



N Série:...

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
biologiques

Spécialité: Biochimie appliquée

**Caractérisation phénolique et mesure des activités
antioxydante et antibactérienne de quelques plantes
médicinales dans le Sahara Septentrional Algérien.**

Présenté Par:

M^{elle} HECHIFA Djebbaria

M^{elle} MERAD Khaoula

Devant le jury composé de:

Présidente:	M ^{elle}	GUENEZ R.	M.A.A, Université d'El Oued.
Examinatrice:	M ^{elle}	RAMDANE F.	M.A.A, Université d'El Oued.
Promotrice:	M ^{me}	MAHBOUB N.	M.A.A, Université d'El Oued.



Dédicace

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma
vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de
ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes
années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné
confiance, courage et sécurité.*

*A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout
au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses
encouragements.*

A mes soeurs et frères

A toute ma famille, proche ou éloignée

A mes amis.



Remerciements

Avant toute chose, on remercie Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

On tient à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice de ce travail, Mme MAHBOUB Nasma pour son assistance et ses conseils pour assurer le succès de ce travail.

Un grand merci M^{elle} GUENEZ R qui nous avons honoré en acceptant la présidence du jury de nos présent mémoire

Nous sommes également reconnaissantes à M^{elle} RAMDANE F. d'avoir accepté de juger ce travail en qualité d'examinateur.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mr TLIBA Mohammed Ali, CHOUIKH Atef et CHAMSA Khalifa Ahmed pour avoir participé de leurs conseils respectifs de cette recherche,

Nous exprimons encor nos sincères remerciements à M^{elle} HAMMAMI Hadia qui est soucieuse de notre recherche de son attention pendant les analyses pour obtenir des bons résultats.

Nous remercions également tous nos amis et collègues de la promotion de biologie 2015/2016.

Enfin nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Résumé

Afin d'évaluer l'effet du mode de séchage des plantes sur les teneurs de composés phénoliques et leur l'activité biologique, On a fait l'étude phytochimique d'extrait des plantes médicinales sélectionnées (*Oudneya africana* R, *Retama raetam*, *Calligonum comosum* L'her), elles sont dispersées dans le désert de l'Algérie. Ces plantes étudiées subissent à quatre modes de séchage (air libre, séchoir solaire, étuve et lyophilisation) et en plus de l'utilisation de la plante fraîche. D'après notre étude, on révèle que le mode de séchage le plus adapté est la lyophilisation ensuite le séchage à l'étuve et le séchoir solaire. Le screening phytochimique a mis en évidence la présence des alcaloïdes, des tanins et des flavonoïdes chez tous les échantillons, à l'exception de l'extrait d'*O.africana* R. lyophilisée. On a enregistré un rendement en pourcentage plus élevé pour la plante *O. africana* R. séché à l'air libre (23.772%), et la plante *R. raetam* séché à l'étuve (20.32%), et la plante *C. comosum* L' her séché à séchoir solaire (13.031%). En ce qui concerne le dosage quantitative des polyphénols, flavonoides et des tanins condensés on remarque la quantité la plus élevée chez *C. comosum* L' her séchée par lyophilisation (647.02µgEAG/gMS; 235.19µgEQ/gMS et 182.268 µgEAG/gMS) suivi par le *R. raetam* avec des teneurs (328.15µgEAG/gMS; 103.7µgEQ/gMS et 76.226 µgEAG/gMS) dans le mode séchoir solaire pour le dosage des polyphénols et des tanins condensés et à lyophilisateur pour le dosage des flavonoides, et en faible quantité chez *O. africana* R. avec des teneurs (130.01µgEAG/gMS; 87.32µgEQ/gMS et 56.389µgEAG/gMS) dans l'étuve, lyophilisateur et séchoir solaire respectivement. La valeur d'IC₅₀ de l'activité antioxydante sont calculées à l'aide de l'équation linéaire du taux d'inhibitions du radical DPPH montrent des valeurs importantes dans l'extrait de *C. comosum* L'her est égal (37.216µg/ml et 98.457µg/ml) suivi par *R. raetam* (38.792µg/ml et 101.705µg/ml) et *O. africana* R. (39.721µg/ml et 105.737µg/ml) séchées à lyophilisateur, pour l'acide gallique et l'acide ascorbique respectivement. Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que la souche bactérienne Gram positif (*S.aureus*, *Micrococcus*) est plus sensible que le Gram négatif (*P.aeruginosa*, *E.coli*). Alors qu'on a constaté des zones d'inhibitions la plus élevée chez l'espèce *S.aureus* (15mm) pour *R. raetam* lyophilisée et chez l'espèce *Micrococcus* (14mm) pour *R. raetam* sèche au séchoir solaire.

Mots-clés: Plantes médicinales, *Oudneya africana* R., *Retama raetam*, *Calligonum comosum* L' her, le mode de séchage, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne.

الخصائص الفينولية وقياس النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا بعض النباتات الطبية الصحراء الجزائرية

قصد تقييم تأثير طريقة التجفيف للذ كمية المركبات الفينولية والفعالية البيولوجية
 الفيتوكيميائية نباتات الطبية المختارة: *Calligonum Retama raetam Oudneya africana R.*
comosum L'her و التي درسناها أربعة طرق تجفيف (الهواء الطلق
 مجفف التجميد) وذلك من خلال الكشف الكيميائي لهذه النباتات و نشاطها
 البيولوجي. من خلال هذه الدراسة وجدنا أفضل طريقة للتجفيف بمجفف التجميد يليها التجفيف بالفرن والمجفف الشمسي.
 سفر الكشف الكيميائي عن وجود كل من القلويدات والتانينات و الفلافونويدات باستثناء هذا الأخير عند نبات *O. africana*
R. للعينة المجففة بالتجميد. عند العينة المجففة في الهواء الطلق *O. africana R.*
R. raetam (23.772%) العينة المجففة في الفرن (20.32%) *C. comosum L'her* عند العينة
 (13.031%) أما في ما يخص التقدير الكمي لعديدات الفينول الفلافونويدات والتانينات
 كمية عند نبات *C. comosum L'her* (182.26 235.19µgEQ/gMS 647.02µgEAG/gMS)
 (µgEAG/gMS) المجففة بمجفف التجميد تليها *R. raetam* (103.7µgEQ/gMS ;328.15 µgEAG/gMS)
 (76.22µgEAG/gMS) المجففة بواسطة مجفف شمسي في التقدير الكمي لعديدات الفينول والتانينات
 بالتجميد في التقدير الكمي للفلافونويدات *O. africana R.* (µgEQ/gMS 130.01µgEAG/gMS)
 (56.38µgEAG/gMS 87.32) , مجفف بالتجميد والمجفف الشمسي على التوالي.
 تقدير النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH أظهرت النتائج أن قيم IC_{50} C.
comosum L'her (37.216µg/ml; 98.457µg/ml) *R. raetam* (38.792 µg/ml; 101.705µg/ml)
O. africana R. (39.721µg/ml 105.737µg/ml) بواسطة مجفف التجميد بالنسبة للمركب القياسي حمض
 الغاليك ($IC_{50}= 3.544 \mu\text{g/ml}$) سكوريك ($IC_{50}=18.374\mu\text{g/ml}$) . إن نتائج النشاطية
 لبكتيري، أظهرت البكتيري (*S.aureus Micrococcus*) لها حساسية معتبرة
 البكتيرية السالبة (*E.coli P. aeruginosa*) حيث سجلنا
 أعلى مناطق تثبيط عند النوع *S.aureus* (15) (للمستخلص المجفف بالتجميد لنبات *R. raetam*
Micrococcus (14) .
 الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية *Calligonum comosum Retama raetam Oudneya africana R.*
L'her طريقة التجفيف النشاطية المضادة للأكسدة النشاطية لبكتيري.

Sommaire

Sommaire

Dédicaces	
Remerciements	
Résumés	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
PREMIER PARTIE: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre 1: Plantes médicinales et métabolites secondaires	03
I.1.1 Plantes médicinales	03
I.1.1.2. Définition du phytothérapie	03
I.1.1.3. Utilisation traditionnelle des plantes médicinales	03
I.1.2. Métabolites secondaires	05
I.1.2.1. Généralité	05
I.1.2.2. Définition des métabolites secondaires	05
I.1.2.3. Classement des métabolites secondaires	05
Chapitre 2: Présentation des plantes étudiées	23
I.2.1. Description d' <i>Oudneya africana</i> R.	23
I.2.2. Description de <i>Retama raetam</i>	24
I.2.3. Description de <i>Calligonum comosum</i> L'her	25
Chapitre 3: Activité antioxydante et antibactérienne	28
I. 3.1. Activité antioxydante	28
I.3.1.1. Définition de stress oxydant	28
I.3.1.2. Définition des radicaux libres	28
I. 3.1.3. Dommages de stress oxydatif	29
I. 3.1.4. Système de défense antioxydant	30
I.3.1.5. Méthode utilisée pour évaluer l'activité antioxydante	32
I.3.2. Activité antibactérienne	34
I.3.2.1. Généralités	34
I.3.2.2. Définition de l'activité antibactérienne	34
I.3.2.3. Principales substances antimicrobiennes	35
I.3.2.4. Méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne	35

DEUXIEME PARTIE: MARERIELS ET METHODES	
II.1. Présentation de la zone d'étude	37
II.2. Matériels et méthodes	38
II.2.1. Matériels	38
II.2.2.1. Matériels biologiques	38
II.2.1.2. Matériels de laboratoire	39
II.2.1.3. Réactifs	40
II.2.2. Méthodes	40
II.2.2.1. Technique de séchage	40
II.2.2.2. Protocole d'extraction des composés phénoliques	42
II.2.2.3. Rendement d'extraction	42
II.2.2.4. Screening phytochimique	43
II.2.2.5. Dosage des composés phénoliques par la méthode colorimétrique «Analyse quantitative»	43
II.2.2.6. Etude des activités biologiques	44
II.3. Analyses Statistiques	47
TROISIEME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. Résultats	48
III.1.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	48
III.1.2. Screening phytochimique	49
III.1.3. Analyse quantitative des composés phénoliques	51
III.1.3.1. Quantification des polyphénols totaux (PPT)	51
III.1.3.2. Quantification des flavonoïdes totaux (FVT)	53
III.1.3.3. Quantification des tanins condensés (TC)	54
III.1.4. Evaluation des activités biologiques	56
III.1.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante	56
III.1.4.2. Activité antibactérienne	60
III.2. Discussion générale	68
Conclusion générale	74
Références bibliographiques	77
Annexes	94
Résumé et mots-clés	

Liste des figures

LISTE DES FIGURE

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Squelette de base des polyphénols	06
Figure 2	Voie des shikimate chez le plante.	07
Figure 3	Mécanisme de cyclisation des chalcones et des stilbènes	07
Figure 4	Squelette de base des flavonoïdes	09
Figure 5	Principales classes des flavonoïdes. Un (ou deux) exemples précis a été donné dans chacun des cas	10
Figure 6	Classification des tanins	11
Figure 7	Structure des tanins hydrolysables	12
Figure 8	Structure des tanins condensés	12
Figure 9	Molécule d'isoprène	13
Figure 10	Formation de l'isoprène actif (IPP) de l'acide mévalonique et isomérisation en DMAPP	14
Figure 11	Mode d'élongation des processus terpéniques à partir du chaînon élémentaire, le diphosphate d'isopentényle (IPP)	15
Figure 12	Exemples de quelques monoterpènes	16
Figure 13	Exemples de quelques sesquiterpènes	17
Figure 14	Structure de phytane	17
Figure 15	Structure de cyclophytane	17
Figure 16	Structure de 3,7,11,15,19-Pentamethyleicosane	18
Figure 17	Noyau stérane	18
Figure 18	Structure d'exemple de caroténoïde (β -carotène)	19
Figure 19	Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes	20
Figure 20	Principaux cycles azotés des alcaloïdes	22
Figure 21	Espèce d' <i>Oudneya africana</i> R.	23
Figure 22	Espèce de <i>Retama raetam</i> .	25
Figure 23	Espèce de <i>Calligonum comosum</i> L'her.	26
Figure 24	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie	29
Figure 25	Structure chimique du radical libre DPPH°	33
Figure 26	Forme libre et réduite DPPH°	34
Figure 27	Schématisation du principe de mise en œuvre de	36

	l'antibiogramme.	
Figure 28	Carte géographique du Sahara septentrional.	38
Figure 29	Rendement des extraits obtenus à partir des plantes.	49
Figure 30	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	52
Figure 31	Teneur en polyphénols totaux dans les plantes étudiées.	52
Figure 32	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	53
Figure 33	Teneur en flavonoïdes totaux dans les plantes étudiées.	54
Figure 34	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des tanins totaux.	54
Figure 35	Teneur en tanins totaux dans des plantes étudiées.	56
Figure 36	Courbe d'étalonnage d'acide gallique du test DPPH.	56
Figure 37	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique du test DPPH.	56
Figure 38	Valeur IC ₅₀ d' <i>Oudneya africana</i> R. et composé standard (acide gallique).	57
Figure 39	Valeur IC ₅₀ de <i>Retama raetam</i> et composé standard (acide gallique).	57
Figure 40	Valeur IC ₅₀ de <i>Calligonum comosum</i> L'her et composé standard (acide gallique).	58
Figure 41	Valeur IC ₅₀ d' <i>Oudneya africana</i> R. et composé standard (acide ascorbique).	58
Figure 42	Valeur IC ₅₀ de <i>Retama raetam</i> et composé standard (acide ascorbique).	59
Figure 43	Valeur IC ₅₀ de <i>Calligonum comosum</i> L'her et composé standard (acide ascorbique).	59
Figure 44	Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de plante <i>Oudneya africana</i> séché à étuve sur la quatre souche bactériennes (<i>E. coli</i> , <i>P.auruginosa</i> , <i>S. aureus</i> et <i>Micrococcus</i>).	63
Figure 45	Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de plante <i>Calligonum comosum</i> L'her séché à étuve sur la quatre souche bactériennes (<i>E. coli</i> , <i>P.auruginosa</i> , <i>S. aureus</i> et <i>Micrococcus</i>).	63
Figure 46	Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de plante <i>Retama raetam</i> lyophilisé sur les quatre souche bactériennes (<i>E. coli</i> , <i>P.auruginosa</i> , <i>S. aureus</i> et <i>Micrococcus</i>).	63

Figure 47	Effet des extraits d' <i>Oudneya africana</i> R. sur les deux souches bactériennes gram négatif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.	64
Figure 48	Effet des extraits d' <i>Oudneya africana</i> R. sur les des deux souches bactérienne gram positif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.	64
Figure 49	Effet des extraits de <i>Retama raetam</i> sur les deux souches bactériennes gram négatif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.	65
Figure 50	Effet des extraits de <i>Retama raetam</i> sur les deux souches bactériennes à gram positif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.	65
Figure51	Effet des extraits <i>Calligonum comosum</i> L' her sur les deux souches bactériennes à gram négatif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.	66
Figure 52	Effet des extraits <i>Calligonum comosum</i> L' her sur les des deux souches bactérienne à gram positif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.	67

Liste des tableaux

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Classification des composés phénoliques.	08
Tableau 2	Différentes classes de terpène.	16
Tableau 3	Classification scientifique d' <i>Oudneya africana</i> R.	23
Tableau 4	Classification scientifique de <i>Retama raetam</i> .	24
Tableau 5	Classification scientifique de <i>Calligonum comosum</i> L'her.	26
Tableau 6	Principales espèces oxydantes.	28
Tableau 7	Rendements des extraits obtenus à partir des trois plantes par différents modes de séchage.	48
Tableau 8	Résultats de screening phytochimique des extraits obtenus à partir des trois plantes étudiées.	50
Tableau 9	Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits sur les bactéries gram négatif.	61
Tableau 10	Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits sur les bactéries gram positif.	62

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AGPI	Acides gras polyinsaturés.
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium.
ANSEJ	Agence Nationale de Soutien à l'Emploi de Jeunes.
ANSES	Agence national de sécurité sanitaire.
ARP	Antiradicalaire potentielle.
CAT	Catalase.
CCM	Chromatographie sur Couche Mince.
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice.
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique.
CT	Tanins Condensé.
Da	Dalton.
DHAP	Phospho-dihydroxy-acétone.
DMAPP	Diméthylallyl pyrophosphate.
DMPP	Diphosphate de diméthylallyl.
DMSO	Diméthyle sulfoxyde.
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle.
EO	Espèces Oxygénées Activées.
FeCl₃	Chlorure de fer.
FPP	Diphosphate de farnésyle.
FVT	Flavonoïdes totaux.
GGPP	Diphosphate de géranylgéranyle.
GMH	Gélosé Muller Hinton.
GPP	Diphosphate de géranyle.
GPx	Glutathione peroxidase.
GSH	Glutathion.
H	Heure.
H₃PM₁₂O₄₀	Phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀	Phosphotungestique.
HCl	Acide chlorhydrique.
IC₅₀	Concentration inhibitrice 50
IPP	Isopentenylpyrophosphate.
LDL	Lipoprotéines de basse densité.
Min	Minute.
Mo₈O₃	Molybdène.
MVA	Acide mévalonique.
Na₂CO₃	Bicarbonate de sodium.
Nm	Nanometre.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
PEP	Phospho-énolpyruvique.
PPT	Polyphénols totaux.
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> .
SOD	Superoxyde dismutase.
T_H	Tanins hydrolysable.
UV-Vis	UltraViolet-Visible.
V/V	Volume/Volume.
W₈O	Oxydes bleus de tungstène.
µg EAG/g MS	Microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche.
µg EQ/g MS	Microgramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche.

Introduction générale

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (Sanago, 2006).

selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours au médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (Ma *et al.*, 1997).

En Algérie, l'industrie pharmaceutique, mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle. Leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies (Djebaili, 1984, Bouattoura, 1988, Maizak *et al.*, 1993).

Dans ces dernières années pour face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de Phytomédicaments (Bérubé, 2006). Ce développement constitue une étape indispensable pour l'essor de tout un secteur lié aux besoins non seulement de la thérapie, mais aussi de l'industrie agroalimentaire, de la cosmétique et de la parfumerie (Mohamdi, 2013).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (Chaabi, 2008).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires (Bahorun, 1997).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits.

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques, telle que l'activité antibactérienne et antioxydante est considérée comme très importante et très utile, en particulier pour les plantes, qui sont largement utilisées en médecine folklorique (Abdel Hakim., 2009).

Les propriétés antioxydantes des extraits végétaux sont massivement étudiées. Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibres entre la production de radicaux libres et

d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition de maladies telles que l'Alzheimer, l'artériosclérose et le cancer. Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher un apport supplémentaire de composés antioxydants (Mohamdi, 2013).

Les plantes sont également utilisées pour leur propriété antibactérienne. Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale (Ghabrier, 2010).

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'influence du mode de séchage sur les principes actifs des plantes médicinales (Flavonoïdes, tanins et les alcaloïdes) par des analyses qualitatives et quantitatives et l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne. Le travail est subdivisé en deux grandes parties: dont une partie théorique qui englobe et rassemble des données théoriques sur les plantes médicinales et leurs substances bioactives Par ailleurs, le deuxième chapitre rassemble des données bibliographiques sur la plantes étudiés *Oudneya africana* R. *Retama raetam* et *Calligonum comosum* L'her récolté du Sahara Septentrionale d'Algérien. Le troisième chapitre à étudié l'activité antibactérienne et antioxydant des plantes étudiées.

La partie pratique englobe trois aspects: dont le premier une étude phytochimique des extraits de 3 espèces végétales basé principalement sur la qualification et la quantification des composés phénoliques. Le second aspect est consacré à une évaluation de l'activité antioxydante des extraits vis-à-vis du radical libre DPPH. Finalement un test antibactérien est également réalisé afin de déterminer l'efficacité des l'extrait contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, et *Micrococcus*. Le troisième aspect est une discussion des résultats obtenus *in vitro*.

PREMIÈRE PARTIE



SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.1. Plantes médicinales

I.1.1.1. Définition des plantes médicinales

Dans le code de la santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France "une plante" est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinale. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (Ghabrier, 2010).

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Debuigne, 1974). Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (Sanago, 2006).

D'autre part, il s'agit des plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont précurseurs dans la synthèse de drogues utile (Abayomi, 2010). Leur action provient de leur composés chimiques (métabolisme secondaire) ou de la entre des différents composés présentes (Sanago, 2006).

L'expression "drogues brutes d'origine naturelle ou biologique" est utilisée par les pharmaciens ou les pharmacologues pour désigner les plantes ou parties de plantes qui ont des propriétés médicinales (Abayomi, 2010).

I.1.1.2. Définition du phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: phuton qui signifie "plante" et thérapie qui signifie "traitement" (Gayet, 2013). La phytothérapie est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes. A la différence de la médecine classique, en phytothérapie, il est recommandé d'utiliser la plante entière, appelée aussi "Totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire (Vigan, 2012).

I.1.1.3. Utilisation traditionnelle des plantes médicinales

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité (Gurib-Fakimm, 2006).

Un certain nombre de plantes médicinales est encore utilisé de nos jours sous forme de décoction, infusions, macération et cataplasmes. Mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances

actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent l'activité préconisée par nos ancêtres (Bourrel, 1993).

a. Décoction

Après avoir laissé tremper 24h à température ambiante, on porte à ébullition et on laisse frémir l'eau pendant environ 30 min. Laisser reposer 12h la préparation et filtrer ensuite (Delwiche, 2008).

b. Infusion

Mise en contact de la plante avec de l'eau bouillante pendant plusieurs minutes (Beloued, 2009). Elle se pratique pour les feuilles, les fleurs, les petites graines...etc. En créole, on entend souvent les termes de « féfuté » ou « met' afuté » (Julie, 2011).

c. Macération

Consiste à faire tremper les plantes dans de l'eau froide pendant plusieurs heures. Pour ce qui est des quantités, il faut prévoir une cuillère à café de plantes pour une tasse d'eau, une cuillerée à soupe pour un bol, et trois cuillerées à soupe pour un litre. Les plantes peuvent également macérer dans l'alcool, dans la glycérine, ou dans un autre solvant (Anne et Nogaret, 2003).

d. Cataplasmes

Préparation de plante en pâte pouvant être appliquée sur la peau dans un but thérapeutique. On peut également utiliser des bandes ou des compresses imbibées de préparation à base de plantes sur la peau (Julie, 2011).

L'ethnopharmacologie et l'ethnobotanique ont pour finalité la compréhension des pratiques et des représentations relatives à la santé, à la maladie, et la description, l'évaluation thérapeutique des plantes utilisées dans les pharmacopées traditionnelles. L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne ont été découverts par l'intermédiaire d'investigations ethnobotaniques (Gurib-Fakimm, 2006).

I.1.2. Métabolites secondaires

I.1.2.1. Généralité

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (Merghem, 2009), qui participent à la structure de la cellule végétale ainsi qu'à son fonctionnement de base (Hopkins, 2003).

Ces métabolites sont aussi définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales et nécessaire à leur croissance et à leur développement (Raven *et al.*, 2000). Par opposition les métabolites secondaires ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisé à partir des métabolisme primaire et résultent des réactions chimiques ultérieures (Croteau *et al.*, 2000; Raven *et al.*, 2000).

I.1.2.2. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge *et al.*, 2002; Abderrazak et Joël, 2007). Exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température...etc).

Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes) (Raven *et al.*, 2000).

Sur le plan pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale (Newman et Cragg, 2012).

I.1.2.3. Classement des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, Ils appartiennent à trois grandes familles:

- ✓ Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, banthocyanidines, tanins) et le quinones.
- ✓ Les terpénoïdes et leurs dérivés.
- ✓ Les alcaloïdes (Merghem, 2009).

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Bruneton, 1993).

A. Les composés phénoliques

A.a. Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre (figure 1), ou engagé dans une autre fonction tels que: éther, ester, hétéroside (Bruneton, 1999).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

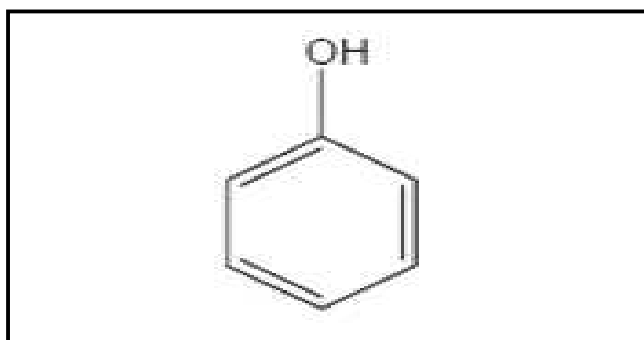


Figure 01: Squelette de base des polyphénols (Vermerris et Nicholson, 2006).

A.b. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent un des groupes les plus importants chez les végétaux, issus de la grande voie d'aromagenèse; shikimates ou acide shikimique (figure 02) et de la voie acétate-malonate (figure 03) (Bruneton, 2009).

A.b.a. Voie du shikimate

La voie de l'acide shikimique est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques: la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels (secondaires) tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).

Cette voie débute par la condensation de l'acide phospho-énolpyruvique (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate qui dérivent respectivement de la glycolyse et de la voie des pentoses phosphate, réaction comparable à celle de la phospho-dihydroxy-acétone (DHAP) avec l'érythrose phosphate, lors de la phosphosynthèse (Merghem, 2009). Puis par désamination des phénylalanine et tyrosine, aux acides cinnamiques et à leur très nombreux: acides benzoïques, acétophénonés, lignanes et lignines, caumarines etc (figure 02) (Bruneton, 2009).

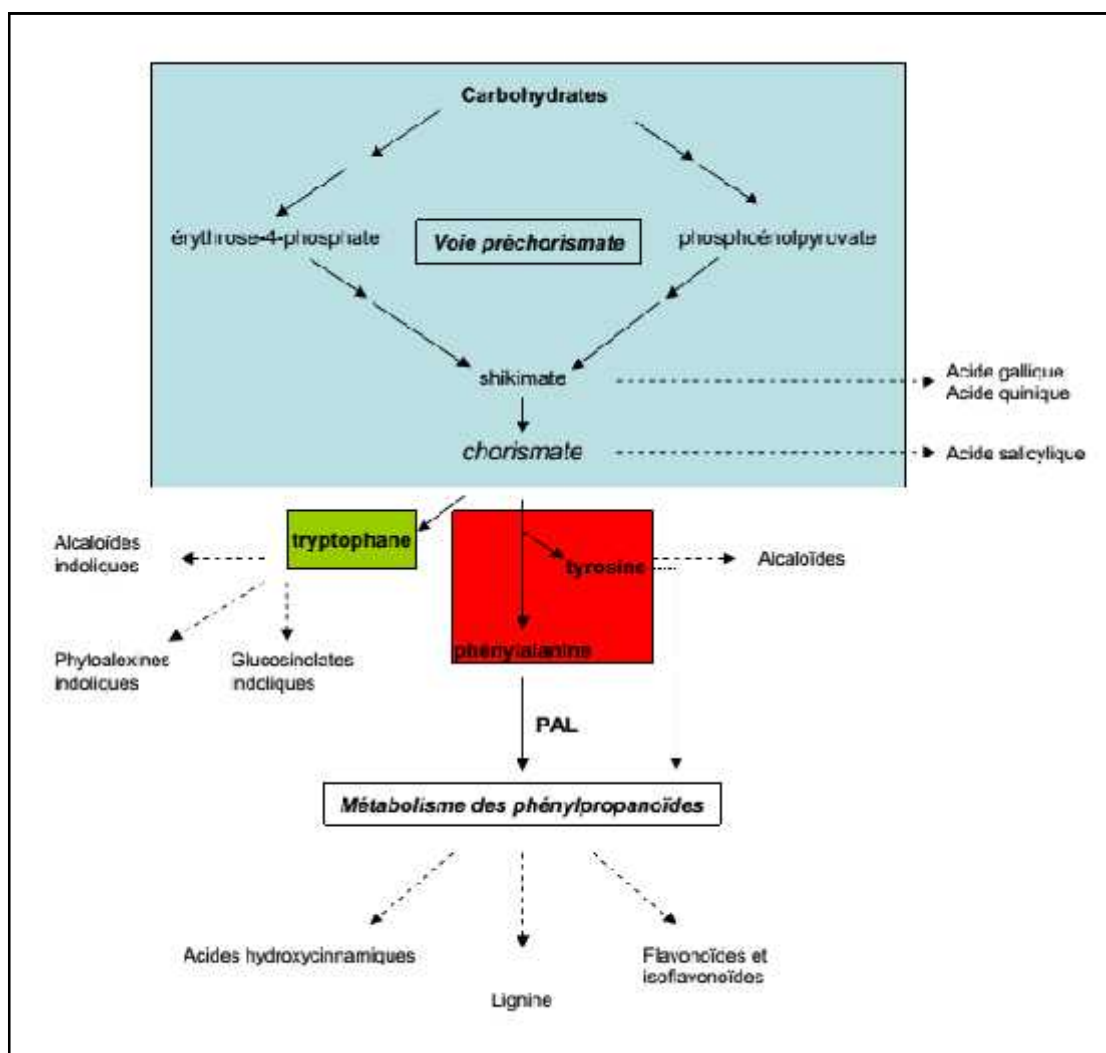


Figure 02: Voie shikimate chez les plantes (Hoffmann, 2003).

A.b.b. Voie de l'acide malonique "malonyl pathway"

Ce mode de formation plus secondaire consiste en la cyclisation des chaînes polycétonique, elle obtenues par condensation de groupements acétates (figure 03) (Bruneton, 1993; Merghem, 2009).

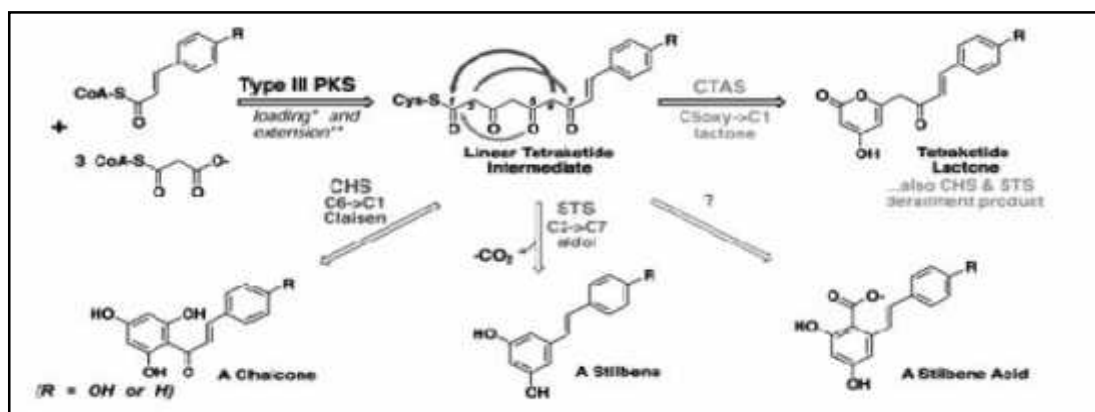


Figure 03: Mécanisme de cyclisation des chalcones et des stilbènes (Collin et Creast, 2011).

A.c. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques, ce terme recouvre un groupe très vaste et diversifié de composés chimiques. Ces composés peuvent être classés en un certain nombre de façons.

Harborne et Simmonds (1964) ont classés en groupes ces composés sur la base du nombre d'atomes de carbone dans la molécule (Vermerris et Nicholson, 2006) (tableau 01).

Tableau 01: Classification des composés phénoliques (Vermerris et Nicholson, 2006).

Structure	Classe
C ₆	Phénols simples
C ₆ -C ₁	Acide phénolique et composante liée
C ₆ -C ₂	Acetophenone et acide phenylacetique
C ₆ -C ₃	Acide cinnamique et aldehyde cinnamyle et alcool cinnamyle
C ₆ -C ₃	Coumarine, isocoumarine et chromone
C ₁₅	Chalcones, auronnes, dyhydrochalcones
C ₁₅	Flavanes
C ₁₅	Flavones
C ₁₅	Flavnonones
C ₁₅	Flavnonoles
C ₁₅	Anthocyanidines
C ₁₅	Anthocyanines
C ₃₀	Biflavonyls
C ₆ -C ₁ - C ₆ , C ₆ -C ₂ - C ₆	Benzophenones, Xanthonnes, stilbenes
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Quinones
C ₁₈	Betacyanines
Lignans, neolignans	Dimers ou oligomers
Lignin	Polymers
Tanins	Oligomers ou polymers
Phlobaphenes	Polymers

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young, 1999).

A.c.a. Flavonoïdes

A.c.a.a. Définition

Le terme «flavonoïde» désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al.*, 2006). Ils sont considérés comme les pigments quasi universels des végétaux, Presque toujours hydrosolubles, ils sont, entre autres et pour certains, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Jacques Macheix *et al.*, 2005; Bruneton, 2009).

Tous les flavonoïdes (plus de 4000) possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane (Bruneton, 1999).

A.c.a.b. Structure de flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C₃ en formant ainsi l'hétérocycle (C) (figure 04) (Emerenciano *et al.*, 2007).

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C₆-C₃-C₆ (Jacques Macheix *et al.*, 2005; Collin et Creast, 2011). En formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana *et al.*, 2001; Malesev et Kuntic, 2007).

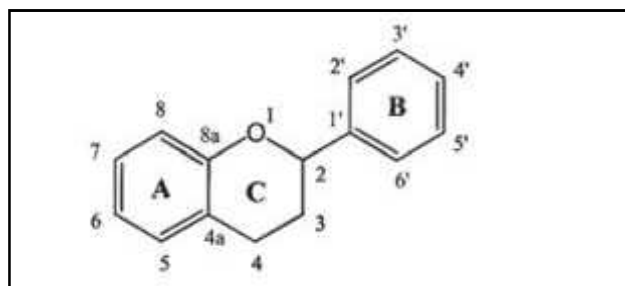


Figure 04: Squelette de base des flavonoïdes (Collin et Creast, 2011).

A.c.a.c. Différents classes des flavonoïdes

Les flavonoïdes se répartissent en onze familles des composés. La variation du degré d'oxydation de la chaîne carbonée C₃ (formant, en général un hétérocycle C, par condensation avec un OH phénolique du noyau A) détermine les propriétés et la classification utile en sous-groupes ou famille dont les membres peuvent porter des substituants différents au niveau du noyau B (figure 05) (Vermerris et Nicholson, 2006).

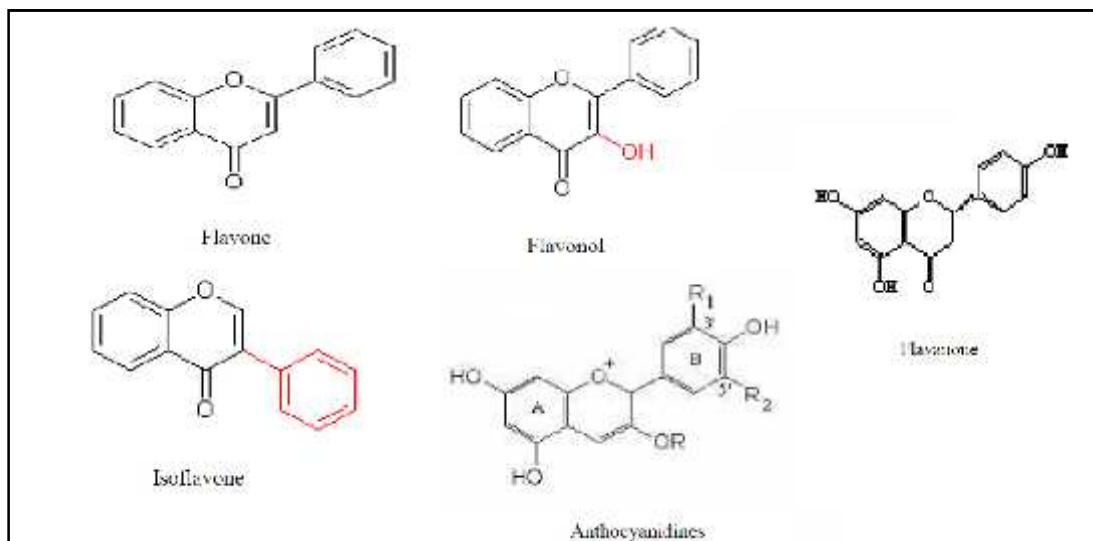


Figure 05: Principales classes des flavonoïdes (Jacques Macheix *et al.*, 2005).

A.c.a.d. Propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois, certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, des fleurs et des feuilles. Les chalcones se trouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs (Bouzerghoune, 2003).

Les flavonoïdes montrent des propriétés intéressantes fongicides et insecticides qui protègent la plante contre l'attaque des champignons et des insectes. On peut également noter que les flavonoïdes montrent à des propriétés dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance (Merghem, 2009), Aussi ils assurent la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet (Bruneton, 2009).

A.c.b. Tanins

A.c.b.a. Définition

Les tanins sont métabolites secondaires polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da, ayant la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines et de se colorer par les sels ferriques (Ghestem *et al.*, 2001; Atefeibu, 2002; Krief, 2004).

Ces métabolites secondaires sont localisés dans les feuilles, l'écorce et les fruits de nombreuses plantes. Ils font ainsi partie intégrante de notre alimentation (vin, thé, divers fruits...) (Simon, 2003).

A.c.b.b. Structure et classification de tanins

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, trois groupes de tanins différents par leur structure: les tanins hydrolysables, les tanins complexes et les tanins condensés (figure 06) (Vermerris et Nicholson, 2006).

