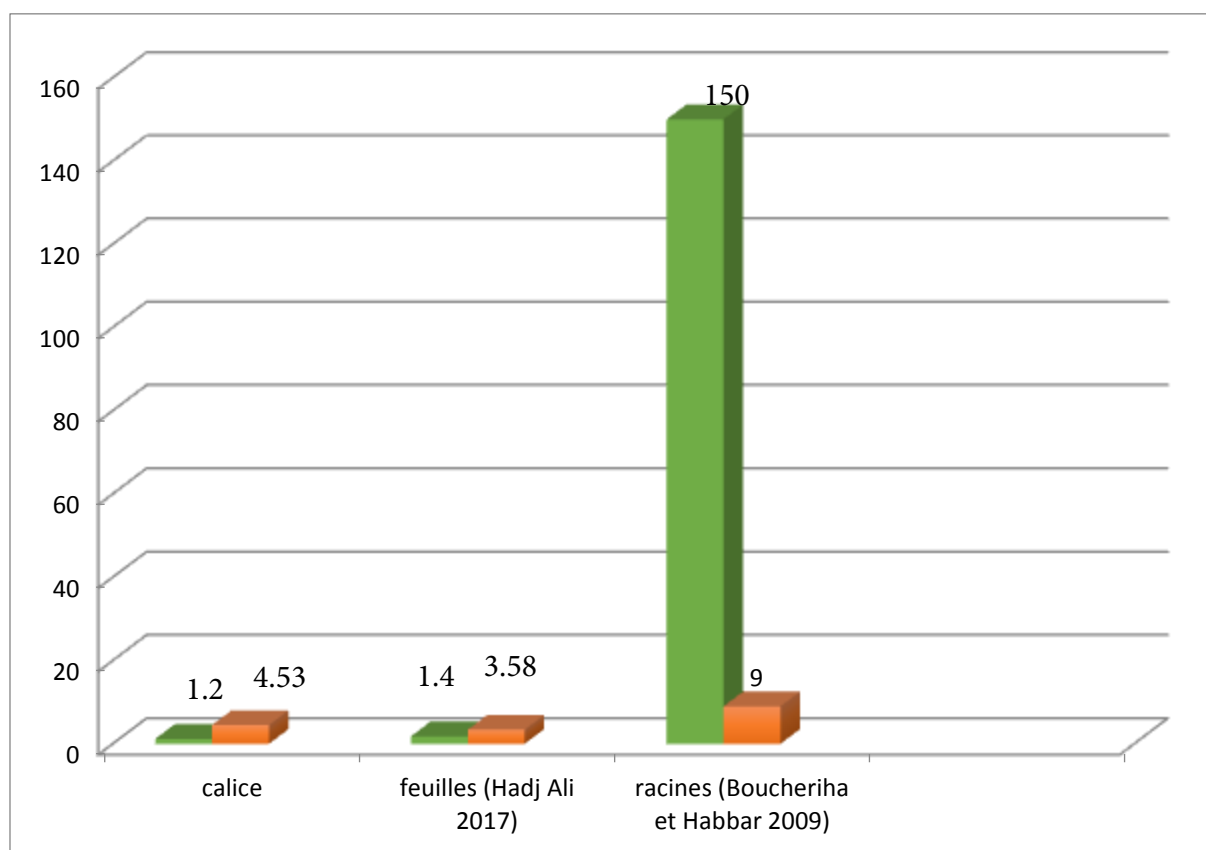
La présence des tanins ont été confirmé par les tests phytochimiques ce qui nous a conduits a faire leurs dosages quantitatifs

On a effectué le dosage des tanins condensés et des tanins hydrolysables du calice de *Carlina acaulis*.

Les tanins condensés sont déterminés à l'aide de vanilline qui est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide.

Les tanins hydrolysables sont déterminés à l'aide de chlorure ferrique.

Le dosage des tanins condensés et des tanins hydrolysables révéle des taux estimés a 1,2mg/100g et 4,53mg/100g respectivement. **(Figure n°22)**



**Figure n°22 :** Comparaison du taux des tanins condensés et hydrolysables de *Carlina acaulis*

Comparé aux résultats de **Bouchriha et Habbar**, (2009) nos résultats sont extrêmement faible ce qui confirme nos résultats lors des tests phytochimiques qui ont



démontré un faible taux des tanins. Mais en parallèle ils concordent avec les résultats de **Hadj-Ali, (2017)**.

