

# Métabolisme Secondaire des plantes

M1 Biodiversité et Physiologie Végétale

2023/2024



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie et d'écologie végétale

Dr BOUCHAALA  
Université de Sétif 1  
[Bouchaala.meriem@yahoo.fr](mailto:Bouchaala.meriem@yahoo.fr)

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ferhat Abbas Sétif-1  
Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie et écologie végétales

POLYCOPIE DE COURS

Module

# Métabolisme secondaire des plantes

M1 Biodiversité et Physiologie Végétale

Réalisé par

Dr. Bouchaala M

Année universitaire

2023/2024

**Table des matières****Introduction****Chapitre 1 : Métabolisme secondaire**

1. Définition	1
2. Rôle biologique des métabolites secondaires	2
3. Différentes classes des métabolites secondaires	2
3.1. Composés terpéniques	2
3.1.1. Définition	2
3.1.2. Biosynthèse des composés terpéniques	3
3.1.2.1. Voie du mévalonate MVA	3
3.1.2.2. Voie non-mévalonate MEP (Méthylérythritol phosphate)	4
3.2. Composés phénoliques	5
3.2.1. Définition	5
3.2.2. Biosynthèse des Composés phénoliques	5
3.2.2.1. Voie du shikimate	5
3.2.2.2. Voie acétate-malonate (Voie de l'acide malonique)	7
3.2.3. Flavonoïdes	8
3.2.3.1. Biosynthèse des flavonoïdes	8
3.3. Composés azotés (Alcaloïdes)	10
3.3.1. Définition	10
3.3.2. Biosynthèse des alcaloïdes	11
3.3.2.1. Synthèse de la nicotine	11
3.3.2.2. Synthèse de la papavérine et la morphine	11
4. Métabolisme et régulation	11
5. Organisation spatiale et compartimentation du métabolisme.	12
6. Ingénierie métabolique	13
<b>Chapitre 2 : Métabolites secondaire d'intérêt pharmaceutique ou cosmétique</b>	
1. Définition criblage biologique	15
2. Choix et définition des cibles thérapeutiques	15
3. Ressources pour les cibles	16
4. Collections de substances naturelles	16
5. Méthodologie d'évaluation	17
5.1. Différences entre Criblage Virtuel et Criblage Expérimental	18

5.2. Processus de criblage Expérimental	18
5.3. Processus de criblage virtuel	18
5.3.1. Les chimiothèques	19
5.3.2. Chimiothèques de produits naturels	19
5.3.3. Les différentes étapes du criblage virtuel	21
5.3.3.1. Préparation de la cible	21
5.3.3.2. Préparation de la chimiothèque	21
5.3.3.3. Criblage virtuel proprement dit	21
5.3.3.4. Analyse visuelle et sélection des composés à teste expérimentalement	22
6. Identification des produits naturels / Méthodes spectroscopiques	23
6.1. Spectroscopie d'absorption l'UV	23
6.1.1. Instrument d'un spectrophotomètre	23
6.1.2. Loi d'absorption de la lumière	24
6.1.3. Loi de Beer-Lamber	24
6.1.4. Spectre UV-visible	25
6.1.5. Couleur des solutions	25
6.1.6. Groupes chromophores	26
6.2. Spectrométrie de masse SM	27
6.2.1. Utilisation Un spectromètre de masse SM	27
6.2.2. Structure d'un spectromètre de masse SM	27
6.2.3. Différents composants du spectromètre de masse SM	28
6.2.4. Spectre de masse SM	30
6.2.5. Analyse spectrale	30
6.3. Spectroscopie infrarouge IR	31
6.3.1. Modes de vibration	31
6.3.2. Spectromètre et analyseurs infrarouges	31
6.3.3. Spectre infrarouge IR	33
6.3.4. Bandes caractéristiques et empreintes digitales	33
6.3.5. Applications de la spectroscopie infrarouge IR	35
6.4. Spectroscopie Résonance Magnétique Nucléaire RMN	36
6.4.1. Appareillage de l'RMN	36
6.4.2. Déplacement chimique	37

---

6.4.3. Protons équivalents	37
6.4.4. Noyaux qui peuvent être étudiés par RMN	37
6.4.5. Spectre Résonance Magnétique Nucléaire RMN	37
7. Exemples de molécules bioactives isolées de quelques espèces végétales en Algérie	39

**Références**

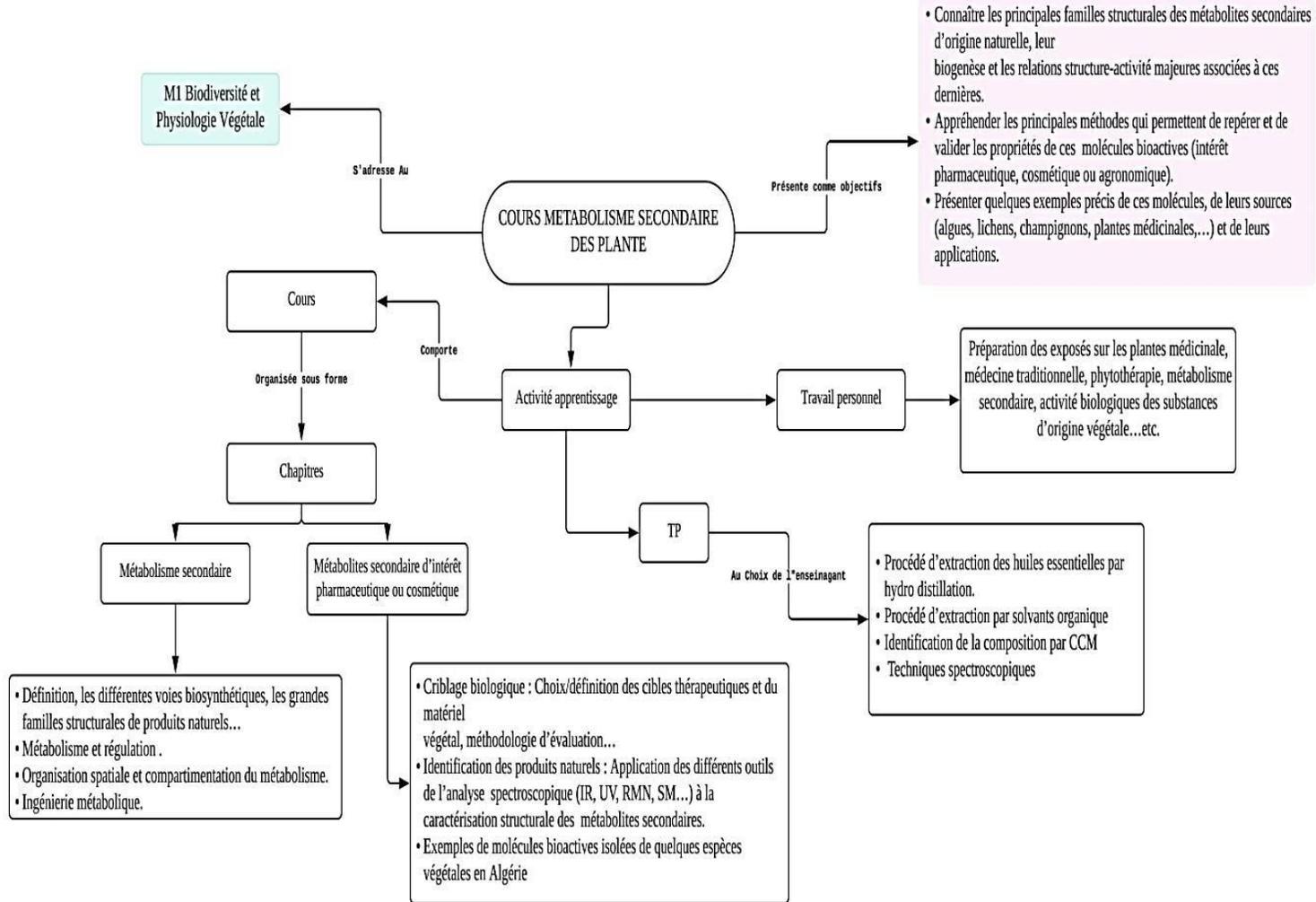
**Liste des figures**

Figure 1 : Relation entre le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire.	1
Figure 02 : Conversion de l'IPP en DMAP.	3
Figure 3 : Schéma biogénétique de la majorité des classes terpénique.	4
Figure 4: Synthèse de préphénate via l'acide shikimique.	6
Figure 5 : Synthèse de la tyrosine et de la phénylalanine.	6
Figure 6 : Synthèse de l'acide cinnamique et coumarique	7
Figure 7 : La biosynthèse des flavonoïdes	9
Figure 8 : Synthèse de la nicotine	11
Figure 9 : Synthèse de la papavérine et la morphine.	11
Figure 10: Compartiments de stockage pour composés hydrophiles et lipophiles	13
Figure 11: Plaques multipuits de 96 ou 384 puits.	15
Figure 12: Exemples de principes actifs historiques majeurs d'origine végétale	17
Figure 13: Schéma d'un processus de criblage pharmacologique	18
Figure 14: classification des méthodes de criblage virtuel « structure-based » et « ligand-based »	19
Figure 15: Instrument d'un spectrophotomètre UV	23
Figure 16: Spectre d'absorption d'une solution de bleu de methylene.	25
Figure 17: Exemple de spectre $Ti(H_2O)_6^3$ rouge-violet et absorbe dans le vert.	25
Figure 18 : Structure d'un spectromètre de masse SM.	28
Figure 19: Spectre de masse SM.	30
Figure 20 : Vibration d'élongation et de déformations de la molécule de CO <sub>2</sub>	31
Figure 21 : Diagramme des spectres et analyseurs dans infrarouge	32
Figure 22 : Spectre IR de la butan-2-one	33
Figure 23 : Structure d'un spectromètre RMN	36
Figure 24: Spectre Résonance Magnétique Nucléaire RMN.	38
Figure 25: Spectre RMN de l'éthanol.	38

**Liste des tableaux**

Tableau 1 : Comparaison entre les métabolites primaires et métabolites secondaires.	1
Tableau 2: Principales classes des composés phénoliques	5
Tableau 3: classification de quelques chimiothèques de produits naturels en fonctions du nombre de composés	20
Tableau 4: Bandes caractéristiques.	34

# Carte conceptuelle du cours



## **Introduction**

Les plantes médicinales commencent ces dernières années d'occuper une importante place, à cause de l'intérêt multiple de ces substances naturelles dans les différents domaines d'industrie agroalimentaire, en cosmétologie, en pharmacie.

Elles sont utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, leur action provient de leurs composées chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différentes composées présents.

Les plantes ont toujours été très largement utilisées par l'homme, comme sources alimentaires, objets décoratifs, dans des boissons, des Colorants. Les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table, considérée comme condiments et aromates.

Pendant des siècles, les produits cosmétiques ont utilisé les vertus associées aux plantes. Aujourd'hui, des plantes de plus en plus nombreuses entrent dans la composition de produits destinés à améliorer l'apparence physique, les préparations d'origine végétale, telles que les eaux florales (hamamélis, rose, oranger, bleuet), les infusions de fleurs ou les huiles essentielles enrichissent les formules d'un grand nombre de cosmétiques.

## Chapitre 1 : Métabolisme secondaire

### 1. Définition

Le métabolisme peut être défini comme l'ensemble de toutes les réactions biochimiques effectuées par un organisme vivant. Les métabolites sont les intermédiaires et les produits du métabolisme et sont subdivisés en métabolites primaires et secondaires.

Les végétaux ont la capacité unique de synthétiser de nombreux composés, dont le rôle au sein de la plante reste partiellement mystérieux. Ces substances, appelées métabolites secondaires, présentent généralement différentes activités biologiques et sont désignées sous le terme de biomolécules végétales. Leur absence chez certaines espèces végétales suggère qu'ils ne font pas partie du métabolisme essentiel de base (métabolisme primaire). Ces métabolites "secondaires" ne jouent aucun rôle direct dans les fonctions fondamentales de l'organisme végétal, telles que la croissance, le développement ou la reproduction, mais ils peuvent assumer diverses fonctions cruciales pour la survie de la plante elle-même, notamment en matière de défense ou de résistance (Tableau 1) (Figure 1) (Merghem, 2009).

Tableau 1 : Comparaison entre les métabolites primaires et métabolites secondaires.

Base	Métabolites primaires	Métabolites secondaires
<b>Définition</b>	Ce sont les métabolites qui sont des composés phyto chimiques directement impliqués dans les processus vitaux de bases (croissance, la division cellulaire, la respiration, la photosynthèse, reproduction),	sont des composés phyto chimiques non directement impliqués dans les processus vitaux de bases (croissance, la division cellulaire, la respiration, la photosynthèse, reproduction), contrairement aux métabolites primaires
<b>Importance pour la cellule</b>	Ils sont obligatoires pour la reproduction, la croissance, la fonction cellulaire et le développement de la cellule.	Ils sont obligatoires pour les activités écologiques et autres de la cellule.
<b>Extraction</b>	Leur extraction est facile.	Ils sont difficiles à extraire.
<b>Quantité</b>	Ils sont produits en grande quantité.	Ils sont produits en petite quantité.
<b>Présence</b>	Leur présence au même chez toutes les espèces. Cela indique qu'ils sont l'élément clé de la croissance et des fonctions cellulaires.	Leur présence varie d'une espèce à l'autre.
<b>Exemples</b>	Les glucides Les lipides Les protéines et les acides nucléiques.	Les composés phénoliques Les composés terpéniques Les alcaloïdes

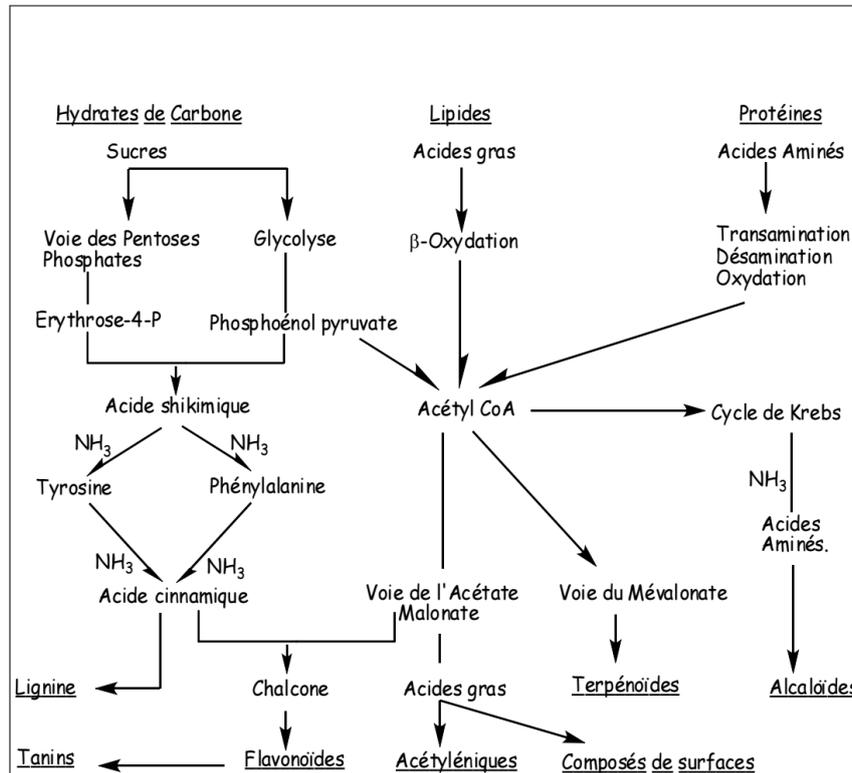


Figure 1 : Relation entre le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (Merghem, 2009).

