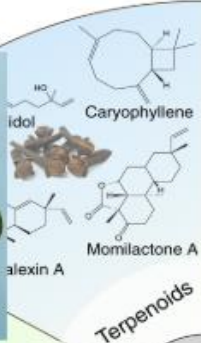
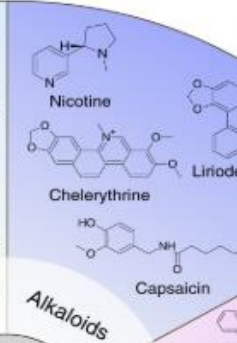


Terpènes (+ 30.000)

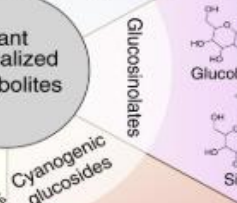
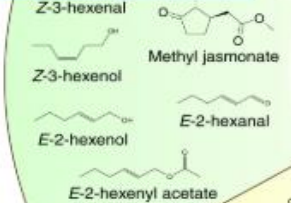


Composés azotés (+ 20.000)

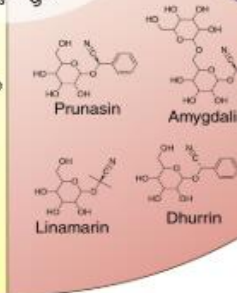


Acides gras

Oxylipines
 Jasmonate



Composés Phenoliques



COURS : Métabolisme Secondaire des plantes

Présenté par : Ounoughi Abdelkader

Université de Sétif 1

abdelkader.ounoughi@univ-setif.dz

fares.bvp@gmail.com

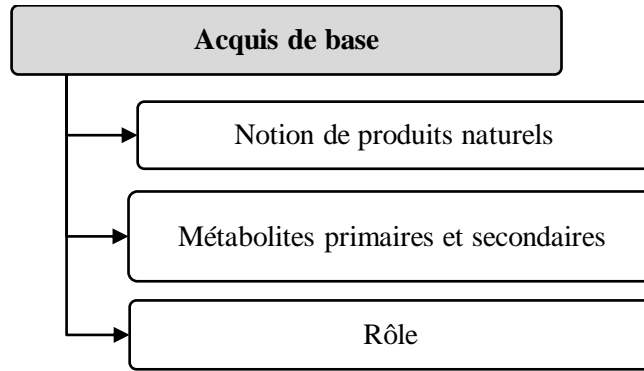
Master I : Biodiversité et Physiologie Végétale
2025/2026

Sommaire	Page
Acquis de base	01
1. Notion de produits naturels	01
2. Métabolites primaires et secondaires	01
2.1. Métabolites primaires	01
2.2. Métabolites secondaires	02
3. Rôle	03
I. Les produits naturels d'origine végétale ; comment sont-ils élaborés ?	04
I.1. Composés terpéniques	05
I.1.1. Introduction	05
I.1.2. Répartition	06
I.1.3. Assemblage	06
I.1.4. Classification	06
I.1.5. Biosynthèse	09
I.1.6. Extraction	13
I.2- composés phénoliques	14
I.2.1. Origine	14
I.2.2. Classification	17
I.2.3. Extraction	22
I.3. Composés alcaloïdiques	23
I.3.1. Origine	24
I.3.2. Classification	25
I.3.3. Propriétés physiques	28
I.3.4. Biosynthèse	29
I.3.5. Activités biologiques	29
I.3.6. Extraction	30
II. Intérêt physiologique des molécules dans la vie de la plante	31
II. 1. Rôle des terpènes	32
II.1.1. Molécules signaux	32
II.1.2. Hormones végétales	32
II.1. 3. La Photo-protection	32

II.1. 4. La stabilisation des membranes cellulaires	32
II.1. 5. Coloration des fruits	32
II.2. Rôle des composés phénoliques	33
II.2. 1. Molécules de dissuasion alimentaire	33
II.2. 2. Attraction des pollinisateurs	33
II.2.3. La coloration des plantes	34
II.2.4. Protections des plantes des rayonnements UV	34
II.2.5. Molécules donnant arômes et parfums aux plantes	34
II.2.6. Rôle de soutien structurel	34
II.3. Rôle des alcaloïdes	35
III. Moyens de défense vis-à-vis des agressions	35
III.1. Modes de défense	35
III.1.2. Défense directe	35
III.1.2. Inhibition de la croissance	35
III.1.3. Défense indirecte	36
III.2. Exemples	36
III.2.1. Les terpènes	36
III.2.2. Les phénols	37
III.2.3. Les alcaloïdes	38
IV. Valorisation et application des produits naturels dans l'industrie	39
VI.1. En agronomie	39
IV.2. En pharmacologie	39
IV.3. En agroalimentaire	39
IV.4. En parfumerie	39
IV.5. En tannage	39
V. METABOLISME ET REGULATION	39
V.1. Organisation spatiale et compartimentation du métabolisme	41
V.2. Ingénierie métabolique	43
VI. Métabolites secondaires d'intérêt pharmaceutique ou cosmétique	44
VI.1. Définition criblage biologique	44
VI.2. Choix et définition des cibles thérapeutiques	45
VI.3. Ressource pour les cibles	45
VI.4. Collation de substances naturelles	45

VI.5. Méthodologie d'évaluation	47
VI.5.1. Déférences entre criblage virtuel et criblage expérimental	47
VI.5.2. Processus de criblage expérimental	47
VI.5.3. Processus de criblage virtuel	48
VI.5.3.1. Rôle des substances naturelles contre la résistance	48
VI.5.3.2. Chimiothèque de produits naturels	49
VI.5.3.3. Les différentes étapes du criblage virtuel	49
VI.5.3.3.1. Préparation de la cible	49
VI.5-3-3-2- Préparation de la chimiothèque	50
VI.5-3-3-3- Criblage virtuel proprement dit	50
VI.5-3-3-4- Analyse visuelle et sélection des composés à tester expérimentalement	50
VI.6- Identification des produits naturels / Méthodes spectroscopiques	51
VI.6-1- Spectroscopie d'absorption l'UV	51
VI.6-1-1- Instrument d'un spectrophotomètre UV	51
VI.6-1-2- Lois d'absorption de la lumière	52
VI.6-1-3- Lois de Beer-Lamber	52
VI.6-1-4- Spectre UV-visible	53
VI.6-1-6- Groupe chromophores	53
VI.6-1-7- Spectrométrie de masse SM	53
VI.6-1-7-1- Utilisation Un spectromètre de masse SM	55
VI.6-1-7-2- Structure d'un spectromètre de masse SM	55
VI.6-1-7-3- Différents composants du spectromètre de masse SM	56
VI.6-1-7-4- Spectre de masse	57
VI.6-1-7-5- Analyse spectrale	59
VI.6-1-7-6- Spectroscopie infrarouge IR	60
VI.6-1-7-9- Spectromètre à transformée de Fourier (IRTF)	61
VI.6-1-7-10- Spectre infrarouge IR	62
VI.6-1-7-11- Bande caractéristiques et empreintes digitales	63
VI.6-1-7-12- Application de la spectroscopie infrarouge	64

VI.6-1-8- Spectroscopie Résonance Magnétique Nucléaire RMN	65
VI.6-1-8- 1- Appareillage de l'RMN	65
VI.6-1-8- 2- Déplacement chimique	66
VI.6-1-8- 3- Proton équivalents	66
VI.6-1-8-4- Noyaux qui peuvent être étudiés par RMN	67
VI.6-1-8- 5- Spectre Résonance Magnétique Nucléaire RMN	67
VII Exemples de molécules bioactives isolées de quelques espèces végétales en Algérie	69
Références bibliographiques	71



Introduction :

Ces dernières années, les plantes médicinales ont pris une place prépondérante. Cet essor s'explique par l'intérêt croissant pour les substances naturelles dans des secteurs variés tels que l'agroalimentaire, la cosmétologie et la pharmacie.

Employées en médecine traditionnelle, ces plantes tirent leurs vertus thérapeutiques de leurs composants chimiques. Qu'il s'agisse de métabolites primaires ou secondaires, leur efficacité repose soit sur des molécules spécifiques, soit sur la synergie entre leurs différents constituants.

Depuis toujours, l'être humain puise dans le monde végétal pour combler ses besoins, qu'il s'agisse de se nourrir, de décorer son environnement ou de produire des boissons et des teintures.

Parmi ces ressources, les herbes aromatiques et les épices occupent une place de choix : utilisées comme condiments, elles sont les principales artisanes du plaisir gustatif et de la richesse des saveurs en cuisine.

L'usage des propriétés botaniques en cosmétologie est une tradition séculaire qui connaît aujourd'hui un véritable essor. Les produits visant à l'embellissement du corps multiplient l'usage de substances d'origine naturelle. Ainsi, les eaux de fleurs, les macérations et les essences végétales viennent enrichir et complexifier les principes actifs de la cosmétique contemporaine.

1. Notion de produits naturels

Les Espèces Naturelles Ce sont des substances présentes à l'état sauvage dans la nature. Bien qu'elles puissent être extraites via des procédés physiques ou chimiques, leur **structure moléculaire reste inchangée** par rapport à leur état d'origine.

Les Espèces Synthétiques Il s'agit de molécules **reproduites ou créées par l'Homme** en laboratoire au moyen de transformations chimiques. On distingue deux sous-groupes dans cette catégorie :

- **Les espèces identiques au naturel** : Elles ont exactement la même structure que celles que l'on trouve dans la nature (ex : certains arômes de vanille synthétisés).
- **Les espèces artificielles** : Voir ci-dessous.

Les Espèces Artificielles Ce sont des espèces chimiques synthétiques qui possèdent une particularité majeure : elles n'ont **aucun équivalent connu dans la nature**. Elles résultent d'une conception purement humaine.

- **Exemple** : L'aspartame (édulcorant) ou le nylon.

La plante (ou un autre type d'organisme vivant) peut être considérée comme une usine de fabrication de molécules.

2. Métabolites primaires et secondaires

2.1. Métabolites primaires

Ces molécules, dites **constitutives ou permanentes**, sont les acteurs indispensables du métabolisme basal. Sans elles, la cellule ne pourrait ni fonctionner, ni assurer sa survie à long terme.

On les classe généralement en trois grandes catégories selon leur rôle biologique :

- **Les glucides** : Ils servent de carburant immédiat (source d'énergie) et assurent la rigidité structurelle, notamment via la paroi cellulaire.
- **Les lipides** : Ils constituent une réserve d'énergie dense et forment l'architecture fondamentale des membranes cellulaires.
- **Les acides aminés** : Ils représentent les briques élémentaires nécessaires à la synthèse des protéines, véritables "machines" de la cellule.

2.2. Métabolites secondaires

Le métabolisme regroupe toutes les réactions chimiques nécessaires à la vie d'un organisme. Les molécules produites ou transformées durant ce processus sont les métabolites, lesquels se répartissent en deux groupes principaux : les primaires et les secondaires.

Les plantes possèdent la faculté singulière de produire une multitude de substances dont les fonctions endogènes ne sont pas encore totalement élucidées. Ces composés, connus sous le nom de **métabolites secondaires**, sont qualifiés de **biomolécules végétales** en raison de leurs diverses propriétés biologiques.

Le fait que ces composés soient absents chez certains végétaux indique qu'ils ne relèvent pas du métabolisme primaire indispensable. Bien que ces métabolites dits « secondaires » ne participent pas directement aux mécanismes vitaux comme la croissance ou la reproduction, ils assurent des rôles déterminants pour la pérennité de la plante, notamment à travers des stratégies de défense et d'adaptation (Merghem, 2009).

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

Base	Métabolites primaires	Métabolites secondaires
Définition	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
Importance pour la cellule	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.
Extraction	Leur extraction est facile.	Ils sont difficiles à extraire.
Quantité	Ils sont produits en grande quantité.	Ils sont produits en petite quantité.
Présence	Leur présence au même chez toutes les espèces. Cela indique qu'ils sont l'élément	Leur présence varie d'une espèce à l'autre.

Clé de la croissance et des fonctions cellulaires.

Exemples	Les glucides	Les composés phénoliques
	Les lipides	Les composés terpéniques
	Les protéines et les acides nucléiques.	Les alcaloïdes

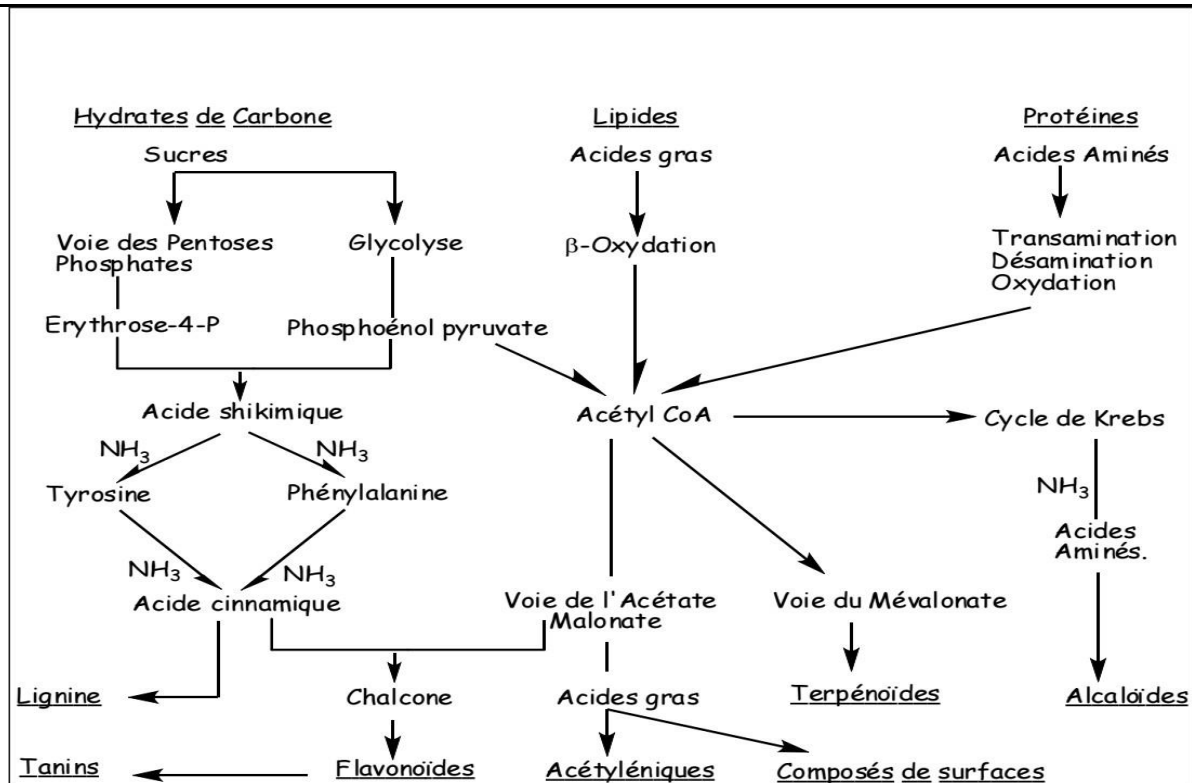


Figure 1 : Relation entre le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (Merghem, 2009).

3. Rôle

Le potentiel des substances naturelles s'exprime à travers plusieurs dimensions fondamentales :

- Elles servent de base au développement de **nouveaux produits** (médicaments, cosmétiques, solutions agricoles).
- Elles agissent comme une **empreinte génétique**, permettant de classer et d'explorer le monde vivant.
- Elles sont le **langage des écosystèmes**, facilitant la compréhension des échanges entre organismes.
- Elles assurent des **fonctions vitales** pour les plantes, notamment :

- Le recrutement des pollinisateurs.
- La défense contre les agressions extérieures (maladies et prédateurs).
- La compétition interspécifique (allélopathie).
- Le contrôle de leur propre développement.

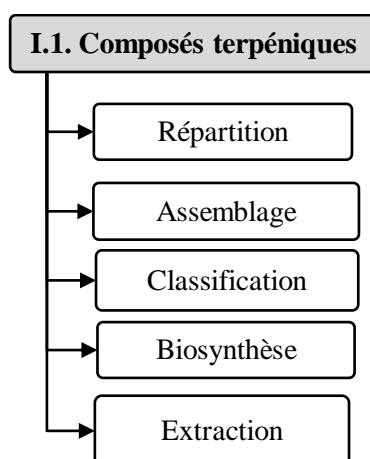
Il est à noter que le métabolisme secondaire des plantes est lié au métabolisme primaire par cinq voie métaboliques principales :

- La voie de l'acide shikimique,
- De l'acide malonique,
- De l'acide mévalonique,
- Des acides aminés
- Du glucose 3P via la voie des pentoses phosphates.

I - LES DIFFERENTES CLASSES DES METABOLITES SECONDAIRES

COMMENT SONT ILS ELABORES ?

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



I.1.1. Introduction

Les terpènes ont été nommés par Friedrich Kekulé von Stradonitz en référence à la térébenthine qui contient des hydrocarbures (térébenthine se dit en allemand « Terpentin ». Seulement, ceux-ci ont été qualifiés à l'origine de « terpène », terme qui est devenu une notion spécifiée plus tard plus précisément.

Les **terpènes** constituent une vaste famille d'hydrocarbures naturels dont l'architecture moléculaire peut varier d'une forme linéaire (**acyclique**) à des structures fermées plus complexes (**monocycliques, bicycliques ou tricycliques**).

Leur principale caractéristique réside dans leur squelette carboné, qui est systématiquement construit à partir de l'assemblage d'unités de base appelées **unités isopréniques**. (Figure 02).

Chaque unité est composée de 5 atomes de carbone, correspondant à la molécule de **2-méthyl-1,3-butadiène** (C₅H₈).

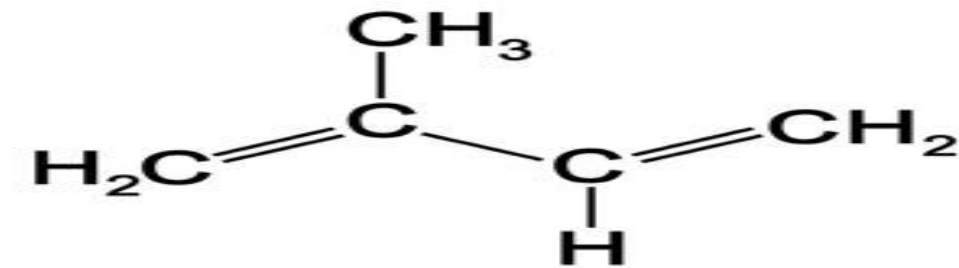


Figure 02 : Structure de l'unité isoprène

I.1.2. Répartition

Bien que les terpènes soient essentiellement produits par les végétaux, cette caractéristique n'est pas exclusive. On trouve en effet divers sesquiterpènes et diterpènes chez certains animaux marins (comme les éponges ou les cnidaires), tandis que plusieurs insectes utilisent des monoterpènes comme phéromones.

I.1.3. Assemblage

La diversité des terpènes végétaux, qu'ils soient cycliques ou acycliques, repose sur l'assemblage de plusieurs unités d'isoprène (le 2-méthylbuta-1,3-diène). Ces molécules sont classées selon le nombre entier n d'unités isopréniques à cinq atomes de carbone (C5) qui les composent :

- Monoterpènes : formés de deux unités (C10), ils sont souvent les constituants principaux des huiles essentielles.
- Sesquiterpènes : composés de trois unités (C15).
- Diterpènes : composés de quatre unités (C20).
- Triterpènes : composés de six unités (C30), comme les précurseurs des stéroïdes.
- Tétraterpènes : composés de huit unités (C40), incluant notamment les caroténoïdes.
- Polyterpènes : formés d'un grand nombre d'unités (ex : le caoutchouc naturel). (**Figure 03**)

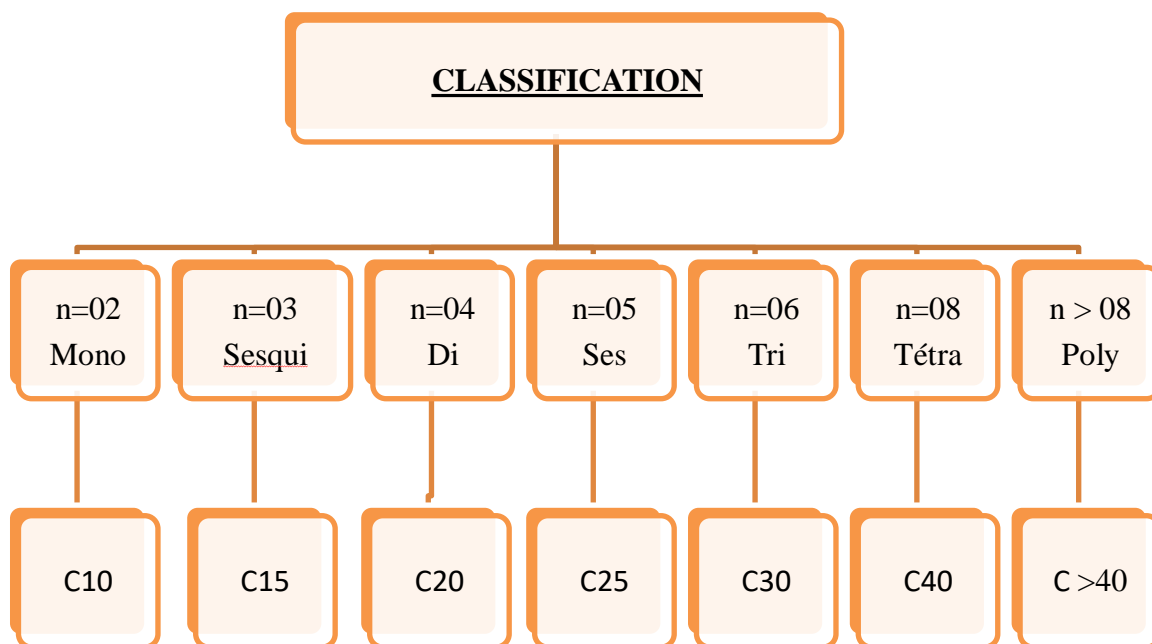


Figure 03 : Classification des terpènes

✚ Notion tête et queue

Les termes tête-à-queue et queue-à-queue sont utilisés pour décrire comment les unités d'isoprène sont assemblées (**Figure 04 et 05**).