Toutefois si les tanins se trouve en concentration élevée, ils peuvent avoir une influence négative sur le processus du transit intestinal et risque de diminuer la valeur nutritive de l'aliment en se complexant avec les protéines (**Hagerman et Butler, 1978**).

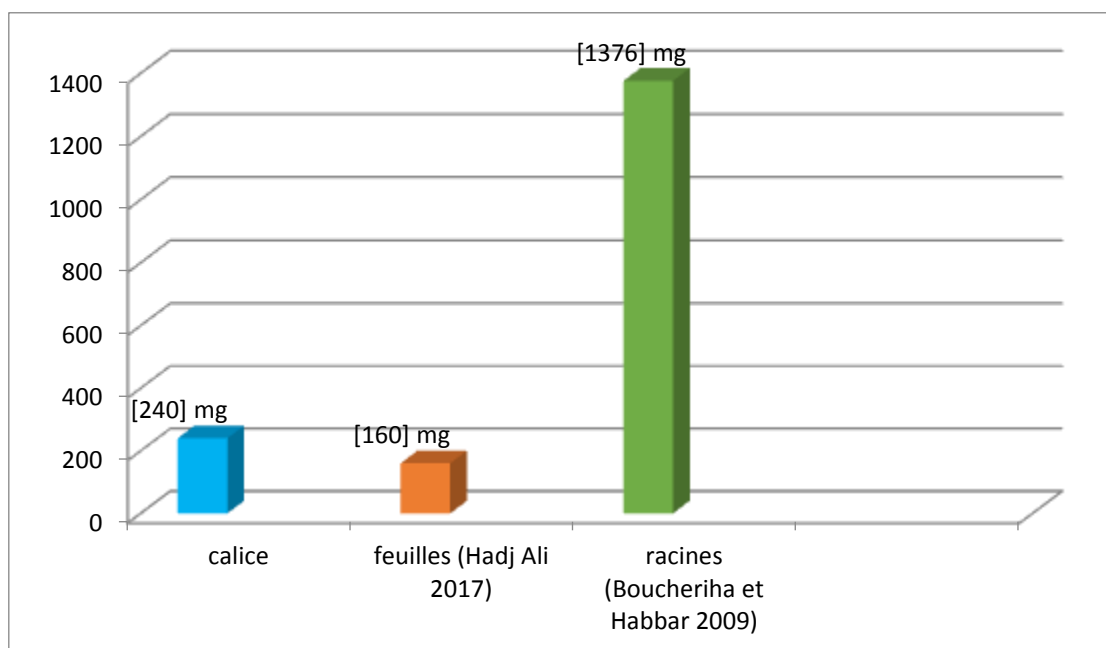
Pour cette raison que le calice est comestible et bien toléré par notre organisme.

### c) Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (**Djeridane et al., (1999)**). La catéchine prise comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes pour les différents extraits qui est exprimée en mg équivalent de catéchine (EQC) par gramme de matière végétale sèche.

Après extrapolation de la DO sur la courbe d'étalonnage des flavonoïdes on a obtenu une valeur estimée a 240mg/100g, ce qui signifie que les flavonoïdes sont les constituants majoritaires des polyphénols au niveau du calice de *Carlina acaulis*.

Notre travail a été comparé avec ceux de **Bouchriha et Habbar, (2009)** et de **Hadj-Ali, (2017)**. (**Figure n°23**).



**Figure n°23 : Comparaison du taux de flavonoïdes**

Nos résultats démontrent que le taux de flavonoïdes présents dans le calice de *Carlina acaulis* estimé à 240mg/100g est plus au moins supérieur que celui des feuilles de **Hadj-Ali**, (2017) estimé à 160mg/100g, mais est largement inférieur des racines de **Bouchriha et Habbar**, (2009) estimé à 1376mg/100g.

On attribue aux flavonoïdes des propriétés d'augmentation de la résistance capillaire et de diminution de la perméabilité membranaire, ainsi que des activités anti-inflammatoire et anti-allergique et antioxydante. Cette dernière a fait l'objet d'un travail de master (**Halfaoui, 2017**) et dont les résultats ont montré que ce sont les flavonoïdes du calice de *Carlina acaulis* qui ont le pouvoir antioxydant non seulement le plus élevé par rapport aux tanins, aux alcaloïdes et aux extraits bruts mais aussi peut être comparable aux différents témoins utilisés (Acide ascorbique, Trolox, Vitamine E..) dans ce genre d'analyses.

