

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique  
Université Abou-Bekr Belkaïd de Tlemcen  
Faculté de Science de la Nature et la Vie et de Terre et l'Univers  
Département de Biologie  
Laboratoire des Produits Naturels  
Mémoire de fin d'étude pour l'obtention de diplôme de Master en  
Biologie  
Option : Science des Aliments  
Thème :

**Contribution à l'étude phytochimique des  
métabolites secondaires (*tanins, flavonoïdes et  
alcaloïdes*) des feuilles de *Carlina acaulis L.*  
(*Tafgha*) de la région de Tlemcen.**

Présentée par :

M<sup>elle</sup> : Hadjali imane

Soutenu en juin 2017 devant le jury composé de:

Président : Dr. BENAMMAR C.E : Maître de Conférence classe A

Examineur: Dr. BEGHADAD M.: Maître de Conférence classe A

Promotrice : Dr. SOUALEM Z : Maître de Conférence classe B.

# Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce modeste mémoire.

Mes remerciement les plus vifs s'adresse à ma promotrice **M<sup>me</sup> SOUALEM ZOUBIDA**, maitre de conférence à la faculté de SNV/STU de Tlemcen, qui m'à honoré en acceptant de diriger ce travail, je lui exprime mes sentiments de reconnaissances les plus sincères pour sa précieuse aide et de m'avoir accordé sa confiance et de ma guider dans mon travail du début jusqu'à la fin.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et mon profond respect à **Mr BEGHADAD CHOUKRI**, maitre de conférence pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce travail et à son aide et ses encouragements et ses conseils en acceptant de Juger ce travaille en qualité de membre de jury.

Je tiens à remercier aussi **Mr BENAMMAR Chahid El-Hocine** : Maître de Conférences classe A (M.C.A.), pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury qu'il trouve ici mes sincères impressions de gratitude et de respect.

J'adresse mes vifs remerciements Aux personnels du laboratoire de Produits Naturels pour leur aide, en particulier **Mme MOUTTASE** pour son aide, ses conseils et ses encouragement ainsi l'ingénieur de laboratoire **Mme FATIMA** et à tous les membres du laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA) de l'université de Tlemcen.

Je ne saurais oublier de remercier mes amies : FIFRA FATIMA , BENMENNI DOUNIA, KHENAFOU KHALIL, DJEFFEL HANA, HALFAOUI IMENE, et toutes les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

# Dédicaces

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes qui se sont sacrifiées pour que je grandisse avec un savoir faire et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras et qui ont fais de moi ce que je suis aujourd'hui sans lesquels je n'y serais jamais parvenue et qui je ne remercierai jamais assez :

Mes très chers parents

Je dédie aussi ce Modeste réalisation à :

Ma grande mère que dieu la garde pour nous

Mes très chères frères : Yassine , Rachid et sa femme Imane pour  
ses soutiens et leur encouragement

Mon petit neveu Wassim Karam pour la joie qu'il nous procure ;  
je t'aime de tout mon cœur

Mes oncles : Abdelkader, Mohammed et Yahia.

Mes tantes : Zakia et Khadija

Mes cousins : Imad, Youcef, Jaloul, Karim

Mes cousines : Farida, Rania, Abir, Souhila, Fedwa, Dounia

Mes amies : Zahra, Chahra, Fatima

## ملخص

كان للنباتات الطبية دائما مكانة هامة في ترسانة العلاج الإنسانية، في هذه المساهمة نحن مهتمون بدراسة الكيمياء النباتية للمركبات الثانوية مثل المركبات الفينولية، الفلافونويدات، التانينات و القلويات من محطة في منطقة تلمسان لأوراق كارلينا أكوليس، والتي تنتمي إلى عائلة أستراسيا و المعروفة بإسم «تافغا».

هذا النبات معروف عن غناه بالماء في الجزء الجوي و الذي يقدر ب %80,54 و أظهرت دراسة الكيمياء النباتية أعلى كمية من الفلافونويدات في حين أن التانينات و القلويات أقل كمية من العناصر السابقة. و فيما يتعلق بأداء مردودية الجزء الجوي لأوراق كارلينا أكوليس للمذيبات الميثانول و الأسيتون تظهر نسب %23,96 و %18,48 على التوالي، أما العائد من الفلافونويدات و التانينات و القلويات في هذه النبتة يقدر ب %13,82, %3,59, %17,29 على التوالي.

قدرت جرعة العزم الطيفي من مادة الفينولات الكلية لأوراق هذه النبتة بطريقة قياس الألوان عن طريق كاشف الفولانسيوكالتو , أظهرت نتائج أن الاستخراج قدر ب 13,51 مغ/غ تليها نسبة التانينات المكثف و المحلل على التوالي : 0,0018 مغ/غ و 0,034 مغ/غ , مع أن تركيز الفلافونويدات بطريقة قدرت بمعدل 0,16 مغ/غ

**كلمات البحث:** كارلينا أكوليس، المركبات الثانوية، منطقة تلمسان

## Résumé

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Dans cette contribution, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique des métabolites secondaires telque les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les alcaloïdes des feuilles de *Carlina acaulis. L.* de la région de Tlemcen, qui appartient à la famille des Astéracées et connue sous le nom vernaculaire de « Tafgha ».

Cette plante est connue par sa richesse en eau qui est estimée à 80,54% dans sa partie aérienne, l'étude phytochimique a montré une forte quantité en flavonoïdes contrairement aux tanins et alcaloïdes qui présentent des quantités plus faible que les précédentes. Le rendement de l'extrait brut de la partie aérienne (feuille) de *Carlina acaulis.L* par les deux solvants Méthanol/Acétone révèle des pourcentages de 23,96% et 18,48% respectivement, or le rendement de flavonoïde, tannins et alcaloïde sont estimés à 13,82% - 3,59% et 17,29% respectivement.

Le dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait enregistre 13,51 mg éq AG/g MS , suivie par la teneur de tanin condensé et hydrolysable respectivement à 0,0018 mg/g et 0,034 mg/g , Tandis que le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), les résultats montrent que ce dernier présente la teneur la plus faible à savoir une moyenne de 0,16 mg/g.

**Mots clés :** *Carlina acaulis.L.*, les métabolites secondaires, le dosage des polyphénols.

## Abstract

Medicinal plants have always had an important place in the therapeutic arsenal of humanity. In this contribution we are interested in the phytochemical study of secondary metabolites such as phenolic compounds, flavonoids, tannins and alkaloids of Leaves of *Carlina aculis.L* of the region of Tlemcen, which belong to the family of Asteraceae and known under the name "Tafgha".

This plant is known for its richness of water which is estimated 80.54% in its aerial part, the phytochemical study showed a large amount of flavonoids, on the other hand, to the tannins and alkaloids which are less important than the preceding. the crude extract of the aerial part (sheet) of *Carlina acaulis.L* by the two solvents Methanol / Acetone Revealed 23.96% and 18.48%, respectively, and the yield of flavonoide, tannis and alkaloids in this plant, estimated at 13.82% - 3.59% and 17.29%, respectively.

The spectrophotometric determination of the total polyphenols for the extract of our biological material was estimated by the Folin-Ciocalteu colorimetric method, the results obtained show that the extract registers 13.51 mg éqAG / g MS; Followed by the content of condensed tannin and hydrolyzable respectively 0.0018 mg / g and 0.034 mg / g; while the dosage of flavonoids was performed according to the mettad of aluminum trichloride (AlCl<sub>3</sub>), the results show that it is the flowert pevel ie an average of 0.16 mg / g.

**Key words:** *Carlina acaulis.L*, secondary metabolite, Tlemcen region.

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure N°1:</b> La répartition de la Carline en Europe.....	3
<b>Figure N°2:</b> La répartition de la Carline en Tlemcen.....	4
<b>Figure N° 3:</b> Oxyde de <i>carlina</i> .....	6
<b>Figure N°4:</b> Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate.....	12
<b>Figure N°5 :</b> Classification des polyphénols.....	14
<b>Figure N°6:</b> Structure des flavonoïdes enchainement C6-C3-C6.....	16
<b>Figure N°7 :</b> Voie de biosynthèse des flavonoïdes .....	19
<b>Figure N°8 :</b> Structures fondamentales des tannins hydrolysables.....	22
<b>Figure N°9 :</b> Les molécules monomères des tanins condensés.....	24
<b>Figure N°10 :</b> Produit végétal épuisé avec 3 solvants différents.....	30
<b>Figure N° 11:</b> Diagramme des tests phytochimiques.....	31
<b>Figure N°12 :</b> Taux de matière sèche et la teneur en eau des feuilles de <i>Carlina acaulis.L</i> .....	38
<b>Figure N°13 :</b> Teneur en eau de quelques plantes sauvages.....	39
<b>Figure N°14:</b> Rendement des extraits bruts par le Méthanol et Acétone.....	41
<b>Figure N°15 :</b> Rendements des flavonoïdes et tanins et alcaloïdes des feuilles de <i>carlina acaulis.L</i> .....	42
<b>Figure N°16:</b> Rendement massique des flavonoïdes chez quelques plantes sauvages.....	43
<b>Figure N°17:</b> Rendement massique des tanins chez quelques plantes sauvages.....	43
<b>Figure N° 18:</b> Rendement massique des alcaloïdes chez quelques plantes sauvages.....	44
<b>Figure N°19 :</b> Teneur en phénol totaux des feuilles de <i>Carlina acaulis.L</i> et d'autres plantes.....	45
<b>Figure N°20 :</b> Teneur en tanins condensé et tanins hydrolysables des feuilles de <i>Carlina aculis.L</i> .....	46
<b>Figure N°21 :</b> Teneur en Flavonoïdes des feuilles et des racines de <i>Carlina aculis.L</i> .....	47

## LISTE DES PHOTOS

<b>Photo N° 1:</b> <i>Carlina acaulis.L</i> avant la récolte .....	7
<b>Photo N° 2:</b> <i>Carlina acaulis.L</i> après la récolte.....	7
<b>Photo N°3:</b> Fleur de <i>Carlina acaulis.L</i> .....	7
<b>Photo N°4:</b> <i>Carlina acaulis.L</i> .....	26
<b>Photo N°5 :</b> <i>Carlina acaulis.L</i> après séchage (feuille) .....	27
<b>Photo N°6 :</b> La poudre fine de <i>Carlina acaulis.L</i> .....	27

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau N° 1:</b> Classification botanique de <i>Carlina acaulis.L</i> .....	5
<b>Tableau N°2:</b> Travaux antérieurs de <i>Carlina acaulis.L</i> .....	9
<b>Tableau N°3:</b> Les principales classes des composés phénoliques .....	13
<b>Tableau N°4:</b> Classification des flavonoïdes .....	18
<b>Tableau N°5 :</b> Résultats des tests phytochimiques des feuilles de <i>Carlina acaulis.L</i> .....	40



## LISTE DES ABBREVIATIONS

**HCL**: Acide chloridrique

**AcOEt** : l'acétate d'éthyle

**CaCO<sub>3</sub>**: Le carbonate de calcium

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxide d'ammonium

**MgSO<sub>4</sub>** : Le sulfate de magnésium

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Le carbonate de sodium

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique

**ALCL<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**Rd** : Rendement

**DO** : Densité optique

**H %** : Taux d'humidité

**MS** : Matière sèche

**COA** : CoenzymeA

## LISTE DES UNITES

*ml*: Milliliter.

*l* : Litre

*mg*: Milligramme.

*g*: Gramme

*min*: Minute.

**%**: Pourcentage

*H*: Heure

*V*: Volume

*T°*: Temperature

*C*: Concentration

*M* : Masse

*P* : Poids.

# Table des matières

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

## Partie bibliographique

### CHAPITRE 1 : Présentation de *Carlina acaulis.L*

1. Présentation de la plante étudiée.....	03
2. Origine et répartition géographique.....	03
2.1 Origine.....	03
2.2. Répartition géographique.....	03
3. Taxonomie et aspect botanique de <i>carlina acaulis.L</i> .....	04
3.1 Nom vernaculaire.....	04
3.2. Nomenclature.....	05
4. Classification.....	05
5. Composition chimique.....	05
6. Description botanique de <i>carlina acaulis.L</i> .....	06
7. L'écologie et particularité édaphique du <i>carlina acaulis.L</i> .....	08
8. Propriétés thérapeutique et médicinales .....	08
9. Utilisation traditionnelle.....	08
10. Travaux antérieurs.....	08

### CHAPITRE 2 : métabolites secondaires

1. Introduction.....	12
2. Les métabolites secondaires.....	12
2.1. Les composés phénoliques.....	12
2.1.1 Généralités.....	12
2.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	12
2.2.3. Les principales classes des composés phénoliques.....	14
2.2.4. Propriétés biologiques des composés phénoliques.....	15
2.1.5. Rôles et intérêts des composés phénoliques.....	16
2.2. Les flavonoïdes.....	16

2.2.1	Généralité.....	16
2.2.2.	Structure chimique et classification des flavonoides.....	17
2.2.3.	La biosynthèse des flavonoides.....	18
2.2.4.	Localisation et distribution des flavonoïdes.....	20
2.2.5.	Biodisponibilité des flavonoïdes.....	20
2.2.6.	Propriétés biologique des flavonoïdes.....	21
2.3.	Les tanins.....	22
2.3.1.	Tanins hydrolysables.....	22
2.3.2.	Tanins condensés.....	23
2.3.3.	Propriété pharmacologique des tanins.....	24
2.4.	Les alcaloïdes.....	24
2.4.1.	Les alcaloïdes vrais.....	24
2.4.2.	Les pseudo-alcaloïdes.....	24
2.4.3.	Les proto -alcaloïdes.....	25
2.4.4.	Les Propriétés biologique des alcaloïdes.....	25

## **Partie expérimentales**

### **CHAPITRE 3 : Matériel et méthodes**

1.	Collecte du matériel végétal.....	26
2.	Détermination du taux de matière sèche.....	28
3.	Tests photochimiques.....	29
3.1.	Alcaloïdes.....	32
3.2.	Flavonoïdes.....	32
3.3.	Tanins.....	32
4.	Extraction sélectives.....	32
4.1.	Extraction brut.....	32
4.2.	Extraction des tanins.....	33
4.3.	Extraction des flavonoïdes.....	33
2.3.4.	Extraction des alcaloïdes.....	34
2.4.	Dosage.....	35
2.4.1.	Dosage des phénols totaux.....	35
2.4.2.	Dosage des tanins condensés.....	35
2.4.3.	Dosage des tanins hydrolysables.....	36
2.4.4.	Dosage des flavonoïdes.....	37

## **CHAPITRE 4 : Résultats et discussion**

1. Détermination du taux de matière sèche.....	38
2. Tests photochimiques.....	39
3. Extraction sélectives.....	41
3.1. Rendement de l'extrait brut.....	41
3.2 Rendement des extraits sélectif des flavonoïdes, tanins et alcaloïdes.....	42
4. Dosage.....	45
4.1. Le dosage des phénols totaux.....	45
4.2. Le dosage des tanins condensé et tanins hydrolysables.....	46
4.3. Le dosage des flavonoïdes.....	47
<b>Conclusion Générale.....</b>	<b>48</b>

## **Références Bibliographiques**

## **Annexe**



# Introduction

# Introduction

---

Depuis longtemps, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Ni le hasard, ni la religion et ni la superstition qui a guidé la médecine traditionnelle à employer une plante plutôt qu'une autre. Certainement, c'est l'expérience où les gens apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes (**Iserin, 2001**).

Ces dernières années, les substances naturelles connaissent un intérêt croissant dans de nombreux domaines. En effet, avec un public de plus en plus réticent à consommer des produits contenant des molécules issus de synthèse chimique, un certain nombre de secteurs industriels (cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire) se tournent de nouveau vers l'incorporation de ces molécules d'origine naturelle, aux caractéristiques chimiques et biologiques originales, dans leurs formations. La valorisation de ces principes actifs d'origine naturelle représente donc un potentiel économique énorme (**Thomas, 2011**).

En effet les substances naturelles sont douées non seulement de qualités culinaires, mais aussi de vertus médicinales variées grâce aux différents principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, tanins et saponosides. Elle constitue un réservoir inépuisable de remèdes populaire des plus efficaces et une source naturelle de médicaments les plus usités actuellement (**Beloud, 1998**).

Les plantes médicinales sont douées de propriétés thérapeutiques dues à ses métabolites secondaires (principes actifs) comme les composés phénoliques, les alcaloïdes, les huiles essentielles... Notre pays possède une panoplie de plantes sauvages qui sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans cette perspective nous avons choisi cette plante sauvage de la région de Tlemcen : *Carlina acaulis.L* appartenant à la famille des astéracées, largement utilisée dans la médecine traditionnelle dans la région de Tlemcen afin de soigner plusieurs maladies comme le rhume, la fièvre, les inflammations pulmonaires et de l'appareil génito-urinaire, ainsi que contre les maux de dents. (**Schauenberg et al., 1977**)

Ce travail rentre dans le programme de recherche de notre laboratoire (Produits Naturels). C'est un axe qui s'intéresse à la valorisation des plantes à caractères médicinales. Nous nous sommes intéressés à caractériser qualitativement et quantitativement quelques métabolites bioactifs des feuilles de *Carlina acaulis.L*, dont les composés phénoliques et les alcaloïdes, restent des familles importantes dans la classification des métabolites secondaires.

# Introduction

---

Notre travail comprend deux parties :

Dans la première partie et en premier chapitre de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude bibliographique consacrée à une présentation de l'espèce étudiée :

*Carlina acaulis.L.*, englobant les principales informations sur la plante, une description botanique, classification et utilisation de cette plante.

Dans le deuxième chapitre, nous rappelons la description des métabolites secondaire, qui englobent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et aussi les alcaloïdes, leur biosynthèse et quelques activités biologiques attribués à différentes familles de ces composés.

La deuxième partie décrit la partie expérimentale, Le troisième chapitre est consacré aux différentes techniques réalisées au laboratoire tels que les tests phytochimiques, les extractions sélectives des flavonoïdes, tanins et alcaloïdes, et le dosage des métabolites secondaires(les composé phénolique, les flavonoïdes, les tanins) des feuilles de *Carlina acaulis.L.*

Dans le quatrième chapitre : comporte l'interprétation et la discussion de nos résultats obtenus.

Enfin nous terminons notre étude par une conclusion et des perspectives.