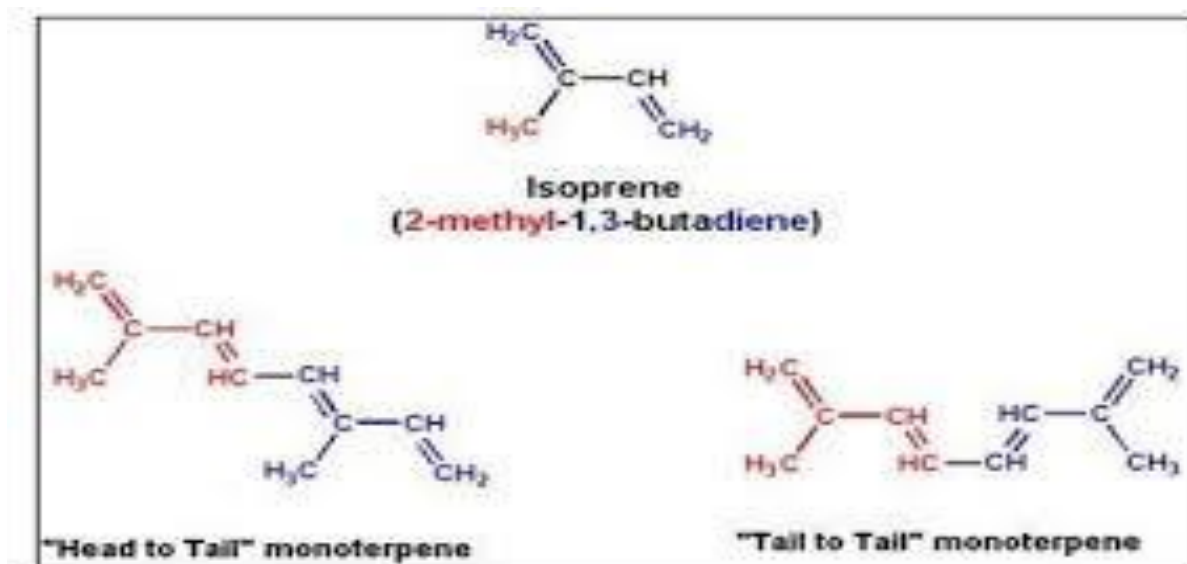


Figure 04 : Assemblage des terpènes

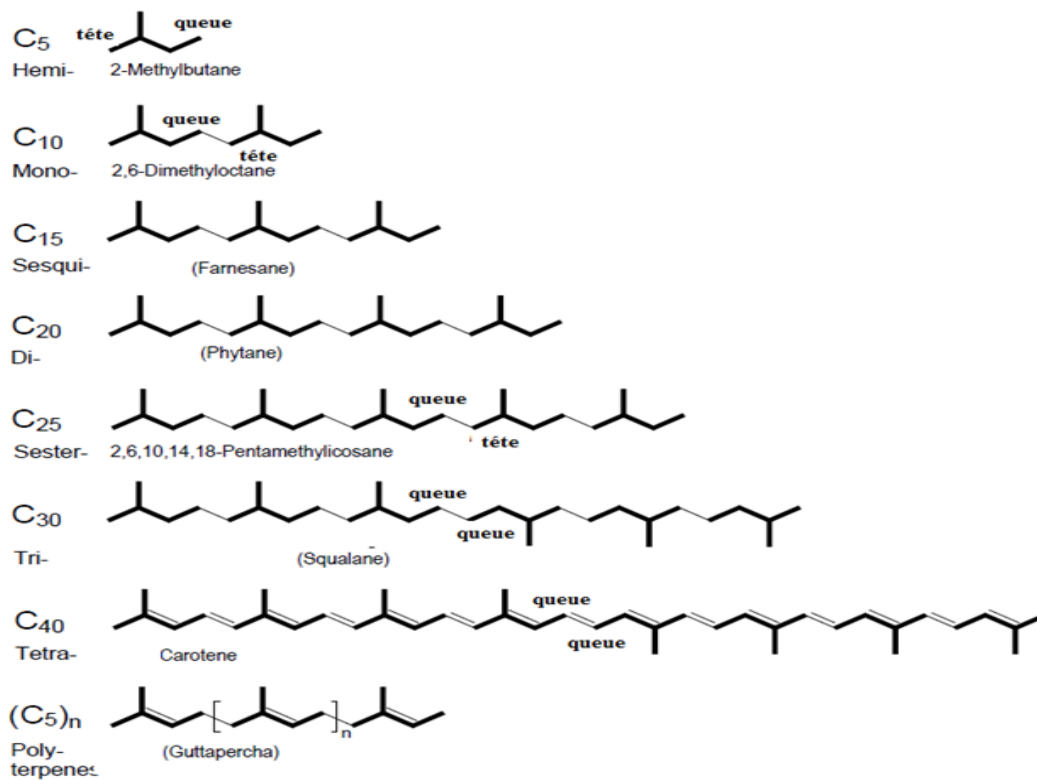
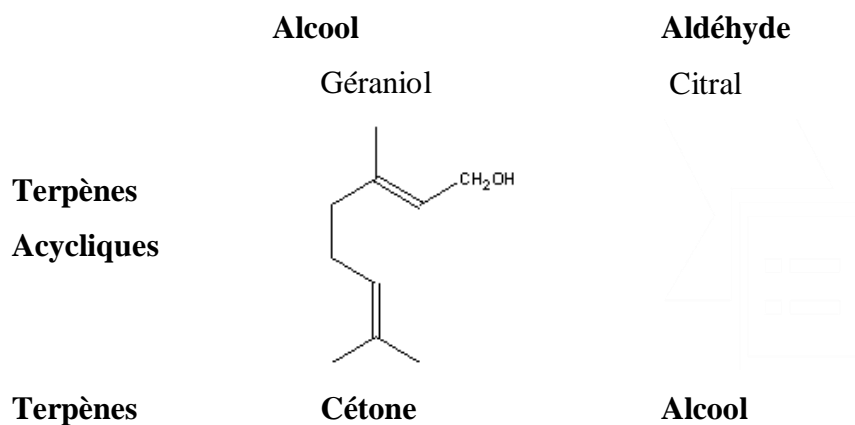


Figure 05 : Quelques exemples d'assemblage des isoprènes

I.1.4. Classification

Selon la structure des composés terpéniques, on peut les classer en :

- Terpènes acycliques
- Terpènes monocycliques
- Terpènes bicycliques (**Figure 06**).



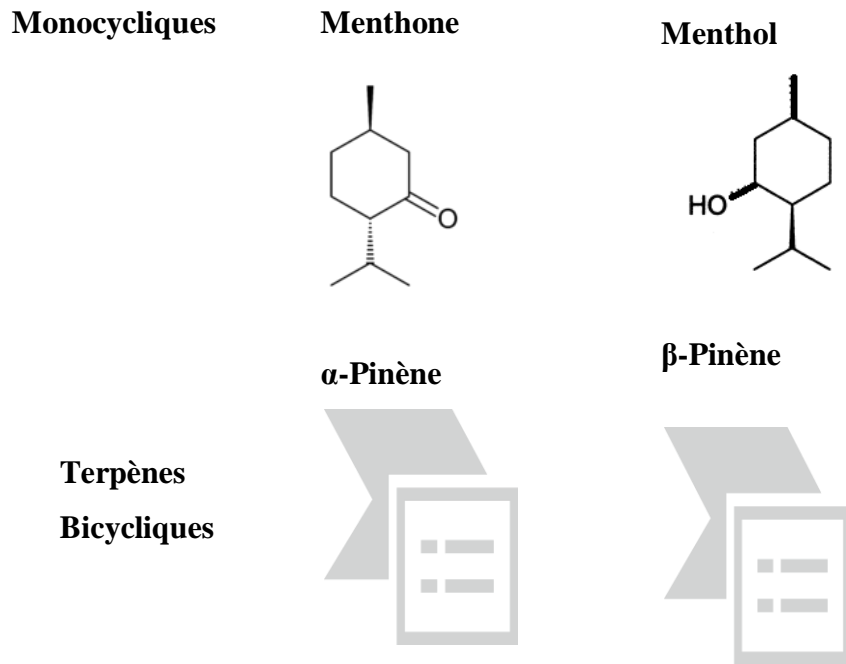


Figure 06 : Classification structural des terpènes

I.1.5. Biosynthèse

Tous les terpènes dérivent d'un précurseur commun : l'**acide mévalonique**. Celui-ci est synthétisé par la condensation enzymatique de trois molécules d'**acétyl-CoA**.

Le processus de transformation suit ensuite deux étapes clés :

Phosphorylation de l'acide mévalonique.

Décarboxylation, qui permet d'obtenir l'unité structurale de base (l'unité isoprénique) : le **pyrophosphate d'Isopentényl (IPP)**. (Figure 07).

La seconde voie, voie du MEP également appelée **voie indépendante du mévalonate**, cette voie métabolique est caractéristique des plantes et de certaines bactéries. Contrairement à la voie classique, elle se déroule selon les étapes suivantes :

- **Initialisation** : Le processus commence par la condensation de deux molécules à trois carbones : le **pyruvate (C3)** et le **glycéraldéhyde-3-phosphate (C3)**.
 - **Formation du précurseur** : Cette réaction produit le **méthylérythritol phosphate (MEP)**, un intermédiaire clé à cinq carbones (C5).
 - **Synthèse finale** : À la suite de plusieurs réactions enzymatiques successives, le MEP est transformé en **IPP (Isopentényl-pyrophosphate)**, la brique élémentaire des terpènes.
- **Synthèse de l'IPP**

- L'Isopentényl Pyrophosphate (IPP) constitue l'unité isoprénique fondamentale. C'est à partir de ce "bloc de construction" biologique que l'ensemble des autres dérivés sont synthétisés par des processus de polymérisation et d'isomérisation. **Figure 06**
- Le processus débute par la condensation de trois unités d'acétyl-CoA pour former un précurseur clé, avant d'aboutir au mévalonate :
- **Formation de l'acétoacétyl-CoA** : Sous l'action de la **cétothiolase**, deux molécules d'acétyl-CoA fusionnent pour créer de l'acétoacétyl-CoA.
- **Synthèse du HMG-CoA** : Une troisième molécule d'acétyl-CoA est ajoutée à l'acétoacétyl-CoA par une **enzyme de condensation** (la HMG-CoA synthase). Cela produit le α -hydroxy-bêta-méthylglutaryl-CoA, plus couramment appelé **HMG-CoA**.
- **Réduction en acide mévalonique** : Le groupement carboxyle du HMG-CoA, lié au coenzyme A, est ensuite réduit en fonction alcool pour donner l'**acide mévalonique (MVA)**.

1. **Phase de réduction** : Un aldéhyde intermédiaire se forme mais ne reste pas libre ; il demeure attaché au complexe enzymatique.

2. **Phase de phosphorylation** : L'acide mévalonique est ensuite transformé par l'ATP. Ce dernier cède deux groupements phosphates en deux étapes pour activer la molécule, L'acide mévalonique reçoit des groupements phosphate pour devenir un pyrophosphate. Une fois activé, il perd une molécule de CO₂ pour se transformer en **Isopentényl-pyrophosphate (IPP)**.

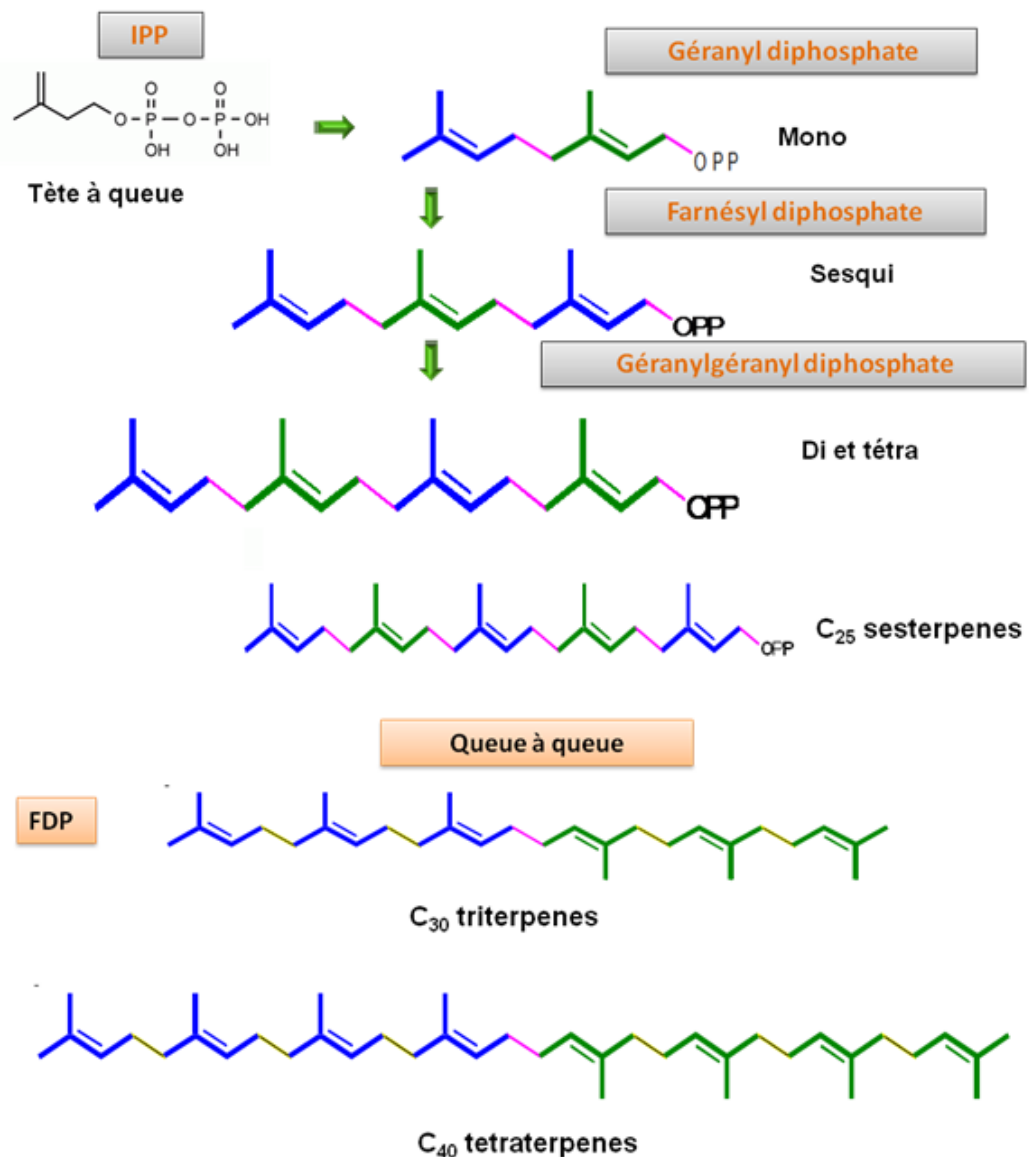


Figure 08 : Condensation des unités du pyrophosphate d'Isopentényl

- **Terpènes ou terpénoïdes ?**

- Le terme « terpène » est souvent employé au sens large pour englober les **terpénoïdes**. Ces derniers sont des dérivés structuraux des terpènes, résultant de modifications chimiques telles que l'ajout ou le retrait de groupements méthyles, ou encore l'incorporation d'atomes d'oxygène.

- **Modifications secondaires**

Après leur synthèse, les molécules terpéniques peuvent subir des modifications par l'ajout de fonctions chimiques (**Figure 09**) comme la fonction alcool, aldéhyde ou cétone, ce qui conduit à la grande diversité des molécules de cette famille.

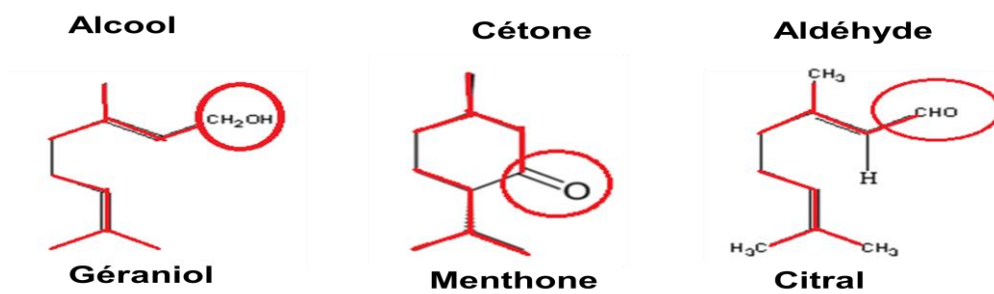


Figure 09 : Quelques modifications qui peuvent survenir aux molécules terpéniques

I.1.6. Extraction

Le principe de l'hydrodistillation repose sur l'entraînement à la vapeur des composés volatils végétaux. Le matériel végétal, préalablement fragmenté, est immergé dans de l'eau distillée et porté à ébullition durant trois heures. Sous l'effet de la chaleur, la rupture des parois cellulaires libère les essences qui s'évaporent avec l'eau. Après condensation du mélange gazeux, les deux phases se séparent naturellement par différence de densité, l'huile essentielle surnageant au-dessus de la phase aqueuse (Figure 10). L'extrait est alors prélevé à la seringue, puis stocké dans des flacons ambrés, hermétiques, et conservé au froid (4 à 6 °C) pour garantir sa stabilité.

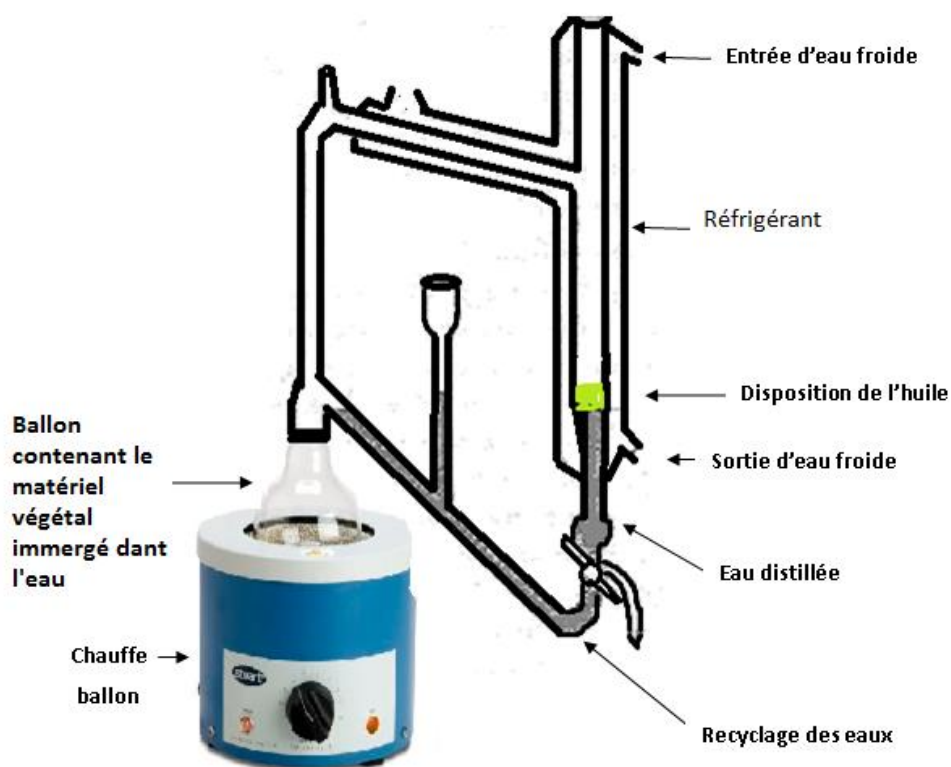
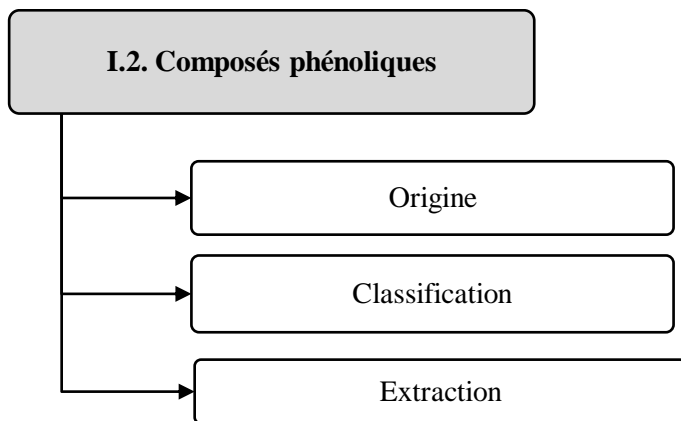


Figure 10 : Extraction des huiles essentielles par hydro distillation



Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances chimiques. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié directement au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside...etc.). Le phénol est le composé de base de ce groupe et les dérivés portant plus de deux noyaux benzéniques sont appelés les polyphénols (**Figure 11**). Ces composés forment le principe actif de nombreuses plantes médicinales. Ils sont abondants chez plantes vasculaires et localisés dans : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit.

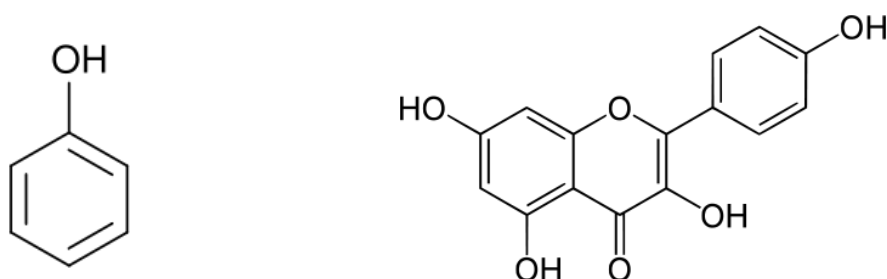


Figure 10 : Structure de la molécule phénol et celle d'un polyphénol (kaempférol)

I.2.1. Origine

Les composés phénoliques sont des biomolécules non azotées caractérisées par un cycle aromatique. Leur biosynthèse repose sur deux voies métaboliques majeures : la voie de l'**acide shikimique** et celle du **malonyl-CoA**. (**Figure 12**).

La classe la plus représentative de ces composés est celle des **Phénylpropanoïdes**. Ces derniers sont synthétisés à partir de deux acides aminés aromatiques : la **phénylalanine** ou la **tyrosine**.

Le passage crucial de l'acide aminé vers la structure phénolique est assuré par une enzyme régulatrice fondamentale : la **phénylalanine ammonia-lyase (PAL)**. Cette enzyme

catalyse la désamination de la phénylalanine pour produire de l'**acide cinnamique**, amorçant ainsi la diversité des structures phénoliques rencontrées dans le monde végétal.