Puisque le calice de *Carlina acaulis* est plus riche en flavonoïdes on peut lui attribuer ces bienfaits.

## **CONCLUSION**

---

*Carlina acaulis* est une plante connue pour sa richesse en métabolites secondaire et ces vertus thérapeutiques, elle a longtemps été utilisée pour soigner les éruptions survenant au niveau de la peau et pour traiter le ver solitaire et la peste. Elle contient de l'inuline, des huiles essentielles et des sucres amers.

Les végétaux sont connus pour leur grande richesse en eau, nos résultats confirment que le calice de *Carlina acaulis* a une grande teneur en eau estimée à 84%.

Les résultats des rendements des extraits bruts "méthanol/eau" et "acétone/eau" sont estimés à 20,18% et 18,22% respectivement.

Les tests phytochimiques ont montré la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins au niveau du calice de *Carlina acaulis* L. La présence de ces composants est due à leur rôle important dans la plante, ce sont des produits considérés comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux.

Concernant les résultats de l'extraction des métabolites secondaires les rendements ont été estimés à : 13,88% pour les flavonoïdes, 3% pour les tanins et 0,88% pour les alcaloïdes.

Le dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux à l'aide de la méthode du Folin-Ciocalteu a révélé une teneur estimée à 662mg équivalent d'acide gallique /100g de matière sèche, pour le dosage des tanins condensés à l'aide du test de la vanilline avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a révélé une faible teneur estimée à 1,2mg /100g et les tanins hydrolysables à l'aide de l'ajout de chlorure ferrique a révélé une teneur de 4,5mg/100g. Enfin pour les flavonoïdes à l'aide de la méthode de trichlorure d'aluminium a révélé une teneur estimée à 240mg/100g ce qui démontre que les flavonoïdes sont les métabolites les plus présents dans le calice de *Carlina acaulis*.

La composition phytochimique du calice de *Carlina acaulis* qui est comestible s'est révélée intéressante par sa composition en métabolites secondaires qui ont un rôle bénéfique pour la santé humaine.

En perspective il serait préférable d'approfondir les études et valoriser notre plante qui est riche en composés et ce en;

- Travailler avec l'extrait acetone/eau
- Faire le dosage des tanins totaux avec le polyvinylepolypyrotidine(PVPP)
- Doser les metabolites primaire pour connaitre les nutriments presents dans le calice
- Mettre en evidence son pouvoir thérapeutique

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

**Alibert G, Ranjeva R. et Boudet M.A** (1997).organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. *Physiol .Veg*,15,279-301

**Audigie Cl., Dupont G.** (1982). Principes des méthodes d'analyses biochimiques. Ed. Dom. Paris, 4-7.

**Benmenni D,(2017)**.contribution a l'évaluation du pouvoir antioxydant du DPPH de quelques métabolites secondaires(tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) de la racine de *Carlina acaulis* (Tefgha) de la région de Tlemcen ( mémoire)

**Bernard Kuballa, (2001)**.Université de Strasbourg. Faculté de Pharmacie Diapositive (*film : 93 - photo 9) numérisée en format tiff (cd 4 -j.31)*.

**Berger .G (2010)**. *Carline acaule(Carlina acaulis )*. Conservation nature

**Berthod A, Billardello B et Geoffroy S. (1999)**. Polyphenols in countercurrent chromatography. An exemplr of large scale separational.analysis.EDP sciences, Wiley-VCH/; 27, 750-757.

**Blahova B.,Brands Teterova E.,Fabulova;** (2004). *Isolation and détermination of phénolique.27 (1), pp3 1.48*.

**Bouchriha A. et Habbar A. (2009)** : Evaluation du pouvoir antioxydant des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes de *Carlina acaulis* (Tafgha) et mesembryanthemum crystallinum (Fravh n'da) de la région de Tlemcen. Mémoire d'Ingéniorat d'état en Biologie. *Université de Tlemcen*.

**Bonner(1974)** : Thermodynamic properties of some concentrated plumer solutions,Vol 12, pp 51-73

**Brouillard R., Figueiredo P.,Elhabiri M et Dangles O.(1997)**. Molecular interactions of phenolic compounds in relation to the color of fruits and vegetables.in: phytochemistry of fruit and vegetables proceedings og the phytochemical society of eurone. Oxford.UK:clarendon press,pp 30-49

**Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.).Lavoisier Techniques & Documentation. Paris, 369-388.

**Chenni, M.** (2010).Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : Bryoniadioica Jacq. Mémoire présenté Pour l'obtention du Diplôme de Magister. UniversitéD'oran Es-Senia.2010.Pp 2\_50 (40).