# CHAPITRE 1

*Carlina acaulis*.L



1. Présentation de *Carlina acaulis. L* (Tafgha)

*Carlina acaulis. L* est une plante médicinale appartient à la famille des astéracées, l’un des plus vaste famille de phanérogame avec 1530 genre et plus de 23000 espèces c’est aussi l’une des plantes les plus perfectionnés (Michel,2010). Cette plante vivace pousse sur les versants sec et ensoleillés, les terrain herbeux et dans les bois claires et sec, la tige et généralement atrophiée, dont les feuilles disposées en rosette basale, sont épineuses, rigide et de couleur vert claire, les têtes sont grands et mesurant jusqu’à 15 centimètre de diamètre, les bractées extérieur sont en forme de feuilles ,celle de centre sont de couleur brune et dentée, les bractées intérieur sont linéaires, pointues, blanche et brillantes sur l’endroit et jaunâtre sur l’envers. Lorsque le temps est ensoleillée, elles sont disposées en forme d’étiole, les fleurs sont blanche ou rose, se développent dans le réceptacle charnue de l’inflorescence. Les akènes mures mesurant 5 millimètre de long, et l’aigrette est composé de poils plumeux (Eliska et al.,2013).

2. Origine et répartition géographique

2.1. Origine

*Carlina acaulis.L* est une plante commune en Europe et surtout en France, attention elle fait partie des espèces protégées dans ce pays .Elle préfère les prairies et les pâturages et peut pousser naturellement jusqu’à près de 2000 mètres d’altitude (Harborne et al.,2008).

2.2. Répartition géographique

L’aire de répartition de la carline acaule. Se limite essentiellement aux massifs montagneux d’Europe occidentale et centrale (alpes, Pyrénées, jura, Vosges, Apennins, Balkans). On trouve donc la carline acaule en Espagne, en Andorre, en France, en Italie, en suisse et en Allemagne (Figure 1) (Gérald, 2012).

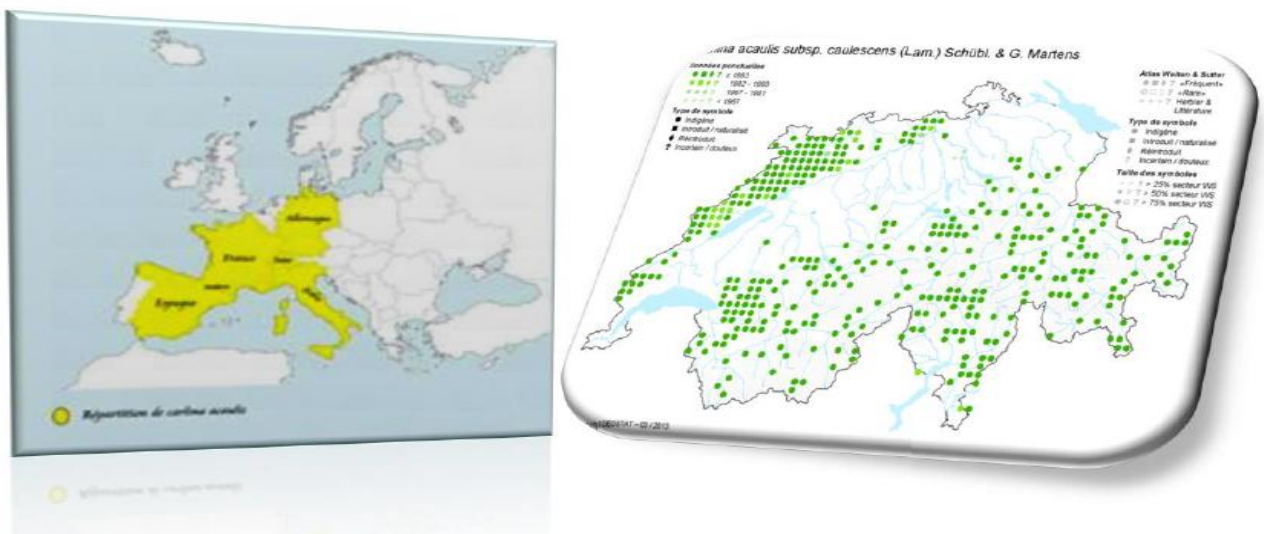


Figure N °1 : La répartition de la Carline en Europe (Gérald, 2012)

Dans la région de Tlemcen, on la retrouve *Carlina acaulis.L* au sud de la wilaya (Terni et Sebdou) ainsi que à l'ouest de la wilaya (Maghnia) (**Figure N°2**).



**Figure N °2** : carte géographique de répartition de *Carlina acaulis.L* dans la région de Tlemcen (**Google Earth**)

### **3. Taxonomie et aspect botanique de *Carlina acaulis .L* :**

#### **3.1. Nom vernaculaire :**

Du latin *Carolus*, Charles, Charlemagne aurait employé les racines de cette plante pour guérir ses soldats de la peste. Pour d'autres il s'agirait de Charles-Quint.

*Carlina* proviendrait d'une déformation de *Cardina* (et finalement de *Carduus*) et signifierait « petit Chardon » ; *acaulis* de privatif et *caulos* (grec) tige. On la nomme aussi Carline des Alpes, Baromètre, Caméléon blanc, Chardonnerette, Charcouse, Loque (**Garnier et al., 1961**).

Noms communs : Carline, carline acaule, carline à tige courte, carline sans tige, carline des alpes, chardon doré, chardonette, chardousse, baromètre, caméléon blanc, artichaut sauvage, cardabelle, gardabelle, pain chasseur.

Nom latin: *Carlina acaulis*.

Nom anglais: Dwarf thistle, silver thistle, stemless carline, stemless carline-thistle.

Nom allemande: Carldistel, grobe wetterdistel, silberdistel, stengellose eberwurz.

Nom espagnol : Cardo de puerto, cardo de san Pelegrin.

Nom italien : Carlina bianca, carlopinto.

Nom néerlandais: Zilverdistel.

Nom arabe : Tafgha ([www.complements-alimentaires.com](http://www.complements-alimentaires.com)).

### **3.2. Nomenclature :**

*la carline* officinale (*Carlina acaulis.L*) ,Parait avoir été connue des anciens sous les noms d'Ixiné ou de Helexiné , elle a pris son nom moderne de celui de charlemagne, sous le règne duquel on dit qu'elle fut employée avec succès contre la Pest qui ravageait son armé, elle appartient à la syngénésie polygamie égale de Linné , aux dicotylédones gamopétales épigynes synanthérées de Jussieu et à la famille des Carduacées ou Cynarocéphales. (Nicholas *et al.*, 1838).

### **4. Classification :**

La classification botanique de *Carlina acaulis.L* et exprimée dans le Tableau suivants :

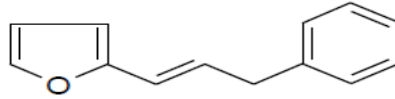
**TableauN°1 : Classification botanique de *Carlina acaulis.L***  
**(Bernard, 2001)**

<b>Embranchement</b>	<b>Spermatophytes</b>
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Astérales
<b>Famille</b>	Astéracées
<b>Genre</b>	Carlina
<b>Espèce</b>	Acaulis

### **5. Composition chimique :**

Dans la racine, on découvre une huile essentielle d'odeur agréable, de la résine, de L'inuline et une substance antibiotique, le carlinoxyde (une furylbenzylacétylène), une cire et des tanins (Schauenberg *et al.*, 1977).

L'huile essentielle contient 12 à 15 % d'un sesquiterpène monocyclique, le carlinène C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> et un dérivé du furane C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O (**Figure N°3**).L'huile essentielle contient également de l'acide palmitique, des traces de phénols (**Garnier *et al.*, 1961**).



**Figure N°3:** oxyde de *carlina*

### **6. Description botanique de *Carlina acaulis.L* :**

Plante bisannuelle a une tige courte souvent, presque nulle parfois dressée jusqu'à 30 a 35 cm ,les feuilles sont glabrescentes, pétiolées, pennatilobées, a segments épineux son inflorescence est caractérisée par une capitule unique de grande taille ( 6 à 12 cm) de largeur, fleurs petites blanchâtres ou rougeâtres, hermaphrodites, bractées externes de l'involucre foliacées, moyennes noires ou brunes bordées d'épines rameuse, les internes linéaires, blanc argenté, généralement violacées dessous et brunâtres à la base, akènes pubescent à poils jaunes et à aigrette deux fois plus longue que le reste du fruit (**Rameau *et al.*,1989**).L'ovaire est uniloculaire à 2 carpelles a placentation pariétale (**Garnier *et al.*,1961**) .



**Photo 1 : *Carlina acaulis.L* avant la récolte**



**Photo 2 : *Carlina acaulis.L* après la récolte**



**Photo 3 : Fleur de *Carlina acaulis.L***



**7. L'écologie et particularité édaphique :**

Espèce héliophile et mésophile, présente dans les pâturages, en milieu rocheux ou rocailleux, surtout en montagne, de 400 à 1800 m d'altitude, plutôt indifférente à la nature du substrat (**Rameau *et al.*,1989**).

Elle apprécie les sols calcaire et croît le plus souvent au bord des chemins, à l'orée des forêts, dans les bois claires de feuillus, de conifères ou mixtes, dans les pâturages, dans les prairies sèches et dans les landes caillouteuses (**Gérald, 2012**).

**8. Propriétés thérapeutiques et médicinales :**

La carline est une plante médicinale préconisée pour ses qualités thérapeutiques diurétiques, sudorifères, digestives, fébrifuges, elle peut être utilisée aussi bien en usage interne qu'externe, appliquer sur les plaies, la plante a non seulement des effets désinfectants mais présente également un pouvoir cicatrisant, elle agit de manière efficace sur les infections buccales, elle atténue les éruptions excessives d'Acné, apaise les eczéma et les urticaire en usage interne, on la prend souvent en décoction, la carline est diurétique et sudorifique permettant ainsi l'évacuation des toxines par les sueurs. De par sa propriété apéritive, elle stimule aussi l'appétit, en cas de dyspepsie (**www.mr-plantes.com**).

**9. Utilisation traditionnelles :**

La racine de *Carlina acaulis.L* a été inscrite à la première édition de la Pharmacopée française, des propriétés antibiotiques ont été mises en évidence pour l'oxyde de carline vis à vis du staphylocoque doré et de nombreuses bactéries Gram positif, mais ce composé est trop toxique pour un emploi thérapeutique (**Paris *et al.*, 1971**).

**10. Travaux antérieur :**

*Carlina acaulis.L* est une plante d'importance écologique, plusieurs études sur la caractérisation des composés chimiques, et l'évaluation des propriétés biologiques de cette plante ont été réalisées (**Tableau N°2**).

**Tableau N°2 : Travaux antérieurs de *Carlina acaulis.L***

N°	Auteur	Article /mémoire	Les Résultats
1	(Bouchriha <i>et al.</i> ,2009)	Evaluation du pouvoir antioxydant des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes de <i>Carlina acaulis</i> L. (Tafgha) et <i>Mesembryanthemum crystallinum</i> L. (Frach n'da) de la région de Tlemcen.	Le dosage des métabolites secondaires étudiés révèle que <i>Carlina acaulis</i> contient 33.48mg/g de phénols totaux, 1.596% de tanins et 13.76mg/g de flavonoïdes .alors que <i>Mesembryanthemum crystallinum</i> L. contient 21.84mg/g de phénols totaux, 1.304% de tanins et 10.48mg/g de flavonoïdes.
2	(Djordjevic <i>et al.</i> ,2005) (Chalchat ,1996)	study of anti-dermatophyte effect of ten herbal methanolic extraxt	Plusieurs composées ont été isolés par l'espèce de <i>C. acaulis</i> et qui sont l'inuline (18-20%), les flavonoïdes et l'huile essentielle (2%) avec 80% d'oxyde de Carline est sont les mêmes par rapport au <i>C .acanthifoli</i> L.
3	(Dordević <i>et al.</i> , 2007)	Antimicrobial,anti-inflammatory,anti-ulcer and antioxidant activities of carlina acanthifolia root essential oil	la forte activité de l'oxyde Carline révèle une forte activité contre les bactéries gramme positives, contre les bactéries Gram négatif et contre les champignons ont été rapportés
4	(Semmler <i>et al.</i> , 1889)	Cornfield, with Cypresses	D'autres groupes chimiques caractérisent l'huile essentielle au niveau de genre carlina a cet effet <i>C acaulis</i> a travers l'oxyde de Carline est riche en huile essentielle ce qui en fait l'un des plus anciens connus poly acétylènes
5	(Garnier <i>et</i>	Ressources médicinales de la flore	montrent que <i>C .acaulis</i> contient l'huile

	<i>al., 1961)</i>	française	essentielle de 12 à 15 % d'un sesquiterpène monocyclique, le carlinène C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> et un dérivé du furane C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O, elle contient également de l'acide palmitique et des traces de phénols
6	( <b>Meusel et al., 1990)</b>	Monographie der mediterranean-mittleuropäischen Composition Gattung Carlina	Plusieurs composés ont été isolés à partir de la technique chromatographique par HPLC d'extraits Carlina acaulis feuille qui a révélé la présence de glycosides, flavones et plusieurs acides phénoliques, principalement des dérivés de l'acide caféique, L'extrait montré aussi des Composants très similaires: homo orientin, orientin, apigénine et l'acide chlorogénique ont été déterminées à la fois en quantité similaire. Vitexine et apigénine 7-O-glucoside ont été détectés seulement dans L'extrait de C. acaulis, et les osides dans l'extrait de C. acanthifolia. Ceci est le premier rapport sur la présence d'apigénine et acide chlorogénique dans les herbes de ces deux espèces Carlina



7	(Link et al.,2016)	Carlina acaulis Exhibits Antioxidant Activity and Counteracts $A\beta$ Toxicity in Caenorhabditis elegans	D'autre étude ont prouvés des effets synergiques entre carlina oxide et les constituants de l'extrait de Carlina acaulis ce qui suggère leur incidence contre la toxicité du bêta-amyloïde, mais cela ne peut pas être contribué à l'activité antioxydante de l'oxyde de carline seul.
8	(Raynaud et al.,1979)	Flavonoïdes des Feuilles de Carlina acaulis	Montrent que les feuilles de carlina acaulis pauvres en glycosyl-7-apigénine, s'avèrent riches en c-glycosyl flavonoides de la lutéoline (orientine,homo-orientine)et de l'apigénine (vitexine,isoschaftoside) par des méthode chimique et spectroscopique
9	(Strzemeski ,2016)	Carlina species as a new source of bioactive pent acyclic tri terpènes	L'analyse de divers espèce de genre de carlina par la méthode de HPTLC, montrent qu'ils contiennent une quantité élevée de tri terpènes dans les taxons sans tige et ils contiennent également une quantité significativement plus élevée d'acides gastriterpeniques à la fois dans les fleurs et les feuilles
10	(Spencer et al.,1968)	Cis-5-Monoenoic Fatty Acids of <i>Carlina</i> (Compositae) Seed Oils	Montrent que les huiles des grains de carlina corymbosa L.et C.acaulis L. contiennent de l'acide cis-5-octaédrique Comme acide gras majeur (21-24%) ; linoléiques avec (50-52%); Des quantités moindres de 10% de palmitiques, stéariques et oléiques, et avec 2% de cis-5- hexadécénoïque

---

---

--	--	--	--

# CHAPITRE 2

## Métabolites secondaires

## 1. Introduction

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis le XVIII<sup>e</sup> 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 (Iserin, 2001).

## 2. les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Fouche *et al.*, 2000).

Leurs structure chimique est complexes, très dispersés et différents selon les espèces. Ils sont produits en très faibles quantités, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leurs apparences chimiques (Fouche *et al.*, 2000).

### 2.1. Les composés phénoliques

#### 2.1.1. Généralité

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétale. Ils ont en commun la présence d'un ou plusieurs fonctions hydroxyle, qui peuvent être méthylés, acylés ou glycolyses. Ainsi, ils constituent une vaste famille de métabolites secondaires comprenant plusieurs groupes, contenant chacun quelques dizaines à plusieurs milliers de molécules différentes. Ces derniers sont des substances naturellement présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les fleurs et aussi les herbes ,où ils contribuent à la couleur et aux propriétés sensorielles telles que l'amertume et l'astringence (Ribéreau, 1964).

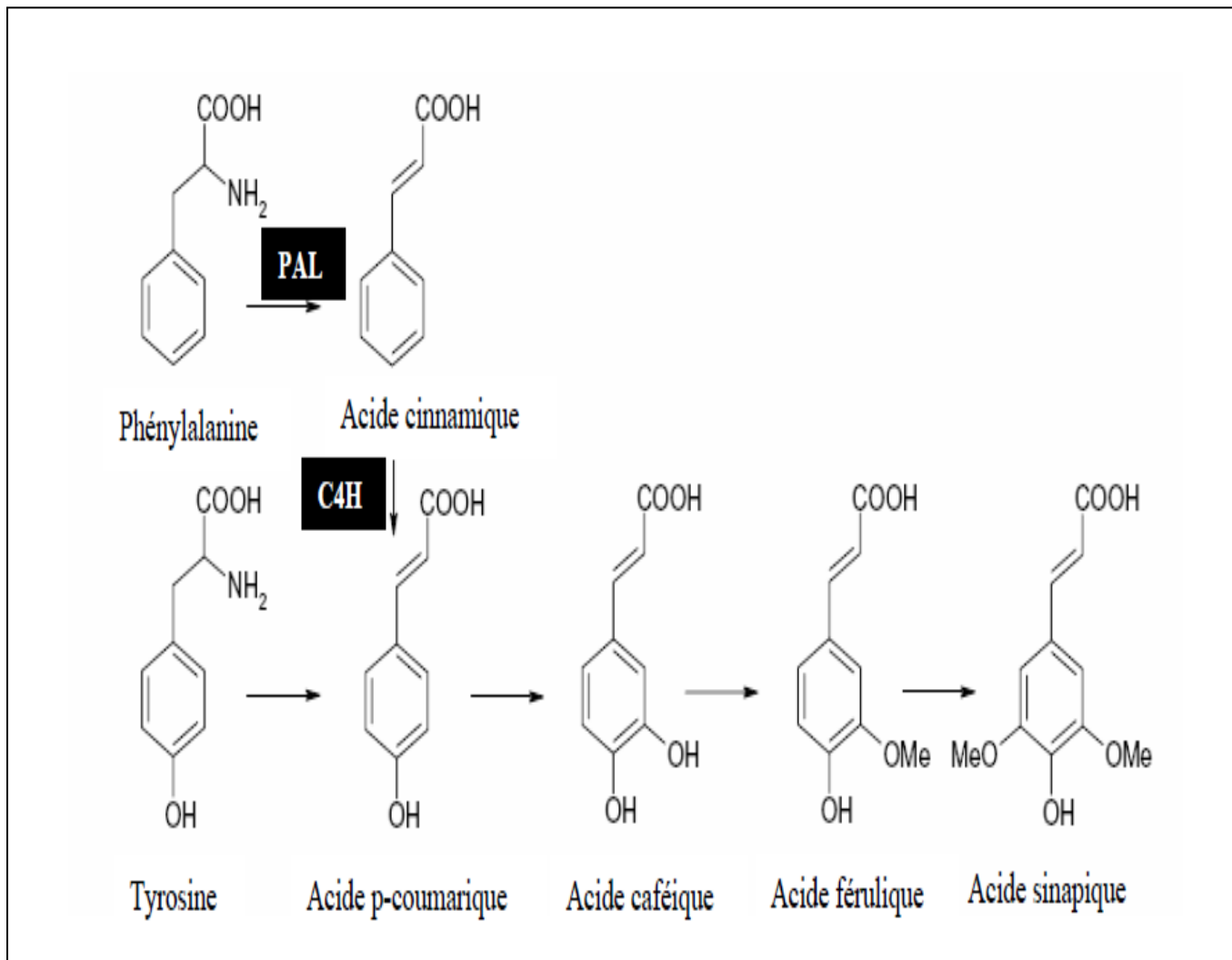
Ils sont présents aussi dans les racines, les tiges, les feuilles de tout les végétaux, en plus des fruits et légumes on les trouve dans les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales et les graines oléagineuses (Middleton *et al.*, 2000).