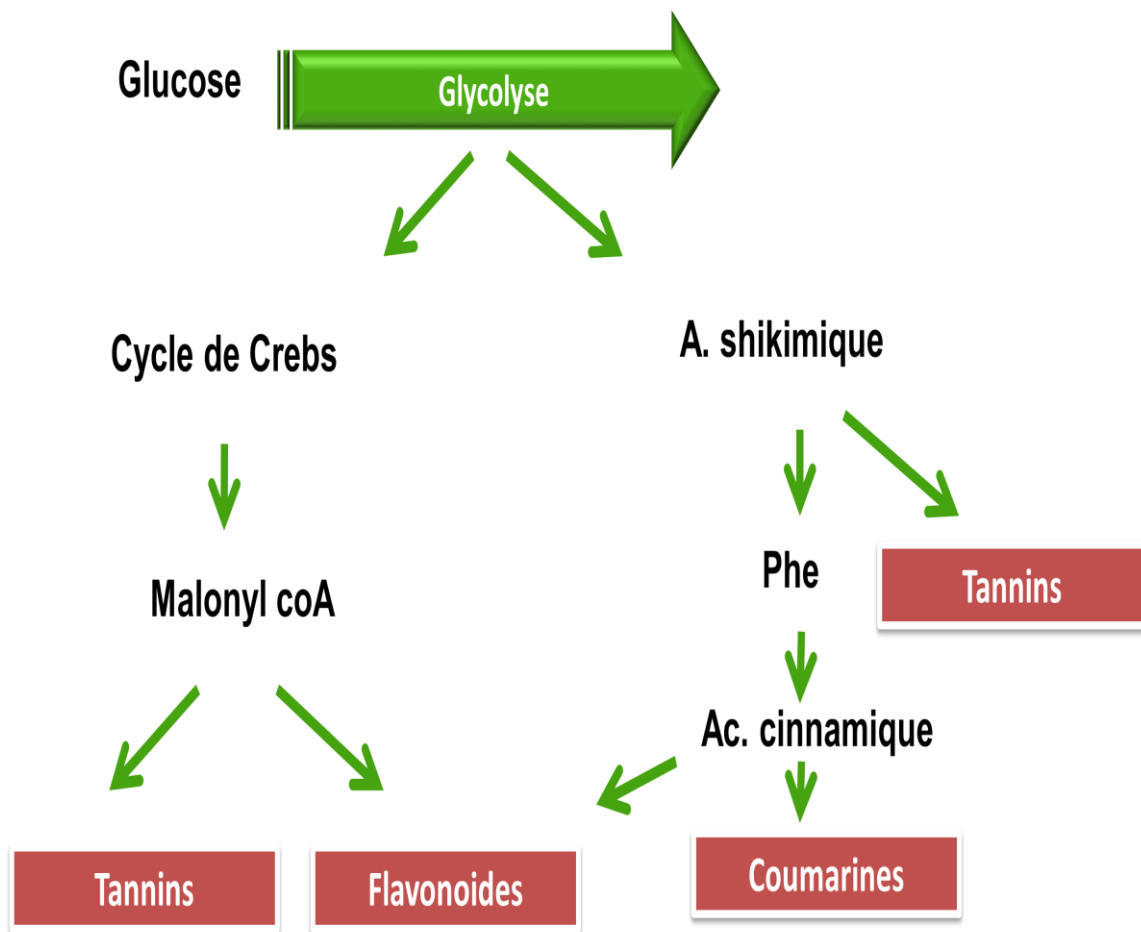
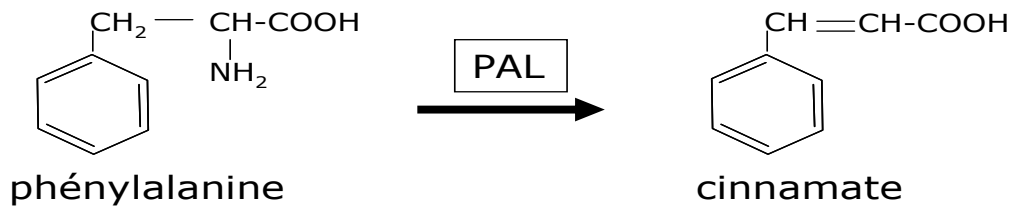


Figure 12 : Origines des composés phénoliques

L'acide cinnamique, un composé en C6-C3, constitue un carrefour métabolique intermédiaire entre le métabolisme primaire et secondaire (**Figure 13**).

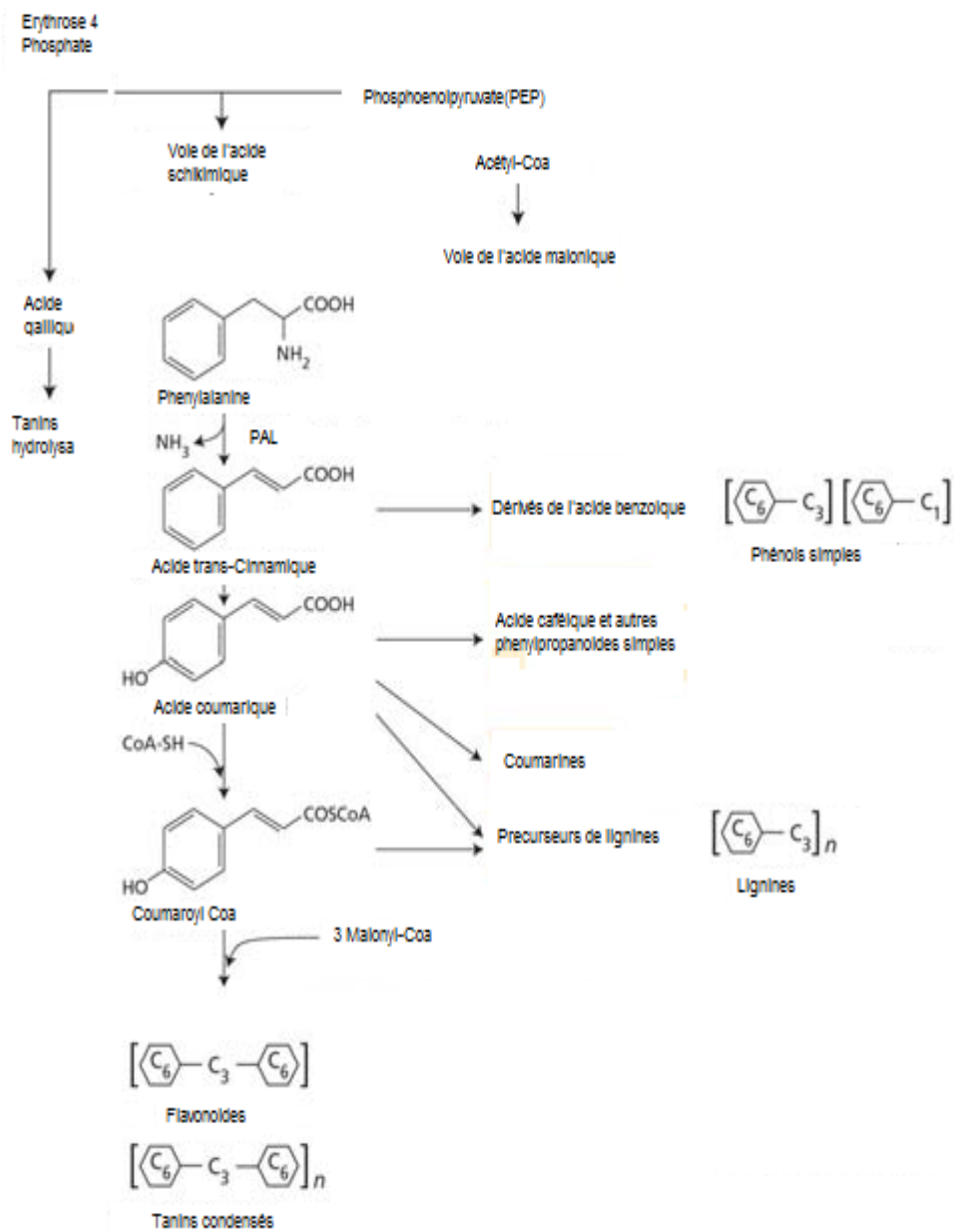


Figure 13 : Synthèse des composés phénoliques

En raison de leur structure polyphénoliques, ils pourraient jouer un rôle dans les chaînes d'oxydo-réduction et modifier certaines réactions concernant la croissance, la respiration, la morphogenèse et la lignification. Ainsi le **Kaempferol** active l'auxine-oxydase tandis que la **quercétine** l'inhibe. De nombreux flavonoïdes, en raison de leur richesse en groupements phénols (OH), sont capables de se fixer sur certaines protéines et enzymes, et de modifier ainsi les équilibres enzymatiques ; ils interviennent à différents stades du développement, notamment lors de la germination. Les flavonoïdes dont l'absorption en U.V est importante, protègent les plantes vis-à-vis des rayonnements nocifs.

Les flavonoïdes jouent un rôle crucial dans la survie des plantes. D'un côté, ils luttent directement contre les champignons et les insectes nuisibles. De l'autre, ils servent de médiateurs de communication : ils attirent les abeilles vers les fleurs tout en dégoûtant les herbivores, limitant ainsi la consommation du feuillage.

Les flavonoïdes constituent une part non négligeable des phytoconstituants - principes actifs- solubles dans l'eau, de nombreuses plantes médicinales ayant une grande importance en phytothérapie actuelle. Les principes actifs sont divisés en nombreux sous-groupes : flavanes, flavanols, flavanones, flavones, catéchines.

I.2.2. Classification

a. Les phénols simples et les acides phénoliques

Les structures phytochimiques bioactives les plus élémentaires sont parfois composées d'un **unique noyau phénolique**. (**Figure 14**). Les composés phénoliques sont formés d'un **noyau aromatique** sur lequel sont fixés un ou plusieurs **groupes hydroxyles**. Leur taille varie énormément : certains sont des molécules très simples, tandis que d'autres forment de longues chaînes complexes appelées polymères.

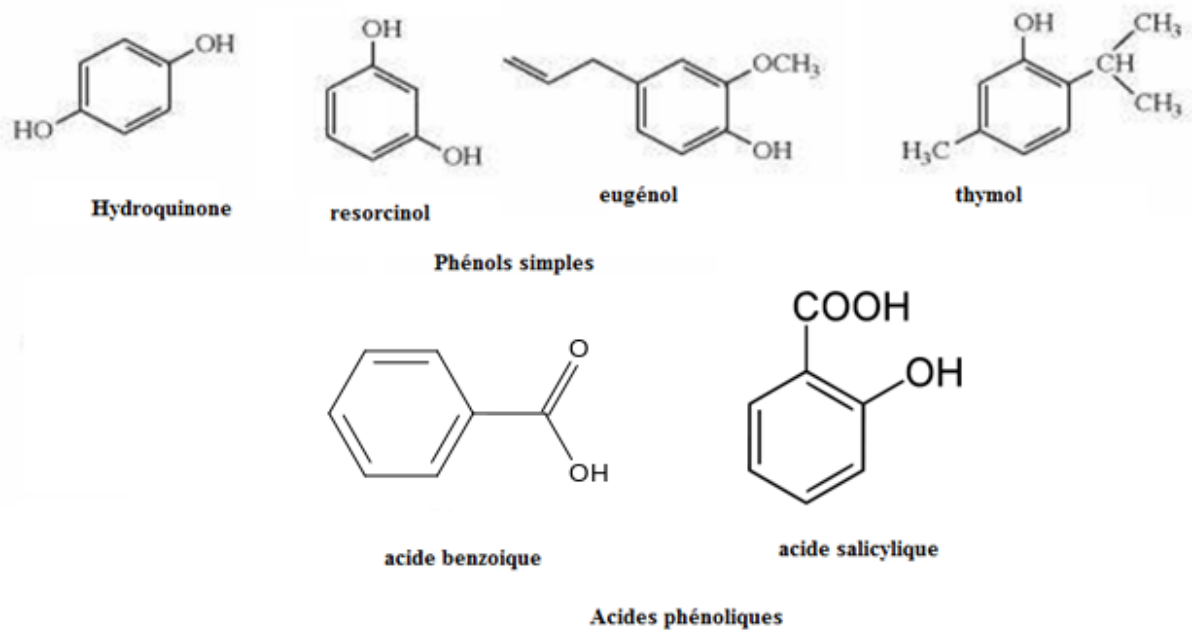


Figure 14 : Exemples de quelques phénols simples et acides phénoliques

b. Les flavonoïdes

- Le terme flavonoïde provient du latin "flavus", signifiant "jaune", ils sont des pigments polyphénoliques presque toujours hydrosolubles qui contribuent, entre autres, On les retrouve principalement dans les **vacuoles** des cellules sous forme d'hétérosides (liés à un sucre), ou au sein de plastes spécialisés appelés **chromoplastes**, à colorer les fleurs et les fruits en jaunes ou en blanc. Ils ont un champ d'action important et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Ex : la quercétine (**Figure 15**).

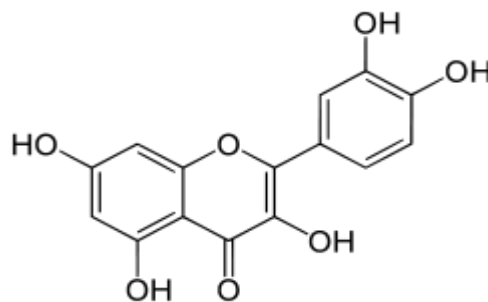


Figure 15 : La quercétine

La formation des flavonoïdes repose sur la condensation de **trois unités acétates** (dérivées de l'acétyl-CoA) avec une molécule d'**acide 4'(OH) -hydroxycinnamoyl-CoA**. Ce processus enzymatique aboutit à une structure caractéristique composée de deux noyaux benzéniques (**A** et **B**) reliés par une chaîne carbonée à trois atomes, qui forme l'hétérocycle **C**.

La **chalcone synthase** (ou flavone synthase) joue un rôle central dans ce métabolisme. Ce complexe multi-enzymatique opère en trois étapes distinctes :

- Chaque site du complexe assure l'addition successive d'unités **malonates**.

- L'**acide p-hydroxycinnamique** sert d'accepteur principal lors de cette réaction.

Localisation et diversité cellulaire

- **Synthèse** : Elle débute dans les **chloroplastes** en utilisant le cinnamoyl-CoA provenant du réticulum endoplasmique.
- **Stockage** : Une fois synthétisées, certaines molécules (comme les anthocyanes) migrent vers les **vacuoles** pour y être stockées.
- **Variabilité** : La grande diversité des flavonoïdes découle du **degré d'oxydation** de l'hétérocycle central. Celui-ci se forme généralement par la liaison entre un groupement hydroxyle (OH) du noyau A et la chaîne latérale de l'acide cinnamique. (**Figure 16**)

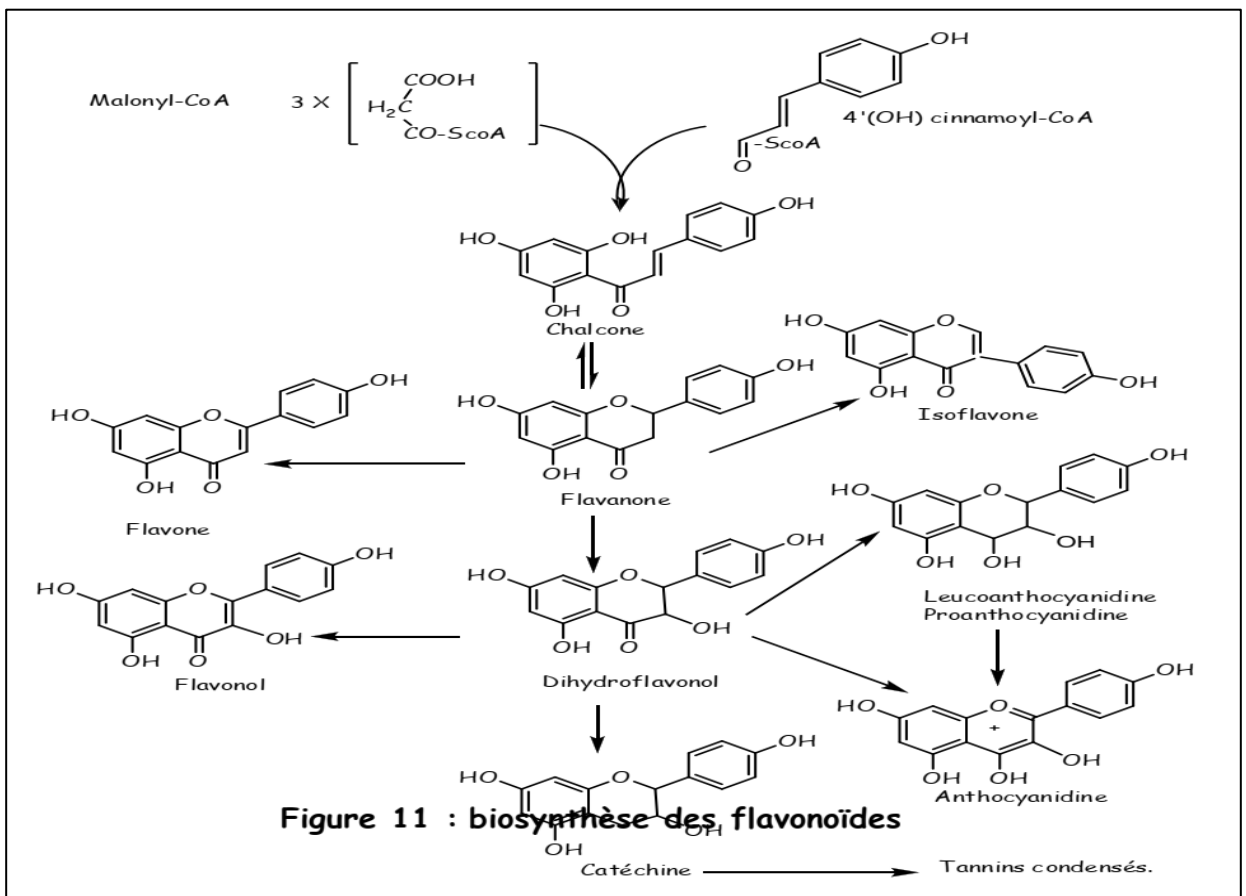


Figure 16 : biosynthèse des flavonoïdes

Leurs différentes modalités de synthèse à partir des chalcone (hydroxylation des noyaux aromatiques, méthylation, degré d'oxydation de la chaîne médiane) sont encore imparfaitement connues. La formation des isoflavonoïdes résulte d'une transposition secondaire du noyau aromatique. Parmi les flavonoïdes présentant des applications majeures au sein de domaines vitaux, nous pouvons citer :

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

c. Les quinones

Les **quinones** sont des composés oxygénés issus de l'oxydation de dérivés aromatiques. Véritables pigments naturels, ces molécules se distinguent par leur grande réactivité chimique.

On les retrouve dans une vaste diversité d'organismes :

Très fréquents chez les champignons et les lichens, ils sont en revanche beaucoup plus rares chez les fougères.

Ils sont présents chez certains invertébrés, notamment les **arthropodes** (insectes, arachnides) et les **échinodermes** (oursins, étoiles de mer).

Leur nature colorée et leur réactivité leur confèrent des rôles biologiques et pratiques majeurs :

Ils sont les agents responsables du **brunissement enzymatique** que l'on observe sur les fruits et légumes coupés ou abîmés.

Grâce à leur capacité tinctoriale, ils sont utilisés comme colorants naturels. C'est le cas du henné, dont les propriétés proviennent de dérivés comme l'**anthraquinone**. (Figure 17).

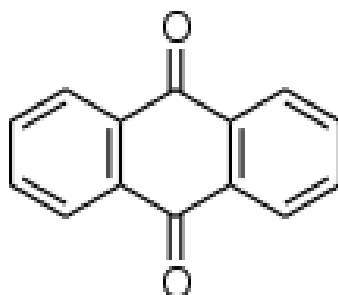


Figure 17 : L'anthraquinone

d. Les tanins

Les tanins naturels sont des polyphénols hydrosolubles dont la masse moléculaire oscille entre 500 et 3000. Au-delà de leurs propriétés phénoliques classiques, ils se distinguent par leur capacité à précipiter les protéines et autres polymères. (Figure 18).

On les classe généralement en deux catégories structurales, souvent présentes ensemble dans le monde végétal : les **tanins hydrolysables** et les **tanins condensés**.

- Les tanins hydrolysables

Ces composés sont des hétéropolymères qui, sous l'action d'enzymes ou d'agents chimiques, se décomposent pour libérer du **glucose** ainsi que des acides phénoliques :

Les gallotanins libèrent de l'acide gallique ou de l'acide m-digallique.

Les ellagitanins libèrent de l'acide ellagique.

1- Les tanins condensés (ou proanthocyanidines)

Souvent considérés comme les "tanins vrais", ils sont issus de la polymérisation d'unités de flavanes (comme les catéchines ou les leuco-anthocyanidines).

Contrairement aux précédents, ils possèdent des liaisons carbone-carbone très robustes, ce qui les rend particulièrement difficiles à hydrolyser.

Sous l'effet de la chaleur en milieu acide, ils s'oxydent pour former des pigments colorés (cyanidine, delphinidine), d'où leur nom de proanthocyanidines.

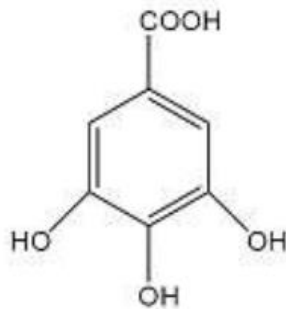


Figure 18 : L'acide gallique

e. Les coumarines

Les **coumarines** sont des composés organiques appartenant à la famille des lactones, dérivant plus précisément des acides cinnamiques. Présentes en abondance dans de nombreuses espèces végétales, elles se distinguent par une grande variété de propriétés biologiques et chimiques.

Sous leur forme libre, les coumarines présentent des affinités spécifiques pour certains solvants, ce qui facilite leur analyse et leur extraction :

Elles sont solubles dans les alcools (éthanol, méthanol) ainsi que dans les solvants organiques et chlorés (comme le chloroforme ou le dichlorométhane).

On utilise généralement ces solvants pour les isoler des tissus végétaux.

La **coumarine simple** est la structure de référence de ce groupe. (**Figure 19**).

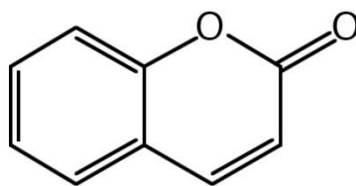


Figure 19 : Coumarine simple

I.2.3. Extraction

Les échantillons végétaux sont d'abord broyés jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Celle-ci subit ensuite une macération de 72 heures à température ambiante dans un mélange hydro-méthanolique (1,10v/v). Après plusieurs filtrations, le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite (évaporateur rotatif) afin d'isoler l'extrait brut. (**Figure 20**).