**Chalchat JC, (1996)**. Study of anti-dermatophyte effect of ten herbal methanolic extract J *Kerman Med Univ Sci, 3 (3) (1996), pp. 115–122*

**Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G.** (2000). Natural products (Secondary metabolites). *Biochemesiry and Molecular Biology of Plants*, 24, 1250-1251.

**Cowan**, (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinicalmicrobioloyreviews.*, 12(4): 564-570.

**Dauget J.C., Foucher J.P.** (1982). Les flavonoïdes de *Arbutus unedo* L.(Ericacées). *Plantes médicinales et phytothérapie*, 16 (3), 185-191.

**Dewick,P M .** (1998). The biosynthethis of shikimates métabolites. *Nat.Prod.Rep.*, 17-58

**Djeridan A., Yousfi M., Nedjmi D.,Boutassouna D.,Stoker P.,Vidal N.,** (2006). Antioxydant activity of some medical plants extracts containing phenolic compunds foods chemistry; 97; 654-660

**Dubois G.E, Grosby GA et Saffron P.** (1997). Non nutritive sweeteners: taste structure relationships with for some new simplehydrochalcones.science.195,397-399

**Fifra F,** (2017). Contribution a l'évaluation du pouvoir antioxydant du DPPH de quelques métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) des feuilles de *Carlina acaulis* (Tefgha) de la région de Tlemcen (mémoire)

**Fleuiriet A et Macheix J.J .**(1997). Effet des blessures dur les composés phénoliques des fruits de tomates cerise (*lycopersicon edcultentum* var *cerasiforme*).*phys.veg*,15, 239-250

**Gavot A,** (2009). Support des cours sur les métabolites secondaires. université de Rennes 1-L2. U2 PHR

**Hadj-Ali ( 2017) .** Contribution à l'étude phytochimique des métabolites *secondaires* (tanin, flavonoïdes et alcaloïdes) des feuilles de *Carlina acaulis* L. (Tafgha) de la région de Tlemcen ( mémoire )

**Hagerman A.E ET Butler L.G** (1978). Protein precipitation method for the quantitative detremination of tannins.*J.Agric.Food.Chem.*,26,809-812

**Hale A.L.** (2003). Screening potato genotype for antioxydant activity,identification of the responsible compounds and differnciating russet norkotah strains using aflp and microsatellite marker analysis.office of graduate of texas A et M university genetics,p260

**Halfaoui N.I.** (2017). contribution a l'évaluation du pouvoir antioxydant du DPPH de quelques metabolites secondaires(tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) du calice de *Carlina acaulis* (Tefgha) de la région de Tlemcen ( mémoire)

**Harborne J.B.** (1988): The flavonoids, Advances in research since 1980. Chapman & Hall. London.



- Hayouni, E .A.,Abedrabba, M . ,Bouix, M .** (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercuscoccifera* L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts . *Food Chem*; 10 : 10 – 16
- Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L. ,And Debraux, G. (1961).** Ressources médicinales de la flore Française Tome 1, *Paris VIème, Vigot Frères, Editeurs,1961.*
- Kevin Roth, Michael Wink,(2014).** University of Heidelberg,Heidelberg, Germany.
- Khenafou K ( 2017 ) .** Contribution à l'étude phytochimique des métabolites *secondaires (tanin, flavonoïdes et alcaloïdes) des racines de Carlina acaulis L. (Tafgha) de la région de Tlemcen ( mémoire )*
- Krief . S (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal,surveillance sanitaire et observation de l'alimentation chez les chimpanzés en Ouganda. *Museum national d'histoire naturelle.* P17
- Lebreton, P. (1982).** Tanins ou alcaloïdes : deux tactiques de dissuasion des herbivores. *Revue d'Écologie (Terre et Vie),* 52, 221-238.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis,* 47(1-4), 119-125.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P. (2005).** Les composés phénoliques dans la plante : Structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: *Les polyphénols en agroalimentaire.* Cheynier V., Sarni-Manchado P. Ed. Tec. & Doc. Lavoisier, Paris.
- Macheix J.J.,Fleuriet A.,Billot.J. (1990).**Fruit phenolics,CRC Press,Boca Raton,p378.
- Meusel.H, Kästner.F , (1990).** Lebensgeschichte der Gold-undSilberdisteln, Monographie dermediterran-mitteleuropäischen Compositen-Gattung *Carlina, Band I, Springer-Verlag, Wien,New York.*
- Milcent R., Chau F.,( 2003).** -114 *Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed.Francois chau EDP. Paris. France. 846p.*
- Mole S., Waterman P.G. (1987).** Tannic acid proteolic enzymes: enzyme inhibition substrat derivation. *Phytochemistry,* 26, 99-102.
- Nitsch J.P et Nitsch C .(1961).** Synergistes naturels des auxines et des giberllines. *Bull.soc.fr.,26,2237-2240*
- Pellay M, (2014).** Magazine “se connaitre”.
- Poiret D et Webbies (2017).** Carline. Mr. plante et plantes medicinales

