

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire de Jijel
Institut des Sciences de la Nature

Mémoire

De Fin d'Etude En Vue de l'Obtention du
Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie

Option Biochimie

Thème

**l'Extraction, Purification, et Identification des
Flavonoïdes à Partir de
*Ranunculus Repens L***

Encadré par :

Mr. *KEBIACHE Mohamed*

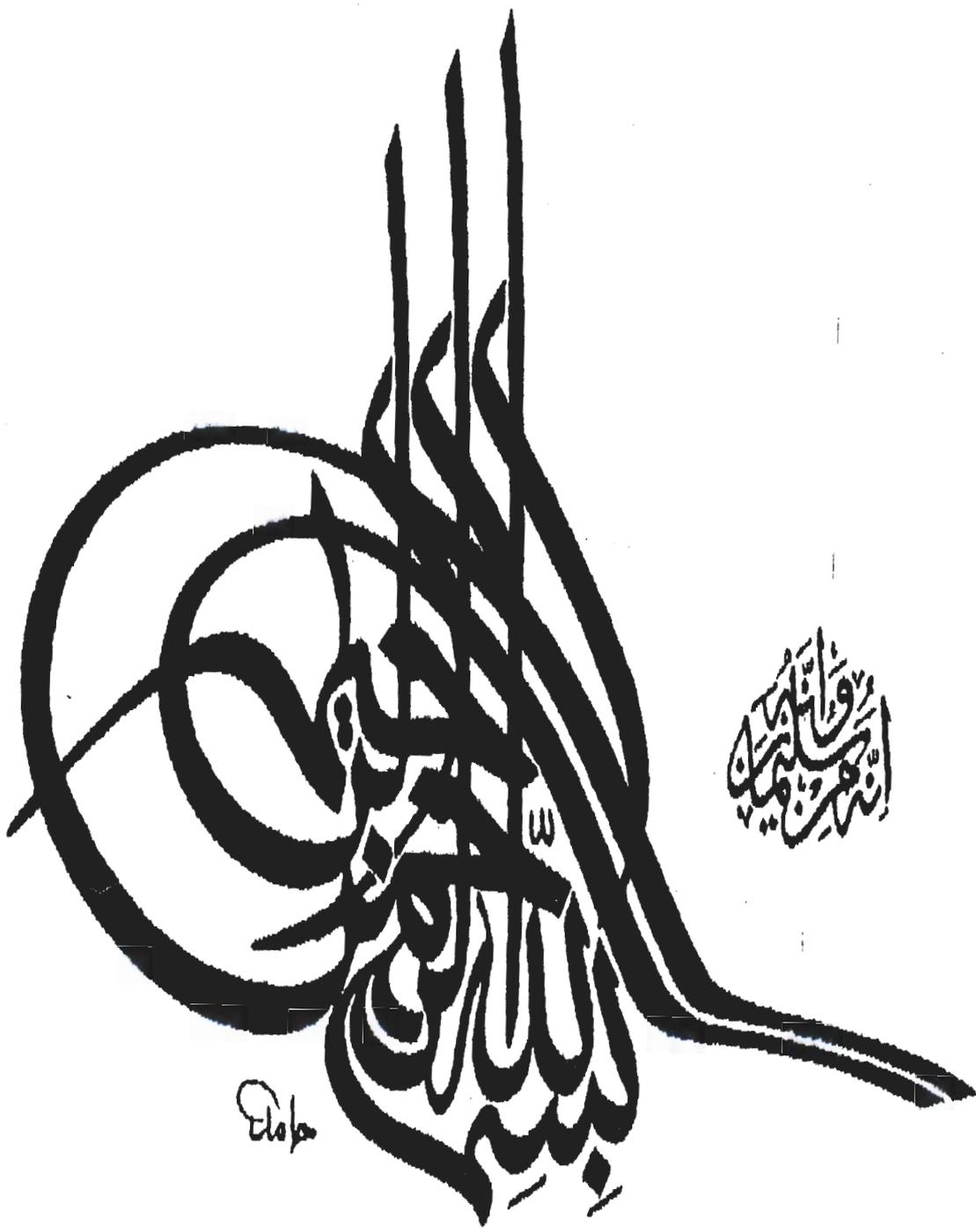
Présenté par :

HOUCHE Fatma Zohra

BOUIABET Assia

BEKIOUA Nour El Houda

Septembre 2002



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ
الَّذِي أَحْرَقَنَا مِنَ الْعِلْمِ
وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ الْوَهْدَانِ
وَالْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Elopa



Remerciements

Nous Tenons a Remercier

Mr-KEBIACHE Mohamed

d'Avoir Accepté de Diriger ce Travail.

Nous Remercions Egalement l'Equipe du Laboratoire

de Biologie Pour Leur Aide et Leur Soutien.

Enfin Nous Remercions Tous les

Enseignants de l'Institut de

Biologie.

Sommaire

Introduction.	1
A-Etude bibliographique :	2
I- Généralités	2
1-Définition de la plante <i>Ranunculus repens L</i>	2
2- Les caractéristiques de la plante	3
3-Métabolisme des flavonoïdes.	4
3.1- Définition des flavonoïdes	4
3.2- Structure et Classification	4
3.2.1- Structure.	4
3.2.2- Classification.	5
3.3-Biosynthèse des flavonoïdes	6
4-les rôles des flavonoïdes.	10
4.1-Rôle biologique.	10
4.2- Rôle physiologique.	10
4.3- Rôle pharmacologique	10
II- Les Méthodes d'étude des flavonoïdes	10
1- L'extraction des flavonoïdes	10
2-La séparation et purification des flavonoïdes	10
2.1-Séparation	10
2.2-purification	11
3-Identification	11
B-Etude expérimental	12
1-Matériel et Méthode	12
1.1-Matériel végétal	12
1.2-Les Méthodes	12
1.2.1-L'extraction des flavonoïdes	12
1.2.1.1-Séchage	12
1.2.1.2-Broyage	12
1.2.1.3-L'extraction hydroéthanolique	12
1.2.1.4-L'affrontement	14
* L'affrontement par l'éther	14
*L'affrontement par l'acétate d'éthyle	14



*L'affrontement par l'n-butanol	15
1.2.1.5-Evaporaton a sec	15
1.2.1.6-Récupuration par Méthanol	15
1.2.2-Fractionnement chromatographique	16
1.2.2.1-chromatographie sur papier	16
*principe	16
*mode d'opérateur	16
1.2.2.1.1-chromatographie monodimensionnelle	16
1.2.2.1.2-chromatographie bidimensionnelle	17
1.2.2.2-chromatographie sur couche mince	17
2-Résultats et Interprétation	18
2.1-Cas de chromatographie monodimensionnelle	18
2.2-Cas de chromatographie bidimensionnelle	26
C-Discussion	27
D-conclusion	28

INTRODUCTION



Introduction

Depuis longtemps, la vie de l'homme a été étroitement liée au monde des plantes, ces dernières ont été utilisées comme source de Nutrition, mais également au tant que remède à ses multiples malaises aussi.

L'utilisation des plantes a des fins thérapeutique remonte aux temps les plus reculés, mais ce n'est qu'à partir du 19ème siècle, que la médecine scientifique a commencé à s'intéresser aux effets physiologiques en terme d'efficacité thérapeutique, mais aussi de toxicité [18].

La médecine traditionnelle, tant particulièrement dans nos campagnes utilise toujours souvent les plantes médicinales du fait de leurs action pharmacologiques à cause de certains principes actifs qu'elle renferment ces composés actifs est naturellement présent dans ces plantes. ils confèrent sa vertu thérapeutique parmi les quels, on peut citer :les flavonoïdes, les polyphénols, les terpenoïdes... pouvant entrer dans la composition de certain médicament tels que l'Étoposid.

Cependant l'utilisation des extraits bruts pouvait mettre au danger les malades traités par la présence éventuelle des toxiques dans certaines Plantes.

C'est pourquoi, on doit connaître les principes actifs vertu thérapeutique dans chaque plante.

A fin de les purifier, identifier, et caractériser dans notre étude nous nous sommes intéressés aux extraits flavonoïdiques de *Ranunculus repens L.*

En ayant pour objectif l'extraction, purification et identification de ces principes actifs.

Pour cela, nous avons appliqué quelques méthodes à savoir :

- méthode d'extraction par les solvants.

- méthode d'analyse chromatographie à savoir la chromatographie sur papier, et sur couche mince .