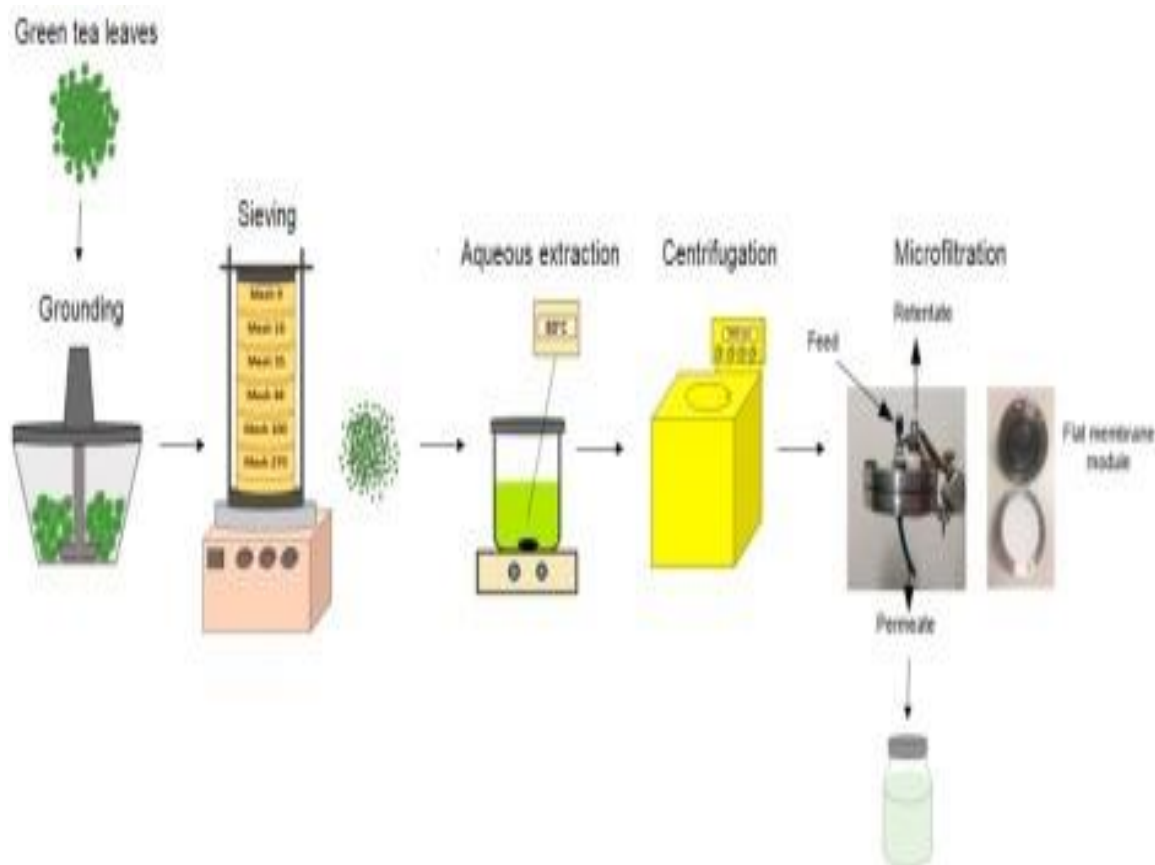
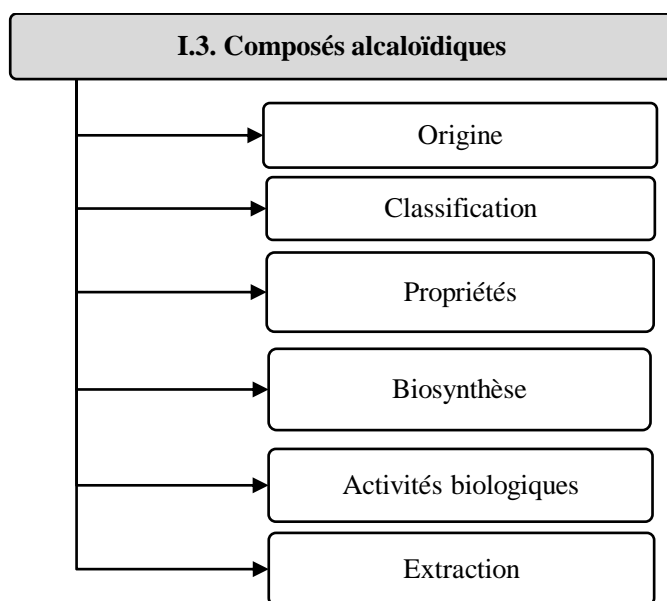


Figure 20 : Etapes d'extraction des polyphénols totaux



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. la plupart de ces molécules ont une activité biologique puissante et certaines d'entre elles sont de grands poisons et (donc) de grands médicaments (morphine, codéine, cocaïne...) (**Figure 02**). Solubles dans l'eau.

L'appartenance aux alcaloïdes est confirmée par les réactions communes de précipitation. Il en existe plusieurs types :

Réactif de Valsér-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.

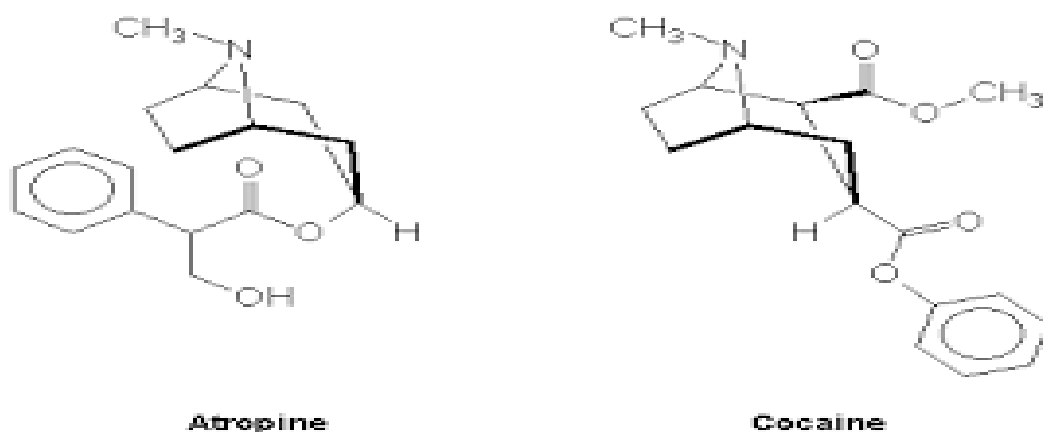


Figure 02 : Structure de l'Atropine et celle de la Cocaïne

1.3.1. Origine

Les alcaloïdes dérivent, en général, des acides aminés (tryptophane, tyrosine, phénylalanine, lysine, arginine...) qui sont d'abord décarboxylés.

1.3.2. Classification

a. Classification biogénétique

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.

NB. Certaines molécules azotées ne sont pas considérées comme alcaloïdes (**Figure 03**) :

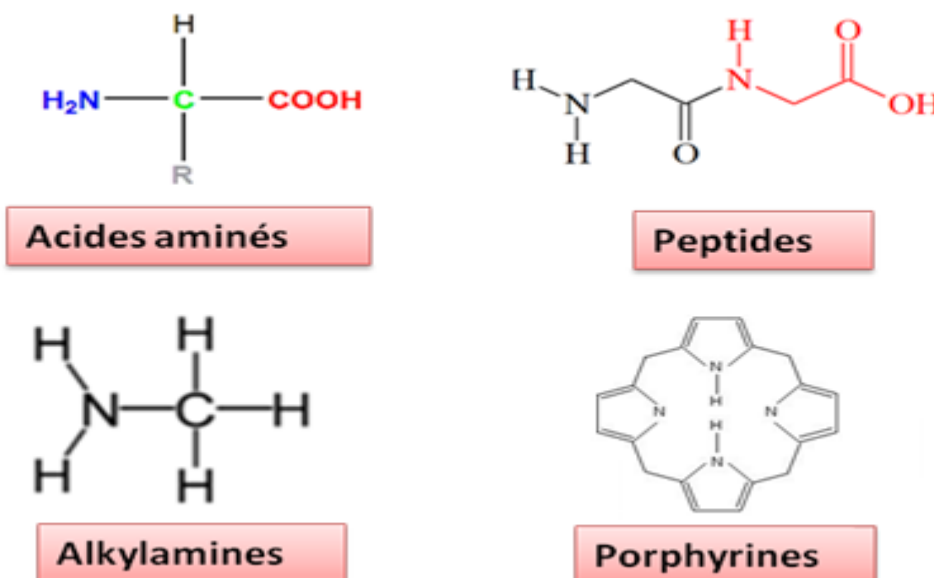


Figure 03 : Molécules azotées non alcaloïdiquesb. Classification structurale

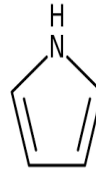
Selon l'origine biosynthétique structurale, les alcaloïdes sont classés en plusieurs groupes. Seuls les plus importants seront cités ;

✓ **Alcaloïdes dérivés de l'Ornithine et de la lysine**

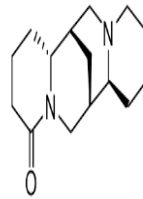
- **Les alcaloïdes Tropaniques :** renfermant le noyau tropane. Sont thérapeutiques sur le système nerveux central, exemple ; l'atropine qui est rencontrée chez *Datura sp.* Elle est souvent utilisée en tant qu'antidote de certains gaz neurotoxiques de combat.



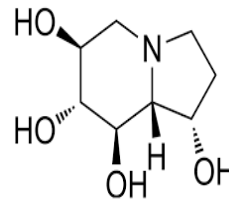
- **Les alcaloïdes pyrrolizidiniques :** thérapeutiques mais toxiques. Se trouvent formés de deux cycles pyrroles. Ne sont pas entre autres chez *Senecio vulgaris*.



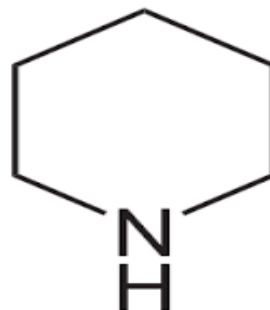
- **Les alcaloïdes quinolizidiniques :** comme la lupanine, ce sont des hétérocycles azotés bicycliques. Ils sont abondants dans les Lupins (*Lupinus sp.*). Ils sont plus ou moins toxiques.



- **Les alcaloïdes indolizidiniques :** ont comme noyau caractéristique l'indolizidine, ils sont rares chez les végétaux. Exemple la Castanospermine, inhibitrice des glucosidases, se trouvant chez *Castanospermum australe*.

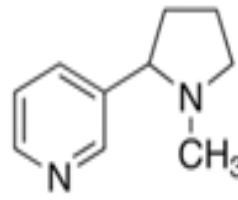


- **Les alcaloïdes pipéridiniques :** renfermant le noyau pipéridine. Ils sont peu thérapeutiques. Rencontrés chez le Grenadier (*Punica granatum*).



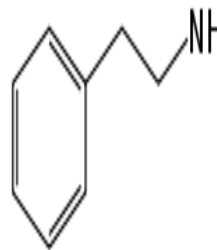
✓ Les alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique

Ont comme précurseur l'acide nicotinique. Comme la nicotine de l'espèce *Nicotiana tabacum* (Tabac). Ils sont insecticides, fongicides, réduisent l'appétit mais à caractère addictif.

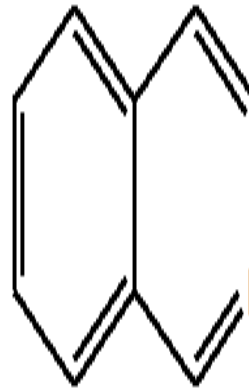


✓ Les alcaloïdes dérivés de la Phénylalanine et de la Tyrosine

- Les **phénéthylamines** : sont des alcaloïdes monoamines. Ils ont des propriétés pharmacologiques marquées, efficaces contre les crises de migraine. Ex. la Khatinone de *Catha edulis* (khat).

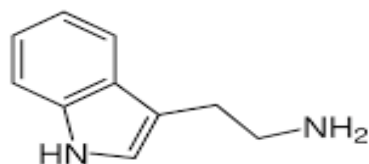


- Les **Isoquinoléines** : La structure de base est le cycle benzo-pyridine. Exemple de la papaverine qui est obtenu à partir du pavot somnifère (*Papaver somniferum*) utilisée en pharmacognosie comme spasmolytique et comme musculotrope. Son action résulterait principalement d'une activité inhibitrice de la phosphodiesterase.



✓ Les alcaloïdes dérivés du Tryptophane

- Les tryptamines : constitué d'un noyau d'indole, sont hallucinogènes c'est-à-dire provoquent des altérations des perceptions, de la pensée et de l'humeur. Exemple de l'Harmine et de l'Harmaline de **l'Agaric hallucinogène** et de ***Peganum harmala***.

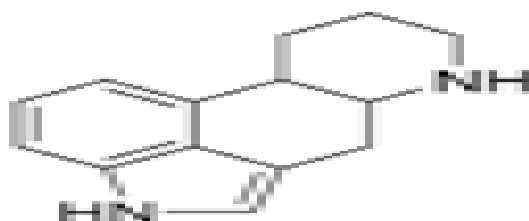


Agaric hallucinogène



Peganum harmala

- **Les ergolines** : Dérivent d'un noyau tétracyclique octahydroindoloquinoléique. Les dérivés de l'ergoline sont notamment utilisés en pharmacie comme vasoconstricteurs, dans le traitement des migraines ou pour lutter contre la maladie de Parkinson. Ex. l'ergoline, l'ergotamine et l'ergotoxine trouvées dans l'Ergot de seigle (***Claviceps purpurea***).



I.3.3. Propriétés physiques

À l'inverse des macromolécules comme les protéines ou les glucides, les alcaloïdes ne forment pas une catégorie structurellement uniforme ; il s'agit de molécules hétérogènes aux architectures moléculaires particulièrement élaborées.

Les alcaloïdes sont des composés organiques systématiquement constitués d'azote (N), d'hydrogène (H) et de carbone (C). La majorité d'entre eux intègrent également de l'oxygène (O) dans leur structure moléculaire. C'est le cas de molécules complexes telles que la morphine (C₁₇H₁₉NO₃), la codéine (C₁₈H₂₁NO₃), l'atropine (C₁₇H₂₃NO₃), la cocaïne (C₁₇H₂₁NO₄) ou encore la quinine (C₂₀H₂₄N₂O₂). Ces substances se présentent généralement sous forme de **solides cristallisables**. Elles affichent une faible solubilité dans l'eau, mais se dissolvent aisément dans les solvants organiques comme le chloroforme, l'éther, l'alcool, le toluène ou l'éther de pétrole.

Sur le plan chimique, la présence d'un atome d'azote leur confère des propriétés similaires à celles des **amines**. Leur nom, « alcaloïde », découle directement de leur caractère plus ou moins **alcalin** (basique), qui constitue leur principale caractéristique réactionnelle.

I.3.4. Biosynthèse

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'aspartate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine.

Ces acides aminés sont décarboxylés en amines qui sont couplées à d'autres squelettes carbonés. La strictosidine et la norcoclaurine sont deux composés centraux source de la moitié des alcaloïdes connus (**Figure 04**).



Figure 04 : Structure de la strictosidine (à gauche) et la norcoclaurine (à droite)

I.3.5. Activités biologiques

✓ Psychotropes

Bien que ces substances altèrent l'activité cérébrale, elles présentent pour la plupart un risque élevé d'abus ou de dépendance. La cocaïne, dérivée des feuilles de coca, en est un exemple notable. (*Erythroxylum coca*).

- Effet sur l'activité du système nerveux central (SNC).

✓ Anticancéreux

- Les antimétabolites sont des substances qui bloquent la division cellulaire. Leur action se concentre sur l'étape cruciale de la mitose. Ex. le Paclitaxel (taxol). 10 kg d'écorce d'If du pacifique (*Taxus sp.*)

- Effets toxiques.
- Antidépresseurs
- Troubles du sommeil



donnent à peine 1 gramme de produit actif



✓ **Stimulants**

- Boissons énergisantes et des friandises comme la caféine (de *Coffea sp.*).
- Plusieurs médicaments, analgésiques et des médicaments destinés à soulager les symptômes du rhume et de la grippe



✓ **Antipaludéens**

- La quinine extraite de *Qinquina sp.* inhibe la protéase qui dégrade les acides aminés de l'hémoglobine des Plasmodiums (Agent de la malaria).



✓ **Antalgiques**

- La morphine et la codéine sont des antalgiques majeurs de référence. La morphine est un alcaloïde naturel de l'Opium qui provient de: *Papaver somniferum*.



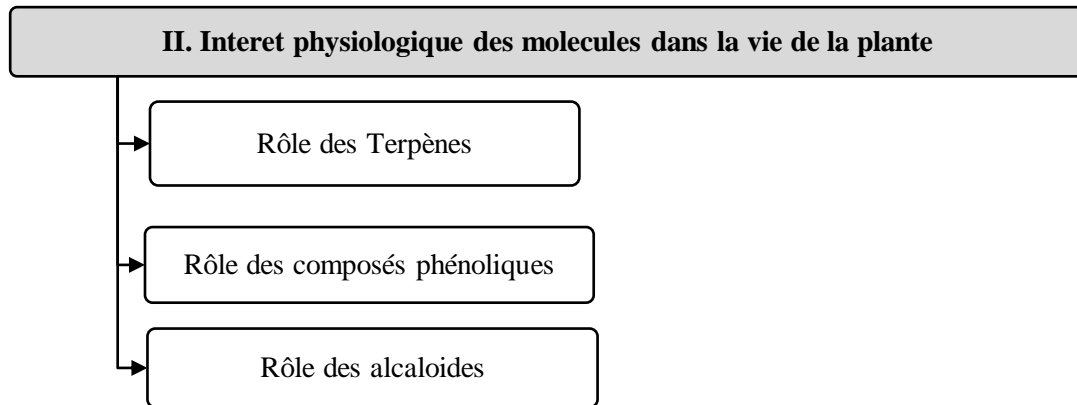
I.3.6. Extraction

- ✓ **Alcaloïdes volatils** : Ils sont extraits en plusieurs étapes ;

1. Poudre végétale est obtenue par broyage.
2. La poudre est mise en présence d'une base (soude).
3. Le mélange subit un entraînement par la vapeur d'eau.
4. Le tout est condensé suivi d'une séparation de la partie aqueuse du distillat à laquelle ils ne sont pas miscibles, (Ex. nicotine du tabac).

✓ **Alcaloïdes fixes**

1. La plante est traitée par de l'eau ou un alcool (éthanol, méthanol) en présence d'acide pour avoir les alcaloïdes sous forme de sels solubles.
2. La solution extractive est concentrée, et alcalinisée par de la soude ou de l'ammoniaque qui libère les alcaloïdes.
3. Ceux-ci sont alors repris par un solvant organique non miscible à l'eau.



Les métabolites secondaires sont des acteurs essentiels de la survie et de l'évolution des plantes. Loin d'être de simples sous-produits, ils remplissent des fonctions vitales organisées autour de trois axes principaux :

Ces composés permettent au végétal de s'adapter aux agressions extérieures :

Ils agissent comme un bouclier contre les prédateurs (herbivores) et les agents pathogènes (champignons, bactéries).

Ils aident la plante à supporter les variations climatiques, telles que les températures extrêmes ou le rayonnement UV.

Ils favorisent la reproduction en attirant les pollinisateurs et régulent la compétition inter-espèces via l'allélopathie.

La recherche moderne souligne également leur influence directe sur la physiologie de la plante. Certains métabolites, comme les **flavonoïdes**, interviennent dans la croissance en modulant le transport de l'**auxine** (l'hormone responsable du développement des racines).

II. 1. Rôle des terpènes

II.1.1. Molécules signaux

Les plantes libèrent des composés volatils, tels que les **terpènes** et les **polyphénols**, qui sont détectés par les récepteurs sensoriels des herbivores et des insectes. L'identification de ces substances déclenche une réponse comportementale d'**attraction** ou de **répulsion**. Ce mécanisme joue un rôle crucial dans la survie du végétal : il permet soit d'attirer les pollinisateurs, soit de repousser les pathogènes et les prédateurs (comme c'est le cas pour la menthe). Certains terpènes, à l'instar des **pyréthrines**, agissent comme des neurotoxines en perturbant les canaux sodium du système nerveux des insectes.

II.1.2. Hormones végétales

Ces hormones régulent le développement végétal en orchestrant la **division**, l'**élongation** et la **différenciation cellulaire**. En se liant à des récepteurs spécifiques, elles déclenchent une cascade de signalisation qui module l'expression génique ou l'activité enzymatique. Ces mécanismes permettent notamment de piloter la fermeture des stomates pour l'économie d'eau, d'induire l'arrêt de la croissance en phase de dormance, et de superviser la formation des graines et des fruits.

II.1. 3. La Photo-protection

Dans des conditions de stress, le niveau d'énergie lumineuse capturée est trop élevé et peut générer une quantité importante de radicaux libres, toxiques pour la plante. Les pigments caroténoïdes absorbent l'énergie lumineuse lorsque la chlorophylle est présente en faible quantité et la dissipent.

II.1.4. La stabilisation des membranes cellulaires

Les terpènes possèdent une nature **amphiphile**, caractérisée par un squelette hydrocarboné lipophile et des groupements hydrophiles terminaux (parfois situés aux deux extrémités). Cette configuration favorise leur **insertion optimale** au sein des bicouches lipidiques. En agissant comme des « espaceurs », ils induisent une restructuration membranaire profonde qui accroît significativement la **fluidité** et la dynamique moléculaire des membranes.

II.1.5. Coloration des fruits

Certains terpènes comme les caroténoïdes sont responsables de la couleur de quelques végétaux (Tomates, oranges, citrons), de fleurs, de racines (carotte, pomme de terre) auxquels ils donnent la pigmentation.

✓ Exemples

➤ **Les Gibbérellines**

Ce sont des diterpènes tétracycliques à 19 ou 20 C, formés par quatre unités isoprènes. Hormones végétales, elles poussent l'allongement de la tige, stimulent la

➤ **Les brassinostéroïdes**

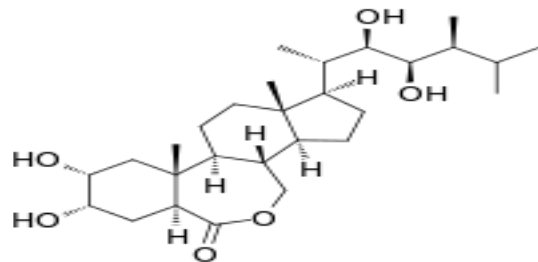
Ce sont des triterpènes (C30) qui interviennent dans l'allongement des cellules végétales, l'expansion et l'élongation cellulaire, la division cellulaire et la régénération de la paroi cellulaire. Ils sont nécessaires à l'élongation du pollen pour la formation des tubes polliniques. Ils

➤ **L'acide abscissique**

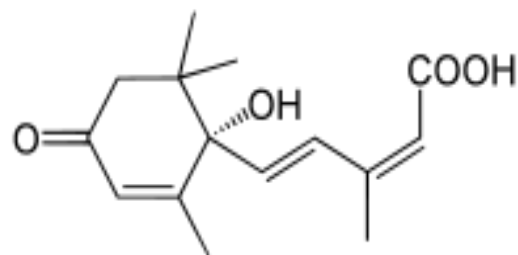
C'est une phytohormone sesquiterpène. Il intervient dans la tolérance de la déshydratation par fermeture des stomates, stimule la chute des feuilles et des fruits secs, induit la dormance des plantes (repos hivernal), arrête la croissance des bourgeons ayant démarré et réintroduit la dormance, inhibe la germination des graines par modification de la perméabilité des membranes, prévient le choc osmotique

floraison, font grossir les grains de raisin sans pépin, retardent la maturité des agrumes, stimulent la floraison en induisant plus de production de saccharose dans la canne à sucre.

accélèrent la sénescence dans les tissus mourants.



et la carence en éléments minéraux ainsi que l'anoxie des racines.