**Price, M., Van-scoyoc. S., Butter, L. (1978):** A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem*, 26: 1214-1218.

**Sun J., Chu Y.F., Wu X., Liu R.H. (2002).** Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J Agric Food Chem*, **6;50**(23), 6910-6916.

**Swain T., Hillis W.E. (1956).** The phenolics constituents of prunus domestica -1- the quantitative analysis of phenolics constituents. *J of the Sei. of Food and Agric.*, 10,13.

**Trease E; Evans W.C.(1987).** Pharmacognosy. Billiare. Tindall. Londone 13 th Edn; pp : 61-62.

**Wilson, D.E., Reeder, D.M. (1993).** Mammals species of the world. Smithsonian Institut Press, Washington.

## **ANNEXES**

---

**Préparation des réactifs :**

**-Réactifs de Mayer :**

Dissoudre 1,358g de HgCl<sub>2</sub> dans 60ml d'eau distillée ;

Dissoudre 5g de KI dans 10 ml d'eau distillée ;

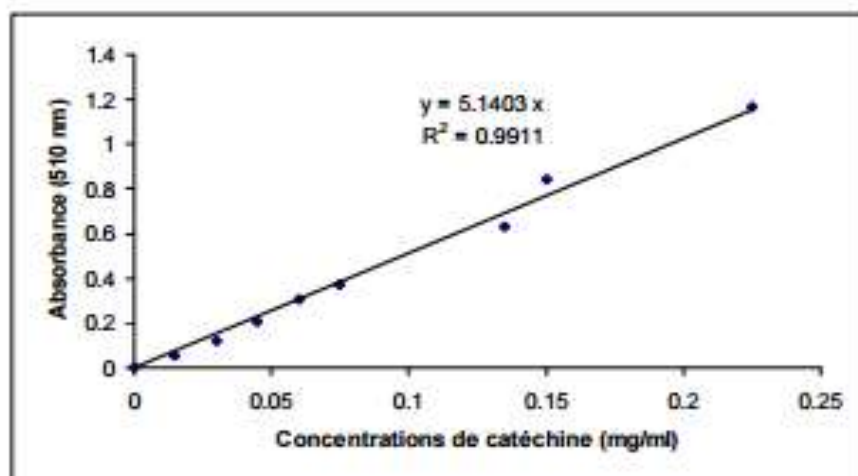
Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100ml d'eau distillée.

**-Réactifs de wagner :**

Dissoudre 2g de KI et 1,27 g de I<sub>2</sub> dans 75 ml d'eau distillée ;