Etude Bibliographique

A-ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE :

I- Généralités

1-Déffinition de la plant *Ranunculus repens L*

La famille des Rannuclaceaes qui, selon les botanistes, comprendrait une quarantaine de genres et 1500 à 1800 espèces est cosmopolite mais surtout présente dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère nord.[4]

Les *Ranunculus* sont appelées aussi «bouton d'or», en latin : *Ranunculus*, c'est à dire grenouille [1].

Ce genre comprend environ 300 espèces [4].

Les données taxonomiques de la plante sont les suivantes :

Phylum : *Dictotylédone*.

Famille : *Rannuculaceae*

Ordre : *Ranale ou polycarpique*.

Genre : *Ranunculus*

Espèce : *Ranunculus repens*

Nom arabe : Mergheris

Nom commun : Renoncule rampante.

Cette espèce est représentée par la figure 1.

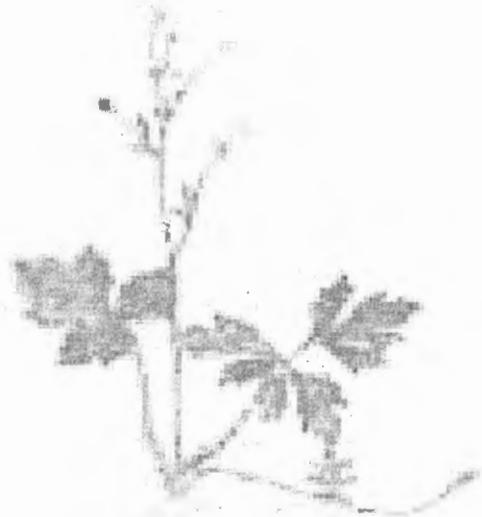


Fig.1.

Les caractéristiques de la plante:

L'essentiel des caractéristiques de *Ranunculus repens* L., est résumé dans le tableau I [1,9]

Tab.I - Les caractéristiques de la plante *Ranunculus repens* L.

Nom scientifique	<i>Ranunculus repens</i>
Nom commun	Renoncule rampante
Synonyme (s) du nom commun	Bouton d'or
Origine du nom	Le nom de genre signifie petite grenouille car certains espèces vivant dans des endroits marécageux.
Habitat	Très commune, se rencontre dans les lieux ombragés et suffisamment humides (prairies, jardins, chemins) jusqu'à 2300m. présent en Allemagne, Suisse, Italie... etc. Rare : France, Angleterre...
Description de la semence	Dimension : 2,0-3,5mm Couleur : Jaune, Brun. Forme : lenticulaire (un côté plus bombé que l'autre) Marginée à bec grêle en crochet de 0,5 à 1 mm. Ornementation : paroi. Verruqueux. Fruit contenant les graines.
Description de la plante adulte	Hauteur : 30 à 40 cm. Tige florifère, ascendante plusieurs fois divisée, sillonnée. Feuilles velus, radicale largement, pétiolées, tripartites lobes eux. Mêmes profondément divisés, lobe médiaux à long pétiolule, feuilles caulinaires. Supérieures petites, presque sessile. Fleurs jaune, isolées terminales, sépales dressés fruits nombreux.
Période récolte	La plante est plus riche en principe actif un peu avant la floraison, mais elle conserve plus au moins ses caractéristique toute la belle saison.
Pousse végétative	Plantes a port rampant et a stolons (tiges qui courent sur le sol et qui s'enracinent aux nœuds)
<i>autre caractéristique</i>	La médecine de cette plante est austique, elle peut provoquer des brûlures buccales, si elle est mâchée.

3- métabolisme des flavonoïdes

3.1- Définition des flavonoïdes :

Le nom flavonoïde est dérivé du mot grec FLAVUS qui veut dire jaune. [6]

Les flavonoïdes désignent l'ensemble des composés phénoliques de faible poids moléculaire, synthétisés par les végétaux chlorophylliens. ce sont des pigments presque toujours hydrosolubles. On les trouve dans des vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme constituants particuliers des plastes. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des tissus ligneux (bois) et parfois des feuilles et des fruits. [7]

3.2- Structure et classification :

3.2.1- Structure :

Le squelette de base des flavonoïdes à 15 atomes de carbone est constitué de deux cycles en C_6 (A et B), reliés par une chaîne en C_3 . Cette structure est représentée par la figure 2 [12].

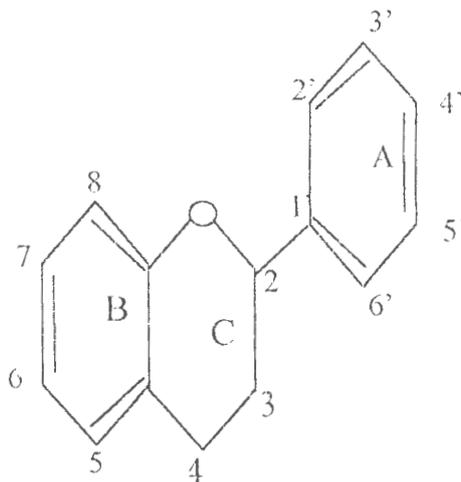


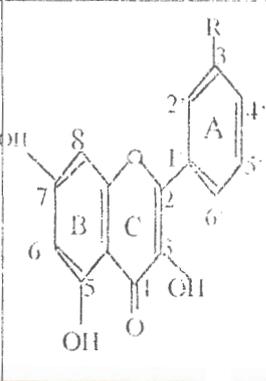
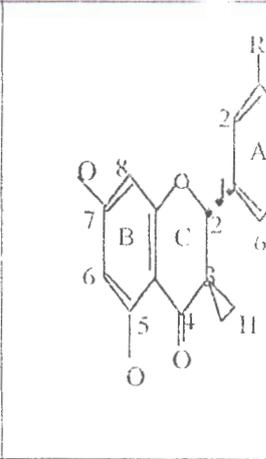
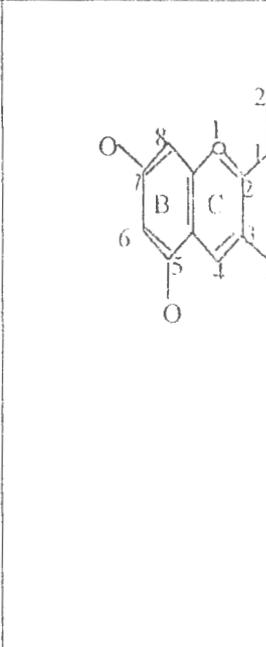
Fig.2- Squelette de base des flavonoïdes

2-Classification:

Les flavonoïdes sont classés selon leur structure biochimique et leur niveau d'oxydation du cycle central C₃, à savoir :

Table II : Représente l'ensemble des classes des flavonoïdes : [5][11]