#### 2.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les voies de biosynthèses des composés phénoliques sont maintenant connues dans leurs grandes lignes. La voie de l'acide Shikimique est à l'origine de la formation de la

phénylalanine et de la tyrosine et la désamination de ces acides aminés conduit aux acides hydroxycinnamiques, dont les esters CoA sont à leur tour à l'origine de la plupart des classes de composés phénoliques **Figure N°4 (Dixon *et al.*, 1995).**

En outre, de nombreux produits allelochimiques, dans les plantes supérieures sont influencés par divers produits chimiques tels que certains herbicides et régulateurs de croissance (**Dixon *et al.*, 1995).**



**Figure N°4 :** Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate (**Crozier *et al.*, 2006).**

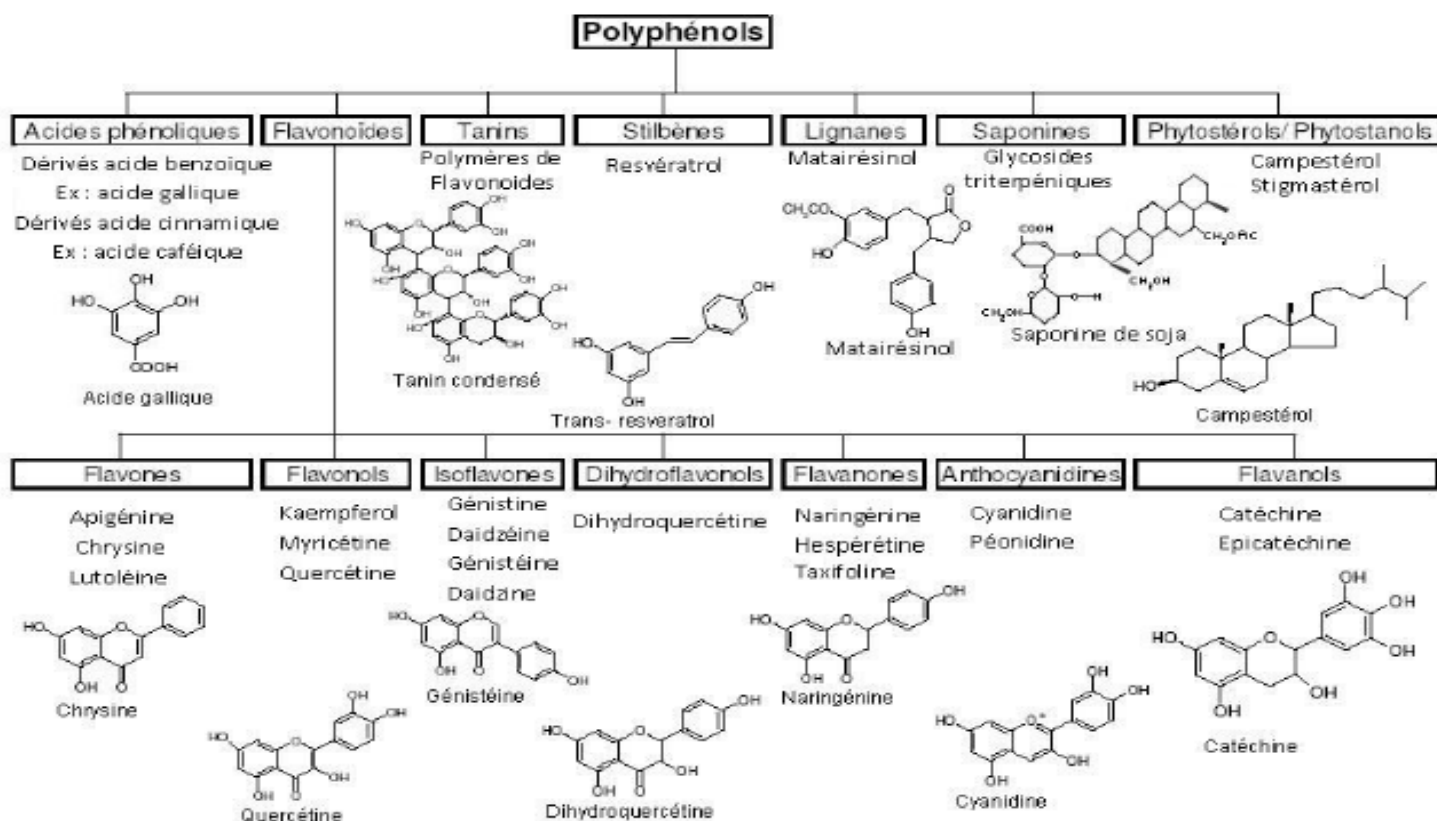
**PAL :** phénylalanine ammonia-lyase ; **C4H :** cinnamate4-hydroxylase

## 2.1.3. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes dont la plupart ont des représentants chez de nombreux végétaux. Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure de base du squelette carbone, les différents classe de composés phénolique sont représenté dans le **Tableau N° 3** et **Figure N°5 (Bruneton, 1999)**.

**Tableau N°3 :** Les principales classes des composé phénoliques (**Harborne, 1989 ; Crozier et al., 2006**)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemples)
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique, Acide férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine	Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoides <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols</li> <li>• Anthocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul>	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoides	Daidzéine	Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C <sub>15</sub> )	Tannins		Raisin rouge, kaki



**Figure N°5:classification des polyphénols (Bruneton, 1999)**

**2.1.4. Les Propriétés biologiques des composés phénoliques**

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature, soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux, dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...), et des produits qui en dérivent par la transformation, dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...), pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (Fleuriet *et al.*, 2005).

De nombreux travaux démontrent que les polyphénols possèdent des propriétés anti-inflammatoires, et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (**Middleton *et al.*, 2000**).

Ainsi que des propriétés antioxydants qui participent à la prévention de diverses pathologie impliquant le stress oxydant et le vieillissement cellulaire (**Macheix *et al.*, 2005**).

Les plantes ont une capacité intrinsèque à synthétiser des métabolites secondaires dont certains sont des composés aromatiques de types phénols. Ces composés jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Macheix *et al.*, 2005**).

### 2.1.5. Rôle et intérêt des composés phénoliques

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques (**Middelton *et al.*, 2000**).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (**Pulido *et al.*, 2000**).

En effet, leur rôle d'antioxydants naturels permet à l'organisme de lutter contre les agressions de l'oxygène qui sont à l'origine d'un grand nombre de maladies, ce qui suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires (**Stoclet *et al.*, 2004**) et neurodégénératives (**Ramassamy, 2006**).

## 2.2. Flavonoïdes

### 2.2.1 Généralité

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, appartiennent à la famille des polyphénols, ce sont des molécules aromatiques poly substituées. Ces dernières sont des pigments quasiment universels des végétaux (**Guignard, 1996**).

En générale localisés dans les feuilles (dans l'épiderme ou entre l'épiderme et le mésophylle), dans les fleurs (cellules épidermiques) ou encore dans les fruits (tégument externe) (**Bruneton, 1999**).

On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes. Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme



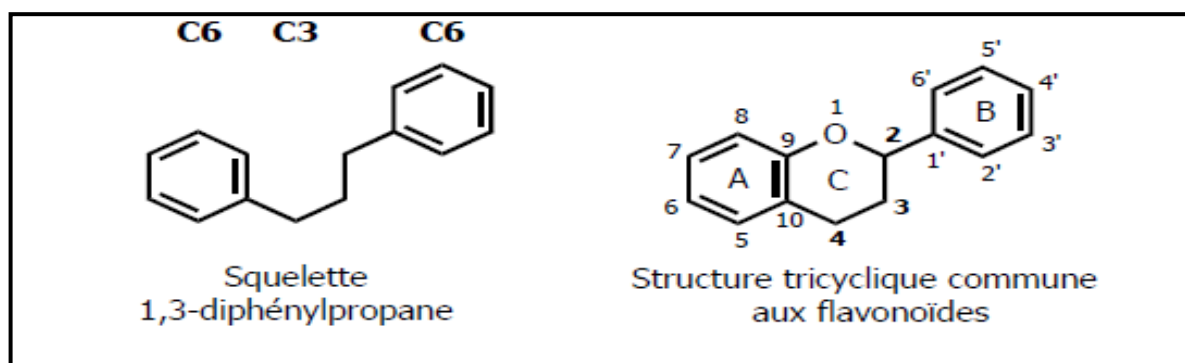
de composés naturels polyphénoliques, on dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes (**Guignard, 1996**).

Les flavonoïdes jouent un rôle essentiel dans la reproduction des plantes en recrutement des pollinisateurs et des dispersants de grains. Ils sont également responsables de la belle présentation de la couleur automne dans de nombreuses plantes, qui a récemment été suggérée pour protéger les cellules foliaires contre les dommages photo-oxydatifs (**Feild *et al.*, 2001**).

### 2.2.2. Structure chimique et classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyrane. Leur structure s'organise toujours autour d'un squelette 1,3-diphénylpropane C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, (**Figure N°6**), décrit par une nomenclature spécifique. Les deux cycles benzéniques sont nommés cycle A et cycle B. Le chaînon propylé C<sub>3</sub> peut être complété par une fonction éther formant ainsi un cycle central, appelé cycle C.

Cependant, ils sont divisés en plusieurs sous-classes qui se distinguent par une diversité fonctionnelle au niveau des positions 2, 3 et 4 du cycle C (**Figure N°6**).

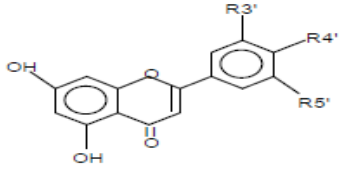
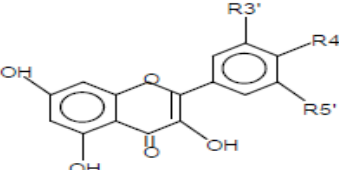
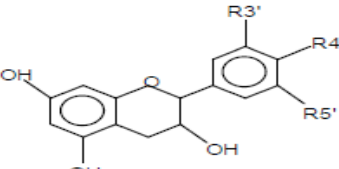
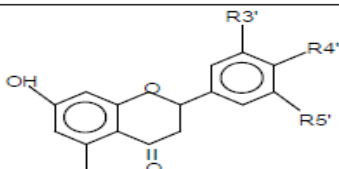
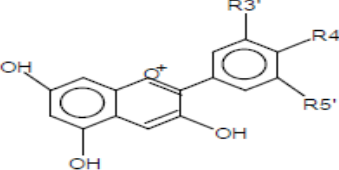
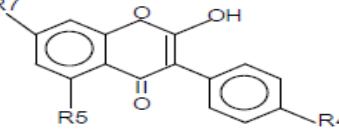


**Figure N°6** : structure des flavonoïdes en chaîne C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>

Par ailleurs, au sein d'une même sous-classe, les possibilités de substitution des cycles A et B sont multiples : onze carbones du squelette flavonoïde peuvent porter un substituant de type hydroxyle, méthoxyle, méthyle, isoprényle ou benzyle. Chaque groupement hydroxyle, ainsi que certains carbones, peuvent être conjugués avec un sucre et le glycoside correspondant peut être acylé à partir d'un acide phénolique ou aliphatique (**Harborne *et al.*, 2001**).

Selon **Bruneton 1999**, les flavonoïdes peuvent être classés en six groupes dont les plus répandus sont les flavones et les flavonols, tandis que les flavanones, les flavanols, les chalcones et les anthocyanidines sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte **Tableau N° 4**.

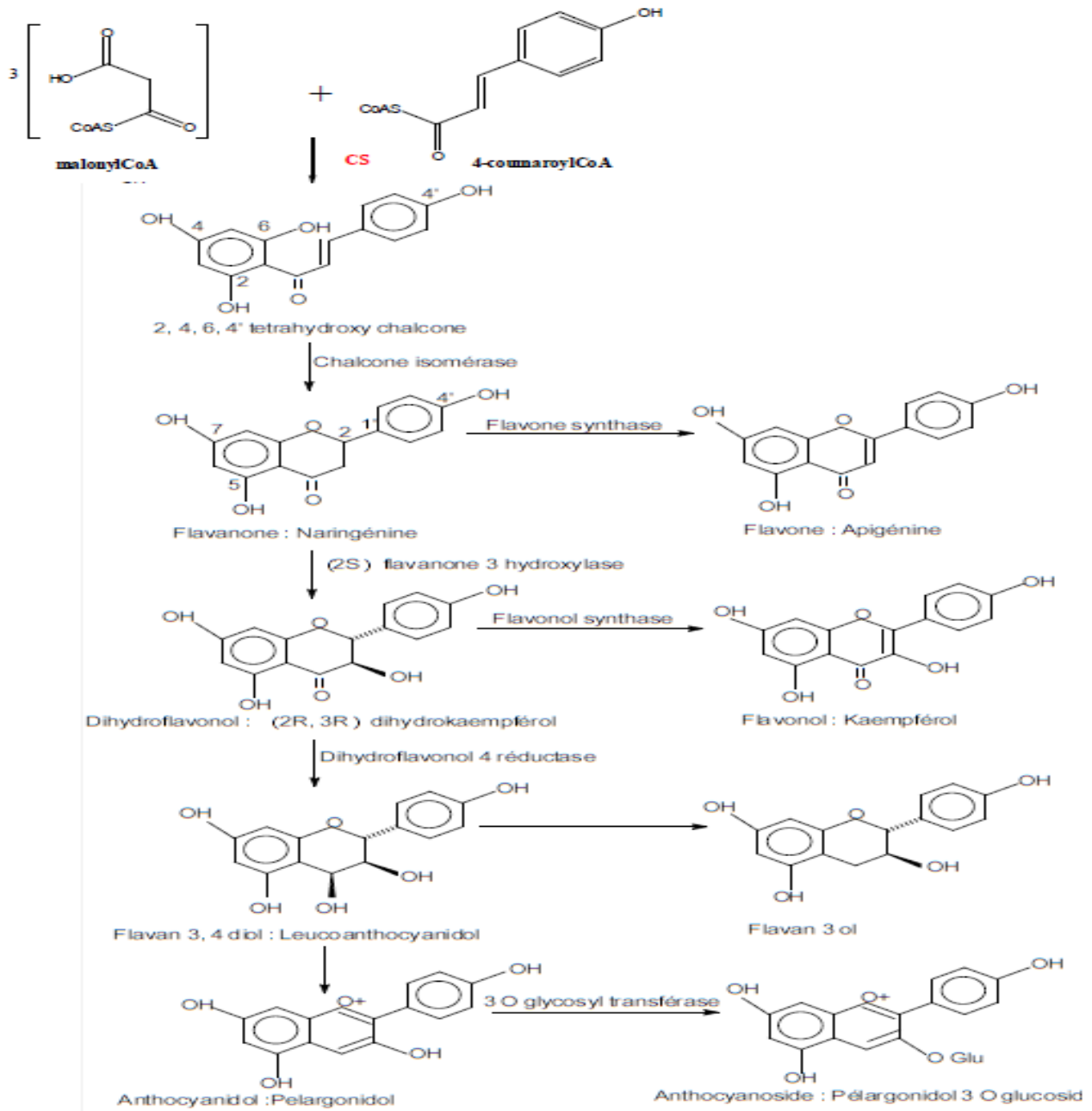
Tableau N°4 : Classification des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

### 2.2.3. Biosynthèses des flavonoïdes

L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester du CoA et d'un acide hydroxycinnamique, en règle générale le 4-coumaroyl-CoA, pour obtenir la 4, 2, 4', 6'-tetrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthèse). Dans les conditions physiologiques normales, cette chalcone tend à

s'isomériser en flavanone sous l'action de la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à la seule (2S)-flavanone. Cette chalcone peut également se cycliser en aurone. Il est le précurseur de toutes les classes de flavonoïdes comme le montre la **Figure N°7 (Bruneton, 1999)**.



**Figure N°7 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999)**

Cs : chalcone synthèse

#### 2.2.4. Localisation et distribution

Les flavonoïdes sont impliqués dans de nombreuses interactions des plantes avec les conditions biotiques et abiotiques de leur environnements, ces substances sont accumulées dans différentes parties cellulaires et tissulaires de la plante durant l'organogénèse et sous l'influence de plusieurs facteurs stimulants (**Hutzler *et al.*, 1998**).

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles, la répartition de ces composés montre des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement (**Hutzler *et al.*, 1998**).

Ils sont présentés dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens. Ils peuvent aussi être rencontrés dans certaines boissons et chez certains fourrages (**Verhoeyen *et al.*, 2002**).

Certaines classe de flavonoïdes sont présentés exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavonoes dans les agrumes, le isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eux une large distribution dans les fruits et les légumes, tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (**Hutzler *et al.*, 1998**).

#### 2.2.5. Biodisponibilités des flavonoïdes

Les études réalisées par **Crespy, 2003**, montrent que cette biodisponibilité dépend de trois facteurs essentiels : La capacité de transport à travers la bordure en brosse des cellules d'anthérocytes, l'intensité de la sécrétion intestinale des flavonoïdes conjugués vers la lumière intestinale et vers le sang et enfin la capacité de la sécrétion biliaire.