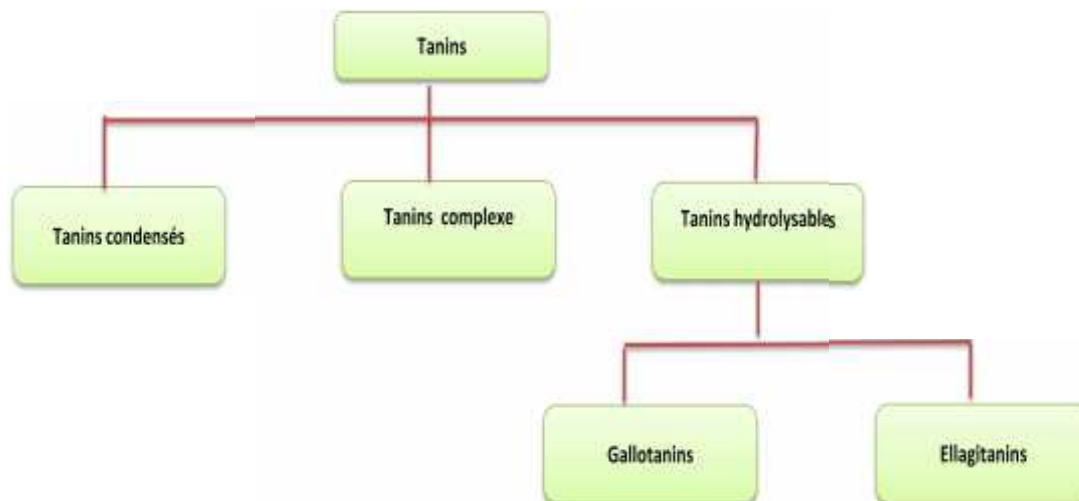


Figure 06: Classification des tanins (Vermerris et Nicholson, 2006).

a. Tanins hydrolysable:

Tanins hydrolysable (T_H) sont des esters d'acides phénoliques (acide gallique ou ellagique) associée à un polyol (habituellement le glucose) (Collin et Creast, 2011). Ils sont divisés en deux types:

- ✓ Les tanins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.
- ✓ Les tanins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acide ellagiques (Bruneton, 1999; Atefeibu, 2002).

Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide ellagique ou plusieurs molécules d'acide gallique (Figure 07) (Ghestem *et al.*, 2001). Ils sont caractérisés par le fait qu'il peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique (Jacques Macheix *et al.*, 2005).

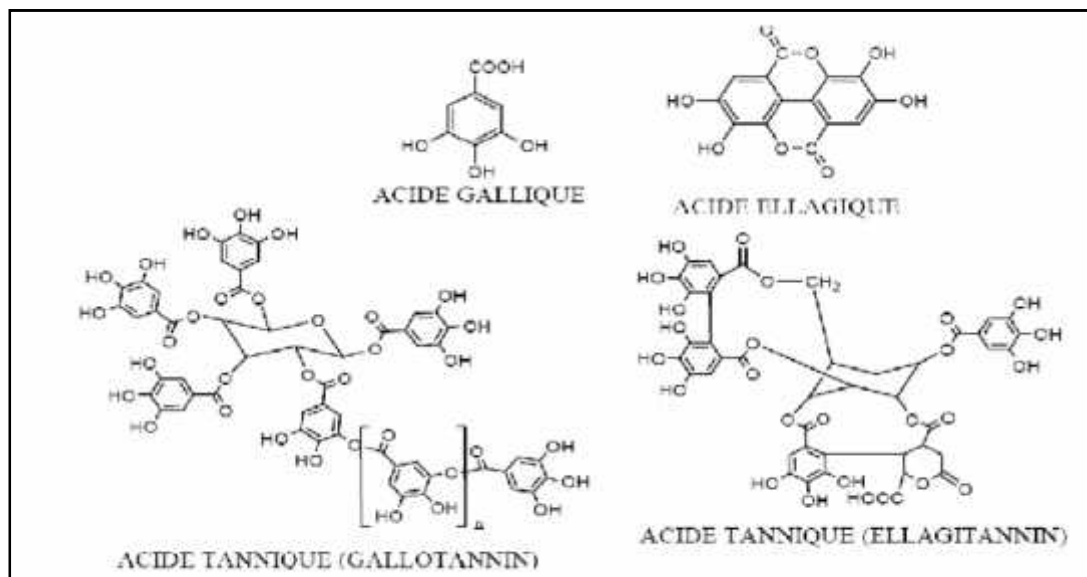


Figure 07: Structure des tanins hydrolysables (Bruneton, 1999).

b. Tanins non hydrolysable ou tanins condensé

Les Tanins condensés sont des oligomères (proanthocyanidines) ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+)-catéchine ou de ses nombreux isomères (figure 08). Ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ainsi par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouges (Jacques Macheix *et al.*, 2005).

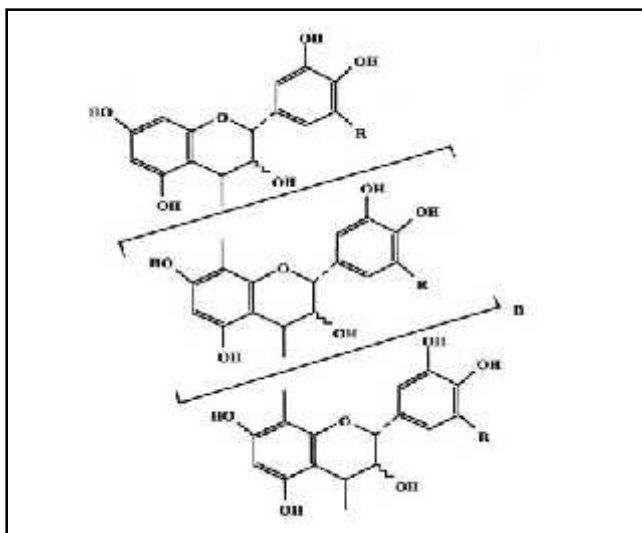


Figure 08: Structure de tanins condensés (Jacques Macheix *et al.*, 2005).

c. Tanins complexes

Tanins complexes sont définis comme des tanins dans lesquels une unité de catéchine glycosidique est liée soit à un gallotannin ou d'une unité ellagitannin. Comme son nom l'indique, la structure de ces composés peut être très complexe. Un exemple est Acutissimin A, ceci est une unité glucosidique du flavogallonyl liée à C₁, avec trois autres liaisons ester

hydrolysables supplémentaires à un polyol à chaîne ouverte D-glucose dérivé (Vermerris et Nicholson, 2006).

A.c.b.c. Propriétés des tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes, leur conférant une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). La propriété astringente des tanins est à la base d'autres propriétés (vulnérable, anti diarrhéique..), elle permet la cicatrisation, l'imperméabilisation de la peau et des muqueuses, favorise la vasoconstriction des petits vaisseaux (Kolodzie, 1999).

En outre, les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien (Bassene *et al.*, 1995), antiviral (Nonaka *et al.*, 1990), anti-inflammatoire (Mota *et al.*, 1985) et une activité antimutagène (Kaur *et al.*, 2000). Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les cas de rhume, de maux de gorge, les problèmes de sécrétions trop importantes, les infections internes ou externes, blessures, coupures et brûlures (Bruneton, 1999).

B. Terpenoïdes

B.a. Définition

Les terpénoides constituant un ensemble connu et très vaste des métabolites secondaire des végétaux, ce sont des molécules polyisoprénique qu'on trouve également dans le règne animal (Nait Said, 2007).

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou non (acyclique, monocyclique, bicyclique ou tricyclique) (Djahra A.B, 2015), résultant de la combinaison de plusieurs unités d'isoprènes (C_5H_8) (figure 9), et ont pour formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire $(C_5H_8)_n$ (Nait Achour, 2012).

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc) (Malecky, 2008).

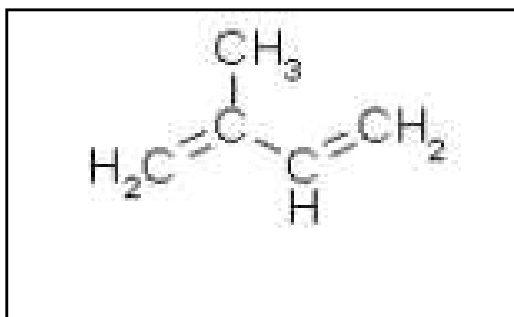


Figure 9: Molécule d'isoprène (Malecky, 2008).

B.b. Biosynthèse des terpènes

La biosynthèse des terpènes (Figure 10) suit la voie de l'acide mévalonique (MVA). Ce dernier subit une phosphorylation ensuite une décarboxylation et une déshydrogénation et on obtient alors de l'isopentenylpyrophosphate (IPP) ou isoprène actif. C'est le IPP qui constitue l'unité isoprénique d'enchainement, et s'isomérise en diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) grâce à une enzyme, l'IPP isomérase (figure 10) (Lamarti *et al.*, 1994a).

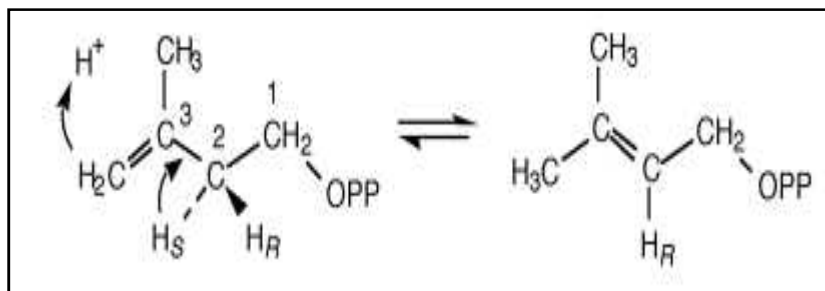


Figure 10: Formation de l'isoprène actif (IPP) de l'acide mévalonique et isomérisation en DMAPP (Lamarti *et al.*, 1994a).

La condensation du diphosphate d'isopentényle (IPP) (entité nucléophile) sur le diphosphate de diméthylallyl (DMPP) (entité électrophile) mène au diphosphate de géranyle (GPP, C₁₀), précurseur des mono terpènes. Une condensation supplémentaire de type tête-à-queue de l'IPP sur le GPP conduit au diphosphate de farnésyle (FPP, C₁₅), précurseur des sesquiterpènes. Une élongation supplémentaire du diphosphate de farnésyle avec une entité d'IPP, conduit au diphosphate de géranylgéranyle (GGPP), précurseur des diterpènes et des caroténoides. Tandis qu'une condensation "tête-à-tête" de deux molécules de diphosphate de farnésyle aboutit au squalène (C₃₀), précurseur des triterpènes, des stérols (Lamarti *et al.*, 1994b) (figure 11). Ces précurseurs acycliques isopréniques peuvent subir différentes réactions chimiques (oxydation, cyclisations suivies de transpositions), ce qui permet de dénombrer à ce jour plus de 22000 isoprénoides (Vandermoten *et al.*, 2008).

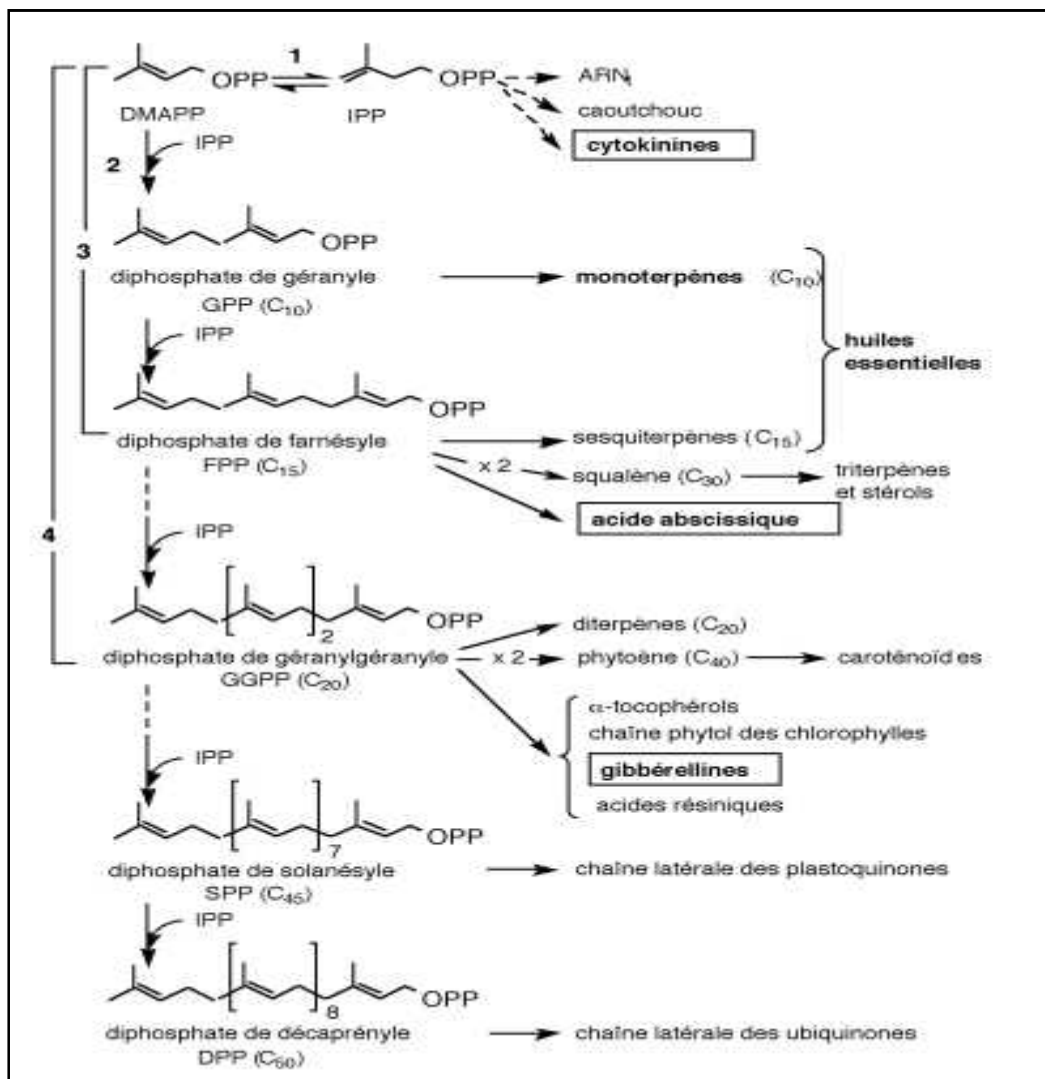


Figure 11: Mode d'élongation des processus terpéniques à partir du chaînon élémentaire, le diphosphate d'isopentényle (IPP) (Lamarti *et al.* 1994b).

B.c. Classification de terpène

Dans le règne végétal, les terpénoides sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (tableau 02) (Singh, 2007).

Tableau 02: Différentes classes de terpène (Singh, 2007).

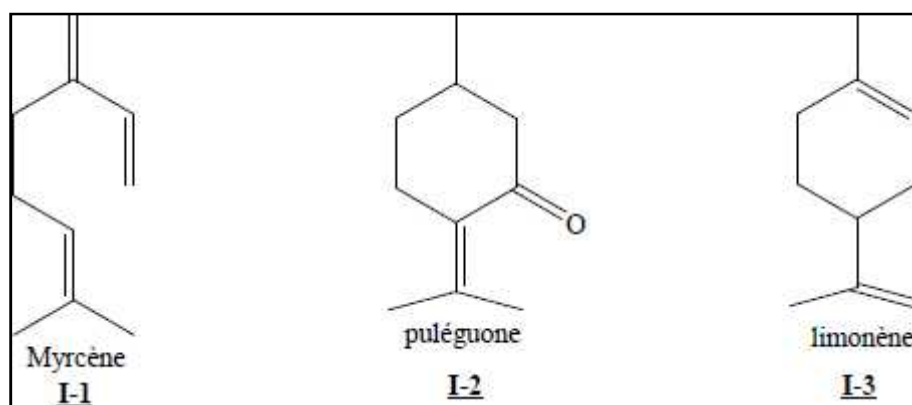
Le nombre d'atome de carbone	Classe
5	Hémiterpène
10	Monoterpène
15	Sesquiterpène
20	Diterpène
25	Sesterpène
30	Triterpène
40	Tetraterpène
>40	Polyterpènes

B.c.a. Hémiterpène

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule de C_5 ramifiée; parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme hémyterpène, seul l'isoprène a toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes (Loomis et Croteau, 1980).

B.c.b. Monoterpène

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage «tête-queue». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (figure 12) (Padua *et al.*, 1992).

**Figure 12:** Exemples de quelques monoterpènes (Padua *et al.*, 1992).**B.c.c. Sesquiterpène**

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories

structurelles, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques (figure 13). Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (El Haib, 2011).

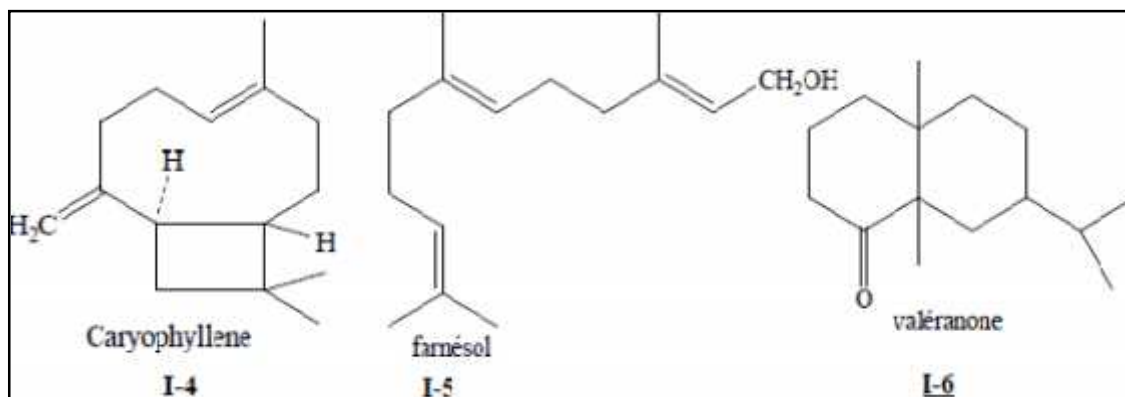


Figure 13: Exemples de quelques sesquiterpènes (El Haib, 2011).

B.c.d. Diterpène

Les diterpènes sont formés de quatre unités isoprènes ($C_{20}H_{32}$) (Hernandez Ochoa, 2005), ils comprennent les gibbérellines (phytohormones du développement impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux tels que la germination (Graebe, 1987). Il existe environ 2700 diterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme cyclique. Parmi les diterpènes linéaires, on rencontre la famille Phytane (figure 14). Cycliques sont des dérivés de cyclophytane (figure 15) (Malecky, 2008).

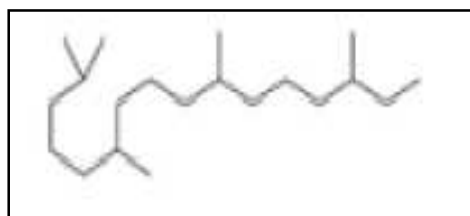


Figure 14: Structure de phytane (Malecky, 2008).

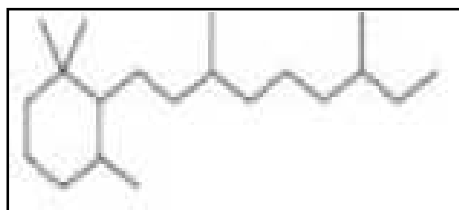


Figure 15: Structure de cyclophytane (Malecky, 2008).

B.c.e. Sesterpène

Les sesterpènes sont des dérivés d'hydrocarbures en C_{25} (Hernandez Ochoa, 2005), construits à partir de 5 unités d'isoprènes. L'acide mévalonique (MVA) semble être le précurseur de cette classe. Ils ont été isolés des plantes, des champignons, des insectes, et des éponges. Il y a plus de 150 sesterpènes bien connus, parmi lesquels une trentaine a une

structure de furfurane, dérivé du 3,7,11,15,19-Pentamethyleicosane (figure 16). Les sesterterpènes sont plutôt rares dans la nature; ils se trouvent soit sous forme linéaire soit cyclique, avec un, deux, trois ou quatre cycles (Malecky, 2008).

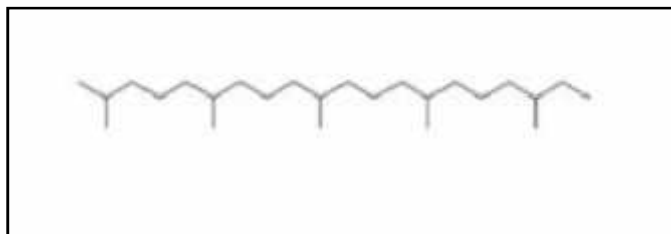


Figure 16: Structure de 3, 7, 11, 15, 19-Pentamethyleicosane (Malecky, 2008).

B.c.f. Triterpène

Les triterpènes sont des composés en C_{30} issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du scalène (Krief, 2004). Ils comprennent les gibbérellines (phytohormones du développement impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux tels que la germination (Graebe, 1987).

Les stéroïdes sont un groupe de triterpènes plus ou moins modifiés métaboliquement et dérivés du squalène mais ayant en commun la structure du stérane (figure 17), hydrocarbure tétracyclique saturé, le 1,2-cyclopentanoperhydro-phénanthrène. Ce composé entièrement saturé produit de la diagenèse des stérols végétaux, est présent dans les dépôts organiques sédimentaires et les pétroles (Leray, 2010).

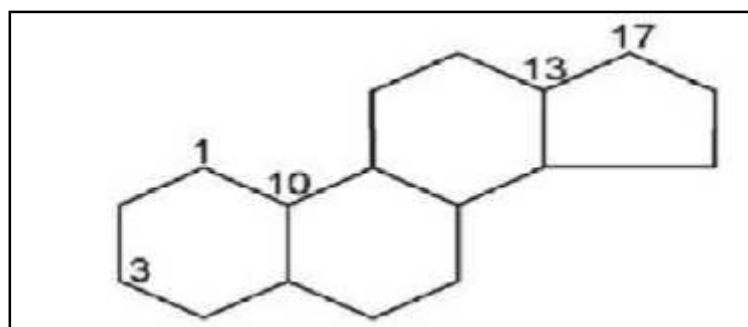


Figure 17: Noyau stérane (Leray, 2010).

B.c.g. Tetraterpène

Les Tetraterpènes contiennent une longue chaîne de 40 atomes de carbones, à doubles liaisons conjuguées de configuration « trans » dont les extrémités sont des chaînes ouvertes ou des cycles (Ayad, 2008).

Les tétraterpènes les mieux connus sont les caroténoïdes. Ces derniers sont polyènes et presque tous les hydrocarbures de caroténoïde ont la formule moléculaire $C_{40}H_{54}$. Aussi, puisque le squelette carbonique de ces composés a une structure de polyisoprène, ils peuvent être considérés comme tétraterpènes (figure 18) (Singh, 2007).

Les caroténoïdes sont des constituants membranaires des chloroplastes et forment un groupe de pigments liposolubles. Ils contribuent à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et légumes. On les retrouve souvent dans les plantes alimentaires (Lysette Bossokpi, 2003).

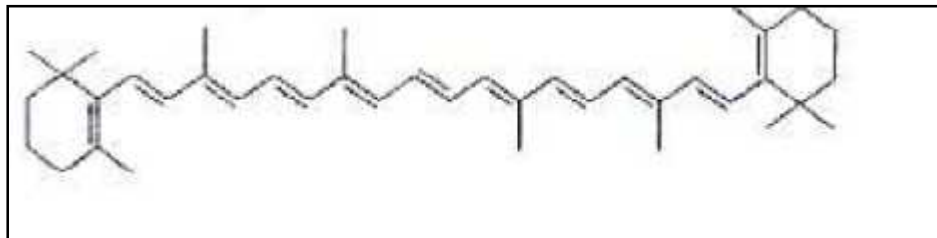


Figure 18: Structure d'exemple de caroténoïde (β -carotène) (Djahra, A.B, 2015).

B.c.h. Polyterpènes

On citera le cholestérol, le caoutchouc naturel qui est produit par la coagulation par chaleur de la sève et de l'hévéa (Nait Achour, 2012).

C. Alcaloïdes

C.a. Définition

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIX^e siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme bases, comme des alcalis (de l'arabe al Kalys, la soude et du grec eidos, l'aspect) (Bruneton, 2009).

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique (Harborne et Herbert, 1995).

Leurs noms se terminent souvent par "ine". Les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et le plus souvent, en plus, de l'oxygène (exceptionnellement quelques alcaloïdes contiennent du soufre) (Djahra, A.B, 2015).

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles ou dans les fruits (Harborne et Herbert, 1995).

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane (Harborne et Herbert, 1995; Dewick, 2001; Bhat *et al.*, 2005).

C.b. Biosynthèse des alcaloïdes

Dans la plante la biosynthèse des alcaloïdes est variable, elle dépend de l'espèce considérée, des conditions environnementales aux quelles l'espèce est soumise, de la période et des conditions de récolte de la plante (Houmani, 1994; Baiza *et al.*, 1998).

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques unique (figure 19) (Ziegler et Facchini, 2008). Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (Nacoulma, 2012).

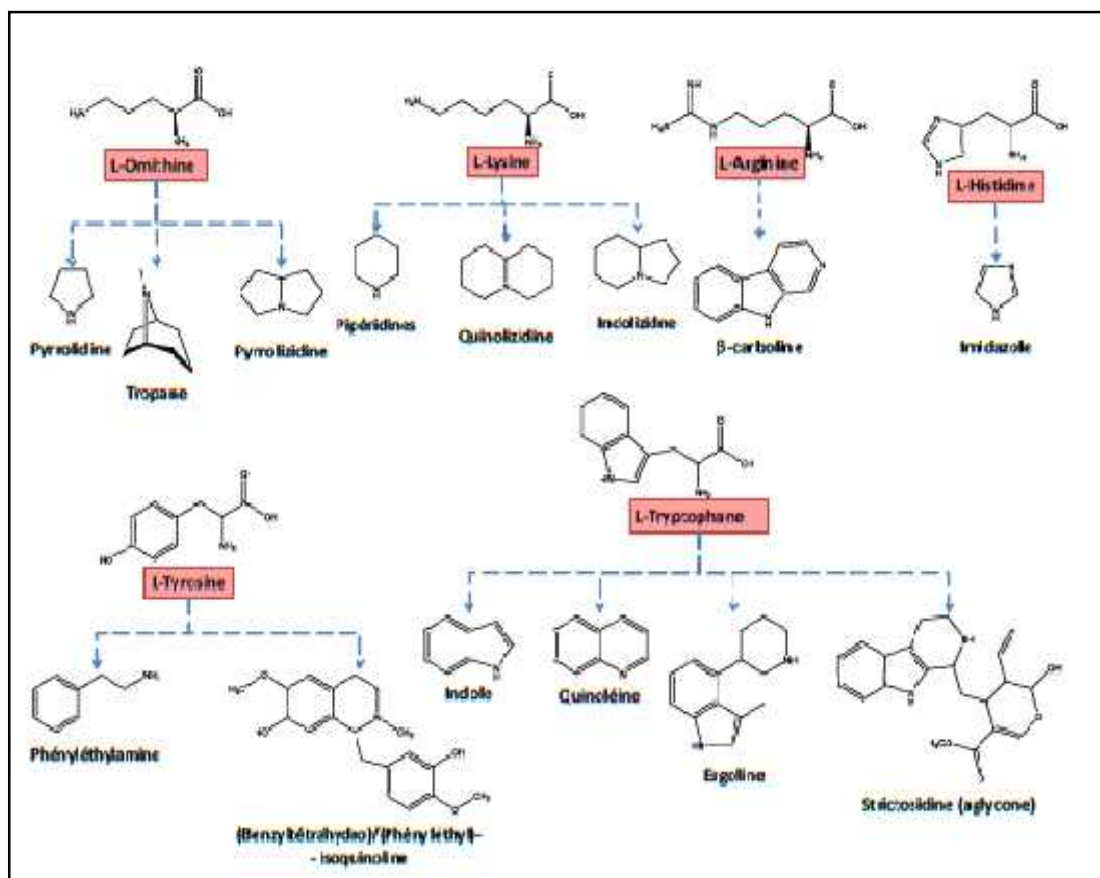


Figure 19: Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes (Nacoulma, 2012).

C.c. Structure et classification des alcaloïdes

On estime qu'il y a plus de 10 000 alcaloïdes différents déjà isolés (ou détectés) à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes. Proposer une classification pour les alcaloïdes est une tâche difficile, en raison du grand nombre de composés connus et surtout à cause de la diversité structurale (Mauro Neves, 2006).

Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

- ✓ **Des phénylalanines:** capsaïcine du piment, colchicine du colchique.
 - ✓ **Des alcaloïdes isoquinoléiques:** morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales.
 - ✓ **Des alcaloïdes quinoléiques:** tige feuillée de la rue commune.
 - ✓ **Des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques:** ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë.
 - ✓ **Des alcaloïdes dérivés du tropane:** scopolamine et atropine de la belladone. Des alcaloïdes stéroïdes: racine de véatrate, douce-amère ou aconite (aconitine) (Nacoulma, 2012). Selon l'origine biosynthétique On distingue trois types d'alcaloïdes
 - ✓ **Alcaloïdes vrais:** d'après certains auteurs, ils sont issus seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé.
 - ✓ **Pseudo-alcaloïdes:** Ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés.
 - ✓ **Proto-alcaloïdes:** Se sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés (Bruneton, 1999; Nacoulma, 2012).
- Les principaux cycles azotés des alcaloïdes sont de type (Figure 20): Indole (a), quinoline (b), isoquinoline (c), tropane (d), pyridine (e), quinolizidine (f), morphine (g) et solanidine (h) (stéroïde).

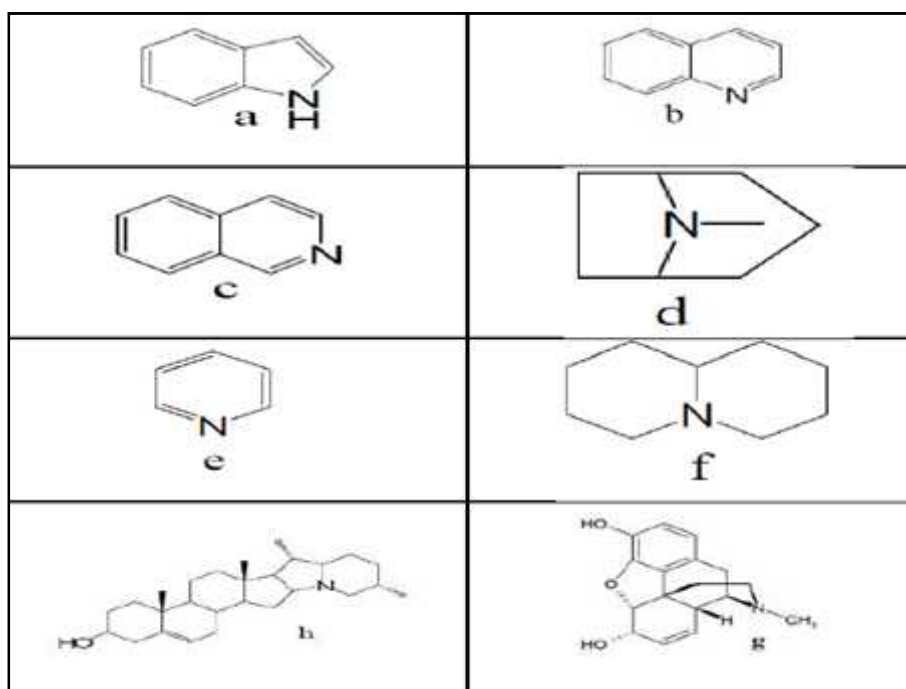


Figure 20: Principaux cycles azotés des alcaloïdes (Seghiri, 2005).

C.d. Propriétés des alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un groupe hétérogène du point de vue de leur structure, de leurs propriétés et de leurs effets biologiques (Bougandoura, 2011). Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique (Bruneton, 1999).

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes du point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes (Hess, 2002).

I.2.1. Description d'*Oudneya africana* R.

I.2.1.1. Description botanique

Oudneya africana R. est une plante vivace (Chehma et Djebbar, 2008), petite arbuste glabre dans toutes ses parties, très-rameux, offrant des feuilles entières, sessiles, sans nervures; les inférieures obovales, les supérieures presque linéaires. Les fleurs, de grandeur médiocre, dépourvues de bractées, et ayant la lame de leurs pétales ovale et veinée, forment des épis terminaux (figure 21) (Drapiez, 1853).



Figure 21: Photographie de l'espèce d'*Oudneya africana* R. (Slimani, 2015).

I.2.1.2. Situation

Oudneya africana R. est une plante endémique du Sahara septentrional qui appartient à la famille à la tribu Brassiceae (Berghioua *et al.*, 2009), elle se rencontre en Algérie, en Tunisie, au Maroc et en Libye. En Algérie elle se trouve dans le Mezab, El Golea, Ouargla et Biskra. La floraison s'effectue pendant l'hiver et le printemps (Smadi, 2003).

I.2.1.3. Position systématique

La classification des plantes de la famille des brassiceae est la suivante (tableau 03).

Tableau 03: Classification scientifique d'*Oudneya africana* R. (Quezel et Santa, 1962).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédone
Ordre	Pariétales
Famille	Brassicaceae
Genre	Oudneya
Espèce	<i>Oudneya africana</i> R.
Noms vernaculaires	Henat l'ibel

I.2.1.4. Utilisation en médecine traditionnelle

Oudneya africana R. connue sous le nom arabe "Alga" ou "Henat l'ibel" (Berghioua *et al.*, 2009), est largement exploitée en Algérie et au Maroc. L'utilisation de cette espèce en phytothérapie est relativement ancienne au Maroc, elle est consommée comme bon traitement pour les maladies de l'intestin (Smadi, 2003). Au sud Algérien, elle est indiquée pour les maladies de la peau en usage externe, sous forme de pâte, mélangée avec du Henné (*Lawsonia inermis*) (Berghioua *et al.*, 2009).

I.2.2. Description de *Retama raetam*

I.2.2.1. Description botanique

Retama raetam est un arbuste saharien de 1 à 3,5m de hauteur. Le système racinaire est de type pivotant pouvant atteindre plusieurs mètres de profondeur. Des racines adventives sont également présentes sur les rameaux et colonisent la surface des dunes. Les rameaux sont veloutés. Les feuilles sont très caduques, les inférieures sont trifoliées, les supérieures sont simples et unifoliées (Genmedoc, 2006; Damerджи et Amar, 2013). Les fleurs sont blanches de 8 à 10mm, avec un étendard égalant la carène ou plus long. La gousse est non dilatée sur sa nature ventrale contenant une petite graine (figure 22) (Quezel et Santa, 1962).



Figure 22: Photographie de l'espèce de *Retama raetam*.

I.2.2.1. Situation

Les retames sont caractérisés par une large distribution géographique, originaires du nord-ouest Africain et probablement des îles Canaries (Zohary, 1962).

Retama raetam est localisé dans le sud oranais, sud de Djelfa, Ain Safra, Touggourt, au centre de la Kabylie, à l'est de Biskra, également à Ouargla (Mahnane, 2010).

I.2.2.3. Position systématique

La classification des plantes de la famille des Fabacées est la suivante (tableau 04).

Tableau 04: Classification scientifique de *Retama raetam* (Benoit, 2015).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes.
Classe	Dicotylédones
Ordre	Fabales
Famille	Fabacées
Genre	Retama
Espèce	<i>Retama raetam</i>
Noms vernaculaires	Rtam

I.2.2.4. Utilisation en médecine traditionnelle

Retama raetam est utilisé dans la médecine populaire sous le nom commun "R'tam" pour réduire l'inflammation de la peau, tandis qu'au Libnan, il est utilisé comme la médecine traditionnelle à base de plantes contre les douleurs articulaires et au Maroc contre les maladies de la peau. Les études pharmacologiques antérieures sur l'usine ont révélé ses diverses propriétés médicinales: antibactérienne, antifongique, anti-hypertenseurs, anti-oxydantes, anti-viraux, diurétiques, hépato, néphroprotecteurs et effets cytotoxiques (Edziri *et al.*, 2012; Djeddi *et al.*, 2013).

Une décoction de racine ou bien des feuilles de *Retama raetam*, s'utilise contre le diabète. Le décocté de feuilles fraîches de *Retama raetam* est utilisé comme bain de pieds en induisant l'hypoglycémie (Benkhniq *et al.*, 2014).

Les fruits de Retem passent pour toxiques, ils produiraient des hallucinations, le Retem fixe les dunes (Trabut, 2006).

I.2.3. Description de *Calligonum comosum* L'her

I.2.3.1. Description botanique

Un grand arbuste boisé, atteignant 2-3m dans la hauteur, s'est beaucoup embranché de la base (Quezel et Santa, 1963). Les branches sont vert foncé, articulées (claires) et très perdent rapidement leurs petites feuilles (congés) linéaires. Les fleurs sont trouvées à la base des noeuds et aux fins des branches. Six petits tepals forment le périanthe avec des anthères rouges remarquables. Le fruit est une circulaire seule (simple) carpel, n'excédant pas 1cm de diamètre et couvert de poils (cheveux) bruns-jaunes quand mûr. *Calligonum comosum*

produit de nombreuses fleurs dans le début du printemps (mars, avril) (figure 23) (Benhouhou, Sd).



Figure 23: Photographie de l'espèce de *Calligonum comosum* L'her (Slimani, 2015).

I.2.3.2. Situation

Le genre *Calligonum* comprenant environ 80 espèces, est largement distribué dans le Nord d'Afrique, Europe du Sud et de l'Ouest et en Asie centrale (Ahmed *et al.*, 2015).

Calligonum comosum L'her. est une plante tropicale et de régions subtropicales avec une large diffusion dans l'Algérie, Emirats arabes unis, Egypt, Tunisie, Bahrine, Arabie saoudite (Badria *et al.*, 2007; Hammami *et al.*, 2011; Alkhalifah, 2013).

Selon Chouikh *et al.*, (2015), en Algérie elle se trouve notamment dans les zones désertiques dans le Sud-Est Algérien (Oued Souf).

I.2.3.3. Position systématique

La classification des plantes de la famille des Polygonaceae est la suivante (tableau 05)

Tableau 05: Classification scientifique de *Calligonum comosum* L'her (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Végétal
Sous embranchement	Phanérogames ouSpermaphytes.
Classe	Dicotylédons ou Eudicots
Ordre	Polygonales
Famille	Polygonaceae
Genre	Calligonum
Espèce	<i>Calligonum comosum</i> L'her
Noms vernaculaires	Larta, Lartaya

I.2.3.4. Utilisation en médecine traditionnelle

Il a été utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter les affections abdominales et maux de dents (Badria *et al.*, 2007).

Enquête phytochimique précédente d'extrait *C. comosum* a montré qu'il est riche en composés polyphénoliques en particulier les flavonoïdes. Les flavonoïdes se sont révélés être un agent anti-inflammatoire puissant qui semble être attribué à leur activité antioxydante. Flavonoïdes possèdent également des activités antipyrétiques et anti-nociceptifs (Abdallah *et al.*, 2014).