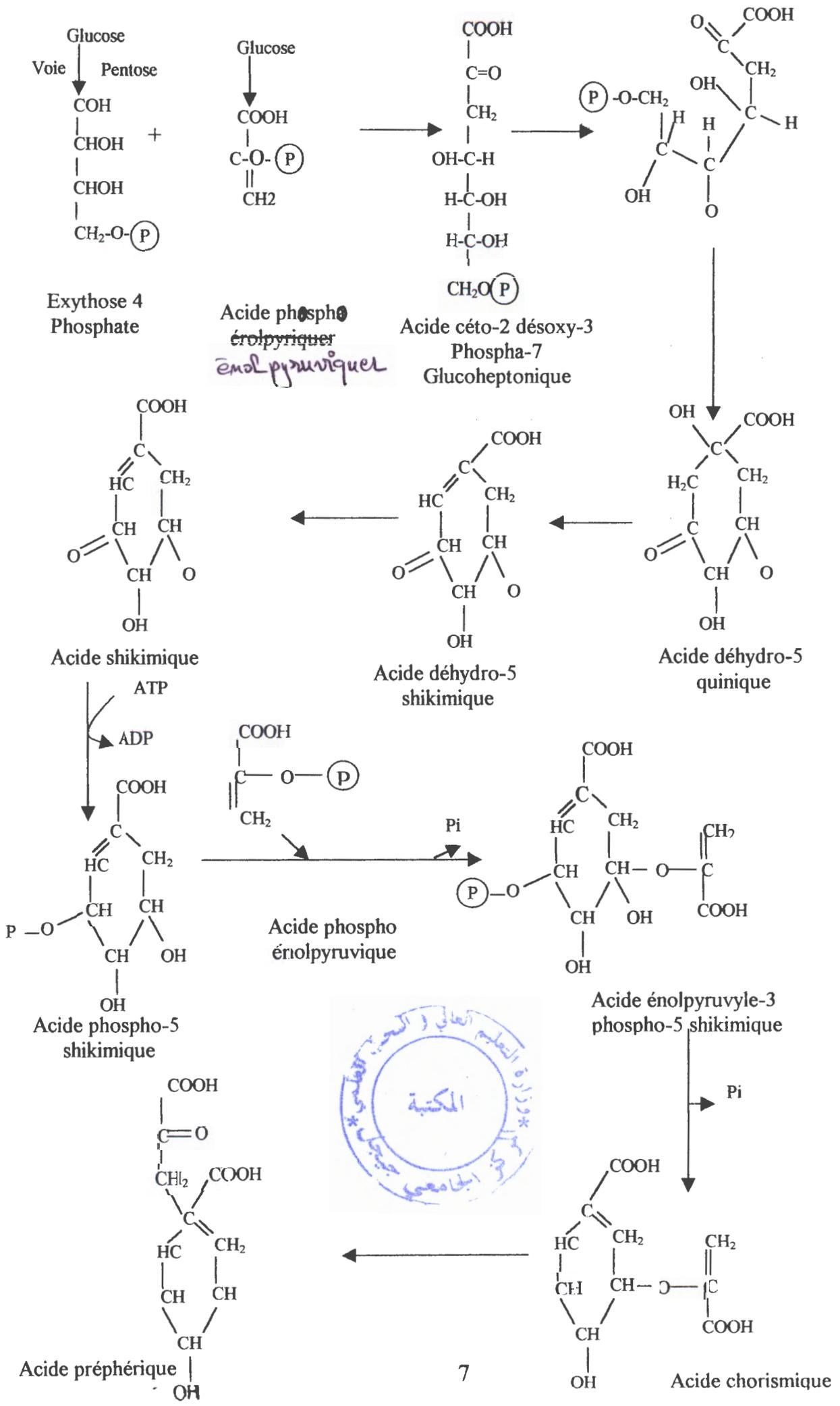
Nom	Structure	Radicaux	Caractère
chalcone		R=H= isoliquiritigénine R=OH Butéine	Sont dépourvues de l'hétérocycle central.
aurones			Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-BENZYLIDENE-5-HYDROXY-7-OH-4-OH-2-PYRONE
isoflavones		R=H= daidzéine R=CH ₃ formononétine R=H= 2,3-dihydro-6,7-dihydroquercétine	Caractérisé par leurs propriétés oestrogéniques
flavones:		R=H : apigénol R=OH : Lutéolol.	entre dans la composition de la substance farineuse

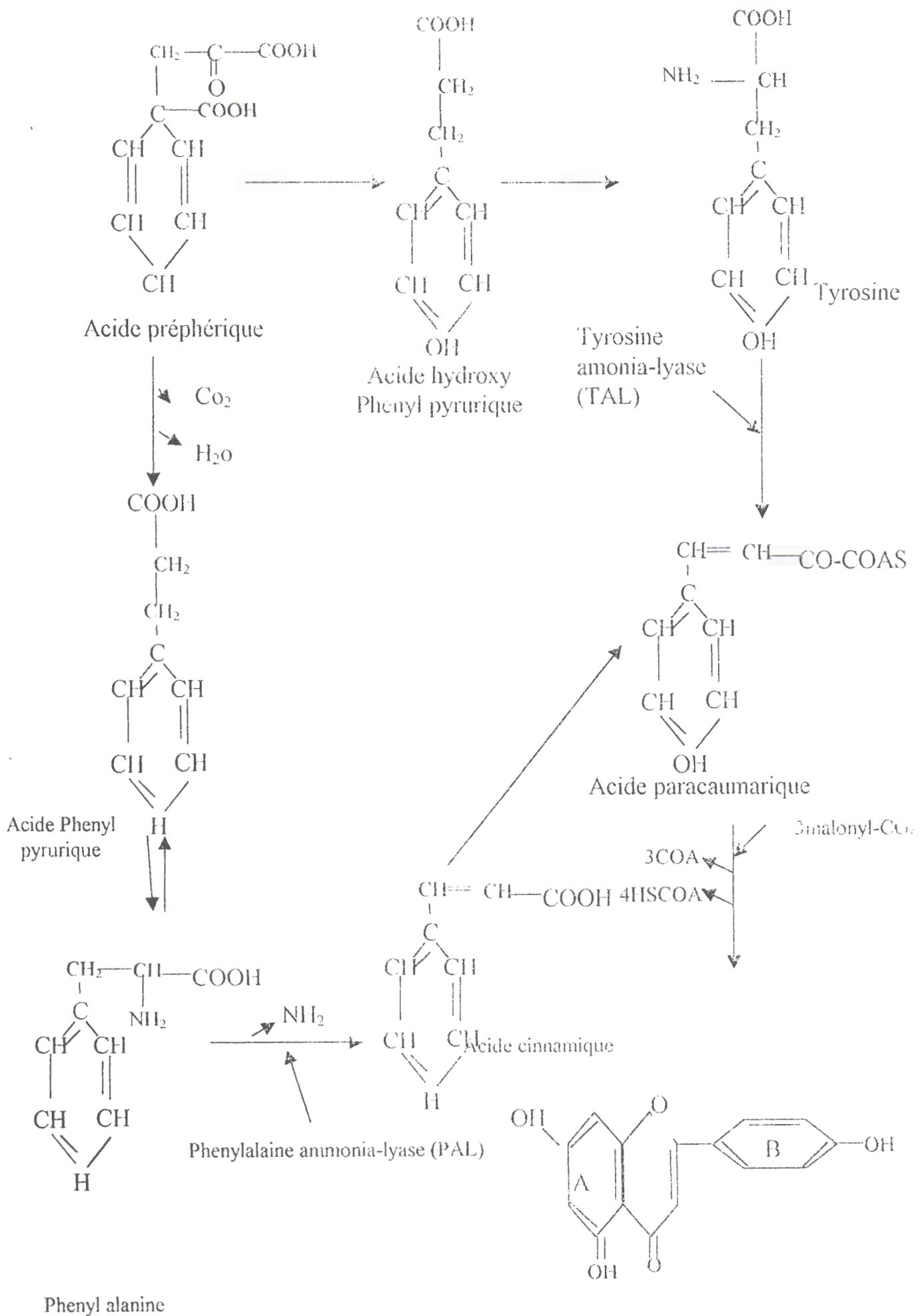
flavonols			sont dérivés des flavones par l'addition d'un nouveau groupe hydroxyle en position
flavonones		R=H=narigétol R=OH=ériodictyol	Les composés de ce groupe ont une double liaison de moins que les flavones dans leur hétérocycle
Anthocyanidols.		R1=R2=H : pélargonidol R1=OH, R2= : cyanidol R1=OCH3 ,R2=H : péonidol R1=R2= OH : delphinidol R1=R2= CH3 : malvidol R1= OCH3 , R2=OH : pétunidol	existent en milieu acide sous la forme cationique.

3-3 Biosynthèse des flavonoïdes :

Les flavonoïdes proviennent de la conjugaison de deux voies shikimate et acétatemalonate.

Figure 3





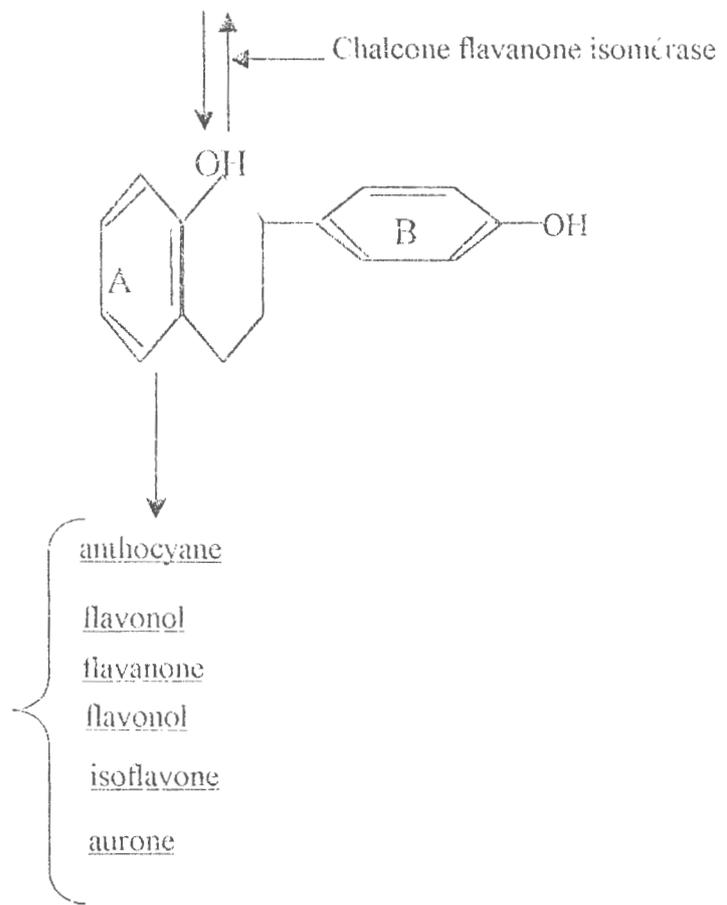


Fig3. Biosynthèse des flavonoïdes

4-Les Rôles des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont dans toutes les parties des végétaux supérieures : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains, bois... etc. Les flavonoïdes possèdent les rôles suivants :

