

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI Laghouat
Faculté des Sciences
Département de biologie

جامعة عمار ثلجي - الأغواط -

كلية العلوم

قسم البيولوجيا



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie
Option : génie biologie

Thème

**L'activité Antibactérienne d'extrait méthanolique
(d'*Arthrophytum scoparium*)**

présenté par : Djaballah fatna

Lala Aicha

Encadré par : Boubrima youcef

Co-encadreur : Benmakhlouf leilia

JUIN 2012

نشاط ضد البكتيريا لمستخلص الميثانول من نبتة الرمث

ملخص

تحتوي المستخلصات الطبيعية المستخرجة من النباتات على مختلف منتوجات الايض الثانوية التي لها فعالية ضد نشاط البكتيريا. هذا العمل يركز أساسا على دراسة فعالية مضاد البكتيريا للمستخلصات الفينولية من الجزء الهوائي لنوع الرمث المقطوف اثناء ثلاثة ازمنة من العام, مع العلم انها في فترة الازهار, الاثمار و اكتمال النمو. اختبار مضاد البكتيريا على مختلف انواع البكتيريا المرجعية دل على ان مستخلصاتنا الفينولية لها قدرة محدودة بالنسبة (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) لمستخلص اسيتات الاثيل في فترة النمو التام و معدومة في فترة الازهار. وكذلك القدرة محدودة لمستخلص البيتانوليك بالنسبة لنفس البكتيريا في الفترات الثلاثة و تظهر القدرة معدومة لاجل (*staphylococcus aureus* ATCC 43300) في فترة الازهار

الكلمات المفتاحية

الرمث, المستخلص الفينولي,النشاط المضاد للبكتيريا, (*Staphylococcus aureus (souva)*,
Staphylococcus aureus

L'activité antibactérien d'extrait méthanolique (d'*Arthrophytum scoparium*)

Résumé :

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de métabolites secondaires auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes. Le présent travail est consacré essentiellement à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques de la partie aérienne de l'espèce *Arthrophytum scoparium*, récolté pendant trois périodes de l'année à savoir la période de floraison, de fructuration et de dormance. Le test antibactérien sur différentes souches de bactéries référenciées a montré que nos extraits polyphénoliques sont dotées d'un pouvoir antibactérien, limite pour *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (extrait d'acétate d'éthyle) de la période de dormance et nulle dans la période de floraison; et aussi limite pour la même souche devant les trois périodes (extraits butanoliques), et nulle pour *staphylococcus aureus* ATCC 43300 pour la période de floraison.

Mots clés : *Arthrophytum scoparium*, extrait poly phénolique, activité antibactérienne, *Staphylococcus aureus (souage)*, *Staphylococcus aureus*

Antibactérian activity of méthanolic d'extracs (d'*Arthrophytum scoparium*)

Abstract :

The natural extracts resulting from the plants contain a variety of secondary metabolites which have an inhibiting capacity of the micro-organisms. This work is devoted primarily to the study of the antibactérienne activity poly phenolic extractsof theaerial part of the species *Arthrophytum scoparium*, collected from three periods of the year knowing as the period of flowering, fructuration and of dormance. The antibacteriantest, on various stocks of referenced bacteria, showed that our poly phenolic extracts are equipped with anantibacterian power, limit for *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (extracted from ethyl acetate) of romance period and null in flowering period; and also limit for same stock in relation to the three periods (extracted butanolic), and null for *staphylococcus aureus* ATCC 43300 period of flowering.

Key words : *Arthrophytum scoparium*, Polyphenolic extract, antibactérienne activity, *Staphylococcus aureus (souage)*, *Staphylococcus aureus*.

Remerciements

Avant tout, nous remercions le bon Dieu toute puissance de m'avoir ouverte l'esprit et donnée la force d'étudier et d'accumuler ces quelques connaissances pour pouvoir participer au développement de mon pays dans la recherche, la science et la technique.

Nous souhaitons en premier lieu remercier mes parents qui nous ont aidés chacun à sa façon et nous donnent de leur encourage tout au long de ce travail.

Mes remerciements les plus profonds à Monsieur Boubrima Yousef, qui a dirigé ce travail, pour nous avoir fait confiance, pour son aide, sa patience, sa disponibilité, ses critiques constructives, ses explications et pour nous avoir tant encouragé à faire de la recherche scientifique.

Je remercie les membres de jury (Saridi abdelkadre et Sifi ibrahim) d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail

Nous voulons remercier nommément M^{me} Ben makhoulf Leilia Co-promoteur de cette mémoire dont les remarques qui donne beaucoup aide tout au long son travail, sans oublier l'équipe de d'analyse chimique de l'hôpital de Laghouat.

Nous adressons un grand remerciement à M^r Benramdan Tayeb pour l'aide scientifique qu'il nous a apporté durant la préparation de ce mémoire.

Nous remercions très cordialement les professeurs des départements de biologie, d'agronomie et de chimie et surtout M^r Benaleia qui donne l'autorisation de travail dans laboratoire chimie.

AICHA ET FATNA

Dédicace

Je dédie ce travail, qui est le couronnement de toutes les années d'études et qui ne s'est achevé sans votre amour et encouragement :

Aux deux plus chères personnes de ma vie, mes parents aux quels je témoigne toute ma reconnaissance pour ses inquiétudes, ses sacrifices et encouragements durant toute ma vie.

A mes frères : hadj, Abdeldjalil ;

A ma sœur : KENZA ;

A ma tante : Khadidja ;

A mes chères grandes mères ;

A ma chère grand-père ;

A tout mes oncles et tantes, cousins et cousines et toute la famille surtout ; la famille lala et yaïchaoui ;

A mon binôme : fatna ;

A mes adorables amies : Kadidja, Fatima, om keltoum, Ahlam, yassmin, Aïcha, Selaf, fadila, zahra, hasna, hasna, nadjat et tout mes amies ;

A tout la section de biologie.

Aïcha

Dédicace

A nos très chers parents.

A nos frères et sœurs.

A tout nos amies

A toute la promotion de 2012 de genie biologie.

A tous ceux que nous aimons.

Nous dédions ce mémoire

Fatna

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : les caractéristiques climatiques des régions investiguées et leur altitude ...	7
Tableau 2 : principales méthodes d'études des composées phénoliques.....	12
Tableau 3: Les principales classes de composés phénoliques.....	14
Tableau 4 : Activités biologiques des composés poly phénoliques	15
Tableau 5 : présente d'autres polyphénols avec des modes d'action différents	22
Tableau 6 : Références et origines des germes testés utilisés dans notre étude	29
Tableau 7 : les formes et les sensibilités des souches tests à ATB	30
Tableau 8 : Rendement et concentration d'extrait d'acétate d'éthyle (AC Et)	32
Tableau 9 : Rendement et concentration d'extrait butanolique (Bu OH)	32
Tableau 10 : Résultats des tests phytochimiques.....	32
Tableau 11: les diamètres en millimètre, des zones d'inhibition des extraits d'acétate d'éthyle issus d'une extraction (méthanol/eau).....	33
Tableau 12: Les diamètres en millimètre, des zones d'inhibition des extraits de butanol issus d'une extraction (méthanol/eau).....	34

LISTE DES FIGURES

Figure 1: la plante médicinale <i>Arthrophytum scoparium</i> (pomel) Ilgin.....	5
Figure 2. A : <i>Arthrophytumscoparium</i> en période de floraison. B : <i>Arthrophytum scoparium</i> en période de fructuration. C : <i>Arthrophytumscoparium</i> en période de dormance.....	5
Figure 3. Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes.....	18
Figure 4 : les poudres obtenues après le broyage de la partie aérienne de la plante	23
Figure 5: schéma d'un protocole d'extraction liquide-liquide.....	26
Figure 6 : représentation schématique des étapes de l'extraction.....	27
Figure 7 : Témoins pour <i>Staphylococcus aureus</i> (DMSO)	34
Figure 8 : des photos illustrant l'activité antimicrobienne (antibactérienne) des extraits phénoliques d'acétate d'éthyle (Ac Et) pour les bactéries à gram (+).....	35
Figure 9: des photos illustrant l'activité antimicrobienne (antibactérienne) des extraits phénoliques de butanol (Bu OH) pour les bactéries à gram (+).	35
Figure 10: diamètres des zones d'inhibition (mm) d'extrait AcEt d' <i>Arthrophytumscoparium</i> vis-à-vis de <i>S. aureus</i> ATCC 25923 et <i>S. aureus</i> ATCC 43300	36
Figure 11 : diamètres des zones d'inhibition (mm) d'extrait Bu OH d' <i>Arthrophytum scoparium</i> vis-à-vis de <i>S. aureus</i> ATCC 25923 et <i>S. aureus</i> ATCC 43300.....	37

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac Et	: Acétate d'Ethyle
ATB	: Antibiotique
ATCC	: American Type Culture Collection
Bu OH	: Butanol
°C	: Degré Celsius
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
BLSE	: Béta Lactamases à Spectre Elargi
CHS	: La chalcone synthase
CoA	: Co-enzyme
CPG	: Chromatographie phase gaz
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
D.O	: Densité Optique
DPPH	: 1-1 diphényl-2-picrylhydrazyl
<i>E. Coli</i>	: <i>Escherichia Coli</i>
<i>E. faecalis</i>	: <i>Enterococcus faecalis</i>
Fc	: Fructuration
Fl	: Floraison
g	: gramme
GN	: Gélose nutritif
h	: heure
HIV	: Virus de l'Immunodéficience Humaine
HPLC	: Chromatographie liquide haute performance
Kg	: Kilogramme
<i>K. pneumoniae</i>	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>
L	: La sensibilité d'un germe est limitée

LDL : Low Density Lipoproteins

LMHL : Laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital de Laghouat

LPS : Lipopolysaccharides

M : La sensibilité d'un germe est moyenne

mg : milligramme

MH : Muller Hinton

ml : millilitre

mm : millimètre

N : La sensibilité d'un germe est nulle

nm : nanomètre

PAL : La phénylalanine-ammonialyase

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PI : pas d'inhibition

Ram : Rameaux

S : Le germe est très sensible

S. aureus : Staphylococcus aureus

SFE : Extraction supercritiques

tr/min : tours / minute

UFC : Unité formant des colonies

UV : Ultraviolet

µl : microlitre

O₂⁻ : Superoxyde anion

NO· : Oxyde nitrique

HO· : Radical hydroxyle

O₂· : singlet oxygen

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I : Plantes médicinales et métabolites secondaires	
I.1. PLANTES MEDICINALES.....	3
I.2. DOMAINES D'APPLICATION DES PLANTES MEDICINALES.....	4
I.3. PRESENTATION DE LA PLANTE ETUDIEE	4
I.3.1. Description botanique	5
I.3.1.1. Caractères morphologiques	5
I.3.1.2. Classification	6
I.3.2. Usages traditionnels	6
I.3.3. Habitat et répartition géographique	7
I.3.4. Climat de régions de la récolte	7
I.4. SUBSTANCES BIOACTIVES	7
I.5. CLASSES DES METABOLITES SECONDAIRES	8
I.6. LES COMPOSES PHENOLIQUES	8
I.7. LES REGULATEURS DE LA DIVERSITE DES COMPOSES PHENOLIQUES.....	9
I.7.1. les enzymes des métabolismes phénoliques	10
I.7.1.1. La phénylalanine-ammonialyase (PAL)	10
I.7.1.2. CoA-ligases	10
I.7.1.3. La chalconesynthase (CHS)	10
I.7.2. Action des facteurs physiques, chimiques et biotiques	11
I.7.2.1. La lumière	11
I.7.2.2. La température	11
I.8. L'EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES	12
I.9. CLASSIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES	13
I.10. EFFETS BIOLOGIQUES DES POLYPHENOLS	14