En outre, ils se sont révélés protéger la muqueuse gastro-intestinale des lésions produites par les différents modèles d'ulcères expérimentaux. Par conséquent, les flavonoïdes pourraient avoir un potentiel thérapeutique plus efficace et moins toxique pour le traitement de maladies gastro-intestinales (Neffati et Louhaich, 2014).

I.3.1. Activité antioxydante

I.3.1.1. Définition de stress oxydant

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres (comme les ROS) (Sies, 1991), suite à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières (Haleng *et al.*, 2007; Barouki, 2006), ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (Pincemail *et al.*, 1999).

I.3.1.2. Définition des radicaux libres

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atome ou molécule possédant un électron non apparié (célibataire) sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (c'est-à-dire pour former une liaison chimique) (Jadot, 1994). Les radicaux libres peuvent être produits d'origine exogène (UV, radiation ionisantes, xénobiotiques, ozone, etc.) ou par des processus cellulaires normaux: la respiration mitochondriale (Thiebaut et Sprumont, 2005).

Dans les cellules, on peut distinguer les radicaux primaires (radical) qui jouent un rôle particulier en physiologie (Favier, 2003). Les autres, dits radicaux secondaires (non radicalaire) tels peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite ($ONOO^-$) qui génèrent à la suite de l'action oxydante de radicaux libres oxygénés "primaire" (Lacolley *et al.*, 2007). Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron (figure 24) tels l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ et le radical hydroxyle $OH^\bullet$, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote $NO^\bullet$ (tableau 06) (Favier, 2003).

Tableau 06: Principales espèces oxydantes (Mercan, 2010).

Radicals		Non-radicals	
Hydroxyl	$OH^\bullet$	Peroxynitrate	$ONOO^-$
Alkoxy	$L(R)O^\bullet$	Hypochlorite	$^\bullet OCl$
Hydroperoxyl ^a	$HOO^\bullet$	Hydroperoxide ^b	$L(R)OOH$
Peroxyl	$L(R)OO^\bullet$	Singlet oxygène	$^1\Delta O_2$
Nitric oxide ^c	$NO^\bullet$	Hydrogène peroxide ^d	H_2O_2
Superoxyd	$O_2^\bullet$		

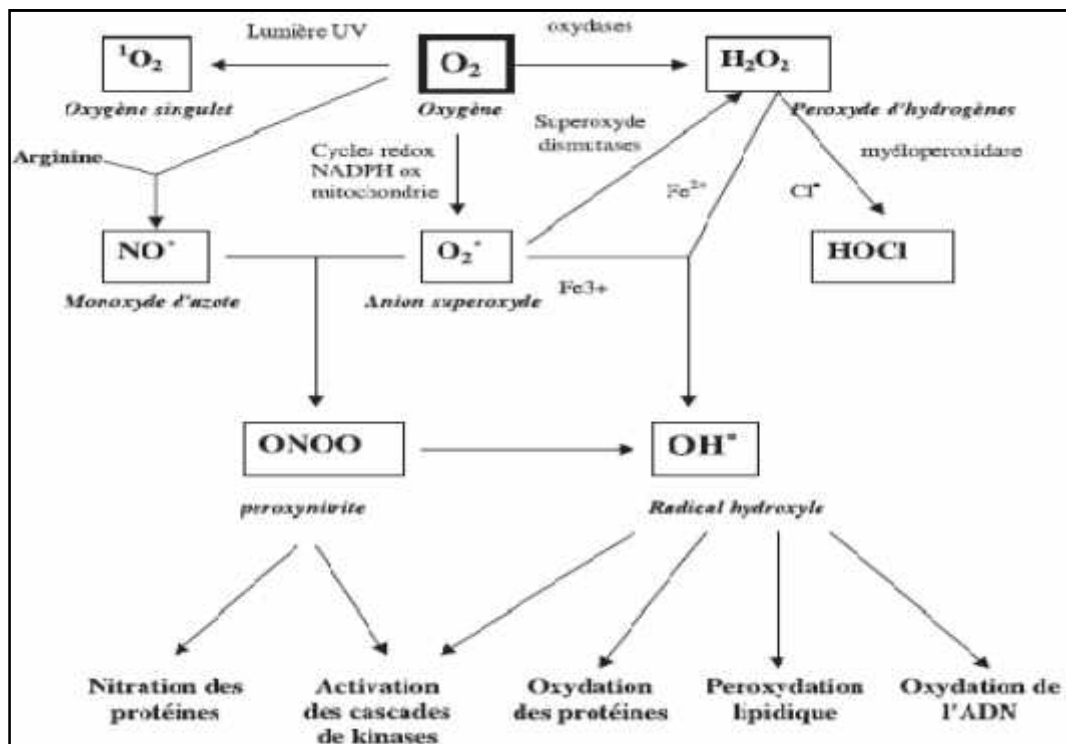


Figure 24: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

I.3.1.3. Dommages de stress oxydatif

A. Oxydation des lipides

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires (Genot & Michalski, 2010). Les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont la principale cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy. Cette réaction appelée peroxydation lipidique (Favier, 2003), qui provoque des lésions d'origine radicalaire sont en effet susceptibles de modifier la structure des lipides, qui va se propager à d'autres types moléculaires et produire des aldéhydes génotoxiques (Mohamdi, 2013).

Les produits de peroxydation lipidique des membranes vont altérer leur fonctionnalité par modification de leur perméabilité, de leur fluidité, perte d'activité d'enzymes, de récepteurs...etc. (Cillard et Cillard, 2006).

B. Oxydation protéinique

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour

conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes (Pincemail *et al.*, 1999).

Les dommages oxydatifs peuvent se manifester par l'apparition de groupements hydroperoxydes, l'oxydation du squelette carboné de la chaîne polypeptidique conduisant à une fragmentation des protéines et/ou à la formation de liaisons croisées intra- ou inter-chaînes et à l'apparition de groupements carbonylés ou dicarbonylés (Grune *et al.*, 1998).

Les protéines comportant un pont sulfhydryle sont les plus sensibles aux attaques radicalaires. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui, après oxydation, deviennent inactives et beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (Sen, 2001).

C. Oxydation nucléique

Les acides nucléiques sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libre. Les sites radicalaires créés au sein de la molécule d'ADN peuvent entraîner des ruptures de brins et des mutations ponctuelles, qui peuvent avoir graves conséquences sur la synthèse des protéines (Lacolley *et al.*, 2007). Les EOA peuvent réagir avec la guanine, base constitutive de l'ADN, pour la transformer en 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OH₂DG) qui est capable d'induire des mutations spécifiques pouvant conduire au développement du cancer (Pincemail *et al.*, 1999).

I.3.1.4. Système de défense antioxydant

Le terme « antioxydant » a été formulé comme « une substance qui en faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels » (Barr, 2008; Jacquard, 2011).

Vansant (2004) définit les antioxydants comme substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques.

A. Système enzymatique

Pour contrôler la production permanente des ROS, les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages des ROS. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal (homéostasie physiologique). En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser (Bouguerne, 2012). Ces systèmes sont composés d'enzymes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), et la peroxydase glutathion (GSH) (Thiebault et Sprumont, 2005).

B. Système non enzymatique

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent (effet scavenger) avec les oxydants et soit stoppent, soit ralentissent les processus d'oxydation. Pendant ces réactions, les antioxydants s'oxydent en dérivés stables, ou persistent pendant un certain temps sous forme radicalaire. Ces formes radicalaires peuvent devenir des prooxydants (Leopoldini, 2011). Comme évoqué précédemment, ces antioxydants se divisent en deux principales catégories, les endogènes (molécules issues de la biosynthèse), et les exogènes (vitamines, oligo-éléments, ou antioxydants de synthèse) (Thiebaut et Sprumont, 2005).

B.a. Antioxydants endogènes

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) (Favier, 2003). La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger les radicaux peroxy et l'oxygène singulier, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Neuzil et Stocker, 1993). Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ou $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$ permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (Martinez-Cayuela, 1995).

B.b. Antioxydants exogènes

Plusieurs substances d'origines alimentaires (animales et végétales) peuvent agir en tant qu'antioxydants. Mais la source végétale est considérée comme la plus utilisée, puis qu'elle est largement consommée dans notre alimentation quotidienne. Elles incluent les flavonoïdes, la vitamine E, les caroténoïdes, la vitamine C... etc. (Thiebaut et Sprumont, 2005).

Les carotènes appartiennent à la grande famille des caroténoïdes, qui possèdent de propriétés antioxydantes. Le carotène est notamment capable de piéger des radicaux hydroxyles ($\text{OH}^{\cdot}$) et peroxy ($\text{RO}_2^{\cdot}$), et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique; il neutralise également l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$). Le B-carotène protège ainsi les lipoprotéines de basse densité (LDL), dans lesquelles il est transporté à raison d'environ 0.3 molécule par particule LDL (Beaudeux et Durand, 2008).

Les flavonoïdes sont connus principalement pour leur activité antioxydante et anti-inflammatoire, car ils sont capables de piéger les radicaux libres: radicaux hydroxyles, anions

superoxydes et de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. Actuellement, les flavonoïdes sont connus par de remarquables activités pharmacobiologiques comme les effets antiallergiques, anti-thrombotiques, anti-tumoraux et hépatoprotecteurs (Middleton *et al.*, 2000).

Le vitamine C (acide ascorbique) C'est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extracellulaires, se comporte plutôt comme un agent redox: il bloque la production des radicaux libres, et aussi oxydant puissant, lorsque du fer se trouve à l'état libre dans le cytoplasme (Cano *et al.*, 2007).

La vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (α , β , δ , γ). Leur caractère hydrophobe permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Si l' α -tocophérol est le plus abondant, il semble que le γ -tocophérol soit le plus efficace à ce niveau (Pincemail *et al.*, 1999).

Ces oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres (l'homéostasie radicalaire). Parmi ces oligo-éléments, le fer, le sélénium et le cuivre...ect (Favier et Hininger-Favier, 2005).

Les trois éléments ont un effet pro-oxydant potentiel: le cuivre, le sélénium et le fer. Le fer est constamment pro-oxydant quand il est sous forme libre et réduit. L'équilibre des forces oxydantes et réductrices est donc subtil dans l'organisme. En médecine humaine, les déséquilibres entre la production de radicaux libres et la disponibilité des antioxydants sont impliqués dans une centaine d'états pathologiques. (Cano *et al.*, 2007).

Le sélénium est un élément essentiel à l'état de trace (oligoélément) qui ne possède pas à proprement d'activité antioxydante. Il est toutefois considéré comme tel puisqu'il participe à la constitution et à la régulation de la GPx, enzyme détoxifiante via la destruction des peroxydes lipidiques (Cesarini, 2004).

Le cuivre est un cofacteur d'enzymes comme la SOD, le cytochrome C oxydase, la dopamine β -hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) et peut-lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant (Haleng *et al.*, 2007).

I.3.1.5. Méthode utilisée pour évaluer l'activité antioxydante

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant sont nombreuses et peuvent être qualitatives ou quantitatives. La méthode qualitative, utilisée pour repérer l'activité antioxydante de composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la

coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes les plus utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (Li *et al.*, 1999).

Une méthode à phase inversée de la chromatographie (CCM), combinée avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) (Maamri, 2008).

La méthode de DPPH° a d'abord été décrite par Blois en 1958, et a ensuite été largement modifiée par de nombreux chercheurs (Pereira Nunes *et al.*, 2012).

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520nm (Kholkhal *et al.*, 2013). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 25). De couleur violette qui réagit avec des composés qui peuvent donner un atome d'hydrogène, mais il est sensible à la lumière, à l'oxygène, au PH et à la nature du solvant utilisé (Popovici *et al.*, 2009).

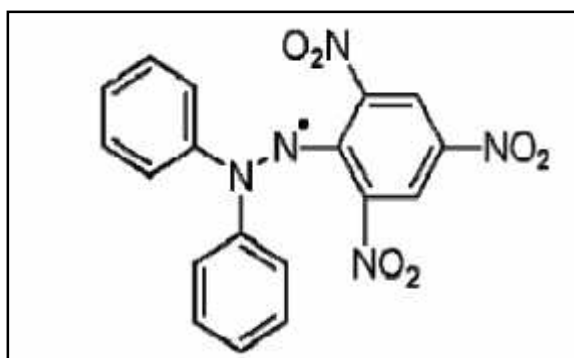
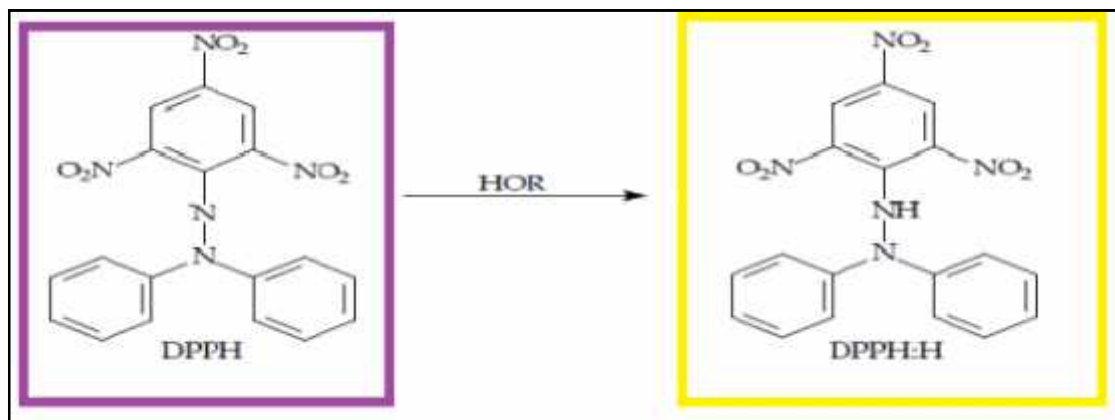


Figure 25: Structure chimique du radical libre DPPH° (Popovici *et al.*, 2009).

Cette méthode est basée sur le principe que le DPPH° accepte un atome d'hydrogène (H) à partir d'une molécule scavenger par exemple un antioxydant, résultant une réduction du DPPH° en DPPH₂, un changement de la couleur (violette) en jaune, avec une diminution concomitante de l'absorbance à 515nm (figure 26) (Mishra *et al.*, 2011). Le degré de changement de la couleur est proportionnel à la concentration et à la puissance des antioxydants. L'activité antioxydante est ensuite mesurée par la diminution de l'absorbance à 515nm. Une grande diminution de l'absorbance du mélange réactionnel indique une activité significative du balayage du composé à l'essai (Pereira Nunes *et al.*, 2012).



1,1-diphényl 2- picrylhydrazyl (violet)

1,1-diphényl 2- picrylhydrazine (jaune)

Figure 26: Forme libre et réduite de DPPH° (Pereira Nunes *et al.*, 2012).

I.3.2. Activité antibactérienne

I.3.2.1. Généralités

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes: les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (Kaufmann, 1997).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998).

Toujours dans cet ordre des idées, les huiles essentielles à cotés des extraits de diverse plantes restent d'un grand intérêt pour la valorisation des ressources naturelles végétales. En fait, leur utilisation potentielle comme remèdes alternatifs dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses et comme moyens de préservation des aliments contre les processus d'oxydation (Kelene et Tepe, 2008).

I.3.2.2. Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibiotique correspondant à activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien. Face à un antibactérien donné, la sensibilité d'une bactérie peut être très différent selon la souche d'appartenance (Nicolase et Daniel, 1998).

I.3.2.3. Principales substances antimicrobiennes

✓ Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne-Berezin et Dellamonica, 1995).

✓ Les composés phénoliques: Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

I.3.2.4. Méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des germes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques et des extraits bruts (Chbani *et al.*, 2011).

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait (figure 27) (Yakhlaoui, 2010). Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée (El Kalamouni, 2010).

Généralement, plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible (Traore *et al.*, 2012).

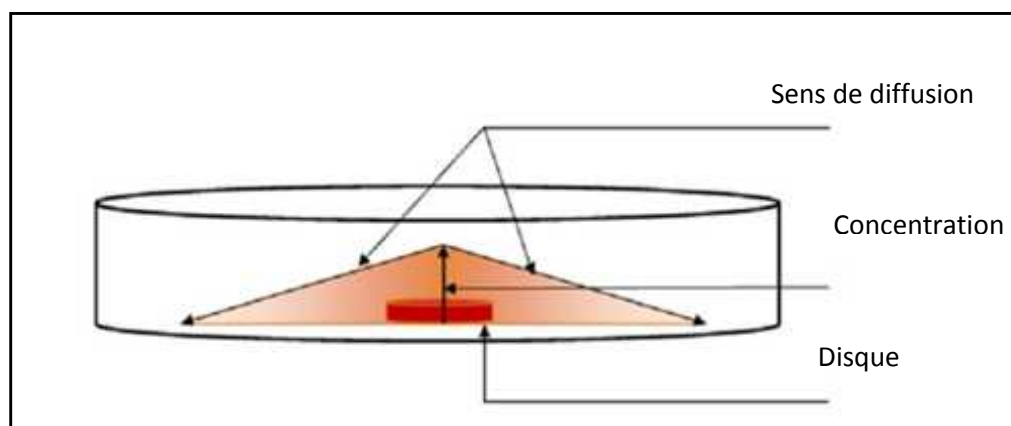


Figure 27: Schématisation du principe de mise en œuvre de l'antibiogramme (Allane, 2009).

DEUSIEME PARTIE



MATÉRIELS ET METHODES

II.1. Présentation de la zone d'étude

Le Sahara, mot arabe qui signifie «désert». Un désert est un espace peu peuplé et qui reçoit moins de 250mm d'eau/an. Le Sahara est le plus grand désert chaud du monde d'une superficie de 8.5 millions de km², situé au nord du continent africain, qui s'étend de l'Atlantique à la Mer Rouge. Le Sahara couvre 10 pays: Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Egypte, Soudan, Tchad, Niger, Mali et Mauritanie et le territoire contesté du Sahara occidental (Medail, 2013).

L'Algérie est l'un des plus vastes pays d'Afrique et le plus vaste du Nord du continent. La partie Sud où les formations tabulaires prédominent est comprise dans le domaine saharien dont elle occupe un vaste territoire (Ouali *et al.*, 2007).

Le Sahara algérien s'étend sur une superficie de deux millions de km. Il couvre 84% de la surface de l'Algérie et ¼ de la totalité du désert saharien (Chehma *et al.*, 2008).

Le Sahara est subdivisé en; Sahara septentrional, méridional, central et occidental (Chehma, 2005).

Le relief saharien se caractérise par d'immenses zones sableuses, les ergs, couvertes de dunes en forme de croissant, des établissements caillouteux, les regs et enfin à l'extrême Sud un espace rigide où s'élèvent deux massifs, le Tassili (2154m dans l'Adrar) et le Hoggar (3000m dans l'Atakor) (figure 28) (Ouali *et al.*, 2007).

Le climat du Sahara algérien se caractérise par une intense sécheresse avec un taux d'humidité très faible. La température moyenne annuelle est de l'ordre de 25°C, avec des étés chauds et des hivers rigoureux. Les températures extrêmes sont de plus de 50°C en été (Ouali *et al.*, 2007; Chehma *et al.*, 2008).

Les précipitations ont pratiquement toujours lieu sous forme de pluies. Elles sont caractérisées par leur faible importance quantitative et les pluies torrentielles sont rares. Elles sont liées aux perturbations soudano-sahariennes ou sahariennes (Chehma *et al.*, 2008).

Le tapis végétal est discontinu et très irrégulier, les plantes utilisent surtout les emplacements où le ravitaillement en eau se trouve un peu moins défavorable qu'ailleurs. La végétation des zones arides, en particulier celle du Sahara est très clairsemée, à aspect en général nu et désolé, les arbres sont aussi rares que dispersés et les herbes n'y apparaissent que pendant une période très brève de l'année, quand les conditions deviennent favorables (Chehma et Djebbar, 2008).



Figure 28: Carte géographique de Sahara Septentrional (Sadki, 2013).

II.2. Matériels et méthodes

Notre travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique qui fait parti de faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued sans oublier le laboratoire de valorisation et technologie des ressources sahariennes (laboratoire de recherche appartient au faculté de technologie) et laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides et laboratoire de bioressources sahariennes préservation et valorization qui font partie au sein de l'université Kasdi Merbah de Ouargla.

II.2.1. Matériels

II.2.1.1. Matériels biologiques

A. Matériels végétaux

Les plantes étudiées dans notre travail sont: *Oudneya Africana* R. *Retama raetam* et *Calligonum comosum* L'her, ont récolté du Sahara d'Algérie ramassées en décembre 2015 et en février et mars 2016, ces plantes subissent à quatre modes de séchage différents (étuve, à l'air libre, lyophilisé, séchoir solaire) et la plante fraîche proprement dite.

B. Microorganismes utilisés

B.a. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Staphylococcus à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin, de 0,8 à 1µ de diamètre, immobiles, non sporulés, résistance aux antibiotiques du staphylocoque, catalase positive et oxydase négative (Konrad, 2009).

S. aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement, résistante aux antibiotiques du staphylocoque (Harris, 2002).

B.b. *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus est un bactérié du genre *Micrococcus* à Gram positif typique mesurant 0,9 à 1,8µm de diamètre. Un grand nombre d'espèces d'aérobie, catalase positive (Kocur *et al.*, 1972).

Micrococcus luteus sont retrouvées dans l'environnement, Leur pouvoir pathogène est très faible souvent considérées contaminants (Bolatito et Ibiyemi, 2011).

B.c. *Escherichia coli* ATCC 25922

Escherichia coli est une bactérie à Gram négatif dans la famille des entérobactéries bacille non encapsulé et mobile par ciliature péritriche. Il est indol positif, lactose positif et oxydase négative (Anonyme, 2003), aéro-anaérobie facultatif, mesurant de 2 à 4µm de long et d'un diamètre d'environ 0,6µm (Agence national de sécurité sanitaire [ANSES], 2011).

E. coli est un habitant normal de l'intestin des humains et des animaux à sang chaud. Cette bactérie joue un rôle utile dans l'intestin en participant, entre autres choses, à la synthèse de vitamines. Cependant, certaines souches particulières d'*E. coli* présentent un pouvoir pathogène important (Kaper, 2004).

B.d. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pseudomonas aeruginosa est connue depuis longtemps sous le nom de *Bacillus pyocyaneus* (bacille pyocyanique) ou agent du pus bleu des plaies surinfectées (Chaker, 2006). Il s'agit d'un bacille à Gram négatif non sporulant environnementale présente dans les sols, les plantes, les habitats aqueux et les environnements humides (Faure *et al.*, 2008).

P. aeruginosa est une bactérie à 1 à 5 µm de long et 0,5 à 1µm de large, motile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire. Cette bactérie est mésophile. Elle est capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C (Vasil, 1986).

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste à large spectre d'hôtes, responsable de nombreuses infections nosocomiales chez l'homme et en particulier chez les patients immunodéprimés ou atteints de mucoviscidose (Centre national de la recherche scientifique [CNRS], 2011).

II.2.1.2. Matériels de laboratoire

- ✓ UV spectrophotomètre de type UV-1240 SHIMADZU.
- ✓ Evaporateur rotatif de type Rotavapor BUCHI Heating bath R-491.
- ✓ Etuve de type Lab tech model LIB-060 M.
- ✓ Lyophilisateur à plateau (CHRIST, Alpha 1-2 LD, Allemagne).
- ✓ Autoclave de type Pbinternational.

- ✓ Pompe sous vide.
- ✓ Balance analytique.
- ✓ Bain marie.
- ✓ Verreries: Entonnoir, Erlenmeyers, Béchers, Eprouvettes graduées, Tubes à essais, Pipette et micropipette (de 1000µl, de 100µl et de 10µl).

II.2.1.3. Réactifs

a. Solvants et réactifs

- ✓ Carbonate de sodium (Na_2CO_3).
- ✓ Eau distillée.
- ✓ Folin Ciocalteu ($3\text{H}_3\text{O}$, P_2O_5 , 13WO_3 , 5MoO_3 , $10\text{H}_2\text{O}$) Production par (PROLABO) (10%).
- ✓ Méthanol ($\text{CH}_3\text{CO}_3\text{-OH}$) (99%) Production par (ALFA AESAR) (95%).
- ✓ Trichloride d'aluminium (AlCl_3) 2%.
- ✓ Vanilline (99,5%) Production par (ALFA AESAR).
- ✓ Gélose nutritive.
- ✓ Milieu de culture type Hinlton.
- ✓ Réactif de Wagner.
- ✓ Antibiotique (Gentamicine 120µg/disque).
- ✓ Solution de diméthyle sulfoxyde DMSO.

b. Solutions standards utilisées

- ✓ Acide ascorbique $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (99%) Production par (ALFA AESAR).
- ✓ Acide Gallique $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_6$ (99%) Production par (PROLABO).
- ✓ Quercétine d'hydraté $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ (97%) Production par (ALFA AESAR).

II.2.2. Méthodes

II.2.2.1. Technique de séchage

Le séchage consiste à extraire l'eau contenue dans la plante. Généralement, le séchage se fait par évaporation de l'eau de la plante dans l'air. Le but du séchage est de déshydrater un produit de façon à abaisser sa teneur en eau en dessous d'une valeur permettant sa conservation à température ambiante (Agbossou *et al.*, 2013). Le séchage fait intervenir à la fois des transferts de matière (eau), et aussi des transfert d'énergie (chaleur). Ces échanges ont lieu du fait des écarts de température et d'humidité à la périphérie du produit (Bert, 2008; Chalal *et al.*, 2008).

Les modes des séchages utilisés dans cette mémoire sont: aire libre, étuve, séchoir solaire et lyophilisateur.

a. Séchage à l'aire libre (à la température ambiante)

Le séchage à l'air libre est réalisé dans l'ombre, avec une circulation naturelle de l'air (Lahmari *et al.*, 2012). Les matières végétales doivent être étalées en fines couches sur des claies et mélangées ou retournées fréquemment. Pour que l'air circule facilement, les claies doivent être disposées à une hauteur suffisante (OMS, 2003). La température moyenne de la chambre est de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Le séchage est contrôlé par convection naturelle (Lahmari *et al.*, 2012). La durée de séchage varie de 3 à 5 jours et jusqu'à plus de deux semaines pour les herbes (Agence nationale de soutien à l'emploi de jeunes [ANSEJ], 2010).

b. Séchage à l'étuve 45°C

Un échantillon est séché par circulation d'air chaud. Pour intensifier les conditions de séchage ou ménager les substances sensibles à la chaleur, le séchage s'effectue souvent sous vide. Le taux d'humidité est obtenu par pesée différentielle avant et après le séchage (Mettler Toledo, 2002).

c. Séchage à l'aide d'un séchoir solaire

Le séchage par voie solaire est la méthode ancestrale la plus utilisée pour stabiliser les produits agricoles. Le séchage au soleil s'est largement développé dans les zones arides ou semi-arides qui présentent des conditions climatiques optimales: une saison sèche avec un fort ensoleillement, une faible pluviométrie, une hygrométrie peu élevée (Cilss, 1991).

Ils utilisent directement le soleil et l'air, où les produits sont répartis sur des claies ou des nattes, dans des cribs, ou disposé même au sol. Les cribs sont orientés perpendiculairement au vent dominant (Boussalia, 2010).

Pour cette étude, nous avons coupé les parties aérienne des plantes d'*Oudneya africana* R. *Retama raetam*, *calligonum comosum* L' her en petites morceaux et les bien couvert dans un papier extra, puis ces papiers ont été mises dans le séchoir solaire pendant 24heurs (à 42°C).

d. Séchage à l'aide d'un lyophilisateur

La lyophilisation, aussi appelée cryodessiccation, est un processus de sublimation où l'eau dans son état solide devient dans son état vapeur sans passer par son état liquide. La condition à vide assure la sublimation et par conséquence, ce processus est nommé aussi comme séchage par congélation à vide. Le produit final, maintient la plupart de ses traits originales comme la structure, taille, saveur, couleur et c'est qui est le plus important: les nutriments actifs (Marpa Vacuum, Sd).

II.2.2.2. Protocole d'extraction des composés phénoliques

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenues dans les parties aériennes de la plante par macération en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction (Madi, 2009).

Pour extraire les polyphénols de parties aériennes des plantes étudiées par macération, nous avons opté le protocole décrit par Romani *et al* 2006. En y apportant quelques modifications: Les plantes étudiées nettoyées et broyées sont mises à macérer dans un mélange méthanol/eau (7:3 V/V) à un rapport de 1/5 (P/V), Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement de solvant. L'extrait hydro-alcoolique est récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre N°1, le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rotavapeur, puis séché à l'étuve à une température ne dépasse pas 40°C, et conservé jusqu'à l'utilisation (Talbi *et al.*, 2015) (Annexe V).

II.2.2.3. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par Falleh *et al* (2008).

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}}/M_{\text{éch}}$$

Où: **R**: est le rendement en %.

M_{ext}: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M_{éch}: est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

II.2.2.4. Screening phytochimique

Un criblage phytochimique est réalisé sur les extraits préparés, afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés chimiques (Kamila, 2012).

A. Test de flavonoïdes

Traité 0.5ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes d'HCl concentré et 0.5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en l'espace de 3minutes (Bouhadjera *et al.*, 2005).

B. Test de tanins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 0.5 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl₃ (1% préparé au méthanol). Après l'agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Karumi *et al.*, 2004).

C. Test des alcaloïdes

A 0.2 ml d'extrait eau-méthanol, on ajoute 5 ml d'HCl à 1%, incubation au bain marie, on ajoute le réactif de Wagner. La formation d'un précipité brun révèle la présence des alcaloïdes (Kamila, 2012)

II.2.2.5. Dosage des composées phénoliques par la méthode colorimétrique «Analyse quantitative »

A. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Ross (1965) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalte. Pour quantifier la teneur en polyphenol, il faut utiliser une courbe d'étalon.

✓ La courbe standard d'acide gallique

Le dosage est réalisé selon la méthode citée avant, en utilisant le réactif de Folin. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PM_{12}O_{40}$ et d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ qui est réduit par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O et de molybdène Mo_8O_3 .

Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante, 200µl des solutions d'acide gallique de concentration de 0.01 jusqu'à 0.1mg/mL, ensuite 1000µl d'une solution de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée est ajouté puis immédiatement après il est ajouté 800µl d'une solution de Na_2CO_3 (7.5%). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environ 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760nm contre un blanc. La lecture de la densité optique à 760nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Belyagoubi Née Benhammou, 2012)

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µgEAG/mg d'extrait) (Meziti, 2009).

B. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 430 nm. Pour quantifier la teneur en flavonoïdes, il faut utiliser une courbe standard.

✓ La courbe standard de quercétine

Le dosage est réalisé selon la méthode citée avant, à 1ml de quercétine (préparés dans le méthanol) de concentration 0.05 jusqu'à 0.3mg/ml est ajouté 1ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 30 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430nm (Zhishen *et al.*, 1999).

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$) (Meziti, 2009).

C. Dosage des tanins condensés (CT)

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide décrit par Ba *et al* (2010). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. Pour quantifier la teneur en tanins condensés, il faut utiliser une courbe standard.

✓ La courbe standard de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage a été obtenue par des solutions d'acide gallique de concentration varie entre 0.2 jusqu'à 0.8mg/ml. 0.5ml de chaque solution a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai en verre, et ajouté 3ml de la solution vanilline/méthanol (4%v/v), puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 1,5ml de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionnés. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 30min. L'absorbance est mesuré à 500nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (Mahmoudi *et al.*, 2013).

La concentration des tanins est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acid gallique et est exprimée en microgramme d'équivalent de acid gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$) (Meziti, 2009).

II.2.2.6. Etude des activités biologiques

A. Evaluation l'activité antioxydante

L'évaluation de l'aptitude du composé (extrait) à piéger des radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber la création de radicaux libres (Hemmami et Guezei, 2013).

Les tests proposés pour la mise en évidence du pouvoir antioxydant et antiradicalaire de nos extraits phénoliques ont été réalisé par de test DPPH.

Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune (Parejo *et al.*, 2002).

L'activité de piégeage radicalaire des extraits contre les radicaux DPPH a été mesurée en utilisant la méthode de Brand-Williams, Cuvelie et Berset (1995), modifiée légèrement comme suit: une aliquote (1ml) d'une solution méthanolique contenant différentes quantités ont été ajoutés à 2ml d'une solution méthanol quotidienne DPPH préparée (0,1mM). Le mélange a été agité doucement et on laisse reposer à la température ambiante dans l'obscurité pendant 15min. Ensuite, l'absorbance a été lue à 515nm.

L'activité de piégeage a été mesurée par la diminution de l'absorbance des échantillons par rapport à une solution étalon DPPH (Dziri *et al.*, 2012).

Le contrôle positif est représenté par des solutions d'antioxydants standards: l'acide gallique avec de concentration 0.0001 jusqu'à 0.0006mg/ml et l'acide ascorbique avec de concentration 0.01 jusqu'à 0.08ml/mg. dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons testés (Talbi *et al.*, 2015).

Les résultats ont été exprimés en pourcentage (%) du radical selon la formule DPPH:

$$I \% \text{DPPH radical scavenging} = [(A_0 - A_s) / A_0] * 100$$

Où: I %: Pourcentage d'inhibition

A_0 : est l'absorbance du controle.

A_s : est l'absorbance de l'échantillon (Dziri *et al.*, 2012).

✓ Détermination de la concentration inhibitrice IC_{50} %

Le paramètre IC_{50} qui indique le pouvoir antioxydant d'un composé ou d'un extrait et qui est défini comme étant la concentration de l'extrait exprimée en mg/ml nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH. La valeur d' IC_{50} de chaque extrait est déduite à partir des équations des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur de IC_{50} est petite plus l'activité antioxydante des extraits est grande (Bokhari *et al.*, 2013).

B. Evaluation de l'activité antibactérienne

Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite par (Bio-Rad, 2010; Sordalab, Sd; Biokar, 2015; Meddour *et al.*, 2013).

B.a. souches de test

On a choisi de travailler sur 4 espèces pathogènes qui sont; le *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Micrococcus* (bactérie à gram positif), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 (bactéries à gram négatif). Ces espèces sont procurées par le laboratoire de biologie d'université d'Echahide hamma lakhdar d'elOued.

B.b. Repiquage des espèces bactériennes

Dans des conditions stériles, prélever une colonie isolée et représentative de la souche à l'aide d'une pipette pasteur stérile ou d'un ensemenceur, puis étaler en stries sur une nouvelle boîte de milieu de culture et ensuite cultiver dans l'étuve à 37°C pendant 24h. Si les nouvelles cultures obtenues sont représentatives de celle reçues initialement, il est possible pour la préparation de l'inoculum.

B.c. Préparation des milieux de culture

Couler le milieu de culture gélosé (Muller Hinton) en sur fusion dans les boîtes de Pétri de façon à obtenir une épaisseur de 3mm pour les boîtes d'un diamètre de 90mm. Laisser refroidir et solidifier le milieu gélosé en plaçant les boîtes avec les couvercles en place sur une surface fraîche et horizontale ou sous une hotte à flux laminaire.

B.d. Préparation de l'inoculum

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans un volume d'eau physiologie.

B.e. Ensemencement par écouvillonnage

Selon la méthode de Kirby-Bauer, à partir de l'inoculum standardisé pour ensemencer la boîte:

- ✓ Plonger un écouvillon stérile, non toxique dans la suspension.
- ✓ L'essorer doucement sur les parois.
- ✓ Ensemencer la boîte à l'aide de l'écouvillon afin d'obtenir une culture de colonies confluentes.

B.f. Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre préparés par de papier wathman N°1, et autoclavés pendant 20 minutes à 120°C.

Des disques de papier Wathman stériles sont imprégnés de concentrations croissantes d'extraits secs repris avec le diméthyle sulfoxyde (DMSO) ($C_1 = 1\text{mg/ml}$, $C_2 = 0.75\text{mg/ml}$, $C_3 = 0.5\text{mg/ml}$ et $C_4 = 0.25\text{mg/ml}$) et appliqués, à l'aide d'une pince, sur la surface du milieu gélose Miller Hinton. Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 24 heures à 37°C.

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition et comparée avec celle de DMSO comme contrôle négatif et d'un antibiotique comme contrôle positif (Gentamicine 120µg/disc).

II.3. Analyses Statistiques

Dans cet étude nous avons utilisé le test statistique ANOVA un facteur, sans répétition pour analyser l'effet de séchage par le logiciel MINITAB2016. La différence a été considérée statistiquement significative à $p < 0,05$.

Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentration)].

TROISIÈME PARTIE



RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

Le rendement de l'extraction qui est le rapport entre le poids d'extrait et le poids de plante est donné dans le tableau 07.

Tableau 07: Rendements des extraits obtenus à partir des trois plantes séchées par à différents modes de séchage.