## 2. Rôle biologique des métabolites secondaires

Les métabolismes secondaires participent à la vie de relation de la plante avec l'environnement et ils ont des rôles très variés. Ils peuvent servir de défense (secrétions amères ou toxiques pour les prédateurs) ou au contraire, attirer certaines espèces ayant un rôle bénéfiques (pollinisateurs). Ils peuvent également permettre la communication entre les plantes, par des messages d'alerte par exemple (Wink, 2010).

## 3. Différentes classes des métabolites secondaires

Les composés du métabolisme secondaire sont classés en 3 grandes classes : les composés phénoliques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tannins), les composés terpéniques et les composés azotés (alcaloïdes) (Bruneton, 1999 ; Merghem, 2009 ; Bruneton, 2009).

### 3.1 Composés terpéniques

#### 3.1.1. Définition

Les terpènes, également appelés isoprénoïdes, constituent une des plus grandes classes de métabolites secondaires, contenant environ 50 000 substances identifiées. Les terpénoïdes

sont parmi les composés naturels les plus variés structurellement et fonctionnellement, ils jouent plusieurs rôles critiques dans l'écologie chimique d'une large gamme d'organismes.

Les terpènes sont des substances formées par la polymérisation de cinq unités de carbone (C5) qui ont un squelette ramifié (unité isoprène).

Les terpènes sont des molécules aux **propriétés odoriférantes**, produits par de nombreux végétaux. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène, ils peuvent être divisés en monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes carbone.

### 3.1.2. Biosynthèse des composés terpéniques

Les terpènes sont synthétisés par deux voies différentes: **MVA (Acide mévalonique)** commune aux végétaux et aux animaux et la voie non-mévalonate **MEP (Méthylérythritol phosphate)** est spécifique de certaines bactéries et plantes. L'IPP et le DMAPP sont les produits finaux dans les deux voies métaboliques, et sont les précurseurs de l'isoprène (Bruneton, 1999).

#### 3.1.2.1 Voie du mévalonate MVA

Le précurseur universel de tous les terpènes est l'acide mévalonique obtenu après condensation enzymatique de trois molécules d'acétyl CoA. Sa phosphorylation suivie d'une décarboxylation aboutie à l'unité isoprénique de base : le pyrophosphate d'isopentényle (IPP). l'IPP s'isomérisé en pyrophosphate de diméthallyle (DMAPP) qui va constituer le « starter » (Figure 2). Ensuite, une nouvelle molécule d'IPP se combine au DMAPP en donnant de pyrophosphate de géranyle (GPP) en C<sub>10</sub>, une addition similaire d'IPP conduit au pyrophosphate de farnésyle (FPP) en C<sub>15</sub> ; puis s'il y a addition d'une autre molécule on aura la formation du pyrophosphate de Géranyl -géranyl (GGPP) en C<sub>20</sub> et ainsi de suite jusqu'à des terpènes comprenant 45 à 50 atomes de Carbone. La synthèse des terpènes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique (Figure 3).

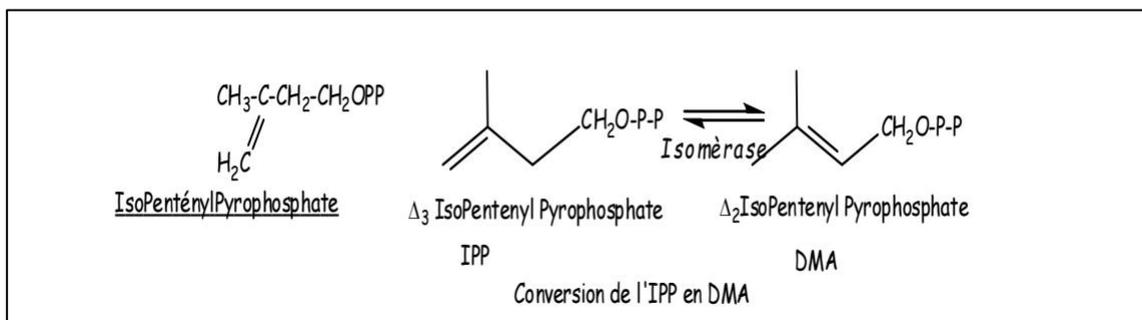


Figure 2 : Conversion de l'IPP en DMAPP

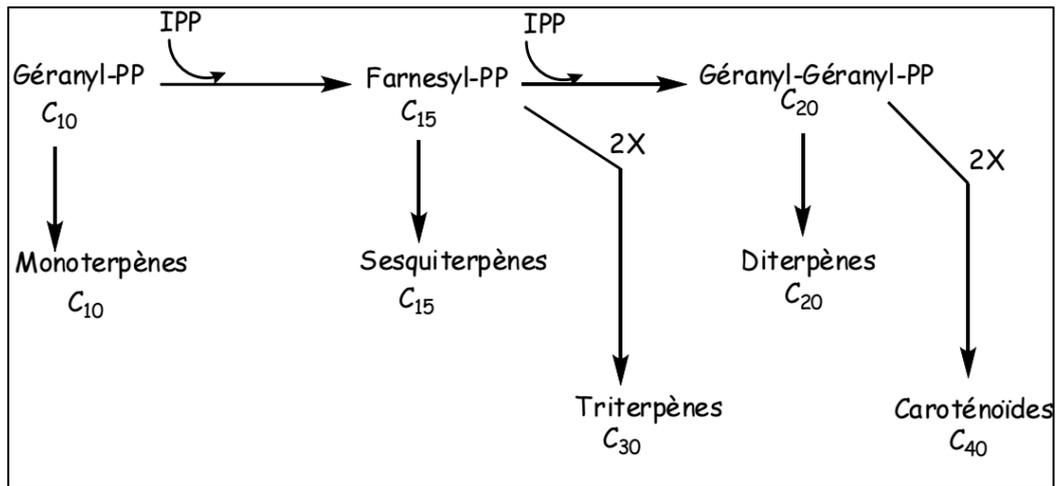


Figure 3 : Schéma biogénétique de la majorité des classes terpénique.

### 3.1.2.2 Voie non-mévalonate MEP

Elle débute par la condensation d'une unité pyruvate (C3) avec une unité glycéraldéhyde-3-phosphate (C3) et conduit au méthyl erythritol phosphate (MEP) un composé intermédiaire en C5. Plusieurs étapes enzymatiques conduisent ensuite à la synthèse de l'IPP (Raghavan *et al.*, 2024).

### 3.2. Composés phénoliques

#### 3.2.1 Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des composés du métabolisme secondaire des végétaux. Ils constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Tous ces composés sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques contenant le noyau phénol.

Les différentes classes des composés phénoliques représentées dans le tableau suivant :

Tableau 2: Principales classes des composés phénoliques (Merghem, 2009).

Nombre de C	Classe	Exemples/origine
<b>C6</b>	Phénols simples	Hydroquinone catéchol
<b>C6-C1</b>	Acides phénols	Acide salicylique
<b>C6-C3</b>	Acide cinnamique Coumarines	Acide caféiques fêrulique
<b>(C6-C3)2</b>	Lignanes	pinosésinol
<b>(C6-C3)n</b>	Lignines	Bois, Noyau des fruits
<b>C6-C3-C6</b>	Flavonoïdes Isoflavonoïdes Anthocyanes	Apigénine, lutéoline, Génistéine Pêlargonidine
<b>(C6-C3-C6)2</b>	Biflavonoïdes	Amentoflavone
<b>(C6-C3-C6)n</b>	Proanthocyanes	Procyanidines

#### 3.2.2 Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont issus de deux voies différentes : voie de l'acide shikimique et voie acétate-malonate. Chacune de ces voies conduit à la formation de composés différents.

##### 3.2.2.1 Voie du shikimate

La voie commence avec deux substrats, le pyruvate de phosphoénol (PEP) et l'érythrose-4-phosphate (E4P) et se termine par le chorismate, un substrat pour les trois acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane). Sept enzymes sont impliquées dans la voie du shikimate.

La cyclogénèse se produit, soit au niveau des parties vertes de la plante, l'érythrose et le PEP provenant directement de la photosynthèse (ex : flavone, anthocyanes), soit dans les tissus profonds non chlorophylliens, le PEP provenant alors de la glycolyse et l'érythrose provenant du cycle des pentoses (lignines par exemple). La cyclogénèse a lieu au niveau du réticulum endoplasmique. Un complexe multi-enzyme intervient.

– **Synthèse des acides aminés aromatiques**

Cette voie débute par la condensation de l'acide phospho-énol-pyruvique (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate. Les réactions suivantes conduisent à la formation, en 5 étapes de l'acide shikimique, puis après condensation avec une nouvelle molécule de PEP, de l'acide préphénique (4 étapes), qui par décarboxylation et déshydratation, est à l'origine de l'acide phénylpyruvique (Figure 4).

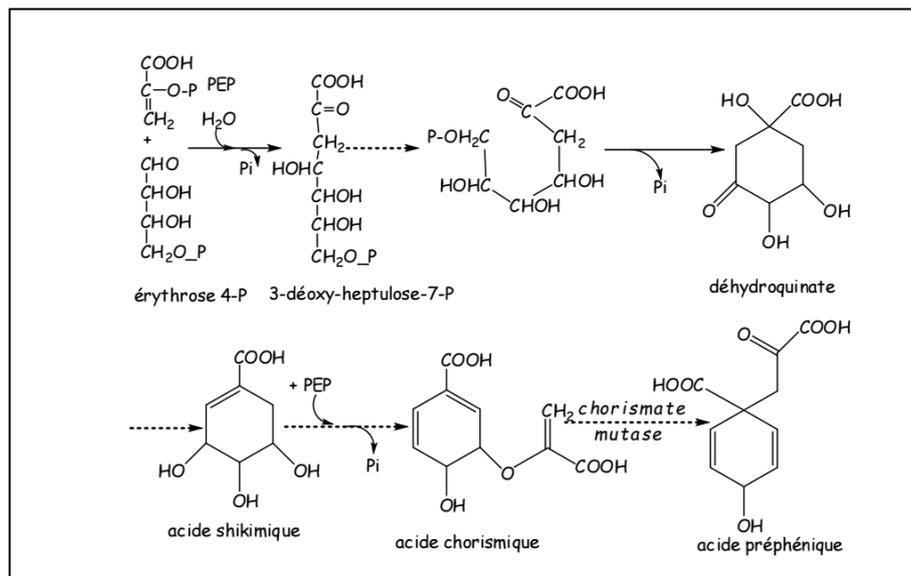


Figure 4: Synthèse de préphénate via l'acide shikimique.

L'acide préphénique par décarboxylation et déshydratation, est à l'origine de l'acide phénylpyruvique. Ainsi, il ne se forme pas uniquement un noyau aromatique, celui-ci s'accompagnant d'une chaîne latérale en C3. Le mode de formation de la tyrosine et de la phénylalanine à partir du préphénate varie en fonction des espèces et des groupes de végétaux et fait appel à la transamination (Figure 5).

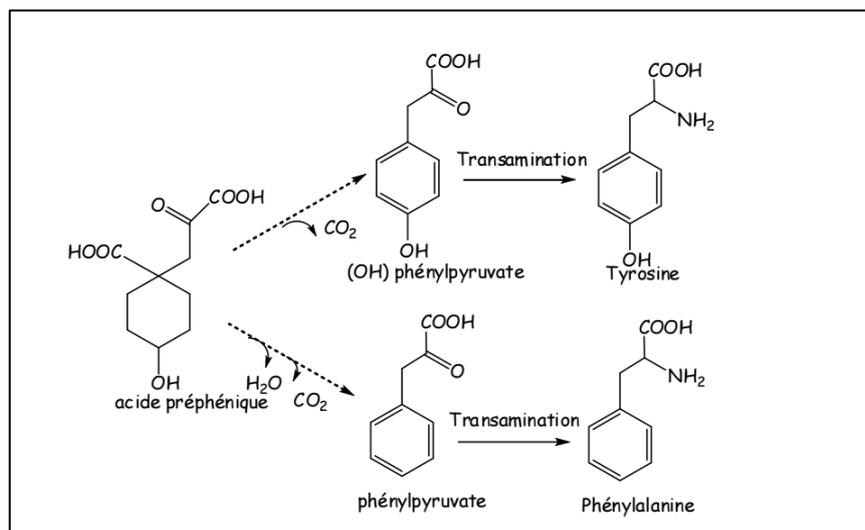


Figure 5 : Synthèse de la tyrosine et de la phénylalanine.

### – Acide cinnamique et acide coumarique

La désamination, par une Ammonia-lyase, de la phénylalanine produit de l'acide cinnamique à l'origine de la majorité des composés aromatiques. Une variante permet l'obtention de la tyrosine (acide aminé différent de la phénylalanine par un OH phénolique) dont la désamination conduit à l'acide hydroxy cinnamique ou acide coumarique (Figure 6).