Les flavonoïdes présentent une faible biodisponibilité avec une élimination lente qui diffère d'un flavonoïde à l'autre. La quercétine par exemple présente un temps de demi-vie d'absorption de 52 min, de distribution de 228 min et d'élimination de 1008 min (**Middleton *et al.*, 2000**).

#### 2.2.6. Propriété biologique des flavonoïdes

Les flavonoïdes présentent de nombreuses activités : antioxydantes, anti-inflammatoires, inhibitrices d'enzymes, et préventions des maladies cardiovasculaires. Pharmacologiquement les aglycones sont particulièrement efficaces (**Sharma *et al.*, 2008**).

La majorité des activités biologiques des flavonoïdes est due à leur pouvoir antioxydant et chélateur et les principales propriétés sont :

**Propriété antioxydant**

En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (**Sharma *et al.*, 2008**).

**Propriété antiallergique**

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca<sup>++</sup>ATPase. En outre, la quercitrine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes (**Formica *et al.*, 1995**).

**Propriété anti-inflammatoire**

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement. Certains travaux suggèrent qu'ils posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène (**Sharma *et al.*, 2008**).

**Propriété antibactérienne**

Selon **Cowan, 1999**, les flavonoïdes sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire.

**Propriété anticancéreuse**

Depuis longtemps, on associe le cancer et le type d'alimentation, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles, de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant d'une manière spécifique les risques d'en avoir chez les sujets humains (**Decloitre, 1993**).

**2.3. Les Tannins**

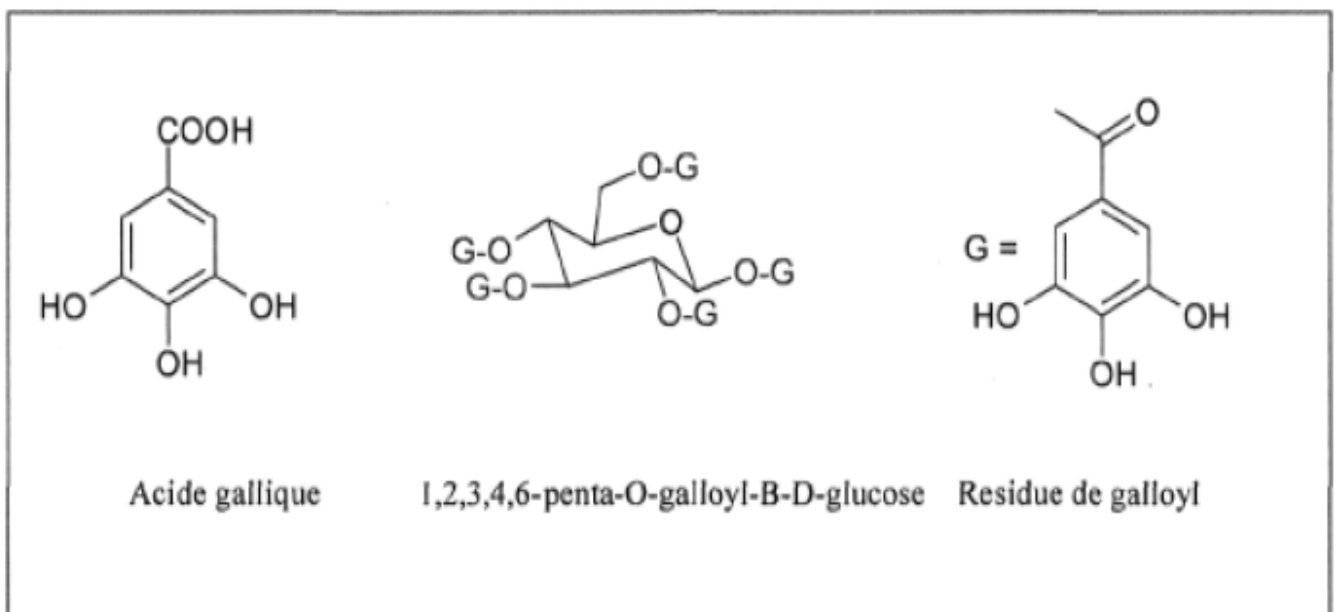
Les tanins sont des polyphénols polaires de haut poids moléculaire (> 3000 Da) d'origine végétale existant dans presque toutes les parties de la plante: écorce, bois, feuilles, fruits et racines. Il est difficile de les séparer dans un extrait végétal parce que de nombreux isomères avec une base moléculaire très semblable coexistent. Ils sont divisés en 2 groupes :

- Tanins hydrolysables (qui donnent après hydrolyse soit de l'acide gallique, soit de l'acide ellagique)
- Tanins condensés ou catechiques (constitués de la condensation des dérivés flavane).

Des tanins peuvent également être constitués par condensation d'unités quinone (**Berthod et al., 1999**).

### 2.3.1. Tanins hydrolysables

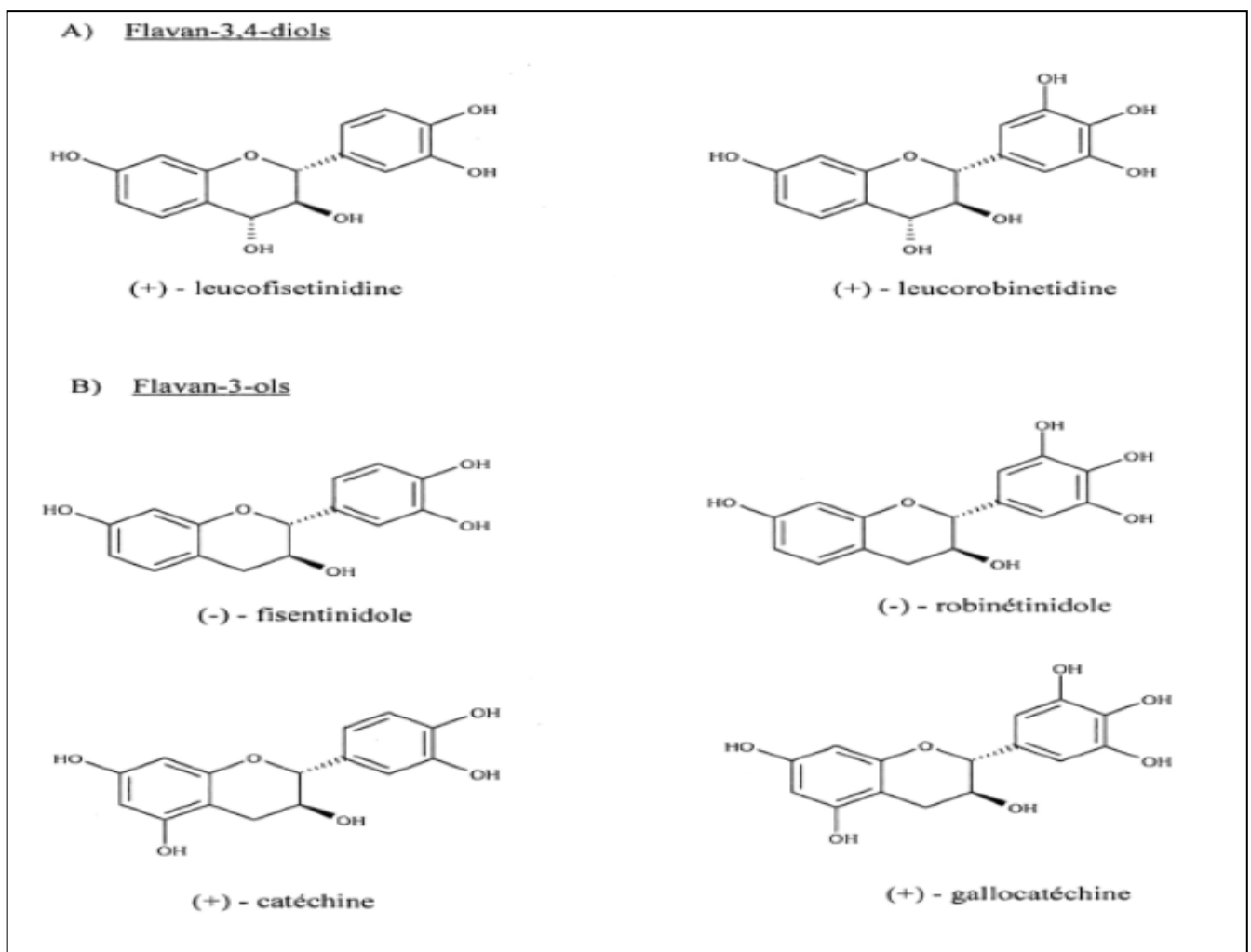
En général, les tanins hydrolysables ont un poids moléculaire plus faible et précipitent les protéines beaucoup moins que les tanins condensés. Ils sont présents dans certaines dicotylédones des prairies naturelles, et surtout dans les jeunes feuilles d'arbres ou d'arbustes (*Quercus* méditerranées et tropicaux, acacias, etc.). Les tannins hydrolysables sont caractérisés par une partie centrale de polyol (dans la plupart des cas, P-D-glucose) dont les fonctions hydroxyles sont estérifiées avec l'acide gallique (**Figure N°8**). Le 1,2,3,4,6-pentagalloyl glucopyranose occupe une place centrale dans la biosynthèse des tannins hydrolysables (**Gross, 1992**).



**Figure N°8** : Structures fondamentales des tannins hydrolysables (**Gross, 1992**).

### 2.3.2 Tanins condensés

Les oligomères hétérogènes dont la structure est liée aux flavan-3-ols et flavan-3,4-diols, sont nommées les proanthocyanidines ou les tanins condensés. Ils ont plusieurs propriétés communes avec les tanins hydrolysables, telles que la précipitation des protéines en solution aqueuse et l'astringence caractéristique au niveau de la langue. Habituellement, les tanins condensés sont présents dans les tissus épidermiques des plantes, dans les feuilles, l'écorce et le phloème, et en règle générale, ils sont absents du bois d'aubier et du cœur. Cependant, il y a plusieurs exceptions, comme c'est le cas des genres *Acacia* et *Schinopsis* dont le bois de cœur sert comme source commerciale de tanins condensés (**Figure N°9**) (**Diouf, 2003**).



**Figure N°9** : Les molécules monomères des tanins condensés (**Diouf, 2003**)

### 2.3.3. Les propriétés pharmacologiques des tanins

Les applications des drogues à tannins sont retraits, et sont dues à leur affinité pour les molécules protéiques. Par voie interne, ils ont un effet antidiarrhétic. Par usage externe, ils imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protègent ainsi les sous-jacentes et en empêchant les agressions externes.

Les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures. Ils ont un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. Quelles que soit la voie d'administration l'effet antiseptique, antibactérien et antifongique, est intéressant notamment pour les diarrhées infectieuses et les dermatoses.

D'une façon générale, se sont des inhibiteurs enzymatiques. Certains tanins, aux structures voisines de celles des flavonoïdes, ont des propriétés vitaminiques (protecteur capillaire) (**Roux *et al.*, 2007**).

### 2.4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique.

Généralement sont relativement stables et sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane.

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles ou dans les fruits (**Harborne *et al.*, 1995**).

#### 2.4.1. Les alcaloïdes vrais

Ces composés ont un large spectre d'activité biologique, sont classés parmi les plus grand nombre d'alcaloïdes de nature toxique.

Cependant ces molécules dérivent d'un acide aminé et composé d'un atome d'azote dans un système hétérocyclique.

Ils se trouvent dans les plantes sous 3 formes soit à l'état libre, sel ou comme N-oxyde (**Badiaga, 2011**).

#### 2.4.2. Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes sont des composés qui présentent presque les mêmes propriétés des alcaloïdes vrais. Ce sont des dérivés d'isoprénoides (alcaloïdes terpénique) et métabolisme de



l'acétate, par contre les alcaloïdes vrais ne sont pas des dérivés d'acide aminé (**Badiaga, 2011**).

#### **2.4.3. Les proto-alcaloïdes**

Les proto-alcaloïdes sont des dérivés d'acide aminé dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle qui ont un caractère basique. Cependant ils sont appelés amines biologique et sont soluble dans l'eau (**Badiaga, 2011**).

#### **2.4.4. Les propriétés biologiques des alcaloïdes**

Les alcaloïdes tout d'abord, ont des effets bénéfiques sur la plante synthétisante, parmi ces effet, selon **Mauro ,2006**, Ils régulent la croissance et le métabolisme interne végétaux, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal, ils Protègent la plante contre les rayons ultraviolets comme ils ont des effets contre les herbivores. Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique (**Bruneton, 1999**).

Aujourd'hui les alcaloïdes sont nommés d'après la plante qui les a fournis, toujours avec une terminaison en « ine ». D'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs (**Bruneton, 1999**).

# CHAPITRE 3

Matériel et Méthodes

**Le travail qui a fait l'objet de ce mémoire a été réalisé au Laboratoire des Produits Naturels au département de Biologie de l'université de Tlemcen, Algérie.**  
**Dans cette partie, nous décrivons le matériel et les méthodes générales utilisées lors des protocoles expérimentaux**

### **1. Collecte du matériel végétal**

Pour le but de différentes analyses chimiques, l'espèce *Carlina acaulis*.L. (**Photo N°4**) a été récolté à partir de la région de Tlemcen (*Maghnia*) (durant la période **Février /Mars 2017**).



**Photo 4 : *Carlina acaulis*.L**

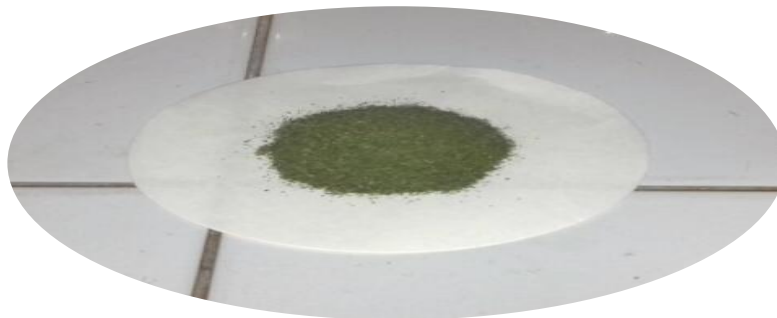
Au laboratoire la partie utilisée de la plante est les feuilles, Le matériel végétal fraîchement collecté a été lavé à l'eau, séché à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant 2 à 3 semaines (**Photo 5**), afin de préserver au maximum l'intégrité de sa composition chimique



**Photo 5: *Carlina acaulis* après séchage (feuille)**

Après séchage les feuilles de cette plante ont été concassées séparément par un mortier traditionnel et pulvérisées ensuite au broyeur. Ce dernier doit être réalisé juste avant chaque analyse et de préférence par un mortier pour éviter la dégradation des composés chimiques par la chaleur du robot.

La poudre végétale ainsi récupérée (**Photo 6**), est placée dans des sacs en papier, sur lesquels le nom de l'espèce est mentionné. Cette poudre va être soumise à différentes extractions.



**Photo 6 : La poudre fine de *Carlina acaulis*.L**

## 2. Détermination de la teneur en eau

### ❖ Principe

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve à la température de (100 à 105°C) et sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placées dans un dessiccateur (**Audigie et al., 1980**).

### ❖ Mode opératoire

- Sécher à l'étuve, les vases de tare pendant 15min;
- laisser refroidir dans un dessiccateur durant 10min, puis peser les vases de tare: **P<sub>1</sub>**;
- mettre dans chaque vase 2 g d'échantillon moulu, puis peser: **P<sub>2</sub>**;
- placer les vases qui contiennent l'échantillon dans l'étuve pendant 3h à 103 ± 2°C;
- laisser refroidir au dessiccateur pendant 15 min et peser: **P<sub>3</sub>**;
- remettre les vases dans l'étuve durant 1h et peser comme précédemment.

La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2mg, si non l'opération est renouvelée jusqu'à poids constant.

### ❖ Expression des résultats

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

$$\text{Teneur en eau (\%)} = [(P_2 - P_3) / (P_2 - P_1)] \times 100$$

Avec:

- **P<sub>1</sub>**: Masse en g de la vase de tare vide.
- **P<sub>2</sub>**: Masse en g de la prise d'essai avant séchage.
- **P<sub>3</sub>**: Masse en g de la prise d'essai après séchage.

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

$$\text{Taux de matière sèche \%} = 100 - H\%$$

### 3. Tests phytochimiques

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques et les composés azotés en particulier les alcaloïdes, existantes dans une partie quelconque de la plante par des réactions de précipitation ou de coloration en utilisant des réactifs spécifique à chaque famille de composés.