Plante	Mode de séchage	Caractères organoleptiques		Rendement %
		Aspect	Couleur	
<i>Oudneya Africana</i> R. (Hennet l'ibel)	Fraîche	Pâte	Marron verdâtre	9.36
	Etuve	Pâte	Vert olive foncé	20.21
	l'air libre	Pâte	Marron foncé	23.77
	Séchoir solaire	Poudre	Marron clair	18.64
	Lyophilisation	Pâte	Marron foncé	21.39
<i>Retama raetam</i> (Rtam)	Fraîche	Poudre	Vert olive foncé	11.79
	Etuve	Pâte	Marron foncé	20.32
	l'air libre	Poudre	Marron foncé	16.77
	Séchoir solaire	Poudre	Marron foncé	11.88
	Lyophilisation	Pâte	Marron	18.05
<i>Calligonum comosum</i> L'her (Larta)	Fraîche	Poudre	Jaune terreuse	10.02
	Etuve	Poudre	Marron clair	11.54
	l'air libre	Poudre	Marron foncé	8.28
	Séchoir solaire	Poudre	Rouge brique clair	14.52
	Lyophilisation	Poudre	Rouge brique foncé	13.03

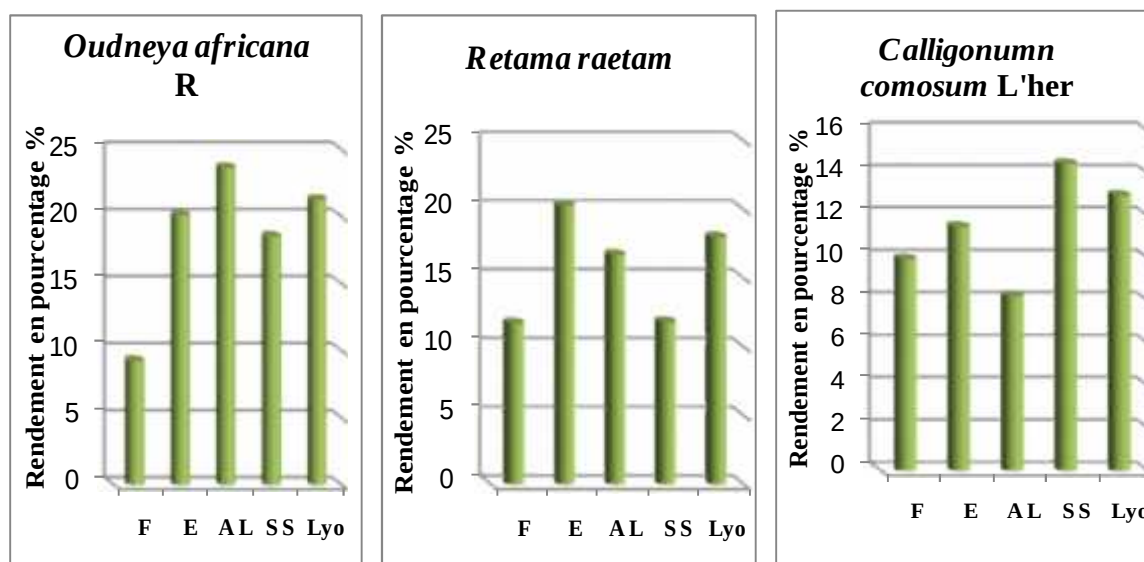


Figure 29: Rendement des extraits obtenus à partir des plantes étudiées.

F: fraîche, E: étuve, AL: air libre, SS: séchoir solaire, Lyo: lyophilisation.

Selon les résultats obtenus, nous remarquons que le rendement le plus élevé pour l'espèce *Oudneya africana* R. séché à l'air libre est de 23.77% suivie par les extraits des échantillons séchés à l'aide d'un lyophilisateur, étuve et au séchoir solaire avec des taux 21.39%, 20.21% et 18.64% respectivement. Le rendement le plus faible est enregistré dans l'extrait de la plante fraîche avec une teneur de 9.36%.

Concernant l'espèce *Retama raetam*, le rendement le plus élevé à savoir 20.32 % a été enregistré dans la plante séché à l'étuve, suivie par les extraits d'échantillon séchée à l'aide d'un lyophilisateur et à l'air libre avec des taux 18.05% et 16.77% respectivement. Le rendement la plus faible est enregistré dans l'extrait de la plante séchée au séchoir solaire et la plante fraîche avec une teneur respectifs de 11.88 % et 11.79%.

Par ailleurs, l'espèce *Calligonum comosum* L'her, le rendement le plus élevé à savoir 14.52% et 13.03% a été enregistré dans la plante séché au séchoir solaire et à l'aide d'un lyophilisateur, suivie par l'extrait d'échantillon séchée à l'étuve et l'échantillon fraîche avec des taux 11.54 % et 10.02 % respectivement. Le rendement le plus faible est enregistré dans l'extrait de la plante séchée à l'air libre avec une teneur de 8.289 %.

III.1.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique consiste à détecter les différents familles de composés existent dans la partie aérienne de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitations ou de colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé (Zirar, 2014). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 08

Tableau 08: Résultats de screening phytochimique des extraits obtenus à partir des trois plantes étudiées.

La plante	Le mode de séchage	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Tanins	
				Cathéchiques	Galliques
<i>Oudneya africana</i> R. (Hennet l'ibel)	Fraîche	++	++	+	-
	Etuve	+++	+	++	-
	l'air libre	++	+	-	+
	Séchoir solaire	+	++	-	+
	Lyophilisation	-	+	-	+
<i>Retama raetam</i> (Rtam)	Fraîche	++	++	+++	-
	Etuve	+++	+++	+++	-
	l'air libre	++	+++	++	-
	Séchoir solaire	+	++	+++	-
	Lyophilisation	+	+++	+	-
<i>Colligonum comosum</i> L'her (larta)	Fraîche	+	+++	-	+
	Etuve	++	++	-	++
	l'air libre	+++	+	++	-
	Séchoir solaire	+++	+	-	++
	Lyophilisation	++	+	-	++

(+): présence de trace (++) : présence moyenne quantité (+++) : la richesse (-) : l'absence

D'après les résultats obtenus, nous avons notés que l'extrait méthanolique en générale est riche en flavonoïdes en revanche l'extrait de plante lyophilisée est dépourvu.

D'après nos résultats, la quantité des flavonoïdes dans l'*Oudneya africana* R. présente une quantité élevée pour l'extrait qui séché à l'étuve, et une quantité moyenne pour l'extrait séché à l'air libre et la plante fraîche, et en faible quantité dans l'extrait de plante séché au séchoir solaire.

Par ailleurs, pour la plante de *Retama raetam* a constaté le même quantité des flavonoïdes, chez l'*Oudneya africana* R. avec la présence de faible quantité dans l'extrait de plante lyophilisée. Mais dans le cas de *Colligonum comosum* L'her, les flavonoïdes

présentent une grande quantité dans l'extrait d'échantillon séché à l'air libre et au séchoir solaire et une quantité moyenne de flavonoïdes dans les extraits des plantes séchées à l'étuve et au lyophilisateur, et en quantité faible dans la plante fraîche.

Par ailleurs, pour le test chimique des alcaloïdes on a trouvé une présence plus ou moins abondante en ce métabolite dans les plantes étudiées.

Pour la plante d'*Oudneya africana* R. présente une moyenne quantité pour l'extrait de plante séché au séchoir solaire et même dans les plantes fraîches et une faible quantité dans l'échantillon séché à l'air libre, lyophilisé et à l'étuve. Dans le cas de *Retama raetam*, on a observé une grande quantité dans l'extrait séché à l'étuve, lyophilisé et à l'air libre et une quantité moyenne dans l'extrait séché au séchoir solaire et fraîche.

Mais pour *Colligonum comosum* L'her nous avons constatés une richesse des alcaloïdes dans les extraits de plante fraîche et une quantité moins importante dans l'échantillon séché à l'étuve et une faible quantité de l'extrait séché dans l'air libre, séchoir solaire et lyophilisateur.

Pour le test des tanins nous avons trouvés chez l'espèce d'*Oudneya africana* R. dans les modes de séchage à l'air libre, séchoir solaire et lyophilisé la présence des tanins galliques, cependant l'extrait de plante fraîche présente une quantité faible de tanins cathéchiques et une quantité moyenne de l'extrait séché à l'étuve.

Concernant l'espèce de *Retama raetam*, on observe une grande quantité des tanins cathéchiques dans les échantillons qui sont séchés par le séchoir solaire, à l'étuve et l'extrait frais, et une concentration moyenne dans l'extrait séché à l'air libre et lyophilisé.

En parallèle, on remarque pour l'espèce *Colligonum comosum* L'her, la présence des tanins galliques pour les échantillons qui sont séchés au séchoir solaire, lyophilisateur et à l'étuve avec une concentration moyenne et une teneur faible dans l'extrait de la plante fraîche. Par contre l'extrait de la plante qui était séchée par l'air libre présente des tanins cathéchiques.

III.1.3. Analyse quantitative des composés phénoliques

III.1.3.1. Quantification des polyphénols totaux (PPT)

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mgEAG/g de MS) et déterminé par l'équation de type: $y=5.339x+0.010$ sachant que $R^2 = 0,987$ (figure 30).

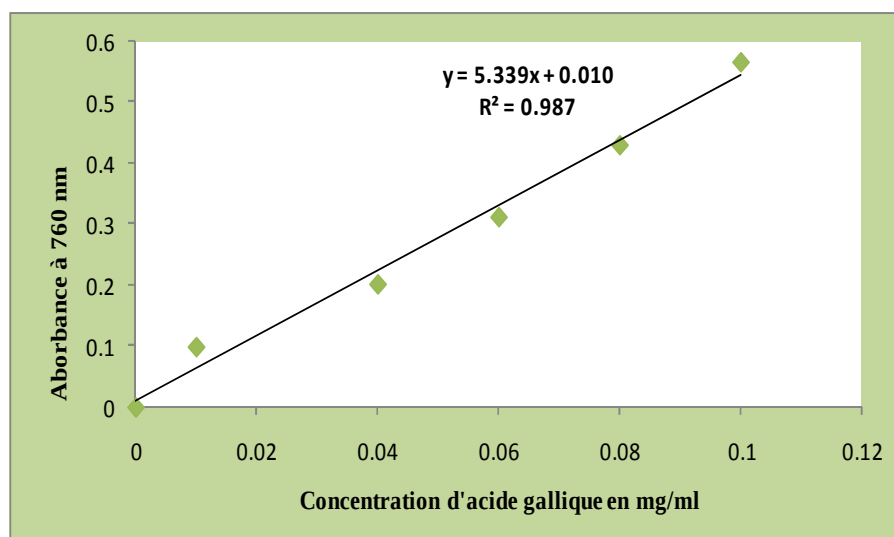


Figure 30: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

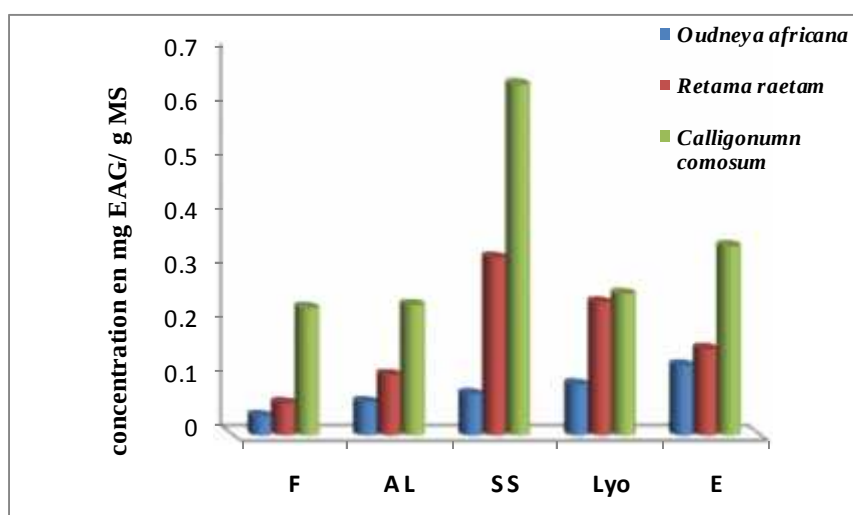


Figure 31: Teneurs en polyphénols totaux dans les plantes étudiées.

F: Plante fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoire solaire, **Lyo:** Lyophilisé, **E:** Etuve.

D'après la figure 31 nous avons observé une variabilité des teneurs en polyphénols dans les plantes étudiées. Les résultats obtenus de la plante séchée au séchoir solaire pour espèce *Calligonum comosum* L'her, elle est de l'ordre de 647.02µgEAG/gMS. Cette teneur est plus élevée, que la même espèce la teneur la plus faible en plante fraîche égale (235.99µgEAG/gMS).

Pour l'espèce *Retama raetam* la concentration de polyphénols dans la plante séchée au séchoir solaire représente la valeur la plus élevée (328.15µgEAG/gMS), comme on remarque une quantité proche de cette valeur pour la plante séchée par lyophilisation et de: (245.69µgEAG/gMS), et on remarque des résultats de l'étuve et air libre avec des teneurs:

(160.32 μ gEAG/gMS), (112.36 μ gEAG/gMS) respectivement et en fin on remarque dans la plante fraîche la valeur suivante: (60.93 μ g EAG/gMS).

Pour l'espèce d'*Oudneya africana* R. la concentration de polyphénols représente la valeur suivante (130.01, 94.9, 77.17, 62.68, 36.88) (μ gEAG/gMS) dans les différents mode de séchage: plante séché à l'étuve, lyophilisé, séchoir solaire, l'aire libre, fraîche successivement, donc on remarque la grande valeur à l'extrait séché par l'étuve (130.011 μ gEAG/gMS) et la valeur bas en fraîche (36.88 μ gEAG/gMS).

Pour les trois plantes étudiées nous avons remarqué que la teneur la plus élevée dans les plantes *Calligonum comosum* L'her et *Retama raetam* séchés au séchoir solaire, elles sont de l'ordre de 647.15 μ gEAG/gMS, 328.15 μ gEAG/gMS respectivement. Suivi par d'*Oudneya africana* R. séché à l'étuve avec une teneur de 130.011 μ gEAG/gMS. les résultats des analyses statistiques montrent qu'il y a une différence hautement significative entre le mode de séchage et la teneur des polyphénols totaux ($P < 0.05$).

III.1.3.2. Quantification des flavonoïdes totaux (FVT)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et l'étalon été la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g de MS). Les taux des flavonoïdes des 15 extraits ont été obtenu à partir du courbe d'étalonnage qui suit une équation de type: $y = 22.38x + 0.045$ sachant que $R^2 = 0.984$ (figure 32).

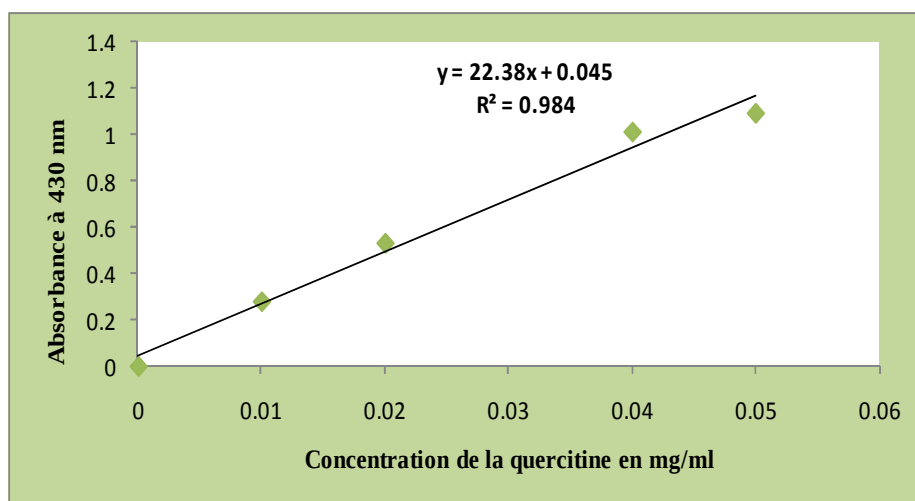


Figure 32: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

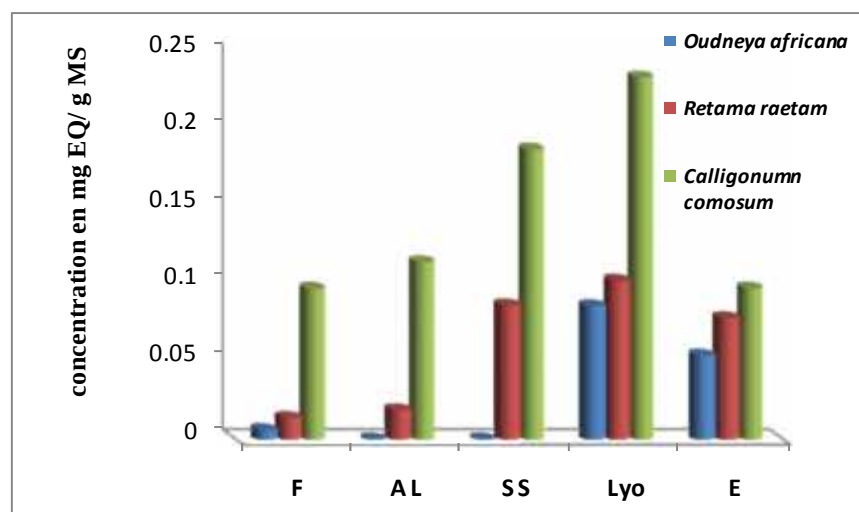


Figure 33: Teneur en flavonoïdes totaux des plantes étudiées.

F: Plante fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoire solaire, **Lyo:** Lyophilisation, **E:** Etuve.

D'après l'histogramme illustré dans la figure 33. Les résultats révèlent que les extraits des *Calligonum comosum* L'her, *Retama raetam* et d'*Oudneya africana* R. ont présentés des teneurs fortes en flavonoïdes pour le séchage à lyophilisateur 235.99µgEQ/gMS, 103.7µgEQ/gMS et 87.32µgEQ/gMS respectivement. Les résultats des analyses statistiques, révèlent un effet significatif entre le mode de séchage sur la teneur des flavonoïdes totaux ($P < 0.05$).

III.1.3.3. Quantification des tanins condensés (TC)

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de la vanilline en milieu acide. La teneur en tanins est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mgEAG/gMS).

Les taux des tanins des extraits ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type: $y = 7.058x - 0.028$ sachant que $R^2 = 0,972$ (figure 34).

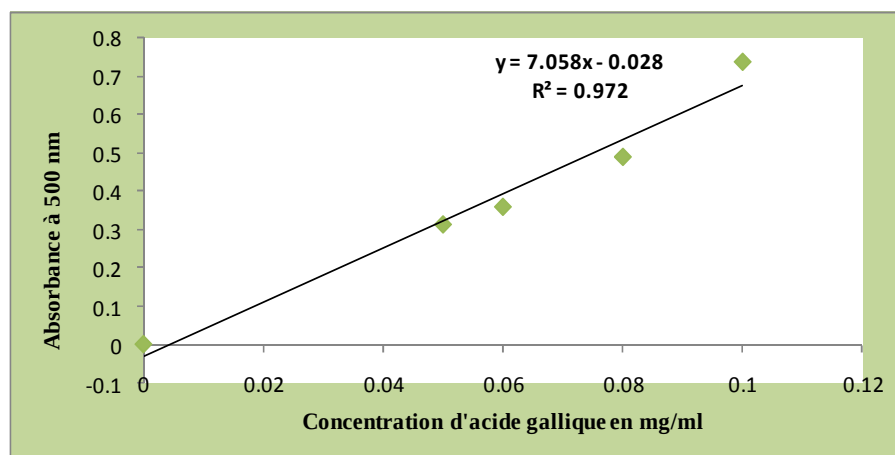


Figure 34: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des tanins totaux.

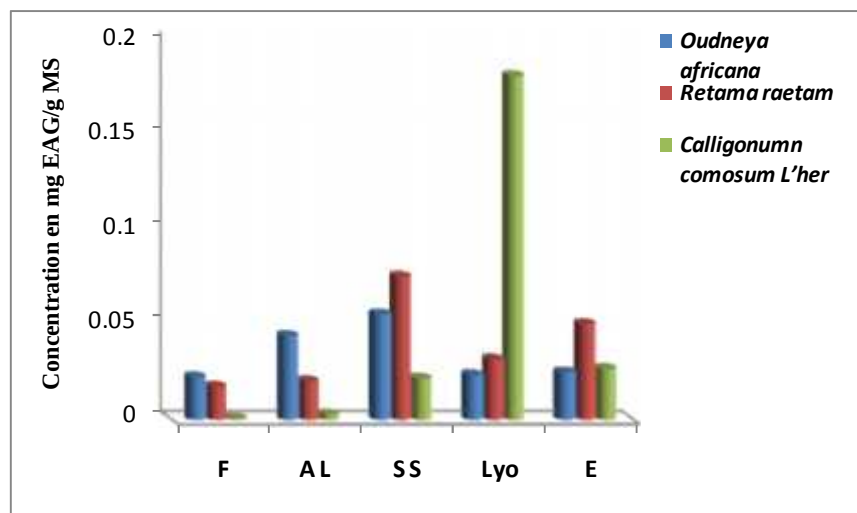


Figure 35: Teneurs en tanins totaux des plantes étudiées.

F: Plante fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoire solaire, **Lyo:** Lyophilisation, **E:** Etuve.

D'après l'histogramme illustré dans la figure 35, nous avons observés une variabilité des teneurs en tanins dans les plantes étudiées. Les résultats obtenus pour la concentration de tanins de la plante séchée à l'aide de lyophilisateur pour les espèces *Calligonum comosum* L'her, elle est de l'ordre de 182.26µgEAG/gMS. Cette teneur est plus élevée, que la même espèce à l'étuve et au séchoir solaire avec (27.5µgEAG/gMS; 22.43µgEAG/gMS), ainsi que la teneur la même espèce à l'air libre et plante fraîche avec des teneurs 3.37µgEAG/gMS et 1.19µgEAG/gMS respectivement.

Pour l'espèce *Retama raetam* la concentration de tanins dans la plante séché au séchoir solaire représente la valeur la plus élevée (76.22µgEAG/gMS), que la même espèce séché à l'étuve avec (51.195µgEAG/gMS), ainsi que la même espèce lyophilisée (32.51µgEAG/gMS), et en l'air libre avec (20.96µgEAG/gMS), et la teneur de l'extrait frais égale (18.13µgEAG/gMS).

Pour l'espèce d'*Oudneya africana* R. la concentration de polyphénols représente la valeur suivant (56.389, 44.960, 25.715, 24.227, 23.023) (µgEAG/gMS) dans les différents modes de séchage: plante séchée au séchoir solaire, l'aire libre, étuve, lyophilisée et fraîche successivement, donc on remarque la grand valeur au séchoir solaire (56.389µgEAG/gMS) et la valeur bas en fraîche (23.023µgEAG/gMS).

Pour les trois plantes étudiées, La teneur le plus élevée est constatée dans l'extrait de *Calligonum comosum* L'her avec un teneur de 182.26µgGAE/gMS séché au lyophilisé, suivi par l'extrait *Retama raetam* et *Oudneya africana* R. séché au séchoir solaire avec une teneur de 76.226µgGAE/gMS et 56.389µgGAE/gMS respectivement. Les résultats des analyses

statistiques, révèlent un effet significatif entre le mode de séchage et la teneur des tanins totaux ($P < 0.05$).

III.1.4. Evaluation l'activité biologique

III.1.4.1. Evaluation l'activité antioxydante

Le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 515 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés polyphénoliques. Dans ce test on utilise l'acide ascorbique et acide gallique comme standards, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans la courbe d'étalonnage (figure 36, 37), ayant l'équation: $Y = 8.271x + 20.68$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.978$ et $Y = 124.3x + 27.16$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.993$.

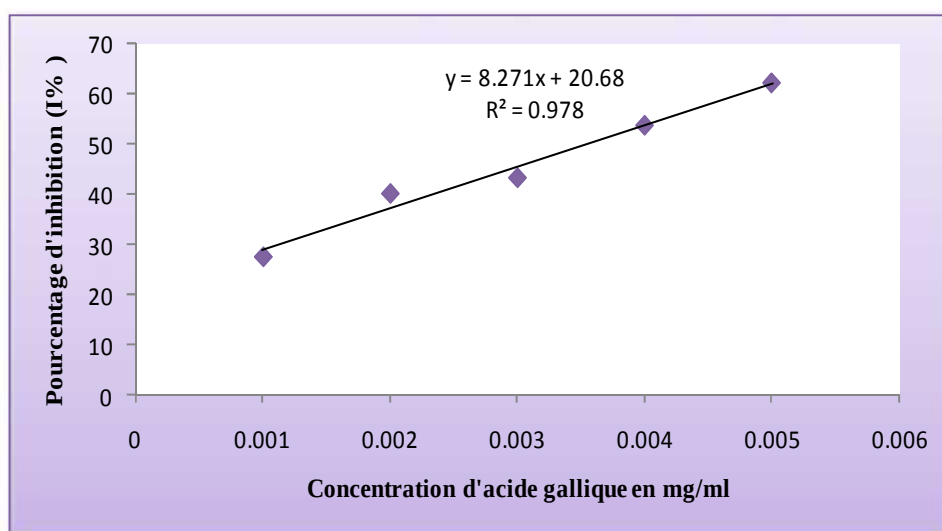


Figure 36: Courbe d'étalonnage d'acide gallique de test DPPH.

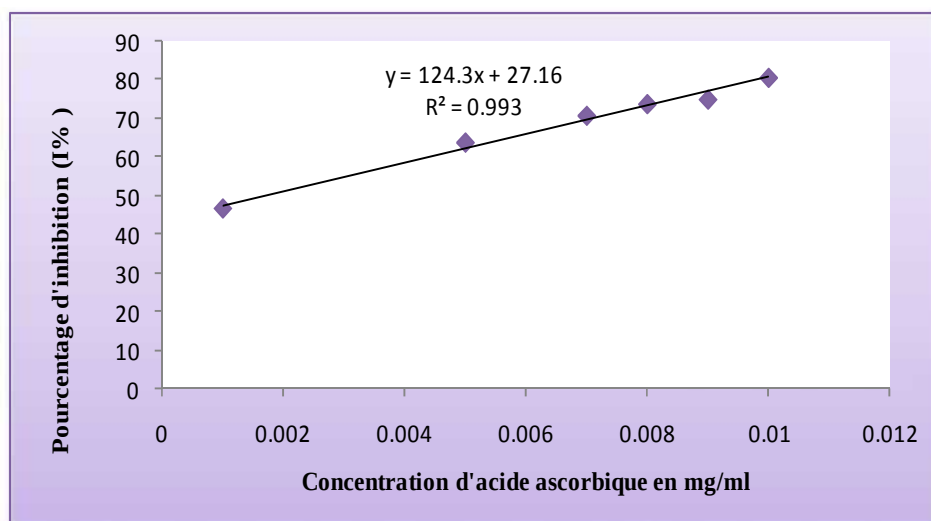


Figure 37: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique de test DPPH.

Le radical libre DPPH a permis l'estimation de l'activité antioxydante des composés isolés et identifiés. C'est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté par les extraits testés. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité antiradicalaire de l'extrait, et dépend de la nature, la concentration et la puissance de cet extrait (Favier et Hininger-Favier, 2005).

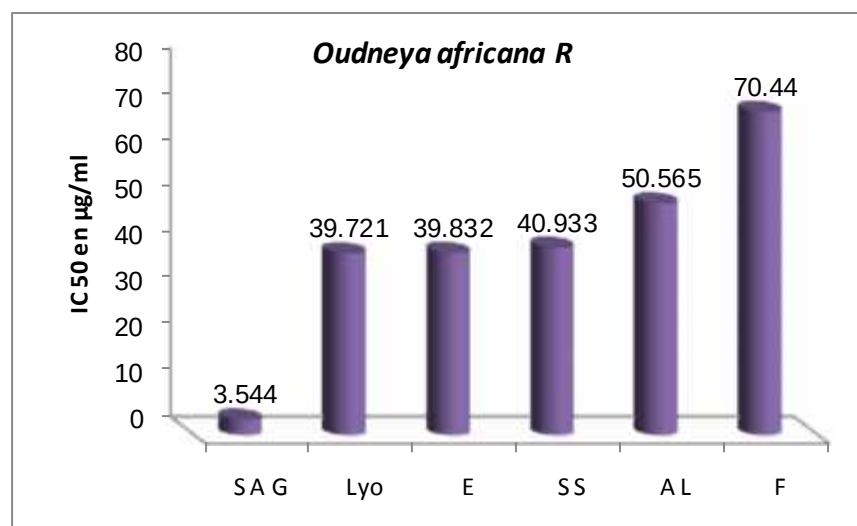


Figure 38: Valeur IC₅₀ d'*Oudneya africana* R. et composé standard (acide gallique).

SAG: Standard acide gallique, **Lyo:** Lyophilisation, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **E:** Etuve, **F:** Fraiche.

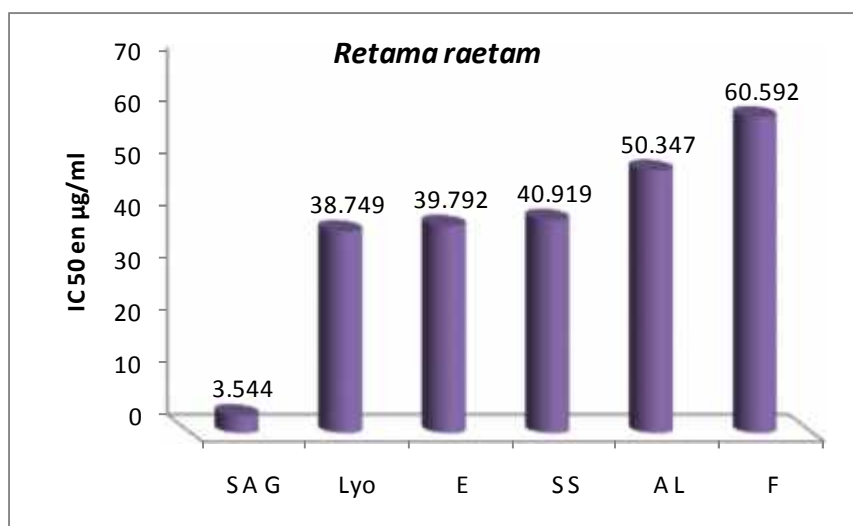


Figure 39: Valeur IC₅₀ de *Retama raetam* et composé standard (acide gallique).

SAG: Standard acide gallique, **Lyo:** Lyophilisation, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **E:** Etuve, **F:** Fraiche.

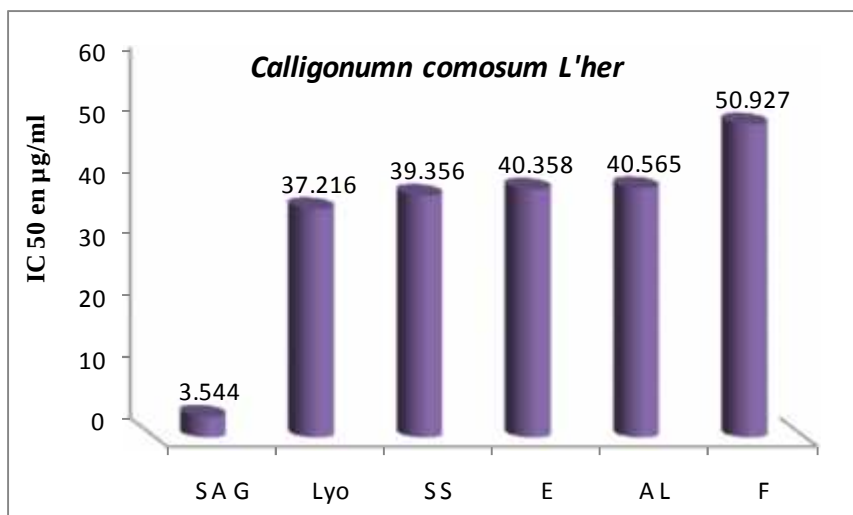


Figure 40: Valeur IC₅₀ de *Calligonum comosum* L'her et composé standard (acide gallique).

SAG: Standard acide gallique, **Lyo:** Lyophilisé, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **E:** Etuve, **F:** Fraiche.

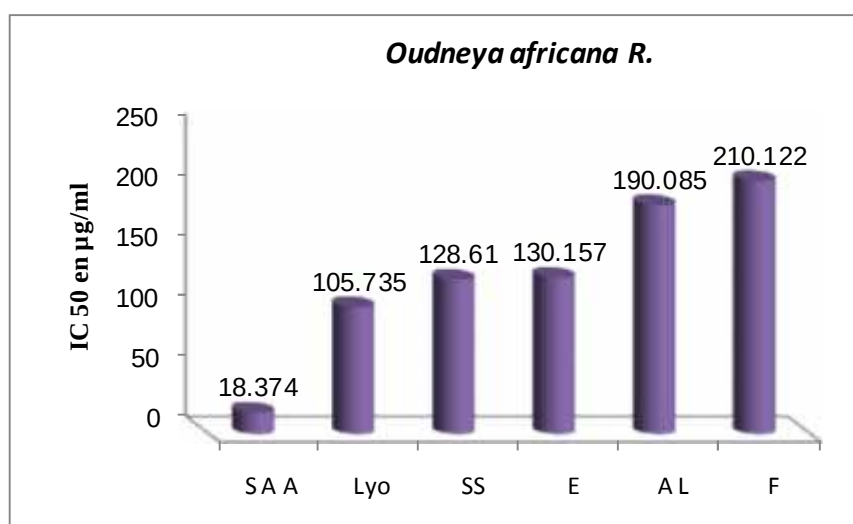


Figure 41: Valeur IC₅₀ d'*Oudneya africana* R. et composé standard (acide ascorbique).

SAA: Standard acide ascorbique, **Lyo:** Lyophilisé, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **E:** Etuve, **F:** Fraiche.

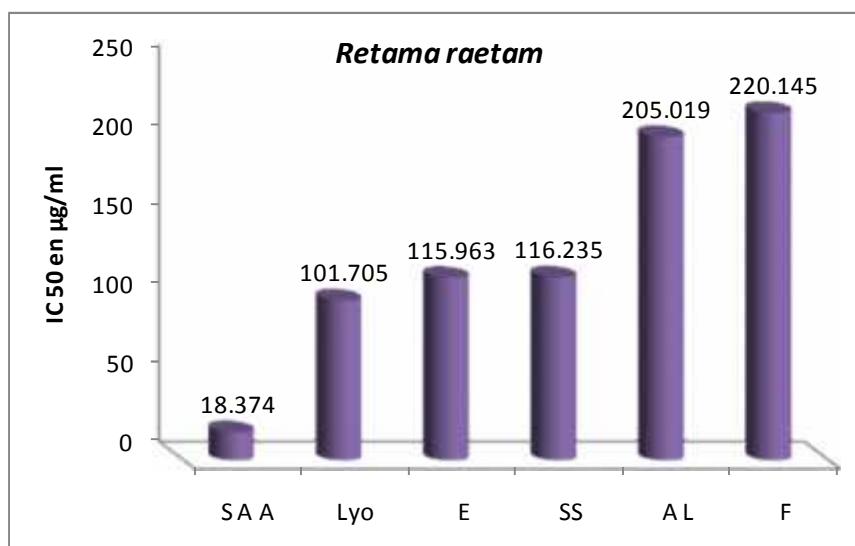


Figure 42: Valeur IC₅₀ de *Retama raetam* et composé standard (acide ascorbique).
SAA: Standard acide ascorbique, **Lyo:** Lyophilisé, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **E:** Etuve, **F:** Fraiche.

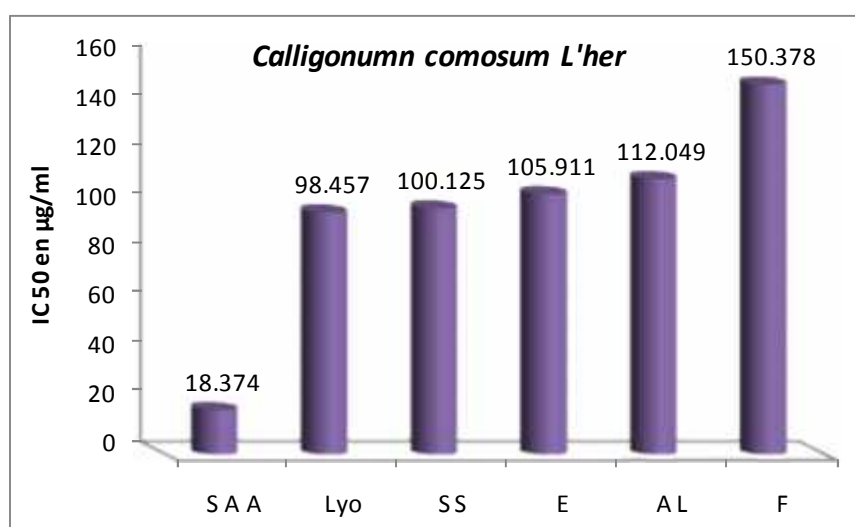


Figure 43: Valeur IC₅₀ de *Calligonum comosum* L'her et composé standard (acide ascorbique).

SAA: Standard acide ascorbique, **Lyo:** Lyophilisé, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **E:** Etuve, **F:** Fraiche.

L'activité antioxydante des extraits a été déterminée par le test DPPH. Les figures (38, 39, 40, 41, 42 et 43) montrent l'activité de balayage de DPPH, exprimée en IC₅₀% (Concentration inhibant 50% des radicaux), Ces CI₅₀ sont déterminées à partir des graphes (figure 36 et 37) dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage.

Tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire envers le DPPH, plus la valeur de l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Selon le résultat présenté dans les figures 38, 39, 40, 41, 42 et 43, nous avons observés une variabilité dans les valeurs IC₅₀ dans cinq modes séchage et pour les trois plantes étudiées. L'IC₅₀ plus faible nous avons constaté à plante séchée par lyophilisateur avec des teneurs (39.721µg/ml et 105.735µg/ml) pour *Oudneya africana* R. et (38.749 µg/ml et 101.705µg/ml) pour *Retama raetam* et pour *Calligonum comosum* L'her avec les valeurs (37.216µg/ml et 98.457µg/ml), ces qui sont largement supérieure à celle de l'acide gallique de dont la valeur est de l'ordre de 3.544µg/ml et l'acide ascorbique 18.374µg/ml respectivement.

III.1.4.2. Activité antibactérienne

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits sont regroupés dans les tableaux 9 et 10.

Les valeurs indiquées sont les moyennes de deux mesures. L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, seules les zones d'inhibition supérieures à 10 mm sont considérées comme positives (Hassan *et al.*, 2006), et les extraits ont une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12mm (Sagdaç, 2003).

Tableau 09: Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits sur les bactéries Gram négatif.

		Souches bactériennes							
		P.aeruginosa				E.coli			
Plante	Mode de séchage	Dilution (mg/ml)							
		1	0.75	0.5	0.25	1	0.75	0.5	0.25
Oudneya Africana R. (Hennet l'ibel)	Fraîche	7.5	7	6	6	8.25	6.75	6	6
	L'air libre	6	6	6	6	7.75	7.25	7	6.25
	Séchoir solaire	8	6.125	6	6	7.312	6.25	6	6
	Etuve	6	6	6	6	8.5	7.75	7.25	7
	Lyophilisation	8.5	8	8	7.75	8.375	7.25	7	7
Retama raetam (Rtam)	Fraîche	10	8.625	7	6	11.5	10	8.5	8.25
	L'air libre	8.937	6.75	6.25	6	8.187	8	7.25	6.625
	Séchoir solaire	11	7.25	7	6	12	8.75	7.5	7
	Etuve	6	6	6	6	6	6	6	6
	Lyophilisation	11	9	9	6	11	8	7.5	7
Calligonumn comosum L'her (Larta)	Fraîche	6	6	6	6	6	6	6	6
	L'air libre	8.75	8.25	8.25	6	8.5	7.75	7	6
	Séchoir solaire	10	7	6.5	6	10.5	8.125	7.25	6.50
	Etuve	10.5	7	6.5	6	6	6	6	6
	Lyophilisation	6	6	6	6	6	6	6	6

Tableau 10: Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits sur les bactéries Gram positif.