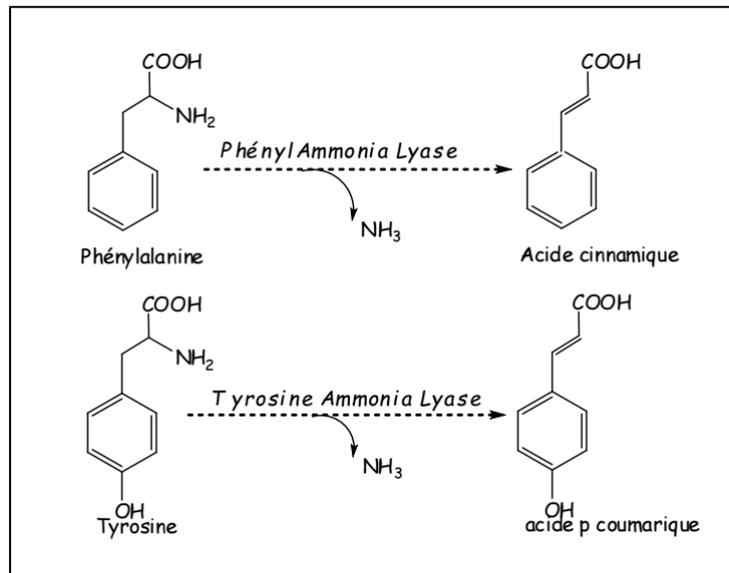


Figure 6 : Synthèse de l'acide cinnamique et coumarique.

La phénylalanine ammonia-lyase (PAL), présent chez les plantes supérieures et les champignons, est absente des cellules animales. C'est l'enzyme clé du métabolisme des composés phénoliques, et à son niveau se jouent les facteurs de régulation de leur biosynthèse.

#### 3.2.2.2 Voie acétate-malonate (Voie de l'acide malonique)

C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités "Acétate". La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl CoA en malonyl-CoA, cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase.

Cette voie est utilisée pour la synthèse de noyau aromatique (A) des flavonoïdes et les anthocyanes. Ce mode de formation est celui qui prédomine chez les plantes non vertes, synthèse de l'acide pénicillique par les *Penicillium*, synthèse des anthoquinines chez les lichens et les champignons.

### 3.2.3 Flavonoïdes

#### 3.2.3.1 Définition

Les flavonoïdes, sont des substances largement répandues dans le règne végétal, ils font partie de la catégorie des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés, ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3.

En fonction du nombre et de la structure chimique des carbones constitutifs ainsi que sur la base de la nature des substituants, les flavonoïdes sont classés en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavanones, les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes.

#### 3.2.3.2 Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau des chloroplastes à partir de cinnamoyl-CoA (provenant du reticulum endoplasmique). Certaines molécules flavoniques quittent les chloroplastes et s'accumulent dans les vacuoles (anthocyanes).

Les flavonoïdes résultent de la condensation de 3 groupements acétates (fournis sous forme d'acétyl-CoA) avec l'acide 4'(OH) cinnamoyl-CoA; Cette condensation conduit à la formation de 2 noyaux benzéniques- A et B- réunis par une chaîne de 3 atomes de carbones (hétérocycle C).

Leur biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'tétrahydroxychalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone (1) : naringénine. Cette chalcone peut également se cycliser en aurone. La flavone synthase agit ensuite sur la flavanone pour donner la flavone (2) : apigénine ou le dihydroflavonol (3) dihydrokaempférol, respectivement. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol (4) : kaempférol ou en flavan-3,4-diol (5) : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7). Le pélargonidol (7), sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8): pélargonidol-3-glucoside (Figure 7) (Bruneton, 1999).

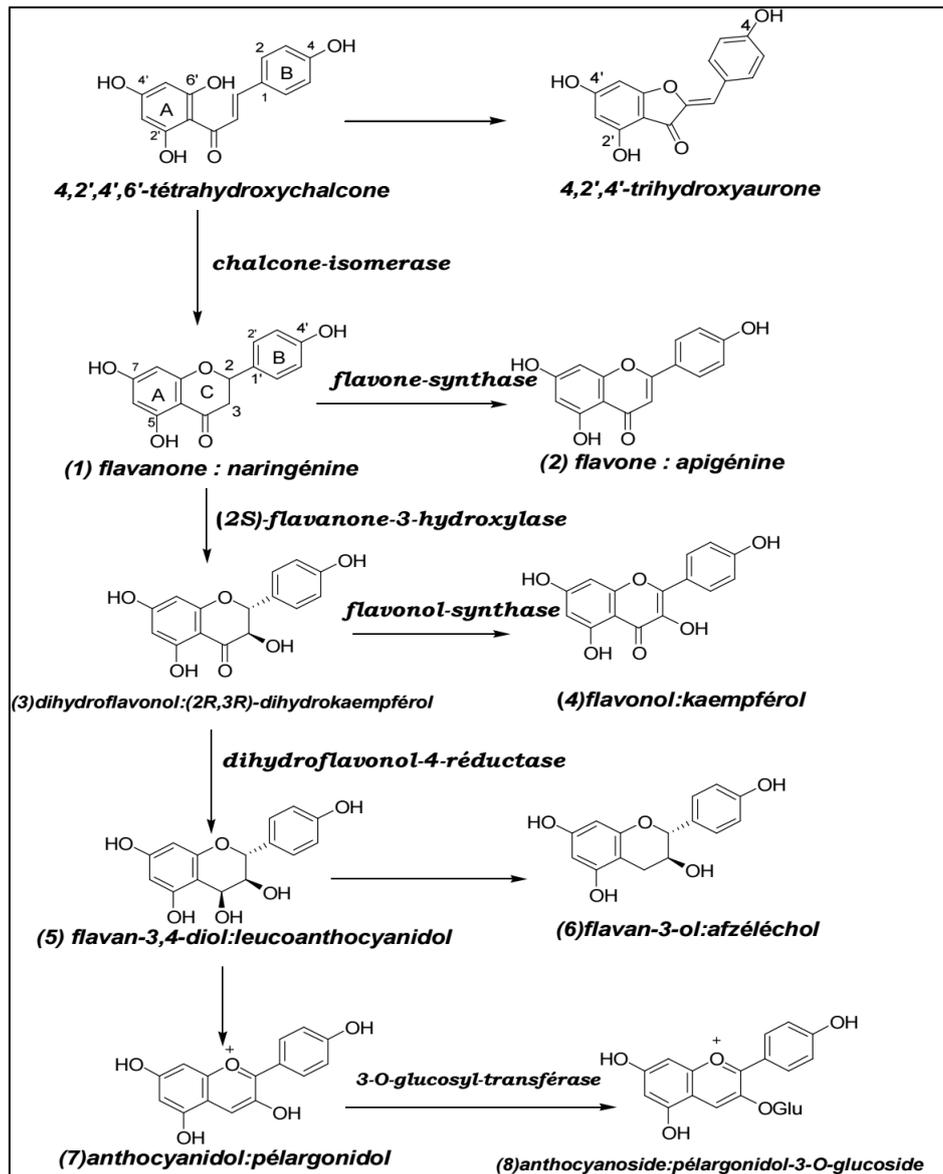


Figure 7 : Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Parmi les flavonoïdes présentant également un intérêt dans plusieurs domaines vitaux. Nous citerons: Les anthocyanes, qui par suite de leur ionisation, présentent des couleurs différentes pour les divers pH: du rouge-orange en milieu acide au bleu- mauve en milieu alcalin. En réalité, la couleur dépend aussi du nombre d'OH non méthylés :

- La pélargonidine possède un (OH) est rouge-orange.
- La cyanidine possède deux (OH) est rouge-magenta .
- La delphinidine possède trois (OH) est bleu- mauve.

### 3.3. Composées azoté (Alcaloïdes)

#### 3.3.1 Définition

Les alcaloïdes constituent un autre groupe, plus vaste, de substances dites secondaires. En raison de leurs propriétés toxiques ou médicamenteuses, ils ont toujours présenté, pour les pharmaciens et les industries pharmaceutiques un intérêt exceptionnel.

Tous les alcaloïdes contiennent de l'azote "N", le plus souvent inclus dans un hétérocycle. Les alcaloïdes se rencontrent surtout chez plus de 20% des plantes à fleurs, mais leur répartition est irrégulière. C'est parfois la plante entière qui contient des alcaloïdes mais le plus souvent, les organes en voie de croissance ou en formation en renferment le plus.

Les feuilles en sont fréquemment pourvues en particulier chez le tabac (*Nicotina tabacum*), le cocaier (*Erythroxillum coca Lam.*) et le théier (Théacées); dans les graines de café (Caféier: Rubiacées); dans les fruits (le Pavot : Papavéracées). Le latex qui s'écoule des incisions faites aux capsules des pavots et qui desséché forme l'Opium.

- L'appartenance aux alcaloïdes est confirmée par les réactions communes de précipitation Il en existe plusieurs types :
- Réactif de Valser-Meyer : précipité blanc jaunâtre.
- Réactif de Dragendorff : précipité rouge orangé.
- Réactif de Bouchardat : précipité brun.
- Réactif de Bertrand : précipité blanc jaunâtre. avec les réactifs généraux des alcaloïdes.

On distingue alors trois grandes classes selon qu'ils possèdent ou non un acide aminé comme précurseur direct, et qu'ils comportent ou non un atome d'azote dans un hétérocycle (Merghem, 2009).

- **Les pseudo-alcaloïdes:** ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale.
- **Les proto-alcaloïdes:** sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, mais ils sont élaborés à partir d'acides aminés.
- **Les alcaloïdes vrais :** sont des dérivés d'acides aminés, comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique, d'origine naturelle, de structure souvent complexe et de caractère basique. Ils sont dotés d'une activité pharmacologique significative même à faible doses.

### 3.3.2 Biosynthèse des alcaloïdes

#### 3.3.2.1 Synthèse de la nicotine

La nicotine est un alcaloïde présent dans les plantes de la famille des solanacées, notamment dans les feuilles de tabac.

La condensation de l'acide nicotinique et de la N-méthyl pyrrolidine (provenant de l'ornithine) produit la nicotine (Figure 8) (Merghem, 2009).

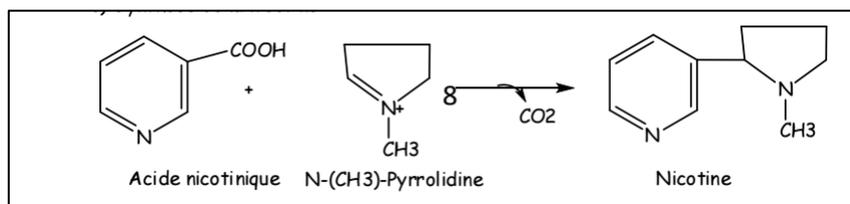


Figure 8 : Synthèse de la nicotine.

#### 3.3.2.2 Synthèse de la papavérine et la morphine

La condensation de la dopamine et de l'acide 3-4 dihydroxyphényl pyruvique, composés provenant tous deux de la tyrosine, conduit à la formation de la Norlaudanoline qui méthylée par la méthionine conduit à la papavérine, ou à la codéine qui se transforme en réticuline à l'origine de la morphine (Figure 9) (Merghem, 2009).

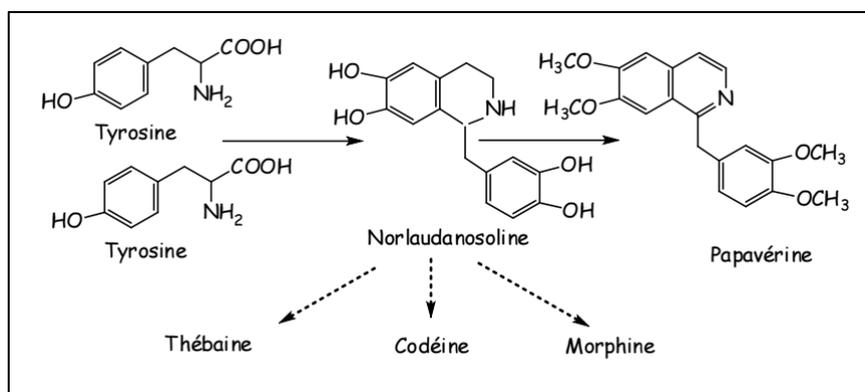


Figure 9 : Synthèse de la papavérine et la morphine.

## 4. Métabolisme et régulation

L'étude de la régulation du métabolisme permet de connaître les mécanismes par lesquels les voies métaboliques s'adaptent aux conditions imposées par l'environnement ou par l'activité physiologique de l'organisme (René Cacan, 2008).

Les régulateurs de croissance des plantes (PGR) sont des molécules qui influencent le développement des plantes et sont généralement actives à de très faibles concentrations. Il existe des régulateurs naturels, qui sont produits par la plante elle-même, ainsi que des régulateurs synthétiques ; ceux que l'on trouve naturellement dans les plantes sont appelés phytohormones ou hormones végétales.

Le développement des plantes est régulé par plusieurs types d'hormones: les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène, l'acide abscissique, jasmonates, les strigolactones, les hormones peptidiques (Morot-Gaudry, 2021).

Les phytohormones comme l'acide abscissique, l'acide jasmonique, l'éthylène sont plus souvent classées comme phytohormones de stress au regard de leurs actions dans les réponses aux contraintes biotiques ou abiotiques.

Les phytohormones sont des substances actives agissant à faibles concentrations. Des concentrations excessives en hormones provoquent des effets sévères voire délétères. Des ajustements constants de concentrations sont donc nécessaires pour le maintien de conditions favorables de vie ; ils résultent de l'équilibre entre plusieurs processus, à savoir la biosynthèse, la conjugaison (modification chimique des hormones en composés non actifs ou de moindre activité), la compartimentation (répartition dans les différents compartiments cellulaires ou stockage dans la vacuole par exemple), la dégradation (catabolisme) et le transport à courtes ou longues distances.

### **5. Organisation spatiale et compartimentation du métabolisme**

La biosynthèse des métabolites secondaires des plantes (MSP) est spécifique à un organe, une cellule ou à un processus de développement, dans presque toutes les espèces végétales supérieures. Dans la plupart des cas, les voies et les gènes impliqués dans leur biosynthèse, sont strictement réglementés et peuvent être liés aux déclencheurs environnementaux, saisonniers ou d'autres facteurs externes.

Les sites cellulaires de synthèse sont compartimentés dans la cellule végétale avec la majorité des voies étant au moins partiellement activées dans le cytoplasme. Cependant, il y a des preuves que plusieurs composés tels que les alcaloïdes et certains terpènes sont synthétisés dans les chloroplastes, la protoberbérine dans les vésicules cellulaires, la conine et certaines amines sont synthétisés dans les mitochondries. La synthèse des composés lipophiles est généralement associée avec le réticulum endoplasmique, comme le sont de nombreuses modifications post-synthétiques telles que l'hydroxylation (Figure 10) (Wink, 2010).