4.1 Rôle biologique :

D'après MERGHEM, 1985 ; on distingue 03 types [3] :

- ***Rôle attractif** : relation insectes fleurs [2].
- ***Rôles protecteur** : photo protection vis à vis de l'U.V [2]
- ***Rôles adaptatif** : jouer un rôle dans les chaînes d'oxydoréduction [2].

4.2 Rôle physiologique :

Les flavonoïdes jouent un rôle dans : la croissance ,respiration ,la morphogenèse, ainsi les équilibres enzymatique interviendraient à différents stades du développement [2].

4.3Rôle pharmacologique :

Surtout agire sur des maladies tel que : manifestation de la fragilité capillaire, les maladies veineuses [3].

Autre action : agissent sur le métabolisme, ils sont des laxatifs et des purgatifs [2]

II- les Méthodes d'études des flavonoïdes :

1-L'extraction des flavonoïdes :

Les étapes de l'extraction des flavonoïdes sont les suivantes :

- l'extraction hydro-éthanolique.
- l'affrontements : la phase aqueuse est affrontée par trois solvants différents .
 - affrontement par l'éther.
 - affrontement par l'acétate d'éthyle
 - affrontement par le n-butanol
- évaporation à sec.

2- La séparation et purification des flavonoïdes

2.1- la séparation :

La séparation des produits flavonoïques se fait essentiellement par des méthodes chromatographiques en une autres :

1. -chromatographie sur colonne.
2. Chromatographie préparatif sur papier
3. Chromatographie préparatif sur couche mince CCM.

2.2- la purification.

La purification est un complément indispensable de la séparation, elle consiste à éliminer les composés mineurs, tels que les impuretés des solvants et des particules des substrats polyamide, et sephadex entraînées lors de l'étape de séparation.

- colonne de polyamide.
- colonne de sephadex.
- contrôle de pureté par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

3- L'identification des flavonoïdes

Pour identifier les flavonoïdes on analyse par la fluorescence lampe U.V , il y a d'autres techniques d'analyse structurale :

-Spectrométrie de masse S.M

Résonance magnétique et nucléaire R.M.N [1-:

Etude Expérimentale

B- ETUDE EXPERIMENTALE :

1-Matériel et Méthode :

Notre travail est basé sur la plante de *Ranunculus Repens L* en vue d'étudier biochimiquement comment extraire, purifier, et identifier les flavonoïdes à partir de cette plante, pour cela on procède plusieurs étapes .

1.1- MATERIEL VEGETAL :

L'accueillette de la plante : On récolte une quantité suffisamment de la plante à partir de la région de taxenna en mois de mai.

1.2- Les Méthodes :

1.2.1- L'extraction des flavonoïdes :

L'extraction de ces principes actifs flavonoïdiques sont extraits selon le protocole expérimental résumé dans le schéma général, et à savoir les étapes suivantes :

1.2.1.1-Séchage :

Après lavage par l'eau distillée on fait sécher à l'air libre pendant 3 jours, et aussi à l'aide de l'étuve à T :40°C pendant 2 heures.

1.2.1.2- Broyage :

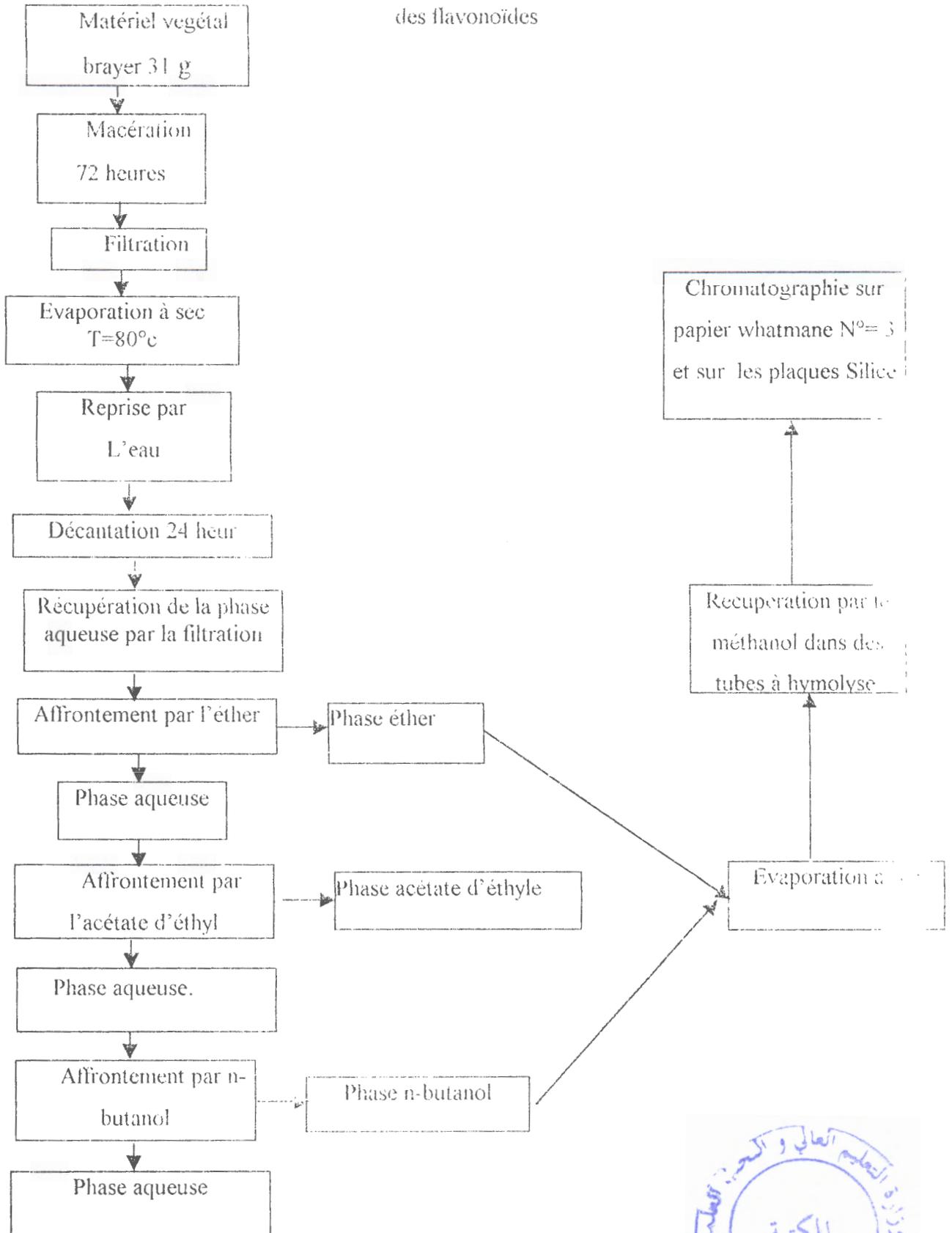
Nous broyons les feuilles de la plante dans un mortier à sec jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine 31g

1.2.1.3-L'extraction hydro-éthanolique

Nous prendrons 31g de la matière végétale (poudre). nous versons le mélange (eau distillée + éthanol), (30,70), le volume total est de (500ml, 150ml d'eau et 350 ml d'éthanol) dans un flacon. On laisse macérer pendant 72 heures.