II.2. Rôle des composés phénoliques

II.2. 1. Molécules de dissuasion alimentaire

Certains polyphénols (tanins) ont le goût amer et astringent, ce qui éloigne les herbivores.

II.2. 2. Attraction des pollinisateurs

La couleur des différentes parties de la plante est considérée comme un signal visuel aux insectes pollinisateurs.

II.2.3. La coloration des plantes

Absorbant dans la lumière visible, les flavonoïdes sont responsables de la coloration du pollen, des fleurs et des fruits donc l'attraction des insectes pollinisateurs et la dispersion des graines.

II.2.4. Protections des plantes des rayonnements UV

Des polyphénols sont synthétisés en réponse aux UV-B dans les cellules épidermiques des feuilles. Du fait de leur spectre d'absorption dans les UV, ils agissent comme des filtres en se liant à l'ADN pour le protéger.

II.2. 5. Molécules donnant arômes et parfums aux plantes

Cette propriété intervient dans l'attraction ou la répulsion des herbivores et des insectes.

II.2.6. Rôle de soutien structurel

La **lignine**, constituante du bois, sa rigidité permet la croissance verticale des plantes et le transport de l'eau par capillarité à toutes les cellules. Elle a aussi un rôle de protection parce qu'elle est très difficile à digérer par les herbivores.

✓ Exemples

➤ Flavonoïdes

Impliqués dans l'interaction plante-animaux (ex. attractions des pollinisateurs par la couleur des fleurs et des transporteurs des graines) et jouent des rôles physiologiques importants (interactions légumineuses/rhizobium). Ils agissent comme filtres des UV pour la protection des rayonnements UV. Sont impliqués chez les plantes dans le transport d'électrons lors de la photosynthèse.

➤ Tanins

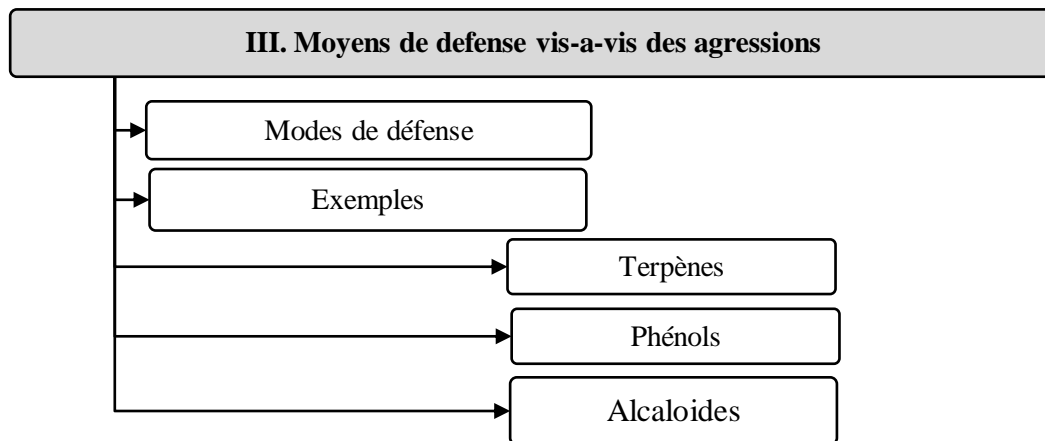
Ce sont des attracteurs ou déterrant alimentaires par leur gout astringent ; cette propriété astringente provoque une baisse d'appétence chez le bétail et surtout une diminution de la digestibilité des protéines (surtout chez les insectes et leurs larves, les chenilles essentiellement et bloquent leurs enzymes digestives). Ils augmentent la résistance au pathogènes, augmentent la qualité du bois ou des fibres (résistance contre le vent). S'accumulent dans les téguments des semences et jouent un rôle crucial dans la dormance et la germination et augmentent la qualité du bois ou des fibres.

➤ Coumarines

Ces composés sont souvent synthétisés en réponse à des attaques pathogènes. Plusieurs coumarines ont des propriétés bactériostatiques, ces composés représentent donc des phytoalexines chez un certain nombre de plantes (ex : la scopolétine qui s'accumule chez le tabac au cours de la réaction hypersensible).

II.3. Rôle des alcaloïdes

Le rôle physiologique des alcaloïdes demeure ambigu. Cependant, on leur attribue le seul rôle de stockage de carbone et d'azote dans la plante.



III.1. Modes de défense

Les plantes sont des êtres fixés au sol. Leur immobilité les rend des cibles potentielles aux agressions externes. Cependant, les plantes sont pourvues de plusieurs mécanismes de défense qui font intervenir les différentes substances du métabolisme secondaire.

III.1.2. Défense directe

- Eloigner les herbivores et les phytopathogènes.
- Intoxiquer voire tuer les indésirables.
- Réduire la digestibilité des herbivores et des insectes.

III.1.2. Inhibition de la croissance

- Agissent au niveau des glandes endocrines : régulant la croissance des insectes (insecticides).

- Arrêt/ralentissement de la croissance larvaire : arrêt de la croissance entraînant au bout d'un certain temps la mort des larves.
- Inhibition de la production d'hormone juvénile chez des insectes et induction des métamorphoses anticipées : les adultes obtenus seront de petite taille et généralement stériles.

III.1.3. Défense indirecte

Dans ce cas, la plante appelle au secours d'un autre être vivant pour la défendre. La plante attaquée par des larves qui mangent les feuilles. Les larves broient les feuilles et déposent de la salive au niveau de la brisure. La plante reconnaît (grâce à des récepteurs situés au niveau des membranes cellulaires végétales) une substance appelée volicitine contenue dans la salive de l'insecte et réagit à la présence de cette substance. La volicitine active certains gènes dans les cellules végétales qui vont déclencher la synthèse et la libération des composés volatils de nature terpénique. Ceux-ci diffusent dans l'atmosphère et attirent les guêpes parasitoïdes qui vont attaquer les larves injectant un venin paralysant à l'intérieur de leur corps, puis y déposent des œufs. Le parasitoïde se développe aux dépens de la larve et provoque sa mort.

III.2. Exemples

III.2.1. Les terpènes

Les terpènes peuvent agir en lysant les globules rouges des herbivores ; **digitoxine** de la digitale pourpre. L'absorption d'environ 8 g de feuilles peut être létale. L'**eugénol**, produit par les boutons floraux du giroflier, se fixe sur un neurotransmetteur des invertébrés et l'empêche d'agir.

➤ Huiles essentielles

Liquides volatils qui ont souvent une fonction de défense contre les insectes et les herbivores. Jouent un rôle important en tant qu'antibactériens, antiviraux, antifongiques et insecticides. Jouent un rôle



contre les herbivores en réduisant leur

➤ **Latex**

Le latex a une double fonction de défense. Quand un insecte ravageur (termite, chenille...) pénètre dans l'écorce d'un arbre producteur de latex ou mange l'une de ses feuilles, l'arbre envoie à la tête

appétit donc de repousser les indésirables.

de l'insecte un jet de gel collant. L'insecte ne peut plus se nourrir et meurt rapidement.



➤ **La térébenthine**

Sa synthèse (mono-terpènes) est déclenchée contre les insectes. Son action se fait en plusieurs étapes ;

1. Piéger l'insecte.

2. Production de résine par l'écorce et fermeture du trou d'entrée.

3. Synthèse de térébenthine qui tue l'insecte.

4. Evaporation de la térébenthine et solidification du bouchon.



III.2.2. Les phénols

➤ **Les Phytoalexines**

Des molécules lipophiles de faible poids moléculaire synthétisées par les plantes en réponse aux parasites (champignons et bactéries). Ils ont une fonction antibiotique pour stopper la croissance du microorganisme.

➤ **La lignine**

Les parois cellulaires lignifiées sont notablement imperméables aux agents pathogènes et difficilement consommables par les insectes.



➤ **Tanins**

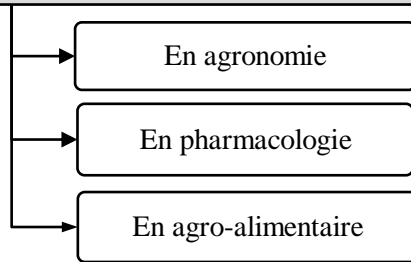
Leur propriété astringente provoque une baisse d'appétence chez le bétail et une diminution de la digestibilité des protéines chez les insectes surtout et leurs larves par la précipitation des enzymes digestives.



III.2.3. Les alcaloïdes

Leur saveur amère est un fort déterrent. Responsables de certains cas d'empoisonnement du bétail par les graines qui accumulent les lupanines. La nicotine est un des insecticides, sa synthèse est stimulée par les blessures par les herbivores. La caféine tue les larves et a un effet inhibiteur sur la phosphodiesterase (impliqué dans la signalisation et le stockage des glucides et des graisses). La solanine a un effet tératogène. Certains alcaloïdes se lient aux acides nucléiques et peuvent inhiber la synthèse des protéines et affecter les mécanismes de réparation de l'ADN.

IV. Valorisation et application des produits naturels dans l'industrie



Les produits naturels ont été utilisés en alimentation et en pharmacologie depuis longtemps. Au fur et à mesure des développements industriels, il y a eu tendance à s'orienter vers les substances chimiques de synthèse. Cependant, il s'est avéré que ces dernières ne sont pas si bénéfiques pour la santé et l'environnement. Actuellement, on cherche à retourner aux produits naturels dans plusieurs domaines industriels.

IV.1. En agronomie

Ces composés jouent un rôle clé dans la protection des cultures en luttant contre les maladies cryptogamiques, les infections bactériennes et certains ravageurs. En mobilisant les défenses naturelles des végétaux, ils offrent une alternative écologique et sanitaire aux pesticides de synthèse.

Huiles essentielles : Plusieurs essences sont déjà sur le marché pour leurs propriétés insecticides ou fongicides, notamment celles riches en : **Limonène** (issu de l'orange)

Eugénol (clou de girofle), **Carvone** (menthe), **Farnésène**.

IV.2. En pharmacologie

Voici quelques propositions de reformulation, adaptées selon le ton que vous souhaitez adopter :

L'ethnopharmacologie est le pilier fondamental de l'industrie pharmaceutique moderne. L'activité thérapeutique des plantes repose majoritairement sur leurs **métabolites secondaires**, des composés chimiques souvent puissants même à de très faibles concentrations. Actuellement, près d'un tiers des médicaments commercialisés intègrent au moins un principe actif d'origine végétale, couvrant des champs variés tels que l'antibiothérapie, l'oncologie ou l'immunologie. Le succès de molécules majeures comme le **taxol** ou la **morphine** illustre parfaitement cette efficacité. Enfin, les plantes à huiles essentielles conservent une place prépondérante, que ce soit en usage brut (infusions), dans des préparations galéniques ou comme agents aromatisants pour les traitements oraux

IV.3. En agroalimentaire

Les métabolites secondaires jouent un rôle clé dans l'industrie agroalimentaire en tant qu'arômes, colorants, conservateurs ou épices. À titre d'exemple, les huiles essentielles sont exploitées pour stabiliser les plats cuisinés et les produits surgelés. Par ailleurs, de nombreux extraits végétaux-tels que la vanilline ou les concentrés de fruits — enrichissent le profil sensoriel d'une vaste gamme de produits, allant de la confiserie aux produits laitiers, en passant par la charcuterie, la boulangerie et les boissons. Leur usage s'étend également au secteur de la nutrition animale.

IV.4. En parfumerie

Le secteur de la parfumerie repose sur l'exploitation des huiles essentielles. Des essences telles que le jasmin, la lavande, le myrte, le clou de girofle et la rose constituent des ressources stratégiques pour l'industrie.

IV 5. En tannage

Le tannage est une technique chimique qui transforme les peaux brutes en cuir afin de les rendre souples et résistantes. Utilisé depuis la Préhistoire, le **tannage végétal** est la méthode ancestrale pour empêcher la putréfaction de la peau. Ce procédé repose sur l'usage de tannins naturels issus de diverses sources, notamment :

- **Les écorces** : chêne (ellagitannins), mimosa ou sapin.
- **Le bois** : châtaignier.
- **Les excroissances végétales** : noix de galle (gallotannins).

V- METABOLISME ET REGULATION

Selon René Cacan (2008), l'analyse de la régulation métabolique est essentielle pour comprendre comment les voies biochimiques s'ajustent aux contraintes environnementales ainsi qu'aux exigences physiologiques de l'organisme. Ce contrôle permet une adaptation constante du métabolisme face aux changements internes et externes.

Les régulateurs de croissance végétale, ou PGR (*Plant Growth Regulators*), sont des molécules capables de moduler le développement des plantes, et ce, même à des doses infimes. On distingue deux catégories :

Les régulateurs naturels : produits directement par le végétal, ils sont qualifiés de phytohormones ou hormones végétales.

Les régulateurs synthétiques : conçus artificiellement pour mimer ou interférer avec les processus naturels.

Comme le souligne Morot-Gaudry (2021), la croissance et le développement des plantes reposent sur l'interaction complexe de plusieurs classes d'hormones :

- Les classiques : auxines, gibbérellines, cytokinines, éthylène et acide abscissique.
- Les classes spécialisées : jasmonates, strigolactones et hormones peptidiques.

Certaines hormones végétales, notamment l'**acide abscissique**, l'**acide jasmonique** et l'**éthylène**, sont principalement qualifiées d'**hormones de stress**. Ce classement découle de leur rôle crucial dans la gestion des agressions extérieures, qu'elles soient d'origine biologique (biotiques) ou environnementales (abiotiques).

Bien qu'efficaces à des doses infimes, les phytohormones peuvent devenir toxiques, voire mortelles pour la plante si leur concentration est trop élevée. La plante doit donc ajuster en permanence ses niveaux hormonaux pour survivre.

Cet équilibre dynamique repose sur la combinaison de cinq mécanismes clés :

La production de l'hormone selon les besoins.

La désactivation temporaire (ou l'atténuation) par modification chimique.

Le stockage stratégique, par exemple au sein de la vacuole.

L'élimination définitive des molécules.

La circulation de l'information hormonale à l'échelle locale ou à travers toute la plante.

V.1- ORGANISATION SPATIALE ET COMPARTIMENTATION DU METABOLISME

Chez presque toutes les plantes supérieures, la production de métabolites secondaires est un phénomène hautement spécialisé, localisé au niveau d'organes ou de cellules précis, ou lié à des stades de développement particuliers. Ces processus de biosynthèse sont rigoureusement contrôlés par une régulation génétique souvent activée par des stimuli externes, qu'ils soient environnementaux ou saisonniers.

Au sein de la cellule végétale, la synthèse des métabolites est organisée de manière compartimentée. Bien que la majorité des voies métaboliques s'activent principalement dans le cytoplasme, des organites spécifiques assurent des rôles précis :

- Chloroplastes : Siège de la synthèse des alcaloïdes et de certains terpènes.
- Mitochondries : Impliquées dans la production de la conine et de diverses amines.
- Vésicules cellulaires : Lieu de formation de la protoberbérine.
- Réticulum endoplasmique (RE) : Principalement dédié aux composés lipophiles et aux modifications post-synthétiques, comme l'hydroxylation (Wink, 2010).

Bien que les métabolites secondaires soient fréquemment distribués dans l'ensemble de la plante, leur biosynthèse est souvent localisée dans un organe spécifique (racines, fruits ou feuilles). Ils transitent ensuite via les tissus conducteurs (phloème, xylème) ou par les voies symplastiques et apoplastiques, pour être finalement stockés dans divers tissus. Ce lieu de stockage final est généralement déterminé par la polarité des molécules.

La localisation des métabolites secondaires dépend de leur affinité chimique. Les molécules **hydrophiles** (alcaloïdes, glucosinolates, tanins) sont majoritairement séquestrées dans les vacuoles ou des cellules spécialisées appelées idioblastes. À l'inverse, les substances **lipophiles**, comme les terpènes des huiles essentielles, se concentrent dans les structures sécrétrices externes ou internes (trichomes, canaux résinifères, cuticules) ainsi que dans les thylacoïdes. Par ailleurs, l'épiderme sert de site de stockage stratégique pour certains composés de défense tels que les flavonoïdes ou les glycosides cyanogéniques (Wink, 2010). (**Figure 20**)

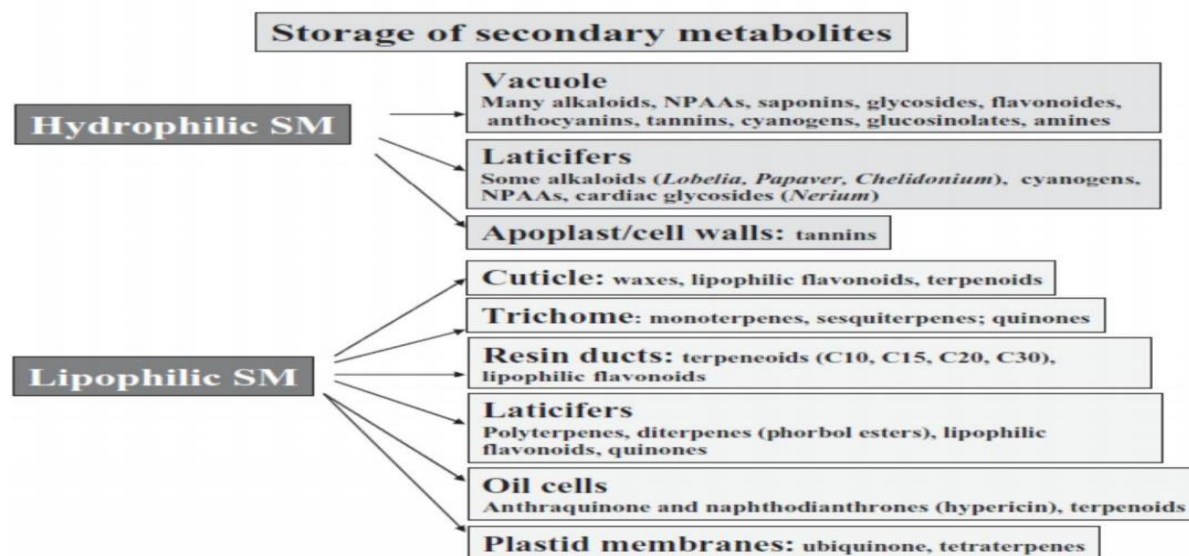


Figure 20 : Compartiments de stockage pour composés hydrophiles et lipophiles (Wink, 1997).

V.2- INGENIERIE METABOLIQUE

Le concept d'**ingénierie métabolique** voit le jour en 1991 sous l'impulsion de James Bailey. Dans la revue *Science*, il définit cette discipline comme l'optimisation des processus cellulaires en manipulant les fonctions enzymatiques et de transport grâce au génie génétique. Cette approche marque un tournant : l'enzyme devient alors le levier central permettant de fusionner les principes du génie chimique avec la biologie moléculaire.

L'ingénierie métabolique constitue un pont privilégié pour l'implication des ingénieurs chimistes en recherche biologique. Cette discipline permet en effet de transposer directement les concepts fondamentaux de la **cinétique**, de la **thermodynamique** et des **phénomènes de transfert** à l'étude approfondie des réseaux de réactions métaboliques (Raimbault, 2021).

Ces processus biologiques sont modélisés sous forme de **réseaux chimiques**. Ils s'appuient sur une succession de réactions biochimiques catalysées par des **enzymes**, permettant aux cellules de transformer des matières premières brutes en molécules essentielles à leur survie.

Le **génie métabolique** intervient pour structurer et optimiser ces mécanismes à travers trois axes principaux :

La modélisation mathématique de ces réseaux complexes pour en comprendre l'architecture.

Le calcul du rendement, afin d'évaluer précisément la quantité de produits utiles générés.

L'identification des goulots d'étranglement, pour repérer les segments du réseau qui freinent ou limitent la production.

Les innovations agricoles actuelles visent à transformer durablement la qualité de notre alimentation selon trois axes principaux :

Optimisation nutritionnelle : Le développement de nouvelles variétés, comme un soja enrichi en protéines ou des pommes de terre à haute teneur en acides aminés, permet d'accroître la valeur nutritive des récoltes.

Amélioration de la conservation : Pour limiter le gaspillage et faciliter le transport, la recherche mise sur des produits plus robustes. Les tomates génétiquement modifiées pour retarder leur ramollissement en sont un exemple concret, garantissant aux consommateurs des produits frais et sains plus longtemps.

Excellence gustative : Des essais en plein champ portent sur des melons et des poivrons aux saveurs intensifiées. Parallèlement, la science explore le renforcement des enzymes végétales afin de stimuler naturellement la libération des arômes.

L'objectif fondamental de l'ingénierie métabolique réside dans l'exploitation industrielle et rentable d'organismes biologiques pour la synthèse de molécules à haute valeur ajoutée. Cette discipline s'illustre aujourd'hui par des avancées majeures dans les secteurs pharmaceutique et cosmétique, notamment à travers l'optimisation de composés critiques tels que le Taxol (anticancéreux), l'artémisinine (antipaludéen), ou encore l'amélioration des rendements en huiles essentielles et en saponines. Ces progrès reposent largement sur le perfectionnement des voies métaboliques, comme celle des isoprénoïdes végétaux.

VI - Métabolites secondaires d'intérêt pharmaceutique ou cosmétique

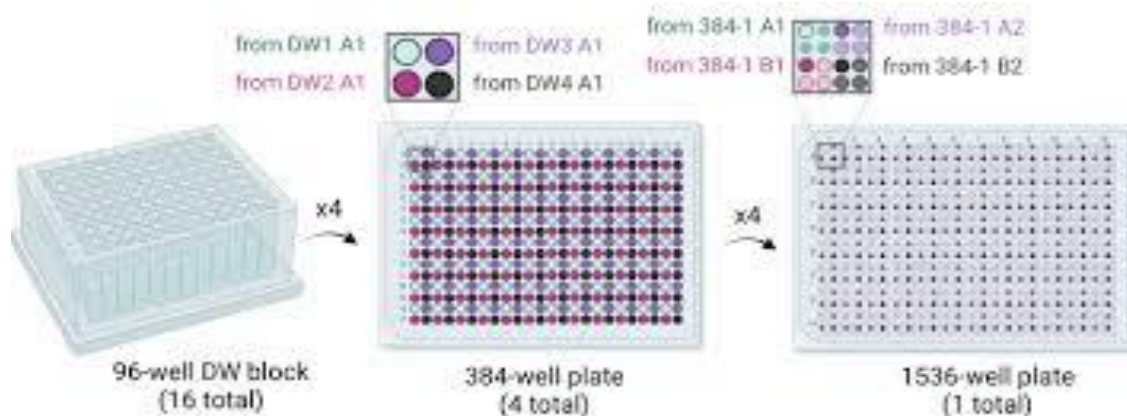
VI.1- Définition criblage biologique

L'industrie pharmaceutique a industrialisé le criblage, une méthode consistant à tester de vastes collections de composés (naturels ou de synthèse) sur une cible biologique afin d'isoler ceux qui présentent une activité thérapeutique.