Chapitre II : Activité biologique des poly phénols

II.1. INTRODUCTION	16
II.2. ACTIVITES DES POLYPHENOL	16
II.2.1. Effets des poly phénols sur la santé	16
II.2.1.1. Prévention des maladies cardio-vasculaires	16
II.2.1.2. Prévention des cancers	16
II.2.1.3. Prévention de l'ostéoporose	17
II.2.2. Activité antioxydante des polyphénols	17
II.2.2.1. Activité antioxydante des flavonoides.....	17
II.2.2.2. Activité antioxydante des tanins	18
II.2.3. Activité antimicrobienne des poly phénols	18
II.2.3.1. Activité antibactérienne des flavonoides	19
II.2.3.2. Effet antimicrobien des tannins	20
II.2.3.3. Effet antimicrobien des coumarines	20
II.3. MECANISMES D' ACTIONS ANTIMICROBIENNES DES POLYPHENOLS.....	20
II.3.1. Inhibition de la synthèse d'acides nucléiques	21
II.3.2. Inhibition de la fonction de la membrane cytoplasmique	21
II.3.3. Inhibition du métabolisme d'énergie	22

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. MATERIEL.....	23
III.1.1. Matériel végétal	23
III.1.1.1. Récolte des échantillons	23
III.1.1.2. Séchage et Conservation	23
III.1.1.3. Préparations des échantillons	23
III.2. METHODE D' EXTRATION DES COMPOSES PHENOLIQUES	24
III.2.1. La macération	24
III.2.1.1. Macération à froid avec agitation	24

III.2.2. l'évaporation	24
III.2.3. L'extraction liquide-liquide	24
III.2.3.1 : La dépigmentation	24
III.2.3.2. La purification	25
III.3. TESTS PHYTOCHIMIQUE PRELIMINAIRES	26
III.3.1. Tanins	26
III.3.2. Flavonoïdes	26
III.4. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE	28
III.4.1. Germes cibles	28
III.4.2. Les milieux de culture	29
III.4.3. Préparation des disques	30
III.4.4. Préparation des milieux de culture	30
III.4.5. Repiquage des espèces bactériennes	30
III.4.6. Préparation de l'inoculum	30
III.4.7. Ensemencement	30
III.4.8. Application des disques	31
III.4.9. Incubation	31
III.4.10. Lecture	31
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV.1. RENDEMENT ET CONCENTRATION	32
IV.2. RESULTAT DE TESTS PHYTOCHIMIQUES	32
IV.3. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE PAR METHODE DE DIFFUSION ...	33
Conclusion	39
Référence bibliographique	40
Annexes	45

Introduction générale

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues de puis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Athamina, 2009).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (Athamina, 2009).

La science a confirmé que les composés poly phénoliques sont dotés d'un pouvoir antibactérien très puissant. Elles peuvent donc constituer une alternative très efficace et valable, surtout que la résistance des bactéries aux antibiotiques, depuis plusieurs années, s'est révélé un important problème (Djaballah et Brahim, 2011).

Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antimicrobienne, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine et les traditions médicinales folkloriques. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet, les métabolites secondaires font et reste l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels, tels que les composés phénoliques, les saponosides (Baharun, 1997).

L'Algérie possède une richesse floristique considérable. Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant des intérêts divers, notamment dans le domaine de la recherche des substances biologiquement active (Djaballah et Brahim, 2011)

C'est pour ces raisons que nous nous sommes intéressé à étudier une plante à vertu médicale, abondante dans les régions steppiques et sahariennes et qui est connu par les populations locales : *Arthrophytum scoparium*.

Le but recherché de ce présent travail est consacré à l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits poly phénoliques de la partie aérienne de cette plante récoltée de La région de kheneg de la wilaya de Laghouat (7km au sud de Laghouat) et de La région de Boutkafrine de la wilaya de Laghouat (40 km vers Ghardaïa).

Notre mémoire est reparti en deux parties : bibliographique et expérimentale. La partie recherche bibliographique englobe l'étude de la partie botanique de l'espèce choisi, tout en citant, certains de ces propriétés, ainsi que la composition, la biosynthèse et les effets biologiques de métabolite secondaire des plantes (chapitre I), suivi par l'étude de l'activité antimicrobienne des poly phénols (chapitre II).

La partie pratique présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail (chapitre III), les résultats et discussion (chapitre IV). Enfin, le mémoire est clôturé par une conclusion générale.

Partie bibliographique

Chapitre I

Plantes médicinales et métabolites secondaires

I.1. PLANTES MEDICINALES

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique. Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponible a mené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (Nostro *et al.*, 2000) et en raison d'une conscience croissante des effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes., beaucoup cherchent les remèdes normaux sans effets secondaires et bien sûr sans coût élevé de médecine conventionnelle (Schnaubelt, 1998).

L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations recueillies au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade (Fouché *et al.*, 2000).

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Ces dernières contiennent des dizaines, voire des centaines de substances chimiques. Souvent, déterminer en détail l'action d'une plante est très difficile. Une plante n'est pas une recette magique dotée d'une action unique, mais un ensemble complexe pourvu de principes actifs qui ont une influence sur les différents systèmes de régulation du corps. En associant la recherche scientifique sur les constituants actifs, l'observation clinique et la connaissance traditionnelle des plantes, il est possible de dresser un inventaire de leurs usages thérapeutiques et traditionnelle comme la piqûre de scorpions et le refroidissement et le hypertension artérielle (Maiza ,1993).

Les plantes sahariennes algériennes par exemple, sont des plantes d'origine terrestre qui au cours de leur évolution se sont adaptées aux écosystèmes du sud algérien. Par leur position écologique et évolutive particulière, il est possible que ces plantes endémiques aient également sélectionné des métabolites secondaires spécifiques avec des caractéristiques chimiques et biologiques originales. Sur la base de cette hypothèse, notre étude s'est attelée à l'investigation de plante *Arthrophytum scoparium* présente dans les régions sahariennes de l'Algérie (Quzel et Santa, 1963).

I.2. DOMAINES D'APPLICATION DES PLANTES MEDICINALES

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse (Bahorun, 1997) utilisés en médecine en tant que médicament pour l'homme, nous citons comme exemple :

- en urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux, (Svoboda et Hampson, 1999).
- systèmes cardiovasculaires, exemple : Flavoc est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercétine est utile dans le traitement de l'athérosclérose (Narayana *et al.*, 2001).
- les maladies du stress, des activités antioxydantes; tels le thé noir, le thé vert et le Cacao sont riches en composé phénoliques, parmi lesquels theaflavine, le resveratrol, le gallate et epigallocatechine procyanidine, très étudié en raison de leur rôle en tant qu' basés sur leurs capacités antioxydantes (Lee *et al.*, 2003).

Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire: Les produits naturels des plantes depuis des périodes très anciennes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques exemple :

- la quinine obtenue à partir du quinquina "Cinchona" a été avec succès employée pour traiter la malaria (Dastidar *et al.*, 2004) ;
- l'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia*) est renommé pour ses propriétés : antibactériennes, anti-infectieux, antifongiques, antivirales (Svoboda et Hampson, 1999).

I.3. PRÉSENTATION DE LA PLANTE ETUDIÉE

La flore saharienne apparaît comme très pauvre si l'on compare le petit nombre des espèces qui habitent ce désert à l'énormité de la surface qu'il couvre. L'étude de cette flore présente pourtant un intérêt considérable. C'est pour le Sahara septentrional que le nombre total des espèces de plantes est le moins précis. Il n'atteindrait pas 500 espèces toujours avec la réserve que les espèces adventices et les pénétrations steppiques sont exclues de ce chiffre (Ozenda, 1991).

I.3.1. Description botanique

L'*Arthrophytum scoparium* est une espèce méditerranéenne très commune au Sahara Septentrional, se développant dans les bioclimats des lesquels s'étend le haut aride au Sahara.

- **Noms :** *Arthrophytum scoparium* (Pomel) Ilgin
- **Arabe :** *R'emth*.
- **Français :** *Haloxylon*.

I.3.1.1. Caractères morphologiques

Selon Quezel et Santa (1963), cette plante possède les caractères suivants (voir figure 1) :

- Arbrisseau à tiges grêles dressées, très rameuses.
- Rameaux articulés.
- Rameaux secondaires rapidement érigés, verts foncés noircissant sur le sec.
- Entre nœuds allongés (0,8-3 cm pour les inférieurs).
- Inflorescences courtes, groupées au sommet des rameaux.
- Périclype à 5 sépales accrus après l'anthèse d'une aile transversale, 2-5 étamines insérées sur un disque lobé (staminodes de certains auteurs).
- Périclype fructifère à ailes en général striées de rose ou de pourpre de 7 mm de diamètre.
- Grains horizontaux.



Source : www.saharanatur.com

Figure 1. La plante médicinale *Arthrophytum scoparium* (pomel) Ilgin

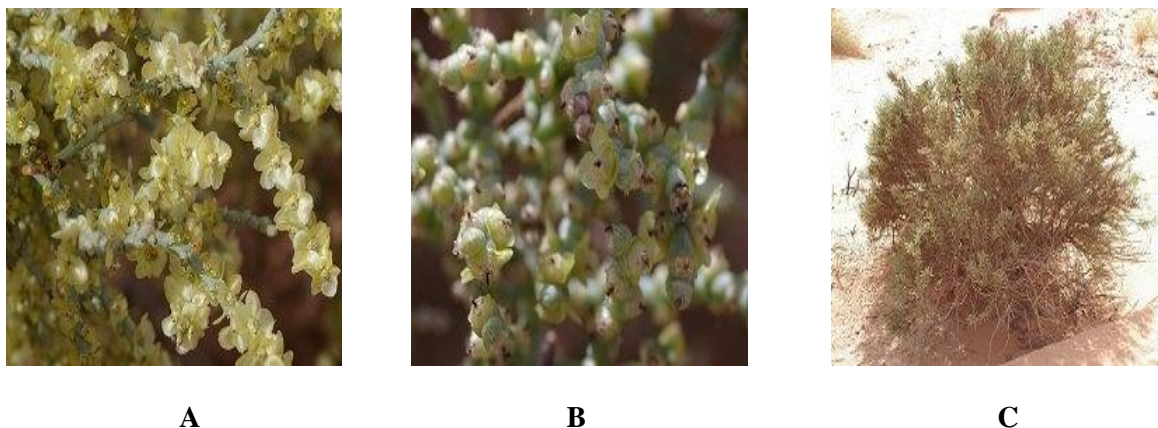


Figure 2. A : *Arthrophytum scoparium* en période de floraison. B : *Arthrophytum scoparium* en période de fructuration. C : *Arthrophytum scoparium* en période de dormance

I.3.1.2. Classification

Selon Quezel et Santa (1963), la classification de cette espèce est la suivante :

- **Embranchement** : spermaphyte
- **Sous-embranchement** : angiosperme
- **Famille** : Chénopodiacees
- **Genre** : *Arthrophytum* Schrank (= *Haloxyton* Bunge)
- **Espèce** : *Arthrophytum scoparium* (Pomel) Iljin

Nous notons l'existence de plusieurs synonymes, parmi lesquels :

- *Anabasis tamariscifolia* L.
- *Halogelon tamariscifolia* (L.) C.A.Mey
- *Haloxyton articulatum* Bonn. et Barr
- *Haloxyton tamariscifolium* (L.) Pau
- *Hammada tamariscifolia* (Pau) Iljin
- *Salsola tamariscifolia* (L.) Cav

I.3.2. Usages traditionnels

D'après les références bibliographiques *Arthrophytum scoparium* montre un large spectre d'utilisation de ses rameaux, ses feuilles et ses fleurs pour les traitements des indigestions, des piqûres de scorpion et des dermatoses (Quezel et Santa, 1963).