La filtration du mélange hydro-éthanolique : on filtre le mélange au papier filtre, cette opération permet de récupérer les substances organiques et notamment les flavonoïdes

Schéma générale des étapes d'extraction
des flavonoïdes



L'évaporation à sec : se fait dans le but de séparer l'extrait sec de la phase aqueuse et ce-ci se réalise grâce au rota vapeur à température 80°C. Nous avons récupéré 105ml. D'extrait totale, à cause de la difficulté d'évaporer l'eau au rotavape on utilise l'étuve pendant une l'heures à T=60°C.

On ne peut pas obtenir l'extrait sec , à la fin on récupère 10 ml de l'extrait

- la reprise par l'eau bouillante : on trouve,
- 10 g de matier végétal -----> 100ml d'eau
- 31g de matier végétal -----> x ml
- donc le volume total qu'on trouve et 310 ml
- $310-10=300\text{ml}$

On ajoute 300 ml d'eau bouillant a notre extrait (10ml) pour obtenir 310 ml, puis on le laisse descendre pendant 24heures, après on fait la filtration afin d'éliminer les impuretés. Le volume finale de l'extrait est de 300ml.

Ce mélange on l' appelle, la phase aqueuse et on le récupère dans une fiole.

1.2.1.4-L'affrontement :

Nous affrontons la phase aqueuse par trois solvants différents .

- Ether* : Solvant préférentiel des aglycones flavonique.
- Acétate d'éthyle* : solvant préférentiel des mono glycosides.
- *n-butanol* : solvant préférentiel des dit et tri glycosides..

* **Affrontement par l'éther :**

Nous avons déversé à la phase aqueuse 100ml d'éther.

On fait l'agitation énergétique après un repos de 10 mn,

On met le mélange dans une burette, deux phases sont obtenues :

- La phase éther en haut.
- La phase aqueuse en bas.

La phase aqueuse est remise dans un flacon à descendre. afin de procéder à une 2ème extraction par l'éther dans le but de récupérer le maximum de produit , alors que la phase éther est récupérer dans un bécher.

* **Affrontement par l'acétate d'éthyle :**

La phase aqueuse obtenue après affrontement a l'éther, on repète les mêmes opérations mais avec un autre solvant qui est l'acétate d'éthyle.

Les phases aqueuses récupérées, on ajoute 100ml d'acétate d'éthyle après une agitation énergique on remet le mélange dans une burette avec un repos de 10mn, on trouve deux phases :

- La phase d'acétate d'éthyle en haut.
- La phase aqueuse en bas.

La phase aqueuse est remise dans une fiole afin de répéter l'opération plusieurs fois par l'acétate d'éthyle dans le même but que précédemment, alors que la phase d'acétate d'éthyle est récupérée dans un bécher.

*** Affrontement par le n-butanol :**

Même technique que précédemment seulement le solvant utilisé est le n-butanol, on récupère deux phases

- Phase aqueuse dans un flacon.
- Phase n-butanol dans un bécher

1.2.1.5- Evaporation à sec :

Les différentes phases :

- Phase d'éther.
- Phase d'acétate d'éthyle.
- Phase n-butanol.

On les concentre à sec:

- Pour la phase acétate d'éthyle d'un rotavapeur, la température est de 50°C et la rotation de 4.
- Pour la phase éther d'une étuve, la température est de 50°C.
- Pour la phase n-butanol d'une étuve, la température est de 70°C.

1.2.1.6- Récupération par le méthanol :

Les extraits secs sont ensuite récupérés par le méthanol :

Pour l'extrait d'éther on récupère par 4 ml de méthanol dans un tube à hémolyse.

Pour les deux autres extraits acétate d'éthyle, et n-butanol la même opération.

Les différents extraits sont prêts pour l'analyse chromatographique.

1.2- Fractionnement chromatographique des flavonoïdes :

Les méthodes sont destinées à séparer les différents constituants d'un mélange, problème fondamentale en biochimie.

Cette séparation peut être destinée soit à analyser le mélange soit à isoler des constituants pour étudier ultérieurement.

Nous avons essayé avec deux méthodes de chromatographie pour réaliser notre étude.

-Chromatographie analytique sur papier (whatman N°=3)

-Chromatographie sur couche mince. (Silice)

1.2.2-1-Chromatographie sur papier :

* principe :

C'est une chromatographie liquide-liquide correspond à une suite de transferts dans lesquelles l'une des phases est fixée, l'autre mobile, la phase fixée est dite phase stationnaire : elle imprègne un support solide. La phase mobile se déplace par gravité ou par capillarité.

*Mode d'opérateur :

Nous avons appliqué la méthode de chromatographies analytique sur papier comme premier essai, donc on a utilisé le papier whatman N°=3.

Cette étude la pour les deux dimension :

-Chromatographie monodimensionnelle.

-Chromatographie bidimensionnelle.

1.2.2.1.1- Chromatographie sur papier monodimensionnelle :

Nous avons utilisé 3 papiers de whatman (20.20), nous réalisons sur les 3 papiers 3 dépôts (2cm de hauteur), correspondant chacun à une phase .

Papier1 : phase Ether

Papier2 : phase acétate d'éthyle

Papier3 : phase n-butanole

Grâce à une pipette pasteur qu'on a bien concentrer les 3 phases sur les papiers et on les séché par un sèche cheveux.

Nous avons utilisé un seul système de solvant est le suivant .

Toluène/méthanol/éther de pétrole/ acétate d'éthyle (40/20/20/20)

le mélange est versé dans un flacon spéciale et on le met les 3 papiers.

Cette méthode permet de mesurer le rapport frontal (Rf) des différents produits existants dans chaque phase.

$$Rf = \frac{\text{Distance entre l'origine et la tache de produits (cm)}}{\text{Distance entre l'origine et le front du solvant (cm)}}$$

Le but de mesurer le Rf est la comparaison des valeurs de Rf du composé flavonique inconnu avec ceux de produit standard, cette comparaison donne une information préliminaire sur la nature de flavonoïde.

Mais malheureusement on a pas des Rf standard qui nous donne le type de flavonoides qu'on trouve.

1.2.2.1.2- Chromatographie sur papier bidimensionnelle :

Cette étape nous permet d'obtenir, les empreintes flavonoïques des différents produits dans les différents phases. Nous avons fait des modifications concernant les 3 papiers utilisés. (on tourne le papier à 90°). Sur les quelles nous avons réalisé un dépôt de chaque phase. C'est une dimension faisant appel au mélange de solvants :

L'eau distille / éthanol/ n-butanol/ acide acétique (50/25/20/2).ml

C'est donc une dimension assurant une meilleurs dispersion où séparation des composés phénoliques.

1.2.2.2- Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Le deuxième essai est avec la méthode de chromatographie sur couche mince.

Cette méthode possède le même principe que la chromatographie sur papier.

Pour analyser les échantillons nous avons répété les mêmes étapes que précédemment par la méthode de chromatographie sur papier.

On utilise les mêmes systèmes de solvant dans chaque cas parce qu'il y'a un manque d'actif solvant dans notre laboratoire.

Résultats

2-Résultats et interprétations :

2-1 Cas de la chromatographie monodimensionnelle :

La chromatographie monodimensionnelle a permis de séparer les différents spots, on essaie avec les deux types de chromatographie, sur papier whatman N°=3 et plaques de silice. Mais l'observation des spots n'est pas claire sur les papiers de whatman N°=3 pour cela on base notre travail sur les plaques de silice.

L'utilisation de l'éther de pétrole a permis d'avoir une bonne migration (joue le rôle d'un freineur). Nous avons révélé le nombre de produit et mesurer le Rf de chacun d'eux contenus dans chaque phase.

Les Résultats sont présentés par les tableaux III , IV et les figures 4,5,6,7,8,9

Tab III : représente les résultats de chromatographie monodimensionnelle sur papier de whatman N°=3.

Les phases	N°=de tache	Couleurs	Rf
Ether	1	Rouge	0,20
	2	Rouge	0,40
	3	Marron-rouge	0,56
	4	Marron	0,92
Acétate d'éthyle	1	Rouge	0,44
	2	Maron	0,49
	3	Maron	0,57
N_butanol	1	Maron	0,37
	2	Maron	0,69
	3	Maron-rouge	0,80
	4	Rouge	0,97

Tab IV : représente les résultats de chromatographie monodimensionnelle sur les plaques de silice (CCM).