Bien que les métabolites secondaires soient souvent détectés dans toute la plante, leur site initial de synthèse est souvent restreint à un seul organe comme les racines, les fruits ou les feuilles. Par la suite, ils peuvent être transportés autour de la plante via le phloème ou le xylème ou par transport symplastique ou apoplastique et stockés dans un nombre de tissus différents. Les sites de stockage souvent dépendent de la polarité des composés secondaires.

Les composés hydrophiles tels que les alcaloïdes, les glucosinolates et les tanins sont en général stockés dans des vacuoles ou des idioblastes, tandis que les composés lipophiles tels que les huiles essentielles à base de terpènes sont stockées dans les trichomes, les poils glandulaires, les conduites de résine, les membranes thylacoïdiennes ou sur les cuticules. Pour certains composés présents dans la plante comme barrières de défense, par ex. alcaloïdes, flavonoïdes, glycosides cyanogéniques, et coumarines, le stockage peut être dans l'épiderme lui-même (Wink, 2010).

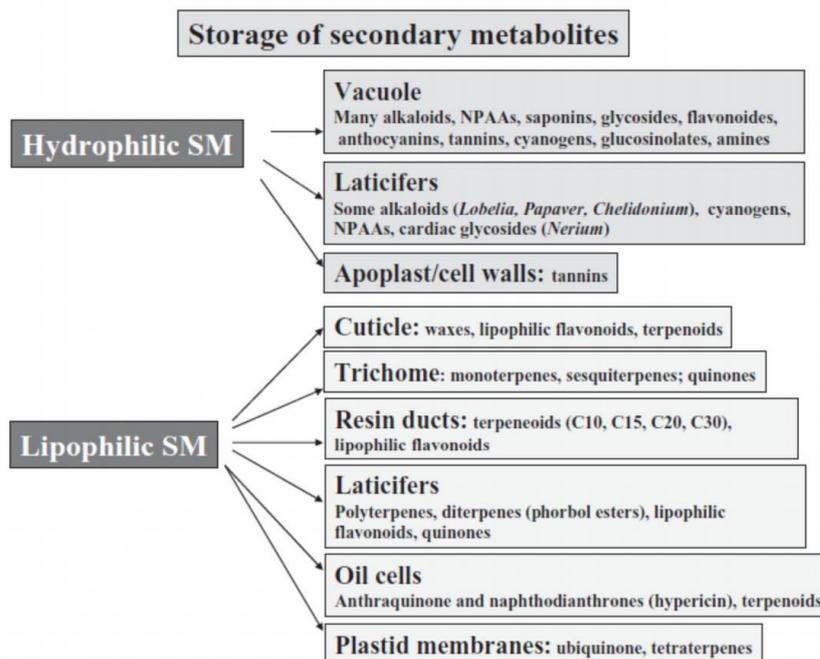


Figure 10 : Compartiments de stockage pour composés hydrophiles et lipophiles (Wink, 1997).

## 6. Ingénierie métabolique

Le terme d'ingénierie métabolique est introduit par James Bailey (1991), ingénieur biochimiste de Caltech qui, dans un article fondateur publié dans Science, définit l'ingénierie métabolique comme « l'amélioration des activités cellulaires par la manipulation des fonctions enzymatiques, de transport et de régulations de la cellule à travers l'utilisation des technologies d'ADN recombinant ». Cette définition place les fonctions enzymatiques au cœur du programme de recherche des ingénieurs du métabolisme et signe le fait que l'enzyme devient l'opérateur principal du travail d'articulation entre le génie chimique et la biologie qui prend forme au début des années 1990 autour de l'ingénierie métabolique.

L'ingénierie métabolique offre l'un des meilleurs moyens d'engager utilement les ingénieurs chimistes dans la recherche biologique, car elle permet l'application directe des principaux

thèmes de la cinétique, du transport et de la thermodynamique à l'analyse des réactions des réseaux métaboliques (Raimbault, 2021).

Ces processus sont représentés comme des réseaux chimiques qui utilisent une série de réactions biochimiques et d'enzymes qui permettent aux cellules de convertir les matières premières en molécules nécessaires à la survie de la cellule. La Génie métabolique cherche spécifiquement à modéliser mathématiquement ces réseaux, à calculer le rendement de produits utiles et à identifier les parties du réseau qui limitent la production de ces produits.

Toute une série de plantes prometteuses sont en cours de développement avec

Une plus grande valeur nutritive parmi les cultures en cours d'obtention, on trouve un soja à plus forte teneur en protéines, des pommes de terre avec un amidon de teneur en acides aminés. Meilleures propriétés de conservation afin de faciliter le transport des produits agricoles frais, de donner au consommateur l'accès à des aliments agréables et précieux au plan nutritif, et de prévenir la détérioration, le pourrissement et la perte de nutriments. On peut citer à cet égard les tomates améliorées, qui ont subi une modification génétique qui retarde leur ramollissement. Un meilleur goût ainsi, des types de poivrons et de melons plus savoureux font actuellement l'objet d'essais en pleine terre. Un autre moyen d'améliorer le goût consiste à renforcer l'activité des enzymes végétales qui transforment les précurseurs d'arôme en composés de sapidité.

Le but ultime de l'ingénierie métabolique est de pouvoir utiliser ces organismes pour produire des substances de valeur à l'échelle industrielle de manière rentable. Les exemples actuels comprennent la production de composés à usage pharmaceutique et cosmétique (Améliorer la synthèse de l'aspirine, Amélioration quantitative et qualitative de l'huile essentielle de menthe, Améliorer la synthèse du Taxol pour le traitement du cancer du sein, l'artémisinine dans le traitement du paludisme, la production de saponines par *Panax ginseng*..... l'amélioration du métabolisme des isoprénoïdes végétaux (Barkovich and Liao , 2001 ; Croteau, 2006).

## Chapitre 2 : Métabolites secondaire d'intérêt pharmaceutique ou cosmétique

### 1. Définition criblage biologique

Le criblage d'une banque de composés chimiques, qu'il s'agisse de molécules synthétisées ou de composés naturels, est un procédé qui a séduit l'industrie pharmaceutique qui en a donc fait un métier. Il consiste à identifier les molécules actives par mise en contact avec la cible biologique.

Il existe deux types de criblages, le criblage à haut débit « high throughput screening » (HTS) et le criblage à haut contenu « high content screening » (HCS). Un criblage peut être réalisé *in silico* (criblage virtuel au moyen d'outils informatiques de modélisation moléculaire) ou bien *in vitro* (Maréchal *et al.*, 2007).

Le criblage à haut débit ou HTS est une méthode utilisée dans la découverte de médicaments pour identifier des composés potentiels qui pourraient être développés dans de nouveaux médicaments. Cela implique le criblage de grandes bibliothèques de composés à l'aide de systèmes automatisés pour tester rapidement l'activité et la sélectivité de chaque composé par rapport à une cible biologique. HTS a révolutionné la découverte de médicaments en permettant aux chercheurs de tester des milliers, voire des millions de composés en peu de temps, accélérant ainsi considérablement le processus de découverte de médicaments. Réalisé *in silico*, un criblage à haut débit utilise des moyens de calcul intensifs (informatique, bioinformatique, chemoinformatique). Lorsqu'il est réalisé *in vitro*, il constitue un test miniaturisé et automatisé, et utilise des contenants formatés appelés microplaques à 96 ou 384 puits (Figure 11) (Maréchal *et al.*, 2007).

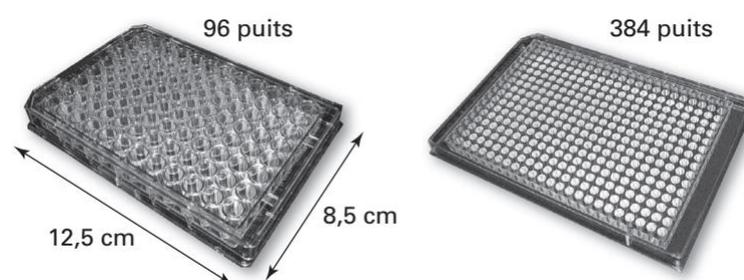


Figure 11 : Plaques multipuits de 96 ou 384 puits.

### 2. Choix et définition des cibles thérapeutiques

La recherche s'initie à partir de l'identification d'une cible thérapeutique. Le mécanisme physiopathologique est disséqué au niveau le plus fin possible afin de discerner les éléments de dysfonctionnement. Longtemps, le processus de reconnaissance des cibles a reposé essentiellement sur des constats empiriques. Aujourd'hui, génomique, bioinformatique et protéomique permettent d'identifier en amont gènes ou protéines impliqués dans les maladies

et susceptibles de devenir des cibles thérapeutiques. Enzymes, protéines, récepteurs : leur action et leur lien de causalité avec la maladie une fois connus, on cherchera soit à bloquer ou à augmenter leur action, soit à combler leur déficit, soit à remplir la fonction qu'ils ne peuvent plus exécuter. Ces connaissances permettent de rationaliser très tôt le processus de recherche de nouveaux médicaments et d'élargir considérablement le champ de cette recherche.

Le choix d'en privilégier une par rapport à une autre se fait sur la base de nombreux critères tels que la spécificité de l'approche, les connaissances scientifiques, le caractère innovant, le type de médicament qui en découlera (anticorps, vaccins, peptides, petites molécules, etc.) (Lambert-van, 2004).

### **3. Ressources pour les cibles**

UniProt est le catalogue le plus complet de l'information sur les protéines. Il s'agit d'une collection de séquences de protéines et de fonctions créée en joignant les informations contenues dans Swiss-Prot, TrEMBL et PIR. UniProt a trois composantes, chacune optimisée pour différents usages. L'UniProt Knowledge base (UniProtKB) est le point central d'accès aux protéines ; il contient des informations très diverses, y compris la fonction, la classification et les références croisées.

La base de données PDB est le dépôt mondial d'informations sur les structures tridimensionnelles de grandes molécules biologiques en complexe ou non, y compris des protéines et des acides nucléiques (Hert *et al.*, 2004).

### **4. Collections de substances naturelles**

Les substances naturelles sont connues pour leur diversité et leur complexité structurale. Ainsi, 40 % des archétypes structuraux décrits dans les banques de données de produits naturels sont absents de la chimie synthétique. D'un point de vue historique, le succès des substances naturelles comme source de médicaments et de molécules bio-actives est évident. Les méthodes actuelles pour isoler un produit naturel bio-actif, connues sous le nom de purifications bio-guidées, sont des processus itératifs consistant à extraire les échantillons à l'aide de solvants et à tester leur activité biologique. Le cycle de purification et de test est répété jusqu'à obtention d'un composé actif pur. Beaucoup des principes actifs découverts depuis deux siècles restent d'une importance considérable (morphine, codéine, anticancéreux d'origine végétale : vincristine et vinblastine de la pervenche tropicale, paclitaxel de l'if du Pacifique) (Figure 12) (Beniddir and Poupon, 2023).

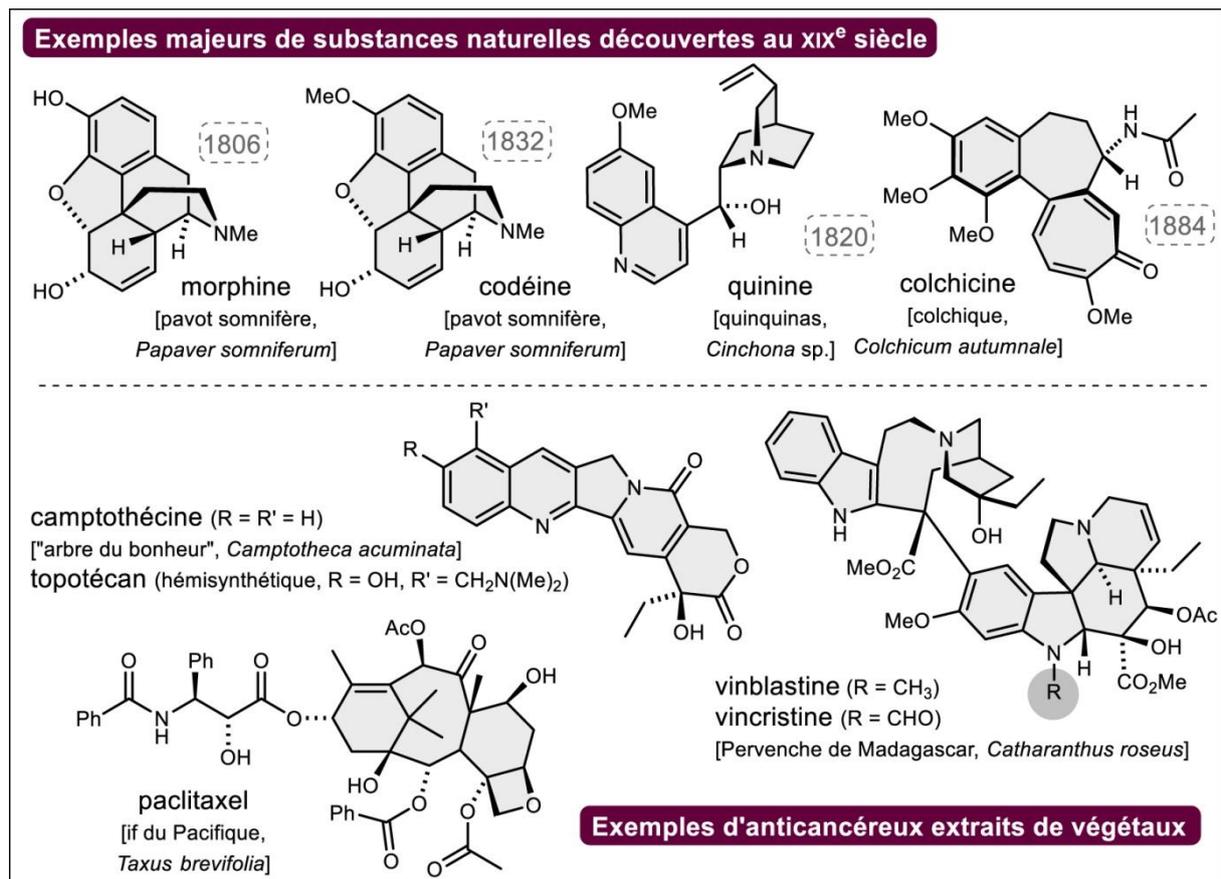


Figure 12 : Exemples de principes actifs historiques majeurs d'origine végétale (Beniddir and Poupon, 2023).