On distingue généralement deux approches de criblage : le **criblage à haut débit** (HTS, pour *High Throughput Screening*) et le **criblage à haut contenu** (HCS, pour *High Content Screening*). Ces méthodes peuvent être déployées soit *in silico*, via des outils de modélisation moléculaire, soit *in vitro* (Maréchal et al., 2007).

Le **criblage à haut débit (HTS)** est un pilier de la recherche pharmacologique moderne. Cette méthode permet d'identifier rapidement des molécules candidates au sein de vastes bibliothèques de composés grâce à l'automatisation. En testant l'activité et la sélectivité de milliers, voire de millions de substances contre une cible biologique en un temps record, le HTS a considérablement accéléré la découverte de nouveaux traitements. Selon les travaux de Maréchal et al. (2007), cette approche se décline sous deux formes :

- **In silico** : via l'utilisation intensive de la bio-informatique et de la chemo-informatique.



In vitro : par des tests automatisés et miniaturisés utilisant des microplaques. (Figure 21)

Figure 21 : Plaques multipuits de 96 ou 384 puits.

VI.2- Choix et définition des cibles thérapeutiques

La découverte de nouveaux médicaments débute par l'identification d'une cible thérapeutique. En analysant précisément les mécanismes physiopathologiques, les chercheurs isolent les dysfonctionnements biologiques à l'origine d'une pathologie. Si cette étape a longtemps été empirique, elle s'appuie désormais sur la génomique, la protéomique et la bioinformatique pour détecter précocement les gènes ou protéines impliqués.

Une fois le rôle de ces cibles (enzymes, récepteurs, etc.) établi, l'objectif est d'en moduler l'activité ou d'en compenser les carences. Cette approche moderne rationalise le développement clinique et ouvre des perspectives thérapeutiques sans précédent.

VI.3- Ressource pour les cibles

UniProt s'impose comme la ressource de référence la plus exhaustive dédiée aux protéines. Ce catalogue centralise et fusionne les données de séquences et les annotations fonctionnelles issues de trois bases de données majeures : Swiss-Prot, TrEMBL et PIR.

La structure d'UniProt s'articule autour de trois piliers, dont le principal est la UniProt Knowledgebase (UniProtKB). Véritable carrefour d'informations, l'UniProtKB regroupe des données hétérogènes allant de la fonction biologique à la classification systématique, tout en offrant de nombreuses références croisées avec d'autres outils bio-informatiques.

Parallèlement, la **Protein Data Bank (PDB)** constitue le répertoire mondial unique pour la biologie structurale. Elle archive les coordonnées tridimensionnelles des macromolécules biologiques (protéines et acides nucléiques), qu'elles soient isolées ou sous forme de complexes moléculaires (Hert et al., 2004).

VI.4- Collation de substances naturelles

Les produits naturels se distinguent par une richesse et une complexité structurale uniques ; environ 40 % de leurs architectures moléculaires n'ont aucun équivalent dans le répertoire de la chimie de synthèse. Historiquement, cette diversité a fait des substances naturelles une ressource incontournable pour la pharmacopée mondiale. Le processus classique d'identification, appelé fractionnement bioguidé, repose sur des cycles répétitifs d'extractions par solvants et d'évaluations biologiques jusqu'à l'isolement de la molécule pure. L'héritage de cette approche est immense, comme en témoigne l'usage persistant de molécules majeures telles que la morphine ou des agents antitumoraux comme le paclitaxel et les alcaloïdes de la pervenche de Madagascar (Beniddir et Poupon, 2023). (**Figure 22**)

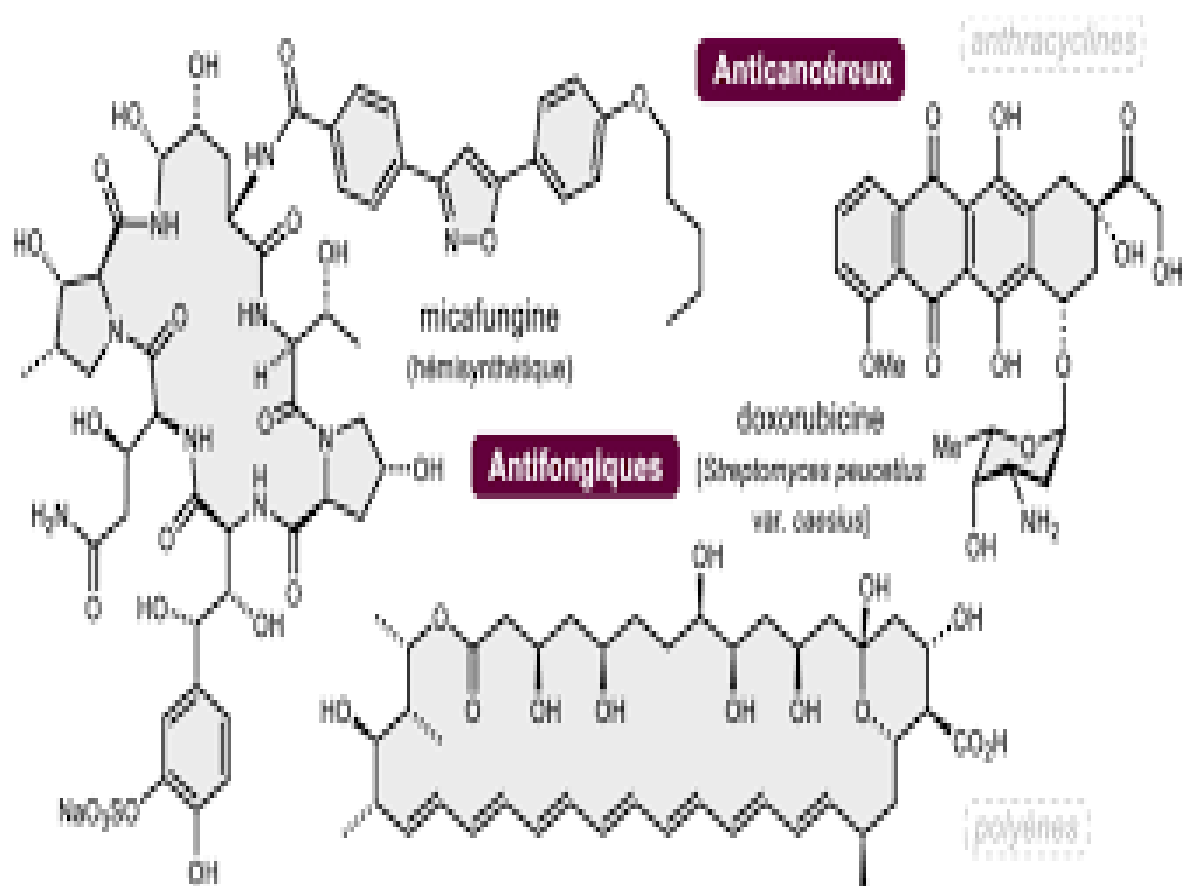


Figure 22 : Exemples de principes actifs historiques majeurs d'origine végétale (Beniddir and Poupon, 2023).

Les produits naturels demeurent une réserve inépuisable de principes actifs : aujourd'hui, environ 75 % de l'arsenal thérapeutique mondial en est issu. Parmi les exemples les plus emblématiques, on peut citer :

- La morphine : Extraite du latex de *Papaver somniferum* (pavot), elle reste la référence absolue en matière d'efficacité analgésique.
- Le taxol : Isolé de l'if d'Amérique (*Taxus brevifolia*), il s'est imposé comme un traitement anticancéreux majeur à l'échelle internationale.

Un gisement de biodiversité

Au-delà de ces succès, le potentiel de la flore mondiale est immense. Sur les quelque 500 000 espèces végétales répertoriées, environ 20 000 à 30 000 sont déjà intégrées à la pharmacopée humaine. Cette biodiversité constitue une source stratégique pour la découverte de nouvelles entités chimiques, confirmant que les médicaments modernes restent, dans trois quarts des cas, d'inspiration végétale.

VI.5- Méthodologie d'évaluation

La mise au point de la méthodologie constitue généralement la phase la plus complexe et chronophage du criblage à haut débit. Lorsqu'elle est validée par un test de « preuve de concept », ce savoir-faire stratégique peut faire l'objet d'un transfert direct vers un partenaire industriel (Barette et al., 2015).

VI.5-1- Diferences entre Criblage Virtuel et Criblage Expérimental

Contrairement au criblage expérimental effectué en laboratoire, le criblage virtuel repose sur des simulations informatiques. Cette approche permet d'évaluer virtuellement une multitude de composés avant d'envisager leur synthèse ou leur achat.

VI.5-2-Processus de criblage expérimental

Pour accélérer la découverte de nouveaux principes actifs, le criblage à haut débit utilise la robotique afin de tester massivement des bibliothèques de composés de diverses origines. Stockés dans des plaques multi-puits, ces agents chimiques sont transférés de manière précise vers des essais biologiques (cellulaires ou enzymatiques). L'efficacité de chaque échantillon est détectée par des méthodes optiques, telles que l'absorbance ou la fluorescence. Ce processus se conclut par un traitement statistique des résultats visant à isoler les molécules présentant un intérêt thérapeutique potentiel (Marechal et al., 2007 ; Prudent, 2013). (**Figure 23**)

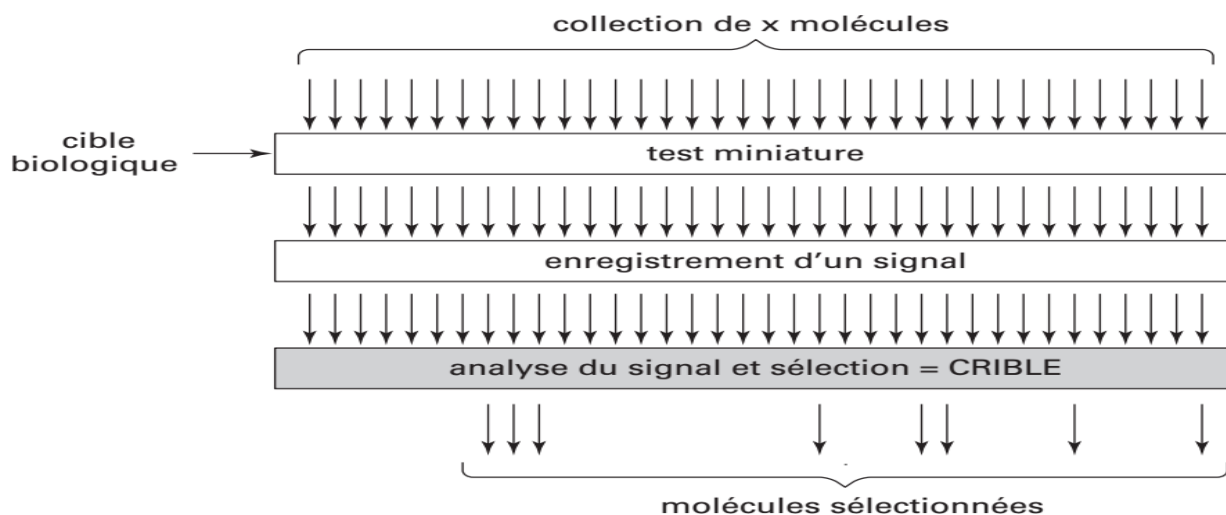


Figure 23 : Schéma d'un processus de criblage pharmacologique.

VI.5-3- Processus de criblage virtuel

Le choix d'une stratégie de criblage dépend principalement des données structurales et biologiques disponibles au début de l'étude. On distingue traditionnellement deux approches majeures : (Figure 24)

1. L'approche basée sur la structure (*Structure-Based Drug Design*)

Elle est privilégiée lorsque la structure tridimensionnelle de la cible biologique est connue, qu'elle ait été résolue par **cristallographie aux rayons X**, par **RMN**, ou obtenue par **modélisation moléculaire** (homologie).

- **Principe** : Ces méthodes évaluent l'affinité de molécules candidates en simulant leurs interactions au sein du site de liaison de la cible. L'objectif est de sélectionner les ligands présentant la meilleure complémentarité stérique et électronique.

2. L'approche basée sur les ligands (*Ligand-Based Drug Design*)

Cette méthode est employée lorsqu'on dispose d'un ensemble de molécules dont l'activité biologique sur la cible est déjà documentée, même si la structure de la cible reste inconnue.

- **Principe** : Elle repose sur l'analyse des **relations structure-activité (RSA)**. En identifiant les caractéristiques chimiques communes aux composés actifs, on peut concevoir ou filtrer de nouvelles molécules susceptibles de présenter une activité similaire.

3. Stratégies hybrides

Dans les cas où les données structurales de la cible et les données d'activité des ligands sont simultanément accessibles, il est courant de combiner les deux approches. Une utilisation séquentielle ou parallèle de ces méthodes permet d'augmenter la robustesse du criblage et d'affiner la sélection des candidats.

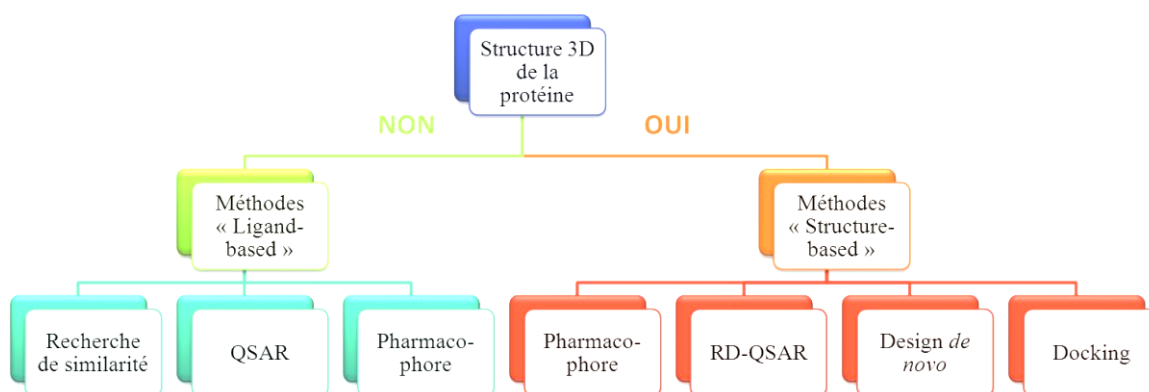


Figure 24 : Classification des méthodes de criblage virtuel « structure-based » et « ligand-based » (Lavecchia and Giovanni, 2013).

VI.5-3-1- Les chimiothèques

L'identification de ligands spécifiques est un processus statistiquement contraint : le succès dépend de l'étendue et de l'hétérogénéité des chimiothèques testées. Toutefois, les limites technologiques actuelles restreignent le criblage à environ deux millions de composés, ce qui interdit toute exploration exhaustive de l'espace chimique et limite l'efficacité de cette approche (Prudent, 2013).

VI.5-3-2- Chimiothèque de produits naturels

Bien que l'essor de méthodes telles que le criblage à haut débit (HTS) et le criblage virtuel ait initialement freiné l'enthousiasme pour les substances d'origine naturelle, ces dernières demeurent incontournables dans le développement thérapeutique. Leur valeur ajoutée réside dans une sélectivité accrue vis-à-vis des cibles biologiques et une diversité structurale unique, offrant l'accès à des domaines de l'espace chimique inexplorés par la synthèse classique. Pour capitaliser sur ce potentiel, des chimiothèques spécialisées ont été constituées, facilitant ainsi l'identification de nouveaux candidats médicaments (**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).

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

VI.5-3-3- Les différentes étapes du criblage virtuel

Largement employé pour identifier des composés bioactifs inédits, le criblage virtuel s'articule souvent autour de plusieurs étapes clés (Florent, 2013).

VI.5-3-3-1- Préparation de la cible

Le choix d'une structure 3D dans la PDB repose avant tout sur sa résolution, garant de sa précision expérimentale. Une fois sélectionnée, la macromolécule subit un traitement préparatoire : isolation d'un monomère (pour les protéines homomultimériques), ajout des hydrogènes et

déshydratation sélective (conservation des eaux de pontage du site actif). Cette préparation s'achève par l'ajustement des états de protonation et une minimisation de l'énergie intramoléculaire, étapes critiques pour garantir la fiabilité des simulations de docking.

VI.5-3-3-2- Préparation de la chimiothèque

Avant d'entamer le criblage virtuel, il est souvent judicieux d'épurer la chimiothèque pour ne conserver que les molécules possédant un profil pharmacologique prometteur. Cette sélection s'opère via l'application de filtres ADMET, visant à éliminer les structures inadéquates. Par la suite, les composés retenus doivent impérativement être préparés par la génération de leurs tautomères et de leurs différents états d'ionisation, afin de refléter fidèlement les formes moléculaires présentes en conditions physiologiques.

VI.5-3-3-3- Criblage virtuel proprement dit

Le criblage virtuel repose sur l'utilisation d'outils de Docking moléculaire. Toutefois, l'hétérogénéité des systèmes biologiques fait qu'aucun logiciel ne s'impose comme une solution universelle, chacun possédant ses propres forces et limites algorithmiques. Par conséquent, il est préconisé d'adopter une approche consensuelle : en combinant plusieurs programmes, on capitalise sur leurs complémentarités pour accroître la fiabilité des prédictions.

En d'autres termes, cette méthode agrège les données des diverses fonctions de score pour pallier leurs lacunes respectives, optimisant ainsi la pertinence des résultats finaux.

VI.5-3-3-4- Analyse visuelle et sélection des composés à tester expérimentalement

Bien que les protocoles de criblage virtuel permettent d'éliminer automatiquement une vaste quantité de composés non pertinents, l'expertise humaine demeure irremplaçable. Un biais classique réside dans le score élevé attribué aux ligands de forte masse moléculaire : leur grand nombre d'atomes favorise mécaniquement une multitude d'interactions, même si celles-ci se situent à la périphérie du site actif. Dès lors, l'inspection visuelle des meilleurs candidats est une étape cruciale pour affiner la sélection avant les tests expérimentaux. Cette évaluation repose sur plusieurs piliers :

- Cohérence du positionnement au sein de la cavité.
- Qualité du mode d'interaction (optimisation des liaisons hydrogène, interactions ioniques et hydrophobes).
- Ciblage des résidus clés de la protéine.
- Diversité structurale des molécules retenues.
- Disponibilité effective des composés dans la chimiothèque.

VI.6- Identification des produits naturels / Méthodes spectroscopiques

VI.6-1- Spectroscopie d'absorption l'UV

La spectroscopie d'absorption est une méthode analytique clé basée sur l'absorption sélective de la lumière par les molécules. Son champ d'application s'étend de l'UV proche (dès 185 nm) au très proche infrarouge (jusqu'à 1 100 nm), bien que l'usage courant en laboratoire se concentre majoritairement sur la plage **185-900 nm**.

VI.6-1-1- Instrument d'un spectrophotomètre UV

Conçu comme un instrument monobloc, le spectrophotomètre s'articule autour d'un système optique (source et système dispersif/monochromateur) et d'un capteur de détection. Le trajet de la lumière traverse également un compartiment échantillon qui, selon le modèle, peut être situé soit avant, soit après le dispositif de dispersion de la lumière (Rouessac et Rouessac, 2004). (**Figure 25**)

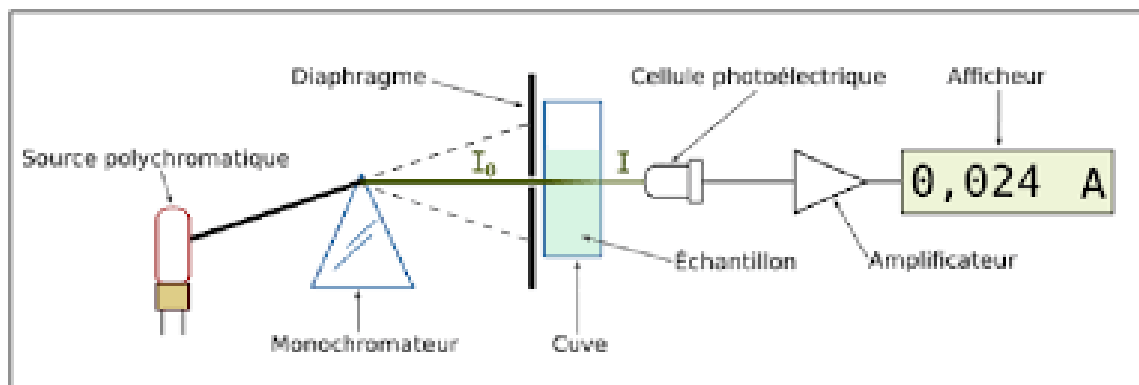


Figure 25 : Instrument d'un spectrophotomètre UV

Source lumineuse

En l'absence de source continue couvrant toute la gamme spectrale, de nombreux spectromètres couplent deux lampes (UV et visible) pour assurer une émission complète sur l'ensemble du domaine d'étude.

Systèmes dispersifs

Appareils séquentiels

Le rayonnement issu de la source est d'abord décomposé par un réseau de diffraction (plan ou concave), élément central du monochromateur. Ce système est conçu pour isoler une fraction précise du spectre d'émission.

Mécanisme de sélection spectrale

- Balayage : En faisant pivoter le réseau, on fait défiler les différentes longueurs d'onde de manière progressive.

- Précision : La largeur de la bande passante (pureté de la lumière extraite) dépend directement de l'ouverture des fentes de l'appareil.

Pour obtenir une résolution optimale, il est préférable d'utiliser des montages disposant d'une distance focale importante, généralement comprise entre 0,2 et 0,5 m.

Appareils simultanés

Cette catégorie d'appareils repose sur l'utilisation d'un **réseau de diffraction** placé en aval du compartiment échantillon. En s'appuyant sur le principe de fonctionnement des **spectrographes**, ce dispositif permet de décomposer les radiations transmises après leur interaction avec l'objet d'étude

Détracteurs

Pour mesurer la lumière, le détecteur la transforme en signal électrique. Puisque sa sensibilité dépend de la couleur (longueur d'onde) du rayon, le choix de la technologie est crucial : on utilise soit un tube photomultiplicateur, soit des composants à semi-conducteurs comme les photodiodes ou les capteurs à transfert de charge.

VI.6-1-2- Lois d'absorption de la lumière

Lorsqu'un faisceau lumineux d'intensité initiale I_0 traverse une solution, une fraction de l'énergie est prélevée par les solutés. Par conséquent, l'intensité de la lumière transmise (I) est systématiquement inférieure à I_0 . Ce phénomène est quantifié par deux grandeurs complémentaires : la **transmittance** (T), qui correspond au rapport I/I_0 (souvent exprimé en pourcentage), et l'**absorbance** (A). Selon Rouessac et Rouessac (2004), l'absorbance est une valeur adimensionnelle définie par le logarithme décimal du rapport entre l'intensité incidente et l'intensité transmise :

$$A = \log_{10} (I_0 / I) = -\log_{10} T$$

VI.6-1-3- Lois de Beer-Lambert

La Spectroscopie UV-Visible et la Loi de Beer-Lambert

La spectroscopie UV-Visible est une méthode incontournable de l'analyse quantitative, utilisée depuis longtemps pour doser des substances colorées ou absorbant dans l'ultraviolet. Son principe repose sur la loi de Beer-Lambert, qui établit une relation directe entre l'absorption de la lumière et la concentration d'une espèce en solution.