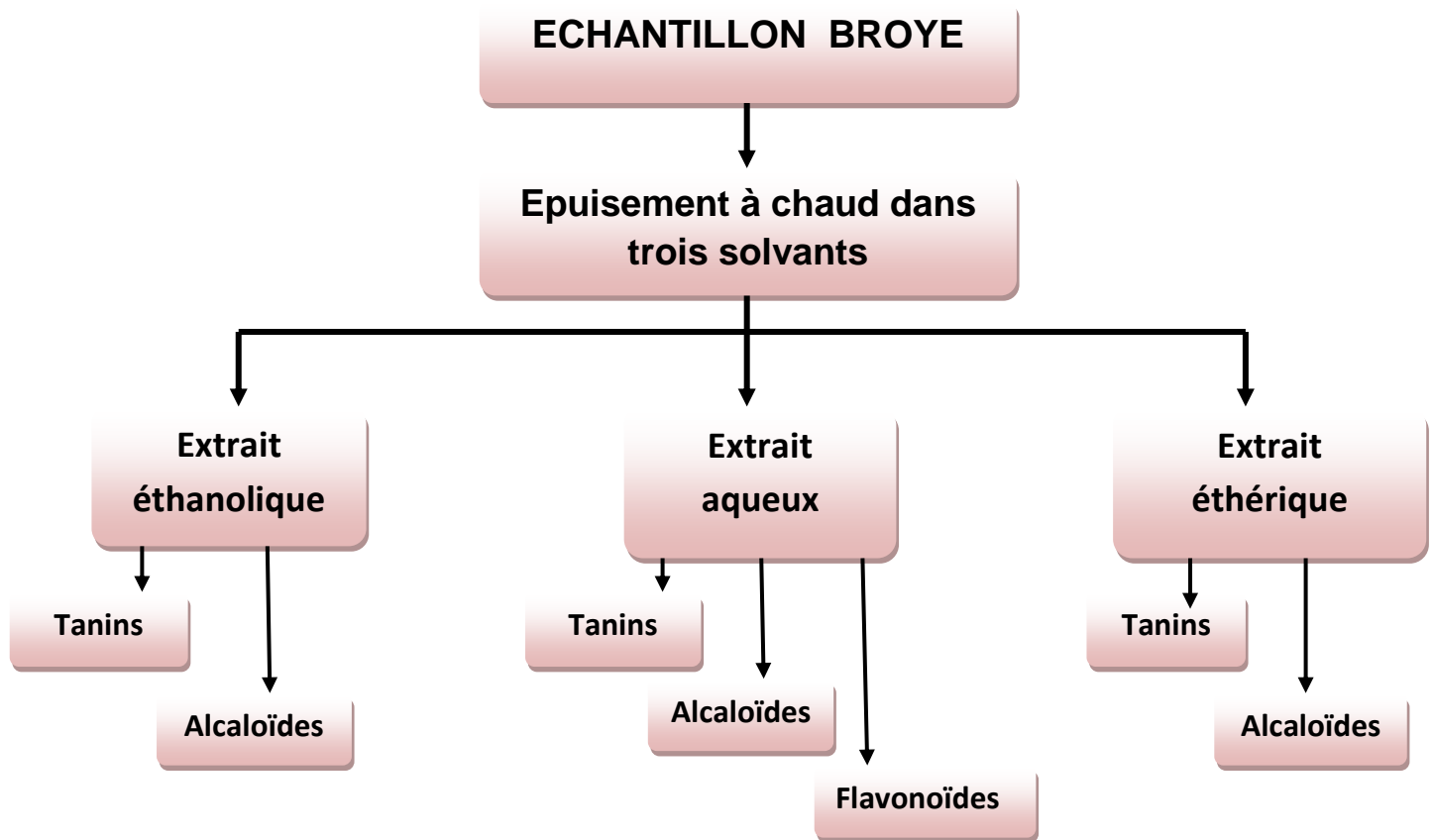
#### ❖ Principe

La mise en évidence s'effectue par des tests phytochimiques réalisés, généralement sur des extraits déjà préparés par épuisement à chaud. Ils sont basés sur:

- les essais de solubilité, des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organiques de polarité différente: l'eau, l'éthanol et l'éther diéthylique;
- réaction de coloration et de précipitation.

#### ❖ Mode opératoire

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant 25g d'échantillon séchée à l'air sont séquentiellement extraits en utilisant 150ml des 3 solvants suivants: l'eau distillé, l'éthanol et l'éther di éthylique (**Figure N° 10**). Les extraits sont filtrés et stockés à 4°C et utilisés pour les analyses ultérieures (**Trease et Evans., 1987**).



**Figure N° 10:** Diagramme des Produit végétal épuisé avec 3 solvants différents

Les tests phytochimiques sont schématisés dans le digramme ci-après

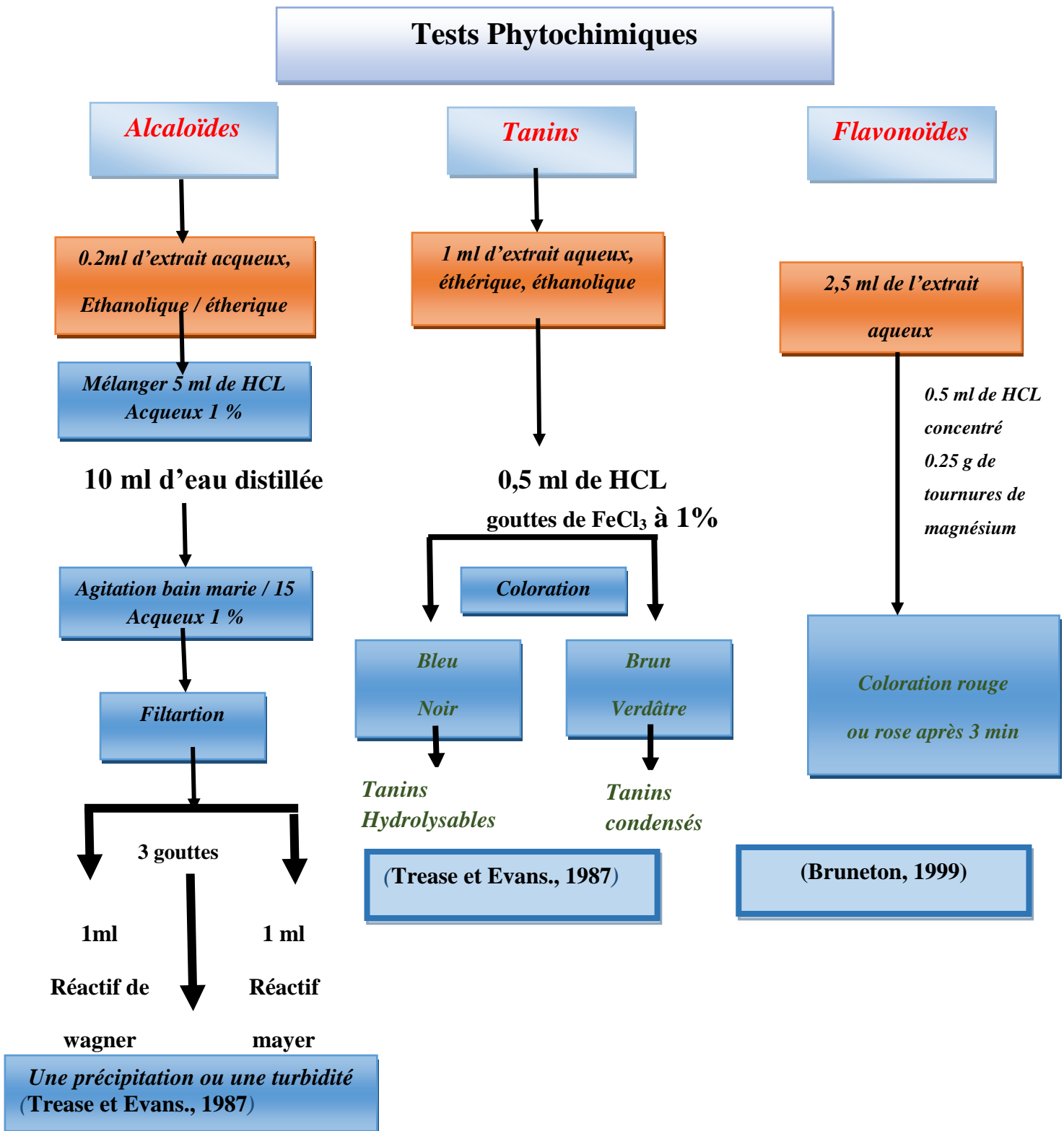


Figure N° 11: Diagramme des tests phytochimiques



### 3.1. Alcaloïdes

Prendre 0.2 ml d'extrait aqueux, éthanolique et étherique. Ajouter 5ml HCL à 1% au résidu puis agiter et chauffer au bain pendant 15 min. Filtrer la première partie avec trois gouttes de réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wagner(voir annexe).

Le test n'est considéré positif que lorsqu'il y a apparition d'une turbidité ou d'une précipitation.

### 3.2. Flavonoïdes

Traiter 5 ml de l'extrait aqueux avec 5 ml de NH<sub>3</sub> dilué et du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La présence des flavonoïdes est mise en évidence sur une couleur rose ou rouge.

### 3.3. Tanin

Prendre 1 ml de l'extrait éthanolique, étherique, et aqueux. ajouter 10 ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 1 %.

Un testes positif est révélé par l'apparition d'une couleur bleu noir caractéristique des tanins hydrolysables, ou d'une couleur brun verdâtre caractéristique des tanins condensée (**Trease et Evans., 1987**).

## 4. Extractions sélectives

### 4.1. L'extrait brut

Il existe différentes méthodes d'extraction qui sont particulièrement adaptées à l'extraction des composés naturels. Parmi celles-ci, la macération, technique simple et facile

#### ❖ Mode opératoire

- Méthanol/eau

Une quantité de 5 g de poudre végétale est mise à macérer dans 100 ml d'un mélange méthanol/eau 80/20(v/v), pendant 24 heures sous agitation. Après filtration, les solutions hydro-méthanoliques sont concentrées à sec sous pression réduite et à une température 60°C, puis conservées à 4°C (**Harborne, 1998**).

- Acétone/eau

Une quantité de 5 g du matériel végétal broyé est macérés dans 100 ml d'un solvant hydro-alcolique acétone/eau 70/30 (v/v) pendant 24 heures. Après filtration, la solution hydro-alcoolique est évaporées à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif, le résidu sec est repris par 3 ml du méthanol (**Blahova et al., 2004**)

#### 4.2. Extraction des tanins

##### ❖ Mode opératoire

10g de matériel végétal broyé en présence de 180ml d'eau distillée et 110ml d'acétone; l'ensemble est porté à une macération à froid (4°C) pendant 4 jours. Filtrer et extraire la solution deux fois avec 25ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Décantier et extraire la phase aqueuse quatre fois avec 25ml d'acétate d'éthyle (AcOEt). Sécher la phase organique avec MgSO<sub>4</sub> ensuite faire évaporer le solvant à sec (**Bruneton, 1999**).

##### ❖ Expression des résultats

$$Rd = [(P_2 - P_1) / M] \times 100$$

- **Rd**: Rendement (MS%).
- **P<sub>1</sub>**: Poids du ballon vide sécher avant l'extraction.
- **P<sub>2</sub>**: Poids du ballon + après extraction.
- **M**: Masse en gramme d'échantillon.

#### 4.3. Extraction des flavonoïdes

##### ❖ Mode opératoire

10g de matériel végétal broyé dans 100ml de méthanol bouillant en présence de 5g de CaCO<sub>3</sub>. L'ébullition est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant 1h. Après filtration, le dépôt est traité de nouveau pendant 1h à l'ébullition dans la même quantité d'alcool. Les deux solutions alcooliques sont réunies, elles sont éliminées par distillation sous pression réduite et le résidu sirupeux est repris par 50ml d'eau distillée bouillante. La solution aqueuse est filtrée à chaud et le filtrat épuisé successivement par l'éther diéthylique, l'AcOEt et le N- butanol (BuOH), tous les composés flavoniques se retrouvent dans l'extrait acétate d'éthyle (**Dauguet et Foucher, 1982**).

##### ❖ Expression des résultats

$$Rd = [(P_2 - P_1) / M] \times 100$$

- **Rd** : Rendement (MS%)
- **P<sub>1</sub>** : Poids du ballon vide sécher avant l'extraction.
- **P<sub>2</sub>** : Poids du ballon + après extraction.

- **M** : Masse en gramme d'échantillon.

#### 4.4. Extraction des alcaloïdes

##### ❖ Principe

L'extraction des alcaloïdes est fondée, en règle générale, sur le fait qu'ils existent habituellement dans la plante à l'état des sels et sur leur basicité, c'est-à-dire sur la solubilité différentielle des bases et des sels dans l'eau d'une part, dans les solvants organiques d'autre part. L'extraction consiste à un épuisement des alcaloïdes par une solution alcoolique acidifié. Pour purifier on procède à une alcalinisation par une base concentrée (NH<sub>4</sub>OH) et une filtration. Il reste un résidu sec qui représente les alcaloïdes totaux (**Bruneton, 1999**).

##### ❖ Mode opératoire

On mélange 10g de matériel végétal avec 250ml d'HCl à 2% et 110ml d'AcOEt. L'ensemble est porté à une macération à froid (4°C) pendant 10h. Filtrer le mélange et basifier la phase aqueuse acide avec NH<sub>4</sub>OH. La phase aqueuse basique est ensuite extraite plusieurs fois avec l'AcOEt. L'opération est répétée deux fois avec l'AcOEt, jusqu'à ce que la phase aqueuse ne contienne plus d'alcaloïdes (ce qui vérifie aisément par la négativité de réaction de Mayer effectuée sur la phase aqueuse). Le solvant organique contenant les alcaloïdes est décanté, débarrassé des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation sur MgSO<sub>4</sub>. Faire évaporer le solvant et il reste alors un résidu sec des alcaloïdes totaux (**Bruneton, 1999**).

##### ❖ Expression des résultats

$$Rd = [(P_2 - P_1) / M] \times 100$$

- **Rd** : Rendement (MS%).
- **P<sub>1</sub>** : Poids du ballon vide sécher avant l'extraction.
- **P<sub>2</sub>** : Poids du ballon + après extraction.
- **M** : Masse en gramme d'échantillon.

## 5. Dosage

### 5.1. Dosage des phénols totaux (*réactif de FolinCiocalteu*)

Le dosage des polyphénols a été effectué au laboratoire des produits naturel à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible.

**❖ Principe**

Le réactif de FolinCiocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760nm, est proportionnelle à la quantité de phénols totaux présents dans les extraits végétaux (**Ribereau, 1968**).

**❖ Mode opératoire**

On prépare trois tubes :

- 1.7 ml L'extrait brut (méthanol /eau), 1/10 et 1/100.
- 300 µl de réactif de FolinCiocalteu .
- Après 3 min, on ajoute 0.5 ml de  $Na_2CO_3$  à 20% .

On laisse les tubes à l'obscurité pendant 30 min, on détermine la densité optique à 760 nm par rapport au témoin. L'indice de Folin Ciocalteu est exprimé en degré ou en gramme d'acide gallique/l, on peut utiliser une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique (0 à 1 g/l) (**Singleton et al., 1999**) (**Voir annexe**).

**❖ Expression des résultats**

La teneur en polyphénols totaux, est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimée en mg équivalent de acide gallique par 100g de matière sèche.

**5.2. Dosage des tanins condensés****❖ Principe**

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide (**Price et al., 1978**).

**❖ Mode opératoire**

- Prendre 1 ml de l'extrait brut (méthanol/eau), ajouter 2 ml de la solution A (vanilline à 1% dans 70% d'acide sulfurique) et mettre les tubes dans un bain marie pendant 15 minutes à 20°
- Lire l'absorbance à 500nm.

**❖ Expression des résultats**

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

- **T (%)** : pourcentage du taux des tanins condensés.
- **$5,2.10^{-2}$**  : constante exprimée en équivalents de cyanidines.
- **DO** : Densité optique.
- **V** : Volume de l'extrait phénolique utilisé.
- **P** : poids de l'échantillon.

### 5.3. Dosage des tanins hydrolysables

#### ❖ Principe

La méthode de **Mole et Waterman, 1987** est basée sur une réaction avec le chlorure ferrique. Le mélange extrait phénolique plus réactif ( $FeCl_3/HCL$ ) donne une coloration rouge violette au complexe d'où la formation des ions ( $Fe^{+3}$ ) (**Bate-Smith, 1962**).

#### ❖ Mode opératoire

Prendre 1 ml de l'extrait brut (méthanol/eau), et on ajoute 3,5 ml de réactif C ( $FeCl_3$  à 0,01 M dans du HCL à 0,001M.), après 15 secondes de l'addition, on lit l'absorbance à 660nm.

#### ❖ Expression des résultats

$$T(\%) = DO \times M \times V / \epsilon \text{ mole} \times P$$

- **T (%)** : pourcentage du taux des tanins hydrolysables.
- **DO** : densité optique.
- **$\epsilon$  mole** : 2169 de l'acide gallique.
- **M** : 300.
- **V** : volume de l'extrait utilisé.
- **P** : poids de l'échantillon.

### 5.4. Dosage des Flavonoïdes

#### ❖ principe

Le dosage de flavonoïde est déterminé par la méthode de (**Djeridane et al., 2006**).

### ❖ Mode opératoire

1ml de l'extrait brut (méthanol/eau), est mélangé avec 1 ml d 'ALCL<sub>3</sub> (trichlorure d'aluminium) à 2% après incubation pendant 15 min à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon est mesuré à 430 nm

### ❖ L'expression du résultat

La teneur en flavonoïde est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimé en mg équivalent de catéchine par 100 gramme de matière sèche.

# CHAPITRE 4

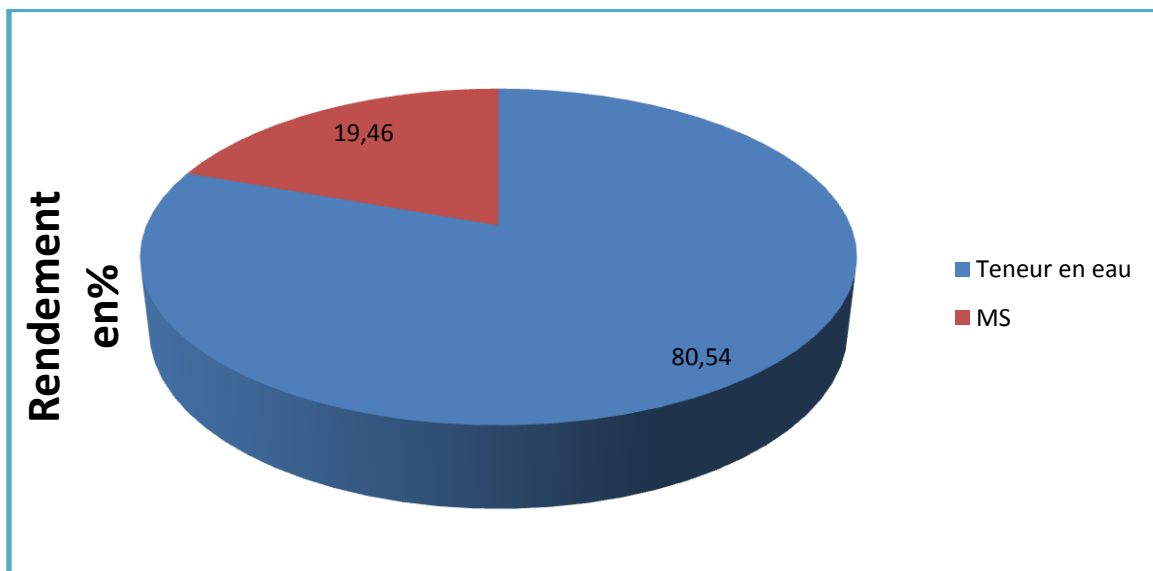
Résultats et discussion

### 1. Détermination du taux de matière sèche

Les plantes sont essentiellement constituées d'eau, et l'analyse de la teneur en eau de notre plante confirme cette hypothèse.

Lorsqu'un échantillon d'une plante est placé dans une étuve à 105°C pendant 3 heures, toute l'eau s'évapore et le résidu sec s'appelle matière sèche, cette teneur en eau est un indice très important, donne une idée sur la qualité de notre échantillon, elle accélère la germination et favorise le développement des microorganismes.