Les produits naturels constituent une source importante d'agents thérapeutiques. Actuellement, environ 75 % de médicaments disponibles pour le traitement de diverses maladies dérivent de produits naturels. Nous citerons par exemple la morphine, substance naturelle isolée du latex d'une papaveraceae appelée *Papaver somniferum* et médicament utilisé principalement contre la douleur, est prise actuellement comme référence de choix du point de vue efficacité analgésique. Le taxol isolé de *Taxus brevifolia* ou if d'Amérique, médicament reconnu mondialement pour son action anticancéreuse hautement efficace, constitue également un parfait exemple. Les produits naturels représentent une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques.

Par ailleurs, il est actuellement établi que 20.000 à 30.000 espèces végétales, sur les 500.000 répertoriées mondialement, sont utilisées dans la pharmacopée humaine et pas moins de 75 % de médicaments sont d'inspiration végétale.

## 5. Méthodologie d'évaluation

La méthodologie de criblage est l'étape souvent la plus longue et la plus délicate du processus de criblage à haut débit. Une fois validée par un crible « preuve de concept », elle

représente un savoir-faire à haute valeur ajoutée qui peut être transféré directement à un partenaire industriel (Barette *et al.*, 2015).

### 5.1. Différences entre Criblage Virtuel et Criblage Expérimental

Alors que le criblage expérimental implique des tests réels en laboratoire, le criblage virtuel utilise des simulations informatiques pour prédire l'interaction entre les molécules. Le criblage virtuel permet d'explorer un grand nombre de composés avant même leur synthèse ou leur acquisition physique.

### 5.2. Processus de criblage expérimental

Le criblage à haut débit implique l'utilisation de systèmes robotiques pour tester des milliers, voire des millions de composés sur une courte période de temps. Le processus commence par la préparation d'une bibliothèque de composés, qui peuvent provenir de diverses sources telles que des produits naturels, une synthèse chimique ou un criblage virtuel. Ces composés sont ensuite stockés dans des plaques de microtitration, qui sont généralement des plaques à 96 ou 384 puits. Les plaques sont ensuite chargées sur des systèmes robotiques automatisés capables de distribuer de petites quantités de composés dans chaque puits de la plaque. Les plaques sont ensuite incubées avec une cible biologique, qui peut être un test protéique, enzymatique ou cellulaire (Figure 13). L'activité de chaque composé est ensuite mesurée à l'aide de différentes méthodes de détection telles que la fluorescence, la luminescence ou l'absorbance. Les données générées par le criblage sont ensuite analysées à l'aide de méthodes statistiques pour identifier les composés qui présentent une activité contre la cible (Marechal *et al.*, 2007 ; Prudent, 2013).

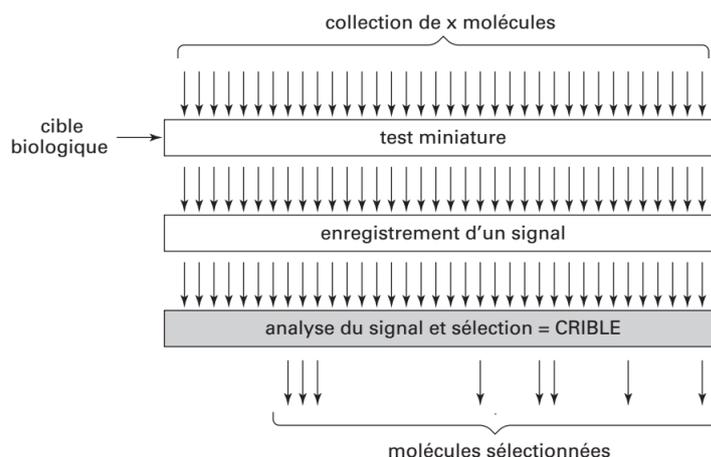


Figure 13: Schéma d'un processus de criblage pharmacologique.

### 5.3. Processus de criblage virtuel

Deux grandes familles de méthodes de criblages sont distinguées et le choix de leur utilisation est basé sur la disponibilité des données au démarrage du projet 32. Ainsi, lorsque

la structure tridimensionnelle de la cible biologique a été résolue (cristallographie aux rayons X, résonance magnétique nucléaire ou modèle de structure), les méthodes basées sur la structure (ou « structure-based »), évaluent la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié pour sélectionner les molécules capables de se lier à la cible. Les méthodes basées sur les ligands (ou « ligand-based ») peuvent pour leur part être mises en œuvre lorsque les valeurs d'activité pour la cible étudiée d'un ensemble de ligands sont disponibles.

Les relations structure-activité de ces molécules sont alors analysées pour découvrir de nouveaux composés susceptibles d'être actifs <sup>33</sup>. Lorsque ces deux types de données sont disponibles simultanément, les méthodes « ligand-based » et « structure-based » peuvent toutes deux être utilisées l'une à la suite de l'autre <sup>34</sup>. Au sein de ces deux grandes familles, différentes méthodes ont été développées (Figure 14).

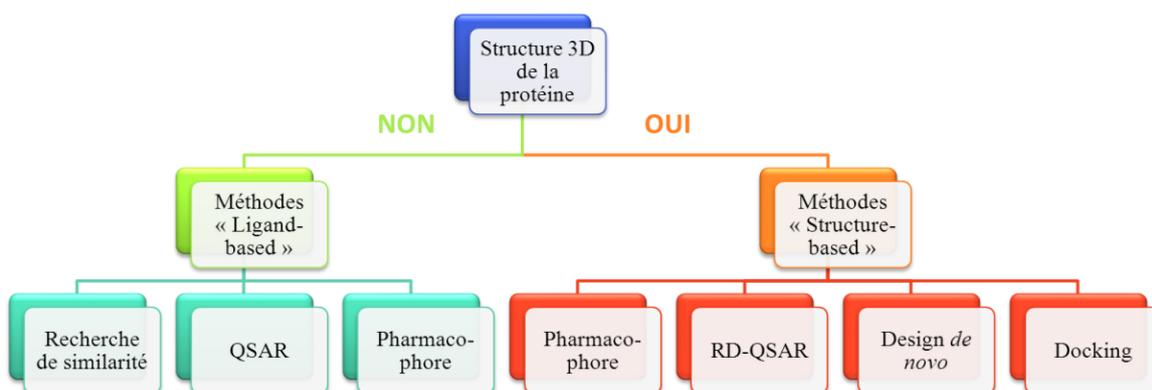


Figure 14: Classification des méthodes de criblage virtuel « structure-based » et « ligand-based » (Lavecchia and Giovanni, 2013).

### 5.3.1. Les chimiothèques

La probabilité d'identifier un composé capable de se lier spécifiquement à une cible biologique et de moduler son action est relativement faible mais augmente avec le nombre de composés testés et leur diversité. Cependant, avec les techniques actuelles, il serait impossible d'explorer par criblage l'espace chimique dans sa totalité (en général, la taille des chimiothèques criblées ne dépasse pas deux millions de composés) et peu efficace (Prudent, 2013).

### 5.3.2. Chimiothèques de produits naturels

Avec l'émergence des nouvelles techniques de découverte de nouveaux médicaments (HTS, criblage virtuel ...), l'intérêt porté aux produits naturels a quelque peu décliné. Cependant, les produits naturels présentent de nombreux avantages essentiels pour leur

potentiel de médicaments. Ils possèdent notamment une sélectivité très importante pour leurs cibles cellulaires 48. De plus, leurs structures sont très différentes des produits classiques de synthèse, ce qui leur permet d'explorer des zones de l'espace chimique auparavant inaccessibles. Les chimiothèques de produits naturels se sont donc développées pour permettre d'accélérer et de guider la découverte de nouveaux médicaments issus de produits naturels (Tableau 3) (Prudent, 2013).

Tableau 3: classification de quelques chimiothèques de produits naturels en fonctions du nombre de composés (Chen, 2011 ; Gu *et al.*, 2013 ; Ntie-Kang *et al.*, 2013).

<b>Chimiothèque</b>	<b>Nombre de composés</b>	<b>Site web</b>
TimTec NPL	720	<a href="http://www.timtec.net/">http://www.timtec.net/</a>
AfroDb	954	<a href="http://zinc.docking.org/catalogs/afronp">http://zinc.docking.org/catalogs/afronp</a>
TCM Database@Taiwan	32364	<a href="http://tcm.cmu.edu.tw/">http://tcm.cmu.edu.tw/</a>
Universal Natural Products Database	197201	<a href="http://pkuxxj.pku.edu.cn/UNPD">http://pkuxxj.pku.edu.cn/UNPD</a>
Dictionary of Natural Products	226000	<a href="http://dnp.chemnetbase.com/">http://dnp.chemnetbase.com/</a>
AMRI Natural Product Libraries	300000	<a href="http://www.amriglobal.com/">http://www.amriglobal.com/</a>
Super natural II	355076	<a href="http://bioinf-applied.charite.de/supernatural_new/">http://bioinf-applied.charite.de/supernatural_new/</a>

### **5.3.3. Les différentes étapes du criblage virtuel**

Le criblage virtuel est largement utilisé pour identifier de nouvelles substances bio-actives. Cette approche est souvent composée de plusieurs étapes essentielles (Florent, 2013).

#### **5.3.3.1. Préparation de la cible**

La préparation de la structure 3D d'une cible thérapeutique commence par choisir la meilleure structure cristallographique disponible dans la PDB. Ce choix s'effectue selon la valeur de la résolution définissant la qualité de la structure. Il est à souligner que les structures 3D des protéines provenant de la PDB nécessitent une préparation préalable avant leur utilisation dans des expériences de docking moléculaire. En effet, une seule chaîne doit être gardée dans le cas des protéines contenant plusieurs sous-unités identiques et ce pour une utilisation plus aisée lors du docking. Par la suite, les hydrogènes manquants doivent être rajoutés tandis que toutes les molécules d'eau doivent être supprimées sauf ceux faisant partie de la cavité catalytique de l'enzyme. Les états de protonation de chaque résidu dans la cavité de l'enzyme doivent être vérifiés et l'énergie d'interaction intramoléculaire de la protéine doit être minimisée.

#### **5.3.3.2. Préparation de la chimiothèque**

Dans certains cas, il est préférable de procéder à un nettoyage de la chimiothèque avant de lancer les calculs de criblage virtuel. Cette étape consiste à ne garder que les composés présentant une structure adéquate avec un bon potentiel de candidat médicament. Pour ce faire, il est nécessaire d'appliquer, sur la chimiothèque en question, des filtres dits « ADMET ». Les composés de la chimiothèque nettoyé (ou pas) doivent être préparés en générant les différentes formes ionisées et les tautomères car dans les conditions physiologiques, une molécule peut prendre différentes formes en subissant des phénomènes de tautomérie ou d'ionisation.

#### **5.3.3.3. Criblage virtuel proprement dit**

Le criblage virtuel doit être effectué en utilisant un ou plusieurs logiciels. Malgré l'existence d'un grand nombre de programmes de docking, aucun ne peut être appliquée de façon générale sur la totalité des systèmes biologiques car chacun présente des avantages mais également des imperfections. Ainsi, l'utilisation de plusieurs programmes de docking suivie par l'application d'une méthode consensus est recommandée pour combiner et tirer le meilleur profit des logiciels de docking utilisés dans le cadre d'une même étude. Autrement dit, cette approche permet de combiner les informations issues des différentes fonctions de

score afin de compenser leurs imperfections individuelles ce qui améliore la qualité des résultats obtenus.

#### **5.3.3.4. Analyse visuelle et sélection des composés à tester expérimentalement**

Bien que l'application d'un protocole de criblage virtuel permet de supprimer automatiquement un grand nombre de composés indésirables, on ne peut pas substituer l'intervention humaine. Un biais bien connu, est par exemple le bon classement des ligands de haute masse moléculaire, qui en raison d'un nombre d'atomes plus important, sont tout simplement capables de créer un plus grand nombre d'interactions même-ci au niveau l'entrée voir à l'extérieur de la cavité étudiée. Désormais, l'inspection visuelle du mode d'interaction des composés ayant obtenus les meilleurs scores est une étape primordiale afin de faire ressortir une liste réduite de molécules prometteuses à tester expérimentalement. Lors de cette inspection, plusieurs critères de sélection doivent être pris en considération :

Positionnement des composés dans la cavité étudiée

- Le mode d'interaction (nombre optimal de liaisons H, interactions ioniques, hydrophobes.).
- Interaction avec les résidus clés de la cible.  
Diversité structurale.
- Disponibilité des molécules réelles dans la chimiothèques.

## 6. Identification des produits naturels / Méthodes spectroscopiques

### 6.1. Spectroscopie d'absorption l'UV

La spectroscopie d'absorption dans l'UV est une méthode très commune dans les laboratoires. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. Ce domaine spectral est divisé en trois plages de longueurs d'onde appelées proche UV (185-400 nm), visible (400-700 nm) et très proche infrarouge (700-1 100 nm). ). La plupart des spectromètres vont de 185 à 900 nm.

#### 6.1.1. Instrument d'un spectrophotomètre UV

Un spectrophotomètre est conçu autour de trois modules : ceux de la source et du système dispersif (souvent conçu comme un monochromateur), qui constituent la partie optique et celui qui est responsable de la détection. L'ensemble est réuni dans un bâti unique. Un compartiment échantillon est inséré sur le trajet optique après ou avant le système dispersif selon la conception du montage (Figure 15) (Rouessac et Rouessac, 2004).

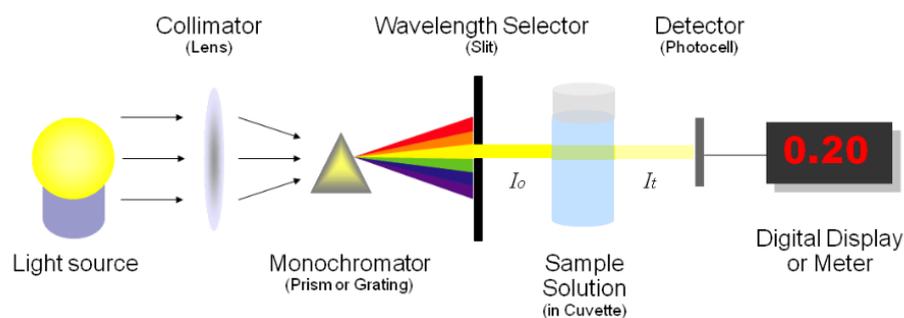


Figure 15: Instrument d'un spectrophotomètre UV.