Ainsi, (Maiza, 1993) ajoute que l'on utilise pour refroidissements, indigestion, hypertension artérielle, dorsalgies, dermatose, jambes enflées et odontalgies.

I.3.3. Habitat et répartition géographique

Selon Benkheïra, (2005); Mezghani-jarraya *et al.*, (2009), *Arthrophytum scoparium* recouvre en Afrique du Nord, de vastes superficies sous forme d'une bande allongée depuis la région du zemmour en Mauritanie jusqu'en Tunisie.

En plus, (Medjahed, 2006) indique qu'elle colonise divers types d'habitats (hamadas et regs) aux confins du Sahara septentrional et Nord-occidental.

Ce groupement est lié à un bioclimat aride inférieur à saharien (variante chaude à fraîche) avec des précipitations annuelles comprises entre 100 à 300 mm avec une très forte variabilité. Du point de vue géomorphologique et édaphique, le groupement à *Arthrophytum scoparium* se développe sur des sols calcimés génésiques xériques à texture moyenne. Ces sols correspondent aux habitats caractérisés par un développement sur des croutes calcaires souvent en forme de dalles et sur des glacis d'érosion plats, pierreux et rocailloux, souvent encroutés en surface, sur des regs caillouteux et sur des hamadas (Benkheïra, 2005).

I.3.4. Climat de régions de la récolte

Tableau 1. Climat, l'altitude et la précipitation de région de la récolte.

Régions	climat	Altitudes (mètre/au niveau de la mer)	Précipitation annuelle (mm)
Laghouat	Aride	790	238
Ghardaïa	Aride	450	64

<http://freemteo/Algeria.dz>

I.4. SUBSTANCES BIOACTIVES

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction.

Au contraire les métabolites primaires ce sont des molécules organiques, qui se trouve dans toutes les cellules de l'organisme pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Leland *et al.*, 2006).

Les plantes produisent un vaste groupe de composés organiques appartenant aux métabolites secondaires, qui font une des originalités majeures des végétaux en synthétisant des substances naturelles très diversifiées, par exemple les alcaloïdes les terpènes et les composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005; Leland *et al.*, 2006).

Ces métabolites secondaires représentent une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix *et al.*, 2005; Leland *et al.*, 2006.).

I.5. CLASSES DES METABOLITES SECONDAIRES

Selon Lelande *et al.*, (2006), on trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plants, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue :

- Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (réponses allélopathiques, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on citera les composés phénoliques, les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tannins, renferme un atome d'azote dans la structure. Parmi ces derniers, certains relarguent de l'acide cyanhydrique, quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine.
- les mucilages : ceux sont des polymères complexes de fructose, d'acide glucorinique et d'acide manuronique. Les mucilages sont des mélanges colloïdaux qui gonflent avec l'eau (agar agar).
- Les gommes et les résines: ceux sont des substances produites par la plante à la suite d'une blessure.
- les huiles essentielles : ceux sont des liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante, ces essences sont très volatiles et non miscibles à l'eau.
- les latex : ceux sont des substances sécrétées ou fabriquées par des cellules laticifères (vraies ou anastomosées) et qu'ont la particularité de se solidifier au contact de l'air.

I.6. LES COMPOSES PHENOLIQUES

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des

plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Urquiaga et Leighton, 2000). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix *et al.*, 2005). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (Urquiaga et Leighton, *op. cit.*).

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix *et al.*, 2005).

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (Macheix *et al.*, 2005).

I.7. LES REGULATEURS DE LA DIVERSITE DES COMPOSES PHENOLIQUES

Les végétaux produisent une grande variété de métabolites secondaires, et en particulier des composés phénoliques, dont l'intérêt est souvent important pour l'homme dans les domaines pharmacologique et agroalimentaire (Bellebcir, 2008)

Différents facteurs physiques, chimiques et biologiques, externes ou endogènes, jouent un rôle important dans la modulation de l'expression du métabolisme phénolique: lumière, température, potentiel osmotique, nutrition de la plante, régulateur de croissance (Bellebcir, 2008).

I.7.1. les enzymes des métabolismes phénoliques

Une des caractéristiques communes de toutes les enzymes du métabolisme secondaire réside en la difficulté de les étudier et de les purifier car elles sont toujours très faiblement représentées parmi les protéines des organes végétaux. De plus, elles sont facilement inhibées lors du broyage et de l'extraction (Bellebcir, 2008).

I.7.1.1. La phénylalanine-ammonialyase (PAL)

Permet la formation de l'acide cinnamique à partir de la phénylalanine. Il a été montré maintenant qu'elle est codée par une famille multigénique s'exprimant de manière différentielle selon les tissus et dans le temps. Ainsi, certaines formes de PAL pourraient avoir des fonctions différentes dans la plante : la PAL 2 interviendrait dans la lignification du xylème alors que la PAL 3 serait mise en place en réponse aux blessures et participerait aux réponses de défense de la plante. Le niveau d'expression d'activité PAL pourrait réguler quantitativement l'accumulation des composés phénolique (Macheix *et al.*, 2005).

II.7.1.2. CoA-ligases

Permettent la mise en place des formes activées des acides hydroxycinnamiques avec le CoA. Les différentes isoformes enzymatiques jouent à ce titre un rôle clé dans la diversification des composés phénoliques en intervenant dans la distribution des esters CoA vers différentes voies. Il pourrait en résulter un effet sur la composition qualitative des produits accumulés, en particulier des lignines (Bellebcir, 2008).

I.7.1.3. La chalconesynthase (CHS)

Intervient dans une étape clé du métabolisme phénolique puisqu'elle permet l'entrée dans la voie des flavonoïdes, par condensation de phénylpropanoïdes avec des maillons acétate (Bellebcir, 2008).

Elle est donc à l'origine de la mise en place de nombreuses molécules ayant une grande importance dans la vie de la plante (pigments anthocyaniques des fleurs et des fruits, nombreuses phytoalexines, flavonoïdes protecteurs contre les UV ou jouant un rôle dans la physiologie de la plante ou ses interactions avec les micro-organismes) ou dans l'industrie (tanins condensés, colorants naturels, antioxydants...) (Bellebcir, 2008).

De nombreux autres enzymes du métabolisme phénolique ont été caractérisés chez les végétaux et dans un certain nombre de cas, les gènes ont été clonés. Cela concerne en particulier des O-méthyltransférases, des glycosyltransférases, des hydroxylases qui

interviennent dans la formation des lignines, des tanins condensés et des différents groupes de flavonoïdes (Bellebcir, 2008).

I.7.2. Action des facteurs physiques, chimiques et biotiques

I.7.2.1. La lumière

Il a été remarqué depuis longtemps que le métabolisme phénolique est particulièrement sensible à l'action des facteurs externes comme la lumière et la température.

En effet, des observations au champ ont montré l'importance de la lumière (spectre visible mais aussi UV contenus dans le rayonnement solaire) sur l'accumulation des anthocyanes des fleurs et des fruits. Deux paramètres interviennent, d'une part, l'intensité du flux lumineux, et d'autre part, la nature des radiations constitutives. La lumière agit directement, par intermédiaire des radiations bleues et rouges et du pigment végétal phytochrome, sur l'induction de la synthèse de plusieurs enzymes du métabolisme phénolique et tout particulièrement de la PAL qui a été très étudiée à ce point de vue (Bellebcir, 2008).

I.7.2.2. La température

Elle est également un facteur de régulation de l'expression du métabolisme phénolique, souvent en interaction avec la lumière. Ainsi, un abaissement de la température associé à un traitement lumineux adéquat induit fréquemment une accumulation des anthocyanes chez de nombreux fruits (pomme, raisin...) (Macheix *et al.*, 1990).

La régulation pourrait intervenir au niveau de la PAL elle-même, des inhibiteurs de l'enzyme pouvant être mis en place sous l'effet des températures élevées. Des perturbations du métabolisme phénolique peuvent, quelquefois, apparaître à la suite de traitements d'organes végétaux au froid, conduisant alors à des brunissements. Chez la tomate ou l'ananas par exemple, le séjour au froid entraîne la synthèse de plusieurs enzymes conduisant à une forte accumulation d'acide chlorogénique ou de composés voisins ce qui entraîne alors des désordres physiologiques lors du retour à une température normale (Bellebcir, 2008).

Sont des molécules produites en général par des micro-organismes et qui vont déclencher chez la plante à l'expression de gènes de défense conduisant à la mise en place de molécules antibiotique dénommées phytoalexines, parmi lesquelles certains groupes de composés phénoliques sont bien représentés: coumarines, stilbènes, isoflavonoïdes, etc. (Bellebcir, 2008).

D'une manière générale, l'infection par micro-organisme ou l'apport d'un éliciteur d'origine biologique dans des suspensions cellulaires est très efficace pour déclencher la synthèse des enzymes du métabolisme phénolique en particulier de la PAL.

Beaucoup d'autres facteurs peuvent moduler la teneur de la plante en composés phénoliques. Il s'agit souvent de traitements qui sont appliqués par l'homme, soit au cours de la croissance, soit au cours de la conservation des organes végétaux: traitements hormonaux, application de fertilisants, irradiations (Macheix *et al.*, 2005).

I.8. L'EXTRACTION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

L'extraction, la séparation, la caractérisation et le dosage des composés phénoliques se fait selon plusieurs méthodes (voir tableau 2) qui suit:

Tableau 2 .principales méthodes d'études des composés phénoliques

Technique	principe	
Extraction	Extraction par les solvants (macération)	Le contact entre le solvant (liquide) et la matière végétale (solide) a pour but de libérer les polyphénols présents dans les cellules par rupture du tissu végétal et par diffusion.
	Extraction par chromatographie sur colonne	Elle consiste à absorber sur une résine du type C18 pour les polyphénols et flavonoïdes des extraits végétaux puis à éluer sélectivement les substances polyphénoliques au moyen d'éthanol ou méthanol aqueux.
	Extraction supercritiques (SFE)	Le CO ₂ supercritique, utilisé comme solvant d'extraction, du fait de sa faible viscosité lui confère une grande capacité de diffusion lui permettant d'avoir accès à des composés phénoliques liés à la paroi cellulaire et sa densité relativement élevée lui confère un pouvoir de solvation ce qui permet un meilleur taux d'extraction procédé non dénaturant.
Séparation et purification	Chromatographie liquide haute performance (HPLC)	L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelée phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les grains sont de très petite taille).

caractérisation	Chromatographie phase gaz (CPG)	Les différents solutés gazeux vont se séparer par migration différentielle le long de phase stationnaire
	Chromatographie sur couche mince (CCM)	Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire.
	Spectrophotométrie UV-visible	Méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer Lambert.
Dosage	Dosage par Spectrophotométrie	Par méthode de folin (non spécifique)
	Dosage par HPLC	Séparation sur colonne phase inverse C18 et détection à l'aide d'un spectrophotomètre UV 171

Source : Ferahat, 2009.

I.9. CLASSIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) (Macheix *et al.*, 2005).

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol en C6 aux flavonoïdes en C15 et à des molécules proches (voir tableau 03).

Tableau 3. Les principales classes de composés phénoliques.

