

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SALAH BOUBNIDER CONSTANTINE 3**



FACULTE DE GENIE DES PROCÉDES

DEPARTEMENT DE GENIE PHARMACEUTIQUE

N° d'ordre :

Série :

Mémoire de Master

Filière : génie des procédés

Spécialité : génie pharmaceutique

**CONTRIBUTION A L'IDENTIFICATION DE QUELQUES STRUCTURES
MOLECULAIRES CONTENUES DANS UNE PLANTE MEDICINALE
ALGERIENNE (*GLOBULARIA ALYPUM*) PAR ANALYSES
CHROMATOGRAPHIQUE ET SPECTROSCOPIQUE**

Dirigé par:

Dr. BENAÏSSA-KACEM CHAOUICHE Akila

Maitre de conférences classe A

Présenté par :

SLAMA Meriem

REZGOUNE Rawnak

Année Universitaire 2018/2019

Session :(juillet)

Table des matières

Liste des tableaux.....	IX
Liste des figures.....	X
Liste des abréviations.....	XIII
Introduction générale.....	1
1. Synthèse bibliographique.....	4
1.1. <i>Globularia alypum</i>	4
1.1.1. Généralités.....	4
1.1.2. Description	4
1.1.3. Aire géographique	Erreur ! Signet non défini.
1.1.4. Composition chimique et activités biologiques	5
1.2. Polyphénols	5
1.2.3. Généralités.....	5
1.2.4. Classes des polyphénols	7
1.2.4.1. Acides phénoliques	7
1.2.4.2. Stilbènes	8
1.2.4.3. Lignines	8
1.2.4.4. Lignanes	9
1.2.4.5. Coumarines	10
1.2.4.6. Flavonoïdes	10
1.2.4.7. Tanins.....	11
1.2.5. Propriétés chimiques des polyphénols	13
1.2.6. Stress oxydatif.....	13
1.2.6.1. Définition d'un radical libre	13
1.2.6.2. Polyphénols naturels comme antioxydants	13
1.3. Extraction des plantes médicinales.....	14
1.3.1. Etapes d'extraction des plantes médicinales.....	15
1.3.1.1. Réduction de la taille	15
1.3.1.2. Extraction.....	15
1.3.1.3. Filtration.....	15
1.3.1.4. Concentration.....	15

1.3.2.	Différentes modes de préparation des plantes médicinales.....	16
1.3.2.1.	Macération	16
1.3.2.2.	Digestion	16
1.3.2.3.	Infusion	16
1.3.2.4.	Décoction	16
1.3.2.5.	Hydrodistillation	16
1.3.2.6.	Percolation	17
1.3.2.7.	Extraction en continu à chaud (Soxhlet).....	18
1.3.2.8.	Extraction par ultrasons	19
1.3.2.9.	Extraction par micro-onde	19
1.4.	Technique de séparation chromatographique	20
1.4.1.	Chromatographie en phase liquide sur colonne (CLC).....	21
1.4.1.1.	Chromatographie liquide-liquide ou de partage (LCC).....	22
1.4.1.2.	Chromatographie échangeuse d'ions.....	22
1.4.1.3.	Chromatographie d'exclusion stérique.....	22
1.4.2.	Chromatographie planaire (de surface)	22
1.4.3.	Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	23
1.4.3.1.	Histoire et principe de base.....	23
1.4.3.2.	Appareillage	24
1.4.3.2.1.	Colonne	25
1.4.3.2.2.	Réservoir de la phase mobile	26
1.4.3.2.3.	Pompes	26
1.4.3.2.4.	Détecteurs.....	26
1.4.3.2.5.	Injection d'échantillons.....	28
1.4.3.2.6.	Enregistreur	28
1.4.4.	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse	28
1.4.5.	Spectrométrie d'absorption de l'ultraviolet et du visible	29
1.4.5.1.	Domaine spectral UV/Visible et l'origine des absorptions.....	29
1.4.5.2.	Instrumentation dans l'UV/Visible	29
1.4.5.2.1.	Sources lumineuses	30

1.4.5.2.2.	Systèmes dispersifs	30
1.4.5.2.3.	Détecteurs.....	31
1.4.5.3.	Analyse quantitative : lois de l'absorption moléculaire.....	31
1.4.5.3.1.	Loi de Beer et Lambert.....	31
2.	Matériel et méthodes.....	34
2.1.	Appareillage.....	34
2.2.	Réactifs et produits chimiques.....	34
2.2.1.	Réactifs.....	34
2.2.2.	Produit	35
2.2.3.	Etalons ou standards.....	35
2.3.	Verrerie utilisée au laboratoire	35
2.4.	Matériel végétal	35
2.4.1.	Préparation d'extrait hydrométhanolique de <i>Globularia alypum</i> par macération.....	35
2.4.2.	Evaporation	37
2.4.3.	Détermination du rendement d'extraction.....	37
2.5.	Chromatographie en phase liquide sur colonne (CPL).....	38
2.5.1.	Réalisation d'une colonne CPL.....	38
2.5.2.	Fractionnement de l'extraits sur colonne CPL.....	38
2.6.	Dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteau.....	40
2.6.1.	Objectif.....	40
2.6.2.	Principe.....	40
2.6.3.	Mode opératoire	40
2.6.3.1.	Détermination de la courbe d'étalonnage	40
2.6.3.2.	Teneur des polyphénols totaux dans les fractions et l'extrait de <i>Globularia alypum</i>	41
2.7.	Dosage des flavonoïdes totaux	41
2.7.1.	Objectif.....	41
2.7.2.	Principe.....	42
2.7.3.	Mode opératoire	42
2.7.3.1.	Détermination de la courbe d'étalonnage	42