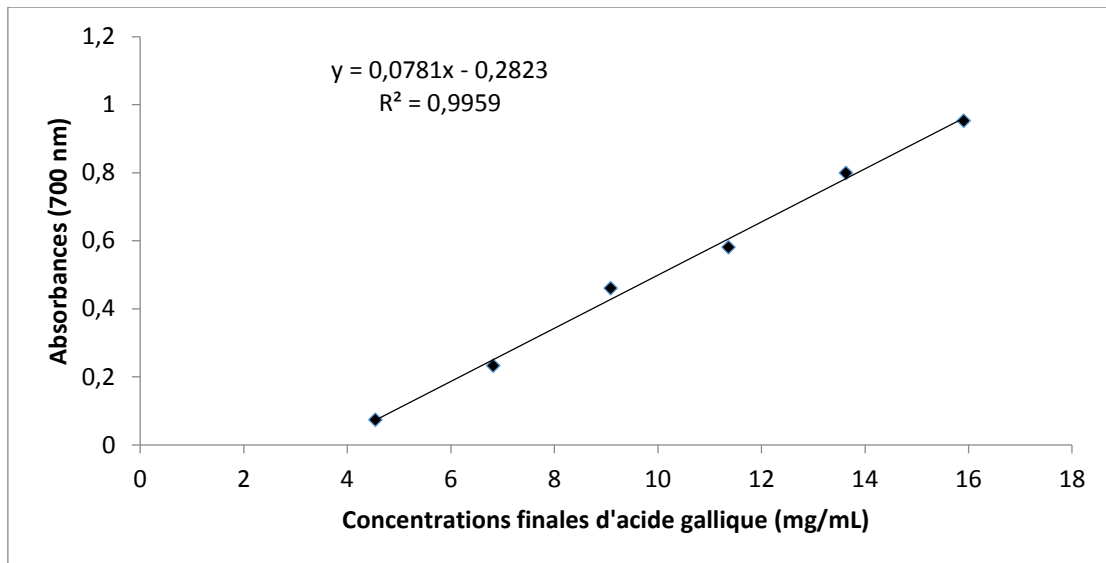
Ajuster le volume total à 100 ml d'eau distillée.

**Courbe d'étalonnage de la catéchine:**



**Courbe d'étalonnage de la catéchine des flavonoïdes**

**Courbe d'etallonage de l'acide gallique:**



**Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

## Résumé

Le matériel végétal de notre travail c'est le calice de *Carlina acaulis* L récolté dans la région de Tlemcen. Le rendement des extraits bruts des solvants méthanol et acétone du calice de *Carlina acaulis* ont révélés les pourcentages suivants : 20,18% et 18,22% respectivement, pour les rendements des flavonoïdes, tanins et alcaloïdes au niveau du calice sont estimés a 13,88% ,3% et 0,88% respectivement. Le dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux par la méthode su Folin-Ciocalteu est estimé a 662mg/100g suivie par les tanins condensés et hydrolysable estimés tout deux a 1,2mg/100g et 4,5mg/100g respectivement, en dernier le dosage des flavonoïdes réalisé avec la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) estimé a 240mg/100g. ce qui montre que le calice de *Carlina acaulis* est plus riche en flavonoïdes.

**Mots clés :** *Carlina acaulis* , calice , tanins, flavonoïdes ,alcaloïdes , Tlemcen

## Summary :

The plant material of our work it is the chalice of *Carlinaacaulis* L collected in the region of Tlemcen. The yield on the raw extracts of solvents methanol and acetone of the chalice of *Carlinaacaulis* revealed the following percentages: 20,18 % and 18,22 % respectively, for the yields on flavonoids, tannins and alkaloids at the level of the chalice are estimated13,88 %, 3 % and 0,88 % respectively. The spectrophotometricdetermination total polyphenols by the method known Folin-Ciocalteu is estimatedhas 662mg / 100g followed by the condensed tannins and everything two has 1,2mg / 100g and 4,5mg / 100g respectively, lastly the dosage of flavonoids realized with the method of the trichloride of aluminium estimated( AlCl<sub>3</sub>) has 240mg / 100g. What shows that that the chalice of *Carlinaacaulis* is richer in flavonoids.

**Keywords :** *Carlina acaulis*, chalice, tannins, flavonoids , alkaloids, Tlemcen

المواد النباتية من عملنا هو كأس من كارلينا اكوئيس للحصاد في منطقة تلمسان. العائد من استخراج النفط الخام كارلينا كأس كشفت النسب المئوية التالية: 20.18% و 18.22% اcaulis من الميثانول والمذيبات والأسيتون على التوالي، والمحاصيل مركبات الفلافونويد والعفص وقلويدات مستوى الكأس وتشير التقديرات إلى 13، 88% و 3% و 0.88% على التوالي. تحديد إجمالي البوليفينول من طريقة فولين-سيوكهلتو يعرف قدر على Gتليها مكثف وقدرت العفص كل سنتين إلى 1.2 ملغ / 100 غ و 4.5 ملغ / 100G 100 / 662mg / 100G / 240 mg / 100G (AlCl<sub>3</sub>) التوالي، إجراء فحص آخر فلافونيدات مع أسلوب من الألومنيوم ثلاثي كلوريد أكثر ثراء في فلافونيدات acaulis مما يدل على ان الكأس من كارلينا 100G.

كلمات البحث: كارلينا اكوئيس، الكأس، العفص، الفلافونويد، قلويدات، تلمسان