Squelette	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchol	
C6 - C1	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6 - C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Citrus Citrus
C6 - C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6 - C2 - C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C6 - C3 - C6	Flavonoïdes · Flavonols · Anthocyanes · Flavanols · Flavanones	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleure, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C6 - C3) ₂	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
(C6 - C3) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C15) _n	Tannins		Raisin rouge

Source : Macheix et al., 1990.

I.10. EFFETS BIOLOGIQUES DES POLYPHENOLS

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Benmoussa, 2008).

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux, anti-allergènes, vasodilatateurs et antioxydants (Benmoussa, 2008).

Tableau 4. Activités biologiques des composés poly phénoliques

Polyphénols	Activités	Auteurs
Acides phénols (cinnamique et benzoïque)	Antibactériens Antifongiques Antioxydants	(Didry <i>et al.</i> , 1982) (Ravn <i>et al.</i> , 1984) (Hayase et Kato, 1984)
Coumarines	Vasoprotectrices et antioedémateuses	(Mabry et Ulubelen, 1980)
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants	(Stavric et Matula, 1992) (Das <i>et al.</i> , 1994) (Bidet <i>et al.</i> , 1987) (Bruneton., 1993) (Aruoma <i>et al.</i> , 1995)
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires	(Bruneton, 1993)
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	(Masquelier <i>et al.</i> , 1979) (Bahorun <i>et al.</i> , 1997) (DE Oliveira <i>et al.</i> , 1972) (Brownlee <i>et al.</i> , 1992) (Kreofsky <i>et al.</i> , 1992)
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydants	(Okuda <i>et al.</i> , 1983) (Okamura <i>et al.</i> , 1993)

Source : Benmoussa 2008

Chapitre II
Activité biologique des
polyphénols

II.1. INTRODUCTION

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité (Bremness, 2005). Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Zhiri, 2006).

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de molécules naturelles qui se caractérisent par une diversité fonctionnelle. A cette multiplicité de structures, s'associent les différentes propriétés bio-physicochimiques de ces composés (Rodriguez Vquero *et al.*, 2007).

Vu les éventuels bénéfices (citées dans le chapitre I) que pourraient apporter à la santé humaine, les composés phénoliques intéressent particulièrement deux domaines : (i) la phytothérapie puisque l'explication de l'efficacité supposée de nombreuses plantes médicinales repose en tout ou partie sur la présence de composés phénoliques dans ces plantes et (ii) l'hygiène alimentaire car de plus en plus d'études indiquant que les poly phénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies (Hennebelle *et al.*, 2004).

II.2. ACTIVITES DES POLYPHENOLS

II.2.1. Effets des poly phénols sur la santé

II.2.1.1. Prévention des maladies cardio-vasculaires

Au niveau des artères, les polyphénols préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués). Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères. Des études ont montrées que les poly phénols améliorent aussi le fonctionnement de l'endothélium, la couche cellulaire qui tapisse les surfaces des vaisseaux sanguins et qui joue un rôle essentiel dans le contrôle du bon fonctionnement du système vasculaire en réduisant les risques d'athérosclérose (Khiri et Lalaoui, 2007).

II.2.1.2. Prévention des cancers

Les poly phénols sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie ...etc.) à tous les stades de la cancérogenèse. Au stade

d'initiation, ils agissent comme agents bloquants en empêchant l'activation de procarcinogènes, en piégeant les mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation des ADN mutés. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agents suppresseurs de tumeurs (Khiri et Lalaoui, 2007).

II.2.1.3. Prévention de l'ostéoporose

En modulant la réponse aux oestrogènes endogènes. Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones, ont une affinité remarquable pour les récepteurs des oestrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-oestrogènes. La quercétine qui possède des propriétés pseudo-oestrogéniques inhibe la perte osseuse chez la rate ovariectomisée (Khiri et Lalaoui, 2007).

II.2.2. Activité antioxydante des poly phénols

Les radicaux libres sont des espèces chimiques présentant un ou plusieurs électrons célibataires (le radical hydroxyle OH·, l'anion superoxyde O₂⁻, l'oxyde nitrique NO·, H₂O₂...), ils sont produits naturellement dans l'organisme.

L'intérêt métabolique des antioxydants alimentaires fait à l'heure actuelle l'objet d'un grand nombre de travaux, et parmi ces antioxydants les plus puissants, les flavonoïdes qui préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH₂ situé entre les deux doubles liaisons des acides gras poly insaturés pour former des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. De plus, ils pourraient agir en chélatant les métaux de transition tels que le cuivre et le fer. Les flavonoïdes et en particulier la quercétine sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées. caractères puissants d'inhibition de l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) (Milane, 2004).

II.2.2.1. Activité antioxydante des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent une forte activité antioxydante qu'est le principe de plusieurs activités biologiques douées par ces molécules (Djemai-Zoghache, 2009).

L'activité du piégeage des radicaux libres est l'un des mécanismes importants de l'activité antioxydante, pour les flavonoïdes, ce mécanisme est lié à leur structure et de l'arrangement des groupements hydroxyyles (Djemai-Zoghache, 2009).

antimicrobienne nette (Macheix *et al.*, 2005). Parmi les phytoalexines phénoliques, on trouve des coumarines, des ptéroarpanes qui dérivent des iso flavonoïdes, des stilbènes (resvératol de la vigne) et autre.

En plus de leur capacité antioxydante; beaucoup d'études ont montré les effets antimicrobiennes des composés phénoliques (Ganan *et al.*, 2009). Par exemple les propriétés antioxydante et antimicrobienne de la vanilline ont été très discutées ces dernières années (Karathanos *et al.*, 2007)., ce qui permet son utilisation comme conservateur des aliments.

II.2.3.1. Activité antibactérienne des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés naturels qui peuvent être rencontrés dans une large variété de fruits et légumes. En plus de leur rôle de pigmentation., les flavonoïdes présentent des activités biologiques d'intérêt (Portet, 2007). Leur grande variété de structures (plus de 6000 molécules identifiées) et d'activités biologiques fait des flavonoïdes un objet d'étude particulièrement complexe. Les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes en réponse aux affections microbiennes (Rauha, 2001) ce qui explique leurs effets antimicrobiennes prouvés dans beaucoup d'études et le nombre important de publications concernant l'étude *in vitro* et *in vivo* de leur activités biologiques et particulièrement antimicrobiennes (Tim Cushnie et Andrew, 2005).

Des travaux reliés à l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes contenant des flavonoïdes (Taleb-Continil *et al.*, 2003), ont montrés l'activité significative de ces molécules vis-à-vis plusieurs souches tels que: *staphylococcus aureus*, *streptococcus faecalis* et *Escherichia coli*. Les flavones naturelles comme tangéretine isolée de l'oranger doux, possède des activités physiologiques remarquables pour l'homme et l'animal et notamment des propriétés antimicrobiennes et virales (Isorez, 2007).

L'administration orale des flavonoïdes protège des cobayes contre une infection de *Shigella* à raison de 142,9 mg/kg de quercetin ou de 214,3 mg/kg de quercetrine et l'injection de 1,58 mg/kg sophoraiso flavone A ou 3,16 mg/kg de 6,8- diprenylgenisteine donne une grande protection à des souris affectées par *Salmonella typhimurium* ($9,5 \times 10^8$ UFC /ml) (Tim Cushnie et Andrew, 2005).

Une étude récente a montré l'effet bactéricide de différents flavanones sur l'espèce *Staphylococcus aureus* en inhibant son enzyme ADN gyrase (Milane, 2004).

II.2.3.2. Effet antimicrobien des tannins

Les études et les expériences apportées, *in vitro*, sur les effets des tannins sur la croissance, la morphologie et le métabolisme ont démontré une activité inhibitrice vis-à-vis des espèces « *Streptococcus gallolyticus (S. caprinus)* » et « *Streptococcus bovis* ». L'acide tannique déstabilise leurs divisions cellulaires en augmentant le nombre de cellules mal formées qui présentent des lésions ce qui suggère que les cellules subissent une division incomplète. Le même mode d'action est observé pour les espèces bactériennes du rumen (Donovan et Brooker, 2001). Les tannins hydrolysables montrent une activité bactéricide contre *Hylicobacterpylori*

II.2.3.3. Effet antimicrobien des coumarines

Certaines coumarines pourraient exercer un effet protecteur vis-à-vis de quelques pathologies. Cela se manifeste par la résistance des plantes contre les infections virales ou fongiques. Une activité antifongique significative a été confirmée pour certaines coumarines. Dans leurs études, *in vitro*, montre que les coumarines inhibent la croissance de *Saccharomyces servisiaet* retardent ou bloquent la germination des spores d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium glaucum* à fortes concentrations à raison de 100-1000 ppm. Cependant, la scopolétine se rencontre en traces dans certaines plantes saines (tabac, pomme de terre), mais, sa concentration augmente remarquablement autour des blessures résultantes d'une infection virale (Djemai-Zoghache, 2009).

Pour l'activité antibactérienne, il y a lieu de noter que les coumarines sont efficaces contre les bactéries Gram + à des concentrations élevées à raison de 300 à 500 ppm, telle que l'inhibition de la croissance de *Polyanigum cellulosum*, bactérie responsable de la décomposition de la cellulose (Djemai-Zoghache, 2009).

II.3.MECANISMES D' ACTIONS ANTIMICROBIENNES DES POLYPHENOLS

Le mécanisme des effets antimicrobiens des poly phénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer et l'inhibition du métabolisme microbien. Parmi ces modes et sites d'action vis-à-vis des microorganismes (Djemai-Zoghache, 2009), on site :

II.3.1. Inhibition de la synthèse d'acides nucléiques

Par l'utilisation des précurseurs radioactifs, des études ont montré que la synthèse d'ADN a été inhibée fortement par les flavonoïdes (robinetin, myricetin et l'epigallocatechin) chez *Proteus vulgaris*, et que la synthèse d'ARN était le plus affectée chez *S. aureus*. Et par conséquent, la synthèse des protéines et des lipides est aussi affectée mais à moindre ampleur. Les auteurs ont suggéré que le cycle B des flavonoïdes joue un rôle dans l'intercalation de bases de l'acide nucléique, et que cela peut expliquer l'action inhibitrice sur la synthèse d'ADN et d'ARN. Cette activité a été démontrée aussi vis-à-vis de l'enzyme ADN gyrase d'*Escherichia coli* par quercétine, apigénine et 3, 6, 7, 3,4 – penta hydroxyflavone en suggérant cet effet par l'interaction avec le cycle B de ces composés. Par contre le flavonolglycosylé, rutin est un inhibiteur très efficace de l'enzyme topo isomérase II chez l'*Escherichia coli*, une enzyme nécessaire aux réparations de l'ADN (Djemai-Zoghliche, 2009).

II.3.2. Inhibition de la fonction de la membrane cytoplasmique

L'effet de sophoraflavanone G sur les liposomes (utilisé comme modèle) par interaction au niveau des régions hydrophiles et hydrophobes, en réduisant la fluidité des couches externes et internes de la membrane. Le naringénine a aussi montré un effet sur la membrane mais à des concentrations beaucoup plus hautes. En effet, Le sophoraflavanone G exerce une activité antibactérienne en réduisant la fluidité de la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes (Djemai-Zoghliche, 2009).

Dans le même sens, l'epigallocatechin gallate montre une grande activité contre les bactéries Gram positives que les bactéries Gram négatives. La présence d'epigallocatechin gallate induit la fuite de petites molécules de l'espace intraliposomal. Par conséquent d'autres études ont conclu que ces catéchines détruisent la membrane bactérienne. Il a été suggéré que la basse susceptibilité du catéchine envers les bactéries Gram négatives peut être attribué à la présence de lipopolysaccharide qui agit comme une barrière (Djemai-Zoghliche, 2009).