Les paramètres de l'absorbance

L'absorbance (A), mesurée par un spectrophotomètre, est déterminée par trois facteurs principaux :

- Le trajet optique (l) : la largeur de la cuve traversée par le rayonnement (exprimée en cm).

- La concentration (c) : la quantité de substance dissoute dans la solution (en mol/L).
- Le coefficient d'extinction molaire (epsilon) : une caractéristique intrinsèque de la molécule. Cette valeur varie selon la nature de l'espèce chimique, le solvant utilisé et la longueur d'onde de travail.

Expression mathématique

Sous certaines conditions de validité (solutions diluées, lumière monochromatique), ces grandeurs sont liées par l'équation suivante :

$$A = \epsilon l c$$

Avec : ϵ 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.

VI.6-1-4- Spectre UV-visible

Le spectre UV-visible constitue la représentation graphique de l'absorbance (A) d'une solution exprimée selon la longueur d'onde (λ) en abscisse (**Figure 26**). Chaque bande d'absorption enregistrée dans cette région du spectre se définit par sa position au maximum d'intensité, notée λ_{max} (exprimée en nm) ou, alternativement, par son nombre d'onde (en cm^{-1}).

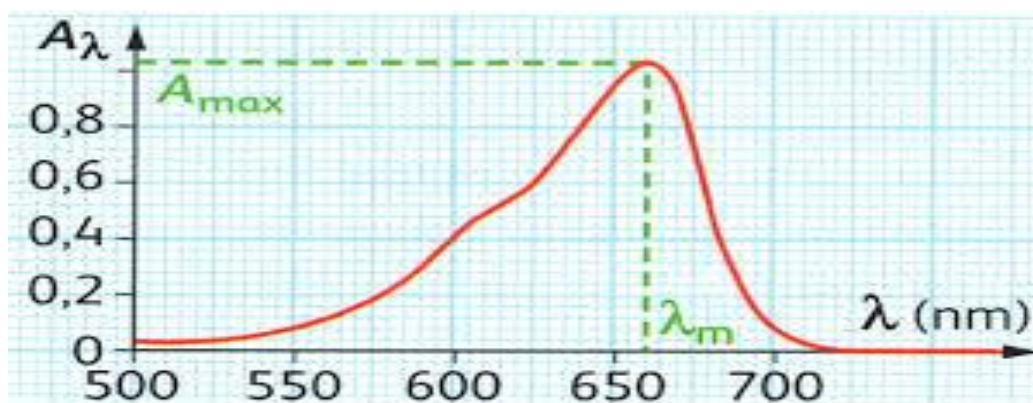


Figure 26 : Spectre d'absorption d'une solution de bleu de méthylène.

VI.6-1-5- Couleur des solutions

La couleur d'une solution est déterminée par les longueurs d'onde du spectre visible qu'elle ne capte pas. En effet, sa teinte correspond à la superposition des radiations transmises (non absorbées). À l'inverse, si une substance absorbe exclusivement dans le domaine des ultraviolets, elle nous apparaît incolore et transparente, car elle laisse passer l'intégralité du spectre visible.

Exemple : Le complexe $Ti(H_2O)_6^{3+}$ est rouge-violet et absorbe dans le vert (**Figure 27**)

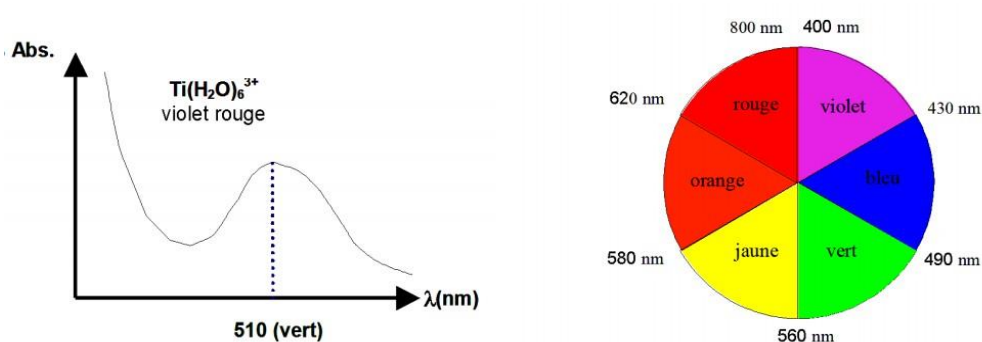


Figure 27 : Exemple de spectre $Ti(H_2O)_6^{3+}$ rouge-violet et absorbe dans le vert

VI.6-1-6- Groupe chromophores

Les bases de l'absorption UV-Visible

En chimie organique, certains groupes d'atomes sont directement responsables de l'absorption de la lumière dans les domaines ultraviolet et visible. On distingue deux concepts clés :

- **Les groupements chromophores** : Ce sont les fonctions chimiques spécifiques (telles que les **cétones**, les **amines** ou les **dérivés nitrés**) qui absorbent les rayonnements électromagnétiques.
- **Le chromogène** : Ce terme désigne l'entité complète, composée d'une structure carbonée (généralement inactive sous l'UV proche) sur laquelle sont fixés un ou plusieurs de ces chromophores.

VI.6-1-7- Spectrométrie de masse SM

La spectrométrie de masse est une méthode d'analyse physico-chimique permettant d'identifier des composés et d'élucider leur structure en mesurant leur masse moléculaire. Son fonctionnement repose sur la séparation d'ions en phase gazeuse selon leur rapport masse/charge (m/z). Réputée pour sa rapidité, cette technique est devenue incontournable dans de nombreuses disciplines telles que la biologie, la médecine ou l'astrophysique.

VI.6-1-7-1- Utilisation Un spectromètre de masse SM

Le spectromètre de masse est un outil analytique puissant qui repose sur la mesure du rapport masse/charge (m/z) des ions. Ses principales applications se déclinent en trois axes :

1. Identification Moléculaire

Le spectromètre agit comme un "relevé d'empreintes" pour la matière :

- Comparaison de spectres : Chaque molécule possède une signature spectrale unique. En la confrontant à des bases de données (banques de spectres), on peut identifier avec certitude un composé inconnu.
- Détermination de la formule brute : Grâce à la mesure ultra-précise de la masse monoisotopique, l'appareil permet de déduire la composition atomique exacte d'un ion.

2. Analyse de la Structure

L'appareil ne se contente pas de peser la molécule, il peut l'étudier en profondeur par la fragmentation :

- Mécanismes de cassure : Sous l'effet de l'ionisation ou lors de collisions, les molécules se brisent en fragments plus petits selon des lois chimiques stables.
- Reconstitution structurale : L'analyse de ces morceaux permet de "remonter le puzzle" et de comprendre l'agencement des atomes et des groupements fonctionnels au sein de la molécule.

3. Quantification

Le spectromètre est également un outil de dosage extrêmement précis :

- Haute sensibilité : Grâce à un détecteur capable de capter de très faibles signaux, l'appareil mesure l'intensité relative des ions.
- Dosage fiable : Cette intensité est proportionnelle à la quantité de substance présente, permettant ainsi de quantifier des molécules avec une grande fiabilité, même à l'état de traces.

VI.6-1-7-2- Structure d'un spectromètre de masse SM

Le spectromètre de masse est un instrument analytique composé de quatre modules principaux fonctionnant en série :

1. La source d'ionisation : Transforme les molécules de l'échantillon en ions.
2. L'analyseur : Sépare les ions en mouvement en fonction de leur rapport masse/charge (m/z).
3. Le détecteur : Comptabilise les ions arrivants et amplifie le signal électrique généré.
4. Le système informatique : Traite les données pour produire le résultat final.

Le Spectre de Masse

Les données sont traduites sous forme d'un graphique appelé spectre de masse. Ce dernier s'interprète selon deux axes :

- En abscisse (axe x) : Le rapport m/z , où m correspond à la masse de l'ion et z à sa valence (parfois noté m/q , où q est la charge).
- En ordonnée (axe y) : L'abondance relative, représentant l'intensité ou la quantité de chaque ion détecté. (**Figure 28**)

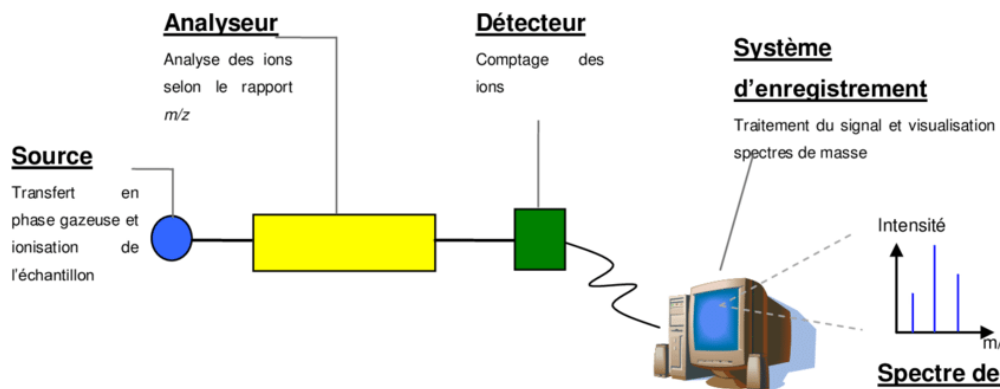


Figure 28 : Structure d'un spectromètre de masse SM.

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.

VI.6-1-7-3- Différents composants du spectromètre de masse SM

Le dispositif d'introduction de l'échantillon : Ce système permet d'injecter l'analyte dans la source selon divers états physiques (gaz, liquide par infusion directe ou solide). Il peut également fonctionner en couplage avec des techniques de séparation telles que la chromatographie (CPG, CPL) ou l'électrophorèse capillaire.

La source d'ionisation assure la vaporisation et la charge électrique des molécules. Selon la nature des analytes recherchés, elle opère en mode positif ou négatif. Bien que de nombreuses techniques existent, nous restreindrons notre étude à quelques dispositifs spécifiques (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)

L'ionisation électronique repose sur l'interaction entre un flux d'électrons, émis par un filament chauffé, et les molécules de l'échantillon. Si l'énergie cinétique des électrons est supérieure au potentiel d'ionisation de la molécule M, un électron est éjecté, générant un ion radical $M^{\bullet 0}$. Selon l'excès d'énergie interne emmagasiné, cet ion parent subit des fragmentations successives. Ce procédé génère des spectres complexes et détaillés, offrant une empreinte structurale précise de la molécule.

L'ionisation chimique (CI)

Source d'ionisation chimique : Outre le système d'impact électronique (EI), un gaz réactif est injecté dans la source. Ce gaz subit d'abord un bombardement électronique, déclenchant une cascade de réactions qui produisent des ions réactifs. Ces derniers interagissent ensuite avec les molécules d'analyte pour assurer leur ionisation. Ce type de réactions ions-molécules produit principalement (en mode positif) des ions $[MH]^+$, et $[M+H]^+$, 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 sépare les ions selon leur rapport masse/charge (m/z). Il peut combiner des secteurs magnétique et électrique pour affiner la mesure du temps de vol (TOF). Ce dernier principe repose sur la mesure du temps nécessaire à un ion, préalablement accéléré par une tension, pour parcourir une distance définie ; la valeur m/z est alors déduite de cette durée.

Dans une configuration classique de spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), un premier analyseur sélectionne les ions, une cellule de collision les fragmente, et un second analyseur traite les fragments obtenus. À l'inverse, des dispositifs comme les pièges à ions intègrent ces étapes au sein d'une structure unique, permettant l'analyse directe des produits de fragmentation.

Le détecteur et système de traitement

Le détecteur convertit le flux ionique en un signal électrique dont l'intensité est directement proportionnelle à la quantité d'ions reçus. Ce signal est ensuite amplifié afin de permettre son acquisition et son traitement par le système informatique.

VI.6-1-7-4- Spectre de masse

Un spectre de masse est une représentation graphique (**Figure 29**) structurée selon deux axes :

En abscisse (x) : On retrouve le rapport m/z (masse sur charge) des ions détectés. Dans le cas d'une ionisation par impact électronique, la charge z est généralement égale à 1 ; la valeur m/z correspond donc directement à la masse de l'ion exprimée en **Daltons (Da)**.

En ordonnée (y) : On mesure l'**abondance relative** de chaque ion. Par convention, le pic le plus intense est utilisé comme référence et sa valeur est fixée à **100 %**.

Typologie des pics

L'analyse d'un spectre permet d'identifier plusieurs catégories de signaux :

Le pic de base : Il s'agit du signal le plus élevé du graphique. Il représente l'espèce ionique la plus stable et, par conséquent, la plus abondante statistiquement.

Le pic moléculaire (ou pic parent) : Ce pic correspond à l'ion dont la masse équivaut à la masse molaire de la molécule étudiée. Il permet de déterminer directement le poids moléculaire de l'échantillon.

Les pics de fragmentation : Ces signaux résultent de la rupture des liaisons chimiques de la molécule initiale. Ils reflètent les divers fragments ioniques générés durant l'ionisation.

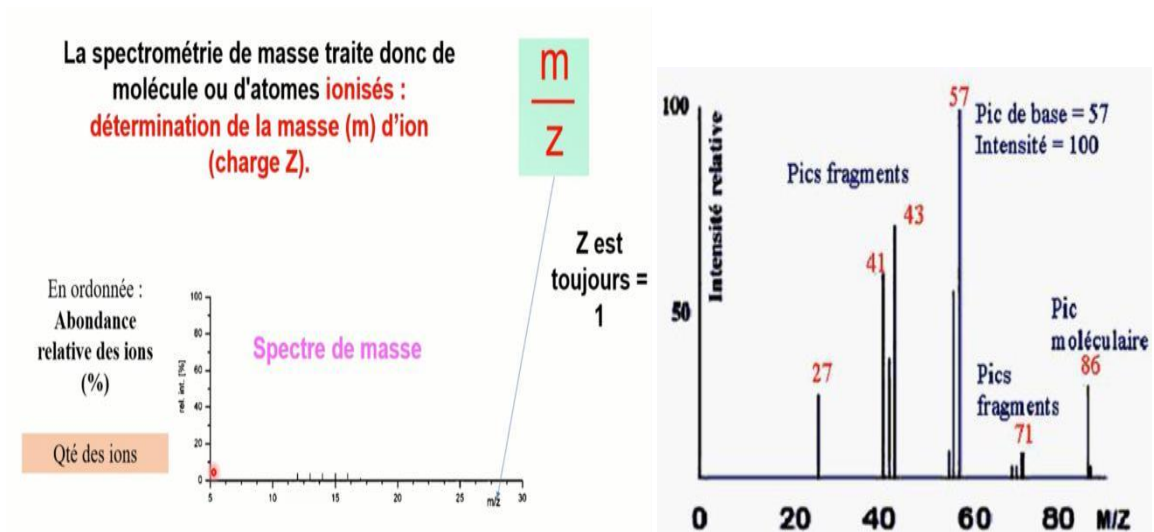


Figure 29 : Spectre de masse SM

VI.6-1-7-5- Analyse spectrale

L'analyse d'un spectre de masse s'articule autour de deux axes principaux :

- **L'étude de l'ion moléculaire** : Elle permet de déterminer la masse molaire, d'analyser l'abondance isotopique et d'en déduire la formule brute (en s'appuyant notamment sur la règle de la parité).
- **L'étude des fragments** : Elle consiste à identifier les ions secondaires issus de la fragmentation, dont la nature est directement liée à la structure chimique de la molécule initiale.

VI.6-1-7-6- Spectroscopie infrarouge IR

La spectroscopie infrarouge repose sur un mécanisme analogue à celui de la spectroscopie UV-visible : l'interaction entre la matière et le rayonnement électromagnétique. Cependant, la nature des transitions énergétiques diffère selon le domaine spectral :

- **UV-Visible** : Provoque des transitions entre les niveaux d'énergie **électroniques**.
- **Infrarouge** : Induit des transitions entre les niveaux d'énergie de **vibration** et de **rotation** des molécules.

Concrètement, l'absorption d'un photon infrarouge excite les modes vibratoires des liaisons chimiques au sein d'une structure moléculaire (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 cm^{-1} (0,7-2,5 μm en longueurs d'onde) ; l'infrarouge moyen qui va de 4000 à 400 cm^{-1} (2,5-25 μm) et enfin l'infrarouge lointain, qui couvre le domaine spectral de 400 à 10 cm^{-1} (25-1000 μm).

VI.6-1-7-7- Mode de vibration

En spectroscopie infrarouge (IR), l'interaction entre le rayonnement et la matière se traduit par l'absorption d'énergie par les **liaisons chimiques**. Ce phénomène se produit pour des longueurs d'onde comprises entre **1000 nm et 1 mm**.

Cette absorption induit deux catégories fondamentales de mouvements moléculaires :

- **Les vibrations d'élongation (stretching)** : Elles se caractérisent par une variation périodique de la distance entre les atomes, oscillant de part et d'autre de leur longueur de liaison à l'équilibre.
- **Les vibrations de déformation (bending)** : Elles impliquent une modification de l'angle de liaison, lequel fluctue autour d'une valeur angulaire moyenne (Figure 30) (Rouessac et Rouessac, 2004).

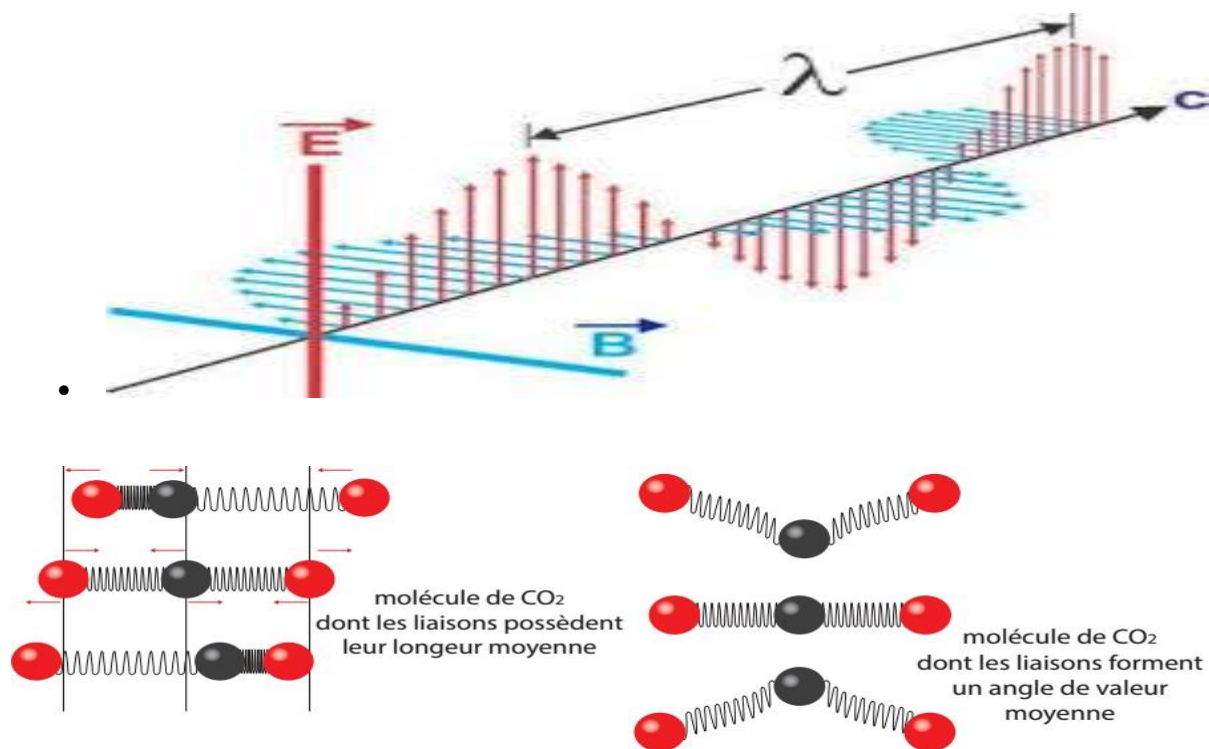


Figure 30 : Vibration d'élongation et de déformations de la molécule de CO₂.

VI.6-1-7-8- Spectromètre et analyseurs infrarouges

Le parc instrumental se divise principalement en deux groupes : les **spectromètres à transformée de Fourier**, qui traitent l'ensemble du spectre simultanément via l'interférométrie, et les **analyseurs dédiés** à des applications spécifiques. À noter que des modèles de type **dispersif** subsistent encore dans le domaine du proche infrarouge (**Figure 31**).

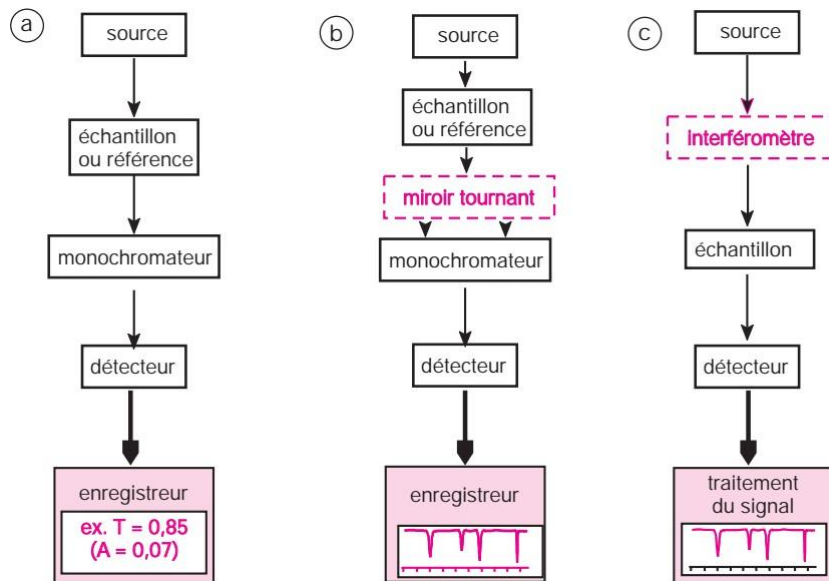


Figure 31 : Diagramme des spectres et analyseurs dans infrarouge.

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

VI.6-1-7-9- Spectromètre à transformée de Fourier (IRTF)

Selon Rouessac et Rouessac (2004), les spectromètres IRTF (Infrarouge à Transformée de Fourier) reposent sur une configuration optique à faisceau unique. Leur composant central est un interféromètre, généralement de type Michelson, positionné en amont de l'échantillon par rapport à la source lumineuse.