L'analyse du taux d'humidité des feuilles de *Carlina acaulis.L*, a montré une forte proportion estimée à 80,54% à partir de cette valeur on a pu déterminer le pourcentage en matière sèche (MS) qui est de 19,46% (**Figure N°12**).

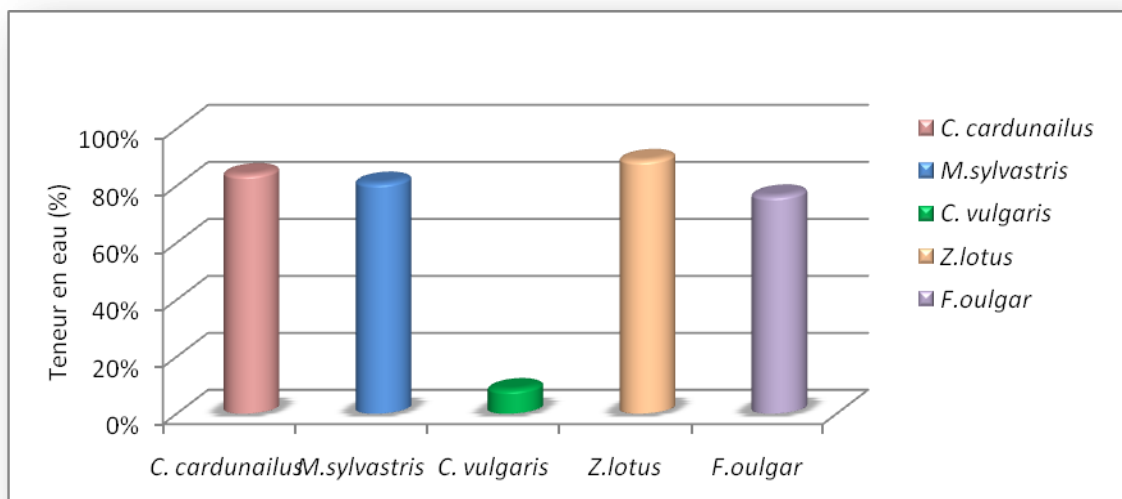


**Figure N°12** : Taux de matière sèche et la teneur en eau des feuilles de *Carlina acaulis.L*

Nos résultats sont soutenus par ceux trouvés par **Ferhat et al., 2009**, qui ont relevé que la teneur en eau est de 48% chez la partie aérienne de l'espèce *Centaurea microcarpa* coss et dur, en outre **Bensouma, 2014** a trouvée 34,37% des feuilles de *centaurea acaulis.L*.

D'autres plantes sauvages qui sont présentées en (**Figure N°13**) ont montré que la teneur en eau de *Carlina acaulis.L* est 9 fois supérieure à celle des racines de *cydonia vulgaris* 8,5% étudiée par **Abderrahimi** en 2006.





**Figure N°13** : Teneur en eau de quelque plantes sauvages

Selon **Foudhil (1990)**, les variations des teneurs en matière sèche de différentes espèces végétales peuvent être dues à plusieurs facteurs combinés, liées aux conditions climatiques et aux sites de récolte.

## 2. Test phytochimique

Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leur activités physiologiques et possèdent des vertus médicinales.

Les recherches effectuées sur les différents extraits aqueux, éthérique et méthanolique. révèlent la présence d'importants métabolites secondaires : les flavonoïdes, tanins et aussi les alcaloïdes qui ont caractérisé les extraits des feuilles de *Carlina acaulis.L*.

Nous avons utilisé des tests phytochimique simples, utilisant des solvants des polarités différentes, la présence et/ou l'absence des différentes familles des métabolites secondaires existant dans les feuilles de *Carlina acaulis.L* présentent quatre possibilités :

- (+) : est enregistré si le réactif présente une légère opacité (présence en faible quantité).

- (+ +): est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation (présence en quantité moyenne).
- (+ + +) : est enregistré si le réactif produit une floculation ou un précipité lourd (présence en forte quantité).
- (-): est enregistré en cas d'absence de turbidité, de floculation et de précipitation (absence).
- Trace : est enregistré en cas de très faible de turbidité ,de floculation et de précipitation

Le **tableau N°5** montre les résultats des tests phytochimiques obtenus pour les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes des feuilles de *Carlina acaulis.L*

**Tableau N°5 :** Résultats des tests phytochimiques des feuilles de carlina acaulis.L

Solvants Groupe	L'eau chaud	L'ether diéthylique	L'éthanol
Les flavonoïdes	+++	/	/
Les tanins	+	-	++
Les alcaloïdes	Trace	Trace	+

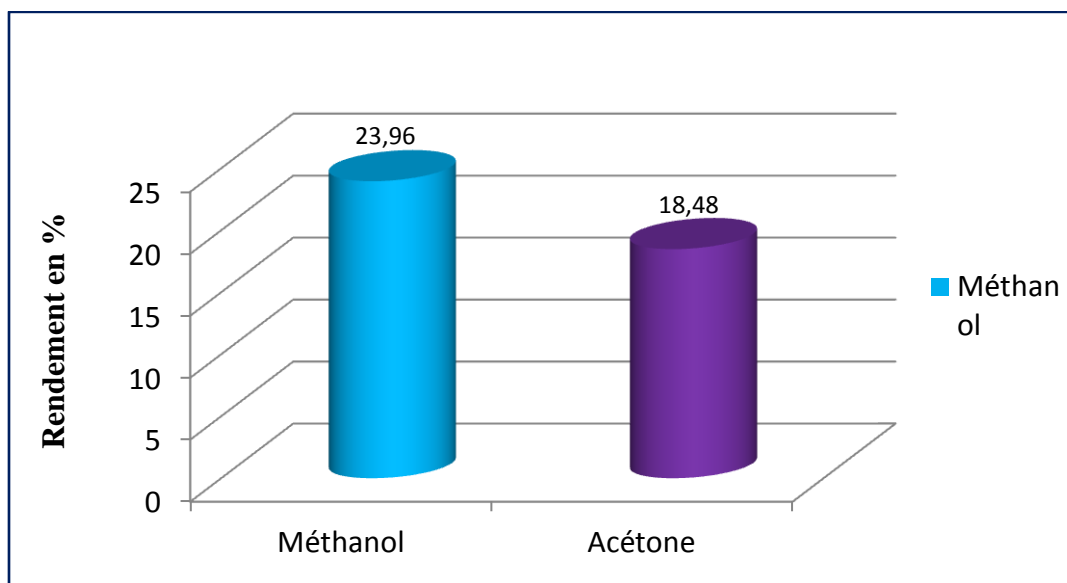
Les résultats expérimentaux des tests phytochimique réalisées sur le matériel végétal broyé montrent la présence des flavonoïdes, tanin et alcaloïdes (**Tableau N°5**).

- Les flavonoïdes sont présents avec une intensité importante dans l'extrait aqueux (+++),sa présence est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge brique.
- Les tests phytochimique réalisées ont montré la présence des tanins avec une quantité faiblement importante dans l'extrait aqueux(+),est une quantité moyenne dans l'extrait éthanolique (++) . Sa présence dans l'extrait aqueux est confirmée par l'apparition d'une couleur brun vers le noir , il s'agit donc des tanins hydrolysable. Par contre il y'à une couleur vert dans l'extrait éthanolique cela veut dire qu'il y'à des tanins condensé.
- De même nous avons observé que l'extrait éthanolique renferme une faible quantité des alcaloïdes, confirmée par l'apparition d'une précipitation.

### 3. Extraction sélective

#### 3.1. Rendement de l'extrait brut :

L'extraction des composés phénoliques de la poudre des feuilles de *Carlina acaulis.L.* est basée sur la macération à froid par deux solvant Actéone /eau et Méthanol/eau (**Figure N°14**).



**Figure N°14:** Rendement des extraits bruts par le Méthanol et l'acétone

Nous avons remarqué que l'extrait brut méthanol/eau des feuille de *Carlina acaulis.L.*, enregistre un rendement plus élevé de (23,96%) par rapport à l'extrait brut Acétone /eau qui est de (18,48%). Donc on peut dire que l'extrait méthanol/eau est plus efficace pour extraire les composés phénoliques, Tanin, Alcaloïdes et surtout les flavonoïdes.

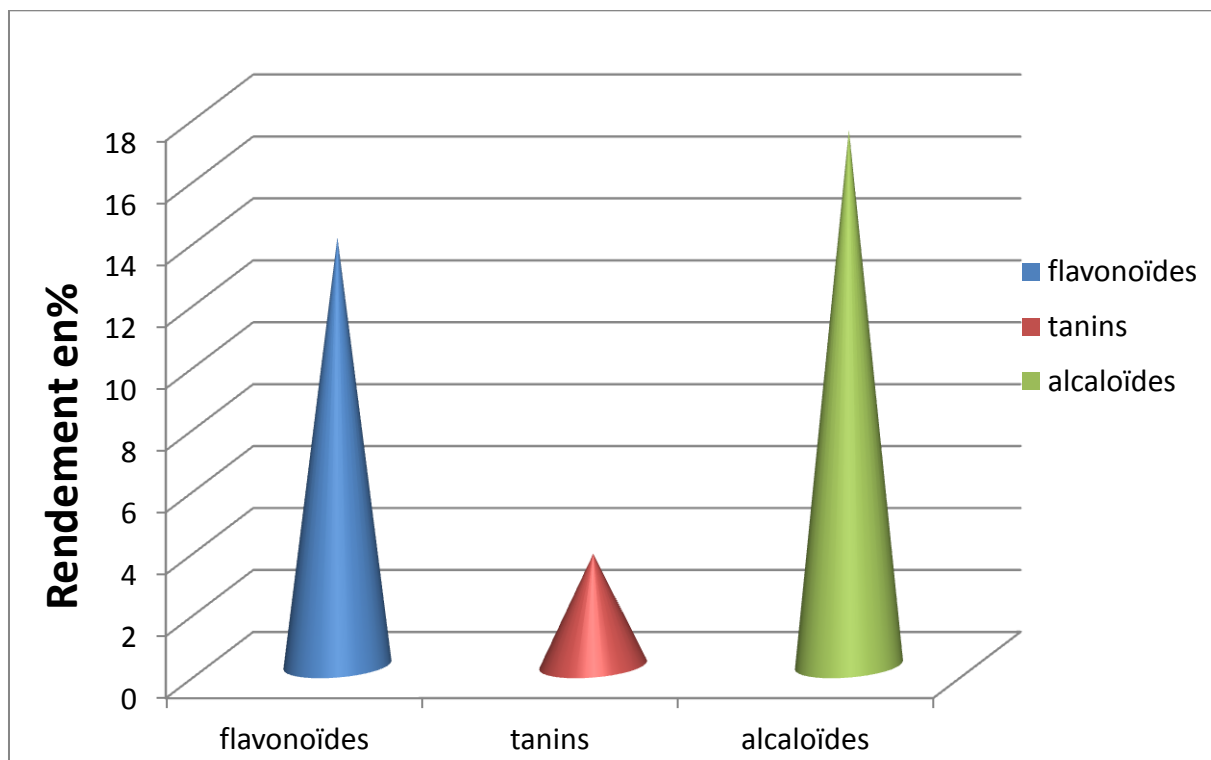
Selon **Beddou, 2015**, il a prouvé que le rendement de l'extrait brut de méthanol à 70% des feuilles de *Anvillea radiata* (30,71%) est plus élevé par rapport à l'acétone 70% qui est de 26,16%.

D'autres travaux antérieurs ont prouvé que l'addition d'eau à 20% aux solvants polaires éthanol, méthanol ou l'acétone améliore l'extraction des composés phénoliques (**Robards et Antolovich, 1997 ; Trabelsi et al., 2010**).

### 3.2. Rendement des extraits sélectifs des flavonoïdes, tanins et alcaloïdes

Les tests phytochimiques des feuilles de *Carlina acaulis.L*, nous ont permis de noter la présence de quelques familles de composés phénoliques telque les flavonoïdes, les tanins ainsi que les alcaloïdes. Ceci nous à permis de calculer leur rendement par une extraction sélective.

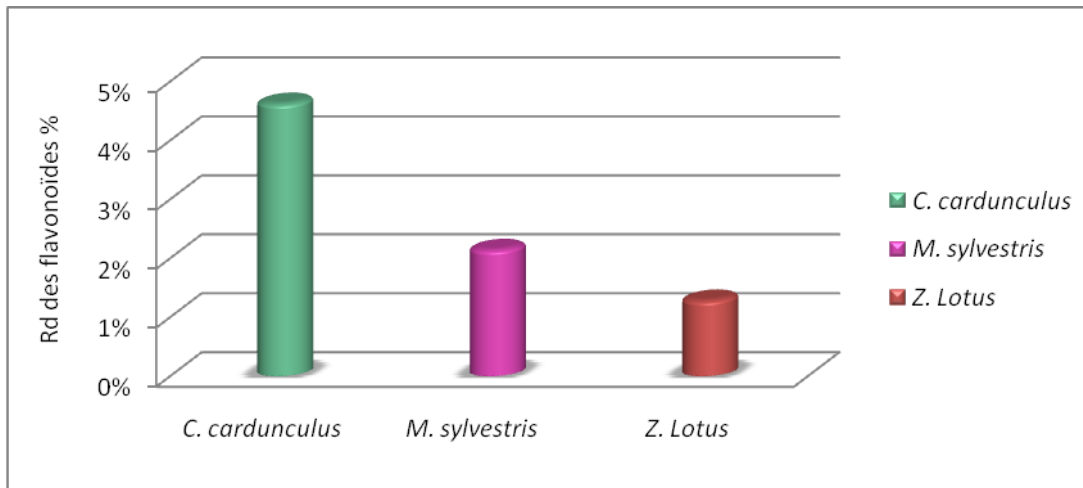
Les résultats des rendements des flavonoïdes, tanins, alcaloïdes des feuilles de *Carlina acaulis.L* sont illustrés dans la **Figure N°15**.



**Figure N°15** : Rendements des flavonoïdes et tanins et alcaloïdes des feuilles de *Carlina acaulis.L*

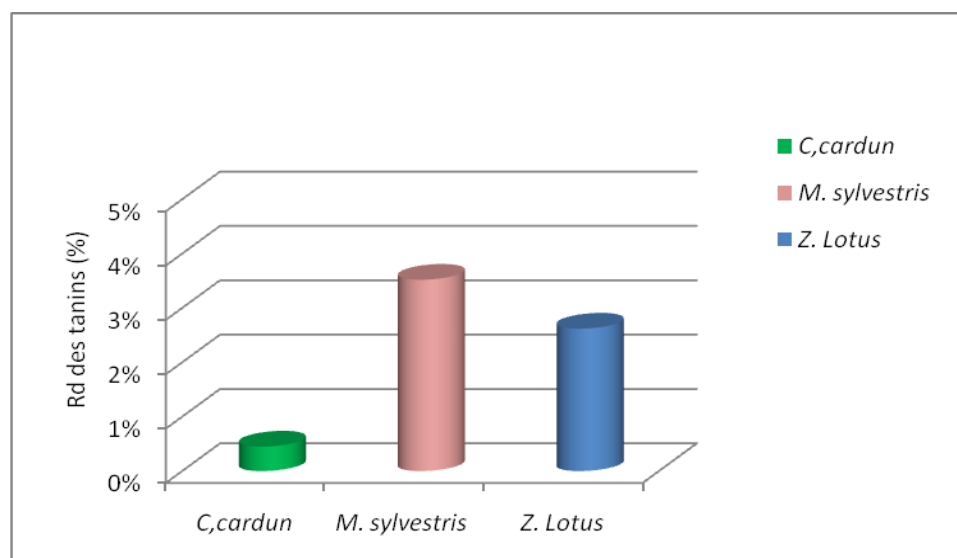
On constate par ces résultats que notre espèce étudiée possède un rendement qui reste moins important de tanins de 3,59% par rapport au flavonoïdes qui est légèrement élevé (13,82%), alors que les alcaloïdes présente le rendement le plus élevé estimé à 17,29% (**Figure N°15** ). A partir de ces valeur on peut dire que la plante étudiée elle à un grand intérêt biologique et thérapeutique.

En comparant nos résultats avec ceux de la bibliographie, on remarque que le rendement des flavonoïdes de *C. acaulis* est 9 fois plus élevé par rapport à celui trouvé dans la racine de *Zizyphus lotus* (1,28%) (**Figure N°16**) (**Riah, 2008**).



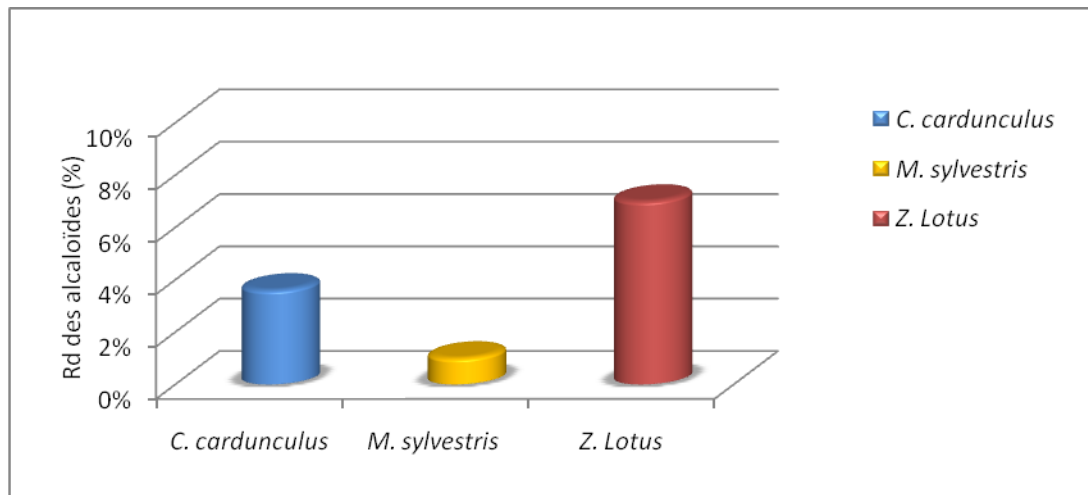
**Figure N°16:** Rendement massique des flavonoïdes chez quelques plantes sauvages.

On comparant notre plante avec d'autres, on peut dire que le rendement des tanins des feuilles de *C. acaulis* dépasse celui de *C. cardunculus* (0.45%) (**Djebbar, 2008**) (**Figure N°17**).