Des études suggèrent que galangin induit des dégâts au niveau de la membrane cytoplasmique de *S. aureus* par la provocation de la fuite du potassium intracellulaire en entraînant une lyse cellulaire par la pression osmotique (Djemai-Zoghliche, 2009).

II.3.3. Inhibition du métabolisme d'énergie

Une enquête sur le mode d'action antibactérienne de deux retrochalcones (licochalcone A et C) montre une activité inhibitrice de la consommation d'oxygène chez *Micrococcus luteus* et *S. aureus* par l'action sur NADH-cytochrome-C-reductase, mais pas le cytochrome-C-oxidase ou NADH-CoQ réductase de la chaîne du transport de l'électron respiratoire bactérienne (Djemai-Zoghache, 2009).

Tableau 5. Présente d'autres polyphénols avec des modes d'action différents

Les composés phénoliques	Exemples	Mécanisme
Phénols simples	Catéchol Epicatechine	La privation de Substrat. L'interruption de la fonction membranaire
Acides Phénoliques : • Quinones	Acide Cinnamique Hypericin Chrysin	Destruction de la paroi cellulaire et désactivation des enzymes.
Flavonoïdes : • Flavones	Abyssinone	Inhibition de transcriptase reverse du HIV.
Tannins	Ellagitannin	Liaison aux protéines. Inhibition des enzymes. Privation de substrat. Complexe avec la paroi cellulaire. Interruption de la fonction membranaire. Complexe avec les ions métalliques.
Coumarines	Warfarin	Interaction avec l'ADN des eucaryotes. (activité antivirale)

(Djemai-Zoghache, 2009).

Chapitre III
Matériel et méthodes

III.1.MATERIEL

III.1.1.Matériel végétal

III.1.1.1.Récolte des échantillons

La récolte des échantillons a été effectuée aléatoirement de deux régions différentes de Laghouat à savoir :

1) La région de kheneg de la wilaya de laghouat (7km au sud de laghouat), qui est caractérisée par un climat continental aride, avec des moyennes de température de -5°C l'hiver et de plus de 40°C l'été.

La récolte a été effectuée au cours de deux saisons automne (mois d'octobre 2010, représentant la période de floraison) et hiver (mois de janvier 2011, représentant la période de fructuration).

2) La région de Boutkafrine de la wilaya de laghouat (40 km sur la route nationale n°1 de laghouat vers ghardaia) qui est caractérisée par un climat continental aride, avec une température moyenne $21,4^{\circ}\text{C}$. la récolte a été effectuée dans un lit d'oued c'est une période dormance.

III.1.1.2.Séchage et Conservation

Après chaque récolte le matériel végétal est nettoyé (débarrassé de ses débris), étalé sur papier et laissé sécher à température ambiante dans une pièce aérée, à l'abri de la lumière et protégé de l'humidité.

III.1.1.3. Préparations des échantillons

Pour obtenir la poudre solide de nos échantillons, un broyage électrique de la partie aérienne de notre plante collectée a été effectué. L'aspect de cette dernière est présenté dans la figure 4.

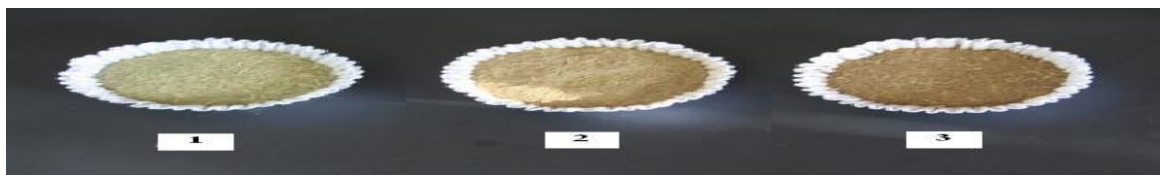


Figure 4. Les poudres obtenues après le broyage de la partie aérienne de la plante *Arthrophytum scoparium*

- | | |
|---|--|
| 1 | R'meth à fleur jaune (dormance) → (Dorm) |
| 2 | R'meth à fleur jaune (Fructuration) → (Fc) |
| 3 | R'meth à fleur jaune (Floraison) → (Fl) |

III.2. METHODE D'EXTRATION DES COMPOSES PHENOLIQUES

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénoliques est celle d'Amiot (Hertog *et al.*, 1992) modifiée (Djeridane *et al.*, 2007). L'objectif de cette étape d'extraction est de séparer les substances phénoliques de la poudre solide et de les faire passer en solution. Elle est réalisée en trois étapes :

III.2.1. La macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant, pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

III.2.1.1. Macération à froid avec agitation

La masse choisie est de 10g de chaque poudre de plante, elle est macérée dans un mélange hydro-alcoolique (méthanol CH₃OH / eau (80/20 : v/v)) pendant 48h à température ambiante et à l'obscurité. C'est une macération à froid avec agitateur.

III.2.2. L'évaporation

Après filtration des extraits hydro-alcooliques, ils subissent une évaporation à vide dans un rota vapeur à une température de 45 à 50°C à 150 tr/min.

III.2.3. L'extraction liquide-liquide

Les extractions sont parmi les méthodes les plus utilisées en analyse pour séparer les mélanges. Elles reposent sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases non miscibles entre elles. Nous donnons ici le principe de l'extraction liquide-liquide qui permet de transférer un soluté d'une phase liquide à une autre phase liquide non miscible à la première (Demirdjian *et al.*, 2007). On utilise pour cela une ampoule à décantation (voir figure 5).

III.2.3.1 : La dépigmentation

Affrontement par éther de pétrole : ces solvants servent à éliminer les pigments chlorophylliens, caroténoïdes et les lipides et tout composé non phénolique.

Mode opératoire :

1) Nous introduisons la solution à extraire et le solvant d'extraction dans l'ampoule à l'aide d'un entonnoir.

2) Après avoir bouché l'ampoule, nous la tiendrons retournée, et nous agitons énergiquement. Pour extraire le soluté de façon optimale, il faut atteindre l'équilibre de partage précédent. Si nous laissons le contenu de l'ampoule sans agitation, l'interface entre les deux phases est très faible et la diffusion du soluté d'une phase vers l'autre est lente.

L'agitation énergique de l'ampoule permet d'augmenter cette interface et d'atteindre l'équilibre plus rapidement.

Il faut prendre soin de dégazer entre chaque agitation pour éviter une surpression dans l'ampoule. En effet, l'équilibre de mélange peut être exothermique et entraîne une légère augmentation de température dans l'ampoule. Cela provoque une vaporisation du solvant le plus volatil qui met l'ampoule sous pression. Dans le cas de l'éther, très volatil, il peut être prudent de dégazer avant même la première agitation.

3) il faut déboucher l'ampoule lorsqu'on la repose sur son support, toujours pour éviter une surpression. On doit ensuite laisser décanter les phases.

Le lavage de la phase aqueuse a été effectué trois fois pour l'épuisement total de traces des composés apolaires (pigments, lipides, etc.).

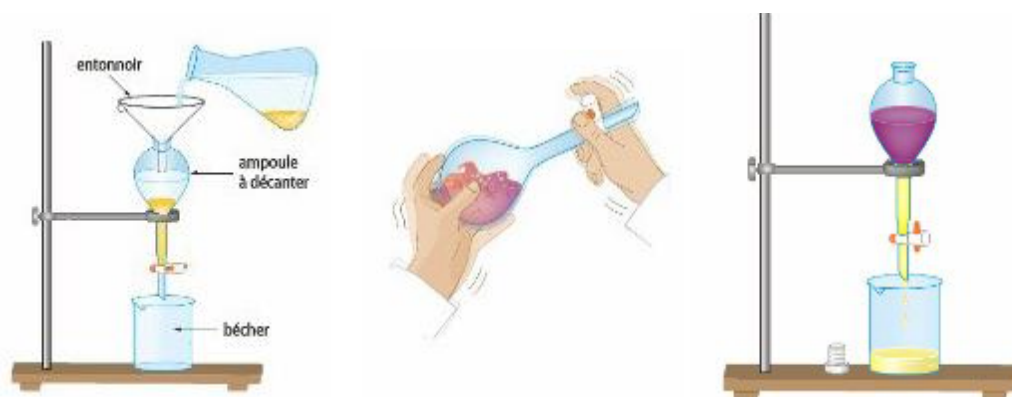
III.2.3.2. La purification

Affrontement par l'acétate d'éthyle : cette extraction entraîne les mono-o-glucosides et partiellement les di-o-glucosides.

Nous ajoutons deux volumes d'acétate d'éthyle à la phase aqueuse, afin de la séparer de la phase aqueuse. L'évaporation à sec de la phase d'acétate d'éthyle a été effectuée par un rota vapeur de type : Büch Rotavapor R-200 à température 45-50°C, 150 tr/min, jusqu'à l'obtention d'une patte sur la paroi de ballon, de couleur marron caramelle qui est solubilisée dans du DMSO pur.

Affrontement par le butanol de la phase aqueuse restante : ce solvant va entraîner essentiellement le reste des di-o-glycosides, les tri-o-glycosides et les C-glycosides et quelques structures tanniques.

Le lavage de la phase aqueuse de l'acétate d'éthyle par le butanol se fait par un volume équivalent. Après l'évaporation à sec de la phase butanolique, les résidus (patte caramelle foncée) ont été repris par du DMSO.



(1) Introduire du mélange (2) Agiter et dégazer (3) Séparation des liquides

Figure 5. Schéma d'un protocole d'extraction liquide-liquide.

Les différentes étapes de notre extraction liquide-liquide sont récapitulées dans le diagramme suivant (voir figure 6).

III.3. TESTS PHYTOCHIMIQUE PRELIMINAIRES

Les tests phytochimiques préliminaires sont indispensables pour qualifier les différentes familles chimiques qui contiennent une plante. Ces tests sont réalisés sur la base de réactions colorées, effectuées sur la drogue elle-même entière ou pulvérisée ou sur des solutions extractives (infusé, décocté, extrait dans divers solvants organiques). Les réactions caractérisent la présence ou l'absence d'une famille.

III.3.1. Tanins

5g de la partie aérienne du matériel végétal est macérée dans 50 ml d'éthanol 50% pendant une nuit. Filtrer puis prendre quelques ml du filtrat, ajouter 2 à 3 gouttes de chlorure ferrique.

L'apparition de la couleur vert foncé indique la présence des tanins.

III.3.2. Flavonoïdes

5g de la partie aérienne du matériel végétal est dans 50 ml d'acide chlorhydrique 1% pendant une nuit et filtrer, alcaliser 5ml le filtrat par l'hydroxyde d'ammonium, l'apparition de la couleur jaune clair indique la présence des flavonoïdes.

La récolte de la plante et le séchage

2 sites de récoltes

À l'abri de la lumière du soleil et à température ambiante

Le broyage mécanique et la pesé

L'obtention d'une poudre fine

10gDe chaque poudre de plante

la macérationun mélange hydro-alcoolique (méthanol CH₃OH/eau,80/20 : v/v)

avec agitation à température ambiante, 24 heures

La filtration

L'évaporation du méthanol

A l'aide d'un rota vapeur

45°C 160 tr/min

L'extraction liquide-liquide

à l'aide d'une ampoule

La dépigmentation

Par l'éther de pétrole

la phase organique éliminée

La phase aqueuse récupérée pour

La 1^{ère} purification

Par l'acétate d'éthyle

la phase aqueuse éliminée

La phase organique récupérée

la 2^{ème} purification

par butanol

la phase aqueuse éliminée

La phase organique récupérée

Les 2 phases organiques de 1^{ère} et 2^{ème} purification sont évaporées à sec et solubilisées dans

DMSO

Figure 6.représentation schématique des étapes de l'extraction.