		Souches bactériennes							
		S. aureus				Micrococcus			
Plante	Mode de séchage	Dilution (mg/ml)							
		1	0.75	0.5	0.25	1	0.75	0.5	0.25
Oudneya Africana R. (Hennet l'ibel)	Fraîche	6	6	6	6	7.75	7	7	6
	l'air libre	7.625	7.25	7.125	7	8.25	7.5	7.1	7
	Séchoir solaire	9.125	8.312	8	6.5	10.165	7.75	7.25	7
	Etuve	7	6.5	6	6	7.25	6.25	6	6
	Lyophilisation	8.625	7.75	7	6	10.5	8	8	6.5
Retama raetam (Rtam)	Fraîche	13.25	10.5	9.75	8.5	12	9	7.5	7
	l'air libre	8	7	6.785	6	9.125	8.5	6.5	6.25
	Séchoir solaire	8.25	6.875	6.25	6	14	9.5	7.125	6.875
	Etuve	6	6	6	6	8.5	7.5	7.5	7
	Lyophilisation	15	9	7.5	7	9	9	7.5	6
Calligonum comosum L'her (Larta)	Fraîche	6	6	6	6	7.375	7	6.50	6
	l'air libre	10	7.875	7	6	11	9.625	9	6
	Séchoir solaire	11.5	8.5	8	6	10.5	10	9	8
	Etuve	11.25	8.875	6	6	6.75	6.5	6	6
	Lyophilisation	7.625	7.5	7.125	6	7.75	7.375	7	6.5

Les zones d'inhibitions mesurées en mm.

Les résultats révèlent que les extraits méthanoliques exercent un effet antibactérien considérable sur les quatre souches bactérienne ces resultats sont représentés dans les figures 44, 45 et 46.



Figure 44: Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de la plante *Oudneya africana* R. étuvée sur les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *micrococcus*).

O: *Oudneya africana*, A: Antibiotique (Gentamicine), E: étuve.



Figure 45: Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de la plante *Calligonum comosum* L'her étuve sur les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *micrococcus*).

L: *Calligonum comosum* L'her, A: Antibiotique (Gentamicine), Lyo: Lyophilisée.



Figure 46: Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de la plante *Retama raetam* lyophilisée sur les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *micrococcus*).

R: *Retama raetam*, A: Antibiotique (Gentamicine), Lyo: Lyophilisée.

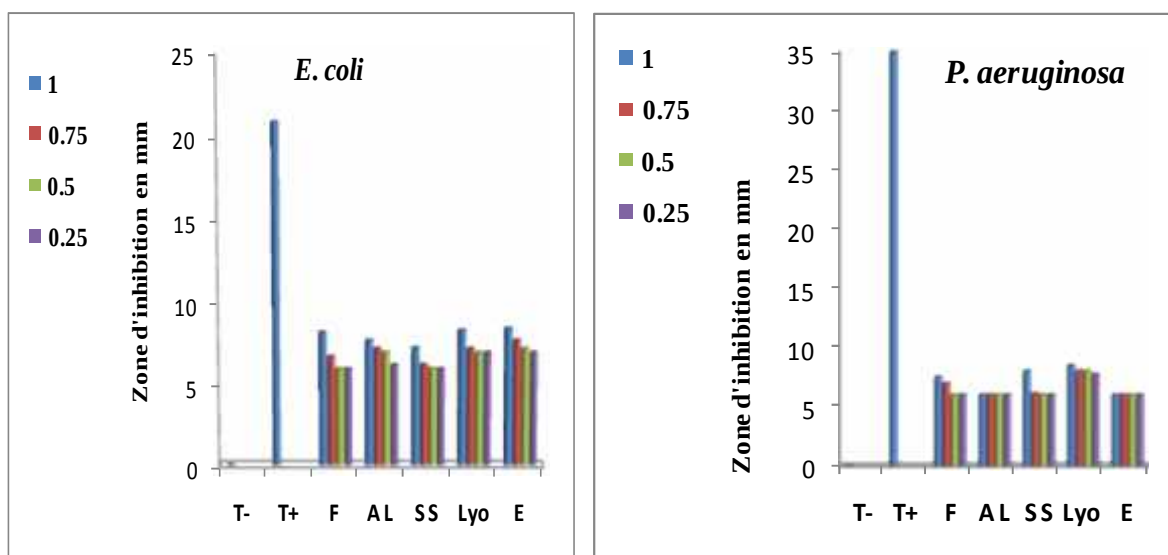


Figure 47: Effet des extraits d'*Oudneya africana* R. sur les deux souches bactérienne Gram négatif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.

T: Témoin négatif, **T⁺:** Témoin positif, **F:** Fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **Lyo:** Lyophilisée, **E:** Etuve.

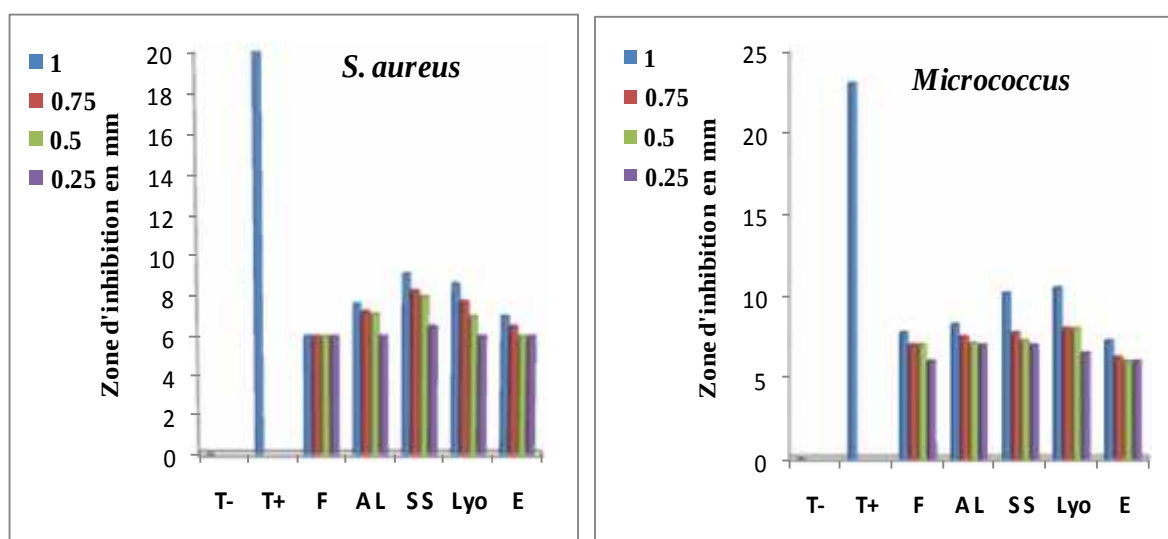


Figure 48: Effet des extraits d'*Oudneya africana* R. sur les des deux souches bactérienne Gram positif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.

T: Témoin négatif, **T⁺:** Témoin positif, **F:** Fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **Lyo:** Lyophilisée, **E:** Etuve.

D'après le tableau 09, 10 et les figure 47 et 48 les résultats montrent clairement un effet remarquable de l'extrait méthanolique d'*Oudneya africana* R. sur les quartes souches étudiées, à l'exception du plantes séché à l'étuve et l'air libre sur *P. aeruginosa* et sur *Staphylocoque aureus* dans l'échantillon frais.

Chez l'espèce d'*Oudneya africana* R. on enregistre un effet significatif sur *Micrococcus* par la plante séchée à l'aide d'un lyophilisateur et séchoir solaire à un diamètre d'inhibition égal 10.5mm et 10.165mm respectivement.

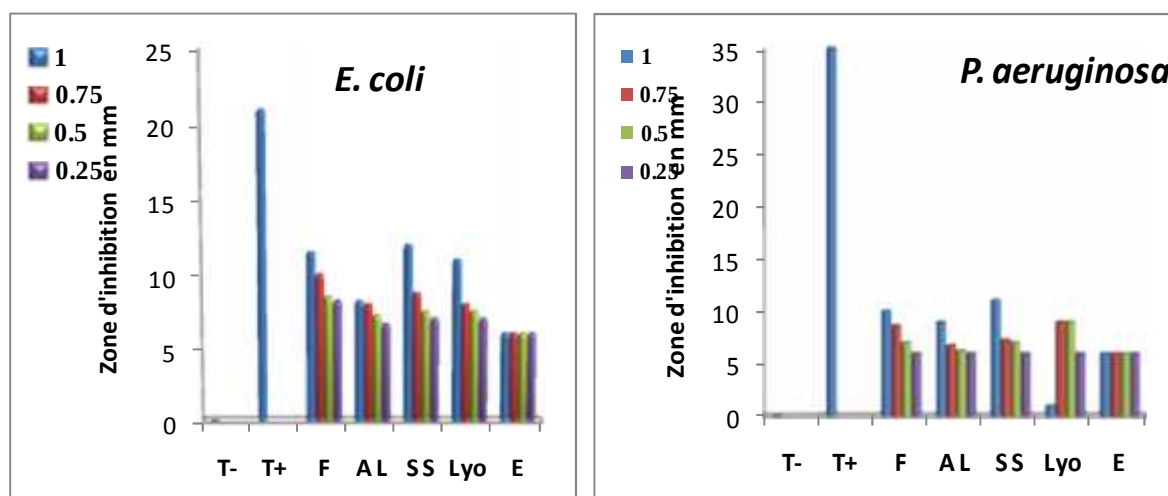


Figure 49: Effet des extraits de *Retama raetam* sur les deux souches bactériennes Gram négatif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.

T: Témoin négatif, **T⁺:** Témoin positif, **F:** Fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **Lyo:** Lyophilisée, **E:** Etuve.

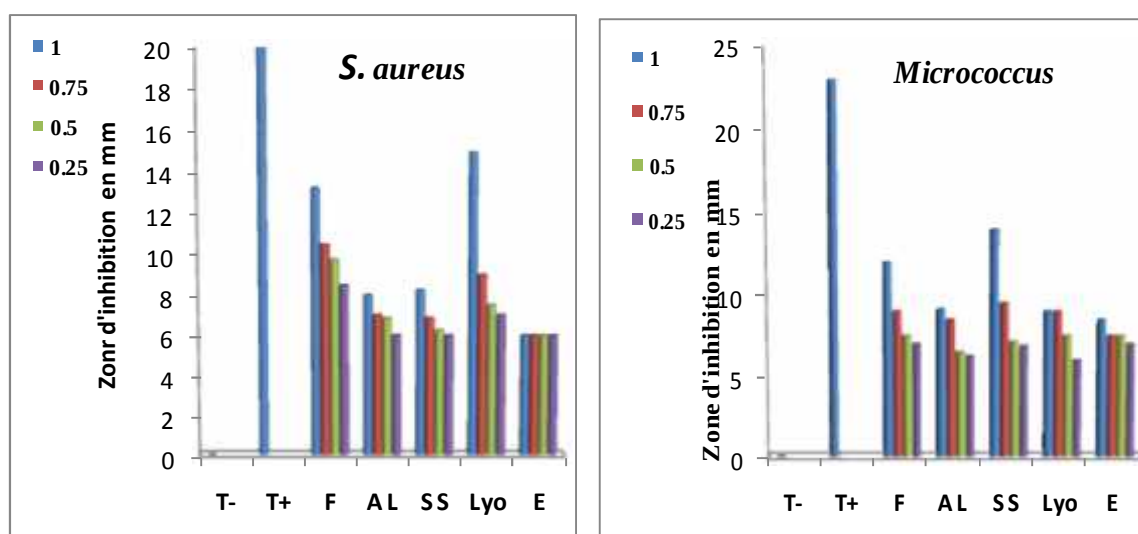


Figure 50: Effet des extraits de *Retama raetam* sur les deux souches bactériennes à Gram positif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.

T: Témoin négatif, **T⁺:** Témoin positif, **F:** Fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **Lyo:** Lyophilisée, **E:** Etuve.

D'après le tableau 09, 10 et les figures 49 et 50 les résultats montrent clairement un effet significatif de l'extrait méthanolique de *Retama raetam* sur les quatre souches bactériennes étudiées. Représente l'effet le plus grand de tous les extraits testés, avec un

maximum d'inhibition 15mm de diamètre sur *S. aureus* de l'extrait de la plante séchée à l'aide de lyophilisateur. La plante fraîche, séchoir solaire et lyophilisée possèdent un large spectre d'action couvrent le Gram négatif, avec des zones d'inhibitions 10-12mm avec la concentration 1ml/mg. Et aussi la plante fraîche possède un large spectre d'action couvrent le gram positif, avec des zones d'inhibitions 13.25mm sur *S. aureus* et 12mm sur *Micrococcus* avec la concentration 1ml/mg et la plante séchée au séchoir solaire nous enregistrons une zone d'inhibition 15mm sur *S. aureus* et 14mm sur *Micrococcus*. A l'exception de plantes séchée à l'étuve sur *S. aureus* et les bactéries Gram négatif qui sont résistantes.

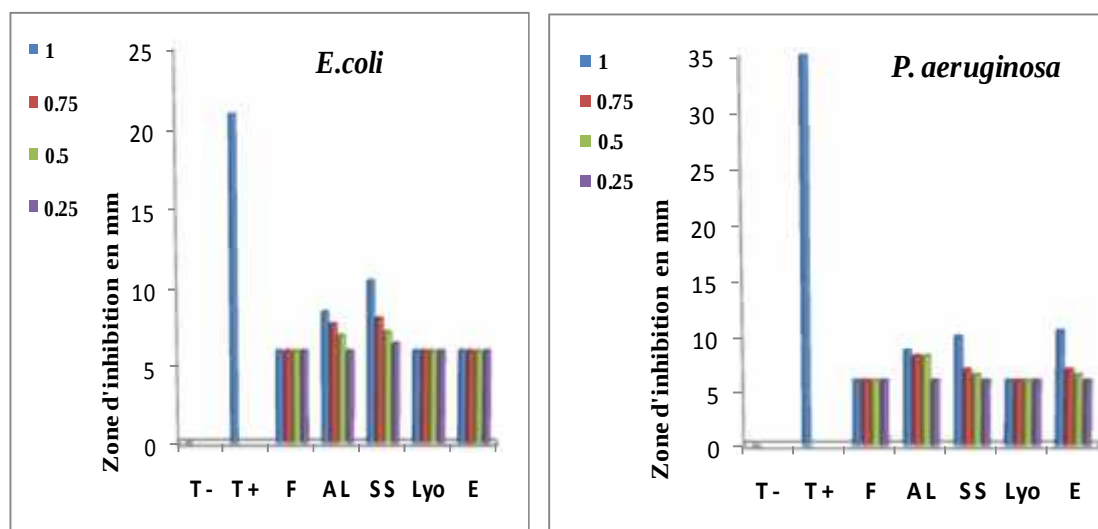


Figure 51: Effet des extraits *Calligonum comosum* L'her sur les deux souches bactériennes Gram négatif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.

T: Témoin négatif, **T⁺:** Témoin positif, **F:** Fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **Lyo:** Lyophilisée, **E:** Etuve.

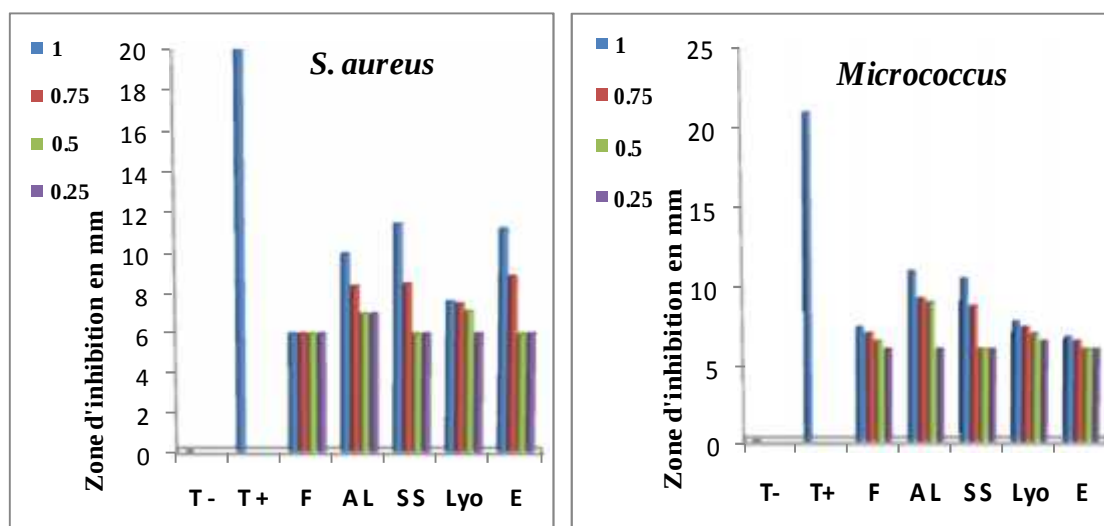


Figure 52: Effet des extraits *Calligonum comosum* L'her sur les deux souches bactériennes Gram positif testées en fonction des différentes concentrations d'extrait.

T: Témoin négatif, **T⁺:** Témoin positif, **F:** Fraîche, **AL:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **Lyo:** Lyophilisée, **E:** Etuve.

D'après le tableau 09, 10 et la figure 51 et 52 on a constaté l'effet antibactérien de la plante *Calligonum comosum* L'her sur les différentes souches bactériennes de Gram positif et Gram négatif à l'exception du plante fraîche et séché à l'étuve sur *S. aureus* et sur *E.coli* respectivement. Par ailleurs la plante fraîche et séché à l'aide d'un lyophilisateur montre de résistance d'*E. coli* et *P.aeruginosa*.

Les résultats montrent clairement un effet significatif de l'extrait méthanolique de *Calligonum comosum* L'her séchée par un séchoir solaire chez les bactéries Gram négatif avec zone d'inhibition égal 10.5mm sur *E.coli* et 10mm *P. aeruginosa*, et 10.5mm sur *P. aeruginosa* chez la plante séché à l'étuve.

Concernant les plantes séchées à l'air libre et par séchoir solaire possèdent un effet significatif sur la bactérie Gram positif, avec une zone inhibition égal 10 mm sur *S.aureus*, 11mm sur *Micrococcus* et 11.5mm sur *S. aureus*, 10.5mm *Micrococcus* respectivement. Et aussi une zone d'inhibition égale 11.25mm sur *S. aureus* chez la plante séchée à l'étuve.

III.2. Discussion générale

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'influence du mode de séchage sur les principes actifs des plantes médicinales (flavonoïdes, tanins et les alcaloïdes) par des analyses qualitatives et quantitatives et l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne.

D'après le résultat de rendement de l'extraction nous avons observé une variabilité dans le rendement des plantes étudiées.

D'après Triboi & Triboi-Blondel (2008), En France, Besset *et al.* (2001) ont focalisé leur travail sur la sensibilité des différentes phases de croissance et développement du fruit à la sécheresse, évaluée par le rendement et par la taille du fruit. Ils ont montré qu'une sécheresse sévère diminue non seulement le rendement et la taille du fruit mais aussi sa teneur en glucides.

Une étude a été réalisée dans le cas du romarin, un lot de feuilles est bien homogénéisé et exposé à l'air libre et à l'ombre. Le rendement augmente d'abord jusqu'à atteindre un optimum puis diminue. En particulier, et le séchage au soleil donne un effet similaire à celui observé à l'ombre mais avec une différence importante. Tout d'abord, l'optimum est atteint plus rapidement (Benjilali, 2000).

Donc, nous pouvons dire que l'extrait d'*Oudneya africana* R. est présenté les plus grands valeurs de rendement dans les modes de séchage air libre et par rapport aux autres plantes étudiées. Nos résultats viennent confirmer à ceux trouvés par Mecheri (2015) à savoir que l'extrait séché à l'air libre d'*Oudneya africana* est présent une valeur de 23.07%.

Selon l'étude de Khacheba et Benamar (2008) ont montré que le rendement d'extraits méthanoliques d'*Oudneya africana* R. possède une valeur de 6.75%. Ce résultat est plus faible en comparaison avec nos résultats.

Les résultats des tests phytochimiques préliminaires ont montré que les trois plantes contiennent des flavonoïdes, alcaloïdes et tanins dans tout le mode de séchage avec de concentrations différentes.

Une étude réalisée à température croissante jusqu'à 65 par Alexis *et al.*, (2012), a permis d'évaluer l'influence de la température de séchage sur les principes actifs d'une plante médicinale: cas de la teneur en alcaloïdes totaux de *Alstonia boonei* WILD. Il ressort de ce résultats obtenus que l'action de la lumière et/ou de la chaleur aurait une influence sur la teneur en alcaloïdes totaux en particulier et les autres groupes chimiques des extraits de cette plante en général.

D'après l'étude de Nadjmi et Soussou (2014), les alcaloïdes présentent en une grande quantité dans l'*Oudneya africana* R. séché à l'étuve et à l'air libre, et en quantité moyenne

d'alcaloïdes dans les plantes séchées au séchoir solaire, et en même quantité dans la plante fraîche, et riche en tanins dans la plante fraîche et séché à l'air libre.

Selon Gori et Tebbale (2014) les alcaloïdes présentent sauf dans la plante fraîche et séchée au séchoir solaire pour le *Colligonum comosum* L'her.

Une autre étude d'après Hadj Moussa (2012), l'espèce *Retama raetam* possèdent une grande quantité de tanins et moyenne quantité des flavonoïdes et des alcaloïdes.

Très peu de recherche se sont intéressées à l'étude de screening phytochimique dans différent mode de séchage (air libre, séchoir solaire, lyophilisé et à l'étuve) et en plus la plante fraîche proprement dite, d'*Oudneya africana* R. *Retama raetam* et *Calligonum comosum* L'her.

Concernant l'analyse quantitative de polyphénol, flavonoides et les tanins condensés. Nos résultats sont équivaux et comparable à ceux trouvés par Nedjmi et Soussou (2014), la teneur la plus élevés des polyphénols totaux, il a enregistré par l'extrait d'*Oudneya africana* R. séché à l'étuve est égale (1.29mg/g). Et dans cette même étude concernant le dosage des flavonoides, nos résultats sont à l'opposé de ceux qu'ils sont trouvés, la teneur la plus élevée des flavonoïdes de l'extrait d'*Oudneya africana* R. ont été enregistrées à l'extrait séché à l'étuve est égal (0.27g/mg).

D'après Khelif (2014), la teneur des polyphénols totaux a été enregistré par l'extrait de *Retama raetam* séché au séchoir solaire est égale à 0.527mgEAG/gMS. Ce résultat est relativement très élevé par rapport à nos résultats. Et en même étude concernant le dosage des flavonoides, il est enregistré par l'extrait de *Retama raetam* séché à l'étuve 0.07mg/ml et 0.064 mg/ml pour la plante séchée au séchoir solaire. Ces résultats ont relativement très élevés par rapport à nos résultats.

D'après Hadj Moussa (2012), la teneur des polyphénols totaux dans un extrait hydroalcoolique de *Retama raetam* est égale à 239.46mgEAG/g, ce résultat est relativement très élevés par rapport nos résultats. Et pour le teneur des flavonoïdes totaux dans un extrait hydroalcoolique de *Retama raetam* est égale à 104.02mgEAG/g, ce résultat est aussi relativement très élevés par rapport à nos résultats.

Nos résultats sont contre à ceux trouvé par Gori et Tebbale (2014). La teneur le plus élevés des polyphénols totaux a été enregistrée par l'extrait *calligonum comosum* L'her fraîche est égale (0.661mg/ml). Et pour le dosage de tanins la teneur le plus élevé a été enregistrée par l'extrait frais, aussi ce résultat sont contre par rapport à nos résultat.

Les résultats des analyses statistiques du dosage des polyphénols totaux, flavonoides et des tanins condensés révèlent une différence significatif entre le mode de séchage et la

quantité des plantes étudiées sur la teneur des polyphénols totaux, flavonoides totaux et tanins condensés.

En générale, nous pouvons dire que la quantité des polyphénols présentent dans les extraits secs est plus élevés que dans les extraits frais (Yan *et al.*, 2008), cette différence est due à plusieurs facteurs, dont les conditions d'élevage et le degré de maturité et de la température ainsi que le type de solvant utilisé (Schlesier *et al.*, 2002).

Selon Falleh *et al.*, (2008), la teneur des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols.

En générale, la teneur des polyphénols varie quantitativement d'une plante à autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs:

- ✓ Facteurs climatiques et environnementaux: la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc. (Ebrahimi *et al.*, 2008).
- ✓ Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas *et al.*, 2004).
- ✓ La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Lee *et al.*, 2003).

Pour obtenir le maximum de récupération des poly-phénols, le méthanol est le solvant approprié (Falleh *et al.*, 2008). Selon Seidel (2005), l'eau et le methanol sont deux solvants polaires qui extraient particulièrement les flavonoïdes glycosylés et les tanins. Tandis que les flavonoïdes aglycones sont extraits par les alcools ou les mélanges eau-alcool (Khelif, 2014).

Concernant l'activité antioxydante, diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturelles à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certains nombre de paramètres; la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule (Mohamdi, 2013). Le DPPH est un radical libre stable, accepte un électron ou un proton pour donner une molécule diamagnétique stable. Il est très utilisé dans le criblage des activités de piégeage des radicaux libres (Bougandoura, 2011). On considère les terpénoides, flavonoïdes, alcaloïdes et les tannins comme des substances potentiellement antioxydants. Cependant, la présence de ces substances indique que nos extraits sont dotés d'une activité antioxydante, qui varie d'un extrait à un autre pour différents ou le même échantillon végétale (Talbi *et al.*, 2015).

Pour le mécanisme de piégeage de radical, la réaction entre l'antioxydante et DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés réagissent

rapidement avec DPPH, réduisant un nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupements hydroxyles (Bondet *et al.*, 1997).

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydants ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène, l'effet scavenger des flavonoïdes (FLOH) est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres ($R^\bullet$) par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle. Cette réaction donne naissance au radical aroxyde (FLO $\bullet$) et à la molécule radicalaire rendu stable (RH), le FLO $\bullet$ subira par la suite un réarrangement structurale permettant la redistribution de l'électron célibataire sur le cycle aromatique et la stabilisation de radicaux aroxyde (Javanovic *et al.*, 1994).

Les résultats obtenus par Djeddi *et al.*, (2013) sur l'activité antiradicalaire d'extrait des tiges et les fleurs de *Retama raetam* à l'air libre, a révélé que I% = 14.06 $\mu\text{g/ml}$ et 11.96 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. Ces résultats sont relativement faible par rapport à nos résultats 30.371 $\mu\text{g/ml}$.

Très peu de recherche se sont intéressées à l'étude de l'activité antioxydante dans différent mode de séchage (Air libre, séchoir solaire, lyophilisée et à l'étuve) des plantes d'*Oudneya Africana* R. *Retama raetam*, et *Calligonum comosum* L'her.

En fonction de ces résultats, il existe une relation entre la teneur totale en polyphénol et de l'activité antioxydante des extraits d'*Oudneya africana* R. *Retama raetam* et *Calligonum comosum* L'her et pourrait indiquer que les polyphénols responsables de cette activité. En effet, il est extrêmement important de souligner qu'il existe une corrélation positive ($R^2=0.992$ et $R^2=0.871$) entre le potentiel de l'activité antioxydante et la quantité de composés phénoliques dans les extraits. Elle a montre que l'extrait de *Calligonum comosum* L'her contenant une grande quantité de polyphénol qui possèdent une activité antioxydante plus important par rapport d'*Oudneya africana* R. et *Retama raetam* (Annexe IV). Toutefois, les composants responsables des activités antioxydantes des extraits n'ont pas été identifiés et des travaux supplémentaires devraient être menées pour identifier et isoler ces composés bioactifs.

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique de trois plantes étudiées par différents mode de séchage. D'après les tableaux et les figures, les résultats obtenus montre que ces extrais possèdent des effets inhibiteur sur toutes les souches bactériennes étudiées de Gram positif et Gram négatif. Cette efficacité est due à la présence des composés

phénoliques, les flavonoïdes, les tanins...etc, qui sont de métabolites secondaires réputés pour leur effet antibactérien (Havsteen, 2002; Boudjouref, 2011).

Les résultats montrent clairement un effet significatif de l'extrait méthanolique de *Retama raetam* sur les quatre souches bactériennes étudiées. Représente l'effet le plus grand de tous les extraits testés, avec un maximum d'inhibition 15 mm de diamètre sur *S. aureus* de l'extrait de plante séchée à l'aide de lyophilisateur.

Il a été rapporté que les extraits de plantes caractérisée par la présence de groupe phénolique et d'autres composés chimiques riches en flavonoïdes sont considérés de très bons agents antimicrobiens (Bolou *et al.*, 2011; Nadjmi et Soussou, 2014).

La différence d'activité entre ces extraits pourrait s'expliquer par la nature des molécules contenues dans chacune d'elles et liée à la concentration du principe actif (Bolou *et al.*, 2011).

La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes. L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (Essawi et Srour, 2000). Pour cela, la comparaison cas par cas de l'activité antimicrobienne de plusieurs extraits, en se basant sur les caractéristiques des composés chimique des plantes séchées.

Une étude similaire faite par Edziri *et al.*, (2012) montre l'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique des fleurs de *Retama raetam* sur les souches bactérienne: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* avec zone d'inhibition 11-16mm.

Alkhalifah (2013) a étudié l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques des feuilles, racines et écorces de *Calligonum comosum* L'her ont montrés l'effet antibactérien dans modèles expérimentaux contre *B. Subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, et *P. aeruginosa*. cette résultats montrent que cet extrait possède un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées.

Nos résultats obtenus sont équivaux et comparable à ceux trouvés par Azza (2015), qu'a déterminé l'activité antibactérienne de *Calligonum comosum* L'her, il a trouvé que l'extrait méthalonique exerce un effet inhibiteur sur les souches *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*.

Aussi le résultat obtenu par Chouikh *et al* (2015) présent clairement l'effet antibactérien de l'extrait *Calligonum comosum* L'her que cette activité varie avec les méthodes d'extraction et les solvants utilisés.

Nos résultats obtenus contre à ceux trouvés par Bouhadjera (2005) qui a étudié l'activité antibactérienne de l'extrait d'*Oudneya africana* R.Br, il a trouvé que la souche de *P. aeruginosa* présente une résistance contre l'extrait d'*Oudneya africana* R.

Cowan (1999) a rapporté que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques (Dhaouadi *et al.*, 2010; Edziri *et al.*, 2012).

Les résultats montrent donc la résistance des bactéries Gram négatif à nos extraits par rapport des bactéries Gram positif ciblées. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que ces deux groupes de microorganismes diffèrent morphologiquement, car les bactéries Gram négatif possèdent une membrane externe qui est une membrane de polysaccharide portant les composant structurel lipopolysaccharides, ceci rend la paroi cellulaire perméable aux composés lipophiles, et imperméable aux composés hydrophiles, contrairement aux bactéries à Gram positif, lesquelles seront plus sensibles car ils ont seulement une couche de peptidoglycane extérieure qui n'est pas une barrière de perméabilité effective (Kumara *et al.*, 2010).

En fonction de ces résultats, il existe une corrélation positive entre la concentration d'extrait et la zone d'inhibition de la croissance bactérienne pour toutes les souches bactériennes. Les coefficients de corrélation sont tous supérieurs à 64.9% et c'est avec *O. aficana* lyophilisée que l'extrait présent le coefficient d'inhibition le plus élevé (99.7%) sur la souche *S.aureus*, et pour les autres extraits (voir l'annexe III).

Conclusion générale

Conclusion générale

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'influence du mode de séchage sur les principes actifs des plantes médicinales utilisées (*Oudneya Africana* R. *Retama retam* et *Calligonum comosum* L'her) par les analyses qualitatives et quantitatives et l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne.

Nos résultats montrent que les modes de séchage (l'air libre, séchoir solaire 40°C, étuve 40-45°C et lyophilisation) influencent sur les teneurs des composés phénoliques, en parallèle avec l'augmentation de degré de température.

Sur le plan phytochimique, les résultats montrent une composition riche et variée en métabolites secondaires, où les flavonoïdes, les tannins et les alcaloïdes ont caractérisé tous les extraits bruts.

La détermination du rendement en composés phénoliques a montré la richesse des extraits bruts secs dans tous les modes de séchage et de couleur varié par rapport l'échantillon frais.

L'analyse quantitative des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés a été réalisée par les courbes des étalonnages des étalons d'acide gallique, quercétine et aussi l'acide gallique respectivement. Celle-ci nous a permis de confirmer que nos plantes contiennent des quantités importantes en composés phénoliques.

Les résultats obtenus dans ce travail montrent que la composition en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés des trois plantes *Oudneya africana* R, *retama raetam* et *calligonum comosum* L'her séchés n'est pas stable varie en fonction des modes de séchage.

Pour l'analyse de polyphénols totaux se fait par le réactif de Folin Ciocalteu, on trouve que les *calligonum comosum* L'her et le *Retama raetam* séchées à séchoir solaire présentent les meilleurs teneurs en polyphénols (647.02µgEAG/gMS), (328.15µgEAG/gMS) respectivement, et à l'étuve pour *Oudneya africana* R. avec de teneur (130.011µgEAG/gMS).

En parallèle, le dosage de flavonoïdes totaux se fait par la solution trichloride d'aluminium, on remarque ici que les plantes *calligonum comosum* L'her, *Retama raetam* et

d'*Oudneya africana* R séchés à l'aide d'un lyophilisateur sont de l'ordre de 235.19µgEQ/gMS, de 103.7 et 87.32µgEQ/gMS respectivement.

D'autre part la teneur de tanins condensé est plus élevée dans les échantillons *calligonum comosum* L'her séché à lyophilisateur 182.26µgEGA/gMS, suivi par l'extrait *Retama raetam* et *Oudneya africana* R. séché au séchoir solaire avec une teneur des 76.226µgGAE/gMS et 56.389µgGAE/gMS respectivement.

Il y'a plusieurs facteurs interne et externe qui sont contribuer dans les teneurs de substances bioactives (la sécheresse, le mode de séchage de plantes, les périodes de récolte, le patrimoine génétique et les méthodes d'extraction de ces substances).

Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, donc ces plantes contiennent des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants.

L'activité antiradicalaire est élevée dans l'extrait de *calligonum comosum* L'her (37.216µg/ml et 98.457µg/ml) suivi de *Retama raetam* (38.792µg/ml et 101.705µg/ml) et l'*Oudneya africana* R (39.721µg/ml et 105.737µg/ml) dans le mode lyophilisation pour l'acide gallique et l'acide ascorbique respectivement.

Au cours de cette étude nous avons réalisé un test antimicrobien vis-à-vis quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Les résultats de cet étude montrent clairement que les substances naturelles sont capables d'inhiber la croissance bactérienne.

L'effet antimicrobien des extraits méthanoliques des espèces étudiées par différents modes de séchage est faible, contre les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les extraits ont révélé des activités antimicrobiennes variables contre les souches bactériennes à Gram positif. Les extraits méthanoliques de *calligonum comosum* L'her et *Retama raetam* ont témoigné une forte activité antimicrobienne contre les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *micrococcus*).

A la lumière de ces résultats nous pouvons dire que les extraits de *calligonum comosum* L'her et *Retama raetam* possèdent une capacité antimicrobienne forte en comparaison avec les extraits d'*Oudneya africana* R. Pour cette raison, nos résultats révèlent une forte corrélation entre la concentration des polyphénols et la zone d'inhibition ainsi qu'avec l'activité antiradicalaire.

En conclusion, le mode de séchage le plus adapté est la lyophilisation ensuite par le séchage à l'étuve et le séchoir solaire.

En perspective, des études supplémentaires par des autres techniques plus précises comme HPLC, Spectroscopie de masseetc. seraient souhaitable pour identifier les composants responsables des activités biologiques des extraits étudiés.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abayomi, S. (2010). *Plante médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Paris: Karthala.
2. Abdallah, H.M.I., Asaad, G.F., Arbid, M.S., & Abdel-Sattar, E.A. (2014). Anti-inflammatory, Antinociceptive, Antipyretic and Gastroprotective Effects of *Calligonum comosum* in Rats and Mice. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 6(2), 26-33.
3. Abdel Hakim., S. (2009). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique du gingembre. Mémoire de magister en biochimie et physiologie expérimentales. Université Ferhat Abbas, Sétif.
4. Abderrazak M. et Joël R. (2007). *La botanique de A à Z*. Ed. Dunod. Paris. 177p.
5. Agbossou, K., Boroze, T.T.E., Ouro-Djobo, S., Djeteli, G., et Napo, K. (2013). Etude de l'adaptabilité des dispositifs de séchage à leur contexte et au besoin des utilisateurs au Togo. *Rev. Ivoir. Sci. Technol*, 21(22), 1-18.
6. Agence nationale de soutien à l'emploi de jeunes. ANSEJ, (2010). Lavage-Séchage des fruits et légumes. 8p.
7. Agence nationale de sécurité sanitaire: ANSES. (2011). *E. coli entérohémorragiques (EHEC)*. 4p.
8. Ahmed, H.S., Moawad A. S., Owis, A.I., Abouzid, S.F., & Abdel-Rahman, R.F. (2015). Phytochemical screening and evaluation of biological activity of *Calligonum polygonoides* L. subsp. *Comosum*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(3), 022-026.
9. Alexis, ., Léopold, M., Bagda, A.A. (2012). Effet du séchage sur les principes actifs des plantes médicinales: cas des alcaloïdes totaux des écorces de *Alstonia boonei* Wild, plante antipaludéenne. *Nature & Technologi*, (7). 62-66.
10. Alkhalifah, D.H.M. (2013). In-vitro antibacterial activity of ethanol extract of *calligonum comosum* plant against four human pathogens in Saudi Arabia. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 3(4), 2231-4490.
11. Allane, T. (2009). Etudes de pouvoirs antioxydant et antibactérien des quelques espèces végétales locales alimentaires et non alimentaires. Thèse de magister en génie alimentaire, Université M'hamed bougara, Boumerdes.
12. Anne, S., Nogaret, E. (2003). *La phytothérapie se soigner par les plantes*. Eyrolles. 20p.
13. Anonyme. (2003). Bactériologie. Université de Pierre et Marie Curie. 122p.