**Figure N°17:** Rendement massique des tanins chez quelques plantes sauvages.

La proportion des alcaloïdes chez *Carlina aculis.L* (17,29%) est presque deux fois plus élevée par rapport à celle contenu dans la racine de *Zizyfus lotus* (7.08 %) (**Riah et Bouighi, 2008**), et 5 fois plus élevée à celle trouvée au niveau du *Cynara cardunculus* (3.6%) (**Djebbar, 2008**)(Figure N°18).



**Figure N°18:** Rendement massique des alcaloïdes chez quelques plantes sauvages.

Selon **Bruneton (1999)** tous les flavonoïdes n'ont pas la même propriété de solubilité. Certains flavonoïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool, alors que d'autres ont des propriétés hydrolysables extrêmement faibles. De ce fait, le principe utilisé pour l'extraction des flavonoïdes est basé sur le degré de solubilité des flavonoïdes dans les solvants organiques.

Les niveaux d'alcaloïdes semblent fluctuer selon les saisons, ils peuvent être élevés en fin de printemps ou au début de l'été, qui sont les moments où les plantes sont traditionnellement récoltées pour être utilisées (**Smith, 1998**).

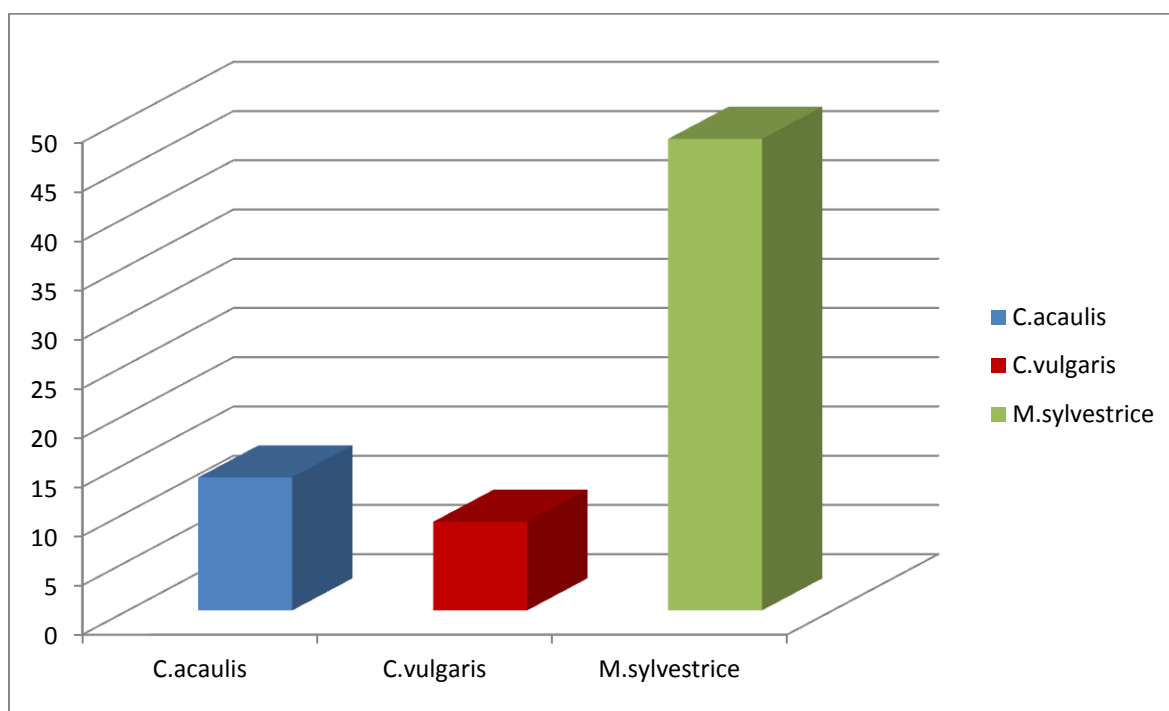
D'une manière générale, les rendements en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols : la température, la nature du solvant, la taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant (**Ben Amor, 2008 ; Penchev et al., 2010**).

#### 4. Dosage

##### 4.1. Dosage des polyphénols

Le dosage de phénol totaux à été effectué au niveau de nos extraits des feuilles de *Carlina acaulis.L*, par la méthode spectrophotométrique adaptée de **Ribereau, 1968** avec le réactif de folin ciocalteu.

La teneur en composé phénolique de notre échantillon est estimée à 13,51mg/g (**Figure N°19**).



**Figure N°19** : Teneur en phénol totaux des feuilles de *Carlina acaulis.L* et d'autres plantes

Nous avons comparé nos résultats avec d'autres plantes sauvages, la teneur en phénol des feuilles de *Carlina acaulis.L* est plus élevée par rapport à celle de *Cydonia vulgaris* (9mg/g) (**Abderrahimi, 2006**). Par contre, elle se trouve inférieure à celle de *Malva sylvestris* (47.88 mg/g) (**Briksi et Beddou, 2008**).

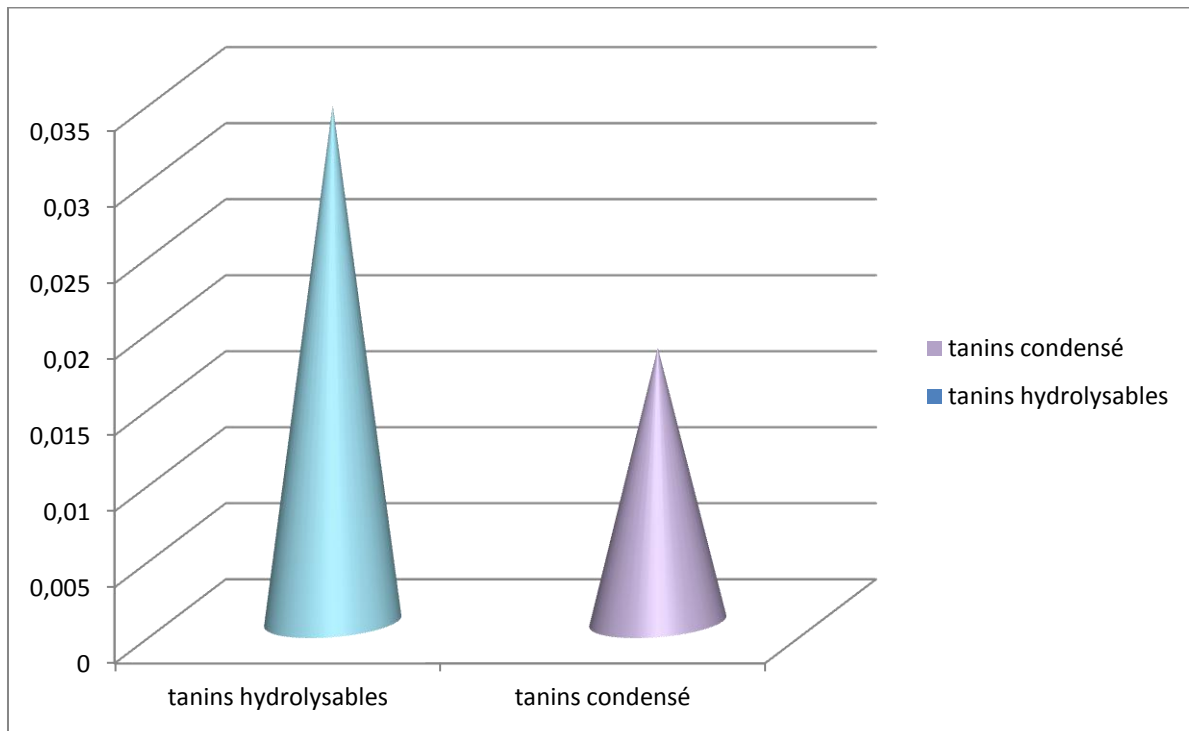
selon **Khireddine, 2013**, la teneur en phénol des feuilles de *Carlina acaulis.L* est plus élevée par rapport à *Artemisia herba halba* (2,36mg/g).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de la matière végétale sèche (mg GAE/g) (**voir annexe**).

#### 4.2. Dosage des tanins condensé et tanins hydrolysables

A partir de la méthode de chlorure ferrique qui consiste à doser les tanins hydrolysables par la formation d'ions  $Fe^{+3}$ , elle nous à permis d'aboutir à la valeur de 0,034mg/g.

Le test de la vanilline avec  $H_2SO_4$ , basé sur la condensations des composés phénoliques spécifiques des flavones3-ols nous a parmi de trouver une valeur de 0,0018mg/g des tanins condensés, les résultats sont illustrés dans la **Figure N°20**.



**Figure N°20** : Teneur en tanins condensés et tanins hydrolysables des feuilles de *Carlina aculis.L*

Si on compare les 2 résultats on aperçoit que le taux des tanins hydrolysables est plus élevé par rapport à la valeur des tanins condensés. Mais ces résultats restent inférieurs à ceux trouvés par **Kheriddine, 2013**, et qui sont estimés à 0,175mg /g.

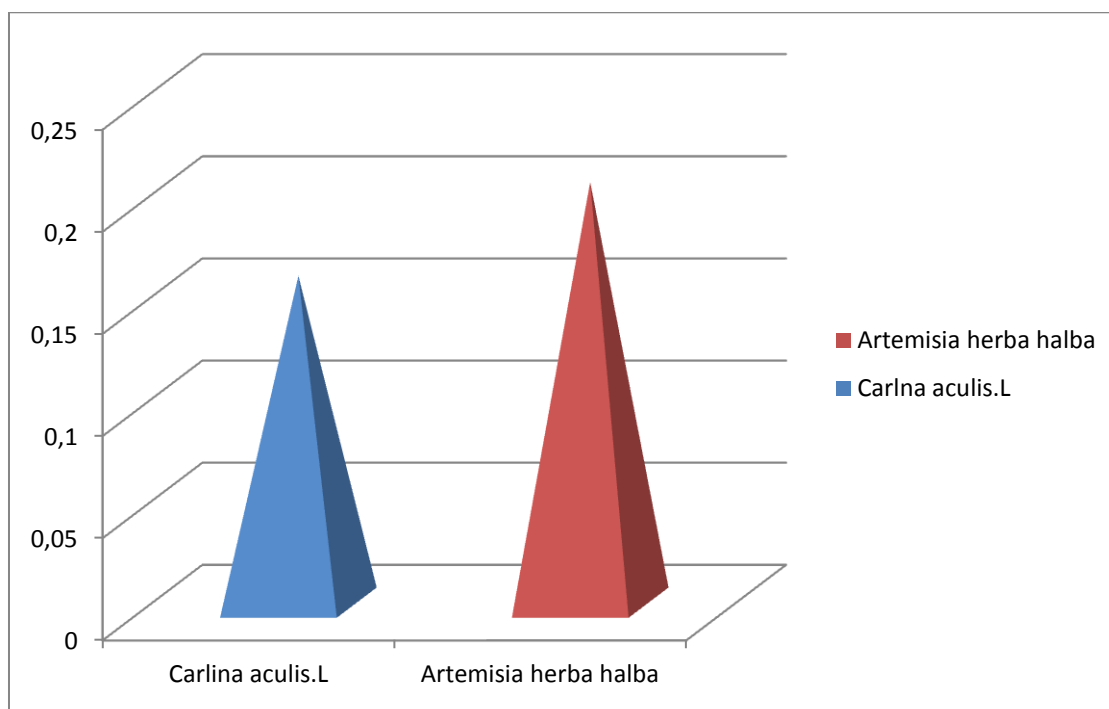
Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques, les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Aganga et al., 2001 ; Fiorucci, 2006**).



### 4.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes à été effectué sur nos extraits des feuilles de *Carlina acaulis.L* par la méthode colorimétrique décrite par **Djeridane, 2006** . La catéchine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage (**Voir annexe**).

La teneur en flavonoïdes de notre échantillon est estimée à 0,16mg/g (**Figure N°21**).



**Figure N°20** : Teneur en Flavonoïdes des feuilles de *Carlina acaulis.L* et *Artemisia herba halba*

Nous avons remarqué que la quantité des flavonoïdes des feuilles de *Carlina acaulis.L* est inférieure à celle trouvée par **khireddine,2013** chez la partie aérienne de l'espèce *Artemisia herba halba* est de 0,206mg/g.

D'après **Raynaud et al., 1979**, il a prouvé que les feuilles de *Carlina acaulis.L* pauvres en glycosyl-7-apigénine, s'avèrent riches en c-glycosyl flavonoïdes de la lutéoline (orientine, homo-orientine) et de l'apigénine (vitexine, isoschaftoside) par des méthodes chimique et spectrophotométrique .

# Conclusion Générale

## Conclusion Générale

---

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité.

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme, on les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie.

L'objet de notre travail a porté sur l'étude phytochimique des feuilles de *Carlina acaulis.L* qui appartiennent aux plantes utilisées en médecine traditionnelle.

La première analyse mise en évidence est la teneur en eau qui est de 80,54% et qui nous a permis de conclure que les feuilles de *Carlina acaulis.L* sont très riches en eau.

Les tests phytochimiques réalisés par des réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes dans la partie aérienne de l'espèce de *Carlina acaulis.L*.

Le rendement de l'extrait brut de Méthanol/eau (80/20) est de 23,96%, cette valeur dépasse celle de l'extrait brut de Acétone / eau (70/30) qui est de 18,48%.

L'extraction sélective des métabolites secondaires nous a permis de constater que les rendements des flavonoïdes sont à 13,82%, les tanins à 3,59% et les alcaloïdes à 17,29%.

Les résultats de dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins hydrolysables et condensés sont à : 13,51 mg/g - 0,16 mg/g - 0,034mg/g et 0,0018mg/g de matière sèche respectivement.

Cette étude a permis de mieux connaître la phytochimie de cette espèce *Carlina acaulis.L*, en outre elle a démontré l'intérêt de cette plante comme source de nouveaux produits naturels et de composés à activité biologique et pharmacologique prometteuse.

A cet effet nous espérons dans le futur avoir des études sur :

- Les effets toxiques de cette plante.
- Une évaluation des activités biologiques : antioxydantes, antibactérienne, antivirales, anticancéreuse et anti-inflammatoire ...etc
- Application des techniques plus performantes (HPLC, RMN...) dans l'étude phytochimique pour une identification fiable de certaines molécules isolées.
- Extraction des huiles essentielles des racines et des feuilles de *Carlina acaulis.L*.

# Références bibliographique

## Références bibliographique

---

### A

- **Abderrahimi S. (2006).** Contribution a l'étude phytochimique des racines de *Cydonia*.
- **Agnaga AA ; Mosase KW .(2001).**Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*,*Ziziphus mucropata*,*Sclerocarya birrea*, *kirkia*,*acuminate* and *Rhus lancea* seeds.*Animal Feed Science and Technology*,91:107-113.
- **Audigie CL ; Figarelle J ; Zons zani F. (1980)** .Manipulation d'analyses biochimique Ed. Doin. Paris ,pp :88-97.

### B

- **Badiaga M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de doctorat, Université de Bamako. p : 10.
- **Bath Smith; Swain.(1962).** A heam analyses on tannin. The concept of relative astringery phytochemistry. p :907-912.
- **Beddou K; Brixi Ahmed N L. (2008).** Contribution à l'étude de la composition chimique de la mauve. mémoire université de Tlemcen d'ingénieur.
- **Beddou F. (2015)** .Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales Sahariennes *Rumex vesicarius.L* et *Anvillea radiata Coss et dur*. Thèse pour obtenir le diplôme de doctorat en biologie cellulaire et biochimie. Université de Tlemcen. P : 75.
- **Beloud A. (1998).** Plantes médicinales d'algérie.OPU.Alger.
- **Ben Amor B. (2008).**Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principe actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée. Thèse de doctorat. Université de la rochelle. P 207.
- **Bensouma A. (2014).**Composition chimique et propriétés biologiques de l'huile essentielle de *Centaurea aculis.L*(Nagour).Mémoire pour obtenir le diplôme de Master en chimie. Université de Tlemcen P : 17.
- **Bernard K. (2001).**Université de Strasbourg. Faculté de Pharmacie Diapositive (film : 93 - photo 9) numérisée en format tiff (cd 4 -j.31).
- **Berthod A; Billardello B; Geoffray S. (1999).** Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separation1 analysis. *Analisis*, 27, 750-757.
- **Blahova B ; Brands Tererova E; Fabulova A. (2004).** Isolation and determination of phenolic compounds in fruit-green tea. *Journal of liquid chromatography And Related*

## Références bibliographique

---

Technology, 27(1), 31-48.

- **Bouchriha A; Habbar A; Beghdad C. (2009).** Évaluation du pouvoir antioxydant des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes de *Carlina acaulis* (Tafgha) et *Mesembryanthemum crystallinum* (Frach n'da) de la région de Tlemcen (mémoire).
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. médicales internationales Editions Technique et documentation, cachan, (S.I). pp647-673 .

### C

- **Chalchat JC. (1996).** Study of anti-dermatophyte effect of ten herbal methanolic extract *J Kerman Med Univ Sci, 3 (3) (1996), pp. 115–122.*
- **Cowan M M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews.* 12 (4) : 564-570.
- **Crespy VC ; Morand C ; Besson C ; Cotelte N ; Vézin H ; Demigné C ; Rémésy C.(2003).** "The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the nature of the compound." *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 284(6): G980-G988.
- **Crozier A; Clifford M N; Ashihara H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.

### D

- **Dauguet JC ; Foucher JP. (1982).** Les flavonoïdes de *Arbutus Unedo. L.* (Erlcacées). *Plantes médicinales et phytothérapie,* 16 (3) : 185-191.
- **Decloitre F. (1993).** Impact des facteurs alimentaires sur les mécanismes de la cancérogénèse : bases d'une prévention des cancers par l'alimentation. *Cahiers de Nutrition et de diététique.*, 28 (2) : 85-95.
- **Diouf PN. (2003).** Étude comparative de méthodes de mesure de l'activité antioxydante. Applications aux extractibles de bois. Liens avec la stabilité de la couleur du bois. Thèse doctorat. Université Henri Poincaré. France.
- **Dixon AA; Paiva NL. (1995).** Stress-induced phenyl propanoid metabolism. *The Plant Cell,* 7, 1085-1097.
- **Djebbar F. (2008).** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant des métabolites secondaires du cardon, du chou vert et du chou rouge de la région de Tlemcen.
- **Djeridane B; Nadjemi S; Maamri F; Djireb P; Stocker.(2006).** Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxyl esterase, *J Enzyme Inhib Med Chem,* Volume 21, No 6, pp 719-726.