الملخص

يتضمن موضوع دراستنا المساهمة في تحديد بعض مركبات نبات *Globularia Alypum*، وهذا بعد استعمال تقنية النقع، حيث تحصلنا على مستخلص يقدر مردوده بـ 47,50 %، ثم تطرقنا بعدها الى عملية الفصل حيث استعملنا نوعية كروماتوغرافية الأعمدة والتي تحصلنا من خلالها على 47 عينة وبعدها قدرنا كمية البوليفينول الكلي و كمية الفلافونويد الموجودة في المستخلص الخام و عينات (CPL) حيث تقدر كمية البوليفينول الكلي لهذا المستخلص [4.261 -178.500] mg Eq AG/ M.S أما بالنسبة للعينات فقد وجدنا قيم تتراوح ما بين 212.875 mg Eq AG/ M.S اما كمية الفلافونويد في المستخلص الخام فقد قدرت بـ 919.40 mg Eq QE/g M.S وفي العينات فهي تتراوح بين [1.334-39.881] mg Eq QE/g M.S. اخترنا بعدها عدد من العينات التي تحتوي على كمية معتبرة من الفلافونويد وقمنا باختبار النشاط المضاد للأكسدة بواسطة DPPH ولقد لاحظنا أن بعض العينات لديها قدرة مضادة عالية مثل العينة رقم 19 ($IC_{50} = 7.389 \text{ mg/l}$). بعدها استعملنا على بعض العينات طريقة فصل أخرى وهي كروماتوغرافية الورق حيث تحصلنا من خلالها على عينات أخرى تحتوي على عدد اقل من المركبات الموجودة في المستخلص الخام والعينات CPL والتي قمنا بتحليلها بواسطة مطياف الأشعة فوق البنفسجي UV/visible من خلال هذا التحليل وضعنا فرضية إمكانية وجود مركب في هذه العينات نوع الفلافونويدات (الكاتيشين) كما تبين لنا ان المستخلص الخام له تأثير كبير على البكتيريا حيث *Staphylococcus* (20 mm) وتليها *B. subtilis* و *Enterobacteriaceae* (15 mm) لاحظنا ان هذا التأثير قد قل في عينات (CPL) ومع ذلك فقد وجدنا ان العينة رقم 11 لها تأثير واضح ضد البكتيريا *Enterobacteriaceae* (18mm).

الكلمات المفتاحية

كروماتوغرافية الأعمدة، البوليفينول الكلي، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة، كروماتوغرافية الورق، نشاط مضاد للبكتيريا UV/visible الأشعة فوق البنفسجية مطياف *Globularia alypum*،

Résumé

Notre travail consiste en une contribution à l'identification de quelques structures de l'espèce *Globularia Alypum*. L'extraction par macération classique, à partir des feuilles de cette plante, a donné un rendement d'extraction considérable de 47.50 %. Le fractionnement sur colonne chromatographique de cet extrait brut a permis d'obtenir 47 fractions. La quantité des polyphénols totaux contenue dans l'extrait brut est de 212.875 mg Eq AG/ M.S, tandis que celle des fractions (CPL) varie entre [4.261 -178.500] mg Eq AG/g M.S. Les teneur des flavonoïdes enregistrées sont égales à 40.919 mg Eq QE/g M.S pour l'extrait brut et varient dans la gamme [1.334-39.881] mg Eq QE/g M.S pour les fractions(CPL). Pour les fractions ayant des quantités importantes en flavonoïdes, le test de l'activité anti-oxydante par méthode de DPPH, a révélé un pouvoir antiradicalaire élevée pour la fraction 19 ($IC_{50} = 7.389 \text{ mg/l}$). La séparation des fractions (CPL) sur plaque CCM a aboutit à des fractions moins chargées dont l'analyse par spectrométrie UV-visible a permis de supposer la présence d'un flavonoïde (la catéchine).

L'extrait brut présente un effet antioxydant significatif contre *Staphylococcus* (20 mm), suivi de *B. subtilis* et *Enterobacteriaceae* (15 mm). Cependant, cet effet est diminué dans le cas des fractions CPL ; néanmoins, la fraction 11 (CCM) possède un effet très important contre *Enterobacteriaceae*. (18 mm).

Mots clés

Globularia Alypum, polyphénols, flavonoïdes, méthode folin-ciocalteu, méthode DPPH, HPLC, CCM