#### Sources lumineuses

On ne connaît pas de source lumineuse continue pouvant couvrir efficacement la totalité de la gamme spectrale concernée. C'est la raison pour laquelle beaucoup de spectromètres comportent deux lampes à usage de sources, l'une pour la partie du proche UV et l'autre pour la partie s'étendant vers le visible.

#### Systèmes dispersifs

##### Appareils séquentiels

Les radiations émises par la source sont dispersées par un réseau plan ou concave qui fait partie d'un montage appelé monochromateur. Ce dispositif permet d'extraire de la lumière émise par la source, un domaine étroit de son spectre d'émission. La longueur d'onde, ou plus exactement la largeur de la bande spectrale qui est fonction de la largeur de fente, varie graduellement au cours du temps par pivotement du réseau. Les meilleures résolutions sont

obtenues avec des montages comportant des monochromateurs de grandes distances focales (0,2 à 0,5 m).

### **Appareils simultanés**

Cette catégorie d'appareils comporte simplement un réseau situé après le compartiment échantillon pour diffracter les radiations transmises. Ils fonctionnent suivant le principe des spectrographes.

### **Détecteurs**

Le détecteur convertit en un signal électrique l'intensité de la radiation lumineuse qui l'atteint. Sa sensibilité dépend de la longueur d'onde. On utilise soit un tube photomultiplicateur soit un semi-conducteur (détecteur à transfert de charge ou photodiode au silicium).

#### **6.1.2. Loi d'absorption de la lumière**

Lorsqu'une lumière d'intensité  $I_0$  passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité  $I$  de la lumière transmise est donc inférieure à  $I_0$ . On définit l'absorbance de la solution comme le logarithme décimal du rapport entre l'intensité énergétique  $I_0$  à une longueur d'onde donnée, avant traversée du milieu, et l'intensité énergétique transmise  $I$  (Rouessac et Rouessac, 2004).

La transmittance  $T$  est définie par :  $T = I / I_0$  On l'exprime en pourcentage.

A partir de ces intensités on définit l'absorbance  $A$  : l'absorbance est une grandeur sans unité qui est d'autant plus grande que le rayonnement est absorbé.  $A = \log T = \log (I_0/I)$  (Rouessac et Rouessac, 2004).

#### **6.1.3. Loi de Beer-Lambert**

L'UV/Visible est largement exploité en analyse quantitative, depuis fort longtemps dans le domaine du visible. Les mesures reposent sur la loi de Beer et Lambert qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution.

L'absorbance mesurée par un spectroscope dépend de plusieurs facteurs :

La largeur  $L$  de cuve de spectroscopie. La concentration  $C$  de la substance dissoute, Le coefficient d'absorption molaire  $\epsilon$ , aussi appelé coefficient d'extinction molaire.

Il s'agit d'une grandeur qui dépend de l'espèce dissoute en solution, du solvant utilisé et de la longueur d'onde du rayonnement.

Ces grandeurs sont liées par la loi de Beer-Lambert :  $A = \epsilon l c$

Avec :  $\epsilon$  en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ;  $c$  en  $mol \cdot L^{-1}$  et  $l$  en  $cm$ .

Cette loi, qui ne concerne que la fraction de la lumière absorbée, est vérifiée dans les conditions suivantes :

- La lumière utilisée doit être monochromatique.
- Les concentrations doivent être faibles ( $10^{-4}$  à  $10^{-6}$  M/L).
- La solution ne doit être ni fluorescente ni hétérogène.
- Le soluté ne doit pas donner des associations variables avec le solvant.

#### 6.1.4. Spectre UV-visible

Un spectre UV-visible est la représentation graphique de l'absorbance  $A$  d'une solution en fonction de la longueur d'onde repérées en abscisses (Figure 16).

La bande d'absorption, observée dans le domaine de l'UV-visible, est caractérisée par sa position en longueur d'onde  $\lambda_{\max}$ , nm (ou en nombre d'onde,  $\text{cm}^{-1}$ ).

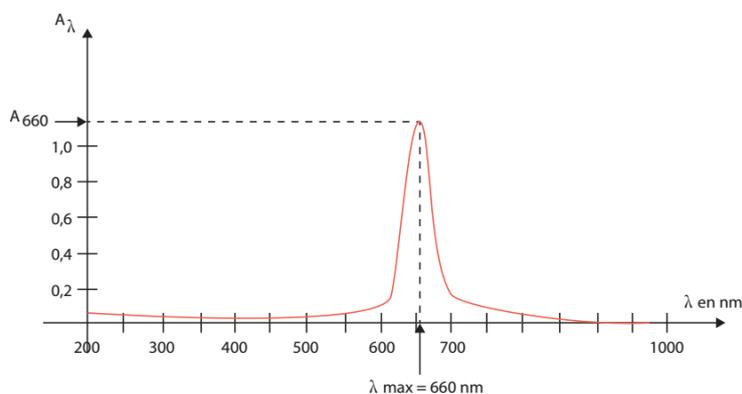


Figure 16: Spectre d'absorption d'une solution de bleu de méthylène.

#### 6.1.5. Couleur des solutions

Lorsqu'une solution absorbe certaines longueurs d'onde dans le visible, sa couleur résulte de la superposition des longueurs d'onde transmises donc non absorbées. Lorsqu'une solution n'absorbe pas dans le visible mais uniquement dans l'UV, elle n'est pas colorée, mais transparente.

Exemple : Le complexe  $\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  est rouge-violet et absorbe dans le vert (Figure 17).

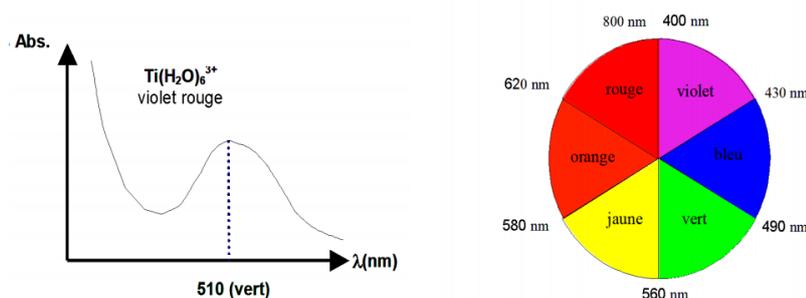


Figure 17: Exemple de spectre  $\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  rouge-violet et absorbe dans le vert.

### **6.1.6. Groupes chromophores**

Les groupes fonctionnels des composés organiques (cétones, amines, dérivés nitrés, etc.) responsables de l'absorption en UV/VIS sont appelés groupements chromophores. Une espèce formée d'un squelette carboné transparent dans le proche UV et porteur d'un ou de plusieurs chromophores constitue un chromogène (Rouessac et Rouessac, 2004).

## 6.2. Spectrométrie de masse SM

La spectrométrie de masse est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ) (Menet, 2011).

Elle est utilisée dans pratiquement tous les domaines scientifiques : physique, astrophysique, chimie en phase gazeuse, chimie organique, dosages, biologie, médecine... le temps de détection est très rapide.

La spectrométrie de masse est d'abord une méthode d'analyse spectrale capable de fournir la masse moléculaire et des renseignements structuraux sur les molécules.

### 6.2.1. Utilisation Un spectromètre de masse SM

Un spectromètre de masse permet de réaliser les fonctions suivantes :

- **Identification des molécules** : un spectre de masse peut être caractéristique d'une molécule.
- Ainsi en le comparant avec le contenu de banques de spectres, il est possible d'identifier la molécule. La spectrométrie de masse permet de mesurer avec précision la masse monoisotopique d'un ion et d'en déduire sa formule brute.
- **Analyse structurale** : les ions moléculaires peuvent se fragmenter dans un spectromètre de masse : dans la source d'ionisation, dans l'analyseur ou dans une cellule de collision. Comme les fragmentations respectent des lois précises, l'étude de ces fragments permet de déterminer la structure des molécules ionisées.
- **Quantification** : un spectromètre de masse possède un détecteur très sensible permettant de faire une quantification fiable des molécules ionisées. (Densité optique ou Intensité relative).

### 6.2.2. Structure d'un spectromètre de masse SM

Le spectromètre de masse, comporte une source d'ionisation suivie d'un ou plusieurs analyseurs qui séparent les ions produits selon leur rapport  $m/z$ , d'un détecteur qui compte les ions et amplifie le signal, et enfin d'un système informatique pour traiter le signal (Figure 18).

Le résultat obtenu est un spectre de masse représentant les rapports  $m/z$ , où  $m$  représente la masse et  $z$  la valence (ou  $m/q$ ,  $q$  représentant la charge) des ions détectés selon l'axe des abscisses et l'abondance relative de ces ions selon l'axe de ordonnées.

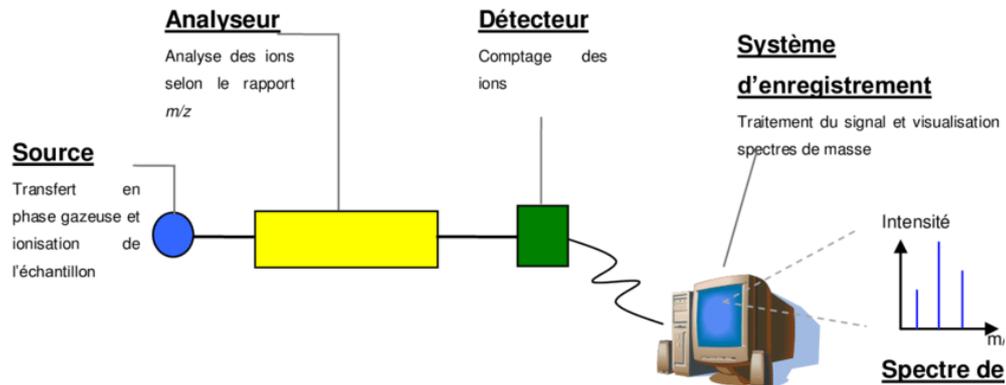


Figure 18 : Structure d'un spectromètre de masse SM.

Fondamentalement, un spectromètre de masse contient 5 parties :

- Introduction de l'échantillon.
- Source de production d'ions.
- Analyseur des rapports masse sur charge ( $m/z$ ).
- Détecteur.
- Système de traitement, stockage de données (microinformatique) est associé au spectromètre pour gérer les signaux résultants de l'analyse et imposer un rétrocontrôle de l'appareil.

### 6.2.3. Différents composants du spectromètre de masse SM

- **Le système d'introduction de l'échantillon** : l'échantillon peut être introduit directement dans la source, sous forme gazeuse, liquide (infusion directe) ou solide ou encore par l'association à une méthode séparative (chromatographie en phase liquide, chromatographie en phase gazeuse, électrophorèse capillaire...).

**La source d'ionisation** : elle consiste à vaporiser les molécules et à les ioniser. Une source d'ionisation peut être utilisée soit en mode positif pour étudier les ions positifs, soit en mode négatif pour étudier les ions négatifs. Il existe plusieurs sources d'ionisation, nous ne citerons que quelques sources d'ionisations (Menet, 2011).

- L'ionisation électronique (EI).
- L'ionisation chimique (CI).
- Le bombardement par atomes rapides (FAB).
- Electrospray ionisation ESI ou L'électronébulisation.

Les ionisations EI et CI, qui nécessitent un certain niveau de vide, sont préférentiellement utilisées en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse (la CI fonctionnant à partir d'une source EI).

- **L'ionisation électronique (EI)**

Source d'ionisation électronique. Des électrons émis par un filament rencontrent les molécules qui entrent dans la source : lors de la rencontre, si l'énergie cinétique des électrons est suffisante, un électron est arraché de la molécule M, la transformant en un ion radical  $M^{+\bullet}$ . Celui-ci peut ensuite se fragmenter suivant son énergie interne. L'EI conduit ainsi à un spectre assez fourni, avec de nombreux fragments, très riche en informations structurales.

- **L'ionisation chimique (CI)**

Source d'ionisation chimique. En plus du dispositif EI ci-dessus, un gaz réactif est introduit dans la source et ionisé par impact électronique. S'ensuit une série de réactions qui donne naissance à des ions pouvant réagir avec les molécules d'analyte arrivant dans la source. Ce type de réactions ions-molécules produit principalement (en mode positif) des ions  $[MH]^+$ , et  $[M+\text{adduit}+H]^+$ , permettant ainsi d'accéder à la masse moléculaire de la molécule à analyser. Le méthane, l'isobutane et l'ammoniac sont parmi les gaz d'ionisation chimique les plus utilisés.

- **L'analyseur**

L'analyseur il sépare les ions en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ).

Il comporte un système comprenant un secteur magnétique couplé à un secteur électrique qui permet de terminer le temps de vol (TOF), de chaque ion.

L'analyseur à temps de vol consiste à mesurer le temps que met un ion, accéléré préalablement par une tension, à parcourir une distance donnée. Le rapport masse sur charge est directement mesurable à partir du temps de vol.

En général, un premier analyseur sépare les ions, une cellule de collision permet de fragmenter les ions, et un second analyseur sépare les ions fragments. Certains analyseurs, comme les pièges à ions, constituent plusieurs analyseurs en un et permettent de fragmenter les ions et d'analyser les fragments directement.

- **Le détecteur et système de traitement**

Le détecteur transforme les ions en signal électrique. Plus les ions sont nombreux, plus le courant est important. De plus, le détecteur amplifie le signal obtenu pour qu'il puisse être traité informatiquement.

### 6.2.4. Spectre de masse

Le spectre de masse est un diagramme qui représente (Figure 19):

- Selon l'axe des abscisses : les rapports  $m/z$  des ions détectés (en impact électronique,  $z = 1$  ;  $m/z$  s'exprime alors en Dalton).
- Selon l'axe de ordonnées : l'abondance relative de ces ions. Celle du pic le plus intense est fixé arbitrairement à 100.

Les différents types de pics observés dans un spectre de masse sont :

- **Le pic de base** : c'est le pic le plus intense du spectre. Il correspond à l'ion le plus abondant donc le plus stable.
- **Le pic moléculaire ou pic parent** : il correspond à l'ion de nombre de masse égal à la masse moléculaire de la substance.
- **Les pics fragments** : ils correspondent aux différents ions fragments.