Les phases	N°=de tache	Couleurs	Rf
Ether	1	rouge	0,47
	2	rouge	0,57
	3	Vert-rouge	0,65
	4	marron	0,69
	5	Marron-rouge	0,76
	6	marron	0,82
	7	marron	0,86
	8	rouge	0,91
	9	rouge	0,96
Acétate d'éthyle	1	marron	0,44
	2	Marron-rouge	0,49
	3	rouge	0,57
	4	marron	0,62
	5	Vert	0,68
	6	Marron	0,77
	7	Vert	0,80
	8	Marron	0,82
	9	Marron	0,86
N_butanol	1	Rouge	0,45
	2	Rouge	0,56
	3	Rouge	0,66
	4	Rouge	0,70
	5	Rouge	0,79
	6	marron	0,85
	7	Rouge	0,92

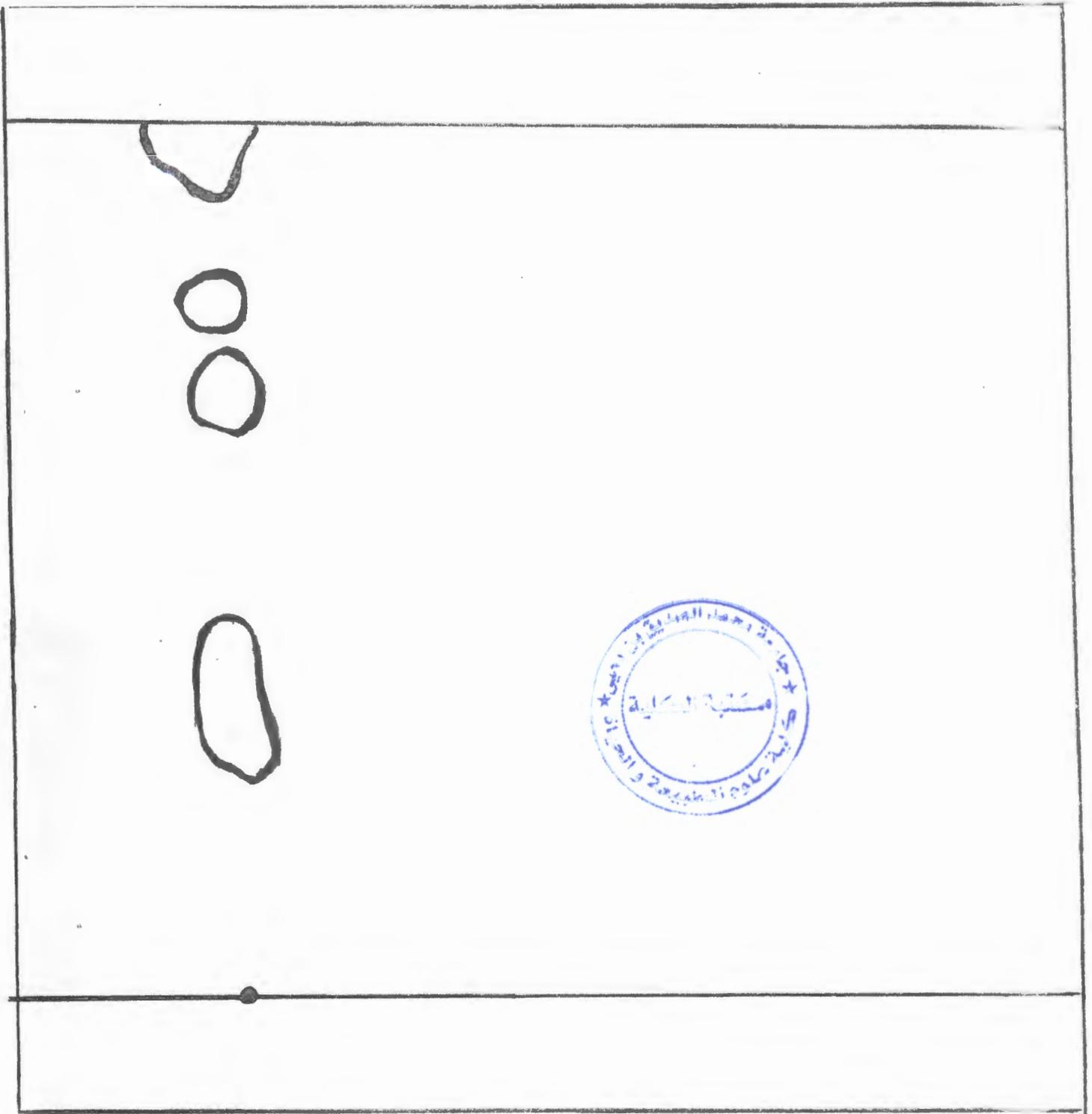


Fig 4 L_1 = phase n-butanol
 chromatographie monodimensionnelle
 sur papier Watman N° 1