- 14.Atefeibu**, E.S.I. (2002).Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii. Mémoire de Doctorat en pharmacie, Université cheikh Anta Diop, Dakar. Cité par Boudjellal, K.H. (2009).
- 15.Ayad**, R. (2008). Recherche et détermination structural des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*. Mémoire de magister en chimie organique, Université Mentounri Costantine.
- 16.Azza**, I.E. (2015). Anti-bacterial Activity of Folk Medicinal Plant Extracts of Saudi Arabia on Isolated Bacteria. *Journal of Applied Life Sciences International*, 3(1), 49-54.
- 17.Badria**, F.A., Ameen, M., Akl, R.M. (2007). Evaluation of Cytotoxic Compounds from *Calligonum comosum* L. Growing in Egypt. *Z Naturforsch.* 62, 656-660.
- 18.Bahorun**, T. (1997). Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*, 83-94.
- 19.Baiza**, A.M., Adriana, Q., Jozé A.R., Maldonado-Mendoza, I., & Loyola-Vargas, V.M. (1998). Growth patterns and alkaloid accumulation in hairy root and untransformed root cultures of *Datura stramonium*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 54, 123-130.
- 20.Barouki**, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Inserm UMR-S490*, 22, 266-272.
- 21.Barr**, D. (2008). *L'index d'anabolisme: guide d'évaluation des aliments et des suppléments* (S. Lacouline, Trad.). Ed: David barr.
- 22.Bassene**, E., Mahamat, B., Lo M., Boye C.S., Faye B. (1995). Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae : *C. micranthum*, *Guiera senegalensis* et *Terminalia avicennioides*. *Fitoterapia*, , 66 (1), 86-87.
- 23.Beaudeux**, J.L., et Durand, G. (2008). *Biochimie médical: Marqueurs actuels et perspectives* (2^e éd.). Paris: lavoisier.
- 24.Beloued**, A. (2009). *Plantes médicinales d'Algérie* (7^e éd.). Alger: Ben- Aknon.
- 25.Belyagoubi Née Benhammou**, N. (2012). Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse de doctorat en Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse, Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen.
- 26.Bendob**, O., et Bougherara, R. (2013). Essai de caractérisation biochimique des tiges de quelques plantes médicinales de la région d'Ouargla. Mémoire licence en Biologie et physiologie végétale. Université d'Ouargla.
- 27.Benjilali**, B. (2000). Le matériel végétal et l'extraction. Département des sciences alimentaires et nutritionnelles, 61-80p.

- 28.** Benhouhou, S. (Sd). A guide to medicinal plants in North Africa. 225-226p.
- 29.** Benkhighe, O., Ben Akka, F., Salhi, S., Fadli, M., Douira, A., et Zidane, L. (2014). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'AlHaouz-Rhamna (Maroc). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(1), 3539-3568.
- 30.** Benoît, B., (2015). *Genista raetam* Forssk. version 3.00. Tela botanica. 4p.
- 31.** Berghioua, A., Cheriti, A., Belboukhari, N., et Marouf, A. (2009). Aperçu Ethnopharmacologique et chimique des Brassicaceae. *Annales de l'Université de Bechar*, (5), 13-25.
- 32.** Bergogne-Berezin, E., et Dellamonica, P. (1995). *Antibiothérapie en pratique clinique*. Ed. Masson, Paris. Cité par Harar, A.N. (2012).
- 33.** Bert. (2008) .La journée annuelle technico-économique des plantes à parfum, aromatiques et médicinales dans le Puy de Dôme. 7p.
- 34.** Bérubé-Gagnon, J. (2006). Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de Licence en chimie, Université de Québec.
- 35.** Bhat, S.V & Nagasampagi, B.A. (2005). Sivakumar, M. *Chemistry of Natural Products*. Narosa, New Delhi, India. 4, 237.
- 36.** Billing, J., & Sherman, P.W. (1998). Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol.* 73, 3-49. Cité par Harar, A.N. (2012).
- 37.** Biokar-diagnostics. (2015). Guide d'utilisation des milieux: Préparation, utilisation et stockage. Rue des Quarante Mines. ZAC De Ther-Allonne-B.P, 10245. 29p.
- 38.** Bio-Rad. (2010). Boulevard Raymond Poincaré 92430 Marnes-la-Coquette France. 4p.
- 39.** Boizot N., & Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra* . pp 79-82.
- 40.** Bokhari, J., Khan, M.R, Shabbir, M., Rashid, U., Jan S., & Zai, J.A. (2013). Evaluation of diverse antioxidant activities of *Galium aparine*. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 102, 24–29.
- 41.** Bolatito E.B &, Ibiyemi O.D.(2011). Regulation of glucose and protein syntheses by *Micrococcus luteus* during the fermentation of a Nigerian rice, *Oryza sativa* variety "Igbimo". *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2, 244-247. Doi:10.4236/abb.2011.24035.
- 42.** Bolou, G.E.K., Attioua, B., N'guessan, A.C., Coulibaly, A., N'guessan, J.D., et Djaman, A.J. (2011). Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80, 772-790.

- 43.**Bondet, V., Williams, W.B., & Berset, C. (1997). Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 30, 609-615.
- 44.**Bouattoura, N. (1988). Les ressources phytogénétiques. Importance Préservation-Utilisation. *Annales, INA, El Harrach-Alger*, 12 (1), 43-63. Cité par Kanoun, K. (2011).
- 45.**Boudjellal, K.H. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* L. Mémoire de magister en Biochimie Appliquée, Université El Hadj Lakhder, Batna.
- 46.**Boudjouref, M. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magister en Biochimie Université Ferhat Abbès, Sétif.
- 47.**Bougandoura, N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calaminthassnepta* (nabta) et *Ajugaiva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire de magister en biologie, Université Abou bakr belkaid, Tlemcen.
- 48.**Bouguerne B. (2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse de doctorat en chimie-biologie-santé, Université de Toulouse III de Paul Sabatier.
- 49.**Bouhadjera, K. Bedahou, M. Tabti, B. (2005). Anti-microbial of Extract from Algerian *Aristida pungens* L. *Pakistan journal of biological sciences*, 8 (2), 206-210.
- 50.**Bourrel, C. (1993). Analyse chimique, activités biologiques et antioxydant d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de doctorat en Sciences des Agro ressources, Université de Toulouse, France.
- 51.**Boussalia, A. (2010). Contribution a l'étude de séchage solaire de produits agricoles locaux. Mémoire de magister en génie climatique, Université Mentouri, Constantine.
- 52.**Bouzerroune F., (2003). Etude phytochimique de la plante *Helianthemum Kahiricum*. Thèse de magister, Université Hadj lahkdar-Batna.
- 53.**Bradai, L. (2006). Contribution à l'étude de la bio-écologie de la truffe blanche du désert (*Terefazia* sp). Cas de la région d'Oued M'ya (Ouergla). Mémoire de magister en Université. Kasdi Merbah, Ouergla.
- 54.**Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie*, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Paris: Lavoisier.
- 55.**Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie-Plantes médicinales* (3è éd). Paris: Techniques et documentations.

56. Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie- Plantes médicinales*. (4^e éd). Paris: Techniques et documentations.
57. Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S., et Vasson, M.P., Hasselmann, M., et Leverve, X. (2007). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. (3^e éd.). Paris: Spinper.
58. Centre national de la recherche scientifique. (2011). Gdr Pseudomonas. Patrick Plesiat. 73p.
59. Césarini, J.P. (2004). *Le sélénium: actualités*. Paris: libbey eurotext.
60. Chaabi, M. (2008). Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines *Euphorbia stenocla* Baill. (*Euphorbiaceae*), *Anogeissus* *carpus* Guill. Etperr. (*Combrétaceae*), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (*Plumbaginaceae*). Thèse de doctorat en pharmaco chimie, Université Louis Pasteur et Université Mentouri, Constantine (Alger): 179, 180.
61. Chaker, H. (2006). Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte: implication des métabolites du tryptophane. Mémoire en doctorat en Biotechnologie, Université de Grenoble.
62. Chalal, N., Bellhamri, A., et Bennamoun, L. (2008). Etude d'un séchoir solaire fonctionnant en mode direct et indirect. *Revue des Energies Renouvelables*. 08, 117-126.
63. Chbani, A., Mawlawi, H., et Etahiri, S. (2011). Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina Pavonica* récoltée sur les côtes libanaises. *Afrique science*, 07(3), 91-96.
64. Chehma, A., Bouzegag, I., et Chehma, Y. (2008). Productivité de la phytomasse éphémère des parcours camélins du Sahara septentrional Algérien. *Fourrages*, 194. 253-256.
65. Chehma, A., et Djebbar, M R. (2008). Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Revue Synthèse*, (17), 36-45.
66. Chouikh, A., Mekki, M., & Adjal, E.h. (2015). effects of extraction methods on antibacterial activity of different extracts of *Calligonum comosum* l'her. growing in Sahara Algerian International. *Journal of Recent Scientific Research*, 6(4), 3534-3536.
67. Cillard, J., et Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. «Groupe de Recherche en Thérapeutique Anticancéreuse, GRETAC», 13(1), 24-29.
68. Cilss, P. (1991). Le séchage solaire des aliments. Peace Corps, 1985 Comment Conserver et Transformer les Fruits et Légumes au Sahel. Guide Technique. Institut du Sahel.
69. Collin, S., Creast, G. (2011). Polyphénol et procédé. 1^{ère} Ed, Lavoisier: paris.

- 70.Cowan M, M., (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12 (4), 564-570.
- 71.Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000). Naturel products (Secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biologie of plants*. 1250-1318.
- 72.Damerджи, A et Amar, A. (2013). Composition et structure des Gastéropodes dans les stations à Retama raetam (Fabaceae) dans la région de Naâma (Algérie). *Afrique science*, 09(1), 77-88.
- 73.Debuigne, G. (1974). *Larousse des plantes qui guérissent*. Ed. Larousse.
- 74.Delwiche, P. (2008). Soigner le jardin par les plantes. Ed. Nature et Progrès Belgique.
- 75.Dhaouadi, K., Raboudi, F., Estevan C., Barrajo, N.E., Vilanova, E., Hamdaoui, M. & Fattouch, S. (2010). Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric. Food Chem*, 59, 402-406.
- 76.Dewick, P. M. (2001). *Medicinal Natural Products*. Wiley., Ch. 6, 291p.
- 77.Djahra, A.B. (2015). Cours phytochimie II 2^{ème} Année master. Université Echahid Hamma Lakhdar El-oued. 33p.
- 78.Djebaili, S. (1984). *Steppe algérienne. Phytosociologie et écologie*. Ed. OPU, Ben-Aknoun, Alger.
- 79.Djeddi, T., Karioti S., Yannakopoulou, A., Papadopoulos, E., Chatter, K., & Skaltsa, R.H. (2013). Analgesic and Antioxidant Activities of Algerian *Retama raetam* (Forssk.) Webb & Berthel Extracts. *Records of naturel products*, 7(3),169-176.
- 80.Drapiez, M. (1853). Dictionnaire classique des sciences naturelles. Tome 8: Bruxelles.
- 81.Dziri, S., Hassen, I., Fatnassi, S., Mrabet, Y., Casabianca, H., Hanchi, B., & Hosni, K. (2012). Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*). *Journal of functional foods*, 4, 423-432.
- 82.Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., & Yousefzadi, M. (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phonologicals stages. *Food chemistry*, 110, 927-931.
- 83.Edziri, H, Mastouri, M, Mahjoub, M.A, Mighri, Z., Mahjoub, A., & Verschaeve., L. (2012). Antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activities of Two Flavonoids from *Retama raetam* Flowers. *Molecules*. (17). 7284-7293. doi:10.3390/molecules17067284.
- 84.El Haib, A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Mémoire de doctorat en Chimie organique et catalyse, Université de Toulouse.

- 85.**El kalamouni, C. (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Mémoire de doctorat en sciences des agro ressources, Université de Toulouse.
- 86.**Emerenciano, V.P., Barbosa, K.O., Scotti M. T., & Ferrero, M.J.P. (2007). Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae: a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of brazilian chemical society*, 18(5), 891-899.
- 87.**Essawi, T. & Srouf, M. (2000) .Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharm*, 70, 343-349.
- 88.**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *C.R. Biologies*, 331, 372-379.
- 89.**Faure, K., Kipnis, E., et Guery, B. (2008). Prise en charge des pneumonies liées a *pseudomonas aeruginosa*. *Rev Tun Infectiol*, 2(1), 1-8.
- 90.**Favier, A. (2003). Le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 106-115.
- 91.**Favier, M., et Hininger-Favier, I. (2005). Zinc et grossesse. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 33(4), 253-258.
- 92.**Gayet, C. (2013). *Guide de poche de phytothérapie*. Paris: Quotidien malin.
- 93.**Genmedoc. (2006). Pratiques de germination dans les banques de semences du réseau genmedoc. 175p.
- 94.**Genot, C., et Michalski, M.C. (2010). Impact métabolique des structures et de l'oxydation des lipides dans les aliments. *INRA UR1268*, 10(4), 43-67.
- 95.**Ghabrier, J.Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1, France.
- 96.**Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697-6703.
- 97.**Ghestem, A., Segun, E., Paris, M., et Orecchioni, A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie: Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie-Homéopathie. Ed, Lavoisier Tec et Doc: Paris.
- 98.**Gori, Z., et Tebbale, H. (2014). Impact de différents modes de conservation sur les caractéristiques biochimiques de quelques Plantes spontanées médicinales. Mémoire de master académique en biotechnologie végétale. Université kasdi merbah, Ouargla.

- 99.**Graebe, J.E. (1987). Gibberellin biosynthesis and control. *Annu. Rev. Plantphysiol*, 38, 419-465.
- 100.**Grune, T., Blasig, I.E., Sitte, N., Roloff, E., Haseloff, R., & Davies, K.J.A. (1998). Peroxynitrite increases the degradation of aconitase and other cellular proteins by proteasome. *J Biol Chem*, 273, 10857-10862.
- 101.**Gurib-Fakimm A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of Tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27, 1-93p.
- 102.**Hadj Moussa, A. (2012). Contribution à l'étude *in vitro* de l'effet des extraits de feuilles de *Retama raetam* sur l'activité de l' α -amylase. Mémoire de master académique en biochimie, Université Abou baker belkaid, Batna.
- 103.**Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier C et Chapelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Service de Biologie clinique*, 62(10), 628-638.
- 104.**Hammami, R., Farhat, I., Zouhir, A., & Fadhila, S., (2011). Detection and Extraction of Anti-listerial Compounds From *Calligonum comosum*, a medicinal Plant From Arid Regions of Tunisia. *Afr j tradit complement altern med*, 8(3), 322-327.
- 105.**Harar, A.N. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de magister en Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas- Sétif.
- 106.**Harborne, J. B., & Herbert B. (1995). *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Bristol: Taylor & Francis.
- 107.**Harris, L.G., Foster, S.J., & Richards, R.G. (2002). An Introduction To *Staphylococcus Aureus*, And Techniques For Identifying And Quantifying *S. Aureus* adhesins in relation to adhesion to Biomaterials: review. *European Cells and Materials*, 4(147), 39-60.
- 108.**Hassan, S.W., Umar, R.A., Lawal, M., Biblis, L.S., Muhammed, B.Y., & Dabai Y.U (2006). Evaluation of antibacterial activity and phyto chemical analysis of root extracts of *Boxia angustifolia*. *African Journal of Biotechnology*, 5. (18), 1602-07.
- 109.**Havsteen, B.H. (2002). The Biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therap*. 96, 67-202.
- 110.**Hemmami, H., et Guezei, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante d'extrait de *Capsicum annuum* L de la région d'el-oued. Mémoire de master académique, Université de Hamma Elkhader, El oued.
- 111.**Hernandez Ochoa, L.R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de doctorat en Sciences des Agro ressources, Université de Toulouse.

- 112.Hess**, (2002). *Alkaloids, nature's curse or blessing* (1^é éd). Ed. Wiley-VCH, New York: USA.
- 113.Hoffmann**, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse del'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA: shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Thèse de doctorat en biologie moléculaire et cellulaire. Université Louis Pasteur - StrasbourgI. Frensh.
- 114.Hoffmann**, L., Besseau, S., Geoffroy, P., Ritzenthaler, C., Meyer, D., Lapierre, C., Pollet, B., & Legrand, M. (2004). Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate/quinate hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*, 16 (6), 1446-1465.
- 115.Hopkins**, W.G. (2003). *Assimilation du carbone et productivité*, (2^é èd). (R, Sarge, Trad,). Ed: de boeck université.
- 116.Houmani**, Z. (1994). Effet de séchage sur la composition en alcaloïdes tropaniques d'une plante médicinale: *Datura stramonium* L. Mémoire de Magistère.
- 117.Jacquard**, A. (2011). Les meilleurs antioxydants naturels pour la santé. Par L'Équipe d'Économie Solidaire le 29 août 2011 dans Produits Naturels et Bio.
- 118.Jacques Macheix**, J., Fleuriet, A., et Allemand, C.J. (2005). *Les composés phénolique des végétaux (un exemple de métabolite secondaires d'importance économique)*. Ed, Presse polytechniques et universitaires romandes: Italie.
- 119.Jadot**, G. (1994). *Antioxydant et vieillissement*. Ed, John Libbey Eurotext: Paris.
- 120.Javanovic**, S.V., Steenken, S., Tasic, M., Marjanovic, B &., Simic, M.J. (1994). Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*. 116, 4846-4851.
- 121.Julie**, M.J. (2011). Enquête prospective ou sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Mémoire de doctorat en médecine, Université Bordeaux 2, France.
- 122.Kamila**, M. (2012). Contribution à l'étude de l'activité antiradicalaire de quelques extraits de fruit de *Citrullus colocynthis* sur le radical libre DPPH. Mémoire en master académique en biochimie, Université Abou bekr belkaid, Tlemcen.
- 123.Kanoun**, K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydant des extraits de *myrtus communis* l. (rayhane) de la région de Tlemcen (honaine). Mémoire de Magister en Biologie, Université de Aboubekr belkaid, Tlemcen.

- 124.Kaper, J.B., Nataro, J.P., & Mobley, H.L.T. (2004). Pathogenic escherichia coli. *Microbiologie*, 2, 123-140.
- 125.Karumi, O., & Ogugbuaja. (2004). Identification of active principals of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J Med Sci*, 4, 179-182.
- 126.Kaufmann, S.H.E. (1997). Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer; R.G. Landes, New York; Austin. Cité par Harar, A.N. (2012).
- 127.Kaur, S.J., Grover, I.S., & Kumar, S. (2000). Modulatory effects of tannin fraction isolated from *Terminalia arjuna* on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. *Food and chemical toxicology*, 38 (12), 1113-1119.
- 128.Kelene, M., & Tepe, B., (2008). Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource technologie*, 99, 4096-4104. Cité par Allane, T. (2009).
- 129.Khacheba, I., et Benamar, H. (2008). Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur α l'amylase. Thèse d'ingénieur en génie biologie, Université Amar Telidji-Laghouat
- 130.Khelif, N. (2014). Etude de l'effet des modes de séchage sur le dosage biochimique de quelques plantes spontanées médicinales. Mémoire de master académique en biotechnologie végétale, Université kasdi Merbah, Ouargla.
- 131.Kholkhal, F., Lazouni, H.A., Bendahou, M., Boublenza, I., Chabane, S.D., et Chaouch, T. (2013). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus* ssp. *Coloratus*. *Afrique science*, 9(1), 151-158.
- 132.King A., & Young G. (1999). characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Jof the American dietetic association*, 99, 213-218.
- 133.Kocur, M., Zdena, P., & T. Martinec. (1972). Taxonomic Status of *Micrococcus luteus* (Schroeter 1872) Cohn 1872, and Designation of the Neotype Strain. *international journal of systematic bacteriology*, 22(4), 218-223.
- 134.Kolodzie, J., Kayser, O., Latte, K.P., & Ferreira D. (1999). Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution both method. *Planta medica*, 65(5), 444-446.
- 135.Konrad, P., Adriana, E. Rosato., & Grzegorz, W. (2009). *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta boichimica polinica*, 56(4), 597-612.
- 136.Krief, S. (2004). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes*

schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Mémoire de doctorat en écologie et chimie Des Substances Naturelles, Université De Muséum National.

137.Kumara, C. G., Mongollaa, P., Josepha, J., Nageswara, Y. V. D. & Kamal, A. (2010). Antimicrobial activity from the extracts of fungal isolates of soil and dung samples from Kaziranga National Park, Assam, India . *Journal of Medical Mycology*, 20, 283-289.

138.Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F & Samuel., J.L. (2007). Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. Ed, John Libbey Eurotext: Paris.

139.Lahmari, N., Fahloul D., et Azani, I. (2012). Influence des méthodes de séchage sur la qualité des tomates séchées (variété Zahra). *Revue des Energies Renouvelables*, 15(2), 285-295.

140.Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., et Carde, J-P. (1994a). Biogénèse des monoterpènes (II- La chaîne isoprénique). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133,79-99.

141.Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., et Carde, J-P. (1994b). Biogénèse des monoterpènes (III-Monoterpènes synthétases). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133, 100-118.

142.Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., & Lee, C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51(25), 7292-7295.

143.Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288–306. doi:10.1016/j.foodchem.2010.08.012.

144.Leray, C. (2010). *Les lipides dans le monde vivant*. Ed. Lavoisier: Paris.

145.Li, P., Anu, H., Jari, S., Teijo, Y., & Heikki, V. (1999). TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology , *Chemistry and Nutrition*, 10 : 123-187. Cité par Kanoun, K. (2011).

146.Loomis, D., & Croteau, R. (1980). Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function. *Academic Press*, (4), 364-410.

147.Lysette Bossokpi, I.P. (2003). Etude des activités biologiques de *fagara zanthoxyloides* Lam (Rutaceae). Mémoire de doctorat en Pharmacie, Université de Bamako.

148.Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). *Botanique* (3é èd). Technique et documentation. Lavoisier . Paris. 211p.

149.Ma, W.G., Tan, R.X., Fuzzti, N., Li, Q.S., Wolfender, J.L., & Hostettmann, K. (1997). Naturel occurring and synthetic polyne glycoside. *Phytochemistry*, 45(2), 411-415.

- 150.Maamri, S.** (2008). Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien: Dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de Magister en biochimie et microbiologie appliqués.
- 151.Madi, A.** (2010). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leur activités biologiques. Mémoire de Magister en biotechnologie végétale, Université Mentouri, Constantine.
- 152.Mahmoudi, S., Khali, M et., Mahmoudi, N.** (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie*, (9), 34-40.
- 153.Mahnane, w.** (2010). Appréciation de la diversité génétique du genre *Retama* par les marqueurs biochimiques. Mémoire de magister en biotechnologie végétale, Université Mentouri, Constantine.
- 154.Maizak, K., Brac, De La Perriere., et Hammiche, V.** (1993). Pharmacopée traditionnelle: Sahara septentrional. Actes du 2e colloque européen d'ethnopharmacologie, *Heidelberg*, 169-181.
- 155.Malecky, M.** (2008). Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Mémoire de doctorat en Physiologie de la Nutrition Animale (biotechnologie), l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Paris.
- 156.Malešev, D., & Kuntić, V.** (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10), 921-939.
- 157.Marpa Vacuum, S.L. (Sd).** Equipement pour la lyophilisation (Alimentation, cosmétique, pharmacie). 3p.
- 158.Martínez-Cayuela, M.** (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77(2), 147-161. doi:10.1016/0300-9084(96)88119-3.
- 159.Mauro Neves, M.** (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. Mémoire de doctorat en chimie, Université Joseph Fourier-GrenobleI.
- 160.Mecheri, N et Zeghabi, K,** (2015). Evaluation biologique et l'effet de séchage sur la caractérisation des métabolites secondaires des extraits issus de quelques plantes spontanées Médicinales. Mémoire de master en biotechnologie végétale. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- 161.Medail, F.** (2013). Etudier la biodiversité au Sahara, une exploration inachevée. *Colloque scientifique*.1p.

- 162.Meddour, A.,** Yahia, M., Benkiki, N., et Ayachi, A. (2013). Etude de l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *capparis spinosa* l. *Lebanese Science Journal*, 14(1), 49-60.
- 163.Mercan, D.** (2010). Le stress oxydatif. Unilabs. 53p.
- 164.Merghem, R.** (2009). *Eléments de biochimie végétale* (16). Ed, Bahaeddine. Algérie.
- 165.Mettler, T.** (2002). Brochure d'application détermination du taux d'humidité, Méthodes de détermination du taux d'humidité Halogen Moisture analyzer mettler toledo. 15p.
- 166.Meziti, A.** (2009).Activité antioxydant des extraits des graines de *Nigella sativa* l'étude *in vitro* et *in vivo*. Mémoire en magister en Molécules Bioactives, Université El-Haj Lakhdar Batna.
- 167.Middleton, E.,** Kandaswami, C., & Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev*, 52(4), 673-751. Cité par Bougandoura, N. (2011).
- 168.Miliauskas, G.,** Venskutonis, P.R., & Van Beek, T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85(2), 231-237. Doi: 10.1016/j.foodchem.2003.05.007.
- 169.Mishra, S.K. &,** Singh, P.N. (2011) Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review of *Capparis Zeylanica* Linn. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2(2), 506.
- 170.Mohamdi, Z.** (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en biologie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- 171.Mota, R.,** Thomas, G., & Barbosa Filho, J.M. (1985). Anti-inflammatory actions of tannins isoled from the bark of *Anarcadium occidentale* L. *Journal of ethnopharmacology*, 13, 289-300.
- 172.Nabti L.Z.** (2014). Évaluation des Activités antioxydant et antimicrobienne des extraits de *Oudneya africana* R.Br. et *Randonia africana* Coss. Mémoire de Magister en Biologie, Université Ferhat Abbas, Sétif.
- 173.Nacoulma, A.P.** (2012). Reprogrammation métabolique induite dans les tissus hyperplasiques formés chez le tabac infecté par *Rhodococcus fascians*: aspects fondamentaux et applications potentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles Europe. Belgique.

- 174.**Nait Achour, K. (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de Tizi ousou. Mémoire de magister en biologie, Université de Mouloud Mameri Tizi Ouzou.
- 175.**Nait Said, N. (2007). Etude phytochimique des extraits chloroformique des plants "*Pituranthos chloranthus*" et "*Marrubium vulgare*". Mémoire de magister en chimie organique, Université de El Hadj Lakhdar, Batna.
- 176.**Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi M.R., & Krishna D.R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33, 2-16.
- 177.**Nedjmi, A., et Soussou, A. (2014). Caractérisations biochimiques de quelques plantes spontanées médicinales à travers des différents modes de séchage. Mémoire Master Biotechnologie végétale, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- 178.**Neffati, M., & Louhaichi, M. (2014). Managing rangelands: promoting sustainable native shrub species. *Research program on Dryland Systems*. 2p.
- 179.**Neuzil, J., & Stocker, R. (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Letters*, 331, 281-284.
- 180.**Newman, D.J., Cragg, G.M. (2012). Naturel products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 of 2010. *J.Nat. Prod*, 75, 311-335.
- 181.**Nicolas, M., et Daniel, C. (1998). Activités technologiques en microbiologie-Techniques de base et méthodologie. *Editeurs CRDP D'Aquitaine-Bordeaux*. Cité par Allane, T. (2009).
- 182.**Nonaka, G.I., Nishioka, I., Nishi-Zawa, A., Yamagishi, T., Kashiwada Y., Dutschman, G.E., Bodner, A.J., Kilkuskie, R.E., Cheng, Y.C., & Lee, K.H. (1990). Inhibitory effects of tannins on HIV reverse trasceiptase and HIV replication in H9 lymphocyte cells. *Journal of natural products*, 53(3), 587-595.
- 183.**Organisme mondial de la santé, OMS. (2003). Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. 34p.
- 184.**Ouali, S., Khellaf A., et Baddari, K. (2007). Etude des ressources géothermiques du sud algérien. *Revue des Energies Renouvelables*, 10(3). 407-414.
- 185.**Padua, L.S., Bunyaphrathasara, N., & Lemmens, R.H.M.J. (1992). Plant Resources of South-East Asia. 12p.
- 186.**Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., & Codina, C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*, 50, 6882-90. Cité par kanoun, N. (2011).

- 187.**Pereira Nunes, X., Souza Silva, F., & Alneida, J.R.G. (2012). Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. Chapter1. In “phytochemicals as Nutraceuticals Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health”. 1ère édition Venketeshwer Rao. 1-20.
- 189.**Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., et Defraigne, J.O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4(5), 7.
- 190.**Popovici, C., Saykova, I., et Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- 191.**Quzel, P., et Santa S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Ed, tome I: paris.
- 192.** Quezel, P., & Senta, S. (1963). *Nouvelle flore de l'algerie et des régions désertique méridinales*. Ed, tome II: Pari.
- 193.**Raven, H., Evert, R.F., et Eichhorn S.E. (2000). *Biologie végétale* (6é èd). (B. jules., et M. Charles, Trad.). Paris.
- 194.**Sajdiç, O. (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, 36, 467-473.
- 195.**Sanago, R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako, Mali. 53p.
- 196.**Schlesier, K; Harwat, M., B.hm, V., & Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, *Free Radic Res*; 36(2): 87-177.
- 197.**Seghiri, R. (2005). Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires du Genre Centaurea: *C. africana*, *C. nicaensis*. Mémoire de doctorat en Chimie Organique, Université Mentouri, Constantine.
- 198.**Sen, CK. (2001). Antioxidant and redox regulation of cellular signaling. *Med Sci Sports Exer*, 33(3), 368-370.
- 199.**Seyoum, A., Asres, K., & El-Fiky, F.K. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67, 2058-2070.
- 200.**Sies, H. (1991). Oxidative stress. *from basic research to clinical application*, 91(3), 31-38.
- 201.**Simon, C. (2003). Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de bordeaux. Mémoire de doctorat en chimie-physique-mention en chimie analytique, Université Bordeaux1.
- 202.**Singh, G. (2007). *Chemistry of terpenoids and carotenoids*. 1^{er} Ed. Discovery: India.

- 203.** Smadi, A. (2003). Etude de l'extrait chloroformique d'*Oudneya africana*. Thèse de magister en chimie organique, Université El-Hadj Lakhdar, Batna.
- 204.** Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., et Hilali A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydant et la composition physico chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Mater. Environ. Sci*, 6 (4), 1111-1117.
- 205.** Thiebault, C., et Sprumont, P. (2005). *Le sport après 50 ans* (1^é éd). Université Bruxelles: De boeck.
- 206.** Trabut, L.C. (2006). *Noms indigènes des plantes d'Afrique du Nord. Répertoire des noms des plantes spontanées, cultivées et utilisées*. Ibis Press: Paris.
- 207.** Traoré, Y., Ouattara, K., Yéo, D., Doumbia, I., et Coulibaly, A. (2012). Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Applied Biosciences*, 58, 4234-4242.
- 208.** Triboi, E., & Triboi-Blondel A.M. (2008). Qualité des récoltes et sécheresse. *Innovations Agronomiques*, 2, 131-158.
- 209.** Vandermoten, S., Cusson, M., Francis, F., et Haubruge, E. (2008). La biosynthèse des isoprénoïdes chez les pucerons: une cible potentielle de nouveaux bio-insecticides? *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 12(4), 451-460.
- 210.** Vansant, G. (2004). *Radicaux libres et antioxydants: principes de base*. Ed Institut Danone.
- 211.** Vasil, M.L. (1986). *Pseudomonas aeruginosa*: biology, mechanisms of virulence, epidemiology. *J Pediatr*, 108, 800-805.
- 212.** Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). *Phenolic compound biochemistry*. Ed, Springer: U.S.A.
- 213.** Vigan, M. (2012). *Progrès dermato- allergologie*. John Libbey Eurotext Besancon: France.
- 214.** Yakhlaïf, G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *thymus vulgaris* l. et *laurus nobilis* L. Mémoire de magister en biochimie appliquée, Université El hadj lakhdar, Batna.
- 215.** Yan, J., Guo, J., & Yuan, J. (2008). *In vitro* antioxyadnt properties of rutin. *LWT*, 41, 1060-1066.

- 216.**Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals, *Food chemistry*, 64(4), 555-559.
- 217.**Zohary. (1962). *Plant life of Palestine*, Israel, and Jordan, Michael Zohary. Ronald, New.
- 218.**www.sordalab.com., Conseils de Repiquage des Levures et Bactéries. 2p.

Annexes

Annexe I: Appareils utilisée.



Figure: Spectrophotomètre de type UVmini-1240 SHIMADZU (photo originale).



Figure: Bin marine de type memmert (photo originale).



Figure: Evaporateur de type Rotavapor BUCHI Haeting bath R-491 (photo originale).



Figure: Etuve de type LAB TECH modele LIB-060 M (photo originale).



Figure: Autoclave de type Pbinternational (photo originale).



Figure: Balance analytique.



Figure : Cuve en plastique (photo originale).



Figure: Etape de filtration normal.



Figure: Etape de filtration par la pompe à vide.



Figure: Extraits séchés des plantes.

Annexe II: Activité antibactérienne



Figure: Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de plante *Retama raetam* sur les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* et *micrococcus*).

R: *Retama raetam*, **A:** Antibiotique (Gentamicine), **F:** Fraiche, **SS:** Séchoir solaire, **E:** Etuve.

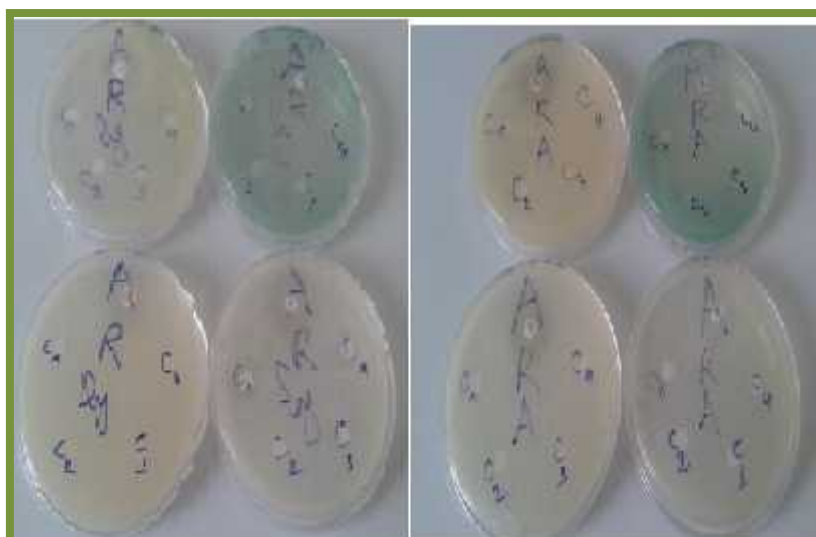


Figure: Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de plante *Retama raetam* sur les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* et *micrococcus*).

R: *Retama raetam*, **A:** Antibiotique (Gentamicine), **Lyo:** Lyophilisé, **A:** Air libre.

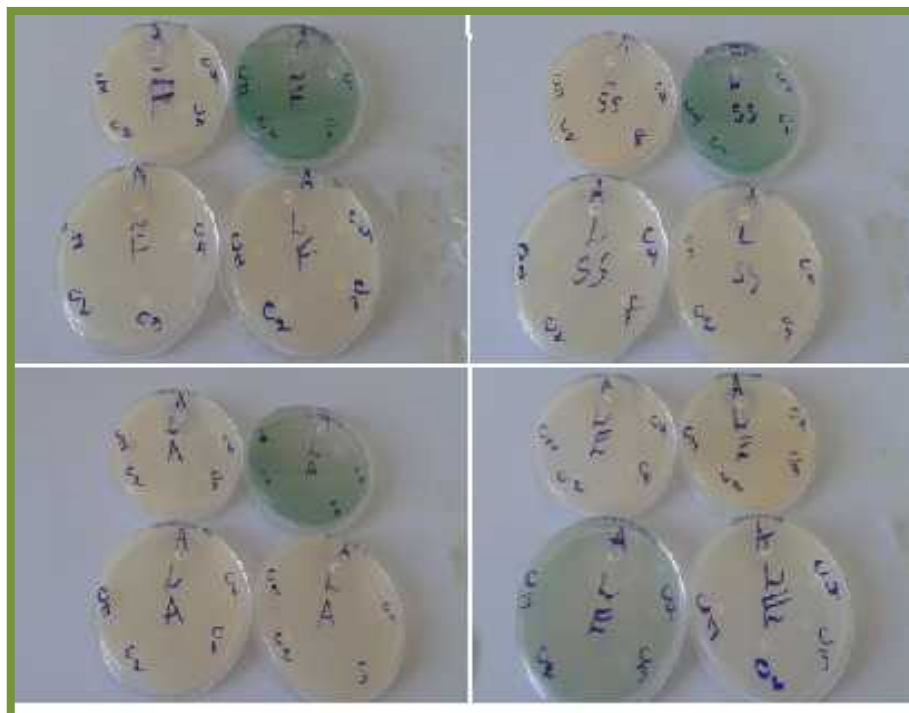


Figure: Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de plante *Calligonum comosum* L'her sur les quatre souche bactériennes (*E. coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* et *micrococcus*).

L: *Calligonum comosum* L'her, **A:** Antibiotique (Gentamicine), **F:** Fraiche, **A:** Air libre, **SS:** Séchoir solaire, **E:** Etuve.

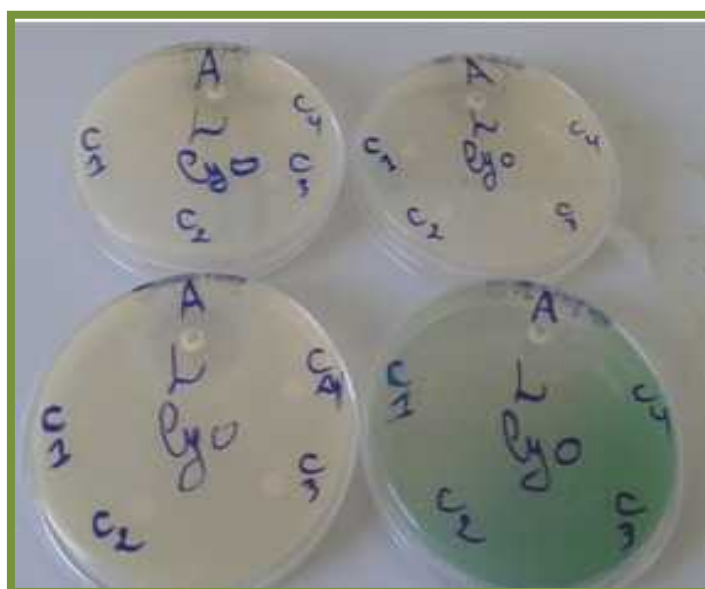


Figure: Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de plante *Calligonum comosum* L'her sur les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* et *micrococcus*).