III.4. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Les tests antimicrobiens ont été réalisés, au niveau du laboratoire d'analyse à l'hôpital H'mida Ben Adjila de Laghouat, sur les extraits phénoliques d'acétate d'éthyle et butanoliques issus de solvant d'extraction (méthanol/eau), solubilisés dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO). Pour cela, on a adopté la technique décrite par (CseKe *et al.* , 2006).

III.4.1. Germes cibles

Nos tests antibactériens ont été réalisés sur 6 souches de bactéries, qui ont été procurées par le laboratoire d'analyse de l'hôpital de Laghouat sont :

- *Staphylococcus aureus* (sauvage).
- *Staphylococcus aureus* (MRSA).
- *Enterococcus faecalis*.
- *Escherichia coli*.
- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Klebsiella pneumoniae* .

Tableau 6. Références et origines des germes testés utilisés dans notre étude

Souches bactériennes	type	Références
<i>Staphylococcus aureus</i> (sauvage)	Gram (+)	ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	Gram (+)	ATCC 43300
<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram (+)	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	Gram (−)	ATCC 25822
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram (−)	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram (−)	Souche BLSE

ATCC : American typ culture collection

BLSE : Béta lactamases à spectre élargi

Tableau 7. les formes et les sensibilités des souches tests à ATB.

<i>Souches bactériennes</i>	forme	Sensibilité à l'antibiotique
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25925)	cocci	Sensible à tous les antibiotiques.
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300)	cocci	Résistance à la pénicilline par l'imperméabilité.
<i>Enterococcus faecalis</i>	cocci	Sensible à la pénicilline et cephalosporine.
<i>Escherichia coli</i>	bacille	Sensibilité à fosfomycine et cotrimoxazole.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	bacille	Sensibilité à fosfomycine et colimycin
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	bacille	Sensible à céphamycines et carbapénèmes

Source : interprétation de l'antibiogramme (2000)

Le choix porté à ces souches repose sur les critères suivants :

- Ils sont très fréquemment dans l'environnement.
- Ils sont très fréquemment isolés au niveau du laboratoire (fréquemment responsables de l'infection humaine).
- Leurs culture est facile et poussent sur des milieux ordinaires simple (ils ne sont pas des germes exigeants).
- Ils sont des souches de référence c'est-à-dire des souches pathogènes connaissant leurs caractères vis-à-vis des ATB.

III.4.2. Les milieux de culture

La gélose nutritive (GN) a servit pour l'ensemencement et la culture des bactéries cibles, le Mueller Hinton pour les tests antibactériens par la méthode de diffusion, pour la composition de ces milieux, se référer à l'annexe 1.

La technique utilisée pour les tests antimicrobiens des extraits de notre plante *Arthrophytum scoparium* est la technique de contact direct (méthode des disques) qui compte estimer l'activité antimicrobienne à l'aide du halo d'inhibition (Djaballah et Brahim, 2011)

C'est une vieille méthode, mais toujours d'actualité puis qu'elle est encore utilisé fréquemment dans les laboratoires de bactériologie pour la mesure du pouvoir antibactérien (Djaballah et Brahim, 2011).

III.4.3. Préparation des disques

Des disques de papier Wattman n°3 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 20 min par autoclavage), sont chargés de l'extrait naturel à tester, des disques imprégnés de DMSO sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif.

III.4.4. Préparation des milieux de culture

La gélose de Muller Hinton (MH) stérile prête à l'usage a été coulée dans des boites de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm répartie uniformément dans les boites. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

III.4.5. Repiquage des espèces bactériennes

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, sur milieu de culture gélose nutritif (GN) puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

III.4.6. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

III.4.7. Ensemencement

Des boites de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon stérile, l'ensemencement s'effectue par les étapes suivantes :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

III.4.8. Application des disques

Les disques de papier Wattman sont imprégnés ensuite d'une goutte d'extraits (10µl/disque), puis application équidistante de quatre disques dans chaque boîte (deux boîtes pour chaque extrait).

Les disques de papier Wattman imprégnés DMSO servant de témoin négatif, sont aussi déposés sur la surface de la gélose inoculée.

III.4.9. Incubation

- Les boîtes sont posées dans le réfrigérateur pendant 10 min pour la pré diffusion ; puis incubées dans l'étuve pendant 18-24h à 37°C.
- L'activité antibactérienne est déterminée en terme de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37° C.

III.4.10. Lecture

A la sortie de l'incubateur, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo d'inhibition autour du disque qui est relativement circulaire, dont le diamètre est mesuré et exprimé soit en cm, soit en mm (De Billerbeck, 2007).

Au terme de ces résultats, nous avons noté les résultats qui ont été exprimés en trois niveaux d'activité

- Résistant : diamètre de colonie < 6 mm.
- Intermédiaire : $6 \text{ mm} \leq \text{diamètre de colonie} \leq 13 \text{ mm}$.
- Sensible : diamètre de colonie > 13 mm.

Chapitre IV
Résultats et Discussion

IV.1. RENDEMENT ET CONCENTRATION

Les calculs de rendements et de concentrations de nos extraits bruts sont représentés dans les tableaux suivants (voir tableau 8 et 9) :

Tableau 8. Rendement et concentration d'extrait d'acétate d'éthyle (AC Et).

Echantillons	Rendements	Concentrations d'extrait brut
1 dormance	0,2%	2 mg/ml
2 fructuration	1,6%	16 mg/ml
3 floraisons	1%	10 mg/ml

Tableau 9. Rendement et concentration d'extrait butanolique (Bu OH).

Echantillons	Rendements	Concentrations d'extrait brut
1 dormance	3,2%	32 mg/ml
2 fructuration	7,4%	74 mg/ml
3 floraisons	3,3%	33 mg/ml

IV.2. RESULTAT DE TESTS PHYTOCHIMIQUES

Les résultats de ces tests phytochimiques préliminaires, mettant en évidence les flavonoïdes et tanins, des trois échantillons étudiés, sont représentés dans le tableau 10 suivant :

Tableau 10 : Résultats des tests phytochimiques.

	dormance	Fructuration	Floraison
Tanins	+ + +	–	+ +
Flavonoïde	+	–	–

+ + + : riche, + + : moyennement riche, + : faiblement riche, – : pauvre.

D'après ces résultats, il semble, clairement que, l'échantillon de la phase de dormance est plus riche en tanins, suivi de l'échantillon de floraison; l'échantillon de fructuration ne montre aucun indice de tanins. Pour les flavonoïdes aucun résultat positif vis-à-vis n'a été observé à l'exception de l'échantillon de la période de dormance qui est faiblement riche. Ces résultats semblent avoir issues d'une erreur de manipulation vu les conditions inappropriés du matériel du laboratoire, et sont en contradiction, au moins pour les

flavonoïdes, avec des résultats acquis de la même plante dans un travail de mémoire de PFE (Répartition géographique saisonnières d'extrait méthanolique d'*Arthrophytum scoparium*), dont il été indiquer que les échantillons d'El-Kheneg a une teneur en poly phénols totaux de $0,062 \pm 0,001$ mg AGE/g DW et une teneur en flavonoïdes de $1,36 \pm 0,022$ mg/g.

IV.3. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE PAR METHODE DE DIFFUSION

Les résultats de l'évaluation antimicrobienne des extraits phénoliques d'acétate d'éthyle et de butanol par la méthode de diffusion sont représentés dans les deux tableaux suivants.

Ces tableaux (11 et 12) sont inclus les valeurs en (mm) de diamètre des zones d'inhibition, représentant la grandeur du halo formé par les microorganismes (bactéries) détruits par l'activité antimicrobienne de nos extraits phénoliques.

Les figures (8 et 9) donne une illustration de la capacité antimicrobienne (zone d'inhibition) de certains de nos extraits vis-à-vis des germes de grams (+) et gram (-) tels que, les *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*...etc.

Tableau 11: les diamètres en millimètre, des zones d'inhibition des extraits d'acétate d'éthyle issus d'une extraction (méthanol/eau).

Les souches	L'extrait	Diamètre en mm	Témoins
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Dorm	10 mm (Intermédiaire)	(-)
	Fc	0	
	Fl	8 mm (Intermédiaire)	
Staphylococcus aureus ATCC 43300	Dorm	0	(-)
	Fc	0	
	Fl	0	

(-) : résultat négative avec témoin

Extraits d'acétate d'éthyle ne révèlent aucun résultat positif vis-à-vis d'autres souches (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*).

Tableau 12. Les diamètres en millimètre, des zones d'inhibition des extraits de butanol issus d'une extraction (méthanol/eau).

Souches	Extrait	Diamètre en mm	Témoins
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Dorm	14 mm (sensible)	(-)
	Fc	10 mm (Intermédiaire)	
	Fl	12 mm (Intermédiaire)	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Dorm	10 mm (Intermédiaire)	(-)
	Fc	0	
	Fl	8 mm (Intermédiaire)	

(-) : résultat négative avec témoin

Aucun résultat positif vis-à-vis des souches (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) n'a été observé (le même résultat avec les extraits d'acétate d'éthyle).

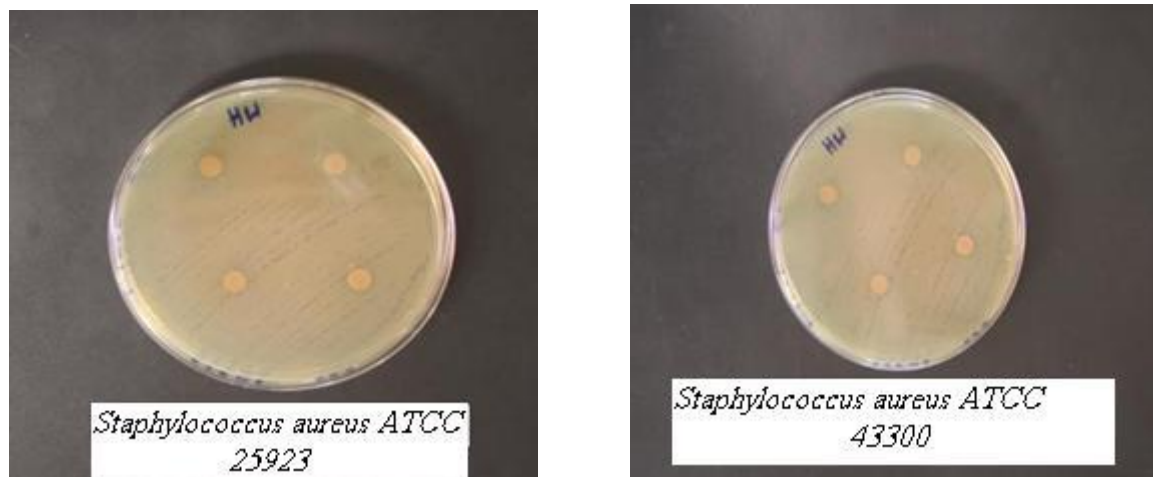


Figure 7. Témoins pour staphylococcus aureus (DMSO)

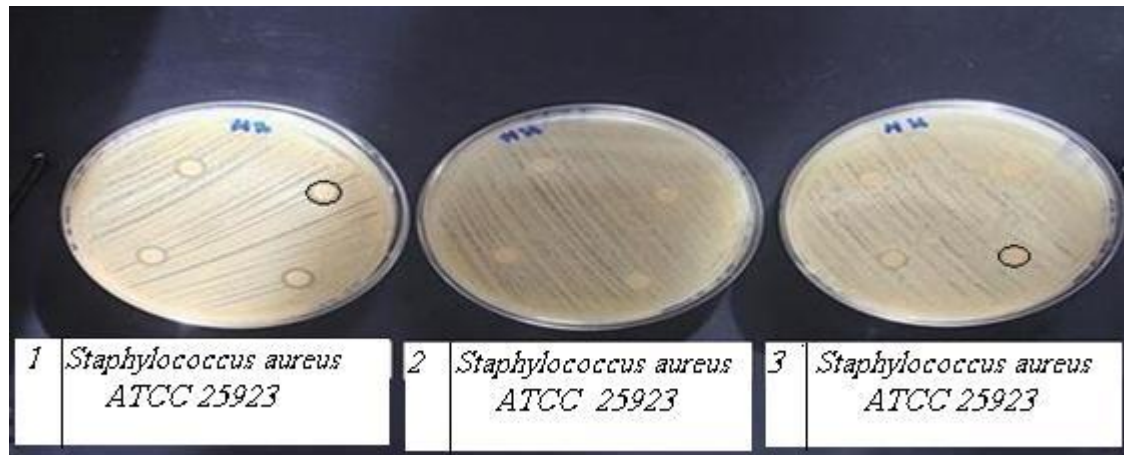


Figure 8: des photos illustrant l'activité antimicrobienne (antibactérienne) des extraits phénolique d'acétate d'éthyle (AC Et) pour les bactéries à gram (+).