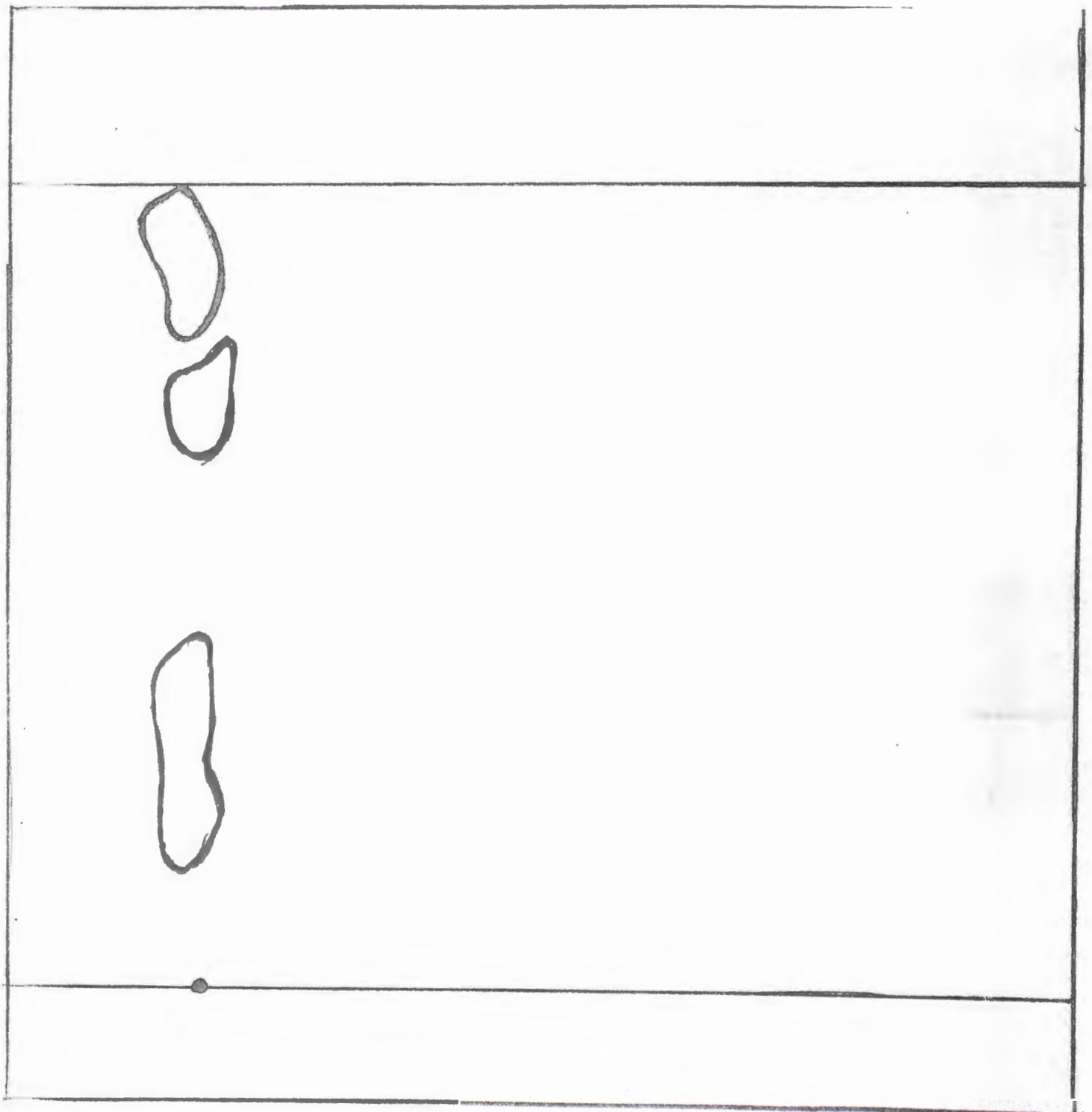
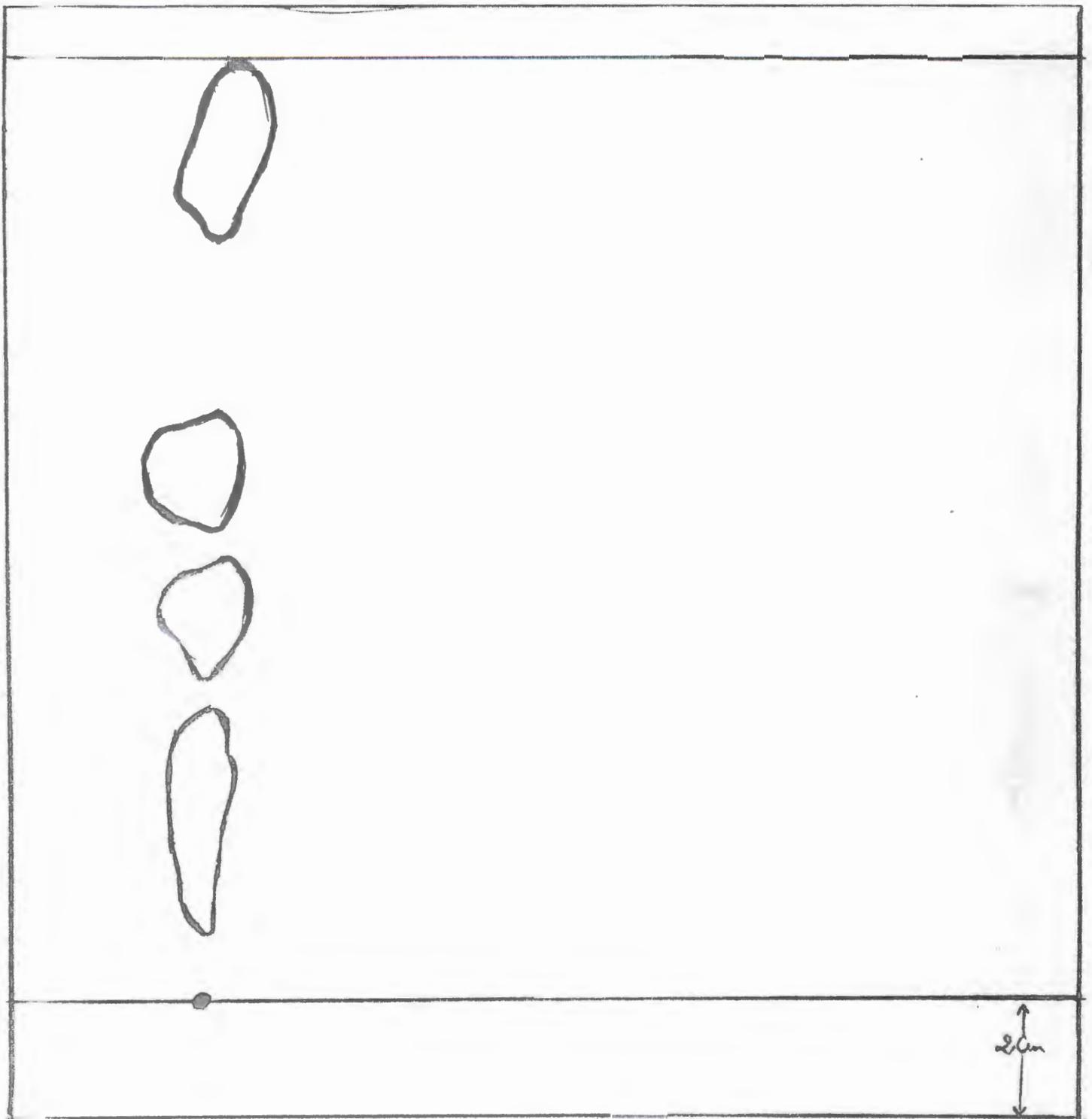
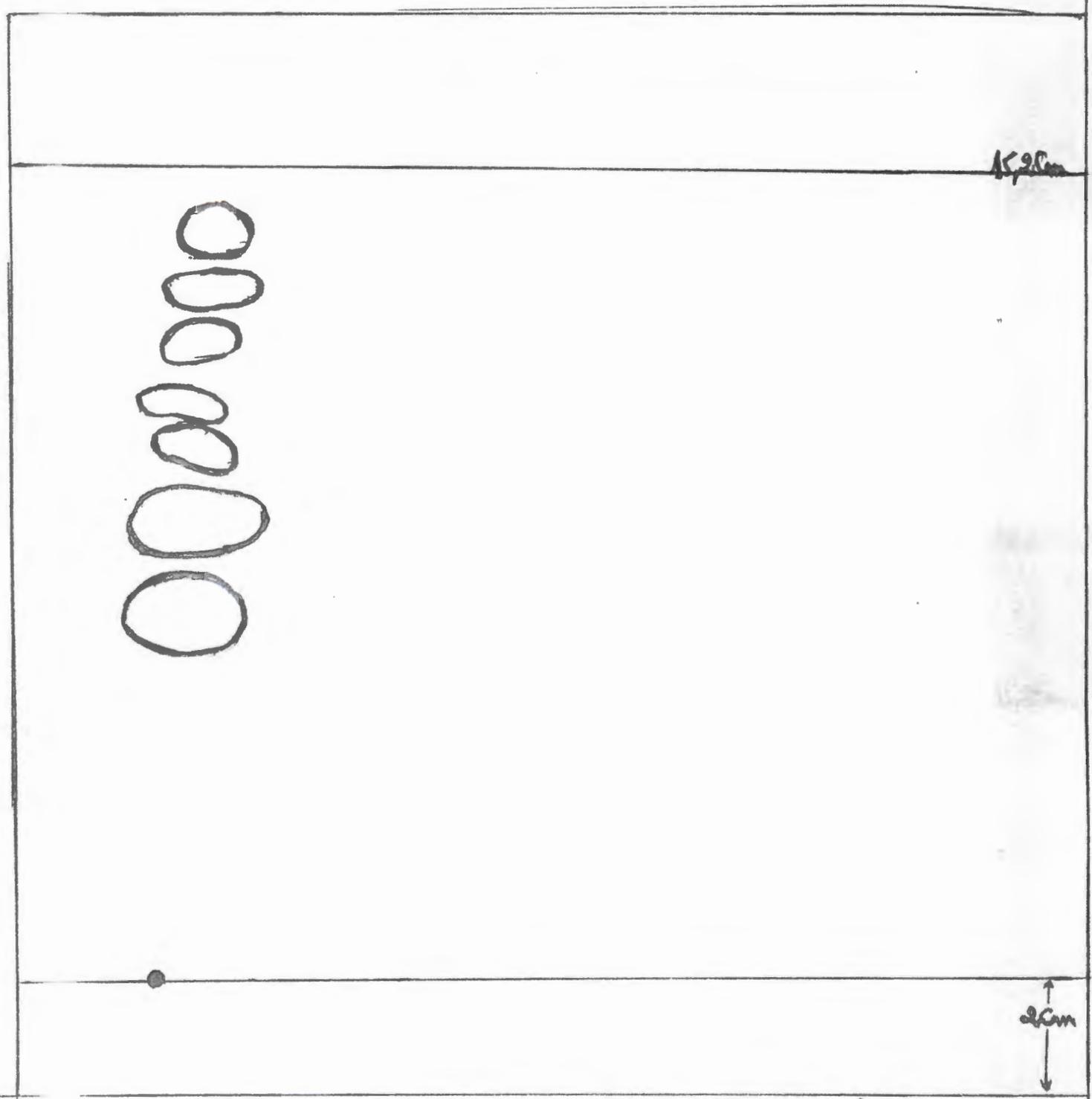


fig. 5. phase acétate d'éthyle
chromatographie monodimensionnelle
sur papier Whatman N°3



fg Di phase d'éther
chromatographie
monodimensionnelle sur
papier de Watman N°3



15,2cm

000000

fg phase n-butanol
chromatographie
monodimensionnelle sur gel
de silice

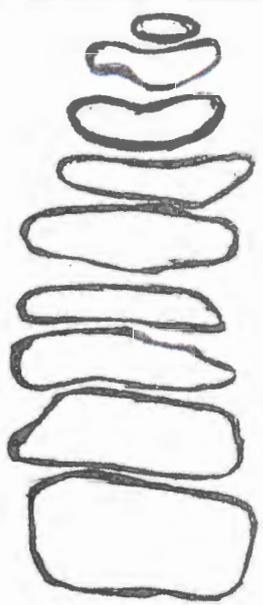
4,6



↑
2cm
↓

Fig 8: phase acétate d'éthyle
chromatographie
monodimensionnelle
sur gel de silice

11.7



5cm
↑
↓

fg 3. phase d'éther
chromatographie
monodimensionnelle sur gel
de silice

2-2 Cas de la chromatographie bidimensionnelle :

La chromatographie bidimensionnelle a permis la séparation d'autres produits, mais dans le cas de la chromatographie bidimensionnelle sur papier le solvant ne fractionne pas les spots obtenus.