Analyseurs infrarouges

L'exploitation des spectres d'absorption dans le moyen ou le proche infrarouge permet la conception d'instruments miniatures et autonomes, essentiels à la protection du personnel ainsi qu'aux dispositifs de contrôle d'alcoolémie

Source et détecteurs dans IR

Les Sources Lumineuses en Spectroscopie IR

Le choix de la source d'émission est dicté par la zone du spectre infrarouge exploitée. Bien que les besoins varient, la majorité des analyses se concentrent sur l'**infrarouge moyen**, couvrant la plage de nombres d'onde allant de **4000 à 400 cm⁻¹**.

Types de sources couramment utilisées :

Le Globar (Carbure de Silicium) : C'est la source la plus répandue pour l'infrarouge moyen. Elle consiste en une tige de carbure de silicium chauffée électriquement, offrant une émission stable et intense.

La Diode Laser : Utilisée pour des applications spécifiques nécessitant une grande précision, elle émet un rayonnement monochromatique à une longueur d'onde extrêmement précise.

Le Filament à gaine de silice : Une solution plus simple et robuste, souvent employée dans des appareils de mesure portatifs ou dédiés, tels que les éthylomètres.

Détecteur

Historiquement, la sensibilité limitée de l'instrumentation spectrophotométrique résultait de la complexité inhérente à la détection du rayonnement infrarouge. Initialement fondés sur la conversion thermique (mettant en œuvre des thermocouples ou des thermistors), les dispositifs de détection ont évolué pour satisfaire les contraintes de la spectroscopie à transformée de Fourier. L'usage de cristaux pyroélectriques ou de photodiodes semi-conductrices s'est alors généralisé. Ces composants, caractérisés par une faible inertie et une excellente linéarité, assurent une réponse instantanée indispensable au suivi des modulations rapides du flux photonique.

VI.6-1-7-10- Spectre infrarouge IR

Le spectre infrarouge (**Figure 32**) porte la transmittance T (%) sur l'axe vertical et le nombre d'onde δ sur l'axe horizontal, ce dernier étant gradué par valeurs décroissantes.

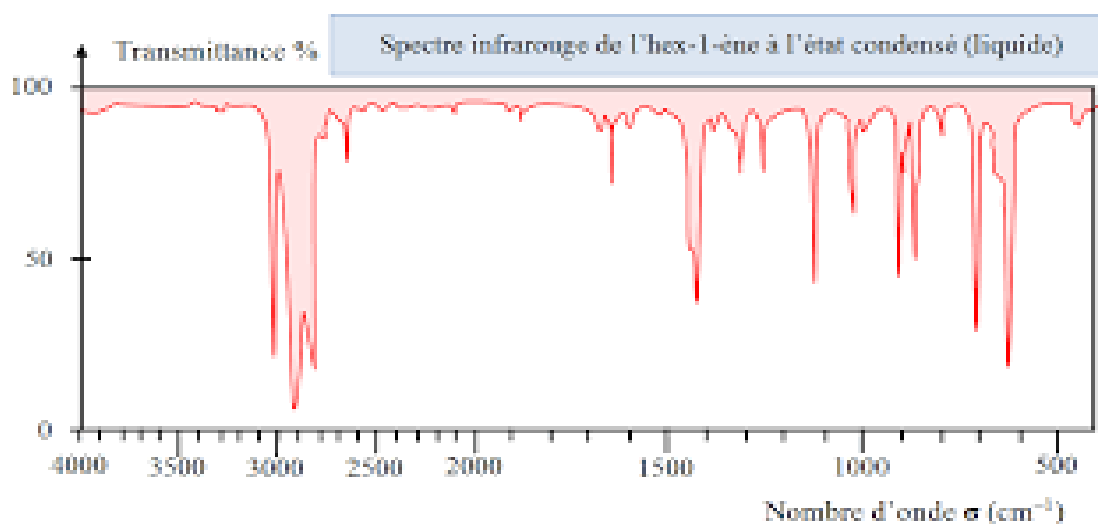


Figure 33 : Spectre IR de la butan-2-one.

Le nombre d'onde δ se définit comme l'inverse de la longueur d'onde et il s'exprime en 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.

VI.6-1-7-11- Bande caractéristiques et empreintes digitales

L'interprétation d'un spectre IR repose sur la distinction entre deux régions fondamentales, délimitées autour de 1400 cm^{-1} :

1. La zone des groupes fonctionnels ($> 1400\text{ cm}^{-1}$)

Située sur la partie gauche du spectre, cette région est essentielle pour l'identification chimique.

- Contenu : On y trouve les bandes caractéristiques des groupements fonctionnels (ex: C=O, O-H, N-H).
- Origine physique : Les pics correspondent aux vibrations d'élongation (ou *stretching*), où la distance entre les atomes varie le long de l'axe de la liaison.

2. La zone de l'empreinte digitale ($< 1400\text{ cm}^{-1}$)

Située sur la partie droite, cette région est propre à chaque molécule, à la manière d'une signature unique.

- Complexité : Elle est souvent difficile à analyser en détail car elle contient un grand nombre de bandes entremêlées.
- Utilité : Elle reste précieuse pour confirmer l'identité d'un composé par comparaison ou pour préciser la structure fine, comme le type de substitution (ortho, méta, para) sur un cycle aromatique.
- Origine physique : Les pics résultent principalement des vibrations de déformation (ou *bending*), impliquant des variations des angles de liaison.

Dans la zone comprise entre 1400 et 4000 cm^{-1} , les bandes d'absorption permettent d'identifier les liaisons spécifiques des groupes fonctionnels, telles que O—H, N—H, C—H, C=O ou C=C.

Le cas du groupement carbonyle (C=O)

Toutes les familles organiques possédant une double liaison C=O (aldéhydes, cétones, acides carboxyliques, esters, amides) manifestent une absorption intense aux alentours de 1700 cm^{-1} .

Pour différencier ces familles, il est nécessaire d'examiner d'autres bandes complémentaires :

- Acides carboxyliques : Présence d'une bande O—H large entre 2500 et 3000 cm^{-1} .
- Alcools (liaison O—H) : * O—H lié : Bande large entre 3200 et 3500 cm^{-1} (présence de liaisons hydrogène).

- O—H libre : Bande fine entre 3500 et 3670 cm^{-1} (en phase gazeuse ou solution très diluée).

Une liaison hydrogène est une interaction attractive de faible intensité. Elle s'établit lorsqu'un atome d'hydrogène, déjà lié par covalence à un atome très électronégatif (tel que O, N, F ou Cl), interagit avec un autre atome électronégatif porteur d'un doublet non liant.

Tableau 4 : Bandes caractéristiques.

Types de bandes				
Intense	Moyenne	Faible	Large	Fine
Liaison	Plage de nombre d'onde (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		

VI.6-1-7-12- Application de la spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est un outil fondamental pour caractériser la structure des molécules organiques. Contrairement aux propriétés macroscopiques, cette méthode repose sur les **vibrations moléculaires**, qui sont intimement liées à la géométrie locale (distances et angles de liaison) et à la force des liaisons chimiques. En pratique, elle permet d'identifier les **groupements fonctionnels**, d'authentifier une substance ou encore de monitorer l'avancement d'une réaction chimique.

VI.6-1-8- Spectroscopie Résonance Magnétique Nucléaire RMN

La spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est une méthode d'analyse incontournable pour identifier la structure des molécules. Elle permet d'étudier précisément l'environnement des atomes d'hydrogène en révélant la nature et le nombre d'atomes qui les entourent.

Le mécanisme physique

Le phénomène repose sur l'interaction entre les noyaux d'hydrogène et un champ magnétique :

1. Magnétisation : La molécule est placée dans un champ magnétique intense, noté B_0 .
2. Excitation : On soumet ensuite ces noyaux à une onde électromagnétique (ondes radio). Lorsqu'ils atteignent leur fréquence de résonance, ils absorbent de l'énergie.
3. Relaxation et Signal : En revenant à leur état initial, les noyaux restituent cette énergie sous forme d'une onde.

Le déplacement chimique (δ)

Ce signal émis est ensuite converti en une valeur appelée déplacement chimique, notée δ . L'intérêt majeur de cette grandeur est qu'elle est indépendante de l'intensité du champ magnétique appliqué, permettant ainsi de comparer les résultats obtenus sur différents appareils (Rouessac et Rouessac, 2004).

VI.6-1-8- 1- Appareillage de l'RMN

Le fonctionnement d'un spectromètre de résonance magnétique nucléaire repose sur l'interaction entre les noyaux atomiques et un environnement magnétique contrôlé (**Figure 34**). Ses principaux organes sont :

- **L'aimant supraconducteur** : Il génère un champ magnétique intense et stable (B_0). Un **générateur de balayage** permet d'ajuster précisément l'intensité de ce champ sur une plage réduite pour atteindre les conditions de résonance.
- **Le système radiofréquence (Émetteur et Récepteur)** : * **L'émetteur** bombarde l'échantillon d'ondes radio pour exciter les noyaux.
 - Le **récepteur** capte le signal émis par les noyaux lorsqu'ils retournent à leur état d'équilibre.
- **L'unité de traitement (Enregistreur et Intégrateur)** : Ce dispositif convertit les signaux captés en un spectre exploitable. L'intégrateur est crucial pour mesurer l'aire sous les pics, ce qui permet de déterminer le nombre relatif de protons pour chaque signal.

- **La sonde (Support d'échantillon)** : C'est le cœur du système. Elle positionne l'échantillon avec une précision millimétrique au centre du champ magnétique, à l'intersection des bobines d'émission et de réception.

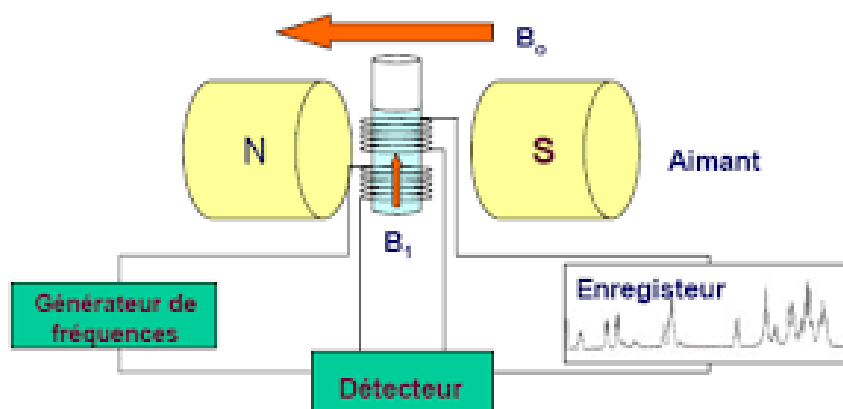


Figure 34 : Structure d'un spectromètre RMN.

VI.6-1-8- 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).

$$\delta = \frac{v_{mes} - v_{ref}}{v_0} \times 10^6$$

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

- v est la fréquence émise (fréquence mesurée)
- v_0 est la fréquence proportionnelle à l'intensité du champ magnétique B_0 et
- v_{ref} est la fréquence de résonance du tétraméthylsilane (TMS), une substance qui est prise comme référence et qui détermine le 0 des déplacements chimiques.

VI.6-1-8- 3- Proton équivalents

En spectroscopie RMN, des protons sont dits équivalents lorsqu'ils partagent exactement le même environnement électronique. Cette caractéristique se traduit par deux points essentiels :

- Ils possèdent la même valeur de déplacement chimique (δ).
- Ils ne génèrent qu'un seul et unique signal (pic) sur le spectre.

Conditions d'Équivalence

On retrouve généralement cette configuration dans deux cas de figure :

1. Sur un même atome : C'est le cas des protons portés par un même carbone tétraédrique (groupe méthyle $-CH_3$ ou méthylène $-CH_2-$ sans carbone asymétrique à proximité).

2. Par symétrie : Des protons ou groupes de protons portés par des atomes différents, mais disposés de manière symétrique au sein de la structure moléculaire.

VI.6-1-8- 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_1H , ${}^{13}_6C$, ${}^{19}_9F$, ${}^{31}_{15}P$ ont, par exemple, un nombre de spin $I = 1/2$ tandis que $I = 1$ pour 2_1H (deutérium D) ou 7_7N . Tous ces noyaux donneront un signal en RMN. En revanche, les noyaux ${}^{12}_6C$, 4_2He , ${}^{16}_8O$, ${}^{28}_{14}Si$, ${}^{32}_{16}S$ 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_1H , ou bien le ${}^{19}_9F$, sont plus faciles à détecter que le ${}^{13}_6C$, beaucoup moins sensible que le proton et qui ne représente que 1 % de l'élément carbone (Rouessac et Rouessac, 2004).

VI.6-1-8- 5- Spectre Résonance Magnétique Nucléaire RMN

Un spectre RMN se compose d'une série de signaux, chacun se manifestant par un ou plusieurs pics d'une grande finesse. Chaque signal constitue la signature d'un atome d'hydrogène ou d'un groupe de protons équivalents.

L'environnement chimique spécifique de ces atomes exerce une influence directe sur les paramètres suivants (**Figure 35**) :

- **Le déplacement chimique (δ)** : la position du signal sur l'échelle des fréquences, exprimée en ppm, qui traduit la densité électronique entourant les noyaux.
- **La multiplicité du signal** : le nombre de pics composant un signal (singulet, doublet, triplet, etc.), résultant du couplage avec les protons voisins.
- **L'intégration (courbe d'intégration)** : la surface sous le signal, proportionnelle au nombre de protons responsables de ce signal.

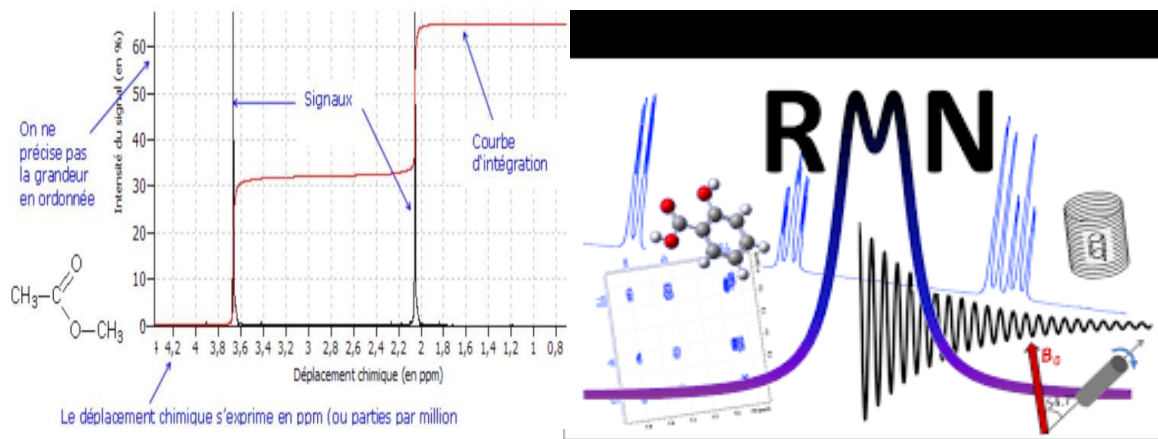


Figure 35 : Spectre Résonance Magnétique Nucléaire RMN.

Courbe d'intégration

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

Multiplicité des signaux

Les signaux en RMN se présentent rarement sous la forme de pics isolés ; ils apparaissent généralement sous forme de **multiplets** (tels que des doublets ou des triplets). La multiplicité de chaque signal est déterminée par le nombre de protons adjacents portés par les atomes voisins (**Figure 36**).

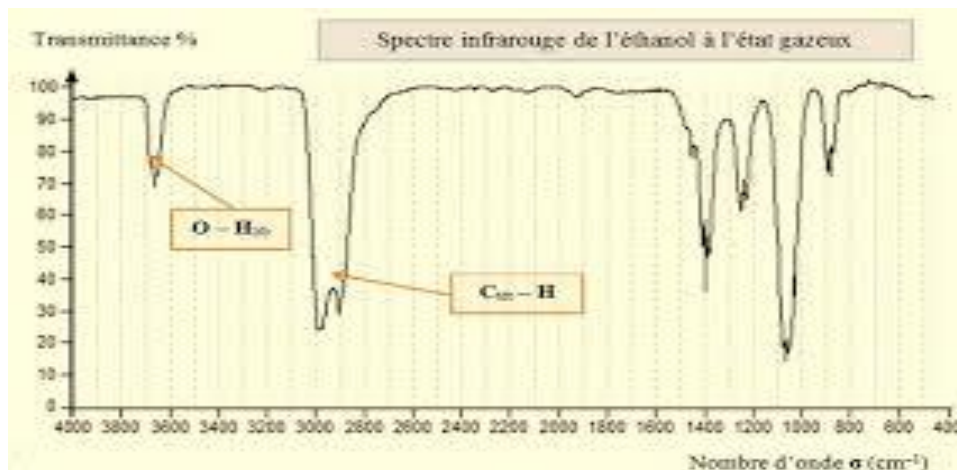


Figure 36 : Spectre RMN de l'éthanol.

Le couplage de protons survient lorsque ces derniers sont séparés par un maximum de trois liaisons (qu'elles soient simples, doubles ou triples) ; au-delà de cette distance, ils sont considérés comme non voisins. Selon la règle du (n+1), un signal se divise en un multiplet composé de n+1 pics, où \$n\$ représente le nombre de protons voisins non équivalents.

À titre d'exemple, le spectre de l'éthanon ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) montre un triplet pour le groupement méthyle (CH_3), car il possède deux voisins. À l'inverse, dans l'éthanoate de méthyle ($\text{CH}_3\text{-CO-O-CH}_3$), chaque groupe méthyle apparaît sous forme de singulet (un pic unique), faute de protons sur les atomes adjacents (Rouessac et Rouessac, 2004).

IX- Exemples de molécules bioactives isolées de quelques espèces végétales en Algérie

L'Algérie, grâce à sa diversité bioclimatique allant du littoral méditerranéen aux zones arides du Sahara, possède une flore riche en métabolites secondaires aux propriétés thérapeutiques et industrielles.

Voici quelques exemples de molécules bioactives isolées à partir d'espèces végétales locales :

1. Les Terpènes et Huiles Essentielles

Les espèces aromatiques de la famille des *Lamiaceae* et des *Asteraceae* sont particulièrement étudiées en Algérie.

- **Le 1,8-cinéole (Eucalyptol) :** Isolé principalement d'**Artemisia herba-alba** (Armoise blanche ou *Chih*), une plante emblématique des hauts plateaux. Cette molécule est reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires et bronchodilatatrices.
- **Le Thymol et le Carvacrol :** Présents en forte concentration dans le **Thymus numidicus** (Thym d'Algérie). Ces phénols monoterpéniques sont des agents antimicrobiens et antioxydants puissants.
- **L'Alpha-pinène :** Isolé du **Pinus halepensis** (Pin d'Alep), très répandu dans l'Atlas tellien, utilisé pour ses vertus antiseptiques.

2. Les Composés Phénoliques (Flavonoïdes et Tanins)

Ces molécules sont recherchées pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres et leur potentiel dans la prévention des maladies métaboliques.

- **La Quercétine et le Kaempférol :** Identifiés dans les extraits de **Pistacia lentiscus** (Lentisque ou *Derou*). Ces flavonoïdes contribuent aux propriétés cicatrisantes et anti-inflammatoires de l'huile de lentisque, traditionnellement utilisée en Algérie pour soigner les brûlures.
- **L'Acide Carnosique :** Isolé du **Rosmarinus officinalis** (Romarin) récolté dans les zones semi-arides. C'est un antioxydant majeur utilisé comme conservateur naturel dans les industries cosmétique et alimentaire.
- **Les Punicalagines :** Présentes dans l'écorce de **Punica granatum** (Grenadier). Ces tanins hydrolysables sont étudiés pour leur activité antitumorale et cardioprotectrice.

3. Les Alcaloïdes

Bien que moins nombreux que les phénols, certains alcaloïdes issus de la flore algérienne présentent une cytotoxicité d'intérêt pharmacologique.

- **La Berbérine** : Isolée de certaines sous-espèces de **Berberis vulgaris** présentes dans l'Aurès. Elle est connue pour ses effets hypoglycémiants et hypolipémiants.
- **La Glaucine** : Extraite du **Glaucium flavum** (Pavot cornu), plante du littoral algérien, utilisée pour ses propriétés antitussives.

4. Les Saponines et Stérols

- **La β -sitostérol** : Très abondante dans les extraits d'**Opuntia ficus-indica** (Figuier de Barbarie). Cette molécule aide à réduire le cholestérol et possède des effets protecteurs sur la prostate.
- **Saponines triterpéniques** : Isolées de l'**Atriplex halimus** (Guettaf), une plante steppique utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour la gestion du diabète de type 2.

Références bibliographiques

- Astani A, Reichling J, Schnitzler P. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytotherapy Research*. 24(5):673-9. 2010.
- 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.
- Bent H. Havsteen. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics* 96: 67- 202. 2002.
- 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.
- Bruneton J. Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes Médicinales. 3^{ème} édition. Ed. TEC et DOC, Paris. 1999.
- Burt SA. and Reinders R. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*. 36, 162–167, 2003.
- 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.
- CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard. Ninth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document M07-A9. 2012.
- 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.
- Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology. 23:174-181. 2012.
- Duke J. <http://www.ars-grin.gov/duke/>. 2015. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. Agricultural Research Service of the US Department of Agriculture.
- 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.
- Guinoiseau E. 2010. Molécules Antibactériennes Issues D'huiles Essentielles : Séparation, Identification Et Mode D'action. Thèse Présentée Pour L'obtention Du Grade De Docteur De L'université De Corse.
- Jelenković L. Jovanović VS. Palić I. Mitić V. et Radulović M. In Vitro Screening of α -Amylase Inhibition by Selected Terpenes from Essential Oils. Tropical Journal of Pharmaceutical Research September. 13 (9): 1421-1428. 2014.
- Judith A. Owen, Jenni Punt, Sharon A. Stranford, Patricia P. Jones, Catherine Fridman. Immunologie. Ed. Dunod, Paris. 2013.
- Karima B. Fatnassi S. Slim-Bannour A. Harzallah-Skhiri F. Mahjoub Z. Mighri. Chaumont J. Activités antivirale et antioxydante *in vitro* d'huiles essentielles de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmans. & Link de Tunisie. Acta Botanica Gallica and Botany Letters. 157(3): 433-444. 2010.
- Paula Mendonça Leite, Maria Auxiliadora Parreiras Martins, Rachel Oliveira Castilho Review on mechanisms and interactions in concomitant use of herbs and warfarin therapy. Volume 83. 14-21.2016.
- Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A. Microbiologie. 2^{ème} édition, éd. De Boeck, 2003.

- Rahal K. Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4^{ème} édition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière. 2005.
- Renard-Nozaki J. Kim T. Imakura Y. Kihara M. and Kobayashi S. Effect of alkaloids isolated from Amaryllidaceae on herpes simplex virus. *Res. Virol.* 140, 115-128. 1989.
- Xinyan Bi. Joseph Lim. Christiani Jeyakumar Henry. Spices in the management of diabetes
- 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 spectrometry. *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^e 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.