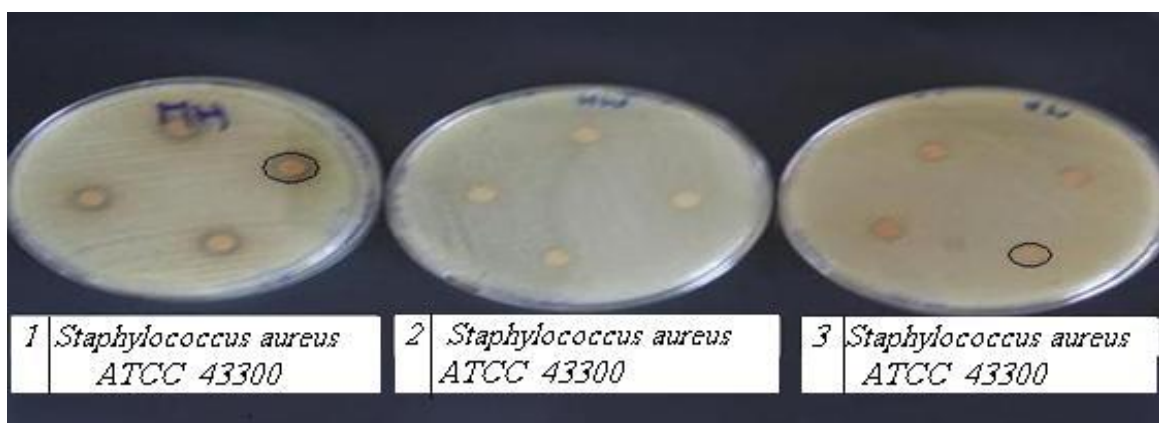
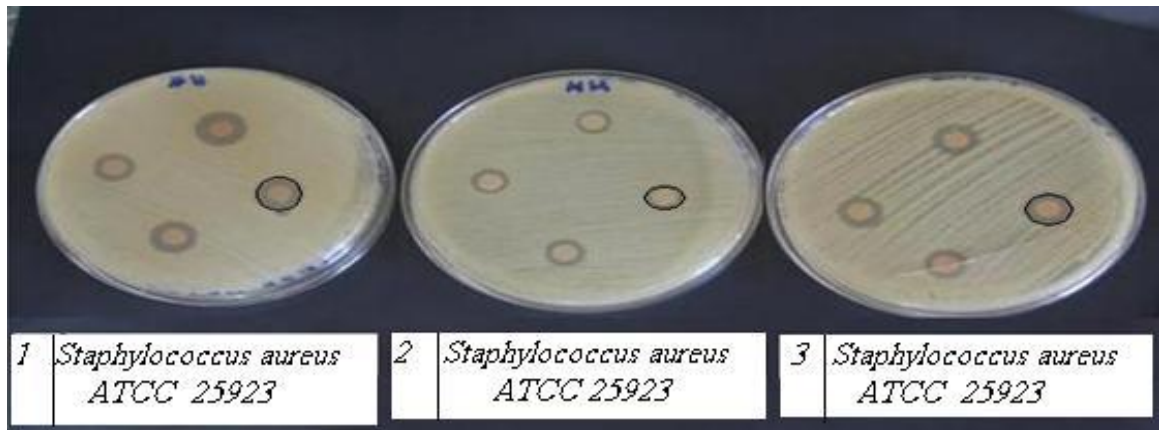


Figure 9 : des photos illustrant l'activité antimicrobienne (antibactérienne) des extraits phénolique de butanol (Bu OH) pour les bactéries à gram (+).

Dans ce test, l'extrait diffuse à partir des disques imprégnés. Donc, la présence autour des disques d'une zone dans laquelle il n'y a pas de croissance des bactéries, dénote la sensibilité de ceux-ci à notre extrait.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques (d'acétate d'éthyle et de butanol) des différentes parties d'*Arthrophytum scoparium* par la méthode de diffusion, nous révèlent une variation des diamètres des zones d'inhibition de 0 à 14 mm, selon les souches microbiennes et les différents parties de la plante étudiée.

Pour l'ensemble des extraits, nous remarquons que les fractions butanoliques montrent une activité plus élevée par rapport aux fractions d'acétate d'éthyle, où nous avons noté la présence d'inhibition seulement dans *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300).

Globalement, l'activité antimicrobienne des extraits butanoliques s'avère importante que celle des extraits d'acétate d'éthyle.

A partir des résultats obtenus dans les tableaux (11, 12), nous avons effectué une analyse de la sensibilité des différentes souches étudiées et de diamètre de la zone d'inhibition provoquée par l'extrait d'*Arthrophytum scoparium* (voir figures 10,11).

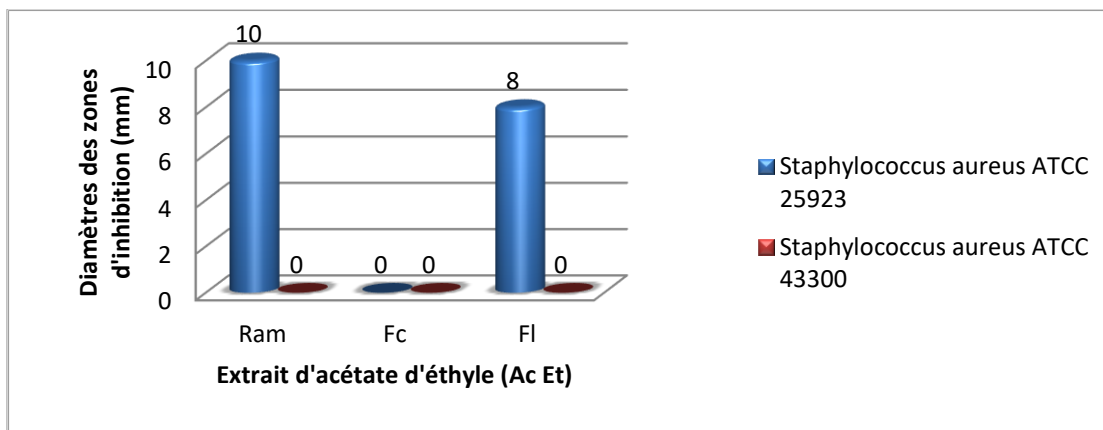


Figure 10: diamètres des zones d'inhibition (mm) d'extrait AcEt d'*Arthrophytum scoparium* vis-à-vis de *S. aureus* ATCC 25923 et *S. aureus* ATCC 43300

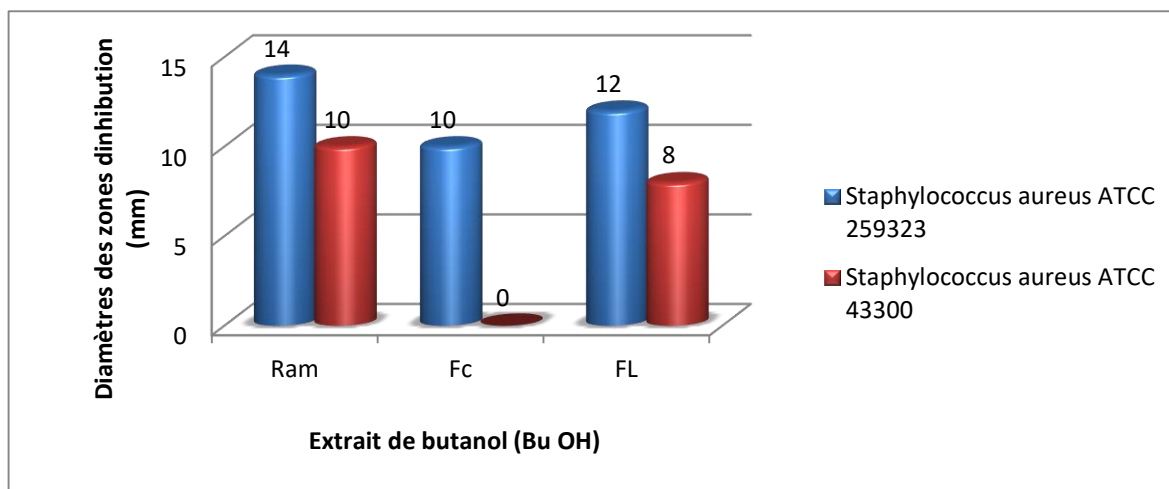


Figure 11: diamètres des zones d'inhibition (mm) d'extrait Bu OH d'*Arthrophytum scoparium* vis-à-vis de *S. aureus* ATCC 25923 et *S. aureus* ATCC 43300

Parmi les bactéries testées, les bactéries à Gram négatif (*Escherichiacoli*, *pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) ont révélées une résistance plus considérable à l'extrait hydroalcoolique testées que les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*).

D'autre part, de nombreuses expériences (Cosentino,S; Tuberoso, C.I.G. et *al.*, 1999) ont montré que leur résistance est due principalement à la structure complexe de la paroi des bactéries testées où le peptidoglycane qui est très fin et associé à une enveloppe externe définissant un espace périplasmique (voir annexe). Cette membrane externe est une biocouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines...) et de lipopolysaccharides (LPS).

L'espace périplasmique est généralement pourvu d'une gamme d'enzymes capable de protéger la bactérie en dégradant toute substance chimique toxique pour elle, comme les antibiotiques, les métaux lourds (Djaballah et Brahim, 2011).

Contrairement à la bactérie Gram négatif, la bactérie Gram positif a montré une sensibilité positif vis-à-vis des extraits. Cette sensibilité est due essentiellement à la structure plus simple de la paroi des Gram positif, reliant la sensibilité des Gram positif aux polyphénols, soit à l'inhibition des enzymes nécessaires à la production de l'énergie dans la cellule bactérienne, soit au changement au niveau de la perméabilité de la cellule et aussi à l'inhibition de la synthèse de l'ARN (Djaballah et Brahim, 2011).

Dans une étude sur l'effet antibactérienne des plantes phénoliques sur bactéries causant la détérioration des aliments, concluent que la sensibilité des microorganismes aux poly phénols, dépend de l'espèce elle-même et de la structure du poly phénol (Djaballah et Brahim, 2011).

Conclusion générale

Les plantes médicinales sont une riche source de médicament parce qu'elles produisent une foule de molécules bioactives, dont la plupart présentent l'avantage d'une très grande diversité structurale et possèdent aussi un large éventail biologiques.