L: *Calligonum comosum* L'her, **A:** Antibiotique (Gentamicine), **Lyo:** Lyophilisé.

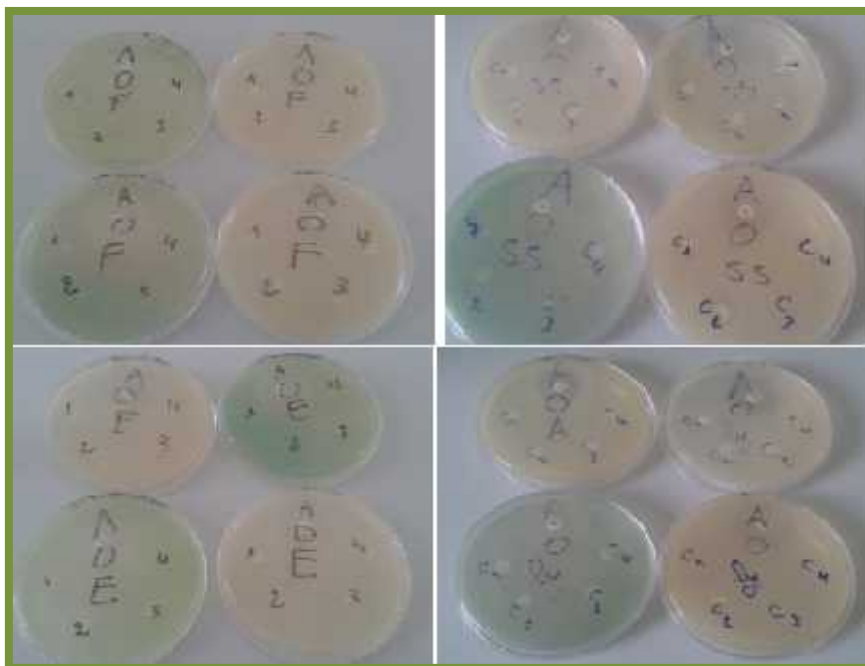


Figure: Effet inhibiteur d'extraits méthanolique de plante *Oudneya africana R* sur la quatre souches bactériennes (*E. coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* et *micrococcus*).

L: *Oudneya africana R*, **A:** Antibiotique (Gentamicine), **F:** Fraiche, **SS:** Séchoir solaire, **Lyo:** Lyophilisée, **E:** Etuve.

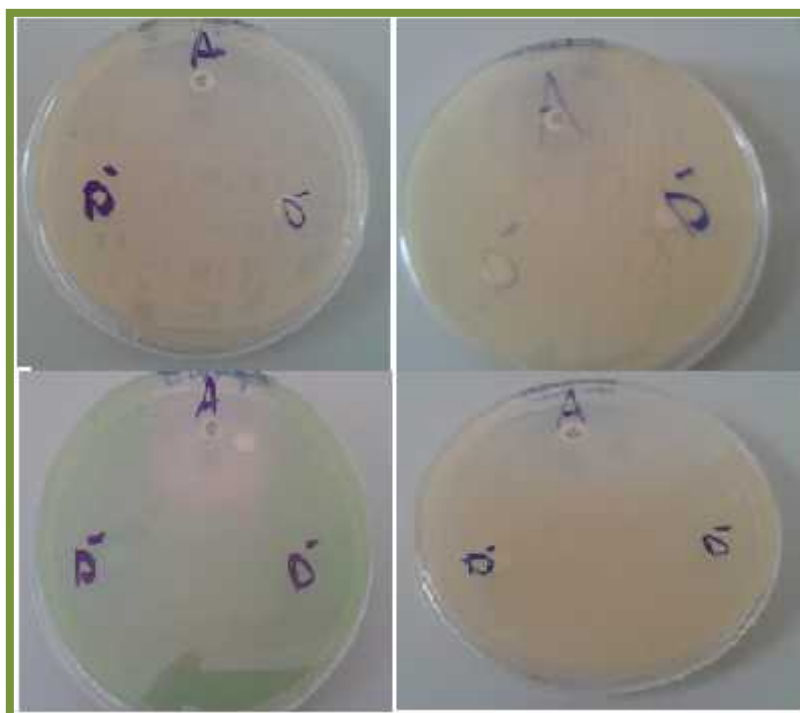
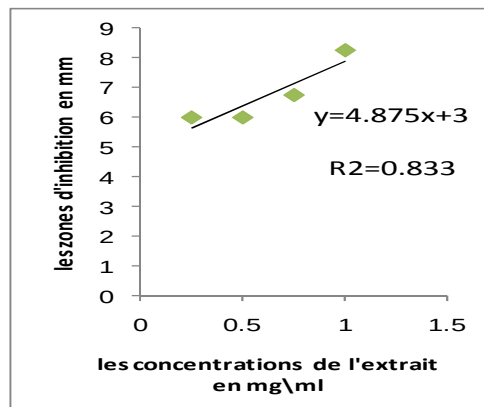
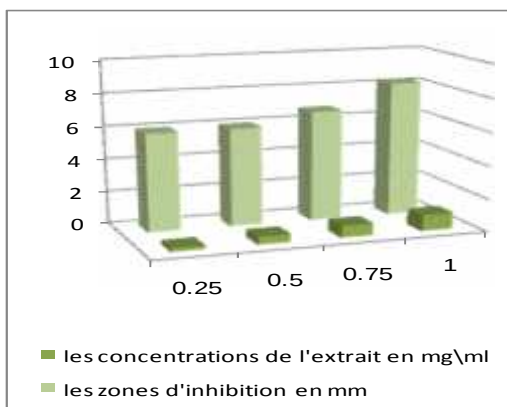
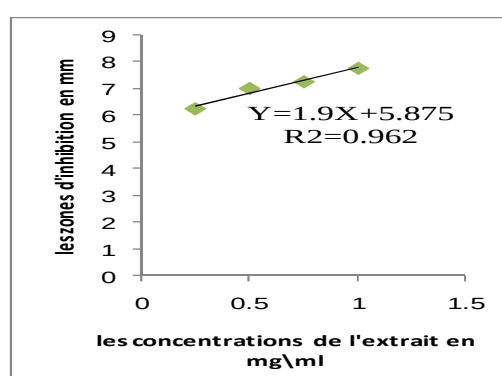
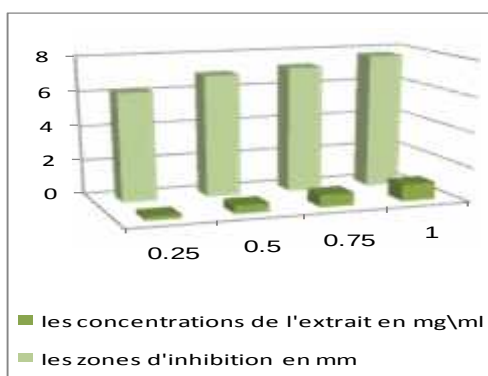
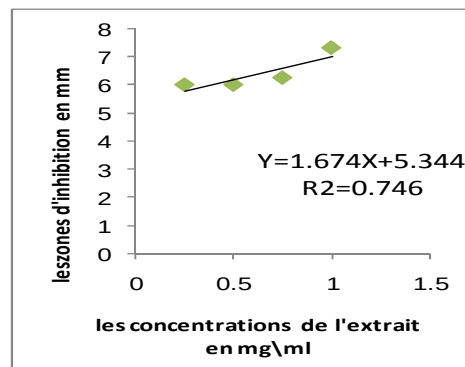
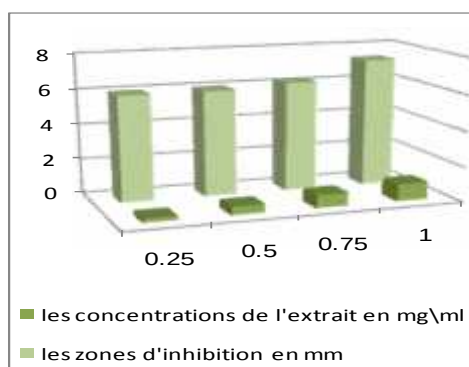


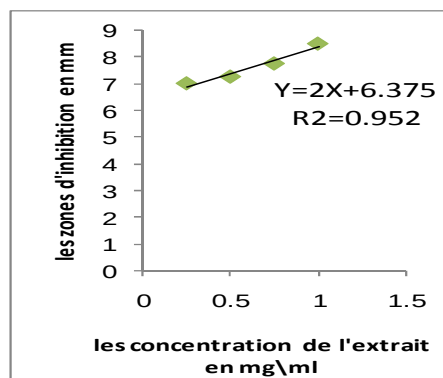
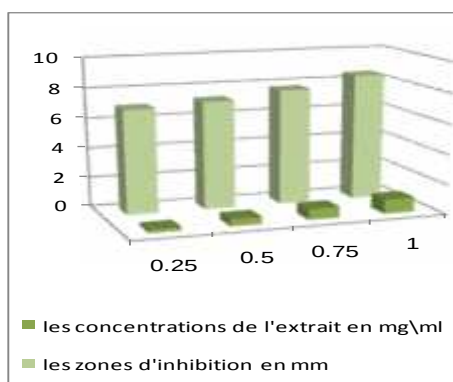
Figure: Effet inhibiteur de témoin positif (Gentamicine) et témoin négatif (DMSO) sur les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* et *Micrococcus*).

A: Antibiotique (Gentamicine), **D:** DMSO

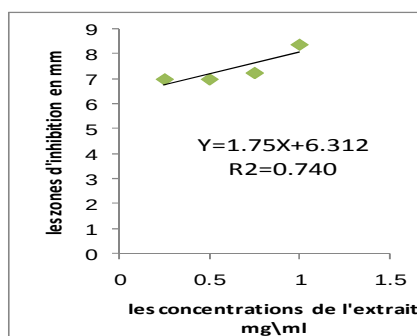
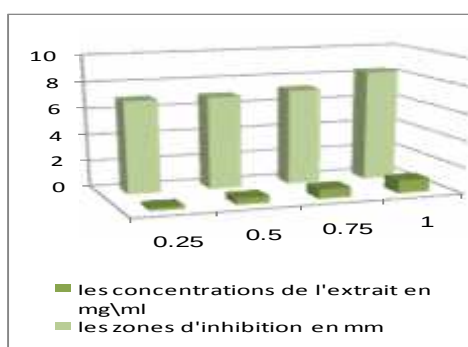
Annexe III : Corrélation entre les concentrations de l'extrait et les zones d'inhibition.
 E.coli

Oudneya africana R. fraîche

Oudneya africana R. air libre

Oudneya africana R. séchoir solaire


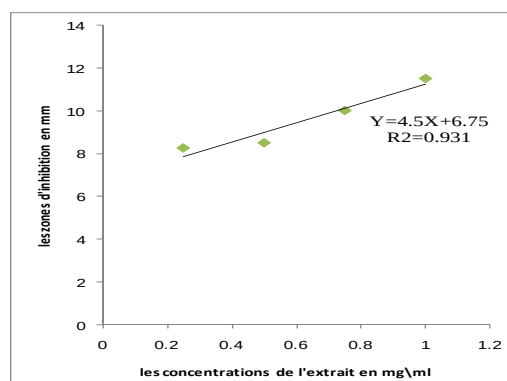
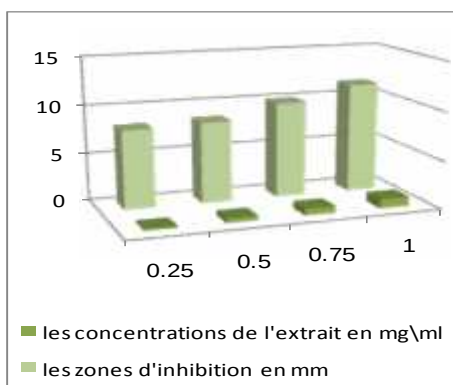
Oudneya africana R. étuve

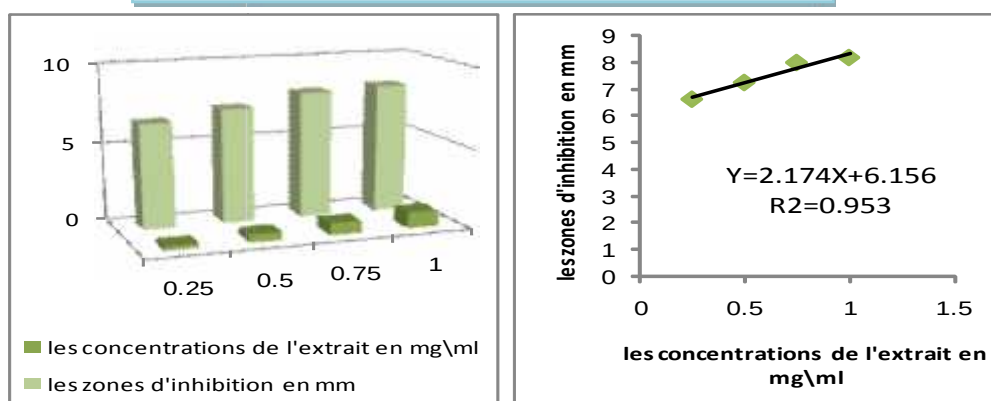
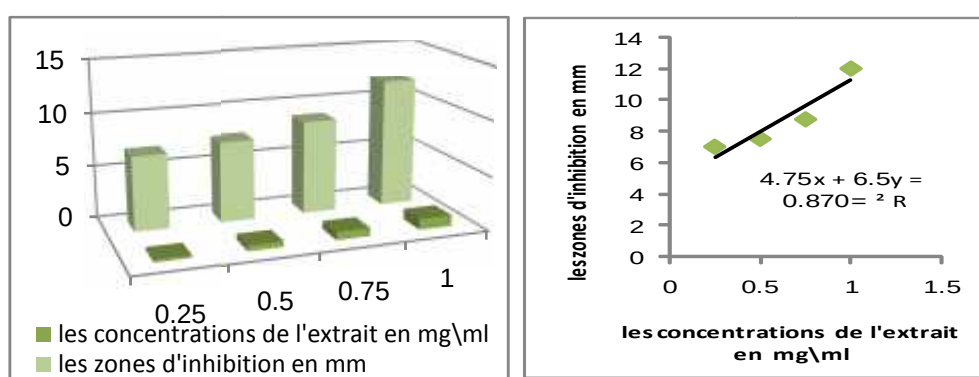
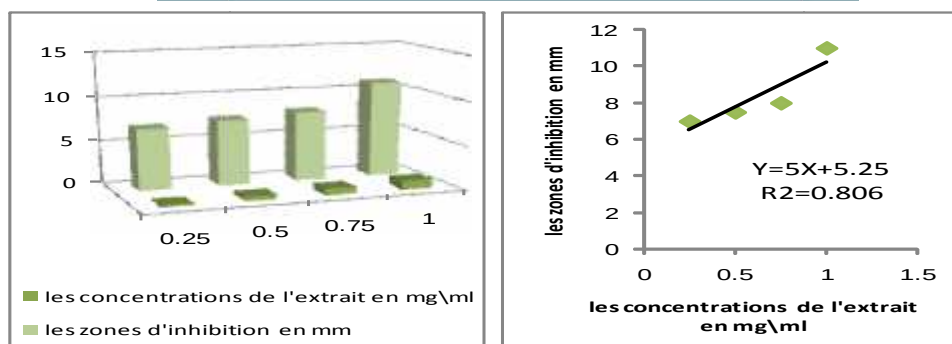


Oudneya africana R. lyophilisée

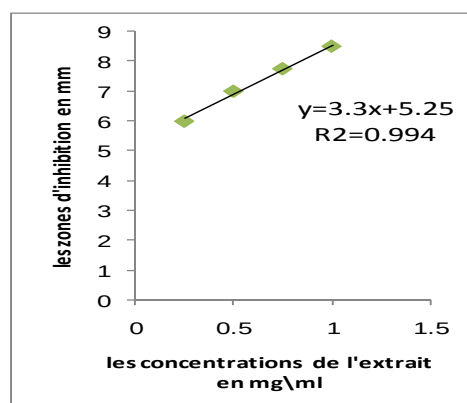
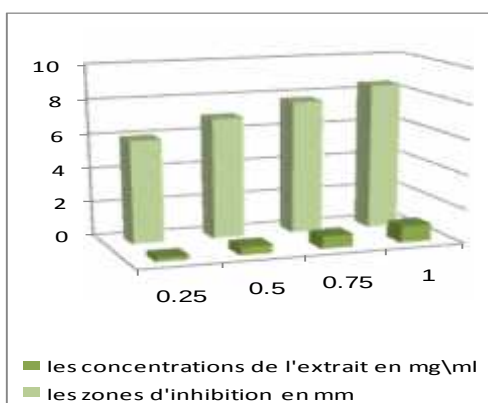


Retama raetam fraîche



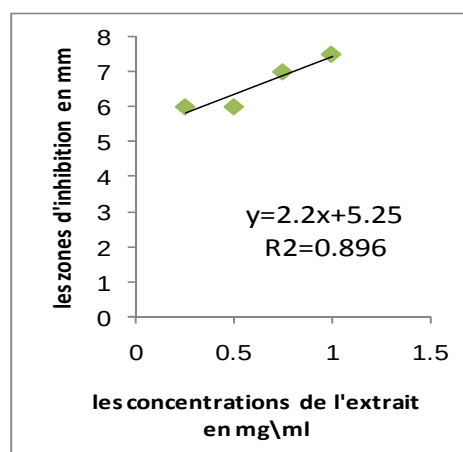
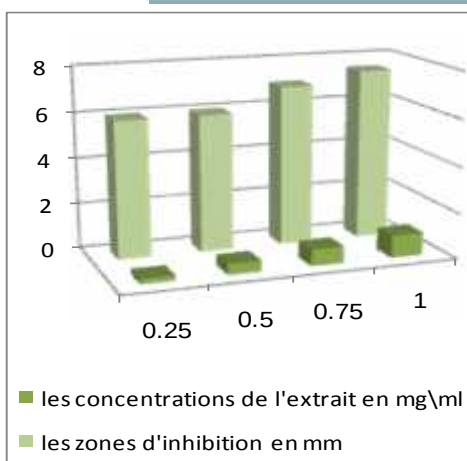
Retama raetam air libre*Retama raetam* séchoir solaire*Retama raetam* lyophilisée

Calligonum comosum L'her air libre

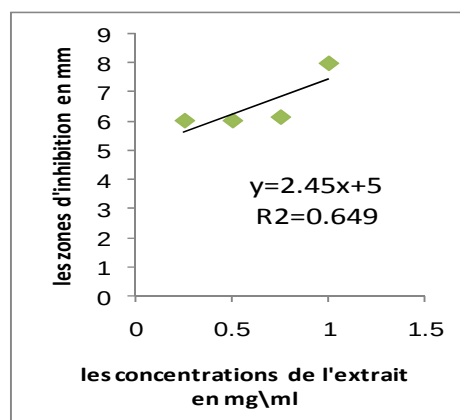
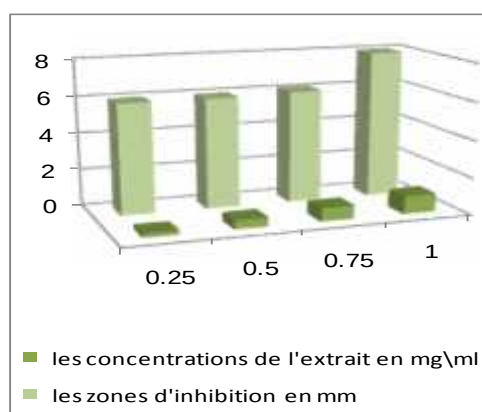


P.aeruginosa

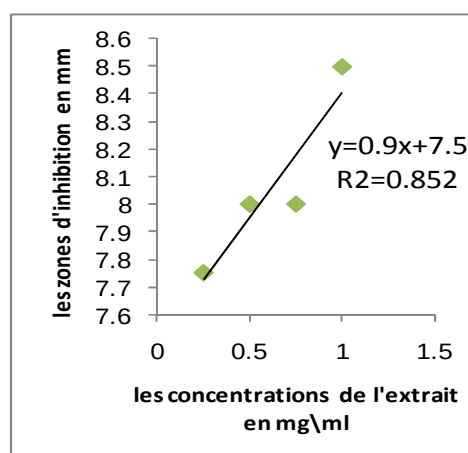
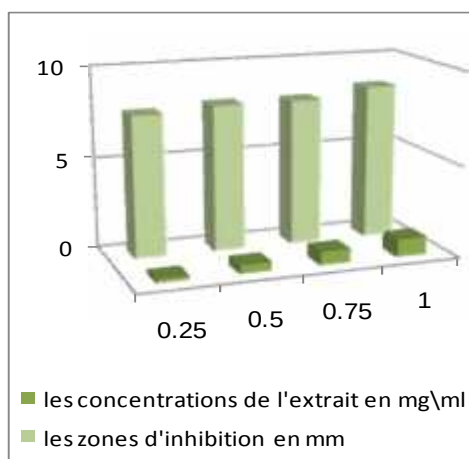
Oudneya africana R. fraîche



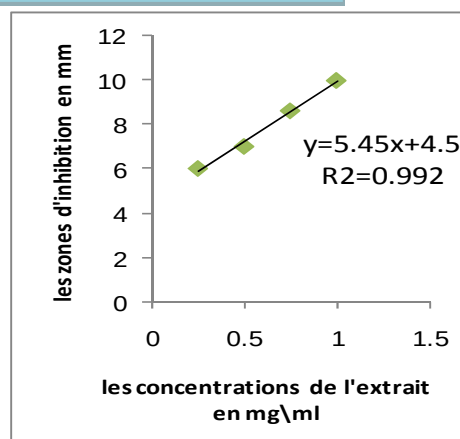
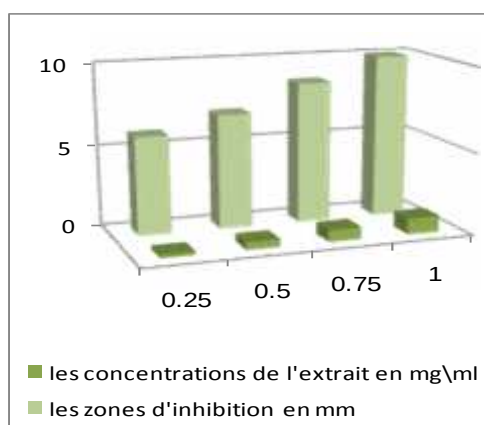
Oudneya africana R. séchoir solaire



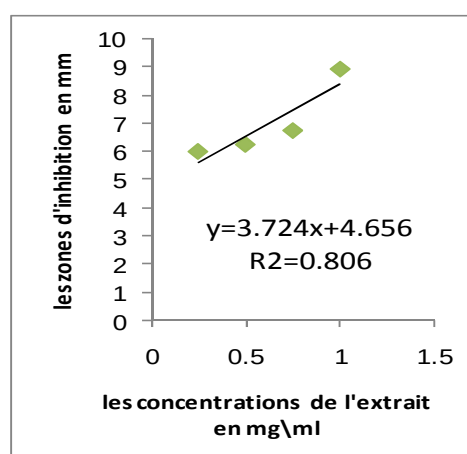
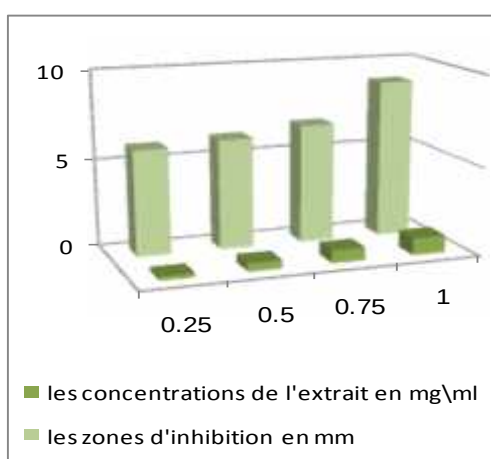
*Oudneya africana*R. lyophilisée

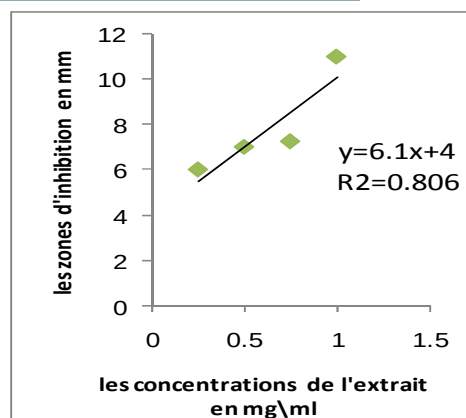
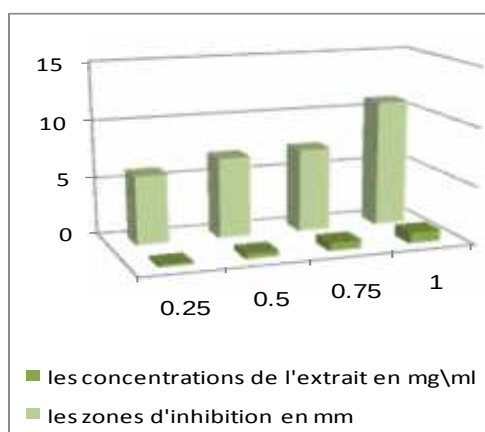
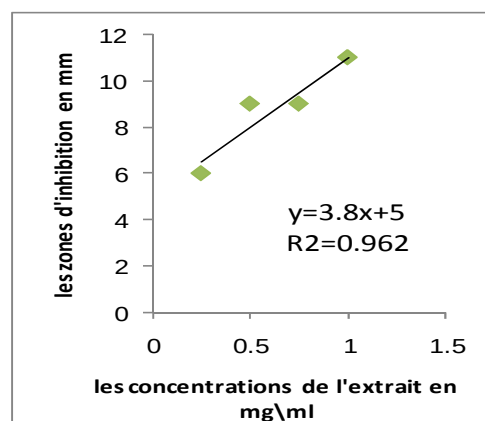
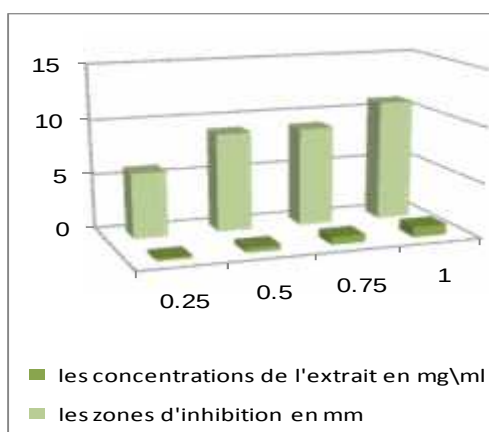
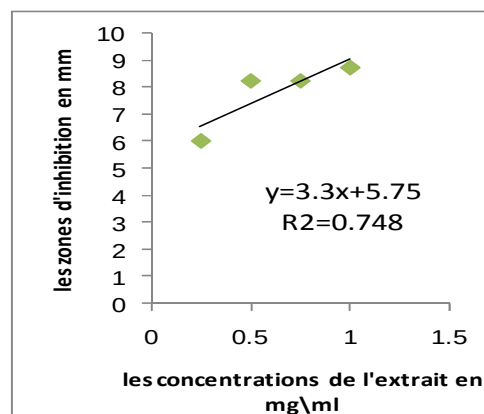
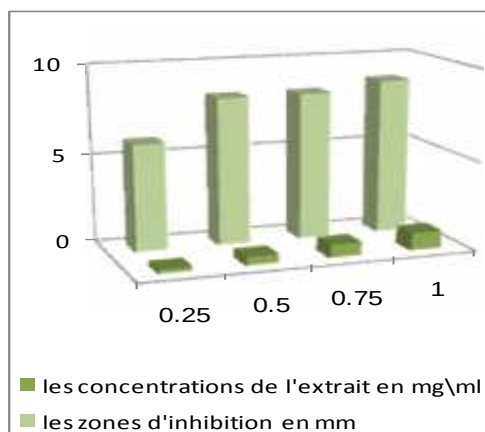


Retama raetam fraîche

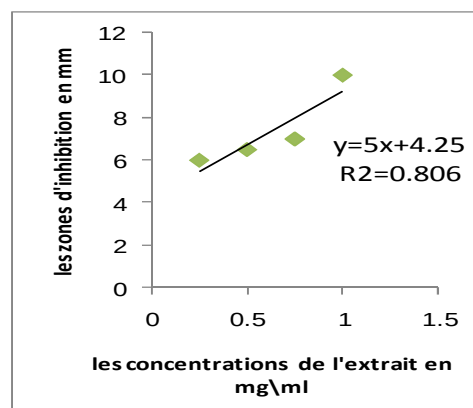
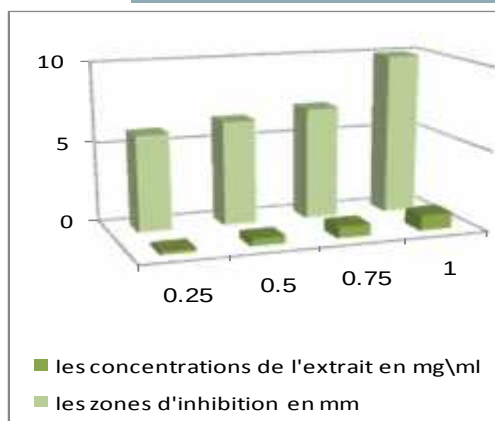


Retama raetam air libre

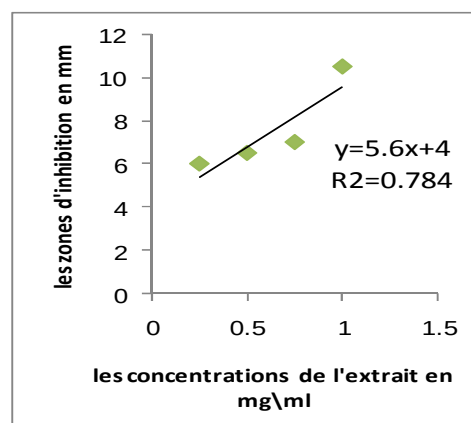
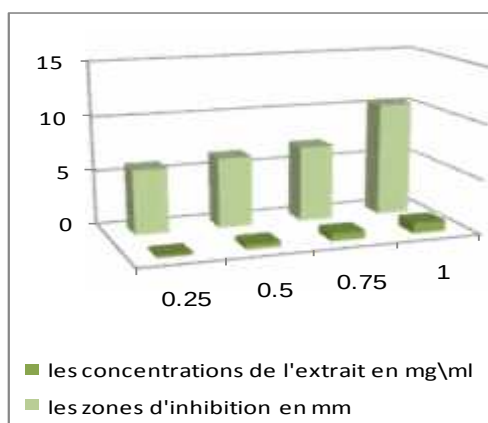


Retama raetam séchoir solaire*Retama raetam* lyophilisée*Calligonum comosum* L'her air libre

Calligonum comosum L'her séchoir solaire

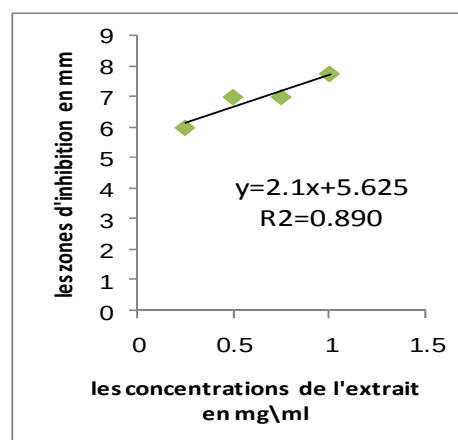
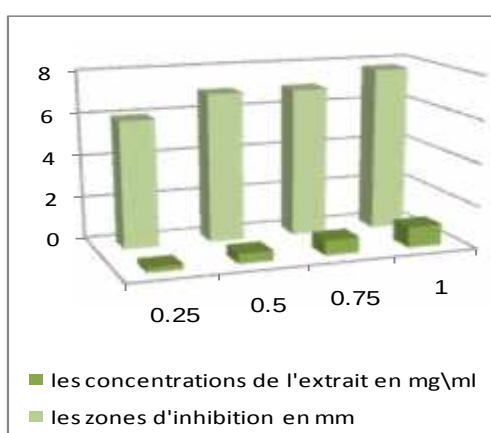


Calligonum comosum L'her étuve

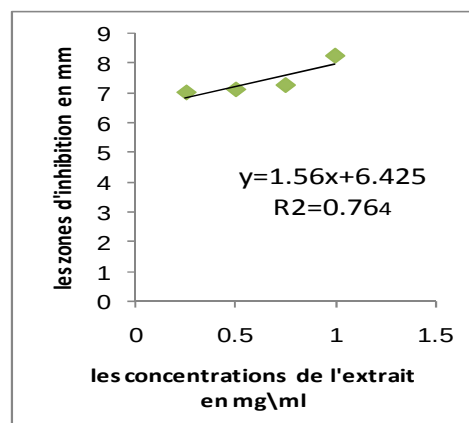
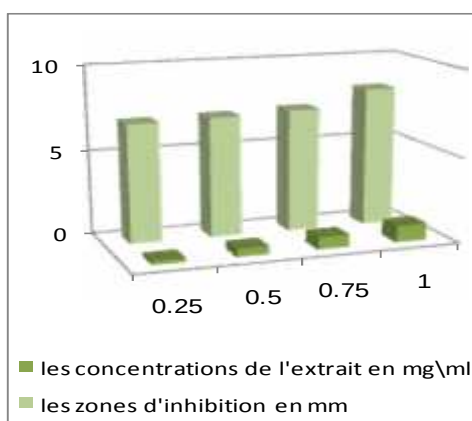


Micrococcus

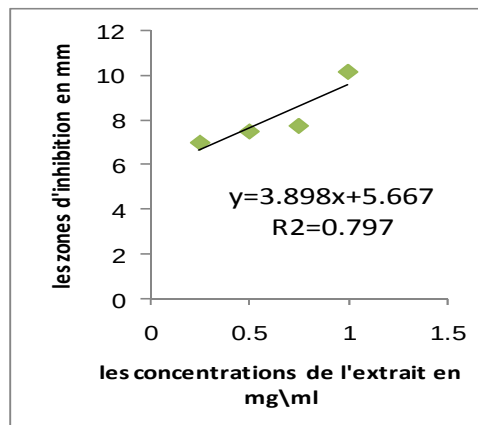
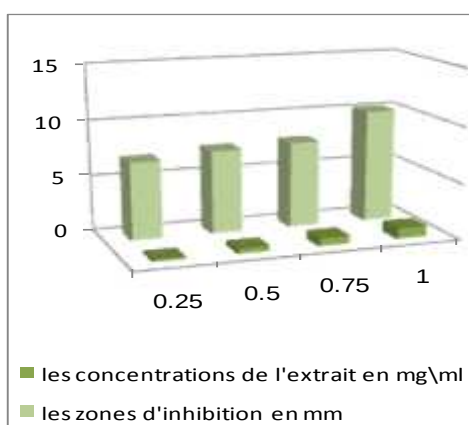
Oudneya africana R.fraiche



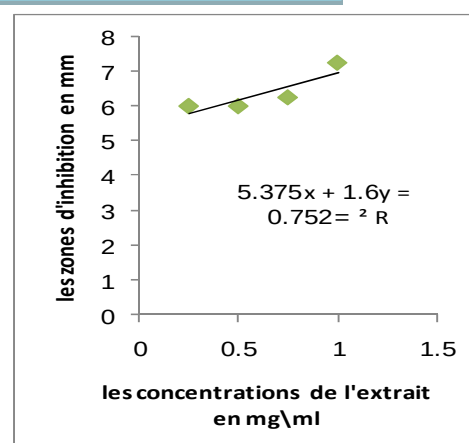
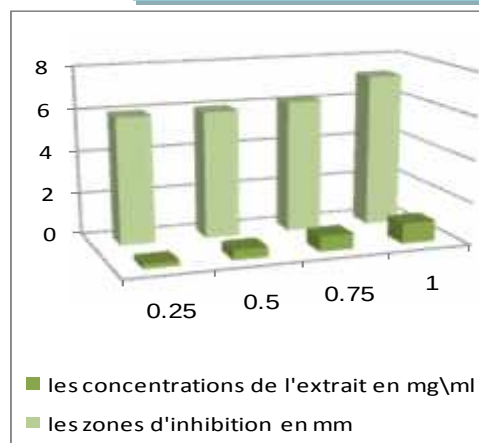
Oudneya africana R. air libre



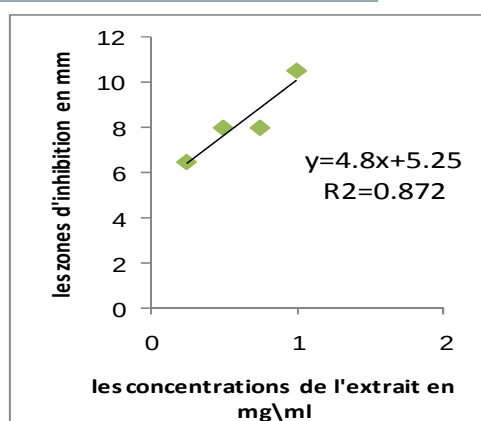
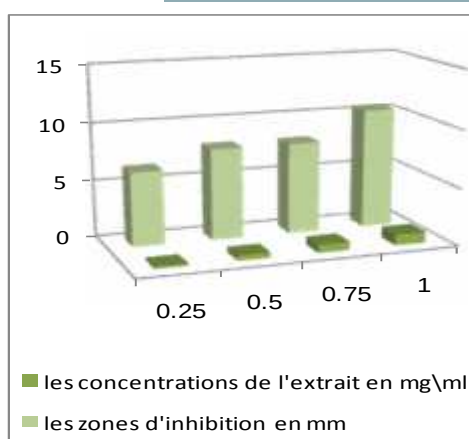
Oudneya africana R. séchoir solaire