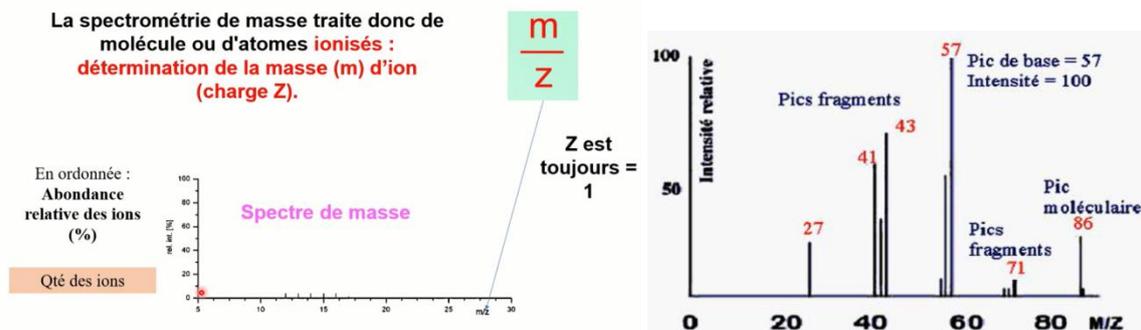


Figure 19: Spectre de masse SM.

### 6.2.5. Analyse spectrale

L'interprétation d'un spectre de masse peut se décomposer en deux étapes :

- Exploitation de l'ion moléculaire (la masse moléculaire, la parité, les isotopes, la formule brute...).
- Exploitation des ions fragments qui dépendent de la nature et de la structure de la molécule.

### 6.3. Spectroscopie infrarouge IR

Le principe de la spectroscopie infrarouge est tout à fait semblable à celui de la spectroscopie UV-vis. Si la spectroscopie visible met en jeu des transitions entre les niveaux d'énergie électroniques, la spectroscopie infrarouge concerne l'absorption de radiations qui provoquent des transitions entre les niveaux d'énergie de vibration et de rotation de la molécule. Les niveaux d'énergies sollicités par la spectroscopie infrarouge sont ceux des énergies de vibration des liaisons moléculaires (Rouessac et Rouessac, 2004).

La partie infrarouge du rayonnement électromagnétique est partagée en trois domaines : le proche infrarouge (le plus énergétique) qui s'étend de 14000 à 4000  $\text{cm}^{-1}$  (0,7-2,5  $\mu\text{m}$  en longueurs d'onde) ; l'infrarouge moyen qui va de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$  (2,5-25  $\mu\text{m}$ ) et enfin l'infrarouge lointain, qui couvre le domaine spectral de 400 à 10  $\text{cm}^{-1}$  (25-1000  $\mu\text{m}$ ).

#### 6.2.6. Modes de vibration

Dans le cas de la spectroscopie infrarouge, le rayonnement est absorbé par les liaisons chimiques. Les longueurs d'onde susceptibles d'être absorbées sont situées entre 1000 nm et 1 mm. Les liaisons chimiques subissent deux types de vibrations : des vibrations d'élongation et des vibrations de déformation. Les premières modifient leur longueur qui oscille autour d'une position d'équilibre, les secondes modifient l'angle qui oscille lui aussi autour d'une valeur moyenne (Figure 20) (Rouessac et Rouessac, 2004).

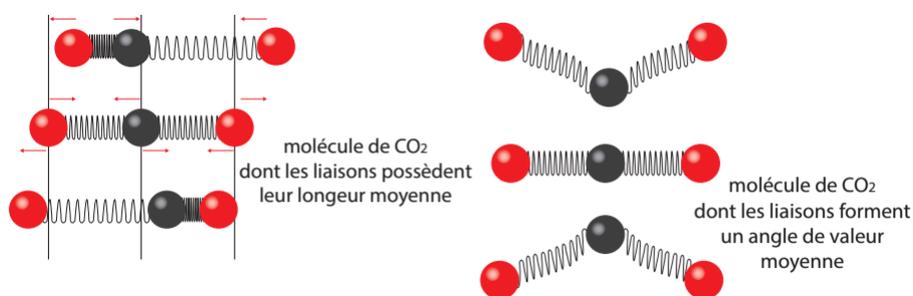


Figure 20 : Vibration d'élongation et de déformations de la molécule de CO<sub>2</sub>.

#### 6.2.7. Spectromètre et analyseurs infrarouges

Les instruments se répartissent en deux catégories : les spectromètres à transformée de Fourier qui réalisent une analyse simultanée de toute la bande spectrale à partir de mesures interférométriques et les nombreux analyseurs spécialisés. Dans le proche infrarouge on trouve également encore quelques spectromètres de type dispersif (Figure 21).

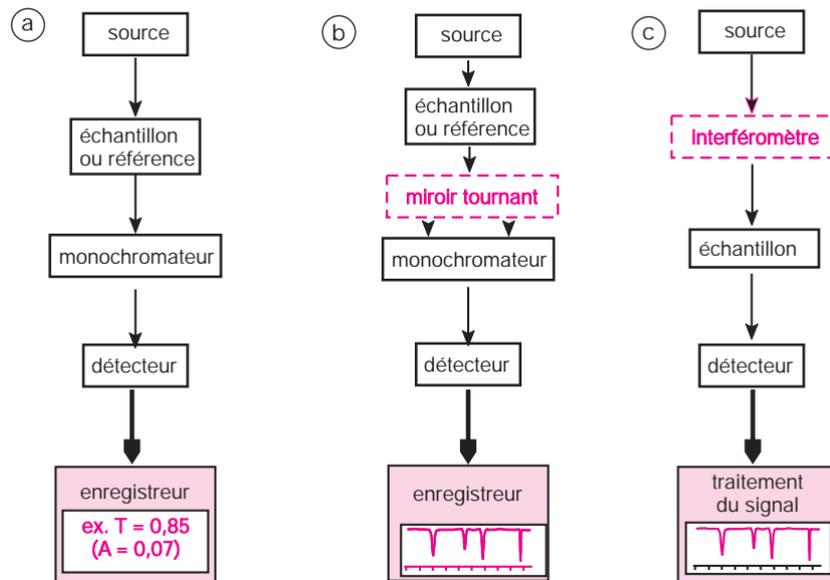


Figure 21 : Diagramme des spectres et analyseurs dans infrarouge.

- a) Analyseur simple faisceau b) Spectromètre doubles faisceau de type dispersif c) Modèle simple faisceau à transformée de Fourier.
- b)

#### – Spectromètres à transformée de Fourier (IRTF)

Les spectromètres infrarouges à transformée de Fourier correspondent à un montage optique à simple faisceau qui comporte comme pièce essentielle un interféromètre souvent de type Michelson placé entre la source et l'échantillon (Rouessac et Rouessac, 2004).

#### • Analyseurs infrarouges

De nombreux appareils de taille réduite, autonomes, utilisés pour la protection du personnel et des applications ciblées, dont les contrôles d'alcoolémie faits au moyen des éthylomètres, sont basés sur des mesures d'absorbance dans le moyen ou le proche infrarouge.

#### • Sources et détecteurs dans IR

##### – Sources lumineuses

Le choix de la source dépend de la région infrarouge où l'on veut travailler. Cependant, dans la plupart des cas on travaille dans la région appelée infrarouge moyen c'est à dire entre 4000 et 400  $\text{cm}^{-1}$ . On utilise généralement une source Globar à base de carbure de silicium. La source peut-être une diode laser qui émet à une longueur d'onde précise ou un simple filament recouvert de silice (cas des éthylomètres).

##### – Détecteurs

La détection des photons du domaine de l'infrarouge a pendant longtemps été difficile, cause principale de la médiocre sensibilité des premiers spectrophotomètres. Le principe repose sur l'effet thermique des radiations. Suivant le type d'application ou d'instrument, on

utilise des thermistors, thermocouples, thermopiles ou autres capteurs quelquefois astucieux. Pour les spectromètres à transformée de Fourier, le détecteur, qui doit pouvoir suivre les modulations rapides de l'intensité lumineuse, est un cristal pyroélectrique ou un semi-conducteur du type photodiode. Peu encombrants et légers, ils ont une faible inertie thermique et une réponse instantanée et linéaire.

### 6.2.8. Spectre infrarouge IR

Le spectre IR représente la transmittance T en ordonnée exprimée en pourcentage et le nombre d'onde  $\delta$ . en abscisse dont les valeurs sont exposées dans le sens décroissant (Figure 22).

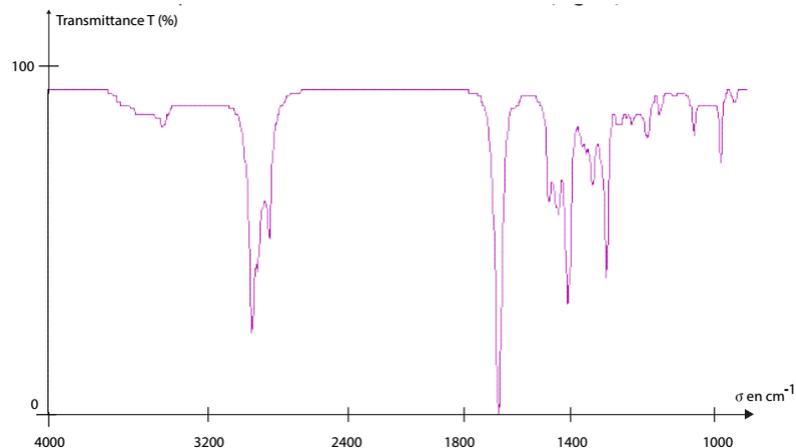


Figure 22 : Spectre IR de la butan-2-one.

Le nombre d'onde  $\delta$  se définit comme l'inverse de la longueur d'onde et il s'exprime en  $\text{cm}^{-1}$

$$\delta. = 1/\lambda$$

Les bandes d'absorption dans le cas d'IR sont dirigées vers le bas : plus la transmittance est faible et plus l'absorption du rayonnement par les liaisons est importante.

### 6.2.9. Bandes caractéristiques et empreintes digitales

Il existe deux zones principales dans un spectre IR :

Une première zone à gauche correspondant à un nombre d'onde supérieur à  $1400 \text{ cm}^{-1}$  où se trouvent les bandes caractéristiques des groupements fonctionnels. C'est la région des pics correspondant aux transitions vibrationnelles d'allongement.

Une seconde zone à droite correspondant à un nombre d'onde inférieur à  $1400 \text{ cm}^{-1}$ , appelée « empreinte digitale » que nous ne pourrions pas analyser à cause de sa complexité. Mais, permettent par exemple de déterminer la présence d'un substituant en position ortho, méta ou para d'un composé aromatique. C'est la région des pics correspondant aux transitions vibrationnelles de déformation.

Lorsque le nombre d'onde est situé entre 1400 et 4000  $\text{cm}^{-1}$  les bandes d'absorption sont caractéristiques des liaisons établies au sein des groupements caractéristiques tels que O — H, N — H, C — H, C = O, C = C (Tableau 4).

Tous les composés organiques tels que aldéhydes, cétones, acides carboxyliques, esters, amides qui contiennent le groupement C = O, présentent une bande caractéristique autour de 1700  $\text{cm}^{-1}$ . Pour les distinguer on cherche la présence d'autres liaisons qui leur sont caractéristiques telles que la liaison O — H dans le cas par exemple des acides carboxylique qui absorbent entre 2500 et 3000  $\text{cm}^{-1}$ . La même liaison au sein d'un alcool absorbe entre 3200 et 3500 si elle forme des liaisons hydrogène (liaison OH liée) ou entre 3500 et 3670 si elle est libre (liaison H libre). Une liaison hydrogène est une liaison faible. Elle se forme entre un atome d'hydrogène lié par liaison covalente à un atome d'un élément électronégatif (O, Cl, N, F) et un autre élément électronégatif.

Tableau 4: Bandes caractéristiques.

Types de bandes				
Intense	Moyenne	Faible	Large	Fine
Liaison	Plage de nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	Forme de la bande		
O-H alcool libre *	3580 - 3670	Moyenne et fine		
O-H alcool lié **	3200 - 3500	Intense/moyenne et large		
N-H amine	3100 - 3500	Moyenne		
N-H amide	3100 - 3500	Intense		
C-H alcène et aromatique	3030 - 3100	Moyenne		
C-H alcane	2850 - 2970	Moyenne		
C-H aldéhyde	2700 - 2900	Moyenne		
O-H acide carboxylique	2500 - 3200	Intense et large		
C=O ester	1735 - 1750	Intense		
C=O aldéhyde et cétone	1700 - 1740	Intense		
C=O acide carboxylique	1700 - 1725	Intense		
C=O amide	1650 - 1700	Intense		
C=C alcène	1620 - 1690	Moyenne		
C=C aromatique	1450 - 1600	Moyenne		
N-H amine ou amide	1560 - 1640	Moyenne		
C-O-C	1050 - 1300	Intense		

**6.2.10. Applications de la spectroscopie infrarouge**

La spectroscopie IR est une méthode utilisée pour la détermination de la structure des composés organiques. En effet, les vibrations moléculaires dépendent des distances interatomiques, des angles de liaison et des forces de liaison plutôt que des propriétés en vrac du composé. Ainsi, la spectroscopie infrarouge est utilisée en chimie organique pour la détection des groupes fonctionnels, la confirmation de l'identité des composés et le suivi des réactions.

### 6.3. Spectroscopie Résonance Magnétique Nucléaire RMN

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire ou RMN est une technique qui permet de caractériser les atomes d'hydrogène en précisant leur environnement avec le nombre et la nature des différents atomes qui les entourent. Elle est basée sur le fait que lorsque les noyaux des atomes d'hydrogène d'une molécule placée dans un champ magnétique d'intensité  $B_0$  sont excités par une onde électromagnétique (onde radio) d'une certaine fréquence, appelée fréquence de résonance, ils absorbent de l'énergie qu'ils restituent par la suite en émettant une onde électromagnétique d'une certaine fréquence, traduite en un signal indépendant du champ magnétique, que l'on appelle le déplacement chimique  $\delta$  (Rouessac et Rouessac, 2004).

#### 6.3.1. Appareillage de l'RMN

Dans un spectromètre de résonance magnétique nucléaire, nous constatons les éléments suivants (Figure 23):

- Un aimant extrême puissant qui a pour objectif de créer un champ magnétique. Nous pouvons faire varier ce champ de façon continue dans une plage relativement étroite au moyen d'un générateur de balayage.
- Un émetteur de fréquence radio.
- Un récepteur de fréquence radio.
- Un enregistreur et son intégrateur.
- Un support qui permet de situer l'échantillon par rapport au champ principal à la bobine d'émission et à celle de réception.