Le choix de notre plante *Arthrophytum scoparuim* rentre dans le cadre de la valorisation des espèces abondantes dans notre région.

L'objectif fixé par notre travail a été atteint, à savoir l'étude de l'activité antimicrobienne d'extraits polyphénoliques d'*Arthrophytum scoparuim* récoltée de deux régions de Laghouat durant trois stades physiologiques (floraison, fructuration et de dormance). La méthode de diffusion sur milieu gélosé, vis-à-vis des souches étudiées (*Staphylococcus aureus (sauvage)*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginos*, *Klebsiella pneumoniae*), a révélé une action inhibitrice limitée uniquement à deux de nos extraits (extraits d'acétate d'éthyle en période de floraison et la période de dormance) contre les bactéries : *Staphylococcus aureus ATCC 25923*, *Staphylococcus aureus ATCC 43300*. Par ailleurs, aucune sensibilité bactérienne n'a été observée vis-à-vis des autres souches.

Il ressort de cette étude que, les extraits phénoliques testés dans notre cas, ou dans d'autres études, présentaient des propriétés antibactériennes dont l'efficacité varie en fonction des souches microbiennes, et en fonction des plantes choisies. Cependant, la recherche d'activité vis-à-vis d'autres souches microbiennes et autres activités biologiques seront nécessaires. Aussi, il serait intéressant d'isoler et de caractériser les composés phénoliques des extraits d'acétate d'éthyle et de butanol de l'espèce *Arthrophytum scoparuim* pour une meilleure évaluation.

Références Bibliographie

A

Athamina, S. 2009. Etude quantitative des flavonoïdes des graines de cuminum cyminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique. Magister : Université El-Hadj Lakhdar-Batna P. 87.

B

Bahorun, T.1997. Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit.Mauritius.

Bellebcir,L.2008. Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Magister : Université Mentouri de constantine P. 73.

Benkheïra, M. 2005. Guide des Habitats Aride Et Saharien. Typologie phytosociologique De la Végétation d'Algérie. Conservation de la biodiversité et gestion durable des ressources naturelles.

Benmoussa, L. 2008 dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récolte dans le sud Algerien. Ingénieur d'état : Université Djillali liabes sidi Bel-Abbès

Bremness, L. 2005. Larousse des plantes aromatiques et médicinales, 306 pp.

C

Cseke., Kirakosyan A., Warber S L., Duke J A., Brielmann H L. 2006. Natural products from Plants, 2^{ème} Ed; Taylor & Francis Group; 569 pp.

D

Dastidar S. G., Manna A., Kumar K A., Mazumdar K., Dutta N.K., Chakrabatary A.N., Motohashi N. et Shirataki Y. 2004. Studies on the antibacterial potentiality of flavones. International Journal of Antimicrobial Agents. 23, 99-102

Demirdjian, H. 2007. Professeur agrégé responsable du site ENS-DGESCO *Culture Sciences- Chimie*

Djaballah, Z et Brahim, F. 2011. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait polyphénolique de *Tamarix gallica.L.* Ingénieur d'état : Université de Djelfa

P 68

Djemai-Zouchlache, S. 2009. Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus L.* Magister : Université Elhadj Lakhder-Batna P 61

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Les gards, J.F. et Stoker, P. 2007. Screening of Some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol.* pp 224

Donova, L. et Brooker, J. D. 2001. Effect of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of *Streptococcus gallolyticus (S. caprinus)* and *Streptococcus bovis*. University of Adelaide, Roseworthy Campus (Australia). 147 :1025–1033.

F

Ferahat, M. 2009. Recherche de substance bioactive de *centaurea microcarpa coss et dur*. Etude supérieur de biochimie : Université de M'side.

Fouché J. G., Marquet, A et Hambuckers , A. 2000. Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament. *Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.*

G

Ganan, A.J., Martinez-Rodriguez and Carrascosa A. V. 2009. Antimicrobial activity of phenolic compounds of wine against *Campylobacter jejuni*, *Food Control*; P 739-742.

H

Hennebelle, T. , Sahpaz, S. et Bailleul, F. 2004. Polyphénols végétaux, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 3-6 pp.

I

Interprétation de l'antibiogramme 2000 : Manuel provision à usage l'institut de bactériologie de strasbourg.

Isorez, G., 2007. Contribution à la chimie des flavonoïdes, *thèse Univ LOUIS PASTEUR-STRASBOURG I* ; 288 p AA

Karathanos, V.T., Mouritzinos, I., yannakopoulou, K and Andrikoploulos, N. K, 2007. Study of the solubility, antioxidant activity and structure of inclusion complex of vanillin with β -cyclodextrin, *food chemistry*; 652-659 pp. AA

Khiri, F et Lalaoui, B. 2007. Activité antimicrobienne des polyphénols de cas d'extraction d'arbutus unedo. Ingenieur d'état : Université Abderrahmane Mira Bejaia P 42.

L

Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J. et Lee, C. Y. 2003 Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7292-7295

Leland, J., Cseke, A., Kirakosyan, P.B., Kaufman, S. L., warber, J.A., Duke, H.L. et Briemann. 2006. «Natural Producte Frome Plants» Second Edition Taylor & Francis Group 551P

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A et Billot, J .1990. Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In : les polyphenols en agroalimentaire

Macheix, J. J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C.H. 2005. Les composés phénoliques des végétaux. Ed *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes*. 192P.

Maiza, K ., Brac De la perrière, A. et Hammiche, V. 1993. Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. Médicament et Aliment : L'approche Ethno pharmacologique I169-I171.

Mezghani-Jarraya, R., Hammami, H., Ayadi, A et Damak, M. 2009. Molluscicidal activity of Hammada scoparium (pomel) Ljin leaf extracts and the principal alkaloidal isolated from them against Galba truncatula. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de janerio*, Vol. 104(7): 1035-1038

Medjahed, S. 2006. Les écosystèmes rocheux et sablonneux. Le soutien de la direction

Milane Hadi (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Université Louis Pasteur (Strasbourg). Thèse de doctorat.BB

N

Narayana K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R. et Krishna, D. R. 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology.*, 33 : 2-16.

Nostro, A., Germanò M. p., D'Angelo V., Marino, A. et Cannatelli, M.a. 2000 Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lettres en microbiologie appliquée.* 30 (5), p379.

O

Ozenda, P. 1991. Flore du Sahara. 3^e édition, complété. Pari : Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).

P

Portet, B., 2007. Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante Guyanaise *Piper hostmannianun var . berbicense*, Thèse; Toulouse III-Paul Sabatier; 270 pp.AA

Q

Quezel,P. et Santa, S 1963.Nouvelle flore de l'Algérie et des région désertiques

R

Rauha, J., 2001. The search for biological activity in finnish plant extracts containing phenolic compounds, HELSINKI; 72 pp.AA

Rodriguez Vquero, M.J., Aiberto, M.R., Manca de Nadra M.C., 2007. Antibacterial effet of phenolic compounds from different wines, food control; 93-101 pp.

S

Schnaubelt K. 1998 Advanced Aromatherapy. Vermont:Healing Arts Press.

Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Certin, B., Eser, Z and Ercili S. 2009. Total phenolic content., antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pak.J. Pharm. Sci*; 102-106 pp.AA

Svoboda, K.P. et Hampson, J.B. 1999 Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.

T

Taleb-Continil.. José Salvador, SH. M., Watanab, E., yoko Ito, Iand Rodrigues, D. C de Oliveira., 2003. Anti;icrobial activity of flavonoids and steroids isolqted from two Chromolaena species, Brazilian Journal of pharmaceutical Sciences; 403-408 pp.AA

Tim Cushnie T.P., Andrew J. Lamb 2005.Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents. 26: 343–356.

U

Urquiaga, I et Leighton, F. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research.*, 33 (2) : 55-64.

Z

Zhiri.2006. Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré, *Science, nutrition, prévention et santé*; 16 pp.

Références électroniques :

www.saharanatur.com.

<http://freemteo/Algeria.dz>.

Annexes

L'annexe 1 :

La Préparation pour 1 litre

1- La gélose nutritive (GN) :

- Extrait de viande 1.0g
- Extrait de levure..... 2.0g
- Peptone..... 5.0g
- Chlorure de sodium..... 5.0g
- Agar..... 15.0g
- pH = 7.2 à 7.4

Préparation : 28 g/ l (Stérilisation à l'autoclave)

2- Le Mueller Hinton (MH) :

- Infusion de viande de boeuf... 300 ml
- Hydrolysate de caséine..... 17.5 g
- Amidon.....1.5 g
- Agar-agar.....10 g
- PH = 7.4

Préparation : 29 g/ l (Stérilisation à l'autoclave)

- Staphylococcus aureus
- ATCC 25923
- Staphylococcus aureus
- ATCC 43300
- Enterococcus faecalis
- Escherichia coli*
- Pseudomonas aeruginosa*
- Klebsiella pneumoniae*

L'annexe 2 :



Figure 1. Büch Rotavapor R-200

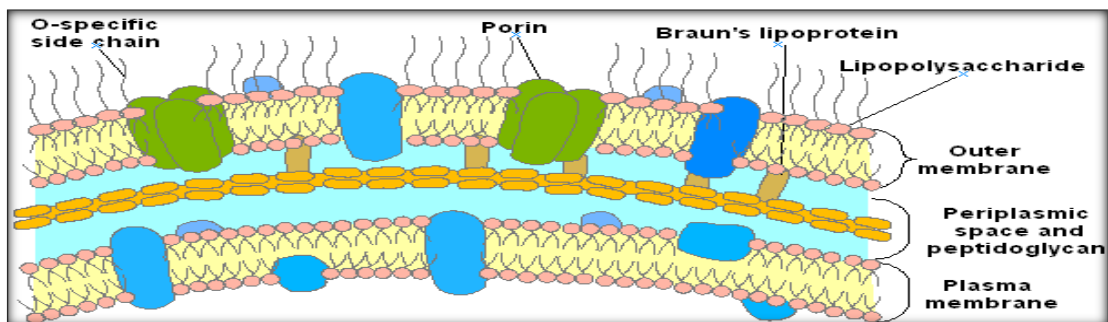


Figure 2. paroi des bactéries à Gram négatif.

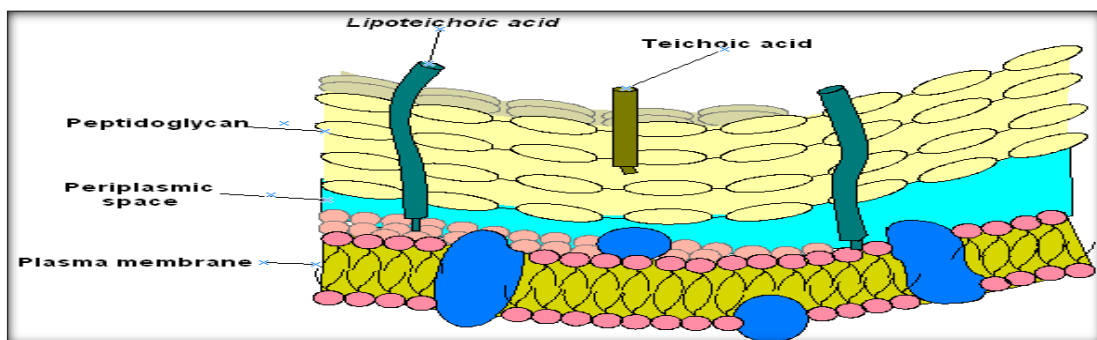


Figure 3. paroi des bactéries à Gram positif