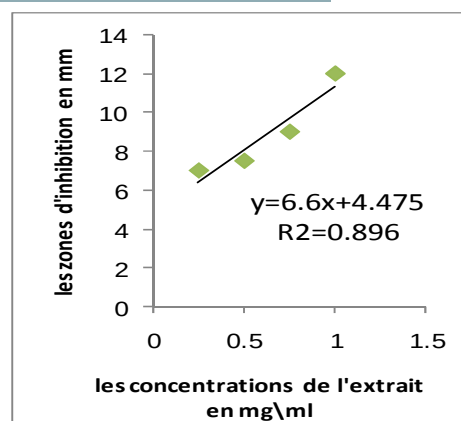
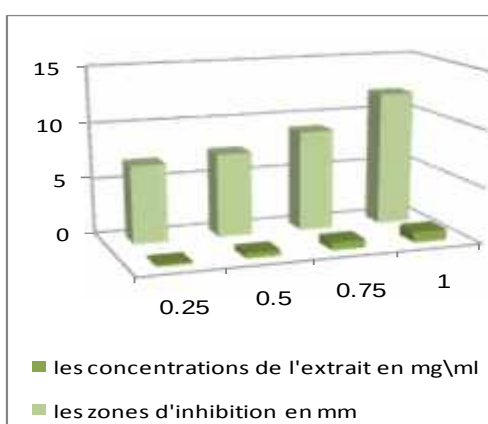
Oudneya africana R. étuve



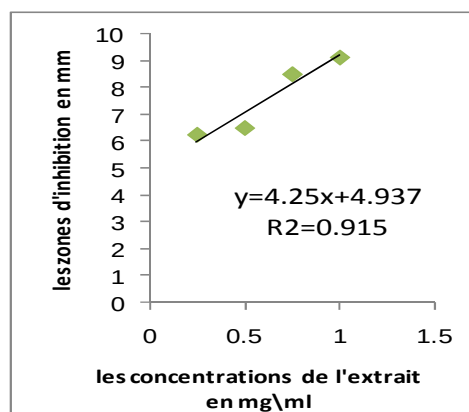
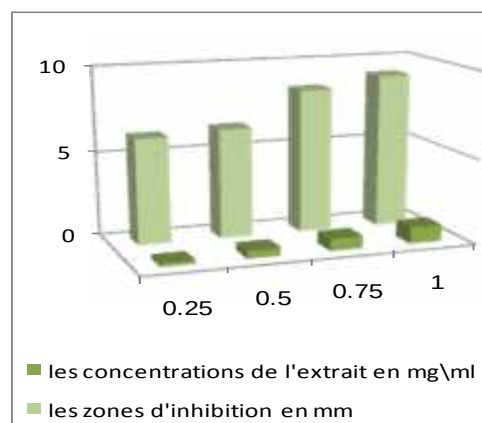
Oudneya africana R. lyophilisée



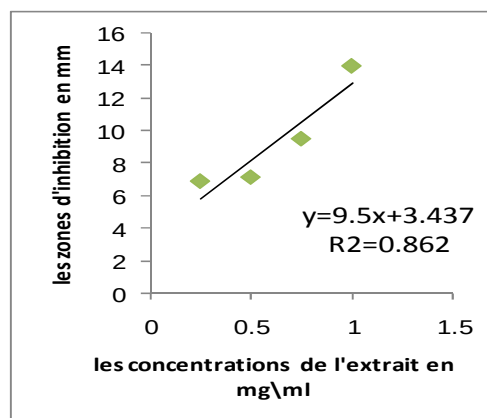
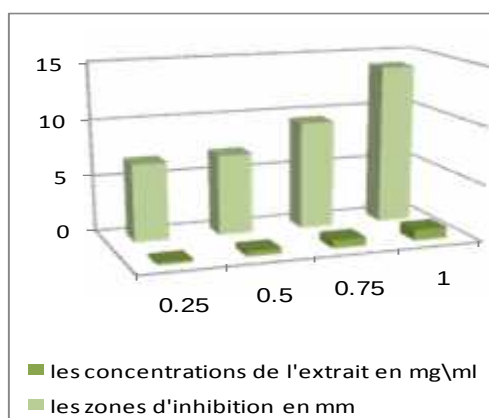
Retama raetam fraîche



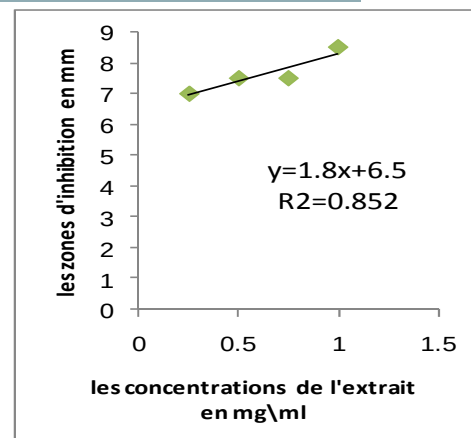
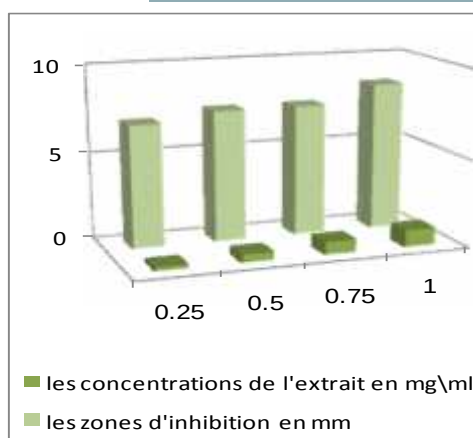
Retama raetam air libre



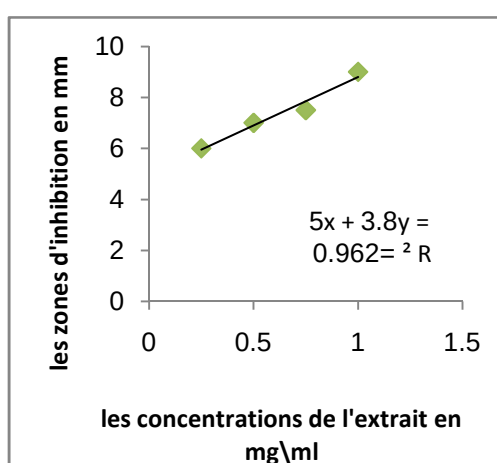
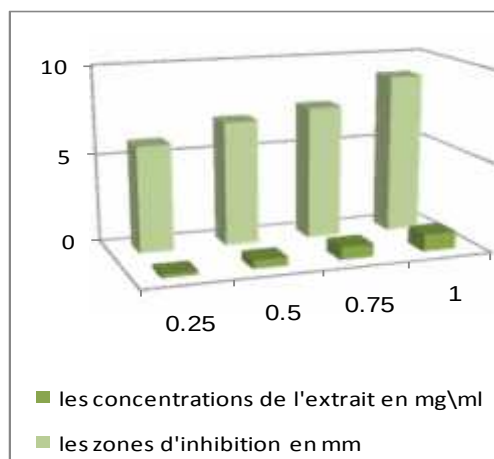
Retama raetam séchoir solaire



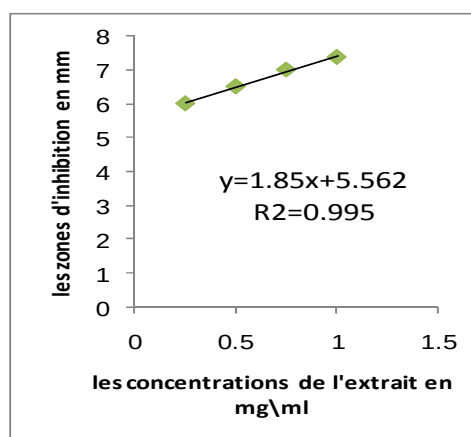
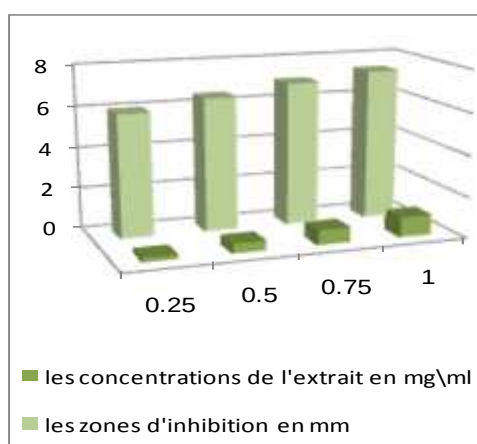
Retama raetam étuve



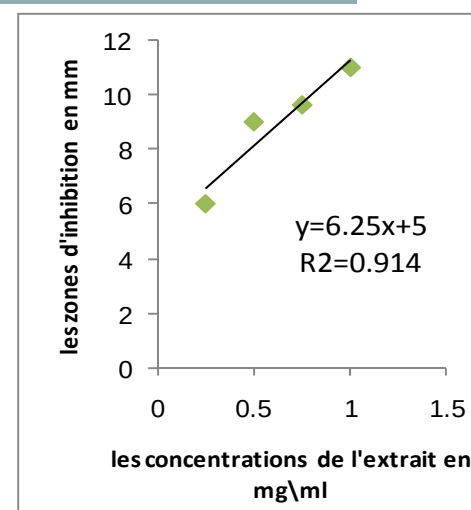
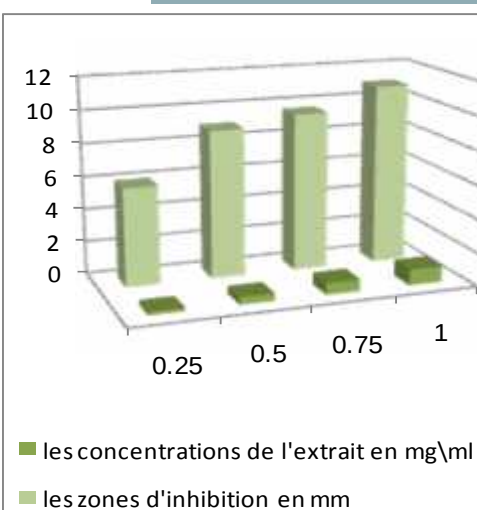
Retama raetam lyophilisée



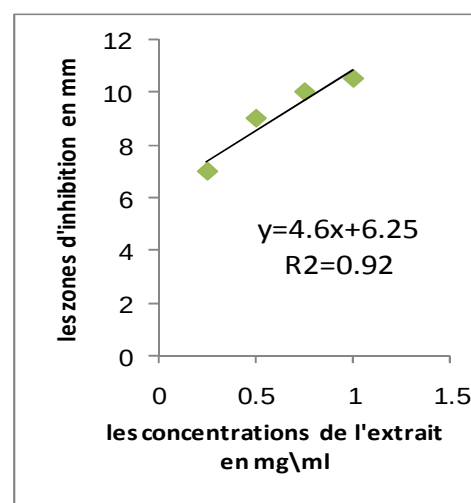
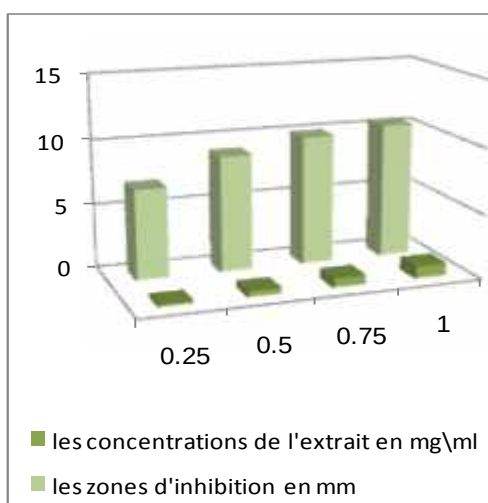
Calligonum comosum L'her fraîche



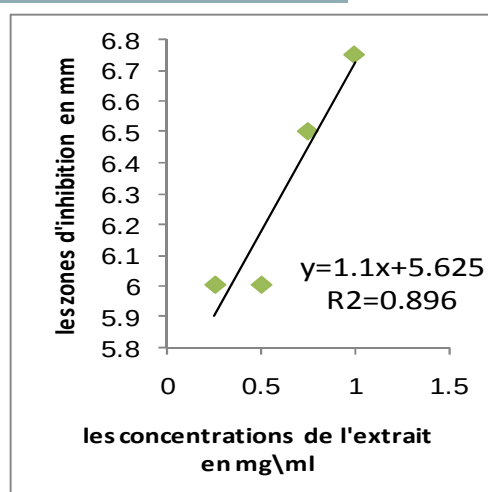
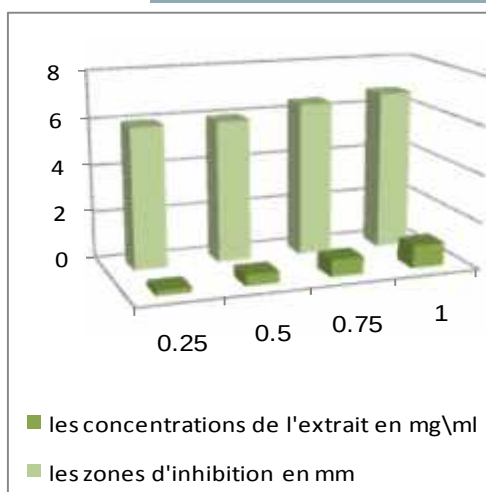
Calligonum comosum L'her air libre



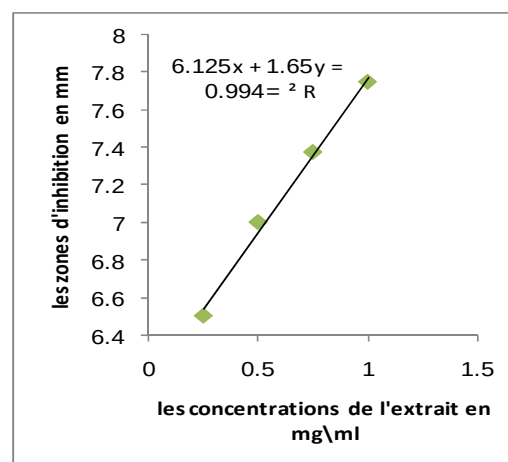
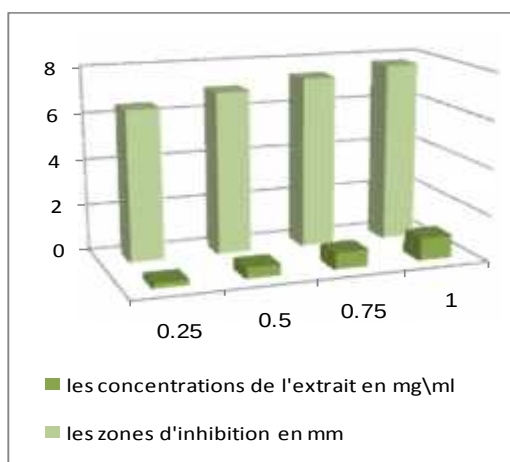
Calligonum comosum L'her séchoir solaire



Calligonum comosum L'her étuve

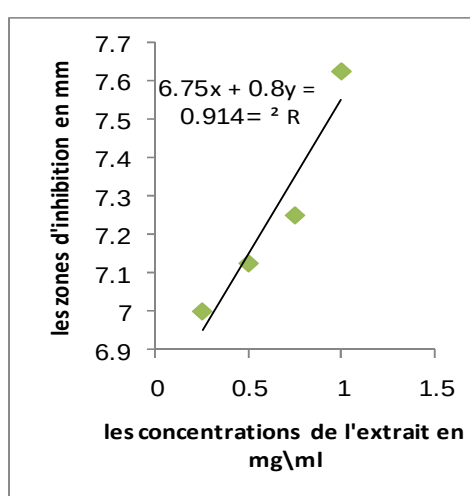
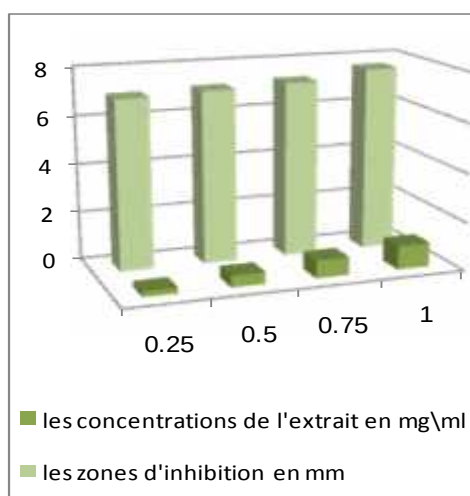


Calligonum comosum L'her lyophilisée

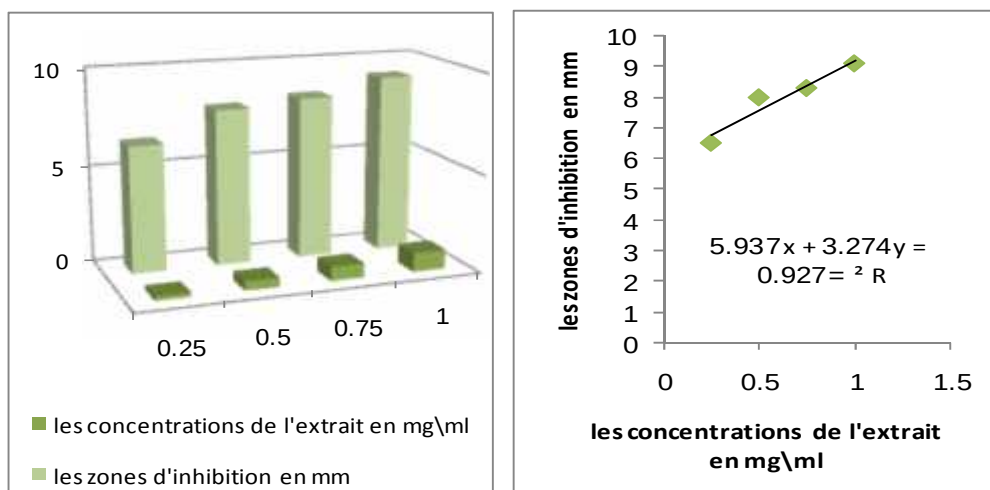


■ S. aureus

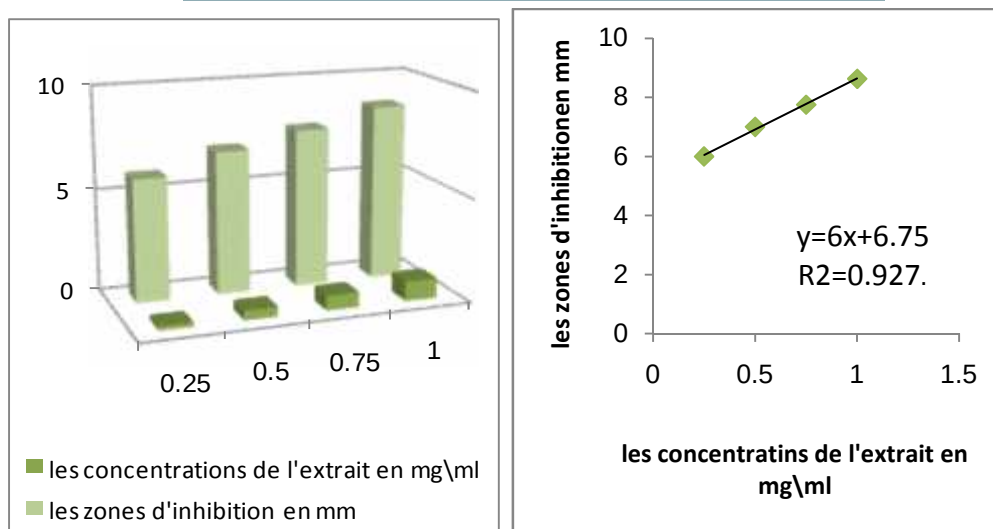
Oudneya africana R. air libre

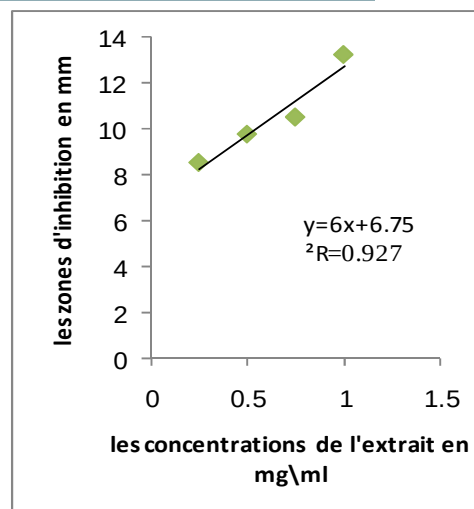
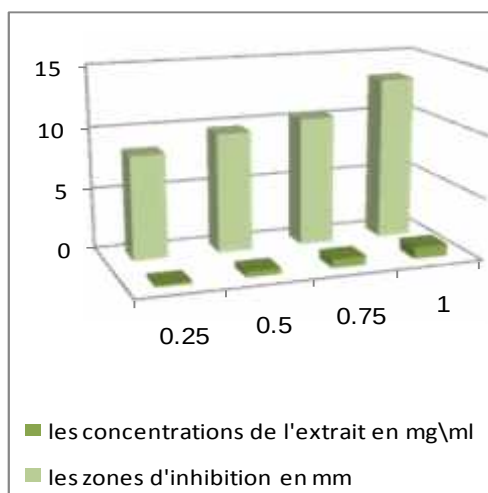
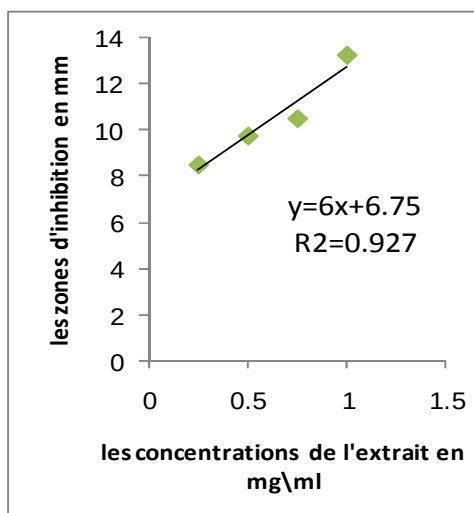
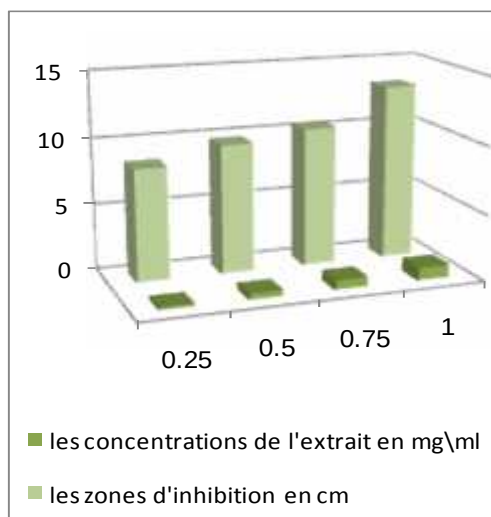
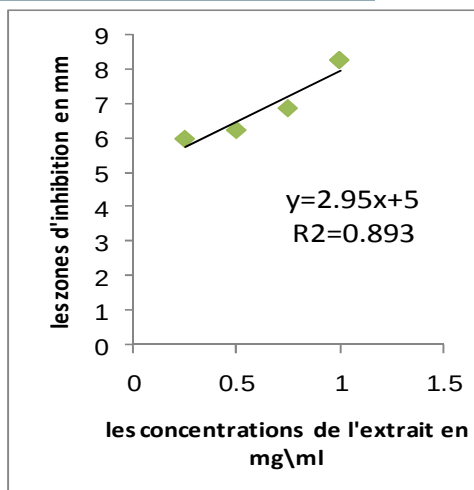
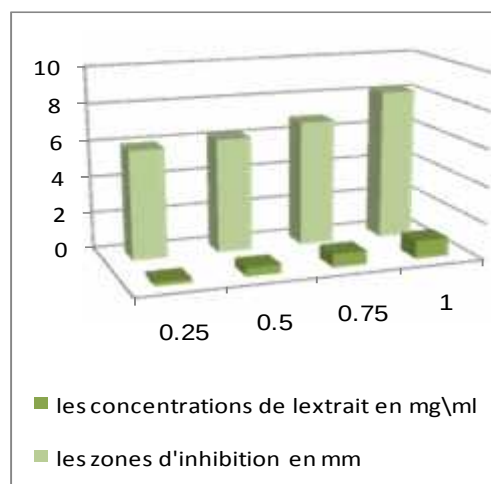


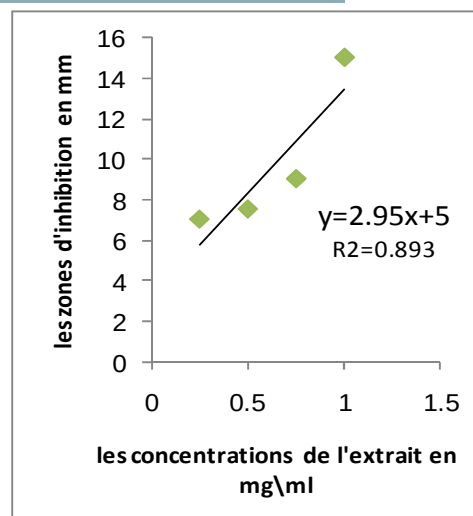
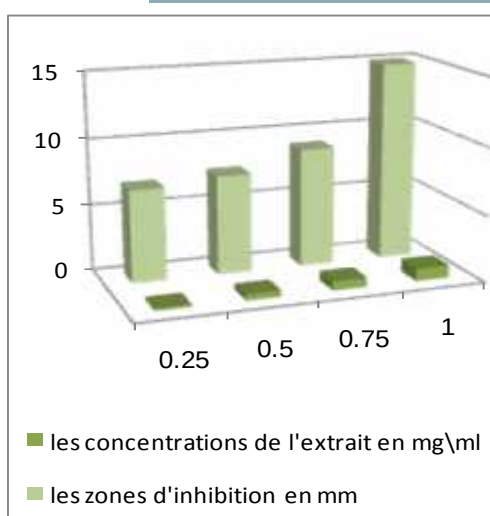
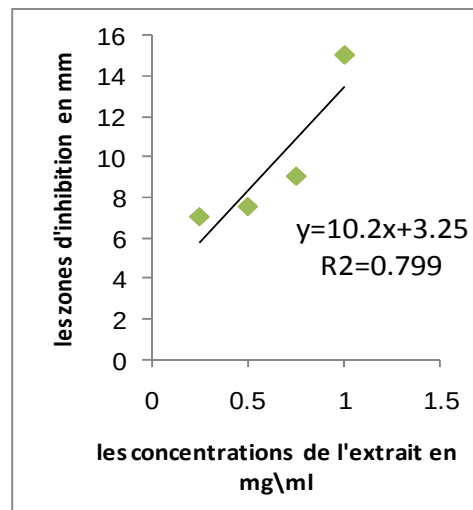
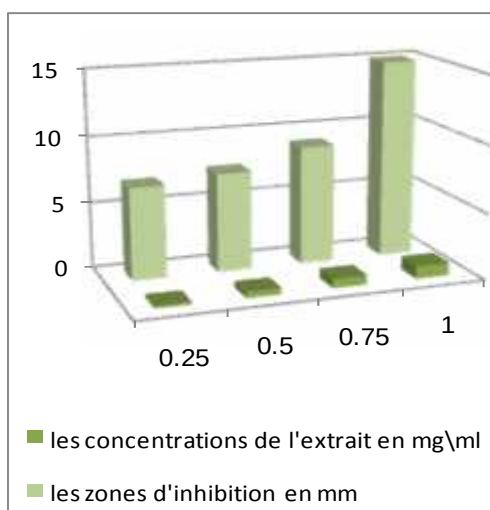
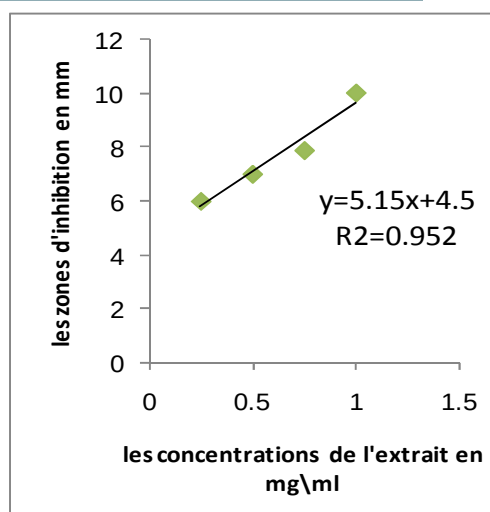
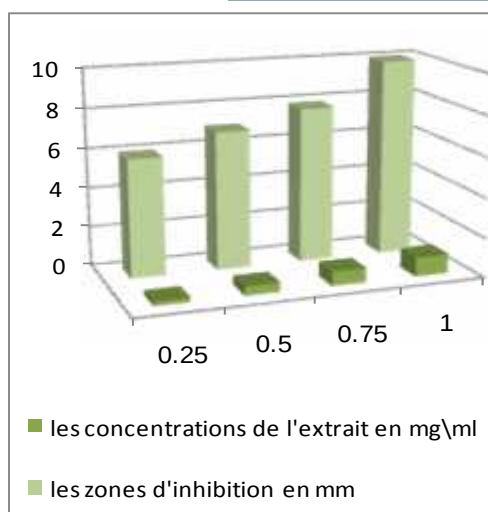
Oudneya africana R. séchoir solaire



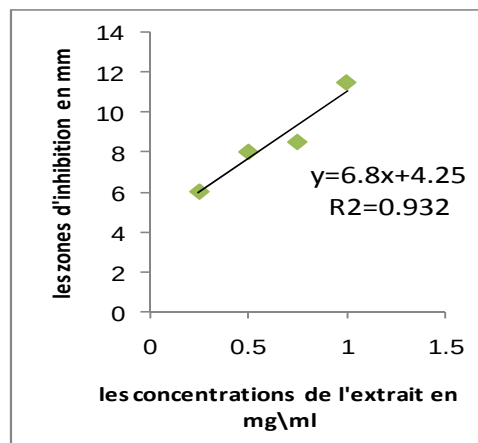
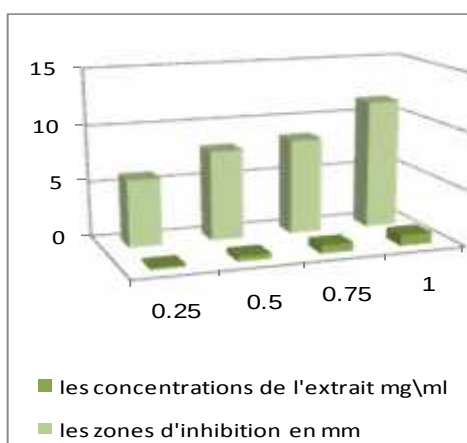
Oudneya africana R. étuve



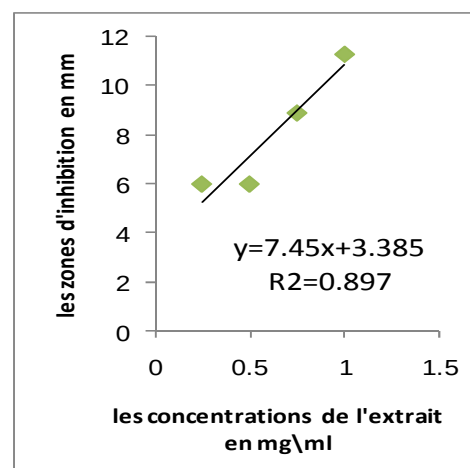
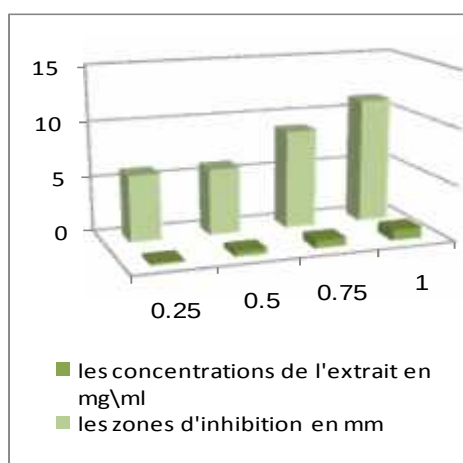
Retama raetam fraîche*Retama raetam* air libre*Retama raetam* séchoir solaire

Retama raetam étuve*Retama raetam* lyophilisée*Calligonum comosum* L'her air libre

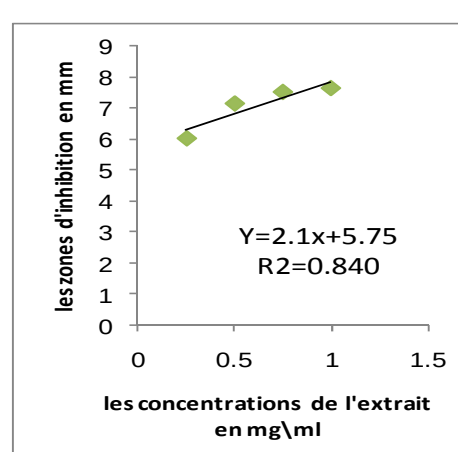
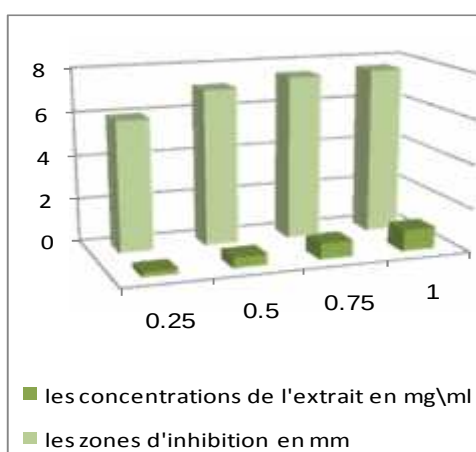
Calligonum comosum L'her séchoir solaire



Calligonum comosum L'her étuve



Calligonum comosum L'her lyophilisée



Annexe IV: Corrélation entre la concentration des polyphénols et l'activité antiradicalaire

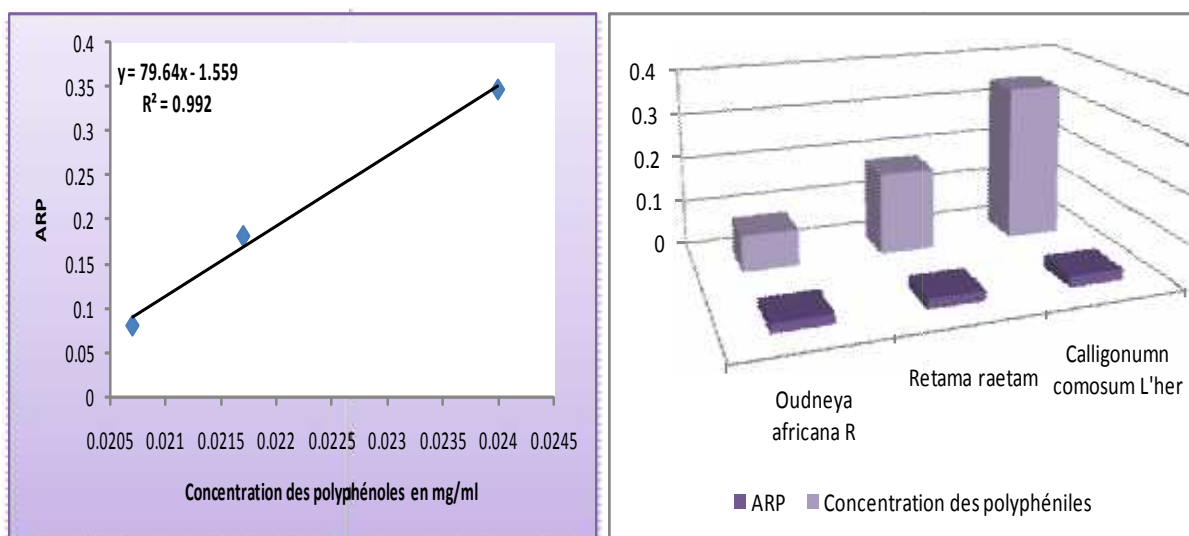


Figure: Corrélation entre la concentration des polyphénols et l'activité antiradicalaire à partir l'équation de courbe d'étalonnage d'acide gallique.

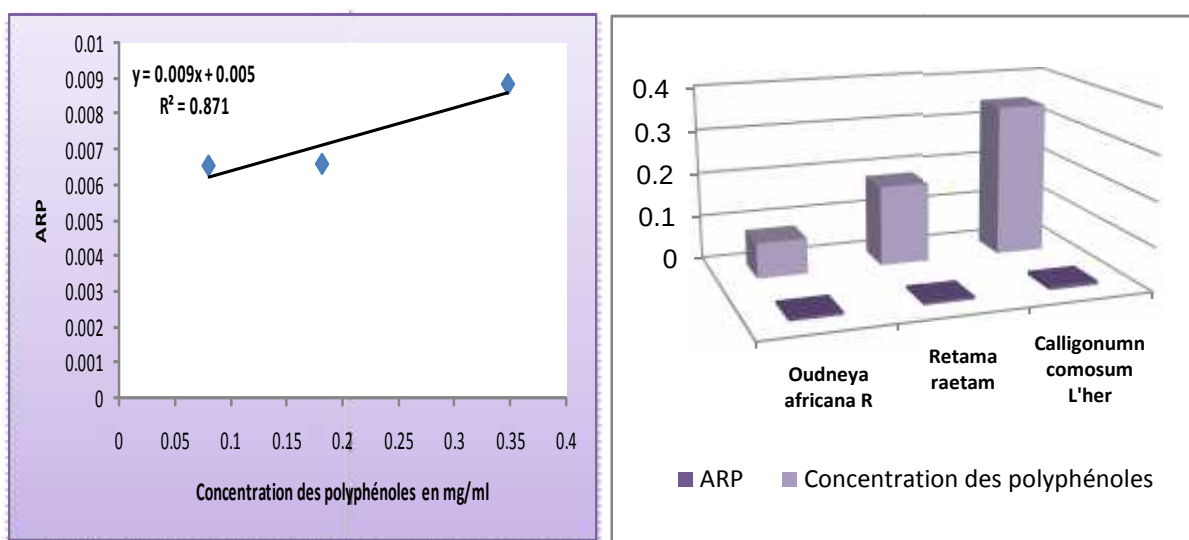


Figure: Corrélation entre la concentration des polyphénols et l'activité antiradicalaire à partir l'équation de courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Annexe V: Protocole montrant les étapes d'extraction.