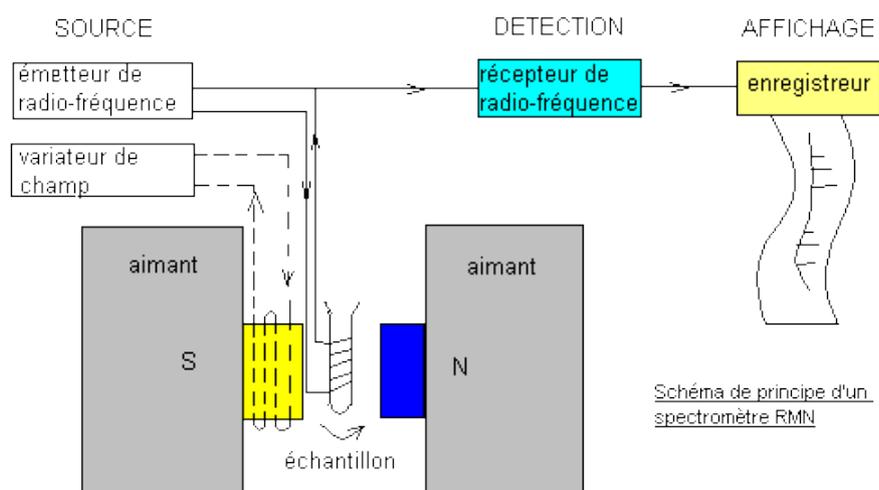


Schéma de principe d'un spectromètre RMN

Figure 23 : Structure d'un spectromètre RMN.

### 6.3.2. Déplacement chimique

Le déplacement chimique d'un signal est son abscisse sur un axe horizontal orienté de droite vers la gauche. Il s'exprime en ppm (partie par million) (Peter Hore, 2015).

$$\delta = \frac{\nu_{\text{mes}} - \nu_{\text{ref}}}{\nu_0} \times 10^6$$

Il est donné par la formule : en ppm (partie par million)

- $\nu$  est la fréquence émise (fréquence mesurée)
- $\nu_0$  est la fréquence proportionnelle à l'intensité du champ magnétique  $B_0$  et
- $\nu_{\text{ref}}$  est la fréquence de résonance du tétraméthylsilane (TMS), une substance qui est prise comme référence et qui détermine le 0 des déplacements chimiques.

### 6.3.3. Protons équivalents

Il s'agit de protons qui résonnent à la même valeur de déplacement chimique  $\delta$  car ils ont le même environnement. Le spectre RMN présente un seul signal. C'est le cas des protons qui sont portés par le même carbone tétraédrique ou des protons ou de groupes de protons portés par des atomes symétriques au sein d'une molécule.

Les protons de l'éthane sont caractérisés par un seul déplacement chimique car ils sont équivalents. Il en va de même des protons du méthoxyméthane.

### 6.3.4. Noyaux qui peuvent être étudiés par RMN

Les noyaux qui peuvent être étudiés par RMN Un nucléide quelconque représenté par  ${}^A_ZX$  a un nombre de spin  $I$  non nul si les nombres  $Z$  de protons et  $A$  de nucléons ne sont pas tous les deux pairs.  ${}^1_1\text{H}$ ,  ${}^{13}_6\text{C}$ ,  ${}^{19}_9\text{F}$ ,  ${}^{31}_{15}\text{P}$  ont, par exemple, un nombre de spin  $I = 1/2$  tandis que  $I = 1$  pour  ${}^2_1\text{H}$  (deutérium D) ou  ${}^7_7\text{N}$ . Tous ces noyaux donneront un signal en RMN. En revanche, les noyaux  ${}^{12}_6\text{C}$ ,  ${}^4_2\text{He}$ ,  ${}^{16}_8\text{O}$ ,  ${}^{28}_{14}\text{Si}$ ,  ${}^{32}_{16}\text{S}$  auront un nombre de spin nul et ne pourront pas être étudiés par RMN. Dans l'ensemble, plus de la moitié des nucléides stables connus (au moins un isotope par élément) conduisent à un signal de RMN, mais la sensibilité varie énormément suivant les noyaux. Ainsi le proton, nom commun du noyau  ${}^1_1\text{H}$ , ou bien le  ${}^{19}_9\text{F}$ , sont plus faciles à détecter que le  ${}^{13}_6\text{C}$ , beaucoup moins sensible que le proton et qui ne représente que 1 % de l'élément carbone (Rouessac et Rouessac, 2004).

### 6.3.5. Spectre Résonance Magnétique Nucléaire RMN

Un spectre RMN est constitué d'un ensemble de signaux, constitués d'un ou plusieurs pics fins. Chaque signal correspond à un atome ou groupe d'atomes d'hydrogène.

L'environnement de l'atome ou du groupe d'atomes influe sur (Figure 24):

- La position du signal, repérée en abscisse par une valeur appelée le déplacement chimique  $\delta$ .

- La multiplicité du signal : c'est le nombre de pics le composant.
- Une courbe d'intégration se superpose au spectre. Elle est constituée de paliers successifs.

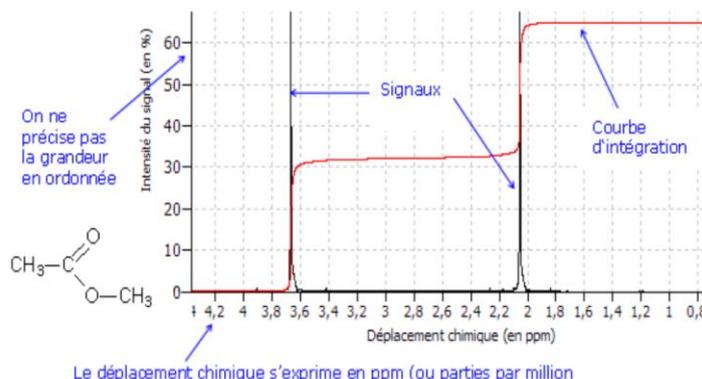


Figure 24: Spectre Résonance Magnétique Nucléaire RMN.

- **Courbe d'intégration**

La hauteur est proportionnelle au nombre de protons équivalents responsables du signal correspondant.

- **Multiplicité des signaux**

Les signaux de spectre de RMN ne sont pas constitués d'un seul pic mais souvent de plusieurs pics. On les appelle pour cette raison des multiplets (doublets, triplets,...). Le nombre de pics de chaque signal dépend du nombre de protons voisins que chaque proton équivalent possède (Figure 25).

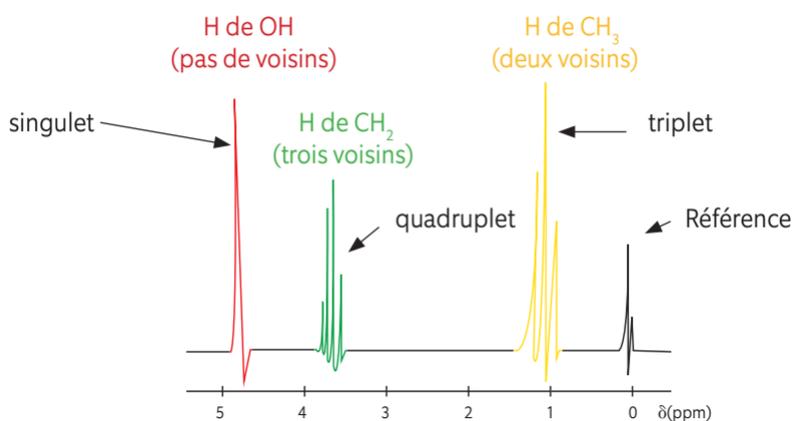


Figure 25: Spectre RMN de l'éthanol.

Deux protons sont voisins s'ils sont séparés par trois liaisons, simples ou multiples (doubles ou triples). Sinon ils ne sont pas voisins.

Un groupe de protons équivalents qui a  $n$  protons voisins non équivalents aux protons du groupe lui-même présente un signal multiple (multiplet) de  $(n+1)$  pics. Dans le spectre de l'éthanol  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ , le signal du groupe méthyle  $\text{CH}_3$  présente 3 pics : c'est un triplet. Dans l'éthanoate de méthyle  $\text{CH}_3\text{-CO-O-CH}_3$ , chaque groupe méthyle  $\text{CH}_3$  apparaît sous forme de 1 seul pic : c'est un singulet (Rouessac et Rouessac, 2004).

### **7. Exemples de molécules bioactives isolées de quelques espèces végétales en Algérie**

L'Algérie avec sa situation géographique, sa diversité climatique et sa richesse en flore, offre un terrain propice pour la recherche de nouvelles substances naturelles d'intérêts thérapeutiques et met un pas très important dans la recherche en phytochimie. Plusieurs espèces sont étudiées dans ce domaine, Citons par exemple :

*Ephedra altissima* est une source importante des composés bioactifs naturels aux propriétés antioxydantes et antibactériennes (Bouafia *et al.*, 2021).

Des études ont montré que le figuier de Barbarie est une plante d'intérêt industriel importante (Madani *et al.*, 2016).

Le safran (*Crocus sativus* L.) algérien est considéré comme une bioressource naturelle de composés polyphénoliques (Belyagoubi *et al.*, 2021).

**Références**

- Bailey JE (1991). Toward a science of metabolic engineering, *Science*, 252, 5013, 1668-1675, <https://doi.org/10.1126/science.2047876>.
- Barette C, Soleilhac E, Charavay C, Cochet C and Fauvarque MO (2015). Force et spécificité du criblage pour des molécules bioactives au CMBA-Grenoble ; médecine/sciences 2015 ; 31 : 423-31.
- Barkovich R and Liao J C (2001). Metabolic engineering of isoprenoids *Metab Eng. Jan*;3(1):27-39. doi: 10.1006/mben.2000.0168.
- Belyagoubi L, Loukidi B, Belyagoubi-Benhammou N, Gismondi A, Di Marco G, D'Agostino A, Canini A, Benmahieddine A, Rouigueb K, Ben Menni D and Atik-Bekkara F (2021). Valorization of Algerian Saffron: Stigmas and Flowers as Source of Bioactive Compounds Original Paper. Volume 12, pages 6671–6683.
- Beniddir M and Poupon E (2023). Chimie des substances naturelles et pharmacie : à la croisée des chemins *Comptes Rendus. Chimie*, pp. 1-15.
- Bouafia W, Mouffouk S and Haba H (2021). Quantification of total bioactive contents and evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of crude extracts from *Ephedra altissima Desf* ; *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 43, e52123 .
- Bruneton J (1999). *Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales*, 4e édition. TEC & DOC, Paris, 1269 p.
- Bruneton J (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier s.a.s, Cachan, France.
- Cacan R (2008). *Régulation métabolique : gènes, enzymes, hormones et nutriments*. Paris : Ellipses, impr.1 vol. (356 p.).
- Chen CY (2011). TCM Database@Taiwan: the world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening in silico. *PLoS One*. 6(1): p. e15939.
- Croteau R, Ketchum EB, Long RM, Kaspera R and Mark R (2006). Wildung Taxol biosynthesis and molecular genetics. *Phytochem Rev*. 5(1):75-97. doi: 10.1007/s11101-005-3748-2.
- Florent JC (2013). Chimiothèques de petites molécules, outil de recherche pour la biologie chimique *Biologie Aujourd'hui*, 207 (1), 39-54. DOI: 10.1051/jbio/2013006.
- Gu J, Gui Y, Chen L, *et al.*, (2013). Use of natural products as chemical library for drug discovery and network pharmacology. *PLoS One*. 8(4): p. e62839.

- Hert J, Willett P, Wilton DJ *et al.*, (2023). Comparison of topological descriptors for similaritybased virtual screening using multiple bioactive reference structures. *Org Biomol Chem.*2:3256-66.
- Lambert-van der Brempt C (2004). La modélisation moléculaire, une aide à la conception de nouveaux médicaments Volume 10, numéro 4.
- Lavecchia A and Giovanni C (2013). Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. *Curr Med Chem.* 20(23): p. 2839-60.
- Madani K, Remini H, Dahmoune F, Dairi S, Aoun O, Belbahi A, Lefsih K, Mahdeb M, Terki L, Khaled S, Adjerroud N, Djerroud N and Haddache L (2016). Laboratoire de Biomathématiques, Biophysique, Biochimie et de scientométrie (L3BS). Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Bejaia. 06000 Bejaia. Algérie.
- Maréchal E, Roy S and Lafanechère L (2007). CHEMOGÉNOMIQUE Des petites molécules pour explorer le vivant. EDP Sciences, Collection Grenoble Sciences, 258 pages.
- Menet MC (2011). Principes de la spectrométrie de masse Mass spectrométrie. *Revue Francophone des Laboratoires*, Issue 437, Pages 41-53.
- Merghem R (2009). *Eléments de biochimie végétale*. Edition Bahaeddine.
- Morot-Gaudry JF, Moreau F, Prat R, Maurel C and Sentenac H (2021). *Biologie végétale : Nutrition et métabolisme - 3e édition*. Sciences Sup 256 p.
- Ntie-Kang F, Zofou D, Babiaka SB *et al.*, (2013). AfroDb: a select highly potent and diverse natural product library from African medicinal plants. *PLoS One.* 8(10): p. e78085.
- Peter Hore (2015). *Nuclear Magnetic Resonance Broché*. 2e édition. Oxford University Press.
- Prudent R, Soleilhac E, Barette C, Fauvarque MO and Lafanechère L (2013). Phenotypic screens or one stone to kill two birds: discover the target and its pharmacological regulator *Med Sci (Paris)* Volume 29, Number 10, 897 – 905. <https://doi.org/10.1051/medsci/20132910018>
- Raghavan I, Juman R and Zhen QW (2024). The non-mevalonate pathway requires a delicate balance of intermediates to maximize terpene production *Applied Genetics and Molecular Biotechnology* Volume 108, article number 245p.
- Raimbault B (2021). Dans l'ombre du génie génétique : le génie métabolique *Natures Sciences Sociétés* 29, 3, 262-273 <https://doi.org/10.1051/nss/2021063>.

- Rouessac F et Rouessac A (2004). *Analyse chimique: Méthodes et techniques instrumentales modernes*. 6<sup>e</sup> édition, Dunod, Paris.
- Wink M (1997). Compartmentation of secondary metabolites and xenobiotics in plant vacuoles. *Adv. Bot. Res.*, 25 : 141–69.
- Wink M (2010). *Annual Plant Reviews*, Vol. 39: Function and Biotechnology.
- Wink M (2010). *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. Second Edition, wiley-blackwell.