## Références bibliographique

---

- **Djordjevic IB; Vasic M; Ivkovic I .(2005).**Gabitov *Journal of lightwave technology* 23 (11), 3755.
- **Dordevic S; Petrovic S; Dobric S; Milenkovic M; Vucićević D; Zizic S; Kukic J .(2007).** Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *Journal of Ethnopharmacology.* 109, 458-463.

### E

- **Eliska T ; Nicolas B ; Bernard JG .(2013).**Atlas illustré des plantes sauvages. P: 92, ISBN : 978-2-35530-189-6.

### F

- **Feild TS; Lee DW; Holbrook NM. (2001).** Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. *Plant Physiol* , 127:566-574.
- **Ferhat M; Kadi I ; Lahouaou A. (2009).**Recherche des substances bioactives de l'espèce *Centaurea microcarpa* coss et dur. Mémoire pour obtenir le diplôme des études supérieures en biologie DES. Université de M'sila.
- **Fiorucci S. (2006).**Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat, Nice. p211.
- **Formica JV ; Regelson W. (1995).** Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol* 33: 1061-80.
- **Fouche JG ; Marquet A ;Hambuckers A.(2000).**Les plantes médicinales,de la plante au médicament.Observatoire du monde des plantes Sart-Tilman.
- **Foudhil M. (1990).**Contribution à l'étude de la valeur nutritionnelle et possibilité de son incorporation dans l'alimentation animale.Thèse ingénieur en contrôle de la qualité et analyse I.N.E.S.de biologie.Tizi Ouzou.
- **Fleuriet A ; Jay-Allemand C ; Macheix JJ.(2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.

### G

- **Garnier G ; Bézanger-Beauquesne L ; Debraux G. (1961).** Ressources médicinales de la flore Française Tome 1, *Paris VIème, Vigot Frères, Editeurs.*
- **Garnier G ; Bézanger-Beauquesne L ; Debraux G. (1961).**Ressources médicinales de la flore Française. *Tome 2, Paris VIème, Vigot Frères, Editeurs.*
- **Gérald B . (2012).** Patrice de Ruffray et Henry Brisse.

## Références bibliographique

---

- **Gross GG. (1992).** Enzymes in the biosynthesis of hydrolyzable tannins. In Plant Polyphenols, Edited by R.W.Hemingway and P.E. Laks, Plénum Press, New York, pp 95-98.
- **Guignard JL. (1996).** Abrégé de biochimie végétale, Ed. *Masson*, Paris, p : 160 .

### H

- **Harborne JB.(1989).**General procedures and measurement of total phenolics.in J.B. harborne (ED).methods in plant biochemistry:London:academic press.volume plant phenolics(1-28).
- **Harborne JB; Herbert B.(1995).** *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Bristol: Taylor & Francis. 1995.
- **Harborne JB. (1998).**Phytochemical methods. a guide to modern techniques of plants analysis.Third Edition.
- **Harborne JB; Williams CA. (2001).** Nat Prod. Rep, 18, 310-333.
- **Harbone H; Jeffrey B. (2008)** .Dictionnry of economic plants chemical, wiley,p.12 ,ISBN c-471-49226-4.
- **Hutzelr P ;Fishbach R ;Heller W ; Jungblut TP ; Reuber S ;Schmitz R ;Veit M ;Weissenbock G; Schnitzler JP.(1998).**Tissue localisation of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy.journal of experimental botany ;49 (323) : 953-965 .

### I

- **Iserin P. (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres.

### K

- **Khireddine H. (2013).**comprimes de poudres de dates comme support universal des principes actifs de quelques plantes médicinales d'algerie.Mémoire pour obtenir le diplôme de magister en technologie alimentaire .Université M'hamed Bougra Boumerdes.



## Références bibliographique

---

### L

- **Link P; Roth K; Sporer F; Wink M. (2016).**Carlina acaulis exhibits antioxidant activity and counteracts A $\beta$  toxicity in caenorhabditis elegans.molecules and cells,21(7),(871).DOI:10.3390/molecules 21070871.

### M

- **Macheix JJ ; Fleuriot A ; Jay-allemant C. (2005).** les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique , 1<sup>ère</sup> édition , presses polytechniques et universitaires romandes , lausanne bio ed 54-65.
- **Mauro NM. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.
- **Meusel H ; Kästner A. (1990).** Lebensgeschichte der Gold-undSilberdisteln, Monographie dermediterran-mittel europäischen Compositen-Gattung Carlina, *Band I, Springer-Verlag, Wien,New York, 1990.*
- **Michel B. (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, professeur de botanique faculté de pharmacie de L.imoges ;Lavoisier,paris .ISBN :978-2-7430-1112-3.
- **Middleton EJ; Kandaswami C; Theoharides TC .(2000)** .The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev* 52: 673-751.

### N

- **Nicholas J ; Baptiste G ; Guibourt. (1838).** Histoire Abrégée des drogues simples, société encyclographiques des science médicales.p:310.

### P

- **Paris RR ; Moysse H. (1971).** *Précis de Matière Médicale, Tome III.*, Paris, Masson, 1971.
- **Penchev P; Angelov G ; Condoret JS. (2010).** *Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de lamélisse (Melissa officinalis.L)Revue de génie industriel* 5 :115-123 .
- **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.
- **Pulido R; Bravo L; Saura-Calixto F. (2000).** Antioxidant activity of dietary

## Références bibliographique

---

polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay.  
Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 3396–3402.

### R

- **Rameau JC ; Mansion D ; Dume G. (1989).** flore forestière française, guide écologique illustré, Tome 1 : Plaines et collines. Ministère de l'agriculture et Institut pour le développement forestière, Paris. 1785p.
- **Raynaud J ; Rasolojaona L. (1979).** flavonoides des feuilles de *Carlina acaulis*. volume : 37, pp : 168-171.
- **Ramassamy C. (2006).** Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *European Journal of Pharmacology*, 545: 51–64.
- **Raynaud J ; Rasolojaona L. (1979).** Flavonoides des feuilles de *Carlina aculis*. volume : 37, pp : 168-171.
- **Ribéreau-Gayon P. (1964).** Les composés phénoliques du raisin et du vin. Les flavonosides et les anthocyanosides. *Ann. Physiol. Vég.*, 6: 211-242.
- **Ribereau-Gayou P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Traité d'œnologie. Paris. Edition Dunod. P254.
- **Riah K ; Bouighi Z. (2008).** Evaluation du pouvoir antioxydant de *Zizyphus lotus* (Sedra) de la région de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention de diplôme d'étude supérieur. Biochimie, Université de Tlemcen, 27-29.
- **Robards K; Antolovich M. (1997).** Analytical chemistry of fruit bioflavonoids : a review. *Analyst*, 122(2):11-34.
- **Roux D ; Catier O. (2007).** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. collection du cahier du préparateur en pharmacie, pp141-146.

### S

- **Semeler FW. (1889).** Vincent Van Gogh's A Cornfield, with Cypresses, John Leighton, Anthony Reeve, Ashok Roy and Raymond White, *National Gallery Technical Bulletin*, 1989, Volume 11, pp 42–59.
- **Schauenberg P ; Paris F. (1977).** Guide Des Plantes Médicinales, Milan, Et Niestlé.
- **Sharma B; Viswanath G; Salunke R; Roy P. (2008).** Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *Food Chem.*, 110, P: 697-705.

## Références bibliographique

---

- **Singleton VL; Orthofer R ; Lamuela-Raventos RM. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. *Method.Enzymol.* 299: 152-178.
- **Smith GF. (1998).** Mesembryanthemaceae of the world. Briza publications, Pretoria.
- **Spencer GF; Kleiman R; Earle FR; Woeff IA. (1968).** Northern regional Research, volume 4, pp:99-101.
- **Stoclet JC ; Chataigneau T ; Ndiaye M ; Min-Ho O ; El jasser B ; Marta C ; Valerie B ; Schini, K. (2004).** Vascular protection by dietary polyphenols. *European Journal of Pharmacology*, 500: 299-313.
- **Strzemski M. (2016).** *Carlina species as a new source of bioactive pentacyclic triterpenes. industrial crops and products 94*, pp: 498-504.

### T

- **Thomas M. (2011).** Nouvelles methodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification. application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaerhamnoides*). Food and Nutrition. Université d'Orléans. France.
- **Trabelsi N ; Megdiche W ; Ksouri R ; Falleh H ; Oueslati S ; Bourgou S ; Hajlaoui H ; Abdely C. (2010).** Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT Food science and Technology*, 43(4):632-639.
- **Trease E; Evans WC. (1987).** *Pharmacognosy. Billiare. Tindall. Londone 13 th Edn*; pp : 61-62.

### V

- **Verhoeyen ME ; Bovy A ; Collins G ; Muir S ; Robinson S ; DeVos CHR; Colliver S.(2002).** Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany* ;53(377) :209-210.
- **[www.complements-alimentaires.co](http://www.complements-alimentaires.co)**
- **[www.mr-plants.com](http://www.mr-plants.com)**

## Références bibliographique

---

les annexes

# Les annexes

---

## Annexe 01 : Préparation des réactifs:

### 1-Réactifs de Mayer:

Dissoudre 1.358 g de **Hg Cl<sub>2</sub>** dans 60ml d'eau distillée;

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

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

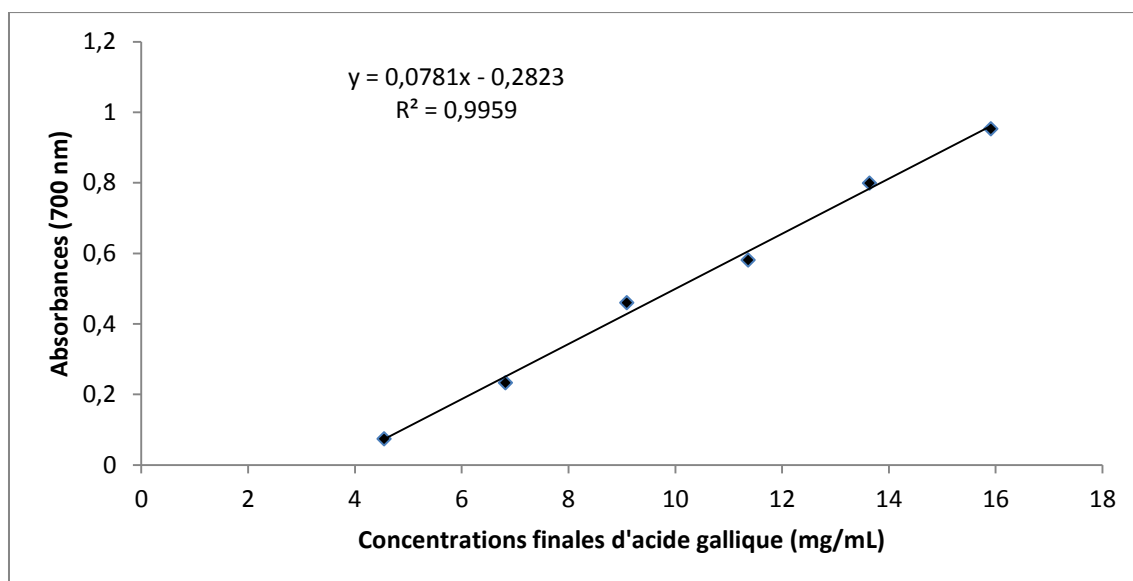
### 2-Réactifs de Wagner:

Dissoudre 2 g de **KI** et 1.27 g de **I<sub>2</sub>** dans 75 ml d'eau distillée;

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

## Annexe 02 :

Les résultats de dosage des phénols totaux de l'extrait brut Méthanol /eau des feuilles de *Carlina aculis.L* qui sont absorbance en fonction d'acide gallique.

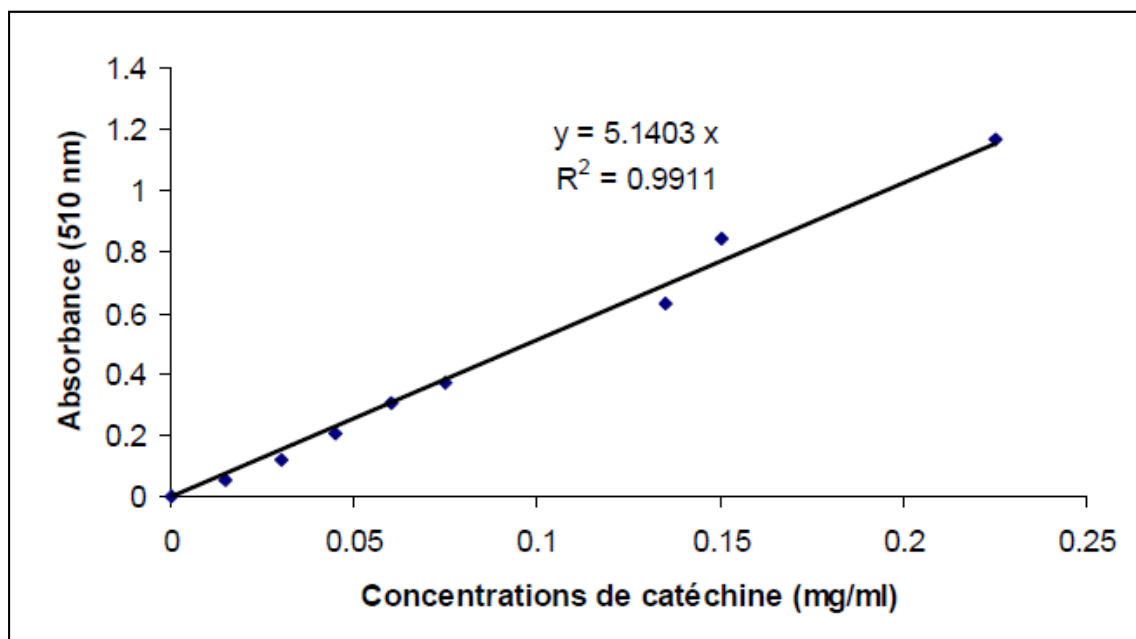


Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

## Les annexes

---

Les résultats de dosage des flavonoïdes de l'extrait brut Méthanol /eau des feuilles de *Carlina aculis.L* qui sont absorbance en fonction de catéchine.



Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes

## Résumé

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Dans cette contribution, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique des métabolites secondaires telque les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les alcaloïdes des feuilles de *Carlina acaulis. L.*, de la région de Tlemcen, qui appartient à la famille des Astéracées et connue sous le nom vernaculaire de « Tafgha ».

Cette plante est connue par sa richesse en eau qui est estimée à 80,54% dans sa partie aérienne, l'étude phytochimique a montré une forte quantité en flavonoïdes contrairement aux tanins et alcaloïdes qui présentent des quantités plus faible que les précédentes. Le rendement de l'extrait brut de la partie aérienne (feuille) de *Carlina acaulis.L* par les deux solvants Méthanol/Acétone révèle des pourcentages de 23,96% et 18,48% respectivement, or le rendement de flavonoïde, tannins et alcaloïde sont estimés à 13,82% - 3,59% et 17,29% respectivement.

Le dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait enregistre 13,51 mg éq AG/g MS, suivie par la teneur de tanin condensé et hydrolysable respectivement à 0,0018 mg/g et 0,034 mg/g, Tandis que le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), les résultats montrent que ce dernier présente la teneur la plus faible à savoir une moyenne de 0,16 mg/g.

**Mots clés :** *Carlina acaulis.L.*, les métabolites secondaires, le dosage des polyphénols.

## Abstract

Medicinal plants have always had an important place in the therapeutic arsenal of humanity. In this contribution we are interested in the phytochemical study of secondary metabolites such as phenolic compounds, flavonoids, tannins and alkaloids of Leaves of *Carlina aculis.L* of the region of Tlemcen, which belong to the family of Asteraceae and known under the name "Tafgha".

This plant is known for its richness of water which is estimated 80.54% in its aerial part, the phytochemical study showed a large amount of flavonoids, on the other hand, to the tannins and alkaloids which are less important than the preceding. the crude extract of the aerial part (sheet) of *Carlina acaulis.L* by the two solvents Methanol / Acetone Revealed 23.96% and 18.48%, respectively, and the yield of flavonoide, tannis and alkaloids in this plant, estimated at 13.82% - 3.59% and 17.29%, respectively.

The spectrophotometric determination of the total polyphenols for the extract of our biological material was estimated by the Folin-Ciocalteu colorimetric method, the results obtained show that the extract registers 13.51 mg éqAG / g MS; Followed by the content of condensed tannin and hydrolyzable respectively 0.0018 mg / g and 0.034 mg / g; while the dosage of flavonoids was performed according to the mettad of aluminum trichloride (AlCl<sub>3</sub>), the results show that it is the flowert pevel ie an average of 0.16 mg / g.

**Key words:** *Carlina acaulis.L.*, secondary metabolite, Tlemcen region.

## ملخص

كان للنباتات الطبية دائما مكانة هامة في ترسانة العلاج الإنسانية، في هذه المساهمة نحن مهتمون بدراسة الكيمياء النباتية للمركبات الثانوية مثل المركبات الفينولية، الفلافونيدات، التانات و القلويات من محطة في منطقة تلمسان لأوراق كارلينا أكوليس، و التي تنتمي إلى عائلة أستراسيا و المعروفة بإسم «تافغا».

هذا النبات معروف عن غناه بالماء في الجزء الجوي و الذي يقدر ب 80,54% و أظهرت دراسة الكيمياء النباتية أعلى كمية من الفلافونيدات في حين أن التانات و القلويات أقل كمية من العناصر السابقة. و فيما يتعلق بأداء مردودية الجزء الجوي لأوراق كارلينا أكوليس للمذيبات الميثانول و الأسيتون تظهر نسب 23,96% و 18,48% على التوالي، أما العائد من الفلافونيدات و التانات و القلويات في هذه النبتة يقدر ب 13,82% , 3,59% , 17,29% على التوالي.

قدرت جرعة العزم الطيفي من مادة الفينولات الكلية لأوراق هذه النبتة بطريقة قياس الالوان عن طريق كاشف الفولانسيوكالتو , أظهرت نتائج أن الاستخراج قدر ب 13,51مغ/مغ/غ تليها نسبة التانات المكثف و المحلل على التوالي : 0,0018مغ/مغ و 0,034مغ/مغ، مع أن تركيز الفلافونيدات بطريقة قدرت بمعدل 0,16مغ/مغ

**كلمات البحث:** كارلينا أكوليس، المركبات الثانوية، منطقة تلمسان