La chromatographie sur plaque de silice ne permet pas de séparer les molécules, elles restent 25 spots mais avec différenciation de couleurs.

La lecture sous la lampe d'ultra violet (U.V.) a permis d'apprécier le nombre de flavonoïdes présent chez *la Ranunculus repens L.*

Les résultats résumés dans le tableau V.

Tab V : représente les résultats de chromatographie bidimensionnelle sur les plaques de silice.

Les phases	N°= spots	Couleurs
Ether	1	rouge
	2	rouge
	3	Vert
	4	rouge
	5	Marron
	6	marron
	7	rouge
	8	rouge
	9	marron
Acétate d'éthyle	1	marron
	2	rouge
	3	Vert
	4	rouge
	5	rouge
	6	Marron
	7	rouge
	8	Marron
	9	rouge
N_butanol	1	Rouge
	2	Rouge
	3	Rouge
	4	Rouge
	5	Rouge-vert
	6	marron
	7	Rouge

Discussion

C- Discussions:

La chromatographie sur papier a permis de révéler un ensemble de 11 spots flavonoïdique provenant des 3 phases différentes à savoir 4 spots pour l'éther, 3 pour la phase acétate d'éthyle et 4 spots pour la phase n-butanol.

Les résultats montrent que les flavonoïdes extrait de *Ranunculus repens L.* a de différent nature puis qu' il extraite des flavonoïdes aglycone, mono glycone et di et tri glycone.

- La teneur des flavonoïdes glyconique est importante dans notre extrait ce qui pouvait être utilisé comme glycophage c'est à dire antidiabétique
- Par ailleurs la chromatographie bidimensionnelle sur couche mince (CCM) nous adonné un chromatogramme riche en spots flavonoïdique au nombre de 25 ce qui implique que cette méthode est plus résolutive puisque le nombre de spots a été multiplié par rapport à la chromatographie sur papier monodimensionnelle d'un côté, ~~est~~ de l'autre côté a montré la diversité en molécules flavonoïdique de notre extrait ce qui constituer un terrain d'étude approfondie Concernant leur caractérisation dans le but de rechercher de nouvelle molécules flavonoïdique, on essaie leur éventuelle activité pharmacologique dans le domaines thérapeutique.

Conclusion

D-Conclusion

Cette étude sur la phytochimie de la plante *Ranunculus Repens L.*, nous a permis d'extraire les différents types de flavonoïdes à savoir : les flavonoïdes aglycones, les flavonoïdes monoglycosides et les flavonoïdes di et triglycosides chacun dans une phase de solvant.

Ces principes actifs flavonoïdiques sont révélés nombreux par les méthodes chromatographiques. Puisque la chromatographie sur papier nous a dégagés 11 spots sur le chromatogramme, alors que la CCM a montré 25 spots flavonoidiques tous confondus.

Or la CCM bidimensionnelle n'a pas fractionnée les 25 Sports obtenus par la CCM monodimensionnelle.

Nous pouvons dire que cette plante d'une part est riche en divers flavonoïdes, elle pourrait être des matériaux phytotechniques pour essayer d'autres méthodes d'identification et caractérisation plus poussées de ses principes actifs dans le but de rechercher leur activité pharmacologique.

[1]= [Http://www.google.fr/home/page/2](http://www.google.fr/home/page/2) ou. Copiediative/cool/htmho// :

[2]= La mémoire de fin d'étude 1997-1998 (Roger 1971)

Ranunculus Repens L. محاولة دراسة نواتج الميثابوليزم الثاني على مستوى مختلف أعضاء نبات

[3]= La mémoire de fin d'étude 1997-1998 (Fournier 1948)

Ranunculus Repens L. محاولة دراسة نواتج الميثابوليزم الثاني على مستوى مختلف أعضاء نبات

[4]= 581/BRV= Plante toxique: végétaux dangereux pour l'homme et l'animal.

[5]= GARHARD: Métabolisme des végétaux physiologie et biochimie.

Janvier 1993. Pages N=337-338.

[6] L'étude des flavonoïdes chez la plante TEUCKIUM CHAMAEDRYS

Promotion 1999/200. Université MENTOURI-Constantine.

[7]= Le memoire de fin d'étude : L'étude de l'activite antifongique d'extrait

flavonique d'une labice-Metha piperita.

[8]=<http://www.phlebologie.com/fr/htm/bref200/4-2000.html>

[9]= évaluation de l'activité anti-staphylococcus epidermidis d'un extrait brut de la plante RANUNCULUS REPENS L.

[10]= J.PLONCHAMP « [Http://www.inra.fr/dijon/melherbo/hyppaf/ranre-fr.htm](http://www.inra.fr/dijon/melherbo/hyppaf/ranre-fr.htm) »

Novembre2000.

[11]= BRUNTON.J : Pharmacoganasie phytochimie Plantes 2eme édition

Janvier 1997 pages N°=267-303.

[12]= Le mémoire de fin d'étude : Effet des flavonoïdes. (DAFLON500) Sur

l'hématotoxicite d'un médicament anticancéreux (cyclophosphamide) chez le rat-

Promotion juin 2001

encadreur :LAHOUEL .M présenté par :BOUSANAN,Hanane

-SLIMANI Wided.

[13]=FRAUKE. AA et et cool : quantitation of phytoestrogens inlegumes by HPLC. J.

Agric. Food. Chem-42 : 1905-13-1994.

[14]= Le mémoire de majestaire. Constantine 2001-2002.

[15]=Le mémoire de fin d'étude : Le métabolisme secondaire et l'extraction des

flavonoïdes chez un plante- La MENTHE-

[16]= ROLETTIAA : fleurs et plantes médicinales/ 1982 pages 10-1157-104-

[17]= [http://www.entrac.com/sante/les plants/principactif.htm](http://www.entrac.com/sante/les_plants/principactif.htm)

[18]= ZELLAGUIA, Methode d'extraction des flavonoïdes et alculoïdes **compte**.

Rendu du Simminaire National sur les plantes Médicinales.

Institut de biologie- centre universitaire de jjel 07-08-mai 2001

Pages N°=18-19.



Présenté par : BEKIOVA Nour el houda BOUTABET Assia HOUCHE Fatmazohra	Titre : L'extraction, purification, et identification des flavonoïdes a partir de <i>Ranunculus repens L.</i>	Date de soutenance: Septembre 2002
---	---	--

Résumé

Dans l'antiquité la plante fut pivot de la thérapie humaine ; or à l'heure actuelle elle a laissé sa place aux médicaments de synthèse

Au jour d'aujourd'hui la pharmacopée n'est pas toujours efficace pour certaines maladies : sida, cancer

Notre étude s'inscrit dans l'optique de la plante *Ranunculus repens L.*, où elle nous a permis d'extraire trois types de flavonoïdes alors que les méthodes chromatographiques

Nous ont révélé 25 molécules flavonoïdiques de tous types confondus

Mots clés :

Ranunculus repens L., extraction, chromatographie, purification, identification

ملخص

منذ القدم كانت النبتة العلاج الأساسي لأمراض البشرية

لكن في هذه الساعة تركت مكانها للأدوية المصنعة.

في الوقت الحالي لم تستطع الصناعة الصيدلانية إيجاد الأدوية الفعالة لبعض الأمراض مثل: السيدا، السرطان..

و دراستنا تخص نبتة محددة وهي *Ranunculus repens L*

مكنتنا من استخلاص 3 أنواع من الفلافونويدات بينما طرق الكروماتوغرافيا مكنتها هي الأخرى

من تحديد 25 جزيئة فلافونويدية مختاطة

Summary

In the antiquity, the plant was the essential man the raspy however day it left the place for synthesis medicines.

The pharmaceutical industry did not find out efficient medicines for certain diseases like : said, and cancer

Our study concerns a determined plant *Ranunculus repensL*, which enabled us to extract 03 types of whereas flavonoïde . Method chromatographique enabled us to determine 25 distinct molecule flavonoïdique .